



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA-CASEÍNA EN GANADO CRIOLLO LECHERO TROPICAL

AMADO ALBERTO ÁLVAREZ CEPEDA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2014

La presente tesis titulada **Variantes Alélicas del Gen de la Kappa-Caseína en Ganado Criollo Lechero Tropical**, realizada por el alumno **Amado Alberto Álvarez Cepeda**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GANADERÍA

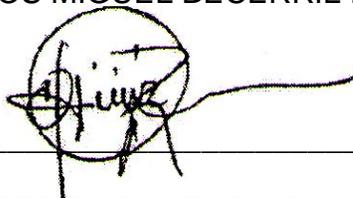
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. CARLOS MIGUEL BECERRIL PÉREZ

ASESOR



DR. ADALBERTO ROSENDO PONCE

ASESOR



DR. GLAFIRO TORRES HERNÁNDEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México. Marzo de 2014

RESUMEN

VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA CASEÍNA EN GANADO CRIOLLO LECHERO TROPICAL

Amado Alberto Álvarez Cepeda, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2014

Las variantes A y B del gen de la κ -caseína influyen en la producción y composición de la leche y sus derivados. La variante B está relacionada con un mayor rendimiento de la cuajada. El objetivo de este estudio fue determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes A y B del gen de la κ -caseína en la población de hembras Criollo Lechero Tropical y su relación con la composición química de la leche. Se recolectaron muestras de sangre de la vena coccígea de las hembras utilizando tubos Vacutainer de 5 ml adicionados con el anticoagulante EDTA. La extracción de ADN y la amplificación y digestión del gen, se realizó bajo condiciones de laboratorio. Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para amplificar el gen de la κ -caseína y la técnica de Polimorfismos en el Tamaño de los Fragmentos de Restricción (RFLP) para la detección de fragmentos de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) de distinto peso molecular. Las frecuencias genotípicas estimadas fueron .09, .60 y .31 para los genotipos AA, AB y BB ($p \leq 0.05$). Las frecuencias alélicas fueron .39 y .61 para los genes A y B ($p \leq 0.05$). No se encontró efecto significativo del genotipo de la κ -caseína en la producción y composición de la leche de vacas (CLT). La mayor frecuencia génica de la variante B, comparada con algunas razas lecheras europeas e indias, sugiere realizar estudios conjuntos con genotipos de variantes alélicas de otros genes relacionados con la composición de la leche.

Palabras clave: Criollo Lechero Tropical, PCR, RFLP, κ -caseína.

ABSTRACT

ALLELIC VARIANTS OF THE KAPPA CASEIN GENE IN CREOLE TROPICAL DAIRY CATTLE

Amado Alberto Álvarez Cepeda, M. Sc.

Colegio de Postgraduados, 2014

Variants A and B of the κ -casein gene influence the production and composition of milk and dairy products. Variant B is associated with an increased yield of curd. The aim of this study was to determine the genotype and allele frequencies of variants A and B of the κ -casein gene in the Tropical Milking Criollo female population and its relation to the chemical composition of milk. Blood samples were collected from the females' coccygeal vein using 5 ml Vacutainer tubes added with EDTA anticoagulant. DNA extraction, amplification and digestion of the gene were performed under laboratory conditions. The Chain Reaction Technique of Polymerase (PCR) was used to amplify the κ -casein gene and the Polymorphisms Technique in the Size of the Restriction Fragments (RFLP) to detect fragments of Deoxyribonucleic Acid (DNA) of different molecular weight. The estimated genotype frequencies were .09, .60 and .31 for the genotypes AA, AB and BB ($p \leq 0.05$). The allele frequencies were .39 and .61 for genes A and B ($p \leq 0.05$). No significant effect was found of the κ -casein genotype on the production and composition of milk from cows (CLT). The greater gene frequency of variant B, compared to some European and Indic dairy breeds, suggests to perform joint studies with genotypes of allelic variants of other genes related to the composition of milk.

Key words: Tropical Milking Creole, PCR, RFLP, κ -casein.

DEDICATORIA

A mis Padres

Educar no es dar carrera para vivir, sino temprar el alma para las dificultades de la vida. Gracias a usted culmino otra etapa más en mi vida, y queireo que hagan de este logro tan suyo como es mio.

A mi hermana, sobrinas y cuñado

La mejor amiga del mundo eres tu mi querida hermana, ya que me conoces tal y como soy, porque siempre estas conmigo, por eso y muchas cosas más, eres mi hermana consentida. A mis sobrinas que son la juventud e inocencia en nuestra familia, con mucho cariño les dedico este logro. A mi cuñado, que hemos compartido grandiosos momentos.

A mis amigos

Un amigo es como encontrar una aguja en un pajar, yo a lo largo de mi vida he encontrado muchas agujas. Gracias por cada momento vivido y espero con entusiasmo los que nos faltan por vivir.

A Alma Pinete

Me he quedado con mi alma solo para pensar en ti.

Amado Alberto Álvarez Cepeda

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACY, por brindar el apoyo económico y la oportunidad de seguir superándome.

Al Colegio de Postgraduados, campus Montecillo y a al Laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por la infraestructura y facilidades brindadas para la realización de este trabajo.

Al Dr. Carlos Miguel Becerril Pérez por sus valiosas aportaciones al estudio, gracias por enseñarme: “QUE HAY QUE DISFRUTAR LAS COSAS BUENAS DE LA VIDA”.

Al Dr. Adalberto Rosendo Pnce, quien me ha demostrado lo que es el trabajo en equipo, gracias por la confianza brindada, por ser mi profesor y sobre todo por ser un gran amigo.

Al Dr. Glafiro Torres Hernández, por ser un ejemplo de fuerza y trabajo, gracias por su amistad, compartir sus experiencias y dedicar el tiempo necesario durante mi formación profesional.

Al Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales, gracias por su enseñanza durante mi estancia en el laboratorio de genética molecular. Es una excelente persona.

A la Bióloga Amanda Gayosso Vazquez, por su experiencia y conocimientos de laboratorio y por brindarme tu amistad.

A mis amigos Sandra de Jesus Hernández Nataren y Héctor Emmanuel Sentíes Herrera, por el apoyo en los tiempos buenos y malos, más que mis amigos son mis hermanos.

A mis amigos: Gustavo Sosa, Said Cadena, Marco Ayala, Elizabeth, Silvia Fraire, Javier “el tiki tiki”, Paco Cigarroa, Jorge Alberto, Luis, Ernesto, Yuri, Danilo, Cristian Zubia, Edie Zambrano, Ana, Lorena, Froylan, Roberro, Nery, Rocio, Pablo, Paty y Mayumi, gracias por su amistad y los buenos momentos vividos en esta etapa.

A mis amigos y compañeros del laboratorio de Genética Molecular de la UNAM: Mario, Vianey, Pablo, Alex, Jorge, Liz, Rodrigo, Lalo y Gloria, gracias por su apoyo voluntarioso y por hacerme sentir como de casa.

CONTENIDO

RESUMEN	II
ABSTRACT	III
DEDICATORIA	IV
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO 2. VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA CASEÍNA EN GANADO CRIOLLO LECHERO TROPICAL	3
2.1. MATERIALES Y MÉTODOS	5
2.1.1. FUENTE DE DATOS	5
2.1.2. MUESTRAS DE LECHE	5
2.1.3. EXTRACCIÓN DE ADN	6
2.1.4. AMPLIFICACIÓN DEL GEN DE LA K-CASEÍNA IN VITRO	6
2.1.5. DIGESTIÓN DEL PRODUCTO AMPLIFICADO	7
2.1.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	7
3. RESULTADOS	8
3.1. FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS	8
3.2. RELACIÓN GENOTIPO DEL K-CASEÍNA CON LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE	9
4. CONCLUSIONES	11
5. AGRADECIMIENTOS	11
6 LITERATURA CITADA	12

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO 2

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados efecto del genotipo del gen de la k-caseína en la producción y composición de la leche de vacas Criollo Lechero Tropical.	10
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Electroforesis del producto de digestión con enzimas de restricción Hinf I y Hind III, en gel de agarosa al 3%, mostrando los genotipos del CSN3: flancos con marcador de peso molecular pBR322, muestra 164 corresponde al genotipo AA, las muestras 161 y 163 para el genotipo AB y la muestra 163 para el genotipo BB.

8

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El Criollo Lechero Tropical (CLT), presente en distintos hatos de países como Costa Rica, Venezuela, México y República Dominicana, comprende estirpes y genotipos que tienen su origen en los bovinos introducidos a América por los conquistadores durante los primeros años de la conquista.

Esta raza cuenta con atributos que los hace ser más funcionales en los climas cálidos tropicales, que sus homólogos europeos. El pelo corto, piel pigmentada y una habilidad para caminar grandes distancias les ayudó a soportar el sol para encontrar el forraje. Los parásitos internos y externos fueron otro factor de adaptación al medio selvático donde se encontraban. Además de otras características de interés económico como lo son, fertilidad y longevidad.

La calidad de la leche proveniente de vacas CLT presenta altos contenidos de grasa y proteína, lo que la convierte idónea para la alimentación de becerros a edad temprana. Estas características de producción, son un atractivo para los empresarios transformadores de la leche, partiendo del conocimiento previo de la composición química se logra determinar el rendimiento de la misma, tomando este rasgo como objeto de estudio y la consideración para la selección dentro de los programas de mejoramiento genético.

La Selección Asistida por Marcadores (SAM) emplea las estrategias de la bioquímica, la biología molecular, la genética y los registros fenotípicos, con el fin de determinar el genotipo de los individuos adultos, los fetos durante los primeros estadios de la gestación o los embriones antes de la implantación; lo cual, ofrece

la posibilidad de disminuir el tiempo requerido para el cambio genético en las poblaciones de ganado en los programas de mejoramiento animal.

El objetivo de la investigación plantea identificar el gen de la Kappa-Caseína (proteína de la leche) y la distribución de las variantes alélicas en la población CLT; esto a través de técnicas moleculares, utilizando la metodología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y el uso del marcador molecular Polimorfismo en el Tamaño de los Fragmentos de Restricción conocido como RFLP. Esto complementa a los sistemas tradicionales de mejora basados en rasgos cuantitativos, teniendo como resultado una selección genética integral.

CAPÍTULO 2. VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA CASEÍNA EN GANADO CRIOLLO LECHERO TROPICAL

El ganado Criollo Lechero Tropical (CLT) de México tiene su origen en el ganado traído por los españoles durante, el cual tuvo un periodo de adaptación en las condiciones ambientales del continente Americano, (Rouse, 1977). Recientemente, diversas investigaciones se han enfocado en características reproductivas y productivas del ganado CLT (Rosendo y Becerril, 2002). Sin embargo, el estudio de los genotipos a través de la Genética Molecular ha sido escaso (Meza *et al* 2012), lo que limita los esquemas de mejoramiento genético a utilizar.

Uno de los aspectos importantes en la industria lechera, es la composición de la materia prima obtenida en los sistemas, ya que afecta el rendimiento y la conformación de los productos derivados de esta (Ballester, 2005). La leche de las vacas CLT presenta cualidades deseables para la manufactura de derivados de la misma, (De Alba, 1997). Las proteínas de la leche están formadas por dos grupos: caseínas (α S1, α S2, β y κ) y séricas (α -albumina y β -lactoglobulina) que actúan como protectoras en la precipitación de la cuajada. Estas proteínas tienen diferentes secuencias de pares de bases, identificables mediante técnicas de la genética molecular, lo que hace posible visualizar las formas alélicas de cada una de ellas (Medrano *et al.*1990). La κ -caseína presenta 12 formas alélicas A, B, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I y J) de las cuales las dos primeras son las más frecuentes y de mayor importancia para la industria lechera, (Molina *et al.*, 2003). Estas variaciones de la κ -caseína son debidas a eliminaciones o sustituciones de aminoácidos en la cadena polipeptídica por lo que se consideran polimórficas en

sus variantes alélicas (Ng–Kwai–Hang *et al.*, 1990). Diversas investigaciones indican la importancia del genotipo BB y su influencia en el rendimiento, composición y manufactura en derivados de la leche; por lo que es importante identificar continuamente este genotipo en las vacas productoras y toros portadores para establecer programas de mejora genética (Swaisgood, 1993; Plowman y Creamer 1995). Otros genes relacionados con la producción, composición y transformación de la leche actúan en asociación con el gen de la κ -caseína (Marzali *et al* 1986; Ng–Kwai–Hang *et al.*, 1984; Grosclaude 1988; Aleandri *et al* 1990). (Ng–Kwai–Hang *et al.*, 1990). Proteínas identificadas provenientes de la fracción sérica (β -lactoglobulina), indican que algunas de sus variantes se relacionan con la producción de leche y su composición química, siendo el genotipo AA el que se asocia con mayor producción de leche a 305 días, mientras que el genotipo BB es más frecuente que tenga una mayor proporción de grasa, proteína y sólidos totales (Meza, *et al.* 2012).

La identificación de los genotipos de las proteínas de la leche puede obtenerse por medio de distintas técnicas moleculares (RFLP, SSCP's, SNP's) que procesan el ADN proveniente de diversas muestras.

Selección con base a genotipos de la κ -caseína se ha realizado en Estados Unidos, Grecia, Polonia, Turquía en ganado Holstein; la República Checa con el ganado Simmental Fleckvieh; Rusia con el ganado Black Pied y Suiza con el ganado Braunvieh.

El objetivo de este estudio fue determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes A y B del gen de la κ -caseína y su influencia en la composición y rendimiento de leche de vacas Criollo Lechero Tropical.

2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1. FUENTE DE DATOS

Se recolectaron muestras de sangre de 180 (hembras) ubicadas en la región central del estado de Veracruz, México. Las muestras se obtuvieron por punción de la vena coccígea, utilizando tubos Vacutainer de 5 ml adicionados con EDTA (ácido etilen diamino tetra acético) como anticoagulante, almacenándolos en contenedores a 0 °C. El clima de la región es Aw''(w)(i')g cálido subhúmedo con lluvias en verano distribuidas de mayo a octubre, precipitación y temperatura medias anuales de 1060 mm y 26.4 °C (García 1988).

2.1.2. MUESTRAS DE LECHE

Las muestras de leche se recolectaron de vacas con diferente número de parto y días en lactancia. Se colectaron 100 ml de leche en la mañana en tubos con bronopol como conservador (2-bromo-2-nitro1, 3 propanediol). Las muestras se almacenaron en contenedores a 4 °C para ser transportadas y almacenadas en laboratorio a -20 °C hasta ser analizadas. De cada muestra se tomaron 50 ml para el análisis químico (grasa, proteína, lactosa, solidos totales) el cual se realizó por espectroscopia de infrarrojo y para el conteo de células somáticas se realizó por cartometría de flujo. Los análisis se realizaron en el laboratorio de la Asociación Holstein de México.

2.1.3. EXTRACCIÓN DE ADN

El ADN genómico individual se extrajo a partir de las muestras de sangre periférica, aislado de leucocitos, utilizando el protocolo de extracción de sales y alcoholes descrito por Miller (1989). La validación del ADN fue realizada en geles de agarosa al 1% con TBE y la tinción con bromuro de etidio. Las muestras se corrieron a 80V durante 45 min, usando electroforesis horizontal. Los geles fueron fotografiados bajo la luz ultravioleta de un transiluminador (UVP). La cuantificación del ADN se realizó por comparación de ADN con el marcador molecular del bacteriófago lambda.

2.1.4. AMPLIFICACIÓN DEL GEN DE LA K-CASEÍNA IN VITRO

La amplificación del gen de la κ -caseína se realizó con la técnica de la reacción de cadena de polimerasa (PCR). Para la localización del gen de la κ -caseína se usaron los iniciadores específicos, delantero: 5' ATAGCCAAATATATCCCAATTCAGT 3' y reversa: 5' TTTATTAATAGTCCATGAATCTTG 3', y se utilizó la mezcla de reacción: dH₂O = 29.5 μ l, 10x buffer = 5 μ l, 30mM MgCl = 2.5 μ l, 2 μ M dNTP's = 5 μ l, 10 μ M iniciadores = 2.5 μ l, Taqpolimerasa 5UI/ μ l = 0.5 μ l y ADN = 5 μ l. La reacción se procesó en un termociclador a 30 ciclos con desnaturalización 94 °C / 30 s; alineamiento 54 °C / 30 s; elongación 72 °C / 30 s y la elongación final de 72 °C / 5 min. La verificación de la presencia del gen de la κ -caseína se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 1 %, utilizando 3 μ l de ADN amplificado, 2 μ l de buffer de carga TAE 1x.

2.1.5. DIGESTIÓN DEL PRODUCTO AMPLIFICADO

Las muestras amplificadas con el gen de la κ -caseína, fueron digeridas con enzimas de restricción Hinf I y Hind III utilizando la mezcla de reacción: 20 μ l de ADN amplificado 0.2 μ l de enzima de restricción (específico para cada enzima); 3 μ l de buffer para enzima de restricción y 6.8 μ l de agua inyectable. La incubación se realizó a 37°C durante 24 h. Posterior a la digestión, se verificó en gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio y TAE 1X, la determinación de los genotipos se realizó de acuerdo patrón del bandeo específico de cada muestra digerida.

2.1.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables de respuesta fueron, producción de leche ajustada a 305 días, producción de leche al día del muestreo, grasa (% g), proteína (% g), lactosa (% g), sólidos no grasos (% g), sólidos totales (% g) y conteo de celular somáticas (\log_n). Se realizó un análisis de varianza con modelos mixtos. E el modelo estadístico incluyó el efecto aleatorio del padre de la vaca y los factores fijos genotipo, año-hato-estación de parto y número de parto. Además se incluyeron los días en lactación y la edad de la vaca como covariables lineales y cuadráticas. Los analisis de los datos se realizaron utilizando el PROC MIXED del SAS (SAS institute 2010)

3. RESULTADOS

Se obtuvo un fragmento de 350 bp con los iniciadores específicos para el gen de la κ -caseína. Los productos de digestión con enzimas de restricción Hinf I y Hind III resultaron en la diferenciación del polimorfismo del gen. Con la enzima de restricción Hinf I se encontraron diferencias en los fragmentos obtenidos, estos correspondientes para el alelo A de 326 pb. Para el alelo B se obtuvieron fragmentos de 458 pb. La enzima Hind III solo digiere al alelo B dando como resultado fragmentos de 375 pb (Fig. 1).

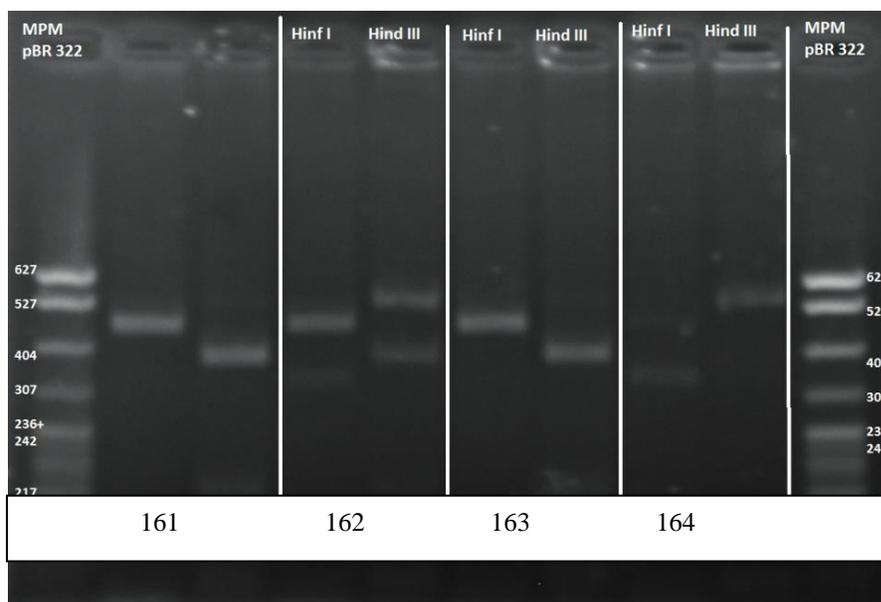


Figura 1. Electroforesis del producto de digestión con enzimas de restricción Hinf I y Hind III, en gel de agarosa al 3%, mostrando los genotipos del CSN3: flancos con marcador de peso molecular pBR322, muestra 164 corresponde al genotipo AA, las muestras 161 y 163 para el genotipo AB y la muestra 163 para el genotipo BB.

3.1. FRECUENCIAS GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS

Las frecuencias genotípicas estimadas fueron 0.09, 0.61 y 0.31 para AA, AB y BB. Aranguren (2009) en el ganado Criollo Limonero de Venezuela, estimó frecuencias de 0.11, 0.56 y 0.33, similares a las obtenidas en el CLT. Las frecuencias alélicas

estimadas A y B fueron 0.39 y 0.61 indicando que existe mayor predominancia del alelo B dentro de la población en estudio. El alelo B es favorable para un mayor contenido de proteína en la leche.

3.2. RELACIÓN GENOTIPO DEL K-CASEÍNA CON LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

En el Cuadro 1 se observa la producción de leche ajustada a 305 días fue similar para los tres genotipos bajo estudio. Resultados similares fueron obtenidos en vacas Holstein (Ng-Kwai-Hang *et al.* 1984/1990) y estudios más recientes. (Bartonova *et al.*, 2011; Kemal 2011 y Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1990). Sin embargo Van Eenennaam y Medrano (1991) obtuvieron una mayor producción de leche en el genotipo AB. En el Criollo Limonero la producción de leche fue mayor para el genotipo AB/AA de la κ -caseína/ β -lactoglobulina (Aranguren *et al.* 2011). Sin embargo, vacas de genotipo BB tuvieron menor producción de leche (Kalashnikova *et al.*, 2009; Kucerova, 2006; Sitkowska *et al.* (2008), con superioridad en 4.8 % del genotipo AA.

No hubo diferencia estadística significativa en la composición química de la leche entre los genotipos del gen de la κ -caseína (Cuadro 1). Composición química de la leche entre los genotipos de la κ -caseína (Cuadro 1). Mayor producción de proteína ha sido estimada en vacas Holstein con genotipo BB de la κ -caseína (Van Eenennaam y Medrano 1991). Boettcher *et al.* (2004) estimó un mayor porcentaje de proteína ($P = 0.01$) en vacas Suizo Pardo de Italia, en haplotipos de las caseínas α_{s1} , β y κ , en presencia de la variante B de la κ . El año-estación y número de parto no tuvieron efecto significativo en la producción y composición

química de la leche ($p>0.05$), excepto para el porcentaje de proteína y producción de lactosa. El contenido de proteína por año-estación varió de 3.41 a 3.91 %.

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados efecto del genotipo del gen de la κ -caseína en la producción y composición de la leche de vacas Criollo Lechero Tropical.

Característica	Genotipo		
	AA	AB	BB
Leche a 305 d (Kg)	1128 ± 103	1193 ± 64	1182 ± 78
Leche d de muestreo (Kg)	3.7 ± .60	3.9 ± .40	4.1 ± .50
Grasa (%)	3.8 ± .50	3.6 ± .50	3.7 ± .50
Proteína (%)	3.7 ± .10	3.7 ± .40	3.7 ± .12
Lactosa (%)	4.4 ± .10	4.6 ± .10	4.6 ± .10
SNG (%)	8.8 ± .10	9.0 ± .10	9.0 ± .13
ST (%)	12.6 ± .50	12.7 ± .50	12.6 ± .50
Grasa (gr)	.14 ± .02	.13 ± .01	.15 ± .02
Proteína (gr)	.13 ± .02	.14 ± .01	.15 ± .01
Lactosa (gr)	.16 ± .02	.19 ± .02	.18 ± .02
SNG (gr)	.33 ± .05	.36 ± .04	.40 ± .05
ST (gr)	.47 ± .07	.50 ± .06	.50 ± .06
NUL	14.0 ± .80	14.0 ± .70	14.7 ± .90
CCS	699 ± 436	771 ± 347	847 ± 438
L (CCS)	5.4 ± .50	4.7 ± .46	5.5 ± .60

SNG = Sólidos no grasos; ST = Solidos totales; NUL = Nitrógeno Ureico; CCS = conteo de células somáticas; L (CCS) = Logaritmo natural de conteo de células somáticas.

Tsiaras *et al* (2005) indicaron que las variaciones en la composición química de alélicas de la κ -caseína y los resultados de composición de leche están relacionadas con el manejo de las vacas, alimentación, tamaño de la población y la raza; así como el número de datos y de genotipos formados con otras variantes alélicas de otras caseínas (Boettcher, *et al.* 2004).

4. CONCLUSIONES

La frecuencia de la variante B del gen de la κ -caseína en hembras CLT fue alta, en comparación de algunas razas europeas templadas y cebuinas, lo que a su vez está relacionada con la baja frecuencia del genotipo AA. Sin embargo, no se encontraron diferencias en rendimiento y composición química de la leche entre los tres genotipos identificados. Se sugiere estudiar el efecto de las variantes de diferentes genes que pudieran afectar la producción y composición de leche de las vacas CLT.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece la beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), para la realización de los estudios de postgrado del primer autor. Especial agradecimiento a los campus Montecillo y Veracruz del Colegio de Postgraduados por sus valiosas aportaciones para la realización de este estudio. Al personal y alumnos del laboratorio de Genética Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

6 LITERATURA CITADA

- Aleandri, R., Butazzoni, L.G., Schneider, J.C.; Caroli, A., Davoli, R. 1990. The effects of milk protein polymorphisms on milk component and cheese-producing ability. *J. Dairy Sci.* 73: 241-255.
- Aranguren, J., Portillo, M., Valbuena, Rincón, X., Yañez, L., Rojas, I. Martinez, G.y Contreras, G. 2011.Efecto del polimorfismo de las proteínas lácteas sobre la producción y composición de la leche en ganado Criollo Limonero. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XXI, N° 6, 517 – 532.*
- Aranguren, J., Portillo, M., Villasmil, Y., Valbuena, E., Rincón, X., Yañez, L., Rojas, I., Contreras, G. 2009. Polimorfismo genético de la Kappa-Caseína en Ganado criollo limonero. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIX, N° 6, 645 – 649.*
- Bartonova, P., Vrtkova, I., Kaplanova, K and Urban, T. 2011. Association between CSN3 and BCO2 gene polymorphisms and milk performance traits in the Czech fleckvieh cattle breed. *Genet. Mol. Res.* 11 (2) 1058-1063.
- Boettcher, P. Caroli, A., Stella, A. Chessa, S. Budelli, E. Canavesi, F. Ghiroldi, S. and Pagnacco, G. 2004. Effects of casein haplotypes on milk productions traits in Italian Holstein and brown swiss cattle. *American dairy science association.* Vol. 87. No. 12.
- Braunschweig, M; Hagger, C; Stranzinger, G. Y Puhan Z. 2000. Associations between Casein haplotypes and Milk production traits of Swiss Brown cattle. *J. Dairy Sci.* Vol. 76; p.1387-1395.

- De Alba, J. 1997. Polimorfismo en caseína y la calidad de la leche en ganados criollos lecheros. Archivos latinoamericanos de producción animal. Vol. 5 (4) 21-26.
- Eenennaam, A., and Medrano, J. F. 1991. Milk protein polymorphism in California dairy cattle. J. Dairy Sci. 74:1730-1742.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de México. 191 p.
- Grosclaude, F., M. F. Mahe', J. C. Mercier, and B. Ribadeau-Dumas. 1972. Localisation des substitutions d'acides amines differenciant les variants A et B de la caseine κ bovine. Ann. Genet. Sel. Anim. 4:515–521.
- Grosclaude, F. 1988. Le polymorphisme génétique des principales lactoprotéines bovines. INRA: *Prod. Anim.* 1: 5-17.
- Kalashnikova, L., Khabibrakhmanova, Y. And Tinev, S. 2009. Effect of polymorphism of milk protein and hormone genes on milk productivity of black pied cows. Russian Agriculture Science. 31 (3) 192-195.
- Kemal, E. 2011. Association between milk protein polymorphism and milk production traits in black and white cattle in Turkey. African Journal of Biotechnology. Vol. 10(6) 1044-1048.
- Kucerova, J., Matejicek, A., Janduroba, O., Sorensen, P., Memcova, M. Stipkova, M., Kott, T., Bouska, J. Frelich, J. 2006. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk

- production parameters in Czech Fleckvie. Czech J. Anim. Sci., 51 (6) 241-247.
- Marzali, S.A.; Ng-Kwai-Hang, K.F. 1986. Relationship between milk protein polymorphism and cheese yielding capacity. *J. Dairy Sci* 69: 1193-1201.
- Medrano, J. F.; Cordova, A. E. 1990. Genotyping of bovine Kappa-Casein loci following DNA sequence amplification. *Nature Biotechnology*. 8, 144-146.
- Meza, M. A., Gonzalez, A. F., Becerril, C. M., Rosendo, A., Díaz, P., Ruiz, F de J., Vallejo, B. 2012. Relación de las variantes A y B de la β – lactoglobulina con la producción y composición de la leche de vacas holstein y criollo lechero tropical. *Agrociencia* 46: 15 – 22.
- Miller S. A. Dykes D. Polesky H. F. 1989. A simple procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16:1216.
- Molina, L. H.; Casanova, M.; Gonzalez, L. A.; Pinto, M.; Carrasco, E. Y Brito, C. 2003. Identification of the genetic variants of κ -casein in milk by isoelectric focusing electrophoresis. En: *International Journal of Dairy Technology*. Vol. 56(4). p.211-214.
- Ng–Kwai–Hang, K. F., H. G. Monardes, and J. F. Hayes. 1990. Association between genetic polymorphism of milk proteins and productions traits during three lactations. *J. Dairy Sci*. 73: 3414-3420.
- Ng–Kwai–Hang, K. F., J. F. Hayes, J. E. Moxley and H. G. Monardes. 1984. Association of genetic variants of casein and milk suerum proteins whit

milk, fat and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 67: 835-840.

Plowman, J. E. Y Creamer, L. K. 1995. Restrained molecular dynamics study of the interaction between bovine κ -casein peptide 98-111 and bovine chymosin and porcine pepsin. En: *J. Dairy Res.* Vol. 62 . 451–467.

Rosendo, A. and Becerril, C.M. 2002. Productive performance and genetic parameters in the tropical milking Criollo cattle in Mexico. Proc. 7th World Congress Genetic Applied Livestock Production. Montpellier, France. Commun N° 25-25.

Rouse, J. E. 1977. *The Criollo. Spanish cattle in the Americas.* University of Oklahoma Press. Oklahoma. 303 p.

Sitkowska, B., Neja, W. and Wisniewska, E. 2008. Relations between Kappa-Casein polymorphism (CSN3) and milk performance traits in heifer cows. *Journal Central European Agriculture.* Vol. 9 (4) 641-644.

Swaisgood, H. E. 1993. Review and update of casein chemistry. En: *J. Dairy Sci.* Vol. 76. p.3054–3061.

Tsiaras, M., Bargouli, G., Bano, G. and Boscós. M. 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J. Dairy Science Association.* Vol. 88 (1)