



Universidad Autónoma de Chiapas

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



**Frecuencia de polimorfismo del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en  
bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa, Chiapas**

**TESIS**

Que para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**

Presenta

**Miguel Cruz Gálvez**

Director de tesis

**Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo**

**Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México**

**Enero, 2020**



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

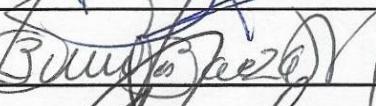
**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**

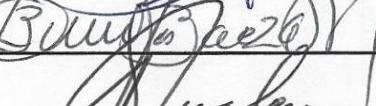
Esta tesis titulada **Frecuencia de polimorfismo del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa, Chiapas**, fue realizada por el MVZ. Miguel Cruz Gálvez, ha sido aprobada por la comisión revisora asignada, como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**.

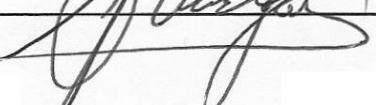
**COMISIÓN REVISORA**

Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo \_\_\_\_\_ 

Dr. Benigno Ruiz Sesma \_\_\_\_\_ 

M.C. Carlos E. Ibarra Martínez \_\_\_\_\_ 

Dr. José Miguel Barrientos Baeza \_\_\_\_\_ 

M.C. Fernando Santiago Melgar \_\_\_\_\_ 



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

## MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL

Esta tesis titulada **Frecuencia de polimorfismo del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa, Chiapas**, fue realizada por el MVZ. Miguel Cruz Gálvez, bajo la dirección y asesoría del Comité Tutorial indicado, como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.

### COMITÉ TUTORIAL

#### DIRECTOR

  
Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo

#### ASESORES

Dr. Benigno Ruiz Sesma

M.C. Carlos E. Ibarra Martínez

Dr. José Miguel Barrientos Baeza

## **DEDICATORIAS**

A Dios, por haberme permitido cumplir con éxito una etapa tan importante en mi vida.

A mi familia Miguel Cruz López, Verónica Gálvez Hernández, Magalis Cruz Gálvez, Cecilia Cruz Gálvez, Brenda Ovando Diaz por su incondicional apoyo y tan sabios consejos en los momentos que más lo he necesitado.

A mi asesor Dr. Gerardo Uriel Trujillo, por su apoyo en todo momento durante la realización de la tesis y por su apoyo como amigo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Alma Máter la Universidad Autónoma De Chiapas

Al programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical por brindarme de las herramientas necesarias para formarme profesionalmente.

A la Facultad de Medicina Veterinaria Y zootecnia por pasar a ser mi segunda casa, donde pude formarme como profesionista.

Al CONACYT por el apoyo económico para realizar la maestría.

Al Dr. Gerardo Uriel Bautista Trujillo por fungir como mi director de tesis.

Al Dr. Benigno Ruiz Sesma, MC. Carlos Ibarra Martínez, Dr. José Miguel Barrientos Baeza, Dr. Fernando Santiago Melgar por participar como asesores de tesis.

A todos los que directa o indirectamente colaboraron para qué esta investigación llegara a buen término.



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CHIAPAS

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**

Esta tesis titulada **Frecuencia de polimorfismo del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa, Chiapas**, forma parte de la línea de investigación del cuerpo académico Producción Animal Tropical Sostenible

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: Caracterización y conservación de recursos genéticos, del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agropecuaria Tropical

## CONTENIDO

Aprobación de la comisión revisora .....	ii
Presentacion del comité tutorial .....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento .....	v
Presentación del cuerpo academico y LGAC que atiende .....	vi
Lista de cuadros .....	ix
Lista de Figuras .....	x
Resumen .....	xi
<b>I. INTRODUCCION .....</b>	<b>1</b>
1.1 Objetivos.....	3
a) Objetivo general .....	3
b) Objetivos específicos.....	3
1.2 Hipótesis .....	3
<b>II. REVISION DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Historia de la ganadería bovina.....	4
2.1.1 Producción bovina .....	4
2.1.2 Ganado bovino de doble propósito .....	5
2.1.3 Situación actual de la producción de leche en México .....	7
2.2 Componentes de la leche .....	8
2.2.1 El agua .....	8
2.2.2 La grasa.....	9
2.2.3 Hidratos de carbono.....	11
2.2.4 Vitaminas .....	11
2.2.5 Minerales .....	12
2.2.6 Proteínas .....	12
2.2.6.1 Caseínas.....	14
2.2.6.1.1 Kappa caseína .....	14
2.2.6.2 Proteínas séricas .....	15
2.2.6.2.1 Beta lactoglobulina.....	15
2.2.6.2.2 Alfa lactoalbúmina.....	16
2.2.6.3 La albumina .....	16
2.2.6.4 Las globulinas .....	16
2.3 Kappa caseína como indicador en producción de quesos.....	17
2.4 Mejoramiento genético bovino .....	17
2.5 Selección y cruzamiento de ganado bovino .....	18
2.6 Selección tradicional .....	18
2.7 Selección por pedigrí .....	19
2.8 Selección por prueba de progenie .....	19
2.9 Selección asistida por marcadores.....	20
2.10 Marcadores asociado a la calidad de la leche .....	21

2.10.1 Gen kappa-caseína.....	21
2.10.2 Gen $\beta$ -lactoglobulina .....	22
2.11 Ley de Hardy-Weinberg .....	23
<b>III. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Localización del área de estudio .....	24
3.1.1 Extensión territorial .....	24
3.1.2 Fisiografía.....	25
3.1.3 Edafología .....	25
3.1.4 Topoformas .....	25
3.1.5 Geología .....	25
3.1.6 Clima .....	25
3.2 Características generales .....	26
a) Criterios de inclusión .....	26
b) Criterios de exclusión .....	26
3.3 Número de muestras.....	26
3.4 Toma de muestras .....	27
3.5 Extracción de ADN en sangre bovina.....	27
3.6 Reacción En Cadena De La Polimerasa (PCR) .....	28
3.7 Identificación de Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción de los genes kappa-caseína y $\beta$ -lactoglobulina .....	29
3.8 Análisis estadístico .....	31
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
<b>V. DISCUSION .....</b>	<b>39</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>43</b>

<b>Lista de cuadros</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1. Estados de México con mayor producción de leche al año (miles de litros).....	7
Cuadro 2. Principales ácidos grasos presentes en la leche de vaca, porcentaje aproximado.....	10
Cuadro 3. Principales proteínas de la leche de vaca, porcentaje aproxima.....	13
Cuadro 4. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas.....	37
Cuadro 5. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen Kappa-caseína en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas.....	37
Cuadro 6. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de los municipios Pijijiapan, Arriaga y Tonalá del estado de Chiapas.....	38
Cuadro 7. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen Kappa-caseína en bovinos Cebú-Suizo de los municipios Pijijiapan, Arriaga y Tonalá del estado de Chiapas.....	38
Cuadro 8. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen $\beta$ -lactoglobulina en sementales bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas.....	39
Cuadro 9. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen $\beta$ -lactoglobulina en sementales bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas.....	39

<b>Lista de Figuras</b>	<b>Página</b>
Figura 1. Vaca doble propósito del municipio de Pijijiapan, Chiapas en ordeño manual con becerro al pie.....	6
Figura 2. Presencia del semental en hato ganadero en rancho de Pijijiapan, Chiapas.....	6
Figura 3. Producción de leche anual en México de los años 2008-2018.....	8
Figura 4. Localización del área de estudio zona Istmo-Costa de Chiapas.....	24
Figura 5. Toma de muestra de sangre bovina de la vena coccígea.....	27
Figura 6. Extracción de ADN en campana de flujo laminar.....	29
Figura 7. Reacción en Cadena de la Polimerasa en un Termociclador.....	29
Figura 8. Cámara de Electroforesis.....	30
Figura 9. Muestras incubadas en el Thermo-Shaker durante tres horas.....	31
Figura 10. Fotodocumentador para visualizar las bandas en el gel de agarosa.....	31
Figura 11. Bandas con peso molecular de 453pb del gen kappa-caseína.....	33
Figura 12. Bandas con peso molecular de 262pb del gen $\beta$ -lactoglobulina.....	33
Figura 13. Polimorfismo del gen kappa-caseína por PCR-RFLP utilizando la enzima de restricción <i>Hinf</i> I y el polimorfismo del gen $\beta$ -lactoglobulina utilizando la enzima <i>Hae</i> III.....	34
Figura 14. Árbol de decisión de los genotipos del gen $\beta$ -lactoglobulina.....	35
Figura 15. Árbol de decisión de los genotipos del gen Kappa-caseína.....	36

## **Resumen**

En este estudio se presentan los resultados de la frecuencia del polimorfismo de los genes  $\beta$ -lactoglobulina y Kappa-caseína en bovinos Cebú-Suizo de tres municipios, Pijijiapan, Arriaga y Tonalá que conforman la zona Istmo-Costa de Chiapas, basados en análisis de ADN por PCR-RFLP de muestras de sangre de 210 animales. Se observó la frecuencia alélica por zona para el gen  $\beta$ -lactoglobulina en vacas, el alelo B 0.64 > A 0.36 y en sementales B 0.56 > A 0.44, las frecuencias genotípicas en vacas fue AB 0.653 > BB 0.312 > AA 0.035 y en sementales AB 0.87 > BB 0.13. Las frecuencias alélicas por municipios se presentaron similares a la zona, siendo mayor el alelo B y el genotipo AB, con excepción de Arriaga donde prevaleció el BB. Los resultado obtenidos por zona del gen Kappa-caseína fueron para la frecuencia alélica A 0.67 > B 0.33 y en toros A 0.64 > B 0.36; las frecuencias genotípicas AA 0.5 > AB 0.33 > BB 0.17 y en toros AA 0.57 > BB > 0.29 > AB 0.14. Los resultados por municipios para Kappa-caseína fueron similares a la zona.

La población estudiada no se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg para ambos genes, lo que asume que puede ser consecuencia de endogamia o de selección características no relacionada con los sólidos totales, como la producción de litros de leche. Se sugiere implementar la selección de sementales asistida por marcadores moleculares, permitiendo así elegir la orientación de la mejora genética dentro del hato.

## **Palabras clave**

Bovino, genotipo, alelo, kappa-caseína,  $\beta$ -lactoglobulina

## I. INTRODUCCION

Dentro de las actividades pecuarias en México, la producción de leche bovina ocupa el tercer lugar con un 17.22%, entre los estados de mayor producción se encuentran Jalisco, Coahuila y Durango; Chiapas ocupa el octavo lugar a nivel nacional. Para el año 2018 México produjo 12,008,239 miles de litros de leche, ocupando la octava posición en producción láctea a nivel mundial; sin embargo, la producción nacional de leche es superada por la demanda que es cubierta por 60% de leche importada y mantiene el tercer lugar en la importación de leche en polvo en el mundo (SIAP-SADER, 2018).

Las cruzas obtenidas entre las razas *Bos taurus* y *Bos indicus* en la ganadería chiapaneca permite obtener animales adaptados a las condiciones ambientales y topográficas de la región, además de la resistencia a enfermedades. Sin embargo, la falta de asesoría a dichos productores ha generado un rezago en el mejoramiento genético La selección clásica en el ganado bovino, se ha basado mayormente en rasgos cuantitativos tales como rendimiento de grasa, proteína y leche, los cuales se asume que están controlados por loci múltiples (Cervantes *et al.*, 2007).

El contenido total de proteínas en leche bovina es alrededor de 35 g con el 80% representado por las caseínas  $\alpha$ S1,  $\alpha$ S2,  $\beta$ -1 y  $k$ -CN, 10% por  $\beta$ -lactoglobulina, 2% por  $\alpha$ -lactoalbumina y componentes traza de enzimas e inmunoglobulinas (Naranjo *et al.*, 2007). El gen kappa-caseína ( $k$ -CN) codifica para la proteína kappa caseína, una de las proteínas presentes en la leche. La proteína sérica  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG) presenta tres variantes genéticas principales, A, B y C (Paterson *et al.*, 1995a), particular, la variante B de la  $\beta$ -LG está asociada con un mayor rendimiento de queso y a una menor producción de leche (Ng-Kwai-Hang, 1998 según Meza-Nieto *et al.*, 2009).

Del gen de la  $k$ -CN se han descrito seis variantes alélicas: A, B, C, E, F y G. Diversos estudios han demostrado que el genotipo BB del gen  $k$ -CN está relacionado con la mayor producción y calidad de la leche en bovinos. La leche bovina que contiene  $k$ -CN del tipo B presenta mayor rendimiento de leche en la primera lactancia y en múltiples lactancias (Cervantes *et al.*, 2007), además, contenido proteico más alto en la leche, mayor estabilidad al calor y a la congelación, menor tiempo de coagulación,

cuajo más consistente y 5-10% más rendimiento quesero (Barroso *et al.*, 1998). Sin embargo, no ha sido estudiada la frecuencia genotípica que codifica para el gen k-CN y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos cebú-suizo en la zona Istmo-Costa de Chiapas.

Ante la creciente demanda de leche y sus derivados, se plantean diferentes estrategias para aumentar la producción, entre ellas la nutrición, manejo, sanidad, genética. Obtener ejemplares de buena genética sin duda es de gran importancia para que las demás estrategias obtengan un resultado exitoso. En la actualidad, la selección clásica de reproductores se puede complementar con la utilización de técnicas moleculares como PCR-RFLP para identificar genes relacionados con la calidad de la leche. De esta manera se contribuye al incremento del progreso genético, por efecto de la disminución del intervalo generacional.

## **1.1 Objetivos**

### **a) Objetivo general**

- Determinar la frecuencia genotípica que codifica para el gen k-CN y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos cebú-suizo en la zona Istmo-Costa de Chiapas

### **b) Objetivos específicos**

- Identificar el tipo de alelo del gen que codifica para la kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos cebú-suizo en la zona Istmo-Costa de Chiapas
- Determinar la frecuencia alélicas del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos cebú-suizo en la zona Istmo-Costa de Chiapas

## **1.2 Hipótesis**

a) Ho: Existe un equilibrio de la población en las frecuencias genotípicas del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina

b) H1: No existe un equilibrio de la población en las frecuencias genotípicas del gen kappa caseína y  $\beta$ -lactoglobulina

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1 Historia de la ganadería bovina

La domesticación de las vacas empezó hace aproximadamente 8 mil años con gente que había estado viviendo con ganado salvaje durante siglos. Algunas personas dicen que esto sucedió por primera vez en el oeste de Asia. No pasó mucho tiempo antes que mucha gente en el Oriente Medio y África del norte tuviera a su ganado bajo cierto control (Dirk, 1985).

La domesticación del bovino se ha documentado profusamente y existen datos claros que indican tres episodios bien definidos de domesticación inicial para tres uros (*Bos primigenius*) distintos: la subespecie *B. primigenius primigenius*, domesticada en el Círculo Fértil hace alrededor de 8 000 años; la subespecie *B. p. opisthonomous*, posiblemente domesticada antes, hace unos 9 000 años, en la región nororiental del continente africano (Wendorf y Schild, 1994); y los antepasados del bovino *B. taurus* sin giba del Cercano Oriente y África, respectivamente. Actualmente se cree que el cebú con giba (*Bos indicus*) se ha domesticado más tarde, hace unos 7 000 u 8 000 años, en la región del valle del Indo del actual Pakistán (Loftus et al., 1994; Bradley et al., y 1996; Bradley y Magee, 2006).

No existe nada parecido a las vacas lecheras entre el primer ganado doméstico. De hecho pasaron muchos años antes que las vacas fueran la principal fuente de leche o queso, desplazando a las cabras, borregos, venados, búfalos de agua, camellos y caballos, y estos solo en algunas zonas del mundo.

Se piensa que al inicio las vacas fueron domesticadas para proporcionar carne, cuero y cuernos, ya sea directamente o mediante sacrificios para alegrar a los espíritus que cuidan a los bueyes salvajes.

#### 2.1.1 Producción bovina

La producción y el consumo de productos de origen animal han experimentado un rápido crecimiento en todo el mundo y se prevé que continuarán aumentando.

Mientras que los sistemas ganaderos tradicionales contribuyen a los medios de vida del 70 % de la población rural pobre del mundo, son las nuevas empresas en gran escala con tecnología avanzada y que comercian en el mercado internacional las que cada vez en mayor medida satisfacen la demanda de carne, leche y huevos de unos mercados en rápido crecimiento (FAO, 2019).

La producción de leche tiene un enorme potencial en América latina. Existen grandes extensiones de tierras donde solo es factible la explotación ganadera. Muchos subproductos agrícolas y esquilmos pueden ser aprovechados con éxito por el ganado. Además en algunas zonas el clima no es extremoso, por lo que es apto para los bovinos de leche (DGTA, 1985).

El factor principal, que hasta el presente ha impedido un adecuado desarrollo de la producción de leche en América Latina, es el manejo especialmente en lo que se refiere a la alimentación de las vacas en producción. Otras deficiencias se encuentran en la genética , falta de higiene y el inadecuado combate de enfermedades.

### **2.1.2 Ganado bovino de doble propósito**

En la ganadería existen diferentes sistemas de explotación, tanto para la producción de leche o de carne con ganadería especializada para cada fin zootécnico. También existe un sistema de producción de doble propósito, con el que se busca la producción de leche y de carne en niveles aceptables, utilizando cruzas entre diferentes razas de bovinos.

En las regiones tropicales de América Latina, el sistema de producción bovina de Doble Propósito se desarrolla principalmente bajo el sistema de manejo de pastoreo extensivo (Vilaboa y Díaz, 2019) y es una de las principales actividades productivas del sector agropecuario para la producción de leche y carne (Orantes *et al.*, 2010). En Latinoamérica, en México y particularmente en Chiapas en la explotación del sistema de doble propósito, los productores obtienen ingresos económicos por la venta de leche y carne al mercado local y regional (Vera *et al.*, 1994, Cortes *et al.*,

2003). La ordeña es manual y para estimular el descenso de la leche, el ordeñador usa al becerro, (Figura 1).



Figura 1. Vaca doble propósito del municipio de Pijijiapan, Chiapas en ordeño manual con becerro al pie.

La alimentación del sistema bovino de producción doble propósito es mediante el pastoreo extensivo y la fuente genética es la crusa entre las razas Bos indicus x bos Taurus (F1) (cebu x suizo; cebu x holandés y cebu x simental, entre otras) (orantes, 2010).

Por la adaptabilidad del sistema de bovinos de doble propósito en las regiones tropicales, es notoria su resistencia a enfermedades, en la producción de leche y carne (koppel *et al*, 1984).

En las explotaciones de doble propósito se ocupa la monta natural, contando con uno o dos sementales (Figura 2).



Figura 2. Presencia del semental en hato ganadero en rancho de Pijijiapan, Chiapas.

### 2.1.3 Situación actual de la producción de leche en México

Dentro de las actividades pecuarias la producción de leche ocupa la tercera posición en importancia económica con un 17%, solamente superado por la producción de carne de res y ave. La producción nacional de leche fue de 12,008,239 miles de litros; con dicha cifra México ocupa la octava posición a nivel mundial en producción láctea, sin embargo ocupa el tercer lugar en importación de leche en polvo en el mundo. Para el año 2019 el consumo de leche en México fue cubierto por un 43% de producción nacional y 57% de importación, principalmente de Estados Unidos de América y China.

La producción de leche en México para el año 2018 se concentró en pocos estados, siendo los principales productores Jalisco, Coahuila y Durango (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estados de México con mayor producción de leche al año (miles de litros)

Estado	Miles de litros
Total nacional	12,008,239
Jalisco	2,433,017
Coahuila	1,353,017
Durango	1,226,362
Chihuahua	1,128,405
Guanajuato	850,063
Veracruz	723,615
Puebla	445,751
Chiapas*	433,738
México	429,786

Aguascalientes 422,881

\*Chiapas ocupa la octava posición a nivel nacional

Datos obtenidos de SIAP-SADER

La producción de leche en México del año 2008-2018, se ha comportado de manera ascendente (Figura 3)

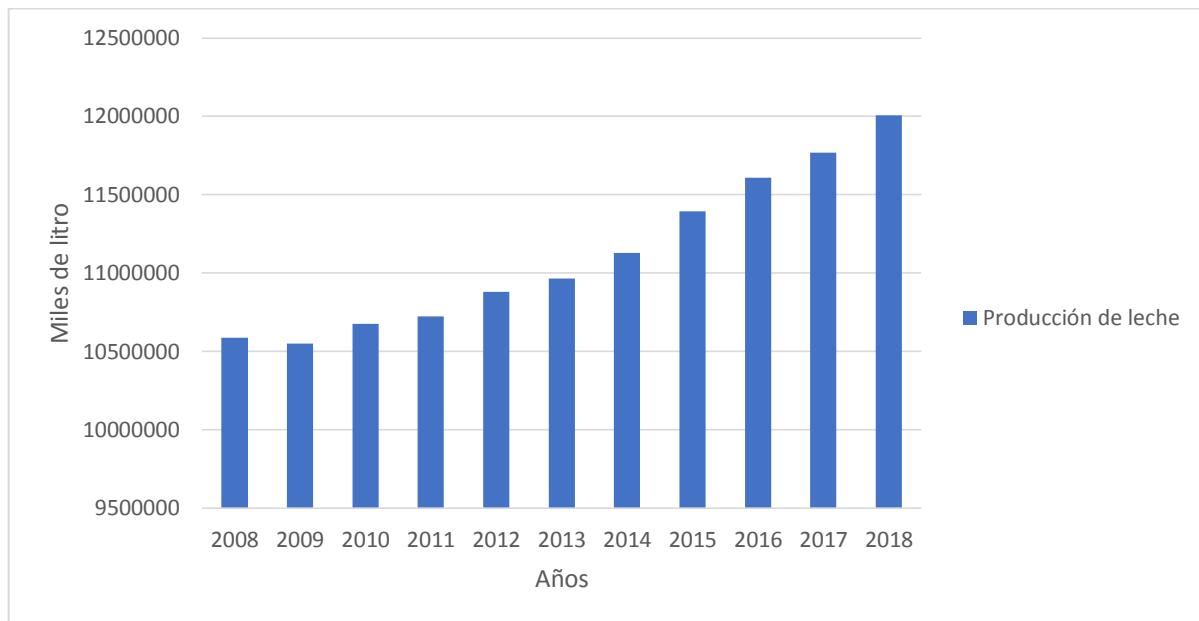


Figura 3. Producción de leche anual en México de los años 2008-2018

## 2.2 Componentes de la leche

La leche de vaca es un alimento básico en la alimentación humana en todas las etapas de la vida. Su procesamiento industrial ha permitido el acceso generalizado a su consumo por parte de la población (Fernández *et al.*, 2015).

La leche es una compleja mezcla de distintas sustancias, presentes en suspensión o emulsión y otras en forma de solución verdadera y presenta sustancias definidas: agua, grasa, proteína, lactosa, vitaminas, minerales; a las cuales se les denomina extracto seco o sólidos totales. Los sólidos totales varían por múltiples factores como lo son: la raza, el tipo de alimentación y el estado sanitario de la vaca entre otros (Gómez, *et al.*, 2005).

### 2.2.1 El agua

El agua es el principal componente de la leche (FAO, 2016); representa aproximadamente entre 82% y un 82.5% de la leche (Gómez *et al.*, 2005). Por su importante contenido de agua, la leche permite que la distribución de sus componentes sea relativamente uniforme y de esta forma cualquier cantidad de leche, por pequeña que sea, contiene casi todos los nutrientes disponibles (Estrada, 2011).

El agua es la fase dispersante, en la cual los glóbulos gramos y demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. Las sustancias proteicas se encuentran formando un coloide en estado de “sol” liófobo (caseína y globulina) o liófilo (albumina), mientras que la lactosa y las sales se hallan en forma de solución verdadera. El peso específico de la leche oscila entre 1.027 y 1.035, con una media de 1,032. El punto de congelación se encuentra por término medio entre -0.51 °C y -0.55 °C en virtud de la lactosa y sales disueltas; la técnica de su determinación se llama crioscopía y ha sido también adoptada en el examen de la leche para determinar posibles adulteraciones por adición de agua. También puede influir sobre el punto de congelación de la leche la acidificación, en cuyo caso el punto crioscópico disminuye. El calentamiento de la leche origina la elevación del punto de congelación (Gómez *et al.*, 2005).

### **2.2.2 La grasa**

La grasa es el elemento más variable de la leche y determinante principal de sus propiedades físicas y organolépticas (Fernández, 2015); La grasa fluctúa entre 2,5 a 5.5% y es considerada la variable más importante para la industrialización de la leche (Augustin y Versteeg, 2006, según WingChing-Jones y Mora-Chaves, 2013)

La grasa láctea se sintetiza en su inmensa mayoría en las células secretoras de la glándula mamaria y constituye cerca del 3% de la leche (Gómez, 2005). La grasa láctea está presente como glóbulos microscópicos en una emulsión de lípidos y agua (Heid y Keenan, 2005; Singh, 2006, según García, 2014). Se forman miles de glóbulos de tres a cuatro micras de diámetro por término medio, variando de 1 a 25 micras. Cuando se deja la leche en reposo, estos glóbulos ascienden formando una capa de nata. Estos glóbulos están protegidos por membranas, evitando así ataques enzimáticos (Zabala, 2005).

La grasa de la leche de vaca es considerada como una de las grasas más complejas de origen natural, debido a la gran cantidad de ácidos grasos con diferentes estructuras bioquímicas, peso molecular, y grado de insaturación (Harvatine *et al.*, 2009, según García *et al.*, 2014).

Los ácidos grasos de la leche de vaca, se originan casi por igual de sus dos fuentes, la alimentación y la actividad bacteriana en el rumen (Mansson, 2008). El contenido de ácidos grasos saturados es más bajo en el verano cuando las vacas pastan y más alto en el invierno debido a la alimentación en interiores. El contenido de los ácidos grasos insaturados muestra el patrón opuesto con la mayor cantidad en el verano.

La grasa láctea está compuesta aproximadamente por 70% de ácidos grasos saturados, 26% de ácidos grasos monoiinsaturados, y 4% de ácidos grasos poliinsaturados (Jensen. 2002).

El ácido graso más importante desde el punto de vista cuantitativo es el ácido palmítico que representa el 30% en peso de los ácidos grasos totales. El ácido mirístico y el ácido esteárico representan el 11 y el 12% en peso, respectivamente. Los ácidos grasos monoinsaturados son el ácido oleico (23%). Los principales ácidos grasos poliinsaturados son el ácido linolenico y el ácido  $\alpha$ -linolenico (Mansson, 2008).

Cuadro 2. Principales ácidos grasos presentes en la leche de vaca, porcentaje aproximado

Nombre común	Nomenclatura química	%	Número de átomos C <sup>1</sup>	H <sup>2</sup>	O <sup>3</sup>	Enlaces dobles	Estado <sup>4</sup>
<b>Ácidos grasos saturados</b>							
Butírico	Butanoico	4,5	4	8	2	0	Líquido
Caproico	Hexanoico	2,2	6	12	2	0	
Caprílico	Octanoico	2,5	8	16	2	0	
Cáprico	Decanoico	3,8	10	20	2	0	Sólido
Láurico	Dodecanoico	5,0	12	24	2	0	
Mirístico	Tetradecanoico	11,0	14	28	2	0	
Palmítico	Hexadecanoico	25,0	16	32	2	0	
Esteárico	Octadecanoico	7,0	18	36	2	0	
<b>Ácidos grasos monoinsaturados</b>							
Oleico	Octadecenoico <i>cis</i> -9 <sup>(8)</sup>	3,0	18	34	2	1	
<b>Ácidos grasos poliinsaturados</b>							
Linoleico	Octadecadienoico <i>cis</i> -9,12	2,0	18	32	2	2	Líquido
Linolénico	Octadecatrienoico <i>cis</i> -6,9,12	0,7	18	30	2	3	
Araquidónico	Eicosatetraenoico <i>cis</i> -5,8,11,14	0,7	20	32	2	4	

<sup>1</sup>carbono, <sup>2</sup>hidrogeno, <sup>3</sup>oxígeno, <sup>4</sup>temperatura ambiente. Modificado a partir de (Bylund, 2003), con información de (MacGibbon y Taylor, 2006; Mansson, 2008).

### **2.2.3 Hidratos de carbono**

Los hidratos de carbono no son sólo una fuente importante de producción rápida de energía en las células, sino que son también bloques de construcción estructurales de las células y componentes de numerosas rutas metabólicas (McKee *et al.*, 2003).

Lactosa es el hidrato de carbono mayoritario de la leche, que participa además en la síntesis de glucolípidos cerebrósidos (esenciales en el desarrollo neurológico temprano) y de glicoproteínas, (fernandez *et al.*, 2015). La proporción de lactosa oscila entre 3.8 y 5.3% (Walstra *et al.*, 2006, según WingChing-Jones y Mora-Chaves, 2013).

La lactosa es un disacárido presente en la leche de los mamíferos que supone la mayor fuente de hidratos de carbono durante la lactancia. Se sintetiza por acción de la lactosa sintetasa a partir de la glucosa en la glándula mamaria, y está formada por una molécula de glucosa y otra de galactosa unidas por un enlace  $\beta$ -1,4 (Infante, 2018).

Además de la lactosa la leche contiene otros hidratos de carbono no absorbibles, los oligosacáridos, que promueven la existencia de una flora bifidógena en el intestino. Constituyen la fibra soluble de la leche (Fernández *et al.*, 2015).

### **2.2.4 Vitaminas**

Las vitaminas son nutrientes necesarios para el buen funcionamiento celular del organismo y a diferencia de algunos minerales, actúan en dosis muy pequeñas (Chazi, 2006).

La leche de vaca entera tiene cantidades significativas de algunas vitaminas hidrosolubles y liposolubles (Fernández *et al.*, 2015). La leche contiene vitaminas como la A, D, E, K, B1, B2, B6, B12, C, carotenos, nicotinamida, biotina, ácido fólico, su concentración está sujeto a grandes oscilaciones (Gómez *et al.*, 2005). Un

porcentaje elevado de los requerimientos de vitaminas B12, riboflavina, vitamina A, niacina y piridoxina se cubren con el consumo de leche recomendado según la edad (Michaelsen *et al.*, 2007).

El calostro posee una extraordinaria riqueza vitamínica, contiene de 5 a 7 veces más vitamina C y de 3 a 5 veces más vitaminas B2, D y E que la leche normal. También influye la época del año, tiempo atmosférico, ambiente y alimentación; este último factor repercute en los carotenos y en la vitamina A como consecuencia de la abundante ingestión de carotenos cuando la base de la alimentación son forrajes frescos (Gómez *et al.*, 2005).

### **2.2.5 Minerales**

Alrededor del 1% de los componentes de la leche son minerales, presentes en forma tanto de sales orgánicas como inorgánicas 13. Es, por tanto, una importante fuente de estos elementos para suprir las necesidades de crecimiento y desarrollo, así como para mantener un adecuado equilibrio iónico del medio interno (homeostasis) (Fernández *et al.*, 2015).

La leche de vaca contiene sodio, potasio, magnesio, calcio, manganeso, hierro, cobalto, cobre, fosforo, fluoruros, yoduros. Además, se reconoce la presencia de otros en cantidades vestigiales, como el aluminio, molibdeno y plata. En la membrana de los glóbulos grasos se encuentran en mayor concentración el calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, fosforo y zinc. Una parte de los metales sobre todo los alcalinos y los halógenos, se encuentran libres en forma de iones en solución. El calcio, por el contrario, se halla en su mayor parte ligado a la caseína. Tan solo un tercio del calcio y del magnesio se encuentra en disociación iónica. Además de los cloruros y fosfatos, deben mencionarse también los citratos, presentes en una cuantía media de 2.3 gr/L.

Durante la lactancia descienden primero los contenidos de calcio y fósforo, para al final volver a aumentar ligeramente. Asimismo disminuye la tasa de potasio, mientras que la de sodio muestra desde el principio tendencia a aumentar. El contenido de calcio se ve influido por la época del año. La tasa de magnesio permanece prácticamente invariable. Reviste especial interés la cantidad de cobalto ya que este

elemento es imprescindible para la síntesis de vitamina B12, tan importante para los animales y el hombre.

## 2.2.6 Proteínas

Entre los mas complejos de todos los compuestos orgánicos, las proteínas son esenciales para todas las formas de vida. Se componen de una serie de “bloques de construcción” que se conocen como aminoácidos. Los animales pueden sintetizar proteínas sólo a partir de las proteínas mismas o de los aminoácidos que consumen en sus alimentos; aun cuando algunas veces pueden transformar un aminoácido en otro (Bath *et al.*, 1982).

La composición de la proteína es un factor de gran importancia dentro de la industrialización láctea, ya que influye de manera directa sobre el rendimiento y la aptitud tecnológica de la leche (García, Montiel y Borderas, 2014)

La leche de vaca proporciona una gran cantidad de proteínas fácilmente digeribles y de alto valor biológico, ya que aportan los aminoácidos para cubrir los requerimientos humanos, incluidos los esenciales (Fernández *et al.*, 2015) (Cuadro 3).

	Abreviatura	g/L	%
Caseínas		28,0	78
$\alpha_{s1}$ -Caseína	$\alpha_{s1}$ -CN	12,4	34,7
$\alpha_{s2}$ -Caseína	$\alpha_{s2}$ -CN	3,0	8,3
$\beta$ -Caseína	$\beta$ -CN	7,0	19
$\kappa$ -Caseína	$\kappa$ -CN	4,2	12
$\gamma$ -Caseína	$\gamma$ -CN	1,4	4
Proteínas del lactosuero		7,2	20
$\beta$ -Lactoglobulina	$\beta$ -LG	4,2	11,7
$\alpha$ -Lactoalbúmina	$\alpha$ -LA	1,1	3
Fracción proteosa-peptona	PP	0,8	2,2
Inmunoglobulina G	IgG	0,6	1,7
Inmunoglobulina M	IgM	0,09	0,25
Inmunoglobulina A	IgA	0,01	0,027
Albúmina de suero	AS	0,3	0,83
Lactoferrina	LF	0,1	0,27
Proteínas de la membrana del glóbulo graso		0,7	2

Cuadro 3. Principales proteínas de la leche de vaca, porcentaje aproximado.

<sup>1</sup>Asumiendo 36g/L de proteína y 78% de caseína

Información sintetizada de (Swaisgood, 2003; Farrell Jr. *et al.*, 2006; Barroso *et al.*, 2012)

El contenido total de proteínas en leche bovina es de alrededor de 35g L<sup>-1</sup> (Naranjo *et al.*, 2007). Esta proteína láctea es una mezcla de numerosas fracciones proteicas diferentes y de pesos moleculares distintos (Gómez *et al.*, 2005). La leche puede ser dividida en dos fracciones proteicas, las séricas ( $\alpha$ -lactoalbúmina y  $\beta$ -lactoglobulina) y las cuatro caseínas ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ -caseína), cada una de las cuales exhibe al menos dos variantes genéticas (Eigel *et al.*, 1984, según Cervantes *et al.*, 2007).

### **2.2.6.1 Caseínas**

La caseína es la proteína más abundante, además de ser la más característica de la leche por no encontrarse en otros alimentos, existen tres tipos de caseínas (alfa, beta y kappa caseína), en la leche también se encuentra la albúmina y la globulina (Guevara-Garay *et al.*, 2013).

Las caseínas  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  constituyen aproximadamente el 48% de las caseínas totales, las  $\beta$  caseínas el 35% y  $\kappa$ -caseína el 13%. Las  $\alpha$  y  $\beta$  caseínas contienen grupos serina fosfato, la  $\kappa$ -caseína presenta muy pocos, razón por la cual tiene baja capacidad para unirse al calcio, lo que la hace insensible a la precipitación inducida de las proteínas lácteas (Muysson y Verrinder, 1989, según Naranjo *et al.*, 2007).

Las caseínas tienen un alto contenido de aminoácidos esenciales que se separan de la parte acuosa por acción de enzimas como la quimosina, la cual precipita la proteína en la elaboración quesos (Guevara-Garay *et al.*, 2013).

El comportamiento de los diferentes tipos de caseínas en la leche al ser tratada con calor, diferente pH y diferentes concentraciones de sal, provee las características de los quesos, los productos de leche fermentada y las diferentes formas de leche.

#### **2.2.6.1.1 Kappa caseína**

La kappa caseína es una de las proteínas, presentes en la leche, más estudiadas en *Bos Taurus* por su importante papel en la industrialización, especialmente en la producción de queso (Solarte, 2009).

Dentro de la caseínas de la leche, la kappa-caseína tiene gran influencia en la composición de la leche en relación con su capacidad de coagulación, tiempo de formación del cuajo, tasa de formación de la cuajada, y vigor del coágulo en la producción de queso para consumo humano (Guevara-Garay *et al.*, 2013).

El conocimiento de los factores que definen el nivel de kappa caseína en la leche es de relevancia para los productores y procesadores, puesto que la elevación de su contenido puede derivar en un mayor rendimiento del producto para la elaboración de derivados lácteos y, a su vez, en un mayor beneficio económico. La secuencia de aminoácidos y el hecho de que requiera altas temperaturas para su desnaturaleza hacen de la Kappa caseína un excelente nutriente (Guevara-Garay *et al.*, 2013).

La kappa caseína está formada por 169 aminoácidos y presenta una glucosilación con los residuos de serina en varios segmentos de su molécula (Swaisgood, 2003, según García *et al.*, 2014). Presenta únicamente un grupo fosfato, generando una interacción con el calcio mucho menor en comparación con las otras caseínas.

El paso inicial en la fabricación de la mayoría de los quesos es la hidrólisis enzimática de la kappa caseína, este proceso se realiza en presencia de la enzima quimosina o rennina la cual en la primera etapa rompe la kappa caseína en los aminoácidos fenilalanina 105 y metionina 106 ocasionando la reducción del total de la carga negativa y la repulsión estérica, haciendo las micelas susceptibles a la agregación. De la misma forma, el tratamiento con calor a 85-95 °C ha sido ampliamente reportado para incrementar el pH, gelificación y firmeza en leche ácida, proceso que tiene gran aplicación en la elaboración de yogures, esto se atribuye a la formación de complejos entre las proteínas del suero y la kappa caseína inducidos por la temperatura (Guevara-Garay *et al.*, 2013).

## **2.2.6.2 Proteínas séricas**

### **2.2.6.2.1 Beta lactoglobulina**

B-lactoglobulina es uno de las proteínas de suero que se descubren en la leche animal, incluyendo leche de oveja, vaca, cerdo y perro, pero no se ha encontrado en el ratón y otros mamíferos. Debido a las variaciones genéticas intra e

interespecíficas, existe en varias variantes. En las últimas décadas la determinación del polimorfismo genético de la leche los investigadores se centran en las proteínas debido al posible vínculo entre los genotipos y económicamente rasgos importantes del ganado lechero (Dokso *et al.*, 2014)

La  $\beta$ -lactoglobulina es la proteína sérica más abundante en la leche de los rumiantes, considerada la primera proteína láctea estudiada cerca de los años 50 (Aschaffenburg y Drewry, 1995, según Inioska *et al.*, 2010).

Las  $\beta$ -lactoglobulinas están controladas por un único *locus* en genes autosómicos y hay evidencias que permiten correlacionar sus variantes con aptitud lechera en las razas bovinas; las  $\beta$ -lactoglobulina ejercen un efecto significativo de la expresión de los genes en la composición de la leche y en sus propiedades de procesamiento y rendimiento quesero (Ripoli *et al.*, 2003, según Veli, *et al.*, 2008).

#### **2.2.6.2 Alfa lactoalbúmina**

La  $\alpha$ -lactoalbumina y la beta- lactoalbúmina difieren de la caseína en que contienen cisteína, un aminoácido sulfuroso, y el aminoácido triptofán en lugar del fosforo. También difieren que se coagulan con facilidad mediante el calor y no se precipitan debido a la acción de los ácidos. Aun cuando son un componente proteínico menor de la leche, son importantes desde el punto de vista nutritivo, puesto que complementan las cualidades de la caseína (Bath *et al.*, 1982).

#### **2.2.6.3 La albumina**

La albumina es la proteína de la leche, que sigue en cantidad a la caseína, con una cifra aproximada de 0.5% mientras que la caseína es relativamente estable a la acción del calor, las albúminas se desnaturizan con facilidad al calentarlas. Por esta razón durante el proceso de calentamiento a altas temperaturas se destruye gran parte de la proteína sérica (Gómez *et al.*, 2005).

#### **2.2.6.4 Las globulinas**

Las globulinas de la leche, son proteínas de alto peso molecular que se encuentran preformadas en la sangre. También es posible que parte se produzca en las células del parénquima mamario. Son las proteínas que más fluctuaciones experimentan en

el transcurso de un periodo de lactación, desde 9% al 16% del total de la proteína, que es la tasa que puede alcanzar en el calostro, disminuye hasta ser de sólo unas milésimas de dicho porcentaje en las últimas etapas de la lactancia (*Op, Cit*).

Las inmunoglobulinas constituyen sólo cerca del 0.1% de la leche normal; sin embargo, su concentración aumenta considerablemente durante el periodo de formación del calostro. Esas inmunoglobulinas actúan como portadoras de anticuerpos para proteger al ternero recién nacido contra organismos patógenos (Bath *et al.*, 1982).

Los anticuerpos o inmunoglobulinas que se encuentran en el calostro son proteínas que se encuentran en el torrente sanguíneo, y hacen parte del sistema inmunológico cuya función es neutralizar y ayudar a destruir bacterias, así como otras partículas extrañas que hayan invadido el cuerpo; debido a esto se hace necesario el consumo de calostro en las primeras horas de vida del neonato (Gómez *et al.*, 2005).

### **2.3 Kappa caseína como indicador en producción de quesos**

Las caseínas están codificadas por genes autosómicos estrechamente ligados lo que implica que la unidad de transmisión genética sea el haplotipo. Del gen de la k-caseína se han descrito seis variantes alélicas: A, B, C, E, F, Y G. La capa caseína está conformada por 169 aminoácidos, con regiones variables en los codones 136 y 148 del tercer exón: la variante A contiene treonina en el codón 136 (ACC) y ácido aspártico en el 148 (GAT), la variante b contiene isoleucina (ATC) y alanina (GCT), la leche bovina que contiene k-caseína del tipo B presenta contenido proteico más alto, mayor estabilidad al calor y a la congelación, menor tiempo de coagulación, cuajo más consistente y 5-10% más rendimiento quesero (barroso, 1998)

### **2.4 Mejoramiento genético bovino**

Uno de 105 pioneros del mejoramiento animal, fue el inglés Roberto Backwell durante el período 1760-1795, en el cual inició la aplicación de la selección artificial con base en la producción individual, prueba de progenie y al uso de la

consanguinidad. Como resultado, se formaron muchas nuevas razas de ganado, estableciéndose el tipo ideal para cada una de ellas (Ochoa, 1991).

Los programas de mejoramiento genético se definen como programas sistemáticos y estructurados destinados a modificar la composición genética de una población sobre la base de unos criterios de rendimiento objetivos (FAO, 2019).

En la producción de leche, se logró un importante progreso genético, por el desarrollo de dos hechos. Primero la formación en Dinamarca en 1885 de una asociación para llevar el control de producción en hatos lecheros; estas asociaciones rápidamente se diseminaron en diferentes países. El segundo, fue el redescubrimiento del trabajo de Mendel en 1900, el cual es el fundamento de la Ciencia de la Genética (Ochoa, 1991).

## **2.5 Selección y cruzamiento de ganado bovino**

La selección y el cruzamiento son dos herramientas principales para introducir cambios genéticos en las poblaciones ganaderas. La selección tiene que ver con el mejoramiento genético utilizando variaciones entre individuos dentro de la población (raza), proceso que generalmente se conoce como mejoramiento en raza pura, en contraste con el cruzamiento que utiliza la variabilidad entre razas (FAO, 2019).

El sector ganadero busca mejorar la productividad de carne, leche, y rusticidad, por medio de los cruzamientos, lo que ha llevado al deterioro de las líneas raciales, repercutiendo en la disminución de calidad y cantidad de producción e influyendo directamente en la rentabilidad (Marizancén y Artunduaga, 2017).

Brasil, líder en programas de mejoramiento en el trópico, ha obtenido importantes avances en progreso genético en su rebaño de leche por medio del mejoramiento clásico y de técnicas reproductivas como inseminación artificial y más recientemente, con transferencia de embriones y fecundación *in vitro*, principalmente para características de fácil medida y alta heredabilidad (Ardila, 2010). En donde se está manejando e introduciendo el mejoramiento genético, prácticas que incrementan el valor productivo y reproductivo de los bovinos (*Op. cit.*)

## **2.6 Selección tradicional**

La mejora genética de las características de naturaleza cuantitativa, como la producción y calidad de la leche bovina, se ha hecho tradicionalmente utilizando principios estadísticos para identificar animales que se seleccionan dentro de poblaciones, acompañada de cruzamientos entre los mismos para aprovechar el efecto de vigor híbrido (Misztal y Wiggans, 1988, según Trujillo *et al.*, 2000).

El mejoramiento de caracteres cuantitativos a partir de mediciones fenotípicas realizadas en individuos adultos con un progreso genético lento y costoso y un intervalo generacional prolongado como el caso de los bovinos (Solarte *et al.*, 2009).

## **2.7 Selección por pedigrí**

El monitoreo de la estructura poblacional, la consanguinidad, el tamaño efectivo de población y la probabilidad de origen de los genes, permite prevenir perdidas de diversidad genética en las poblaciones bovinas, particularmente en poblaciones bajo procesos de selección (Ramírez-Valverde *et al.*, 2018).

En varios países se ha generado la información acerca de la diversidad genética de sus poblaciones animales, tanto para razas locales como transfronterizas, lo que ha sido ampliamente estudiado mediante análisis de pedigrí y usado en poblaciones de animales domésticos (*Op. cit*).

El análisis de los datos del pedigrí es una herramienta importante para describir la constitución genética de las poblaciones. Los principales indicadores que se utilizan en el estudio de los pedigríes son: tamaño efectivo de población, número efectivo de ancestros y aportaciones porcentuales de los ancestros fundadores (Boichard *et al.*, 1997; Parland *et al.*, 2007), estructura de hatos, ganaderías o subpoblaciones y sus contribuciones con reproductores (Vasallo *et al.*, 1986; Gutiérrez *et al.*, 2003), intervalo entre generaciones (Parland *et al.*, 2007), índice de conservación genética (Valera *et al.*, 1998, según Domínguez *et al.*, 2010).

Los principales factores que influyen en el exactitud de los parámetros de las poblaciones usando el análisis de pedigrí son la integridad y nivel de completitud del pedigrí (Ramírez-Valverde *et al.*, 2018).

Los estudios demográficos permiten describir la estructura y dinámica de los individuos en las poblaciones, mientras que los estudios genéticos permiten analizar la variabilidad y evolución del conjunto de genes que constituyen a los individuos (Goyache *et al.*, 2003; Gutiérrez *et al.*, 2003, según Domínguez *et al.*, 2010).

## **2.8 Selección por prueba de progenie**

Hasta hace algunos años los programas de mejora genética en bovinos de leche buscaron aumentos en el volumen de producción, obteniendo en USA un progreso genético anual de más de 100 kilos de leche por animal. Sin embargo, este cambio genético en la población, en algún momento comenzó a disentir con el objetivo final de la empresa lechera que es la rentabilidad.

Es importante recordar que las características genéticas o el énfasis de cada una de ellas en la función de mérito total son diferentes de acuerdo al país o zona agroecológica en que se emplaza la empresa lechera, de esta manera hay diferentes índices de mérito total en diferentes países o para diferentes zonas de la industria dentro de un mismo país

Los sólidos totales en la leche reciben una ponderación positiva dentro de los índices de mérito total de los principales países productores de leche, siendo la producción de proteína la que recibe la más alta ponderación relativa (Carvajal, De la Barra y Uribe, 2012)

## **2.9 Selección asistida por marcadores**

Actualmente, con el uso de herramientas moleculares se han logrado extraordinarios avances en el mejoramiento genético de diferentes sistemas de producción, por medio de la estimación de la variabilidad genética a través del estudio de polimorfismos de ADN (Solarte-Portilla *et al.*, 2009). Identificación de secuencias asociadas a caracteres productivos, aplicación de tecnologías moleculares para la identificación de loci asociados a características cuantitativas (Burgos-Paz *et al.*, 2007).

Las ganancias genéticas pueden ser aceleradas mediante el uso de la genética molecular aplicada al mejoramiento animal, principalmente a través de marcadores

moleculares asociados a *loci* de características cuantitativas y genes candidatos, como parte de la selección asistida por marcadores (Ardila, 2010).

El genoma bovino contiene aproximadamente tres mil millones de pares de bases, empacadas en 30 pares de cromosomas, de las cuales se calcula que sólo el 10% contiene información útil traducible en proteínas (Barendse, 1994, según Trujillo *et al.*, 2000). Entre estas secuencias ocurren mutaciones que generan diferentes polimorfismos heredables, que pueden alterar o no las proteínas que codifican (Clark, 1992).

El polimorfismo de la leche ha recibido un interés investigativo considerable debido a su uso potencial como ayuda a la selección genética y a las caracterización genética del ganado bovino (Cervantes *et al.*, 2007).

## **2.10 Marcadores asociados a la calidad de la leche**

Se han descrito relaciones entre los genotipos de las diferentes proteínas lácteas y algunas características productivas. De estos estudios se conoce que el genotipo AA de la b-lactoglobulina está asociado con un elevado rendimiento de leche, mientras que el BB se relaciona con un elevado contenido de grasa y caseínas, por lo tanto es más deseable para la manufactura de quesos. El alelo B de la k-caseína se asocia con elevados rendimientos de proteína total, el rendimiento de leche en la primera lactancia y en múltiples lactancias.

La combinación LG BB , CASBB y CSN3B es favorable para la leche destinada a la producción de queso y LGBA , CASBC y CSN3A y para la leche destinada al consumo como leche fluida. Existen evidencias de que las leches caracterizadas por el alelo B de estas tres proteínas presentan un menor contenido de nitrógeno y mejores propiedades de coagulación que aquellas leches tipo A, por lo tanto favorables las primeras para la producción de quesos, la selección a favor de la CSN3B ejerce un efecto de arrastre favorable a los alelos LGBB y CASBB y negativo para el alelo CASA1C (32).

### **2.10.1 Gen kappa-caseína**

Las caseínas están codificadas por genes autosómicos estrechamente ligados (Chessa *et al.*, 2003), lo que implica que la unidad de transmisión genética sea el haplotipo. Del gen de la k-caseína se han descrito seis variantes alélicas: A, B,C,E,F Y G. La k-caseína está conformada por 169 aminoácidos, con regiones variables en los codones 136 y 148 del tercer exón; la variante A contiene treonina en el codón 136 (ACC) y ácido aspártico en el 148 (GAT). La variante B contiene isoleucina (ATC) y alanina (GCT) (Barroso *et al.*, 1998).

La leche bovina que contiene k-caseína del tipo B presenta contenido proteico más alto, mayor estabilidad al calor y a la congelación, menor tiempo de coagulación, cuajo más consistente y 5-10% más de rendimiento quesero (*Op. cit*).

El alelo B de la k-caseína eleva la concentración de la kappa caseína en la leche de los bovinos (Van Eenennaam y Medrano, 1991). La presencia de kappa caseína B reduce el tamaño de la micela, lo cual aumenta su estabilidad térmica y reduce el peligro de coagulación y gelificación durante los procesos de esterilización (Fox, 1982; Medrano y Aguilar-Córdova, 1990:

La leche derivada de animales kappa caseína AA tiene menor porcentaje de proteína k-caseína y como consecuencia de esto, una mayor proporción de micelas grandes. Por el contrario, la leche de animales kappa caseína BB presenta mayor proporción de proteína k-caseína y micelas más pequeñas. Esta característica explica la formación de un cuajo más firme y una mayor retención de sólidos, lo que resulta en un rendimiento superior durante la producción de queso, comparada con la leche producida por animales con genotipo kappa caseína AA (Requena y Aguera, 2007).

### **2.10.2 Gen β-lactoglobulina**

En bovinos *Bos Taurus-indicus*, el gen de la β-lactoglobulina consta de 827 pares de bases y está ubicado en el cromosoma 11 (Inioska *et al.*, 2010), presenta diferentes variantes las cuales difieren entre si por sustitución de uno o más aminoácidos en la secuencia de la proteína citar (Creamer *et al.*, según Inioska *et al.*, 2010).

Las beta lactoglobulinas (BLG) están controladas por un único locus en genes autosómicos y hay evidencias que permiten correlacionar sus variantes con aptitud lechera en las razas bovinas; las BLG ejercen un efecto significativo de la expresión de los genes en la composición de la leche y en sus propiedades de procesamiento, y rendimiento quesero (Ripoli *et al.*, 2003).

Al igual que en el caso de  $\kappa$ -caseína, se han descripto dos variantes alélicas mayoritarias: A y B. La expresión diferencial de los alelos A y B de  $\beta$ LG ha sido observada en diferentes poblaciones de ganado bovino lechero (Requena y Aguera, 2007).

Numerosos autores han reportado el efecto cuantitativo de las variantes alélicas en la composición de la leche, así como en la producción de queso. Por ejemplo, observaron un efecto significativo de LG $\beta$  sobre la cantidad de proteínas (Haenlin *et al.*, 1987) hallaron una asociación entre LG $\beta$  y el porcentaje de grasa en la leche (Cowan *et al.*, 1992).

Hay evidencias que el alelo A se asocia a una mayor producción de leche y proteína, mientras que el B se relaciona con un alto porcentaje de grasa (Bobe *et al.*, 1995), contenidos de caseína y proporción de caseína/proteína total (Sabour *et al.*, 1993). Asimismo, el alelo B de la BLG se asocia al mayor rendimiento quesero al elevar la síntesis de caseínas sobre las proteínas del suero de la leche (Bobe *et al.*, 1999 según Requena y Aguera, 2007).

## 2.11 Ley de Hardy-Weinberg

En 1908, Hardy, matemático inglés y Weinberg, médico alemán trabajando independientemente, publicaron ciertas ideas fundamentales de la distribución de los genes en las poblaciones. Estas son conocidas ahora como la ley de Hardy-Weinberg, esta ley dice que en grandes poblaciones, en donde 1) la frecuencia de uno de los alelos es igual a  $a$ ; 2) la frecuencia del otro es igual a  $b$ ; 3) la suma de las frecuencias  $a + b$  es igual a uno, y 4) los apareamientos son al azar. La descendencia de los tres genotipos se presentará en una relación definida, o estará

en equilibrio en la siguiente generación en las frecuencias  $a^2 + 2ab + b^2$  (Lasley, 1963).

De acuerdo a la ley Hardy-Weinberg se dice que:

- 1.- la población es panmíctica (todos los individuos tienen la misma posibilidad de aparearse y el apareamiento es al azar).
- 2.- la población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos).
- 3.- La población no está sometida a migración, mutación, o selección
- 4.- Las frecuencias alélicas y genotípicas se mantienen de generación en generación.

### III. MATERIAL Y METODOS

#### 3.1 Localización del área de estudio

La región IX Istmo-Costa está conformada por cuatro municipios: Arriaga, Tonalá, Pijijiapan y Mapastepec. Se localiza en el sureste de la República Mexicana y en el Sur-Sureste del estado de Chiapas, geográficamente se ubica entre los  $15^{\circ} 18'$  y  $16^{\circ} 16'$  de latitud norte y entre los  $92^{\circ} 55'$  y  $94^{\circ} 03'$  de longitud oeste (carta geográfica



del estado de Chiapas, Gobierno del estado 1988-1994, HIFET, S. A DE C. V., México, D. F.); Colinda al norte con los municipios de Cintalapa y Jiquipilas de la Región II Valles Zoque; Villacorzo, Villaflores, La Concordia, Ángel Albino Corzo y Monte Cristo de la región X Soconusco y Siltepec de la región XI Sierra Mariscal, al sur y oeste con el Océano Pacífico y el Estado de Oaxaca, siendo la sede la Ciudad de Tonalá Chipas.

Figura 4. Localización del área de estudio zona Istmo-Costa de Chiapas

### **3.1.1 Extensión territorial**

La región Istmo Costa está conformado por cuatro municipios: Arriaga, Mapastepec, Pijijiapan y Tonalá. Ocupa una superficie de 5,369.21 Km<sup>2</sup>, que representa el 7.32% de la superficie estatal, siendo la sexta región de mayor extensión territorial en el estado.

### **3.1.2 Fisiografía**

La región IX Istmo-Costa, forma parte de las regiones fisiográficas Llanura costera del Pacífico y Sierra Madre de Chiapas; el relieve del terreno está formado principalmente de llanuras y sierras; forma parte de la provincia denominada “Centroamericana”, que comprende las Subprovincias. “Llanura del Istmo” y “Las Llanuras Costeras de Chiapas y Guatemala”, se ubica en la planicie costera de Chiapas y zona litoral del Pacífico, en donde la pendiente de los suelos pueden variar desde zonas sujetas a inundaciones marinas hasta elevaciones que van más allá de los 1,000 msnm. El 48% es Planicie, 19% de lomerío, 20% Montañoso y el 4% Pantanoso.

### **3.1.3 Edafología**

La Región IX Istmo-Costa presenta nueve unidades de suelo, siendo las principales: Regosol, Cambisol y Litosol.

### **3.1.4 Topoformas**

En la Región, existen básicamente dos sistemas de topoformas, dentro de los que destacan los sistemas de: Sierra Alta Escarpada Compleja con un 42.29% y Llanura Costera 41.24%.

### **3.1.5 Geología**

La superficie de la Región IX Istmo-Costa presenta diez tipos de rocas, siendo las principales: suelo aluvial, granito y granodiorita.

### **3.1.6 Clima**

La región IX Istmo-Costa presenta climas de los grupos cálidos y semicálidos. Predomina el cálido subhúmedo con lluvias de verano, seguido por el clima cálido húmedo con lluvias abundantes de verano.

Durante los meses de mayo a octubre, la temperatura mínima promedio va desde los 12°C y hasta los 22.5°C, predominando los 21°C a 22.5°C en el 64.19% de la región. En este mismo periodo. La temperatura máxima promedio oscila de los 21°C y hasta los 34.5°C, predominando los 33°C a 34.5°C en el 59.88% de la región. La precipitación pluvial en estos meses oscila de los 1,200 mm y hasta los 3,000 mm.

En el periodo de noviembre a abril, la temperatura mínima promedio va de los 9°C hasta más de 19.5°C, predominando de 18°C a 19.5°C en el 69.63% de la región; y la máxima promedio va de los 18°C y hasta más de los 33°C, predominando las temperaturas mayores a 33°C en el 53.24% de la región y de 30°C a 33°C en el 29.99% de la región. La precipitación pluvial durante este periodo va de los 50mm a los 300mm.

## **3.2 Características generales**

La toma de muestra se realizó en vacas en lactancia, que tenían de uno a cinco partos, en bovinos de doble propósito en la zona Istmo-Costa, Chiapas.

### **a) Criterios de inclusión**

- vacas en lactancia
- Toros reproductores o destinados a la reproducción
- Bovinos de la zona Istmo-Costa de Chiapas
- Ganado bovino en explotaciones de doble propósito

### **b) Criterios de exclusión**

- Vaca forra

- Toros destinados a rastro
- Bovinos de otra zona de Chiapas

### 3.3 Número de muestras

El tamaño de muestra se realizó conociendo el tamaño de la población de vacas y toros en producción de la zona Istmo-Costa de Chiapas. Para ello se utilizó la siguiente formula

Donde:

n= tamaño de muestra

Z= nivel de confianza

p= probabilidad del éxito

q= es la probabilidad del fracaso

N= tamaño de la población

e= error

$\alpha$ = el nivel del error

### 3.4 Toma de muestras

La colección de muestras se realizó en la zona istmo costa de Chiapas en los municipios de Pijijiapan, Arriaga y Tonalá. Se obtuvo muestra de sangre de 210 bovinos de 15 explotaciones ganaderas. Las muestras fueron extraídas por punción de la vena coccígea recolectadas en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA.



Las muestras se conservaron en refrigeración.

Figura 5. Toma de muestra de sangre bovina de la vena coccígea

### 3.5 Extracción de ADN en sangre bovina

La extracción de ADN se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UNACH utilizando el protocolo descrito por Cruz *et al.*, (2017) (Figura 6). Para ello se tomaron 50 a 100 µl de sangre y se agregaron 900-950 µl de agua grado molecular, la mezcla se agito vigorosamente por 10 segundos, se procedió a centrifugar a 12000 rpm por 5 minutos, del paquete celular recuperado se agregó 300µl de Buffer de extracción y 50µl de SDS al 10%, posteriormente se incubó la mezcla obtenida a 60°C durante 24 horas, para después calentar la muestra a 98 °C por 8 minutos, seguido de ello se añadió 400µl de Cloroformo-alcohol y se centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos, se recuperó la fase superior y agregó 1 parte de isopropanol frío y reposo a -20°C por 24 horas, paso seguido se recuperó la pastilla y agregó 1 parte de etanol al 70% para reposar a -20°C por una hora, finalmente la pastilla obtenida se dejó secar al aire y se conservó con 50µl de Buffer TE  $^{10}/_1$ .

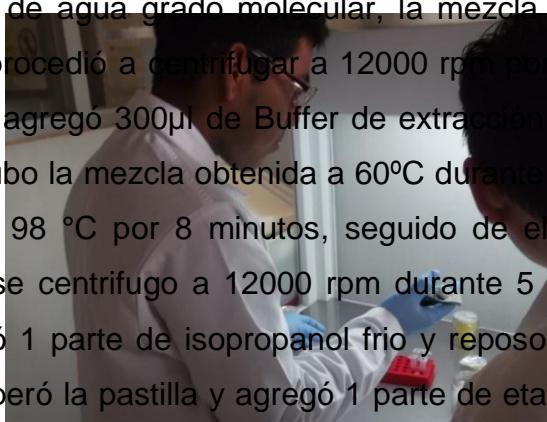


Figura 6. Extracción de ADN en campana de flujo laminar.

### 3.6 Reacción En Cadena De La Polimerasa (PCR)

Por medio de la Reacción de la cadena polimerasa (PCR) se amplificó un fragmento de 453 pb del gen kappa caseína, situado en el tercer exón del gen *k-CN* del cromosoma 6 usando los primers; forward, 5'-TGT GCT GAG TAG GTA TCC TAG TTA TGG-3'; reverse, 5'-GCG TTG TCT TCT TTG ATG TCT CCT TAG-3'). Para el gen  $\beta$ -lactoglobulina se amplificó un fragmento de 262pb situado en el cromosoma 11 usando los primers; Forward 5' -GTC CTT GTG CTG GAC ACC GAC TAC A-3' y

reverse 5' -CAG GAC ACC GGC TCC CGG TAT ATG A-3'. La amplificación se realizó en un termociclador C1000 marca BioRad. Se utilizó 5ul de ADN en una solución buffer de PCR que contendrá 2.5ul de cada primer y 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 μm de una mezcla de dNTP y 1 U de enzima Taq DNA polimerasa (Figura 7).

Figura 7. Reacción en Cadena de la Polimerasa en un Termociclador.

Las muestras fueron sometidas a un ciclo de desnaturación (5 min a 95°C), 30 ciclos (1 min a 94°C; 1 min a 63.2 °C; 2 min a 72°C) con una extensión final de 72°C por 5 min.

Para confirmar la presencia del gen kappa-caseína y beta-lactoglobulina el fragmento fue visualizado por electroforesis en gel de agarosa (2 %) a 60 V durante 1 hora. Los geles obtenidos fueron teñidos con SyberGreen® (Invitrogen) y las bandas visualizadas en un fotodocumentador modelo Molecular Imager Gel Doc XR System marca BioRad. Se utilizó marcador de peso molecular lambda 100 pb (Invitrogen, USA) (Figura 8).

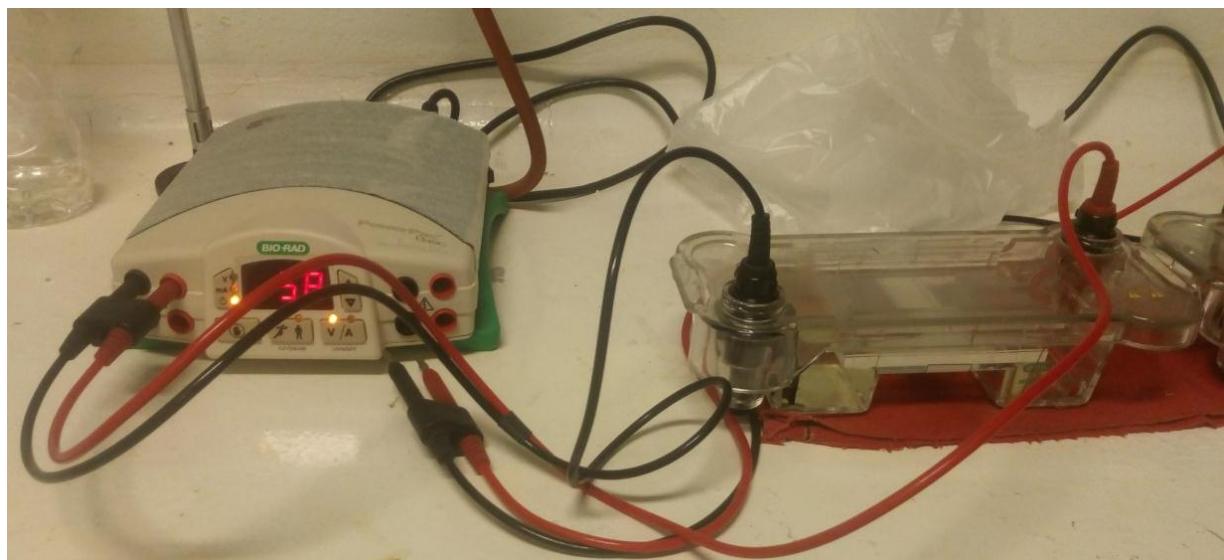


Figura 8. Cámara de Electroforesis.

### 3.7 Identificación de Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción de los genes kappa-caseína y $\beta$ -lactoglobulina

Para la digestión del fragmento amplificado del gen kappa caseína, se procesó con 6  $\mu$ l de producto de PCR con 2 U de la enzima de restricción *Hinf* I, las muestras se incubaron a 37°C durante 3 horas. El fragmento se visualizó por electroforesis en gel de agarosa (2 %) a 60 V durante 45 minutos.

En la digestión del fragmento amplificado del gen  $\beta$ -lactoglobulina, se procesó utilizando 6  $\mu$ l de producto de PCR con 2 U de la enzima de restricción *Hae* III, las muestras fueron incubadas a 37°C durante tres horas en el Thermo-Shaker (Figura 9). El fragmento electroforesis en (%) a 60 V

fue visualizado por gel de agarosa (2.5 durante una hora.



Figura 9. Muestras incubadas en el Thermo-Shaker durante tres horas.

Las bandas se visualizan en un fotodocumentador utilizando un marcador de peso molecular de 100 pb (Figura 10).



Figura 10. Fotodocumentador para visualizar las bandas en el gel de agarosa

### 3.8 Análisis estadístico

Se determinó el genotipo de los animales muestreados por conteo directo. Se calculó la frecuencia genotípica y alélica, por último se determinó si los animales muestreados se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg, mediante la prueba  $\chi^2$  (Ji cuadrada).

Se ocupó el paquete estadístico SPSS 25.0

#### **IV. RESULTADOS**

Mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), se logró amplificar un fragmento de 453pb del gen kappa-caseína utilizando la secuencia de nucleótidos forward, 5'-TGT GCT GAG TAG GTA TCC TAG TTA TGG-3'; reverse, 5'-GCG TTG TCT TCT TTG ATG TCT CCT TAG-3') (Figura 11).

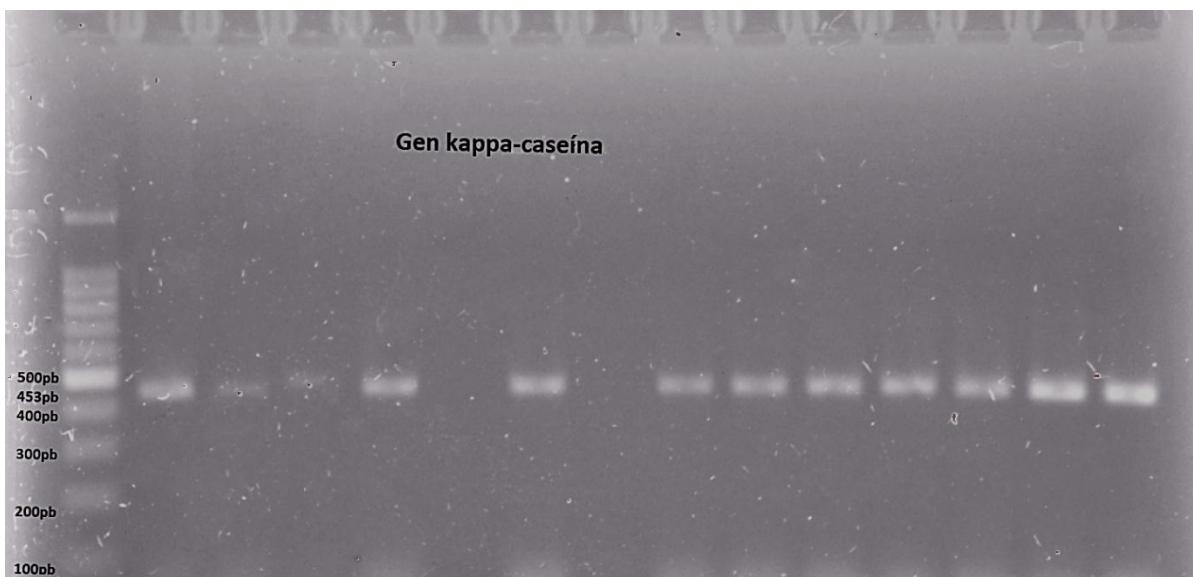


Figura 11. Bandas con peso molecular de 453pb del gen kappa-caseína

Se amplificó un fragmento de 262pb del gen  $\beta$ -lactoglobulina mediante la técnica de PCR, utilizando la secuencia de nucleótidos Forward 5' -GTC CTT GTG CTG GAC ACC GAC TAC A-3' y reverse 5' -CAG GAC ACC GGC TCC CGG TAT ATG A-3' (Figura 12)

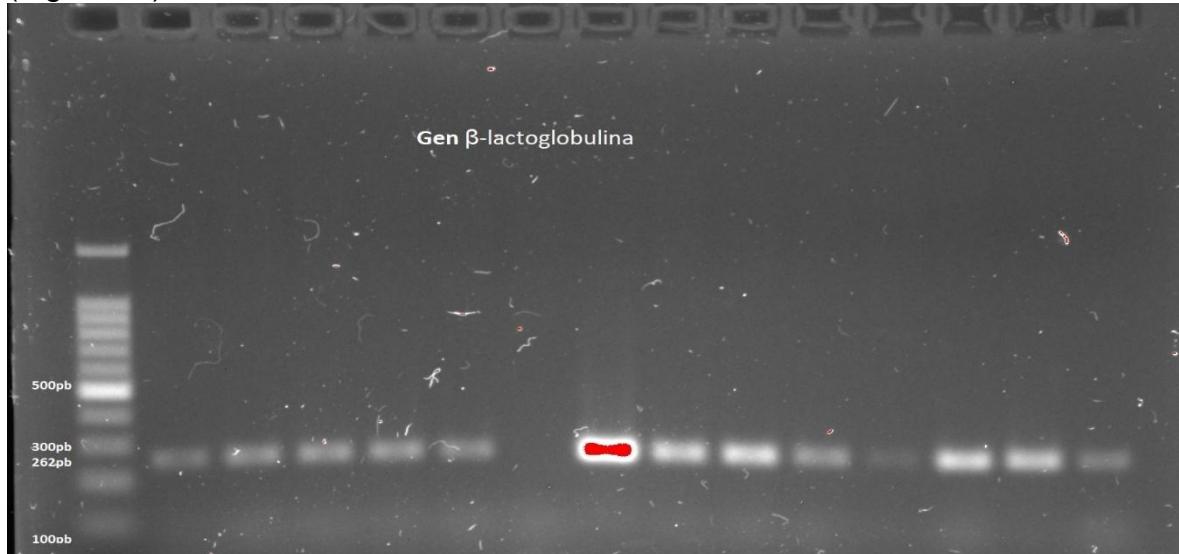
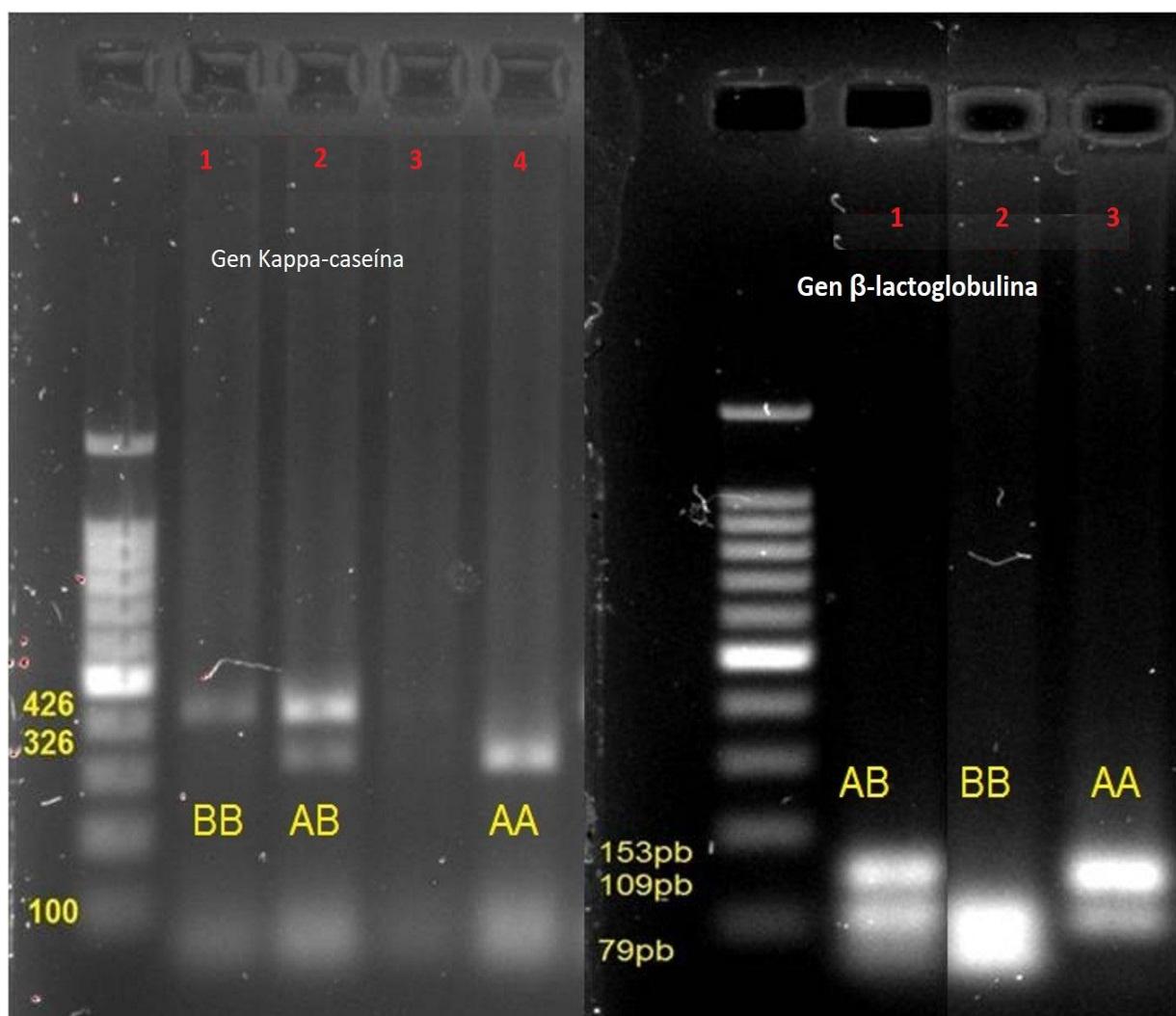


Figura 12. Bandas con peso molecular de 262pb del gen  $\beta$ -lactoglobulina

La identificación de las diferentes variantes del gen kappa-caseína y  $\beta$ -lactoglobulina



se visualizó en forma de bandas de diferentes pesos moleculares. Como resultado de esta investigación la digestión del gen kappa-caseína se realizó con la enzima de restricción *Hinf* I obteniendo tres bandas con pesos moleculares de 426pb y 100pb para el genotipo BB; 426pb, 326pb y 100pb AB; 326pb y 100pb para el genotipo AA. La digestión del gen  $\beta$ -lactoglobulina se ocupó la enzima de restricción *Hae* III encontrando tres bandas con pesos de 153pb, 109pb y 74/79pb para el genotipo AB; 109pb y 79pb BB; 153pb y 109pb para el genotipo AA (Figura 13).

Figura 13. Polimorfismo del gen kappa-caseína por PCR-RFLP utilizando la enzima de restricción *Hinf* I y el polimorfismo del gen  $\beta$ -lactoglobulina utilizando la enzima *Hae* III

Se identificaron tres grandes grupos para el gen  $\beta$ -lactoglobulina, determinando los genotipos AA, AB, BB (Figura 14).

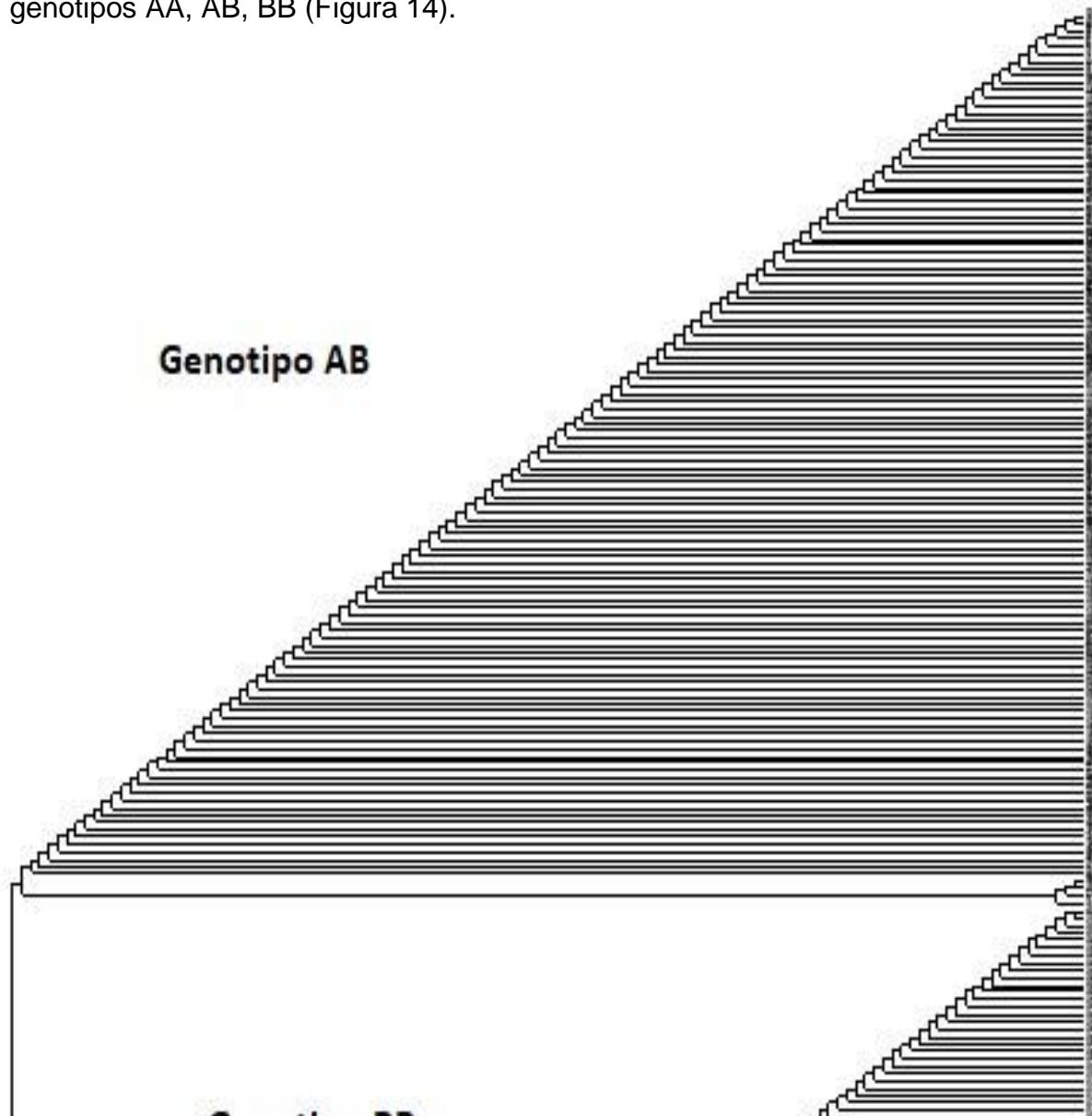


Figura 14. Árbol de decisión de los genotipos del gen  $\beta$ -lactoglobulina

El gen Kappa-caseína presenta tres grupos bien conformados siendo estos las variantes genotípicas AA, AB, BB (Figura 15).

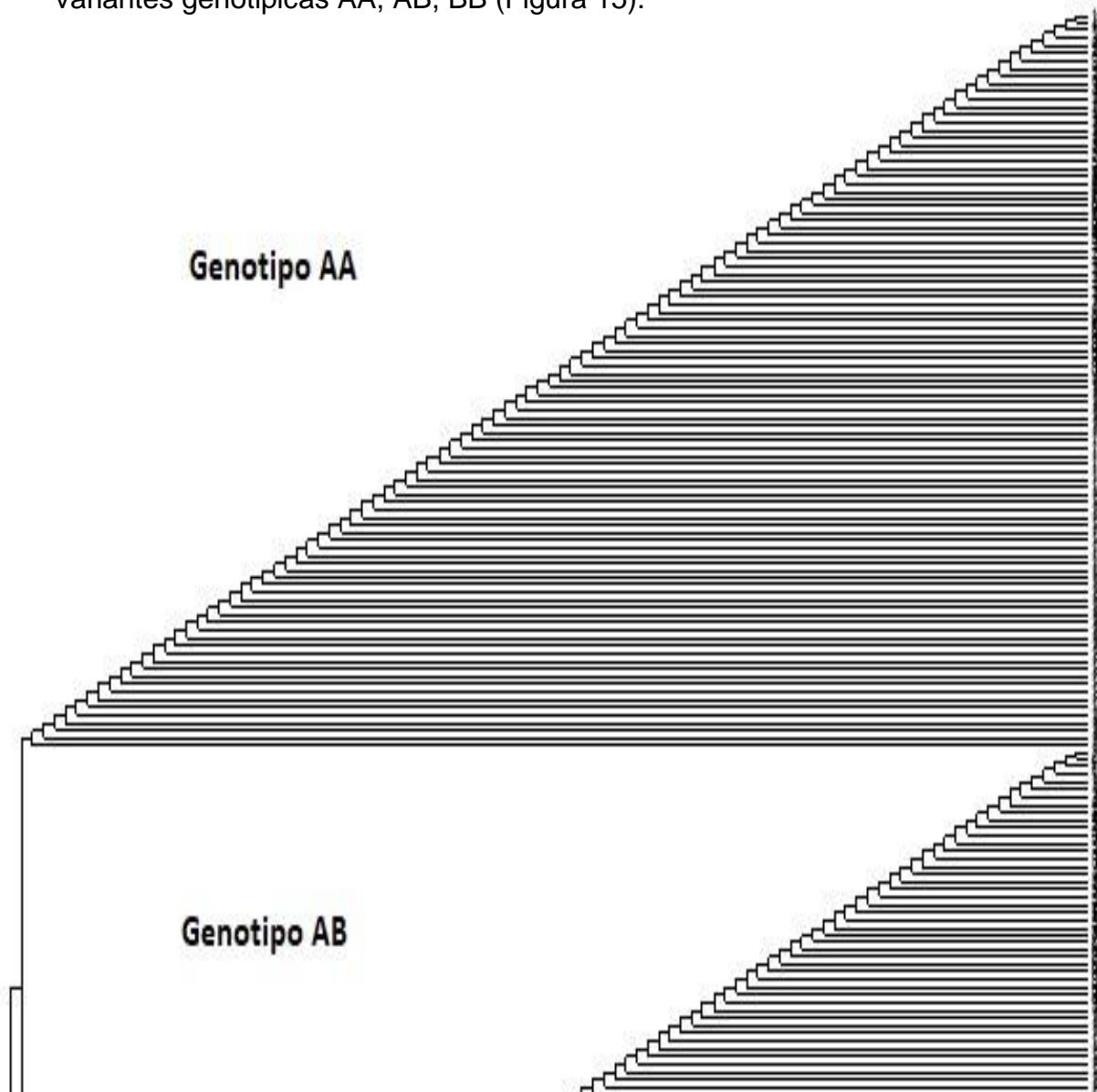


Figura 15. Árbol de decisión de los genotipos del gen Kappa-caseína

Las frecuencias alélicas y genotípicas para el gen  $\beta$ -lactoglobulina encontradas en esta investigación, fueron mayor para el genotipo heterocigoto AB 0.653 seguida del homocigoto BB con 0.312. En las frecuencias alélicas se encontró mayor presencia del alelo B. (Cuadro 4). La población estudiada no se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg.

Cuadro 4. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas

Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	AB	BB	A	B
202	0.035	0.653	0.312	0.36	0.64

P<0.05

Las frecuencias genotípicas observadas correspondieron en un 0.47 al genotipo AB, 0.38 al genotipo AA y 0.15 al genotipo BB. Las frecuencias alélicas fueron 0.67 para el alelo A y 0.33 para el alelo B. (Cuadro 5). La población estudiada no se encuentra en equilibrio Hardy-Weinberg para el gen Kappa-caseína.

Cuadro 5. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen Kappa-caseína en bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas

Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	AB	BB	A	B
196	0.50	0.33	0.17	0.67	0.33

P<0.05

Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas del gen  $\beta$ -lactoglobulina para cada municipio que conforma la zona Istmo-Costa de Chiapas, donde se encontró mayor presencia del genotipo heterocigoto AB para los municipios de Pijijiapan y Tonalá y BB para el Arriaga. El alelo dominante para los tres municipios fue para el B. (Cuadro 6)

Cuadro 6. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen  $\beta$ -lactoglobulina en bovinos Cebú-Suizo de los municipios Pijijiapan, Arriaga y Tonalá del estado de Chiapas.

Municipio	Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
		AA	AB	BB	A	B
Pijijiapan	114	0.035	0.693	0.272	0.38	0.62
Arriaga	46	0.043	0.435	0.522	0.26	0.74
Tonalá	42	0.024	0.786	0.19	0.42	0.58

P<0.05

Las frecuencias alélicas y genotípicas calculadas del gen Kappa-caseína para los municipios que conforma la zona Istmo-Costa de Chiapas, fueron de mayor presencia para el genotipo AA seguida del genotipo heterocigoto AB y menor para el homocigoto BB. El alelo dominante para los tres municipios fue para el A.

Cuadro 7. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen Kappa-caseína en bovinos Cebú-Suizo de los municipios Pijijiapan, Arriaga y Tonalá del estado de Chiapas.

Municipio	Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
		AA	AB	BB	A	B
Pijijiapan	108	0.481	0.343	0.176	0.65	0.35
Arriaga	46	0.522	0.37	0.109	0.7	0.3
Tonalá	42	0.524	0.262	0.214	0.65	0.35

P<0.05

En la presente investigación se encontró que las poblaciones por municipio no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg.

Los resultados obtenidos de la evaluación del gen  $\beta$ -lactoglobulina en sementales de la zona Istmo-Costa de Chiapas, fue mayor la presencia del genotipo heterocigoto AB y menor para el BB, no se encontró presencia del genotipo AA.

Cuadro 8. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen  $\beta$ -lactoglobulina en sementales bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas

Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	AB	BB	A	B
8	0.0	0.87	0.13	0.44	0.56

En la evaluación del gen Kappa-caseína en sementales de la zona Istmo-Costa de Chiapas, se encontró mayor presencia del genotipo homocigoto AA y menor para el seguido del BB. Presento mayor frecuencia del alelo A en relación al B.

Cuadro 9. Frecuencias genotípicas y alélicas del gen Kappa-caseína en sementales bovinos Cebú-Suizo de la zona Istmo-Costa de Chiapas

Número de animales	Frecuencias genotípicas			Frecuencias alélicas	
	AA	AB	BB	A	B
7	0.57	0.14	0.29	0.64	0.36

## V. DISCUSION

El fragmento del gen kappa caseína amplificado y digeridos corresponden a lo reportado por Barroso, 1998.

Los resultados obtenidos para la frecuencia del genotipo BB con 0.17 es similar a lo reportado por Almeyda en el 2016 que los bovinos criollos del distrito de Bambamarca para el genotipo BB con 0.17, pero difiere en la frecuencia del genotipo AA con 0.5 y AB 0.3 para la presente investigación y genotipo AA 0.27, AB 0.56 descrito por Almeyda.

Las frecuencias alélicas para el gen kappa-caseína encontrada esta investigación fueron para la variante A 0.67 y la B 0.33, similar a lo encontrado por Cervantes 2007 en diferentes razas de bovinos del trópico de México; para las razas Holstein-Cebú con A 0.7 y B 0.3, Holstein A 0.7 y B 0.3 y Cebú A 0.74 y B 0.26; pero difiere de lo reportado en las razas Pardo suizo con A 0.51 y B, 0.48, Cebú-Suizo A 0.43 y B 0.57 y Criollo lechero tropical A 0.57 y B 0.42.

De acuerdo con lo encontrado por Cortes-López en el 2012, trabajo con bovinos de doble propósito encontrando frecuencias genotípicas para AA de 0.34, AB de 0.65 y

BB de 0.1, diferentes a lo encontrado en este trabajo, pero, las frecuencias alélicas son similares, encontrando el alelo A 0.67 y el B 0.33 para ambas investigaciones.

La aparente baja frecuencia del genotipo BB en los animales muestreados indicaría que la selección de estos animales ha ido favoreciendo al alelo A y, por consiguiente, generando el incremento del número de animales con genotipo AA, posiblemente como consecuencia de endogamia o de selección de otra característica relacionada al rendimiento quesero, como la producción de litros de leche (Trujillo et al., 2000).

Las frecuencias genotípicas AA 0.5, AB 0.3, BB 0.17 y las frecuencias alélicas A 0.67 y B 0.33 del presente trabajo, son similares con lo reportado por Da-xi Ren en bovinos de la raza Holstein presentando frecuencias de AA 0.551, AB 0.289, BB 0.163; alelos A 0.69, B 0.31. También guarda similitud con la frecuencia del genotipo AA 0.48 reportado por Trujillo en el 2000 en bovinos raza Holstein.

Diferentes estudios llevados a cabo en varios países han encontrado que el alelo A está asociado con alta producción y baja calidad composicional de la leche en el ganado Holstein, especialmente en cuanto a contenido proteico (Requena et al 2007; Solarte-Portilla et al., 2009).

Los valores de digestión enzimática para el gen  $\beta$ -lactoglobulina obtenidos en este trabajo con la enzima de restricción *Hae* III, coinciden con los pesos moleculares reportados por Medrano y Aguilar-Córdova, 1990.

Las frecuencias genotípicas (AA 0.035, AB 0.653 y BB 0.312) y alélicas (A 0.36 y B 0.64) de la población de bovinos evaluada de la zona Istmo-Costa de Chiapas en el presente trabajo, son similares para los municipios de Pijijiapan y Arriaga con mayor presencia del genotipo AB, pero difiere con el municipio de Tonalá en el cual el genotipo BB (0.522) presenta mayor frecuencia.

En un estudio realizado por Velí en el 2008 en bovinos criollos de Perú, reportó frecuencias genotípica de AA 0.09, AB 0.64 y BB 0.28, similares a lo encontrado en esta investigación con frecuencias de AA 0.035, AB 0.653 y BB 0.312.

Inioska realizó un estudio en el ganado criollo limonero donde encontró frecuencias alélicas de A 0.22 y B 0.78; Da-Xi Ren reportó en ganado Holstein alelos con

frecuencias de A 0.32 y B 0.68, ambas investigaciones presentan mayor frecuencia del alelo A similar a lo encontrado en la presente investigación.

Los resultados obtenido en la presente investigación difiere de lo reportado por Maletic en el 2016, en un estudio realizado con las razas Holstein Friesian y Busha de Serbia; en dicha investigación se encontró mayor frecuencia para los genotipos AB y AA, contrario a lo encontrado en esta investigación de mayor presencia del genotipo AB y BB.

De acuerdo a los resultados obtenidos de los sementales muestreados en esta investigación, se encontró una mayor frecuencia para el genotipo AA y el alelo A para el gen kappa-caseína y menor para el genotipo BB y alelo B. Para el gen  $\beta$ -lactoglobulina la mayor frecuencia fue el genotipo AB (0.87) seguida del genotipo BB (0.13) y frecuencias similares en los alelos A (0.44) y B (0.56). Con dichos resultados no se asegura la calidad en sólidos totales y proteínas en las siguientes generaciones.

Los animales muestreados presentaron un valor de  $X^2=51.024$  para el gen  $\beta$ -lactoglobulina, con valor de  $P<0.05$ . Para el gen Kappa caseína se obtuvo una  $X^2=65.33$ , con un valor de  $P<0.05$ . Se acuerda a estos resultados y siendo altamente significativo, las poblaciones no se encuentran en equilibrio Hardy-Weinberg, esto podría ser originado por la introducción de genes de ganado importado, por la ocurrencia de apareamientos dirigidos, por las diferentes proporciones de razas en los cruzamientos o por el muestreo de animales emparentados (Cervantes et al., 2007).

En base a los resultados obtenidos en este estudio, se evidencia la necesidad de plantear una estrategia de mejoramiento genético, orientado a las necesidades del productor (mayor producción en litros de leche o mayor cantidad de sólidos totales) ejecutando acciones como reorientar los tipos de apareamiento, elegir padres no emparentados y la aplicación de un proceso selectivo en donde se considere como factor importante el incremento de la frecuencia del alelo B, especialmente en lo que se refiere al mejoramiento de los rasgos relacionados con la calidad de leche y el rendimiento quesero.

Se debe implementar la selección de sementales asistida por marcadores moleculares, permitiendo así elegir la orientación de la mejora genética dentro del hato.

## VI. CONCLUSIONES

Se identificaron los alelos A y B y los genotipos AA, AB y BB para los genes  $\beta$ -lactoglobulina y Kappa-caseína.

De los resultados obtenidos para el gen  $\beta$ -lactoglobulina se encontró mayor frecuencia para el alelo B en relación al A, de igual manera la frecuencia del genotipo AB fue mayor a los genotipos BB y AA. En lo que corresponde al gen kappa-caseína el alelo con mayor frecuencia fue el A y el genotipo AA.

La población de estudio no se encuentra en equilibrio Hardy- Weinberg para los genes  $\beta$ -lactoglobulina y kappa-caseína.

Con ello se demuestra que hace falta realizar un programa de mejoramiento genético dirigido a la selección de vacas y toros con genes homocigotos para BB, para lograr el aumento en la producción y calidad de la leche.

## VII. LITERATURA CITADA

Almeyda, R., Rosadio, R., y Maturrano, Lenin. (2016). Genotipos del gen kappa-caseína en ganado bovino criollo del distrito de Bambamarca, Cajamarca, Perú. *Inv Vet*, 27(1). 82-90.

Ardilla, S. A. (2010). Programa de mejoramiento genético para características económicas en razas cebuinas lecheras. Revista de Medicina Veterinaria. (19)

Barroso, A., Dunner, S., y Cañon, J. (1998). Thechnical Note: Detection of Bovine Kappa-Casein Variantes A, B, C, and E by Means of Polymerase Chain

- Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP). American Society of Animal Science. 76:1535-1538.
- Bath, D.L., Dickinson, F.N., Tucker, H.A., y Appleman, R.D. (1982). Ganado lechero, principales problemas y beneficios. México, DF. Interamericana.
- Cervantes, P., Luna, M., Hernández, A., Perez-Gil, F., y Uffo, O. (2007). Polimorfismo genético en el locus de la kappa-caseína, en vacas de diferentes razas y cruces en el trópico mexicano. *Salud animal*. 29(2), 78-84.
- Chazi, C. (2005). LAS VITAMINAS. Revista de Ciencias de la Vida, (4), 51-54.[fecha de Consulta 7 de Enero de 2020]. ISSN: 1390-3799. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=4760476047388007>
- Cortes-López, N.G., Rueda, J., Luna-Palomera, C., Meza-Herrera, C.A., y Abad-Zavaleta, J. (2012). Allelic and genotypic frequency of kappa casein gene in double purpose cattle. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(1). 47-54
- Cortés H, Aguilar C, Vera R (2003) Sistemas bovinos doble propósito en el trópico bajo de Colombia, modelo de simulación. Archivos de Zootecnia 52 (197): 25-34.
- Diggins y Bundy. (1961). Vacas leche y sus derivados. México. Ed. CECSA. pp. 18-19
- Dirk, V. (1984). La vaca domestica; cría y explotación. México. Ed. CECSA.
- Dokso, A., Ivankovic, A., Brka, M., Zecevic, E., Ivkic, Z. (2014) Influencia de las variantes genéticas de β-lactoglobulina, -caseína y αs1-caseína en la cantidad y calidad de la leche Holstein, Simmental y el ganado pardo se reproducen en Croacia, *Mljekartvo*: 64 (1), 49-56.
- Estrada, M. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. México. Ed. Canilec.
- FAO. 2014. Ganado y producción animal. Revisado el 13/01/2020 de [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/animal\\_production.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/animal_production.html)

- Fernández, F. E., Martínez H.J.A., Martínez, S.V., Moreno, V.M., Collado Y.L.R., Hernández, C.M., y Morán R.F.J. (2015). Documento de Consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche. Rev. Nutrición Hospitalaria. 31(1):92-101.
- García, C.A.C., Montiel, R.L.A., y Borderas, T.F. (2014). Grasa y proteína de la leche de vaca:componentes, síntesis y modificación. Arch. Zootecnia. 63(R):85-105
- Gómez, A. D. A., y Bedoya, M. O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista Lasallista de Investigación, 2(1),38-42.[fecha de Consulta 25 de noviembre de 2019]. ISSN: 1794-4449. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=695/69520107>
- Guevara-Garay, L. A., Rincón, J.J.C., Llano- Naranjo, F., y Cuartas-Castaño, D.A. (2016). Efecto de algunos factores productivos sobre el contenido de kappa-caseína en leche de vacas de diferentes hatos en Risaralda (Colombia). Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 11(2),42-50.[fecha de Consulta 19 de diciembre de 2019]. ISSN: . Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=3214/321447070004>
- Guevara-Garay, L. A., Cuartas-Castaño,D. A., y Llano-Naranjo, F. (2013). Kappa caseína de la leche: aspectos bioquímicos, moleculares, productivos y nutricionales. Rev. Med. Risalda; 20 (1): 29-33
- Inioska, R., Aranguren-Méndez, J., Portillo, M., Villasmil-Ontiveros, Y., Rincón, X., y Contreras, G. (2010). Frecuencias Alélicas De Beta-Lactoglobulina En Ganado Criollo Limonero. Revista Científica, XX(2),176-180.[fecha de Consulta 15 de diciembre de 2019]. ISSN: 0798-2259. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=959/95912322009>
- Jensen RG. (2002) The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. J Dairy Sci. 85:295-350
- Koppel R. E. T., Padilla, R.F.J., Hernández, L.J.J., Román, P.H., Pérez, S.J., y Castillo, R.H. (1984) Comportamiento reproductivo del hato bovino lechero en

- clima tropical. Duración del estro, ovulación y respuestas fisiológicas en tres genotipos en dos estaciones del año. Técnica Pecuaria en México 47: 71-77.
- Lasley, J. F. (1963). Genética del mejoramiento del ganado. México, DF. Ed. Uteha.
- Mansson, H. L. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. Food and Nutrition. 52. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596709/>
- Marizancén, S. M. A. y Artunduaga, P. L. (2017). Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación a tiempo fijo. Revista de investigación Agraria y Ambiental- 8(2)
- McKee, T., y McKee, J. R., (2003). Bioquímica; la base molecular de la vida. España. Ed. McGRAW-Hill.interamericana. p773.
- Michaelsen, K.F., Hoppe, C., Lauritzen, L., Molgaard, C. (2007) Whole cow's milk: why, what and when?. Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program 60:201-216.
- Naranjo, J., Posso, A., y Cárdenas, H. (2007) "Detección de variantes alélicas de la kappa-caseína en bovinos Hartón del Valle". Acta Agronómica. 56(1),43-47.
- Ochoa, G.P. y Malagón, V. C. (1985). Resultados preliminares sobre la producción láctea en un hato de ganado Holstein Friesian utilizando semen de toros probados. Vet. Mex. 16: 225-229.
- Orantes, Z. M. A., Vilaboa, A.J., Ortega. J.E., y Córdova, A.V. (2010) Comportamiento de los comercializadores de ganado bovino en la región centro del estado de Chiapas. Revista Quehacer Científico 1(9): 51-56
- Requena, F. D., Agüera, E. I., y Requena, F. (2007). Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, VIII(1),1-9.[fecha de Consulta 28 de diciembre de 2019]. ISSN: . Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=636/63613304013>
- Ripoli, M., Corva, P., Antonini, A., Rojas, F., Dulout, F., Y Giovambattista, G. Asociación entre cinco genes candidatos y producción de leche en la raza criolla Saavedreña. **Arch. Zoot.** 52: 89-92. 2003.

Solarte-Portilla, C. E., Rosero, G. C. Y., Cárdenas, H. H., Orlando, B.P.W., Eraso, C.J.M., y Zambrano, B. G. (2009). Identificación de polimorfismos del gen de la kappa caseína bovina: Nariño-Colombia. Rev. Lasallista de investigación 6(2). file:///C:/Users/wolfb/Desktop/NUEVAS%20REFERENCIAS/2009%20SOLART E.pdf

Trujillo, E., Noriega, D., y Camargo, M. (2000). Genotipificación de Kappa-caseína bovina y evaluación de las frecuencias genotípicas y alélicas de sus polimorfismos en cuatro razas. Rev. Actual Biol. 22(73):145-152.

Veli, E.A., Rivas -Seoane, E., Rivas -Palma, V., Aquino, Y., y Estrada, R. (2008). Variabilidad Genética Del Gen De Beta Lactoglobulina En Bovinos Criollos De Perú. Archivos de Zootecnia, 57(219),341-344.[fecha de Consulta 21 de diciembre de 2019]. ISSN: 0004-0592. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=495/49515005008>

Vera, R.R., García, O., Botero, R., y Ullrich, C. (1994) Producción de leche y reproducción en sistemas doble propósito: Algunas implicancias para el enfoque experimental. Pasturas Tropicales 18(3):25-32.

Vilaboa AJ, Díaz RP (2009) Caracterización socioeconómica de los sistemas ganaderos en siete municipios del estado de Veracruz, México. Zootecnia Tropical 27(4): 427-436.

Wing-Ching-Jones, R. y Mora-Chaves, E. (2013). Composición de la leche cruda de bovinos antes y después del filtrado. Agronomía mesoamericana. 24(1): 203-2007.