ITEA (2005), Vol. **Extra N.º 26.** Tomo I, 30-32

ESTUDIO DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DE LA β -LACTOGLOBULINA EN LA RAZA MERINA Y SU RELACIÓN CON LA PRODUCCIÓN LECHERA[1]

[a]Corral J. M., [a*]Izquierdo M., [b]González J., [c]Parejo J. C., [c]Rabasco A., [c]Martínez M., [c]Sansinforiano E., [c]Padilla J. A.

[a]Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico. Junta de Extremadura. Finca La Orden, Nacional V, Km 374, Guadajira 06071 (Badajoz). [b]Instituto Tecnológico Agroalimentario de Extremadura, Carretera de Cáceres s/n. 06071 (Badajoz). [c]Genética y Mejora Animal, Facultad de Veterinaria, Avenida de la Universidad s/n, 10071 (Cáceres).
Correspondencia dirigida, E-mail: mercedes.izquierdo@aym.juntaex.es

INTRODUCCIÓN

En Extremadura se ordeñan aproximadamente medio millón de ovejas cuya producción lechera se destina básicamente a la producción de queso. Estos quesos, se comercializan bajo las Denominaciones de Origen "Queso de la Serena", "Torta del Casar", que utilizan para su elaboración exclusivamente leche cruda de oveja de raza Merina. En los últimos años se han realizado diferentes estudios encaminados a mejorar la producción, la calidad de la leche (Izquierdo *et al*., 2003 a, b) y las propiedades tecnológicas del queso. El conocimiento de la influencia que sobre la producción y composición de la leche pueden tener las variantes genéticas de loci que codifican proteínas lácteas ha suscitado un gran interés debido a sus potenciales aplicaciones tanto tecnológicas (Amigo *et al*., 2000) como para la selección asistida por marcadores.

En este estudio se pretende determinar las variantes alélicas del gen de la β-lactoglobulina (LGB) en las distintas líneas de la raza Merina, y conocer la posible influencia de los diferentes genotipos de este locus (AA, AB y BB) sobre caracteres de producción y calidad de la leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha extraído el ADN de muestras de sangre de 707 animales pertenecientes a 9 de las líneas descritas en la raza Merina. La determinación de los diferentes genotipos del gen LGB se realizó mediante PCR-RFLP siguiendo la metodología de Schlee y Rottmann (1992). El fragmento obtenido, después de la amplificación, de 236 pb, desde el intron I al exon II del gen de la β–lactoglobulina ovina, fue digerido con RsaI. Una mutación puntual en la posición 20, de una T por una C, cambia el codón TCA (Tyr) (Alelo A) por CAC (His) (alelo B), suprimiendo además la diana de restricción RsaI (GT/AC). En los animales homocigóticos el tamaño de los fragmentos fue de 148, 66 y 22 pb para el genotipo AA y de 214 y 22 pb para el BB. Los animales heterocigóticos AB presentaron todos los fragmentos anteriores.

Para evaluar el efecto del genotipo sobre los caracteres de producción de leche: producción al primer control (PPC) en ml, cantidad de leche total producida por lactación (PL) en litros (calculada mediante el método Fleischmann), cantidad total estandarizada a 120 días (PLS), y la duración de la lactación (DL) en días, se han analizado 438 lactaciones correspondientes a 129 ovejas de la línea Perales criadas en la Finca Valdesequera (Junta de Extremadura), obtenidas durante los años 1999-2004 y distribuidas en 12 parideras, dos tipos de parto y 8 clases para la edad de la madre. Los datos se analizaron con un modelo mixto utilizando el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 1998). El modelo utilizado para cantidad de leche fue el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + T_i + bX_j + P_k + Ed_l + Gen_m + Oveja_n + e_{ijklmno}$$

Donde **Y** es el valor de cada uno de los caracteres de la producción de leche: **μ** es la media de la producción de leche, $\mathbf{T_j}$ es tipo de parto, $\mathbf{bX_j}$ es la covariable del efecto intervalo parto-destete, $\mathbf{P_k}$ es la paridera, $\mathbf{Ed_l}$ es la edad de la oveja al parto, $\mathbf{Gen_m}$ es el genotipo para el gen β-lactoglobulina, $\mathbf{Oveja_n}$ es el efecto aleatorio de la oveja y $\mathbf{e_{ijklmo}}$ es el error residual que incluye los efectos del ambiente asociado con cada animal.

Para evaluar el efecto del genotipo sobre los caracteres de calidad de la leche: porcentajes de proteína (% P), grasa (% G), lactosa (% L) y extracto seco total (% EST), se han analizado un total de 763 controles correspondientes a los años 1999-2004 de107 ovejas distribuidos en 11 parideras, 2 tipos de parto, 8 clases de edad de la hembra y 44 fechas de control. El modelo utilizado para analizar los datos de calidad fue el siguiente:

$$Y_{ijklmno} = \mu + T_i + bX_j + P_k + Ed_l + Gen_m + F(P)_{kn} + Oveja_n + e_{ijklmno}$$

Donde **Y** es el valor de cada uno de los caracteres de la calidad de leche: **μ** es la media, $\mathbf{T_j}$ tipo de parto, $\mathbf{bX_j}$ es la covariable del efecto intervalo parto-destete, P_k paridera, $\mathbf{Ed_l}$ es la edad de la oveja al parto, $\mathbf{Gen_m}$ el genotipo para el gen β-lactoglobulina, $\mathbf{F(P)_{kn}}$ es el efecto fecha de control dentro de la paridera n, $\mathbf{Oveja_n}$ es el efecto aleatorio de la oveja y $\mathbf{e_{ijklmno}}$ es el error residual .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las tres variantes alélicas descritas para la β-lactoglobulina ovina, los alelos A y B están presentes en todas las líneas de Merino analizadas, mientras que no se ha encontrado el alelo C. Este alelo es poco frecuente y confinado en unas pocas razas (Amigo et. al., 2000). La distribución de los dos alelos del locus de la β-lactoglobulina en las diferentes líneas de Merino analizadas se describe en la Tabla 1. Excepto para el Merino negro, donde el alelo más frecuente es el B, los resultados indican una mayor frecuencia del alelo A (0,6160). No obstante, se ha obtenido una mayor frecuencia génica del alelo B en la variedad blanca y negra de Merino (Ramos et al., 2002), y en la raza Churra (Gutiérrez et al., 2001).

Tabla 1. Distribución de los animales por genotipo y frecuencias génicas del locus de la β-LGB en la raza Merina. (n = tamaño muestra)

Línea Merino	Genotipo			Frecuencias génicas		***HWE****
	AA	***AB***	***BB***	***A***	***B***	
Granda (n = 61)	27	29	5	0,6803	0,3197	0,4677
Hidalgo (n = 70)	26	31	13	0,5929	0,4071	0,4893
Jordan (n = 56)	20	24	12	0,5714	0,4286	0,3496
Lamex (n = 58)	24	28	6	0,6552	0,3448	0,6023
L. Montenegro (n = 58)	19	27	12	0,5603	0,4397	0,6742
Merino Común (n = 184)	60	89	35	0,5679	0,4321	0,8450
Merino Negro (n = 25)	4	15	6	0,4600	0,5400	0,2990
Perales (n = 148)	77	58	13	0,7162	0,2838	0,6620
Serena (n = 47)	18	20	9	0,5957	0,4043	0,4243
Total (n = 707)	**275**	**321**	**111**	**0,6160**	**0,3840**	**0,2839**

*valores de p derivados del test χ^2

Los análisis equilibrio Hardy-Weinberg no detectan desviación del equilibrio en ninguna de las líneas de Merino analizadas.

Las medias mínimo cuadráticas de los caracteres de producción y calidad de leche para cada genotipo, se muestran en las Tablas 2 y 3, respectivamente. Aunque, el efecto del genotipo no resultó significativo para ninguna de las variables estudiadas, podría existir una tendencia a una mayor producción de leche en los individuos de genotipo (BB). Este genotipo

se ha asociado con alta producción de leche en las razas Sarda (Bolla et al., 1989) y Massese (Rampilli et al., 1997).

Tabla 2. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de producción de leche para los diferentes genotipos de BLG.

Genotipo	N	PPC ± SE	PL ± SE	PLS ± SE	DL ± SE
AA	219	488 ± 39,0	56,1 ± 5,3	44,0 ± 3,8	100,3 ± 3,6
AB	164	488 ± 40,2	55,0 ± 5,5	45,4 ± 4,0	100,0 ± 3,6
BB	55	540 ± 65,2	61,4 ± 8,9	47,8 ± 6,3	103,7 ± 6.5

Los resultados experimentales obtenidos en otras razas en relación con la influencia del gen LGB sobre la calidad de leche son muy variables, de forma que no es posible obtener conclusiones definitivas. En este sentido, existen diferencias entre autores dependiendo del número de animales analizados, de la raza estudiada y del modelo estadístico aplicado.

Tabla 3. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de calidad de leche para los diferentes genotipos de BLG.

Genotipo	N	% P ± SE	% G ± SE	% L ± SE	% EST ± SE
AA	358	6,4 ± 0,1	7,6 ± 0,22	4,4 ± 0.07	19,0 ± 0,3
AB	317	6,4 ± 0,1	7,4 ± 0,21	4,5 ± 0,07	19,0 ± 0,3
BB	88	6,2 ± 0,1	7,4 ± 0,31	4,5 ± 0,10	18,8 ± 0,4

Los resultados preliminares de este trabajo parecen indicar que en la raza Merina, no hay una asociación entre la calidad y la cantidad de la leche y el genotipo de la LGB, aunque habrá que esperar al final de estudio para ser más concluyente.

REFERENCIAS

AMIGO, L., RECIO, I., RAMOS, M. (2000) Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk a review. International Dairy Journal 10: 135-149.

BOLLA, P., CAROLI, A., MEZZELANI, A., RIZZI, R., PAGNACCO, G., FRAGHI, A., CASU, S., (1989) Milk protein markers and production in sheep. Animal Genetics, 20 (Suppl. 1), 78-79.

GUTIÉRREZ, B., ARRANZ, J. J., OTHMANE, M. H., DE LA FUENTE, L. F., SAN PRIMITIVO, F. (2001) Influencia del genotipo de la β-lactoglobulina ovina sobre caracteres cualitativos y rendimiento quesero individual en la raza Churra. Congreso AIDA 2001.

IZQUIERDO, M., GONZÁLEZ CRESPO, J., ROA, I., GONZÁLEZ, A., HERNÁNDEZ, F. I., GARCÍA, S. (2003a) Análisis de los componentes grasos y proteicos de la leche de oveja Merina en condiciones semiextensivas; resultados preliminares. Congreso SEOC 2003.

IZQUIERDO, M., JIMÉNEZ A., GONZÁLEZ, A., GARCÍA, S., HERNÁNDEZ, F. I., (2003b) Producción láctea de ovejas Merinas en condiciones semiextensivas. Congreso SEOC 2003.

RAMOS, A. M., MATOS, A., BETTENCOURT, C., PINHEIRO, C., RANGEL-FIGUEIREDO, T. (2002) Influence of αs1-casein, ß -lactoglobulin and prolactin genotypes on milk production traits in two portuguese sheep breeds. 7 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, Montpellier, (France).

RAMPILLI, M., CECCHI, F., GIULIOTTI, L., CATTANEO, T. M. P. (1997) The influence of β-lactoglobulin genetic polymorphism on protein distribution and coagulation properties in milk of Massese breed ewes. In Milk polymorphism (pp. 311-315). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

SAS User´s Guide, Release 6.12. 1998. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SCHLEE, P., ROTTMANN, O. (1992) Sheep ß-lactoglobulin: Determination of alleles A and B by PCR and RFLP analysis using plucked hair as a source of DNA. In: Genetic Conservation of Domestic Livestock, Vol.2, C.A.B. International, Wallingford, UK, Chapter 24, 243-246.