

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN DE LA K-CASEÍNA (CSN3) CON LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN OVINO MERINO

Corral, J.M.¹, Izquierdo, M.¹, Mateos, S.¹, Parejo, J.C.², Salazar, J.², Rabasco, A.², Martínez-Trancón, M.², Sansinforiano, M.E.², Hernández, F.I.¹, González-Crespo, J.³, Jiménez-Hernando, M.A.⁴, Portilla, F.J.², Padilla, J.A.²

¹ Centro de Investigación La Orden-Valdesequera, Junta de Extremadura. Carretera Nacional V, Km 374, Guadajira 06071 (Badajoz). juanmanuel.corral@juntaextremadura.net

² Genética y Mejora Animal, Facultad de Veterinaria, Avda. de la Universidad s/n, 10071 (Cáceres). jpadilla@unex.es

³ INTAEX, Finca Santa Engracia, Carretera de San Vicente sn, 06071 Badajoz

⁴ INIA, Carretera de la Coruña, Km 7,5. 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

La kappa-caseína tiene un importante papel en el rendimiento quesero debido a su participación en la estabilización de la formación de micelas previniendo la precipitación de las caseínas de la leche. Velmala *et al.* (1995) identificaron asociaciones de caracteres de producción de leche (rendimiento de leche, porcentaje de grasa y proteína) con diferentes combinaciones de los alelos de la kappa-caseína. Debido a la alta homología que existe entre el bovino y el ovino, De Gortari *et al.* (1997) indicaron la posibilidad de utilizar el microsatélite polimórfico CSN3 de la especie bovina en ovejas. La selección de animales con un alelo específico del gen de la caseína para poder cambiar la composición de la leche ha sido propuesta por Ng-Kwai-Hang *et al.* (1990). Así, el objetivo de este trabajo ha sido determinar el polimorfismo del microsatélite CSN3 del gen de la Kappa caseína ovina (CSN3) en distintas líneas de Merino y evaluar la influencia de los diferentes genotipos de este locus sobre caracteres de producción y calidad de la leche de ovejas Merinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El microsatélite CSN3 del gen de la kappa caseína se ha analizado mediante PCR y electroforesis capilar (ABI-Prism 310) utilizando el cebador marcado con el fluorocromo 6-FAM descrito por de Gortari *et al.* (1998) y Corral *et al.* (2005). En primer lugar, se han evaluado 974 individuos pertenecientes a distintas líneas de la raza Merina como son: Granda, Hidalgo, Jordan, Lamex, Merino común, Merino negro, Perales y Serena. En segundo lugar, se han analizado 1025 lactaciones que proceden de ovejas de la línea Perales criadas en la Finca Valdesequera (Junta de Extremadura) durante los años 1999-2006, evaluando la cantidad de leche total producida al primer control, la cantidad de leche total real, total tipificada a 120 días, leche total ordeñada y los factores que afectan a dicha producción. Además se ha analizado la composición de dicha leche, gramos diarios (mañana y tarde) de la grasa, proteína, lactosa, extracto seco magro y extracto seco total de 626 lactaciones mediante la técnica de infrarrojo cercano con un equipo MilkoScan de Fosselectric. Los porcentajes de calidad de la mañana o de la tarde, se obtuvieron multiplicando los porcentajes de calidad de la mañana o tarde por los kilogramos de leche de la mañana o de la tarde tipificada a 120 días mediante el método Fleischmann y dividido por la producción total tipificada a 120 días. Los efectos de cada genotipo sobre los caracteres de producción y calidad de leche se analizaron mediante el procedimiento mixed del paquete estadístico SAS, (1998). El modelo utilizado para cantidad y calidad de leche fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + X_i + T_j + P_k + NP_l + Gen_m + Oveja_n + e_{ijklmn}$$

Donde Y_{ijkl} es el valor de cada uno de los caracteres de la producción de leche (producción al primer control, producción real, producción tipificada a 120 días y cantidad de leche ordeñada, estas tres últimas calculadas con el método Fleischmann) o de calidad de leche (porcentaje medio diario de proteína, grasa, lactosa, extracto seco magro y extracto seco total), μ es la media para cada carácter, X_i es el efecto del intervalo parto-destete T_j es el efecto del tipo de parto, P_k es el efecto de la paridera, NP_l es el efecto del número de parto, Gen_m es el efecto del genotipo, $Oveja_n$ es el efecto aleatorio de la oveja y e_{ijklmn} es el error residual que incluye los efectos del ambiente asociado con cada animal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este locus (CSN3) se encontraron un total de 19 alelos con tamaños entre 208-252 pb en las distintas líneas de Merino (Figura 1). El alelo 222 fue el más frecuente (0,3183) en casi todas las líneas exceptuando las líneas: Jordan y Serena donde el alelo más frecuente fue 214; 0.3163 (Jordan) y 0.3409 (Serena); y Merino negro (alelo 236; 0,3542). Este número de alelos resultó mayor al observado en los estudios realizados en los cruces de otras razas Romanov x Rambouillet y Romanov x Suffolk por De Gortari *et al.* (1997), en las que encontró 7 alelos entre 345-371 pb. En los trabajos realizados por Bishop *et al.* (1994) en la especie bovina localizó alelos en dicho locus entre 216–226 pb. Todas las líneas de Merino estudiadas se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), excepto las líneas Jordan, Lamex y Merino Negro. En la Tabla 1 se representan las muestras de animales de las distintas líneas y los índices de fijación de Wright. La línea de Merino negro presenta exceso de heterocigotos (Fis W&C) -0.164. Los efectos del modelo: intervalo parto-destete, paridera (año-estación), tipo de parto y número de parto resultaron significativos para producción de leche. En las Tablas 2 y 3, se representan las medias mínimas cuadráticas de producción y calidad de los diferentes genotipos. El efecto del genotipo fue significativo para la producción de leche al primer control ($p=0.0267$), la producción real ($p=0.0089$), producción tipificada a 120 días ($p=0.0036$) y leche ordeñada ($p=0.0118$). Las ovejas con el genotipo 222/246 presentaron las mayores producciones de leche al primer control, tipificada a 120 días y leche ordeñada. Respecto a la calidad, el genotipo resultó significativo para el porcentaje de extracto seco magro diario ($p=0.0683$). El genotipo con los mayores porcentajes de extracto seco magro corresponde al genotipo 222/236. Los resultados de este trabajo indican la existencia de algunos polimorfismos asociados a una mayor producción de leche que otros, resultados que deberán ser corroborados por nuevos estudios y en un futuro estos genotipos de la Kappa caseína podrían emplearse como marcadores en un programa de selección asistida por marcadores (M.A.S.) para mejorar sobre todo la producción de leche. Respecto a la calidad los resultados resultan menos concluyentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bishop, M.D., Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., Sunden, S.L., Hawkins, G.A., Toldo, S.S., Fries, R., Grosz, M.D., Yoo, J. 1994. A genetic linkage map for cattle. *Genetics* 136 619-39.
- Corral, J.M., Izquierdo, M., Roa, I., Parejo, J.C., Rabasco, A., Martínez-Trancón, M., Sansinforiano, M.E., Hernández, F.I., Padilla, J.A. 2005. Análisis del locus microsatélite CSN3 en la raza Merina. Congreso Sociedad Española de Genética (SEG), Roquetas del Mar, Almería (Spain).
- De Gortari, M.J., Freking, B.A., Cuthbertson, R.P., Kappes, S.M., Keele, J.W., Stone, R.T., Leymaster, K.A., Dodds, K.G., Crawford, A.M. and Beattie, C.W. 1998. A second-generation linkage map of the sheep genome. *Mamm Genome*. 9, 204-9.
- SAS. 1998. User's Guide, Release 6.12. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Ng-Kwai-Hang, K. F., Monardes, H.G., Hayes, J.F. 1990. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. *Journal of Dairy Science*. 73, 3414-20
- Velmala, R., Vilkki, J., Elo, K. Maki-Tanila, A. 1995. Casein haplotypes and their association with milk production traits in the Finnish Ayrshire cattle. *Anim Genet*. 26, 419-25.

AGRADECIMIENTOS

Beca predoctoral I.N.I.A., Plan Regional de Investigación Proyecto PRI+DT+I (2PR03B027) y fondos FEDER, Junta Extremadura (Consejería de Infraestructuras y Desarrollo Tecnológico), Asociación de criadores de ganado Merino

Figura 1. Representa distintos alelos determinados mediante el programa Genotyper v 2.0.

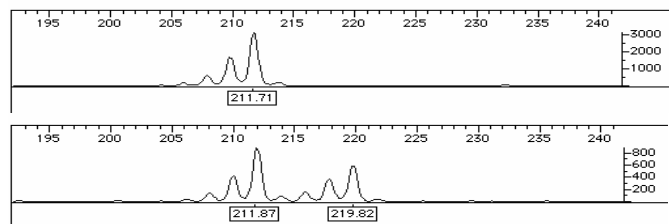


Tabla 1. Heterocigosidad del locus CSN3, Equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) e índices de fijación de Wright en la raza Merina. *valores de p derivados del test χ^2 , (n = tamaño muestra)

Línea Merino	N	Heterocigosidad		HWE*	Fis W&C
		observada	Esperada		
Granda	51	0.7551	0.8053	0.9524	0.073
Hidalgo	55	0.8148	0.8436	0.7088	0.043
Jordan	49	0.5918	0.7780	0.0002	0.249
Lamex	56	0.6964	0.7589	0.0085	0.091
L.Montenegro	51	0.5294	0.7265	0.0149	0.280
Merino Común	75	0.6486	0.7781	0.1021	0.173
Merino Negro	24	0.8750	0.7387	0.0104	-0.164
Perales	569	0.6977	0.7662	0.0784	0.090
Serena	44	0.6818	0.7342	0.3897	0.083
Total	974	0.6928	0.7878	0.0000	0.121

Tabla 2. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de producción de leche al primer control (prodto1), producción real (prodto2), tipificada a 120 días (prodtota) y ordeñada (prodtoord) para los diferentes genotipos de CSN3.

Genotipos	N	prodto1 (ml)	prodto2 (l)	prodtota (l)	prodtoord (l)
		LSM \pm SE	LSM \pm SE	LSM \pm SE	LSM \pm SE
214/214	12	526.38 \pm 86.98	42.37 \pm 8.51	44.67 \pm 8.45	14.94 \pm 4.23
214/216	29	483.68 \pm 51.58	36.16 \pm 5.01	39.86 \pm 4.96	10.13 \pm 2.50
214/222	85	432.50 \pm 29.39	32.70 \pm 2.82	36.66 \pm 2.79	9.50 \pm 1.41
214/224	62	516.42 \pm 36.54	41.63 \pm 3.55	46.53 \pm 3.52	14.05 \pm 1.77
214/234	13	554.80 \pm 85.94	51.34 \pm 8.44	53.95 \pm 8.39	21.32 \pm 4.19
214/236	12	397.21 \pm 72.72	26.75 \pm 6.99	30.93 \pm 6.91	6.48 \pm 3.50
216/216	44	431.52 \pm 41.46	33.86 \pm 4.00	37.00 \pm 3.96	10.95 \pm 2.00
216/222	100	435.80 \pm 27.60	33.40 \pm 2.66	38.23 \pm 2.64	9.82 \pm 1.33
216/224	51	394.46 \pm 35.58	29.22 \pm 3.41	33.99 \pm 3.38	8.04 \pm 1.71
216/236	25	420.59 \pm 51.17	31.00 \pm 4.92	35.64 \pm 4.87	8.80 \pm 2.46
222/222	144	515.64 \pm 23.74	41.24 \pm 2.28	45.99 \pm 2.26	13.79 \pm 1.14
222/224	149	481.16 \pm 23.50	37.51 \pm 2.26	41.97 \pm 2.24	11.39 \pm 1.13
222/234	10	402.88 \pm 81.38	27.17 \pm 7.82	32.28 \pm 7.75	5.30 \pm 3.92
222/236	35	498.96 \pm 42.96	39.33 \pm 4.13	44.31 \pm 4.09	12.47 \pm 2.07
222/246	12	632.02 \pm 75.27	51.03 \pm 7.32	54.69 \pm 7.26	16.74 \pm 3.65
224/224	42	387.42 \pm 37.68	28.59 \pm 3.57	31.46 \pm 3.53	8.33 \pm 1.80
224/236	18	484.34 \pm 59.87	36.44 \pm 5.77	42.79 \pm 5.72	9.77 \pm 2.89

Tabla 3. Medias mínimo cuadráticas y error estándar de los caracteres de calidad de leche para los diferentes genotipos de CSN3. PGDI= % grasa, PPDI = % proteína, PESMDI= % extracto seco magro, PESTDI= % extracto seco total, PLACDI= % lactosa.

Genotipos	N	PGDI	PPDI	PESMDI	PESTDI	PLACDI	
		LSM \pm SE	LSM \pm SE	LSM \pm SE	LSM \pm SE	N	LSM \pm SE
214/216	15	7.63 \pm 0.31	6.61 \pm 0.28	11.74 \pm 0.20	19.18 \pm 0.45	12	4.47 \pm 0.11
214/222	68	7.19 \pm 0.16	6.28 \pm 0.14	11.49 \pm 0.11	18.45 \pm 0.24	56	4.39 \pm 0.06
214/224	38	7.51 \pm 0.22	6.62 \pm 0.19	11.61 \pm 0.15	19.03 \pm 0.32	31	4.41 \pm 0.08
214/236	12	7.17 \pm 0.37	6.33 \pm 0.32	11.75 \pm 0.25	18.49 \pm 0.55	9	4.18 \pm 0.14
216/216	28	7.51 \pm 0.25	6.73 \pm 0.22	11.68 \pm 0.16	19.02 \pm 0.36	22	4.28 \pm 0.09
216/222	76	7.41 \pm 0.15	6.50 \pm 0.13	11.58 \pm 0.10	18.94 \pm 0.23	65	4.37 \pm 0.05
216/224	39	7.16 \pm 0.20	6.21 \pm 0.18	11.30 \pm 0.14	18.45 \pm 0.30	33	4.28 \pm 0.07
216/236	24	7.29 \pm 0.27	6.40 \pm 0.23	11.65 \pm 0.18	18.84 \pm 0.39	18	4.34 \pm 0.10
222/222	125	7.00 \pm 0.13	6.30 \pm 0.11	11.31 \pm 0.09	18.22 \pm 0.19	109	4.40 \pm 0.04
222/224	114	7.07 \pm 0.13	6.30 \pm 0.12	11.46 \pm 0.09	18.35 \pm 0.20	101	4.41 \pm 0.05
222/234	10	7.80 \pm 0.42	6.71 \pm 0.36	11.58 \pm 0.28	19.41 \pm 0.61	8	4.23 \pm 0.14
222/236	24	7.12 \pm 0.25	6.40 \pm 0.22	11.94 \pm 0.16	18.32 \pm 0.36	19	4.49 \pm 0.08
224/224	35	7.47 \pm 0.22	6.58 \pm 0.19	11.52 \pm 0.14	18.73 \pm 0.31	27	4.20 \pm 0.07
224/236	18	7.32 \pm 0.31	6.44 \pm 0.27	11.74 \pm 0.20	18.84 \pm 0.45	14	4.43 \pm 0.11