

# POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA BETA-LACTOGLOBULINA EN OVEJAS TROPICALES EN VENEZUELA Y SU EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN LÁCTEA

## GENETIC POLYMORPHISM OF BETA-LACTOGLOBULIN IN VENEZUELAN TROPICAL SHEEP AND ITS EFFECT ON MILK PRODUCTION

Aranguren-Méndez J.A.<sup>1\*</sup>, Portillo M.G.<sup>1</sup>, Yáñez L.F.<sup>1</sup>, Rincón X.<sup>1</sup>, Villasmil-Ontiveros Y.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Genética Molecular. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia. Apdo. 15252. \*atilioaranguren@gmail.com.

### Keywords:

Beta-lactoglobulin  
PCR-RFLP  
Sheep

### Palabras clave:

Betalactoglobulina  
PCR-RFLP  
Ovinos

### Abstract

Tropical sheep breeds are characterized by being haired breeds, mainly used for meat production. The growth of lambs during the pre-weaning first phase depends almost exclusively on mother's milk production, hence the attention given to milk proteins and their genotype. Beta-lactoglobulin plays a preponderant role within these proteins as it is the most abundant milk protein in ruminants, and it is known that in sheep it is found in chromosome 3 and has polymorphic variants. For this study, an experiment was carried out with 20 tropical West African sheep to determine the genotype of the BLG and its effect on milk production. Genotyping was performed by PCR-RFLP technique and the milk production estimate by lambs' double weighing. The results showed BLG allele frequencies of 0.80 for the homozygous AA, 0.20 for the heterozygote AB and absence (0.00) for BB homozygotes, no showed effect on milk production during breastfeeding. It is noteworthy that despite the small number of individuals analyzed, a predominance of genotype AA, which has been associated with a greater amount of casein in milk and therefore cheese yield is shown. These findings are useful for establishing patterns of marker-assisted selection, and thus giving these species a greater scientific interest in production systems.

### Resumen

Los ovinos tropicales se caracterizan por ser razas de pelo, utilizados para la producción de carne principalmente. Sin embargo, el crecimiento de los corderos durante su primera fase de vida depende casi exclusivamente de la producción láctea de su madre, de allí que se preste atención a las proteínas lácteas y el genotipo de las mismas. Dentro de estas proteínas juega un papel preponderante la BLG ya que es la proteína láctea más abundante en los rumiantes, y es conocido que en los ovinos se encuentra en el cromosoma 3 y presenta variantes polimórficas. Para este estudio se planificó un experimento con 20 ovejas tropicales West African, para determinar el genotipo de la BLG y su efecto sobre la producción láctea. El genotipado se realizó mediante la técnica PCR-RFLP y la estimación de la producción láctea por el método del doble pesaje del cordero. Los resultados mostraron frecuencias alélicas de la BLG de 0,80 para el homocigoto AA; 0,20 para el heterocigoto AB y ausencia (0,00) para los homocigotos BB. No se encontró efecto sobre la producción láctea durante el amamantamiento. Es importante mencionar que a pesar del número reducido de individuos analizados, se muestra un predominio del genotipo AA, el cual ha sido asociado a una mayor cantidad de caseína en la leche y por ende mejor propiedad o rendimiento quesero. Estos hallazgos resultan de gran utilidad para establecer planes de selección asistida por marcadores, y darle así a estas especies un mayor interés científico en los sistemas de producción.

### Introducción

Los ovinos tropicales están constituidos por animales de pelo, bastante rústicos, bien adaptados a las condiciones ambientales, pero por lo general con parámetros productivos y reproductivos inferiores a los que presentan razas de clima templado (Combellas, 1993, Gabaldon y Combellas, 2000).

En Latinoamérica, y en especial en Venezuela, las razas tropicales que mayormente se encuentran son la West African, Persa Cabeza Negra y Barbados Barriga Negra, las cuales fueron introducidas a través de las Antillas, predominando la raza West African y que recibe distintos nombres de acuerdo al país (Tabasco en México, Pelibuey en Cuba, Roja en Colombia, Morada nova en Brasil, entre otros; aunque en Venezuela se la continua denominando variedad West-African) (Reveron, 1994, Zambrano *et al.* 2005). Estas razas no presentan aptitud lechera y la leche que producen se utiliza exclusivamente para la alimentación de sus crías. De allí que la leche producida sea destinada al cordero y se constituya como el factor de mayor influencia en su crecimiento durante sus primeras semanas de vida (Combellas, 1980, Castellanos y Valencia, 1982, Doney, *et al.*, 1993). Debido a que son destinadas a la producción cárnica, en estas razas es difícil medir directamente la cantidad de leche producida, dado el pequeño tamaño de sus pezones y por la retención de leche cuando son ordeñadas. De allí que se tengan que utilizar métodos indirectos para estimar la producción de leche, siendo el método del doble pesaje del cordero uno de los más utilizados (Ampueda y Combellas, 2000). Dentro de las proteínas lácteas, se cita que la  $\beta$ -lactoglobulina (BLG) constituye la principal proteína láctea de los rumiantes. Esta proteína se sintetiza en las glándulas mamarias durante la gestación y las etapas de lactancia y el gen que la codifica se ubica en el cromosoma 3. Estudios previos han indicado que esta proteína es polimórfica y presenta una mutación puntual en la posición 20 del exón, la cual origina el cambio de una tirosina por una histidina y a su vez genera las variantes A y B, respectivamente, pudiendo ser detectadas por PCR-RFLP (Georgescu *et al.* 2011). De allí, que se planteó como objetivo principal, estudiar el polimorfismo de la BLG en la raza West African y su efecto sobre la producción láctea durante la lactancia de los corderos.

### Material y métodos

En este estudio preliminar, se analizaron 20 ovejas primíparas y de partos simples, las cuales parieron en el mes de enero del 2012, provenientes del rebaño del centro experimental de producción animal de la Universidad del Zulia, a las cuales se les tomaron muestras de sangre para la obtención del ADN nuclear, utilizando la metodología descrita por Aranguren *et al.* (2002). Todos los corderos fueron hijos del mismo semental. Los fragmentos amplificados y su genotipificación fueron llevadas a cabo mediante la técnica PCR-RFLP, utilizándose para su digestión la enzima *RsaI*, y la separación de los fragmentos se realizó en geles de agarosa al 2% según lo descrito por Georgescu *et al.* (2011). La producción de leche se estimó por el método del doble pesaje del cordero. Para ello se separaban los corderos de sus madres por un lapso de 4 horas, se pesaban, se dejaban mamar por 10-15 minutos y se volvían a pesar, estimándose la producción láctea por la diferencia entre pesadas que fueron extrapoladas a 24 horas. Esto se realizó desde la primera semana de edad, dos veces por semana y hasta alcanzar los 3 meses de edad del cordero, cuando se realizó el destete. El cálculo de las frecuencias génicas y alélicas se realizó por conteo directo, y el equilibrio de Hardy Weinberg, al igual que el efecto de los genotipos de la BLG sobre la producción láctea, se determinó mediante la prueba  $\chi^2$ -cuadrado y GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

### Resultados y discusión

#### *Frecuencias Alélicas y Genotípicas:*

Las frecuencias obtenidas del locus de la BLG (Tabla I) correspondieron a 0,80 para el homocigoto AA; 0,20 para el heterocigoto AB y 0,00 para los homocigotos BB, representando unas frecuencias alélicas de 0,90 para el alelo A y 0,10 para el alelo B, estando dicho gen en equilibrio H-W. Como se puede apreciar, en este estudio, los individuos BB estuvieron ausentes. Estos valores en las frecuencias alélicas resultaron ser bastante similares a los obtenidos en otras razas locales, tales como la Wallachian de la Republica Checa, Criolla de Turquía (Elmaci *et al.*, 2006, Georgescu *et al.* 2011). Así mismo, cabe destacar que otros estudios en la raza Karakul y Merinos en Turquía no se identificaron individuos del genotipo BB (Kevorkian *et al.* 2008, Georgescu *et al.* 2011). No obstante, difiere a lo obtenido en otras razas tales como: Sarda italiana, Churra y Manchega españolas, raza criolla de la isla de Pag en Croacia (Cubric-Curik *et al.* 2002, Nudda *et al.* 2003, Barrillet *et al.* 2004). La posible explicación de estas frecuencias mayoritarias del alelo A (0,90), podrían corresponder a que este alelo ha sido asociado con una mayor cantidad de contenido de caseína, proteína cruda y propiedades queseras (Garzón y Marínez, 1992); mientras que el alelo B, se asocia a mayor producción láctea y por ende en razas lecheras (Bolla *et al.* 1989). Como se indicó al inicio de esta contribución, esta raza tropical está orientada a la producción de carne, y por ende es de esperar que por selección indirecta se encuentren mayoritariamente

ejemplares con alto contenido proteico, ya que eso representaría corderos más pesados al destete; o bien pueda ser debida a deriva génica y/o factores demográficos, como ha sido reportado previamente.

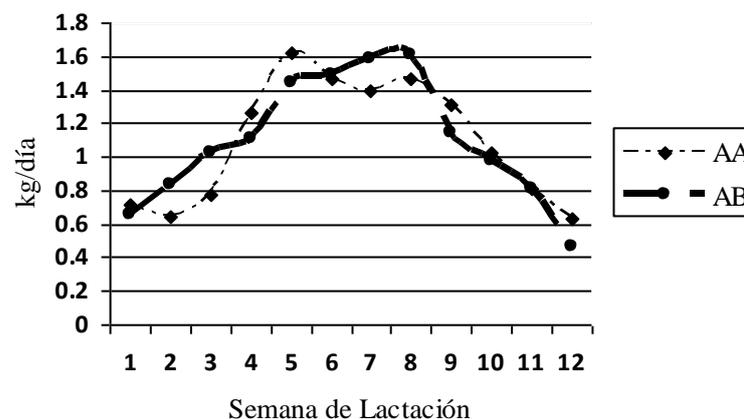
**Tabla I.** Frecuencias génicas y genotípicas para BLG, en ovejas West African (*Allelic and genotypic frequencies of BLG gene in West African sheep breed*)

Gen	No.	Frecuencia Alélica		Frecuencia Genotípica			EHW
		A	B	AA	AB	BB	
BLG	20	0,90	0,10	0,80	0,20	0,00	P > 0.05

(No) Números de animales.

#### Producción de leche:

La producción de leche promedio, estimada a las 12 semanas de lactancia, fue de 1,135 g/día para las ovejas West African, siendo de 1,120 g/día para las del genotipo AA y de 1,151 g/día para las ovejas AB, no existiendo diferencias significativas entre los dos grupos genéticos (P > 0,05). Estos hallazgos son similares a producciones en la West African reportados previamente en el país de 1,136 g/día (Ampubeda y Combellas, 2000, Gabaldón y Combellas, 2000) y que puede atribuirse a las buenas condiciones alimenticias y de manejo a que fueron sometidos los animales. El pico de producción para las ovejas durante su lactancia se observó entre la quinta y octava semana de amamantamiento (Figura 1), con valores que oscilaron entre 1,400 y 1,600 g/día sin diferencia entre ambos grupos (P > 0,05). Iniciándose la primera semana de lactancia, con valores de 650 g/día hasta alcanzar el pico y luego fueron disminuyendo progresivamente desde la novena semana hasta el final de la lactación, cuando los corderos fueron destetados.



**Figura 1.** Producción láctea diaria promedio de ovejas West African, de acuerdo al genotipo de la betalactoglobulina (*Average daily dairy production of west african sheep in accordance to the beta lactoglobulin genotype*)

#### Conclusiones

La técnica de RFLP permitió la identificación de los genotipos de la BLG en la raza West African. Al igual que en otros estudios solo se encontraron individuos AA y AB, estando ausente los homocigotos BB. El análisis estadístico arrojó que no hubo efecto significativo del genotipo de la oveja sobre los niveles de producción láctea, con una media de 1,135 g/día en una lactancia de 12 semanas. Estos resultados representan un valioso aporte al conocimiento de esta especie, y representa la primera contribución científica a nivel molecular en ovinos que se realiza en Venezuela. Por otra parte, puede ayudar considerablemente al establecimiento de programas de mejora genética en Ovinos Tropicales, mediante la selección asistida por marcadores, utilizada como una eficaz herramienta para incrementar los niveles productivos de los animales, ya que nos permite realizar selección para aquellos genotipos deseados en la población.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Centro Experimental de Producción Animal (CEPA) de la FCV-LUZ por permitir disponer de sus animales.

## Bibliografía

- Ampueda, J., J. Combellas. (2000) Estimación de la producción de leche en ovejas West African. Producción Ovina y Caprina XXV, pp. 303-305.
- Aranguren-Méndez, J., J. Jordana, R. Avellanet, M. Torrens. (2002) Estudio de la variabilidad genética en la raza bovina Mallorquina para propósitos de conservación. Rev. Científ. FCV-LUZ. XII (5): 358-366.
- Barillet, F. J.J. Arranz, C. Antonello (2005) Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep. Genetics Selection Evolution. 37(Suppl 1):S109-S123.
- Bolla, P., A. Caroli, A. Mezzelani, R. Rizzi, G. Izzi, G. Pagnacco, A. Fraghi, S. Casu. (1989) Milk protein markers and production in sheep. Anim. Genet. 20:78-78.
- Castellanos, A., M. Valencia. (1982) Estudio cuantitativo y cualitativo de la producción láctea de la oveja pelibuey. Prod. Anim. Tropic. (7): 245-253.
- Combellas, J. (1980) Parámetros productivos y reproductivos de ovejas tropicales en sistemas de producción mejorados. Produc. Anim. Trop. 5 (3): 290-297.
- Combellas, J. (1993) Comportamiento reproductivo en ovinos tropicales. Rev. Científ. FCV-LUZ. III (2): 135-141.
- Cubric-Curik, V., M. Feligini, J. Lukac-Havranek, I. Curik, G. Enne. (2002) Genetic polymorphism of beta-lactoglobulin in native sheep from the Island of Pag. Food Technology and Biotechnology. Vol (40): 75-78.
- Doney, J., J. Peart, W. Smith, D. Sim. (1993) Lactation, performance, herbage intake and lamb growth on Scottish blackface ewes grazing hill or improved pastures. Anim. Prod. 37:283-292.
- Elmaci, C., Y. Oner, M. S. Balcioglu. (2006) Genetic polymorphism of beta-lactoglobulin gene in native Turkish sheep breeds. Biochemical Genetics. Vol 44 (7-8) : 379-384.
- Gabaldón, L., J. Combellas. (2000) Comportamiento productivo de ovejas pastoreando malezas. Zootecnia Trop., 18(3):277-285.
- Garzon A. I. & Martinez J. 1992.  $\beta$ -Lg in Manchega sheep breed. Relationship with milk technological indexes in handcraft manufacture of Manchego cheese. XXIII. Int. Conf. Anim. Genet., Interlaken.
- Georgescu, S.E., N. Isfan, S.M.E. Kevorkian, M. Rebedea, M. Costache. (2011) The correlation of production characteristics with the genetic variants of the encoding locus of  $\beta$ -lactoglobulin in three sheep breeds from Romania. Arch. Zootech. 14: 41-49.
- Nudda, A., M. Feligini, G. Battacone, N. Pietro, P. Macciotta, G. Pulina. (2003) Effects of lactation stage, parity,  $\beta$ -lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes. Italian Journal of Animal Science Vol (2):29-39.
- Kevorkian, S., M. Manea, S.E. Georgescu, A. Dinischiotu, M. Costache. (2008) Genotyping of  $\beta$ -lactoglobulin gene in Karakul sheep breed. Zootehnie și Biotehnologii Vol 41(1): 112-116.
- Reveron, A. 1994. Tipos y razas de ovejas (Types and sheep breeds). In: García and Dickson (Ed), Curso sobre producción ovina y caprina (Ovine and Caprine Production Course). Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela, Barquisimeto, estado Lara; pp. 1-63.
- Statistical Analysis System Institute. (2002) The SAS system for windows. Cary. University North of Caroline. USA. Versión 9.2.
- Zambrano, C., Escalona, A., Maldonado, A. 2005. Evaluación biológica y económica de un rebaño de ovinos en Barinas. En: IX Seminario de Pastos y Forrajes. UNET, San Cristóbal, estado Táchira; 158-170.