



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

RELACION DE LOS GENOTIPOS DE k-CASEINA CON LA
PRODUCCION DE LECHE, GRASA Y PROTEINA DE GANADO
BOVINO HOLSTEIN.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ADDI MINERVA OROPEZA MONTEJO

ASESORES: DR. RAUL ULLOA ARVIZU
DR. ROGELIO ALEJANDRO ALONSO MORALES



MEXICO, D.F.

2004.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

Este trabajo está dedicado a...

La Universidad Nacional Autónoma de México, que me brindó la oportunidad de cursar mi carrera profesional con sus mejores profesores y dentro de sus exquisitas instalaciones, complementando siempre con actividades culturales y deportivas.

Mi madre: Addi Magally Montejó Dguez, que me ha transmitido una pequeña porción de su ser, para lograr mi existencia en este mundo.

Mi padre: Miguel Ángel Oropeza Ponce, que por sus acciones aprendí lo que es ser responsable.

A ti Madre Inés, que criaste, cuidaste y consentiste tanto a esta chica tan loca.

A Papá Rolando, que se dedicó durante su corta estancia en mi vida a ser mi padre.

A Carlos y Cristy Oso, que se rompen la cabeza a cada instante por ayudarme a transitar en este camino que no es tan complicado con ustedes a mi lado.

A Miriam y Alberto, que han pasado veladas sin sueño por esperarme, que me han apoyado, y me brindan todo su amor.

A Felipe, que desea lo mejor para mí.

A mis charparros: Carlos y Sofía, que con su existencia me han brindado felicidad inmensa; y a mi beba: Yael, que es tan linda y tan comprensiva que me sorprende día a día, con el inmenso amor que despide. Los Amo Mucho.

A Luciano: que a pesar de la distancia no me dejas a la deriva.

A Fernando que por cuidarme y brindarme todo tu amor y gran parte de tu tiempo has tenido que esforzarte el doble para cumplir con tus obligaciones; a ti que me proporcionas apoyo, cariño, paciencia, y tantas cosas que serían innumerables, pero sobre todo por amarme tanto y querer compartir el resto de tu vida conmigo.

A Ania, Blanca, Myriam, Mireya, Marisol, Bertha, Brenda, Itandewi, Lupita, Anita, Lety, Diana, Angie, Lechuzita, Jano, Mirna, Aarón, Abel, Arturo, Marco, Marco Aurelio, Cris, Feli, Luz, Re, Noe, Reyes, Ubaldo, Oscar Gustavo; Rosendo, Iván, Alonso, Víctor David, Juan Francisco, por estar al pendiente de mí en momentos divertidos, tristes, pesados, de descanso, complicados y demás, y a los que por las carreras no mencioné en este pequeño espacio, por todo el cariño que me han brindado durante tantos años, y por hacerme la vida tan amena.

A los profesores que por azares del destino llegaron a entablar una linda amistad conmigo: Egmond Recendiz; Mario Chávez; Hilda Castro; Frida Salmeron; Raúl Ulloa; Rubén Merino; Juan Manuel Cervantes; Edgardo Canizal; Jaime Navarro; Carlos Tena; Lorenzo Álvarez.

Al Paisanito Gaspar que ha tenido tantas atenciones durante todo este tiempo, gracias.

A la Estudiantina de la Fac. de Med. Vet. y Zootecnia de la UNAM, por lo mucho que aprendí y disfruté durante mi estancia.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por otorgarme una segunda oportunidad en este mundo, por la fuerza espiritual y material para combatir mis temores y realizar mis objetivos y sobre todo por colocar a personas tan maravillosas en mi camino.

Al MVZ Longinos Cazares Gómez y al Ingeniero Joaquín Barrera Carrera, por su hospitalidad y disponibilidad para colaborar con este trabajo; así como a las ordeñadoras del Rancho Cantabria, por toda su cooperación durante la toma de muestras.

Al Dr. Raúl Ulloa Arvizu, por depositar su confianza en mí y brindarme la oportunidad de realizar este trabajo, sobre todo por brindarme su amistad, tolerancia y paciencia.

Al Dr. Rogelio A. Alonso Morales, por su apoyo durante la realización de este trabajo.

Al MPA Marcelino E. Rosas García, por su tiempo, consejos y palabras de aliento para seguir en el camino, y claro, por la revisión y corrección de este trabajo.

A la Dra. Refugio Cortés Fernández, por sus explicaciones, consejos, revisiones, regaños y ayuda incondicional dentro y fuera del laboratorio, especialmente por no dejarme y ser mi amiga.

A la MVZ Felicitas Vázquez Flores, por hacer más amena mi estancia en el laboratorio y supervisar mis cuentas y sobre todo por ayudarme en la realización y redacción de este trabajo.

A la MVZ Ma. Guadalupe Sánchez González, y al Ing. Reyes por su infinita amistad y por el apoyo incondicional para realizar y entender la parte estadística de este trabajo.

A la Dra. Hilda Castro Gámez, por su valiosa ayuda, orientación y cariño; especialmente por tomarse la molestia y el tiempo para la revisión de este trabajo.

A los miembros del Jurado: MVZ Pedro Ochoa; MVZ Pedro Cano; MVZ Miguel Ángel Blanco; MVZ Marcelino Rosas y MVZ Raúl Ulloa. Por todo lo que han hecho y dicho en mi auxilio durante la elaboración de este trabajo.

Al personal docente (en especial a: Adriana Ducoing, Graciela Tapia, Frida Salmerón, Hugo Montaldo, Jaime Navarro) y administrativo (Rita Emilia, Alejandro y Carmen) que labora en el Departamento de Genética y Estadística por su ayuda desinteresada, por todo el cariño que me siguen brindando, y sobre todo, por tolerarme durante tanto tiempo.

Agradezco a mis hermanos sus palabras de aliento enfocadas a la culminación de este trabajo.

Mil gracias a todas las personas que me han ayudado en todo, durante el transcurso de mi corta vida.

CONTENIDO

| | Página |
|---|--------|
| DEDICATORIAS | II |
| AGRADECIMIENTOS | III |
| CONTENIDO | IV |
| INDICE DE CUADROS | VI |
| INDICE DE FIGURAS | VII |
| RESUMEN | 1 |
| I. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 1.1 Leche | 4 |
| 1.2 Componentes lácteos | 5 |
| 1.3 Proteínas lácteas | 6 |
| 1.4 Caseínas | 7 |
| 1.5 κ -caseína (κ -CN) | 8 |
| 1.6 Genotipificación | 11 |
| 1.7 Polimorfismos de restricción | 12 |
| 1.8 Efectos genéticos | 13 |
| II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 Hipótesis | 17 |
| 2.2 Objetivo general | 17 |
| 2.3 Objetivos particulares | 17 |
| III. MATERIAL Y MÉTODOS | 18 |
| 3.1 Material Biológico | 18 |

| | |
|--|----|
| 3.2 Extracción de ADN | 19 |
| 3.3 Cuantificación | 19 |
| 3.4 Electroforesis | 19 |
| 3.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) .. | 20 |
| 3.6 Electroforesis de productos de PCR | 21 |
| 3.7 Sitios de amplificadores digeridos (CAPS) | 21 |
| 3.8 Análisis estadístico | 22 |
| | |
| IV. RESULTADOS | 24 |
| | |
| V. DISCUSIÓN | 27 |
| 5.1 Frecuencias genotípicas y alélicas | 27 |
| 5.2 Efecto del genotipo | 28 |
| | |
| VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS | 31 |
| | |
| REFERENCIAS | 32 |
| | |
| ANEXOS | 55 |
| I. Extracción de ADN a partir de leche | 56 |
| II. Abreviaturas | 57 |
| III. Glosario | 58 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Sitios de restricción de enzimas. | 41 |
| Cuadro 2. Enzimas de restricción empleadas por diversos investigadores para localizar diferentes alelos de kappa caseína en fragmentos de diferente longitud. | 42 |
| Cuadro 3. Frecuencias genotípicas de kappa caseína. | 43 |
| Cuadro 4. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo A. | 44 |
| Cuadro 5. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo B. | 45 |
| Cuadro 6. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo E. | 46 |
| Cuadro 7. Medias marginales y error estándar de la producción de leche, grasa y proteína a los 305 días de lactancia, con respecto al número de parto. | 47 |
| Cuadro 8. Comparación de medias marginales de los alelos A, B y E de la kappa caseína y errores estándar para la producción de leche, grasa y proteína a los 305 días de lactación, con respecto al número de copias de cada alelo. | 48 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Estructura del cromosoma No. 6 de Bovino | 50 |
| Figura 2. Reacción en Cadena de la Polimerasa. | 51 |
| Figura 3. Mapa de los sitios de restricción de las enzimas <i>Hind</i> III y <i>Hae</i> III para el producto amplificado por PCR. ... | 52 |
| Figura 4. Patrones de los fragmentos digeridos con la enzima <i>Hind</i> III del segmento amplificado del gen de la κ - caseína bovina. | 53 |
| Figura 5. Patrones de los fragmentos digeridos con la enzima <i>Hae</i> III del segmento originalmente amplificado amplificado del gen de la κ -caseína bovina. | 54 |

RESUMEN

OROPEZA MONTEJO ADDI MINERVA. Relación de los genotipos de κ -caseína con la producción de leche, grasa y proteína de ganado bovino Holstein (Bajo la dirección de Dr. Raúl Ulloa Arvizu y Dr. Rogelio Alejandro Alonso Morales)

En este estudio se evaluó la utilidad de los genes que codifican la κ -caseína como marcador genético, dentro de un hato productor de leche en el altiplano de México. Se obtuvo ADN a partir de leche de 32 vacas Holstein de 1 a 3 partos de un hato lechero ubicado en el Estado de Querétaro, con el objeto de evaluar la relación de los genotipos de κ -caseína con la producción de leche, grasa y proteína; se utilizaron las enzimas *HindIII* y *HaeIII* para obtener los polimorfismos de amplificadores digeridos que permitieran identificar los alelos A, B y E de la κ -caseína, encontrando una frecuencia alélica de 0.734, 0.125 y 0.141 respectivamente para cada uno en esta población; la frecuencia genotípica calculada muestra un desequilibrio de Hardy-Weinberg debido a un exceso de homocigotos ($F=0.56$). Se realizó el análisis de varianza para la producción de leche, grasa y proteína, observándose que sólo el número de parto influye significativamente ($p<0.01$) en éstas. No se encontraron diferencias estadísticamente

significativas debido al valor tan grande del error estándar. Se sugiere realizar un estudio de cuando menos 190 animales para obtener una potencia estadística de al menos 80%; así como incluir la tipificación de los demás genes de las caseínas y de la beta lactoglobulina.

I. INTRODUCCIÓN

En la última década la biotecnología se ha desarrollado aceleradamente, contribuyendo con la genética molecular en la evaluación de los caracteres hereditarios y en el desarrollo de técnicas de análisis molecular que se basan en diferentes tipos de marcadores de ADN, que se usan en el mapeo genómico para la detección y manipulación de factores genéticos individuales de naturaleza cuantitativa en programas de mejoramiento genético.

En la producción animal dentro del campo de la industria lechera se han aprovechado estas biotecnologías con las que se identifican los genotipos, permitiendo el monitoreo de poblaciones animales a partir de marcadores ligados a rasgos cuantitativos. Específicamente aquellos que codifican las proteínas lácteas, como la κ -caseína, mediante la técnica CAPS (Sitios polimórficos de amplificadores digeridos), lo que contribuye a la identificación de animales genéticamente superiores, lográndose la transmisión de estos genes y ayudando al mejoramiento substancial de la producción láctea. En este estudio se evaluó la utilidad de los genes que codifican la κ -caseína como marcador genético, dentro de un hato productor de leche en el altiplano de México.

1.1 Leche

La Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994 define a la leche como el producto proveniente de la secreción natural de las glándulas mamarias de las vacas sanas, excluyéndose el producto obtenido 15 días antes del parto y 5 días después o cuando tenga calostro¹.

El consumo de leche en todas las etapas de la vida del hombre es importante; esto se hace patente desde que la madre la consume, ya que le aporta nutrientes para mantener su salud y la del producto; durante las primeras etapas de la vida favorece el crecimiento y desarrollo de los huesos, y en los adultos, el consumo diario de medio litro de leche aporta aproximadamente el 75% del requerimiento de calcio, el 45% de riboflavina, 20% de proteína y 10% de energía².

El valor nutritivo de la leche es mayor que el valor individual de los nutrientes que la componen debido a su balance nutricional único. La composición promedio de la leche de vaca por cada 100 gramos es de: Agua 88 g; energía 61 kcal; proteína 3.2 g; grasa 3.4 g; lactosa 4.7 g; y minerales 0.72 g³; esto implica que la leche es una mezcla compleja constituida por una fase de emulsión en donde la grasa y las vitaminas solubles en grasa de la leche se encuentran en forma de glóbulos, una fase de suspensión en la que se encuentra dispersa la caseína (principal proteína de

la leche) como un gran número de partículas sólidas tan pequeñas que no sedimentan, al igual que otras proteínas que están ligadas a sales minerales y, por último, una fase de solución; siendo el agua el medio general en el que se encuentra la lactosa⁴.

1.2 Componentes Lácteos

La compleja composición de la leche varía considerablemente según la raza, la época de parto, etapa de lactación, régimen alimenticio, número de ordeño, época del año, salud y edad del animal⁵.

Agua. Es el principal constituyente de la leche y su cantidad es regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua de la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria.

Hidratos de carbono. El principal es la lactosa, su concentración es relativamente constante.

Vitaminas. Las vitaminas de la leche son: A, C, D, E y complejo B.

Grasa. La grasa de la leche se encuentra presente en pequeños glóbulos suspendidos en agua. Cada glóbulo está rodeado de una capa de fosfolípidos, que evitan que los glóbulos se aglutinen entre sí repeliendo otros glóbulos de grasa y

atrayendo agua. La mayoría de los glóbulos de grasa se encuentran en forma de triglicéridos formados por la unión de glicerol con ácidos grasos.

Cenizas. Estas se componen de un gran número de sales, especialmente sales de calcio y fosfatos, junto con otras de potasio, azufre, cobre, sodio, yodo, cloro, magnesio, manganeso y hierro.

Células. Los elementos celulares de la leche provienen de los conductos del canal del pezón, cisterna y conductillos de la ubre, aunque algunos pueden llegar a la leche desde la superficie externa de la ubre y pezones; las células somáticas en la leche no afectan la calidad nutricional en sí. Ellas son solamente importantes como indicadores de otros procesos en el tejido mamario como la inflamación^{3,6}.

1.3 Proteínas Lácteas

Las proteínas están constituidas por bloques de aminoácidos. El orden de los aminoácidos en una proteína, se determina por el código genético, y le otorga a la proteína una conformación única. Posteriormente, la conformación espacial de la proteína le otorga su función específica.

Las proteínas en general interactúan con agua, sales, lípidos, etc., y contribuyen en las propiedades organolépticas y cinéticas de los productos lácteos por lo

tanto, mejoran los atributos de calidad como son olor, sabor, textura y palatabilidad; además cumplen con los requerimientos nutricionales de los individuos⁵.

De todas las proteínas, las de leche bovina son probablemente las mejor caracterizadas química, física y genéticamente⁷.

Numerosas investigaciones realizadas en los últimos treinta años han mostrado que algunas variantes genéticas de las proteínas lácteas tienen efectos importantes sobre las propiedades tecnológicas de la leche para la manufacturación quesera; éstas proteínas se clasifican en dos grandes grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%), debido al proceso de fabricación de quesos, que consiste en la separación del cuajo de las proteínas séricas luego de que la leche se ha coagulado bajo la acción de la renina^{8,9,10,11,12}.

1.4 Caseínas.

Son una fuente esencial de aminoácidos, fósforo y calcio para los lactantes, y constituye la principal proteína para la fabricación de quesos y yogures^{13,14,15}. Estas proteínas se encuentran en forma de grandes micelas (gránulos densos de proteínas) que contienen calcio y fosfato en suspensión coloidal en la leche de ganado bovino¹⁶. Las micelas están compuestas por la α s1-, α s2-, y β -caseína, que interactúan con el calcio, la κ -CN predomina en la superficie de las

micelas. La estructura y estabilidad física de las micelas domina diversas propiedades de la leche y subproductos.

La estructura química de las caseínas (Caseína-PO₄-Ca⁺⁺-PO₄-Caseína) permite la formación de las micelas, que miden alrededor de 140 nanómetros de diámetro. En la figura 1 se observa la localización de los genes de las caseínas localizados en el cromosoma 6q (región 3.1-3.3) dentro de un locus de 250 kb en el siguiente orden $\alpha 1$ - β - $\alpha 2$ - κ ^{17,18,19}.

Las caseínas son codificadas por sus respectivos genes, los cuales se expresan de manera específica en las células epiteliales de la glándula mamaria durante la lactación²⁰. Se han encontrado polimorfismos de todas ellas y son útiles para identificar alelos asociados con elevada producción de proteína o con propiedades específicas de producción^{21,22,23}.

1.5 κ -caseína (κ CN).

Es una proteína constituida por 169 aminoácidos y difiere de las restantes caseínas en el número de grupos fosfato fijados a la molécula y en que está glicosilado. Comprende el 13% del total de las caseínas y su concentración en la leche es de 3.5 gr/l²⁴. La κ CN es esencial en la estabilidad de las micelas de caseína en la leche en presencia de calcio. Otra de las características que la diferencian del resto de las caseínas es la capacidad de ser rápidamente hidrolizada por

la proteasa quimosina (renina) entre la Phe 105 y la Met 106, escindiendo la molécula en dos fragmentos, la para- κ -caseína (aminoácido No.105) fuertemente hidrofóbica y la caseína macropéptido (aminoácido No. 106), rica en residuos aminoácidos: ácidos y polares^{13,25}. La hidrólisis destruye el poder estabilizador de la CSN₃ y produce la coagulación de la leche^{26,27}. La κ CN que comienza la precipitación de las otras caseínas en presencia de calcio mantiene un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad micelar, debido a su estructura anfifílica²⁸. Su carácter hidrofílico está reforzado por la glicosilación que contribuye a incrementar la complejidad del sistema.

Polimorfismos. Se identifican al menos nueve formas de κ -caseína en bovinos (A, B, C, E, F, G, H, I, y A₁)^{29,30}, de las cuales se describen dos variantes importantes κ -CNA y κ -CNB. En el cuadro 1 se muestra la diferencia entre el alelo A y el B de la κ -caseína debida a la transición de una citosina (C) por una timina (T), provocando un cambio de aminoácidos, teniendo el alelo A en el codón 136 una treonina (ACC) y el B una isoleucina (ATC). En el codón 148 se observa una transversión de una adenina (A) por una citocina (C), cambiando el ácido aspártico (GAT) del alelo A por alanina (GCT) en el alelo B. Estas substituciones dan como resultado

sitios de restricción para 5 enzimas; así por ejemplo la *HinfI* y la *MboII* cuyos palíndromos son GATC y GAAGA respectivamente y son empleados para caracterizar el alelo A y *TaqI* (TCGA), *HindIII* (AAGCTT) y *AluI* (AGCT) para el alelo B^{31,32,33,34}, estas diferencias pueden localizarse por PCR-RFLP a partir de muestras de semen, sangre y leche.

En 1989 Erhardt³⁵ publica el hallazgo del alelo CSN₃(E). No obstante en muchos estudios excluyen la prueba para CSN₃(E), por lo que la información sobre la frecuencia de este alelo es mínima o nula en otras razas³⁶.

El cuadro 1 muestra la disparidad entre los alelos A y B con respecto al alelo E de la κ -CN que debido a la transición de una adenina (a) por una guanina (g), provoca un cambio de aminoácidos, teniendo los alelos A y B una serina (AGC) y el alelo E una glicina (GGC) en el codón 369³⁷. En los codones 136 y 148 se presentan las mismas transversiones ya mencionadas para el alelo A con respecto al alelo B. Estas substituciones dan como resultado sitios de restricción para algunas enzimas; por ejemplo la *HaeIII* y la *ApaI* cuyos palíndromos son GGCC y GGGCCC, que se utilizan para caracterizar al alelo E^{36,38}.

1.6 Genotipificación

La genotipificación se puede realizar por medio de diversos métodos como son los (Sitios Polimórficos de Amplificados Digeridos) también llamados PCR-RFLP's (Polimorfismos de los Tamaños de los Fragmentos de Restricción previamente amplificados por la Reacción en Cadena de la Polimerasa), los SSCP (Polimorfismos de la Conformación de Cadena Sencilla), que son demasiado laboriosos; y la secuenciación que determina el orden de nucleótidos que constituyen un gen⁴⁹.

El método más empleado actualmente es la PCR-RFLP por tener una aplicación práctica y sencilla.

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Técnica utilizada para la amplificación de ADN en el laboratorio utilizando la enzima ADNpolimerasa, que es una macromolécula que cataliza la formación y reparación de ADN. Consiste de un proceso bioquímico en el cual un segmento específico de ADN es amplificado mediante ciclos sucesivos de síntesis (20 ó 30) que integran la reacción; cada ciclo de replicación consiste de tres fases: Desnaturalización, Alineación y Extensión. La figura 2 muestra que al término de cada uno de ellos, las cadenas formadas, son nuevamente duplicadas, con lo que se obtiene un número exponencial de copias del gen o segmento específico de ADN⁵⁰.

El fragmento amplificado es digerido por enzimas de restricción por lo que se ha llamado RFLP (Polimorfismo de Tamaños de Fragmentos de Restricción), técnica que revela polimorfismos del gen. En principio, cualquier mutación que destruye o crea una diana o sitio para una enzima de restricción, puede ser detectada como un RFLP. Por ejemplo, inserciones, deleciones o substituciones de bases dentro de una diana de restricción alteran la secuencia de modo que la enzima de restricción ya no la reconocerá⁵⁰.

1.7 Polimorfismos de Restricción

Rogne en 1989²⁵ logra identificar los alelos A y B de la κ -CN digiriendo un fragmento de 500 pb con las enzimas *HindIII* y *HinfI*; un año después Denicourt⁵¹ amplifica un fragmento 30 pb mayor y lo digiere con las enzimas *TaqI* y *HindIII* encontrando los mismos alelos; ese mismo año Medrano y Aguilar³³ encuentran estos alelos digiriendo con la enzima *HinfI* un fragmento de 350 pb. Schlieben en 1991³⁷ emplea la enzima *HaeIII* para digerir un fragmento de 551 pb e identifica con ésta el alelo E de la kappa-caseína; más adelante Mao y Bremel⁴⁰ realizan las mismas digestiones que Denicourt pero en un fragmento de 347 pb, encontrando en éste los alelos A y B; y por último las enzimas *HhaI* y *MaeII* fueron empleadas por Prinzenberg⁵² en un fragmento de 564 pb identificando los

alelos C, F y G. Esta información se concentra en el cuadro 2 para mejor comprensión.

Amplificando un fragmento de 530 pb que incluya el exón IV del gen κ -CN⁴⁰, se observa en caso del alelo B un sitio de restricción para la enzima *Hind*III que como se aprecia en la figura 3 corta el fragmento original de 530 pb en dos segmentos de 375 y 155 pb, mientras que en presencia de los alelos A y E no hay sitio de restricción y queda íntegro el fragmento de 530 pb. La tipificación de éste gen se ha realizado incluso en embriones bovinos utilizando la PCR, partiendo de muy pequeñas cantidades de ADN y digiriendo con enzimas de restricción. La restricción del fragmento de 530 pb realizada con la enzima *Hae*III muestra tres fragmentos de 256, 145 y 129 pb para el alelo E de κ -CN, y para los alelos A y B se observan sólo dos fragmentos de 256 y 274 pb, esto se aprecia en la figura 3.

1.8 Efectos Genéticos

Se han realizado estudios en diferentes países acerca de la relación existente entre la habilidad de producción de proteína láctea y los diferentes alelos de la κ -caseína en diversas razas bovinas, analizándolos estadísticamente, midiendo los efectos de cada genotipo en las siguientes

generaciones, tomando a cada proteína como un loci individual³³.

Van Eenennaam y Shoemaker^{23,39} han encontrado una correlación positiva entre el genotipo BB de la k-CN y una mayor cantidad de caseínas producidas, así como un mayor número de micelas pequeñas de k-CN con distribución más homogénea en la leche. Mao⁴⁰ observó en Taiwan que vacas Holstein de genotipo BB para CSN3 tienen un porcentaje muy alto de proteínas en la leche y que esta leche a su vez es óptima para elaborar quesos; en cambio Toiven⁴¹ menciona que el total de proteína y caseína contenidas en la leche, y el rendimiento de queso fresco son mayores para genotipos AA, AE y EE que para genotipos AB y BE; además, menciona que el contenido graso de quesos y de materia seca es mayor en animales con genotipo AA, AE y EE, pero la proteína contenida en los quesos es mayor en presencia de los genotipos AB y BE.

Auldist⁴², Bovenhuis⁴³, Buchberger⁴⁴, Ikonen⁴⁵ y Schlieben³⁷ han encontrado que las proteínas lácteas producidas por animales homocigotos de B para k-CN influyen de manera importante en el rendimiento de la leche en quesos⁴⁶, reduciendo el tiempo de coagulación e incrementando la consistencia del mismo, siendo superiores estos valores a los rendimientos de las vacas con otros genotipos, en especial el homocigoto de A^{37,42}.

Famula y Medrano en 1994⁴⁷ reportan una diferencia significativa entre los animales con genotipos AA y AB de CSN3 de 150 kg de leche producida. Mientras que la diferencia entre BB y AA de CSN3 no es significativa.

El genotipo BB para κ -caseína y β -lactoglobulina está asociado con la proporción de α_{s-1} -caseína y la concentración de β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina (AA>AB>BB)^{23,48}.

Damiani³¹ encontró que la leche procedente de vacas κ -CN-BB producen un coágulo más fuerte reteniendo en mayor grado las grasas y aproximadamente un 10% más de queso Parmesano, después de 19 meses de envejecimiento que las vacas con genotipos κ -CN-AA.

Se ha sugerido que las diferencias entre la concentración de proteínas lácteas y los distintos alelos de la caseína, no se deben a que estos alelos tengan efectos directos sobre la producción, sino que son debido a regiones reguladoras de los genes o a variaciones en otros loci ligados a estos²¹. Boichard y colaboradores⁴⁶ reportan que no encontraron ninguna relación entre los alelos de la κ -CN con las propiedades de la leche en bovinos.

En los Estados Unidos e Israel existen antecedentes de la utilización de la selección asistida por marcadores tomando como criterio la calidad de la leche para la producción de

quesos. Se conoce hoy en día que estas variantes difieren en dos posiciones de aminoácidos y por secuenciación del gen se ha visto que estas dependen de dos substituciones de nucleótidos⁵.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

La producción de leche grasa y proteína en el ganado lechero está relacionada con los genotipos de la proteína κ -caseína.

2.2 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la relación de los genotipos de κ -caseína con la producción de leche, grasa y proteína en bovinos productores de leche.

2.3 OBJETIVO PARTICULAR

- Estimar las frecuencias alélicas y genotípicas de κ -caseína en el hato de estudio.
- Evaluar si la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.
- Estimar los efectos aditivos de los alelos sobre la producción de leche, grasa y proteína.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

La información y animales requeridos para realizar este trabajo fueron obtenidos de registros de producción de ganado Holstein pertenecientes al "Rancho Cantabria", ubicado en el kilómetro 4 de la carretera a Atongo del municipio El Marquez, Qro.; se cuenta con clima tipo BS₁k (semiseco/templado), temperatura promedio anual 18.8°C, 544mm de precipitación pluvial total anual, y 1850 msnm de altitud⁵³.

Los datos capturados y empleados de los animales en estudio fueron: edad en años (de 1 a 4), promedio de producción de leche (18,500 litros), grasa (3.56 %) y proteína (3.16 %) del hato por día y producción en kilogramos de leche (11,993.47), grasa (305.22) y proteína (297.64) a 305 días de las vacas muestreadas y número de parto (1er, 2do y 3er parto).

3.1 Material Biológico

La colección de muestras se realizó en envases de plástico con capacidad de 100 ml, cada frasco se identificó con el número de registro de cada vaca, y se sometieron a congelación hasta ser procesadas.

3.2 Extracción de ADN

A partir de cada muestra de leche se obtuvo ADN de células nucleadas por el método de Pinnow et al.⁵⁴, modificado en el laboratorio de Genética Molecular del Departamento de Genética y Bioestadística, FMVZ-UNAM (Anexo1).

3.3 Cuantificación

Posteriormente el ADN fue cuantificado por método estándar en un fluorómetro DQ200-115v (Hoefer Scientific Instruments) empleando el reactivo de Hoechst 33258 como marcador fluorescente. Se realizaron tres lecturas de cada muestra, promediando los resultados para finalmente ajustar el producto de extracción a una concentración de 25 ng/ μ l.

3.4 Electroforesis

La calidad del ADN obtenido fue evaluada por electroforesis en minigeles de agarosa al 1%, preparados con buffer TBE 1x (90 mM Tris-Ac. Bórico/2 mM EDTA pH 8.0). Se cargaron 200 ng de ADN y fueron sometidos a una corriente eléctrica de 90 volts durante 90 minutos. Se empleó una cámara de electroforesis horizontal y buffer TBE para correr las muestras; empleando ADN Lambda digerido con la enzima *BstEII* como marcador de peso molecular. Al terminar la electroforesis, los geles se tiñeron con bromuro de etidio

(0.5 mg/ml). La valoración de la purificación del ADN se realizó observando la fluorescencia de las bandas en un transiluminador con luz ultravioleta.

3.5 Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)

Las condiciones de PCR se ajustaron a la máxima sensibilidad para evitar amplificación de fragmentos inespecíficos. Para realizar este método se emplearon 100 ng de ADN de cada muestra y las condiciones de amplificación para el termociclador fueron las siguientes:

Desnaturalización inicial 94°C durante 3 min, en un ciclo, desnaturalización a 94°C, 30 seg, alineación a 54°C, 30 seg y extensión a 72°C, 30seg, repetidas en 30 ciclos. Y por último la extensión final a 72°C, 3 min en un ciclo.

Cada reacción de amplificación se realizó en un volumen final de 30 µl, constituidos por: 3 µl de amortiguador 10x para PCR (20 mM MgCl₂; KCl 500 mM; Tris-HCl pH 8.3 100 mM; gelatina 10 µg/ml), 3 µl de desoxinucleótidos (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 2 mM c/u, 1.5 µl de iniciadores κ-CN delantero y de reversa (10 mM c/u) previamente mezclados, 1.5 µl de BSA (3 mg/ml), 1.5 µl de Tritón 100x al 2%, 0.75 µl de enzima TaqPolimerasa (5U/µl), agua bidestilada estéril 14.75 µl, y 4 µl de ADN genómico bovino (25ng/µl)^{53,51,56,57,52}. Las reacciones se

realizaron en termocicladores Techne mod. FTGENE2D y HYBAID
Omn-E mod. HBTRE02HL110.

Los iniciadores empleados fueron diseñados a partir de las
siguientes secuencias: Iniciador Delantero 5'
ATAGCCAAATATATATCCCAATTCAGT 3' e Iniciador de Reversa 5'
TTTATTAATAGTCCATGAATCTTG 3'⁵¹

3.6 Electroforesis de productos de PCR

Ya amplificados los fragmentos de interés, fueron evaluados
mediante electroforesis horizontal (en las mismas condiciones
antes señaladas).

3.7 Sitios de polimórficos amplificados digeridos (CAPS)

Con el fin de identificar los alelos de κ -caseína, alícuotas
de los productos amplificados de la PCR se digirieron
independientemente con enzimas de restricción *HindIII*⁵¹ y
*HaeIII*³⁷, preparando una reacción constituida por: 10 μ l del
producto de PCR, 2 μ l del amortiguador (10x) recomendado por
el proveedor para cada enzima, 0.5 μ l de la enzima *HindIII*,
1.5 μ l de la enzima *HaeIII*, 0.2 μ l de espermidina y 7.4 μ l de
agua bidestilada estéril obteniendo un volumen fina de 20 μ l;
Estas reacciones se incubaron durante 12hrs. a 37°C. El
análisis de los productos digeridos se realizó mediante
electroforesis en geles de agarosa al 3%, dando como

resultado patrones de bandeo específicos de cada genotipo.
(Figura 3.)

3.8 Análisis estadístico

Se estimaron las frecuencias genotípicas y alélicas de cada población utilizando las siguientes fórmulas⁵⁸:

$$\begin{aligned} \text{Frecuencia Genotípica: } f(AA) &= n_{AA}/N & f(BB) &= n_{BB}/N \\ f(AB) &= n_{AB}/N & f(BE) &= n_{BE}/N \\ f(AE) &= n_{AE}/N & f(EE) &= n_{EE}/N \end{aligned}$$

Donde: $f(AA)$ = frecuencia genotípica de los individuos homocigotos κ -CN-AA; $f(AB)$ = frecuencia genotípica de los individuos heterocigotos κ -CN-AB; $f(AE)$ = frecuencia genotípica de los individuos heterocigotos κ -CN-AE; $f(BB)$ = frecuencia genotípica de los individuos homocigotos κ -CN-BB; $f(BE)$ = frecuencia genotípica de los individuos heterocigotos κ -CN-BE; $f(EE)$ = frecuencia genotípica de los individuos homocigotos κ -CN-EE; n_{AA} = número de individuos homocigotos AA; n_{AB} = número de individuos heterocigotos AB; n_{AE} = número de individuos heterocigotos AE; n_{BB} = número de individuos homocigotos BB; n_{BE} = número de individuos heterocigotos BE; n_{EE} = número de individuos homocigotos EE; y N = total de individuos de la muestra.

$$\text{Frecuencia Alélica: } f(A) = A = (2(n_{AA}) + n_{AB} + n_{AE}) / 2 * N$$

$$f(B) = B = (2(n_{BB}) + n_{BA} + n_{BE}) / 2 * N$$

$$f(E) = E = (2(n_{EE}) + n_{EA} + n_{EB}) / 2 * N$$

Donde: $f(A)$ = frecuencia alélica del alelo A; $f(B)$ = frecuencia alélica del alelo B; y $f(E)$ = frecuencia alélica del alelo E.

Se realizó la prueba de ji-cuadrada para bondad de ajuste, para verificar el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg. Se obtuvo el índice de fijación (F) donde:

$$F = 1 - (H_o / H_s)$$

Donde: H_o es la heterocigocidad observada, y H_s es la heterocigocidad esperada en equilibrio de Hardy-weinberg; se obtuvo también el valor de ji cuadrada con la siguiente fórmula⁵⁹.

$$X^2_{cal} = NF^2$$

Donde: N es el tamaño de la muestra y F^2 es el cuadrado del índice de fijación.

Para determinar la relación existente entre los genotipos y la producción se empleó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + P_j + e_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} = porcentaje de grasa, proteína, producción de leche, grasa o proteína a 305 días; μ = la media general de la población; C_i = i-ésimo genotipo de κ -caseína (0, 1 y 2 copias de los alelos A, B ó E); P_j = número de parto (1, 2 y 3); y e_{ijk} es el error aleatorio.

IV. RESULTADOS

Se colectaron 160 muestras de leche, de las cuales se perdieron 63 durante el almacenamiento, debido al mal funcionamiento del equipo de congelación, por lo cual se trabajaron 97 muestras que se fueron degradando en el transcurso del método empleado para la purificación de ADN, quedando tan sólo 32 muestras a tratar.

En la figura 4 se observa un gel que muestra como resultado de la digestión del fragmento de 530 pb con la enzima *HindIII* bandas de 375 y 155 pb correspondientes al genotipo BB, el genotipo AA está representado por una banda de 530 pb, ya que esta enzima no digiere al alelo A, en caso del genotipo AB se observan tres fragmentos de 530, 375 y 155 pb.

La figura 5 muestra tres bandas de 256, 145 y 129 pb correspondientes al genotipo EE, originadas de la digestión con la enzima *HaeIII*, que genera en caso de los genotipos EA y BB sólo dos fragmentos de 256 y 274pb.

En el cuadro 3, se presentan las frecuencias genotípicas; y las frecuencias calculadas de los alelos A, B y E son de 0.734, 0.125 y 0.141 respectivamente. El homocigoto de B es menos frecuente en esta población que los homocigotos de E y A los cuales representan el 9 y 65% de la población respectivamente. La heterosis esperada bajo la hipótesis del

equilibrio de Hardy-Weinberg fue de 0.4226 que es mucho mayor a la frecuencia observada en esta población (0.186); la F calculada fue de 0.563, y la ji-cuadrada calculada fue de 10.14; es decir que hay un desequilibrio debido a un exceso de homocigotos. Pese a que se observó que el heterocigoto AB presenta una frecuencia mayor que los heterocigotos de AE y BE, solo el AE presentó una deficiencia notable de tal modo que su contribución a la ji-cuadrada fue de 3.2; por otro lado, los homocigotos de B y E son los que presentaron un mayor exceso en los valores observados contribuyendo mayoritariamente al valor de ji-cuadrada (prueba de bondad de bondad de ajuste).

Los cuadros 4, 5 y 6 presentan el análisis de varianza para la producción en kilogramos a los 305 días de lactancia de leche, grasa y proteína. Se observa también que el número de parto influye significativamente ($p < 0.01$) en la producción de grasa y proteína, no así para la producción de leche. Los genotipos codificados como número de copias del alelo A, alelo B o alelo E, e interacciones (NP/Genotipo) no muestran significancia ($p > 0.05$).

En el cuadro 7 se aprecian las medias marginales y el error estándar de la producción de leche, grasa y proteína a los 305 días de lactancia con respecto al número de parto, y como se esperaba, las vacas de 3er parto presentaron 171 kg y 187

kg respectivamente más en la producción de grasa y proteína, que las vacas de 1er parto.

La comparación de medias marginales (cuadro 8) para 1 copia de los alelos A y E muestran mayor producción de leche a los 305 días de lactancia que para 0 y 2 copias de éstos alelos. No obstante en presencia de 1 copia del alelo B la producción de leche disminuye 1120 kg con respecto a la producción en presencia de 0 copias de este alelo. La producción de grasa con respecto al número de copias del alelo A se ve incrementada por 43 kg en presencia de 2 copias del alelo comparado con la presencia de 0 copias. En el caso de los alelos B y E la mayor producción de grasa se observa en presencia de 0 copias de los mismos. Respecto a la producción de proteína, se observa la menor producción en presencia de 2 copias de los alelos B y E.

V. DISCUSIÓN

5.1 Frecuencias genotípicas y alélicas.

Este es el primer estudio que reporta la frecuencia del alelo E (0.141) en bovinos en México. Anteriormente, Hernández et al.⁶⁰, reportan en ganado Holstein, frecuencias del alelo A de 0.87, sin diferenciarlo del E; y para el alelo B de 0.13 que es similar a lo encontrado en este trabajo (0.125); estos valores son similares a otros estudios realizados con la raza Holstein en el mundo, para el alelo B varían de 0.1 a 0.25^{8,23,33,36,40,61,62}. Por otro lado, hay pocos estudios donde reportan frecuencias del alelo E. Lien y col.¹⁹, encontraron en Holstein Finesa una frecuencia de 0.11 para el alelo E y la gran mayoría de las razas nórdicas no presentan este alelo; de las que más presentan este alelo están la romo roja sueca (0.196), roja y blanca sueca (0.122) y la negra y blanca sueca (0.085); mientras que la raza Ayrshire Finesa, presenta la frecuencia más alta (0.326). De hecho, Velmala y col.⁶³, mencionan que en esta raza se originó el alelo E. La baja frecuencia del alelo B en la raza Holstein en comparación con la raza Suizo Pardo (0.52)⁶⁴ o Jersey (0.86)²³ puede explicarse por una selección intensiva sobre el volumen de la producción lechera más que en la calidad.

Se encontró que el desequilibrio de Hardy-Weinberg se debe a un exceso del 56% de homocigosis, especialmente en el alelo B y E. Esto probablemente se pueda explicar como resultado de la consanguinidad. Si bien el estudio se hizo en un hato de alrededor 500 vientres, se utilizan un gran número de sementales y todos los animales son registrados. La raza Holstein es descendiente de muy pocos sementales y aunque sea la raza lechera más numerosa en el mundo presenta consanguinidad. Comparando con la base genética de 1884, el coeficiente de consanguinidad promedio en vacas nacidas en 1990 en Estados Unidos fue de 5.1 ± 0.4 % y un parentesco de 10.2 ± 0.8 %⁶⁵

Weigel⁶⁶ menciona que en el año 2000 fue de 4.6% (con base genética a 1960). Y menciona que el tamaño efectivo de la población estimado para ganado Holstein es de 39 animales en el mundo. Para el año 2004 el coeficiente de consanguinidad promedio es de 4.9 %⁶⁷.

5.2 Efecto del genotipo.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) debido a que el error estándar para todas las características fue muy grande, más de 20 kg para grasa y proteína y 461 kg para leche; en otros estudios con un mayor número de animales incluidos en el análisis, se encuentran diferencias

estadísticas significativas. Por ejemplo, Van Eenennaam y Medrano²³, en 1999, trabajando con 1152 animales encuentran que el homocigoto BB de la Kappa caseína supera al AA con 296 Kg de leche y 16 Kg de proteína y con un error estándar de 236 y 7.3 kg, respectivamente. En el presente estudio se encontraron diferencias de 427, 51 y 62 kg de leche, grasa y proteína respectivamente. El tamaño de la muestra resulto muy bajo (32 muestras); la media armónica para el número de observaciones por genotipo fue de 3.8, y si consideramos un alfa (probabilidad de cometer el error tipo I) de 0.05, con una diferencia de medias de 50 kg y un error estándar de 25 kg, da una potencia de 0.21 para este estudio.

Por lo que para tener una potencia del 80 %, se requiere un tamaño de muestra de 10 animales por genotipo y dado que la frecuencia del homocigoto BB es muy baja (6%), se requiere al menos tipificar 90 animales dado la estructura genética de la población Holstein en México. Y si esperamos una diferencia entre genotipos de 30 Kg, es indispensable muestrear alrededor de 190 animales en total, para tener un 80% de potencia.

Sin embargo, la tendencia es contraria a lo encontrado por Van Eenennaam y Medrano²³ ya que el homocigoto de B tiene los menores valores en proteína y el homocigoto de E los mayores. Por otro lado, es importante evaluar los haplotipos que forma

el gen de la kappa caseína con las demás caseínas así como el gen de la beta-lactoglobulina⁶¹, e investigar regiones cercanas ya que se han reportado loci para características cuantitativas (QTL) cercanas (40 centiMorgans) al gen de la Kappa caseína⁶⁸.

VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las frecuencias de los alelos A, B y E del gen de la Kappa caseína de Holstein en México, son similares a lo encontrado en otros países.

Se encontró un exceso de homocigosis explicado por la consanguinidad que en forma generalizada hay en la población de Holstein en el mundo y posiblemente por la falta de atención en cuanto a la selección de los toros usados en este hato.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas debido al valor muy grande del error estándar. Por lo que se sugiere hacer un estudio de cuando menos 190 vacas para obtener una potencia estadística de al menos 80 %; así como, incluir la tipificación de los demás genes de las caseínas y la beta-lactoglobulina.

REFERENCIAS

1. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-091-SSA1-1994. Bienes y servicios, leche pasteurizada de vaca, disposiciones y especificaciones sanitarias. México (DF) SSA, 1996
2. Gasque GR. Zootecnia lechera concreta; CECSA, DF, México. 1986
3. Wattiaux MA. Reproducción y selección genética; lactancia y ordeño: composición de la leche y valor nutricional; Instituto Babcock para el Desarrollo y la Investigación Internacional de la Lechería. <http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/html/ch19>
4. Jaramillo ACJ, Vargas GR y Martínez MJJ. Manual de prácticas de inspección de productos de origen animal. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública; FMVZ-UNAM. DF, México. 2ª ed. 1994.
5. Uffo O, Sanz A, Martínez S. Marcadores moleculares en el mejoramiento y la genética animal; EDICENSA, La Habana, Cuba. 2000.
6. Harvey C y Hill H. Leche: producción y control; Ed. Academia, León, España. 4ta ed. 1967
7. Swaiswood EH. Symposium: Genetic perspectives on milk proteins: Comparative studies and nomenclature (Review and update of casein chemistry); J. Dairy Sci. 1993; 76: 3054-3061
8. Ezra E, Ron M, Feldmesser E, y Weller JI. Incorporation of direct selection on milk protein loci into a national dairy breeding program; Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Guelph, Ontario, Canada. 1994; 19: 327-332
9. Lien S y Gomez L - Raya. The uses of bovine casein haplotypes as genetic markers; Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Guelph, Ontario, Canada. 1994; 19: 323-326
10. McLean DM. Influence of milk protein genetic variants on milk

- composition yield and cheesemaking properties; *Animal Genetics*. 1987; 18: 100-102
11. Pinder SJ, Perry BN, Skidmore CJ y Savva D. Analysis of polymorphism in the bovine casein gene by use of the polymerase chain reaction; *Animal Genetics*. 1991; 22: 11-20
 12. Viana JL, Fernández A, Iglesias A, Sánchez L, y Becerra J. Análisis de los genotipos más frecuentes de la κ -caseína en la raza vacuna Rubia Galega mediante PCR/RFLPs; *Archivos de Zootecnia*. 2001; 50(189-190): 91-96
 13. Alexander JL, Stewart AF, Gackinlay GA, Kapelinskaya VT, Tkach MT, y Gorodetsky. Isolation and characterization of the bovine κ -casein gene; *Eur. J Biochem*. 1998; 178: 395-401
 14. Mercier JC, Vilotte LJ y Provot C. Genome analysis in domestic animals. Structure and function of milk protein genes. In : Geldermann H y Ellendorff F, edit. Weinheim. Germany : VCH. 1990
 15. Mercier JC, Groschalude F y Martin P. La caseine 1C et la famille multigénique des trois caseines "Sensibles au calcium" polymorphisme, biosynthèse y evolution; *SFG7 No.3*, 1991; I-VIII
 16. Gutiérrez AA, Maga EA, Meade H, Shoemaker CF, Medrano JF, Anderson GB, y Murray JD. Alterations of the physical characteristics of milk from transgenic mice producing bovine κ -casein; *J Dairy Sci*. 1996; 79: 791-799
 17. Arkdb Species Databases, Roslin Institute. 2001 [en línea] Disponible en el URL <http://texas.thearkdb.org>
 18. Martin P, Szymanowska M, Zwierzchowski L, Leroux C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks; *Reprod. Nutr. Dev*. 2002; 42: 433-459
 19. Lien S, Rogne S. Bovine Casein Haplotypes: Number, Frequencies and

- Applicability as Genetic Markers. *Animal Genetics*. 1993; 24: 373-376
20. Threadgill WD y Womack EJ. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes; *Nucleic Acids Research*, Oxford University Press. 1990; 18(23): 6935-6942
 21. Ferretti L, Leone P y Sgaramella V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes; *Nucleic Acids Research*. 1990; 18(23): 6829-6833
 22. NG-KWAI-HANG KF, Hayes JF, Moxley JE, y Monardes HG. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle; *J Dairy Sci*. 1984; 67: 835-840
 23. Van Eenennaam A y Medrano FJ. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle; *J Dairy Sci*. 1991; 74: 1730-1742
 24. Groschalude F. Le polymorphisme genetique des principales lactoproteines bovines. Relations avec la quantite, la composition et les aptitudes fromageres du lait; *INRA Prod. Anim*. 1988; 1(1): 5-17
 25. Rogne S, Lien S, Vegarud G, Steine T, Langsrud T, y Aleström. A method for the κ -casein genotyping of bulls; *Animal Genetics*. 1989; 20: 317-321
 26. Gutiérrez A, et al. Expression of a bovine κ -CN cDNA in the mammary gland of transgenic mice utilizing a genomic milk protein gene as an expression cassette; *Transgenic Research*. 1996; 5:271-279
 27. Martin P. Polymorphisme genetique des lactoproteines caprines; *Lait*. 1993; 73: 511-532
 28. Zsolnai A, Fesüs L. Simultaneous analysis of bovine κ -casein and BLAD alleles by multiplex PCR followed by parallel digestion with

- two restriction enzymes; *Animal Genetics*. 1996; 27: 207-209
29. Vreeman HJ, Visser S, Slaugen CJ y Van Riel JAM. Characterization of bovine kappa casein fraction and the kinetics of chymosin-induced macropeptide release from carbohydrate-free and carbohydrate containing fraction determined by high performance gel-permeation chromatography; *Biochem. Journal*. 1988; 240: 87-97
30. Soria LA, Iglesias GM, Huguet MJ, y Mirande SL. A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene; *Animal Biotechnology*; 2003; 14(1): 1-5
31. Damiani G, Ferretti L, Rognoni G y Sgaramella V. Restriction fragment length polymorphism analysis of the κ -casein locus in cattle; *Animal Genetics*. 1990; 21:107-114
32. Hernández PJO. Estimación de las frecuencias alélicas del gen de la κ -caseína en bovinos criollos mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (tesis de licenciatura); México, DF: UNAM 1998
33. Medrano JF y Aguilar CE. Genotyping of bovine KCN loci following DAN sequence amplification; *Biotechnology*. 1990; 8: 144-146
34. Suresh Malik, Satish Kumar y Ranji Rani. κ -casein and β -casein alleles in crossbred and Zebu cattle from Indian using polymerase chain reaction and sequence-specific oligonucleotide probes; *Journal of Dairy Research*. 2000; 67: 295-300
35. Erhardt G. κ -Kaseine in Rindermilch-Nachweis eines weiteren Allels (κ -CN^F) in verschiedenen Rassen. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1989; 106:225-31
36. Lien S, Kantanen J, Olsaker I, Holm EL, Eythorsdottir E, Sandberg K, Dalsgard B, Adalsteinsson S. Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds; *Animal Genetics*. 1999; 30: 85-

37. Schlieben S, Erhardt G y Senft B. Genotyping of bovine κ -casein (κ -CN^A, κ -CN^B, κ -CN^C, κ -CN^E,) following DNA sequence amplification and direct sequencing of κ -CN^E PCR product; *Animal Genetics* 1991; 22(4): 333-342
38. Lindersson M, Lundén A, Andersson L. Genotyping bovine milk proteins using allele discrimination by primer length and automated DNA sizing technology; *Animal Genetics*. 1995; 26: 67-72
39. Shoemaker CF, Nantz J, Bonnans S y Noble AC. Rheological characterization of dairy products; *Food Technol.* 1992; 1:98
40. Mao FC y Bremel RD. Distribution of bovine α -lactalbumin and κ -casein genotypes in Taiwan; *Proc. of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Guelph, Ontario, Canada. 1994; 19: 331-332
41. Toivonen M, Ojala M, Pahkala E. Effects of κ -casein genotypes and milk renneting properties on yield and composition of fresh cheese; *Proc. of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Armidale, Australia. 1998
42. Auldism M, Mullins C, D'Brien B, O'Kennedy BT, y Guinee T. Effect of cow breed on milk coagulation properties; *Milchwissenschaft - milk Science International*. 2002; 57(3): 140-143
43. Bovenhuis H y de Boer Imke JM. The potential contribution of milk protein loci to improvement of dairy cattle; *Proc. of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Guelph, Ontario, Canada. 1994; 19: 311-318
44. Buchberger J. Lactoprotein genetic variants in cattle and cheese making ability; *Food Technology and Biotechnology*. 2000; 38(2): 91-

45. Ikonen T, Ahlfors K, Kempe R, Ojala M, y Ruottinen O. Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in finnish dairy cows; J Dairy Sci. 1999; 82(1): 205-214
46. Boichard D, Glosclaude F y Le Roy P. Estimation of the effect of milk protein polymorphism on production traits in dairy cattle by tail analysis; Proc. of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Guelph, Ontario, Canada. 1994; 19: 303-306
47. Famula ST y Medrano FJ. Estimation of genotype effects for milk proteins with animal and sire transmitting ability models; J Dairy Sci. 1994; 77: 3153-3162
48. Angulo C, Carrillo DE, Muñoz A, Alonso A, Jiménez I, y Serradilla JM. Effect of electrophoretic goat's κ -casein polymorphism on milk yield and main components yield; Proc. of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Guuelph, Ontario, Cánada. 1994; 19:333-336
49. Daniel LH. A primer of population genetics 3er edit; SINAVER. 2000
50. Vázquez FF. Identificación de variantes genéticas del locus Nramp1 en bovinos de distintos linajes (tesis de licenciatura); Cuautitlán Izcalli, edo. De México: UNAM 2002
51. Denicourt D, Sabour MP y McAllister AJ. Detection of bovine κ -casein genomic variants by the polymerase chain reaction; Animal Genetics 1990; 21: 215-216
52. Prizenberg EM, Brant H, Bennewitz J, Kalm E, y Erhardt G. Effect of polymorphisms in the CSN1S1 gene on milk production traits in German Holsteins; Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France. 2002; 9: 16-20
53. INEGI 2003

54. Pinnow CC, Butler JA, Sachse K, Hotzel H, Timms LL, Rosenbusch RF. Detection of mycoplasma bovis in preservative-treated field milk samples; American Dairy Science Association. J. Dairy Sci. 2001; 84: 1640-1645
55. Innis MA y Gelfand DH, Sninsky JJ. Optimization of PCR's; PCR protocols. A guide to methods and applications. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers. San Diego, California. 1990
56. Ron M, Yoffe O, Ezra E, Medrano JF, y Séller JI. Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Israeli Holsteins; J Dairy Sci; 1994; 77(4): 1106-1113
57. García VMG, Zárate PSE, Calva ME, Berruecos VJM. Ingeniería genética molecular en medicina veterinaria; Universidad Nacional Autónoma de Chiapas. 1991
58. Van Vleck LD, Pollak EJ Branford OEA. Genetics for the animal sciences; WH. Freeman and Company, New York, USA 1987
59. Neir M. Molecular evolutionary genetics; Columbia University Press, New York. 1987
60. Hernández PJO, Ulloa AR, Montañó BM, Alonso MRA, Martínez VG. Diversidad genética de la kappa caseína en bovinos criollos mexicanos; Proc. XXXIV Reunión Nacional de Investigación Pecuaria, Querétaro. 1998; 86
61. Ojala M, Famula TR, Medrano JF. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey Cows in California; J. Dairy Sci. 1997; 18: 1776-1785
62. Sabour MP, Lin CY, Lee AJ, McAlliste AJ. Association between milk protein genetic variants and genetic values of Canadian Holstein bulls of milk yield traits; J. Dairy Sci. 1996; 79: 1050-1056

63. Velmala R, Vilkki J, Elo K, Mäki-Tanila A. Casein haplotypes and their association with milk production traits in the finish Ayrshire cattle; *Animal Genetics*. 1995; 26: 419-125
64. Osta R, García ME, Zaragoza P, Rodellar C and Zaragoza I. Milk protein genotyping in bovine embryos using PCR; *Proc. 9ª Reunión AETE, Lyon, Francia*. 1993
65. Young CW, Seykora AJ. Estimates of Inbreeding in modern breeding programs; *J. Dairy Sci*. 1996; 79: 502-505
66. Weigel KA. Controlling inbreeding in modern breeding programs; *J. Dairy Sci*. 2001; 84(E. Suppl.): E177-E184
67. AILP. Inbreeding coefficients for Holstein cows calculated May, 2004; USDA Animal Improvement Programs Laboratory. 2004 [en línea] Disponible en <http://www.aipl.arsusda.gov/dynamic/inbrd/current/kindx.html>
68. Ashwell MS and Van Tassell CP. Detection of Putative loci affecting milk, health, and type traits in a US Holstein population using 70 microsatellite markers in a genome scan; *J. Dairy Sci*. 1999; 82: 2497-2502

CUADROS

Cuadro 1. Sitios de restricción de enzimas³²

| k-caseína A | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|
| Codón | 136 | 148 | 155 | |
| Secuencia de aminoácidos | Thr <u>Thr</u> Glu | Glu <u>Asp</u> Ser | Glu <u>Ser</u> Pro | |
| Secuencia de nucleótidos | ACC <u>ACC</u> GAA | GAA <u>GAT</u> TCT | GAG <u>AGC</u> CCA | |
| Sitio de restricción para HinFI | | G <u>ANTC</u> | | |
| Sitio de restricción para MboII | | GAA G <u>A</u> | | |
| k-caseína B | | | | |
| Codón | 136 | 148 | 155 | |
| Secuencia de aminoácidos | Thr <u>Ile</u> Glu | Glu <u>Ala</u> Ser | Glu <u>Ser</u> Pro | |
| Secuencia de nucleótidos | ACC <u>ATC</u> GAA | GAA <u>GCT</u> TCT | GAG <u>AGC</u> CCA | |
| Sitio de restricción para TaqI | T <u>CGA</u> | | | |
| Sitio de restricción para HindIII | | AA G <u>CTT</u> | | |
| Sitio de restricción para AluI | | A G <u>CT</u> | | |
| k-caseína E | | | | |
| Codón | 136 | 148 | 155 | |
| Secuencia de aminoácidos | Thr <u>Thr</u> Glu | Glu <u>Asp</u> Ser | Glu <u>Gly</u> Pro | |
| Secuencia de nucleótidos | ACC <u>ACC</u> GAA | GAA <u>GAT</u> TCT | GAG <u>GGC</u> CCA | |
| Sitio de restricción para HaeIII | | | GG <u>CC</u> | |
| Sitio de restricción para ApaI | | | GGCC <u>C</u> | |

Cuadro 2. Enzimas de restricción empleadas por diversos investigadores para localizar diferentes alelos de kappa caseína en fragmentos de diferente longitud.

| Cita | Tamaño de fragmento | Enzima de restricción | Alelos encontrados |
|--|---------------------|-------------------------------------|--------------------|
| Rogne <i>et al.</i> , 1989 | 500pb | HindIII, HinfI | A, B |
| Denicourt <i>et al.</i> , 1990 | 530pb | TaqI, HindIII | A, B |
| Medrano y Aguilar <i>et al.</i> , 1990 | 350pb | HinfI | A, B |
| Schlieben <i>et al.</i> , 1991 | 551pb | HaeIII, HindIII, HinfI | A, B, E |
| Mao y Bremel <i>et al.</i> , 1994 | 347pb | TaqI, HindIII | A, B |
| Prinzenberg <i>et al.</i> , 1996 | 564pb | HaeIII, HhaI, HindIII, HinfI, MaeII | A, B, C, E, F, G |

Cuadro 3. Frecuencias genotípicas de kappa caseína.

| GENOTIPOS | AA | AB | AE | BB | BE | EE | TO TAL |
|-----------------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------|
| No. Animales | 21 | 3 | 2 | 2 | 1 | 3 | 32 |
| FREC. Genotípicas | 0.656 | 0.093 | 0.062 | 0.062 | 0.031 | 0.093 | 1 |
| Esperados | 17.240 | 5.872 | 6.623 | 0.5 | 1.128 | 0.636 | |
| Contribución a ji cuadrada* | 0.819 | 1.404 | 3.227 | 4.5 | 0.014 | 8.782 | |

* $[(\text{observados} - \text{esperados})^2] / \text{esperados}$ (prueba de ji cuadrada para bondad de ajuste)

Cuadro 4. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo A.

| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Leche | Grasa | Proteína |
|---------------------|--------------------|-------------|-------------|--------------|
| Número de Parto | 2 | 6171854.782 | 92226.089** | 111372.795** |
| Genotipo | 2 | 3186652.437 | 9899.592 | 14729.946 |
| Interacción | 4 | 2801592.887 | 4913.715 | 3348.178 |
| Error | 46 | 3975585.384 | 8857.666 | 8260.887 |

** (p < 0.01)

Cuadro 5. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo B.

| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Producción de Leche | Producción de Grasa | Producción de Proteína |
|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| Número de Parto | 2 | 5313949.343 | 46520.194** | 56156.031** |
| Genotipo | 2 | 496279.946 | 3214.657 | 2811.211 |
| Interacción | 2 | 5027308.787 | 18764.179 | 25302.467 |
| Error | 48 | 3812912.760 | 8459.722 | 7700.383 |

** (p < 0.01)

Cuadro 6. Cuadrados medios para producción a los 305 días de leche, grasa y proteína en relación al alelo E.

| Fuente de Variación | Grados de Libertad | Producción de Leche | Producción de Grasa | Producción de Proteína |
|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| Número de Parto | 2 | 275678.436 | 53144.596** | 61909.627** |
| Genotipo | 2 | 1915592.801 | 1871.270 | 2304.064 |
| Interacción | 4 | 3866210.322 | 9681.175 | 8613.978 |
| Error | 46 | 4026710.587 | 8348.106 | 7972.249 |

** (p < 0.01)

Cuadro 7. Medias marginales y error estándar de la producción de leche, grasa y proteína a los 305 días de lactancia, con respecto al número de parto.

| Variable Dependiente | Número de Parto | n | Medias Marginales y Error Estándar |
|------------------------|-----------------|----|------------------------------------|
| Producción de Leche | 1 | 22 | 11401 ± 502 |
| | 2 | 23 | 12571 ± 458 |
| | 3 | 10 | 12314 ± 636 |
| Producción de Grasa | 1 | 22 | 233 ± 23 |
| | 2 | 23 | 327 ± 21 |
| | 3 | 10 | 404 ± 30 |
| Producción de Proteína | 1 | 22 | 219 ± 22 |
| | 2 | 23 | 323 ± 20 |
| | 3 | 10 | 406 ± 29 |

Cuadro 8. Comparación de medias marginales de los alelos A, B y E de la kappa caseína y errores estándar para la producción de leche, grasa y proteína a los 305 días de lactación, con respecto al número de copias de cada alelo.

| Alelo | Número de Copias | n | Leche (Kg) | | Grasa (Kg) | | Proteína (Kg) | |
|-------|------------------|----|------------|------|------------|----|---------------|----|
| | | | \bar{X} | EE | \bar{X} | EE | \bar{X} | EE |
| A | 0 | 13 | 11613 | 556 | 290 | 26 | 278 | 25 |
| | 1 | 12 | 12635 | 588 | 341 | 27 | 342 | 26 |
| | 2 | 30 | 12040 | 461 | 333 | 21 | 328 | 21 |
| B | 0 | 44 | 12306 | 326 | 331 | 15 | 326 | 14 |
| | 1 | 9 | 11204 | 650 | 309 | 30 | 305 | 29 |
| | 2 | 2 | 11756 | 1380 | 239 | 65 | 214 | 62 |
| C | 0 | 38 | 11941 | 406 | 334 | 18 | 327 | 18 |
| | 1 | 9 | 12831 | 819 | 319 | 37 | 317 | 36 |
| | 2 | 8 | 12160 | 747 | 309 | 34 | 299 | 33 |

FIGURAS

Cromosoma 6 de
bovino

Locus de 250 kb de
caseínas bovinas

κ -caseína
13 kb

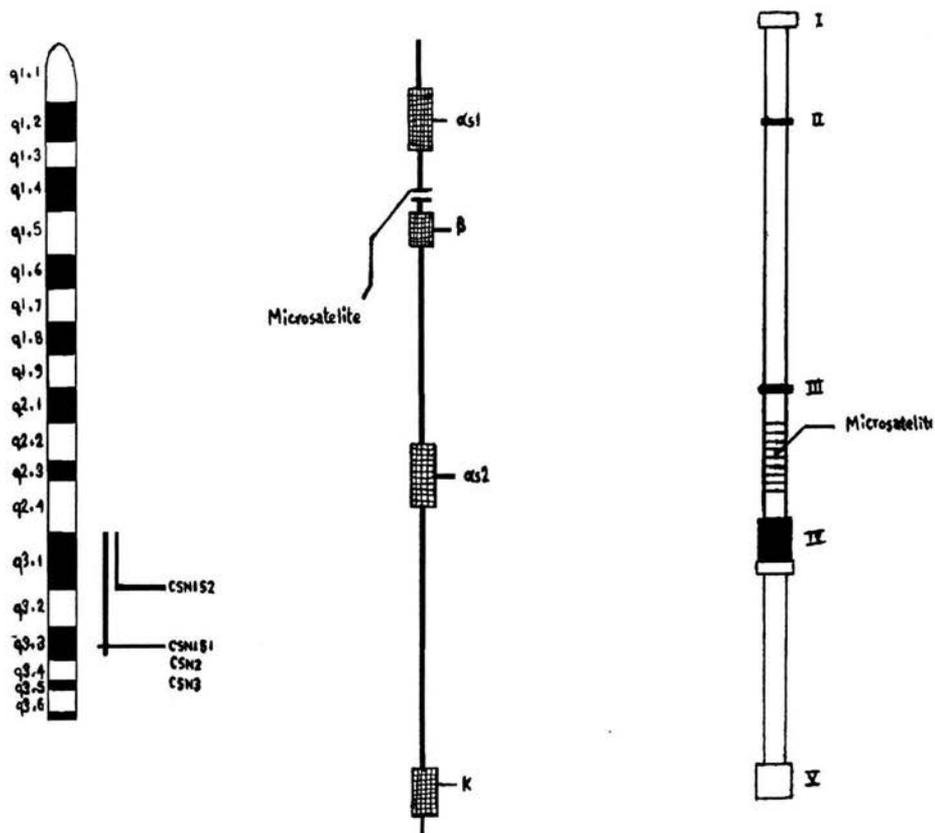


Figura 1. Estructura del cromosoma No. 6 de Bovino; caseínas bovinas localizadas en un locus de 250 kilobases; estructura de la kappa caseína medida en 13 kilobases.

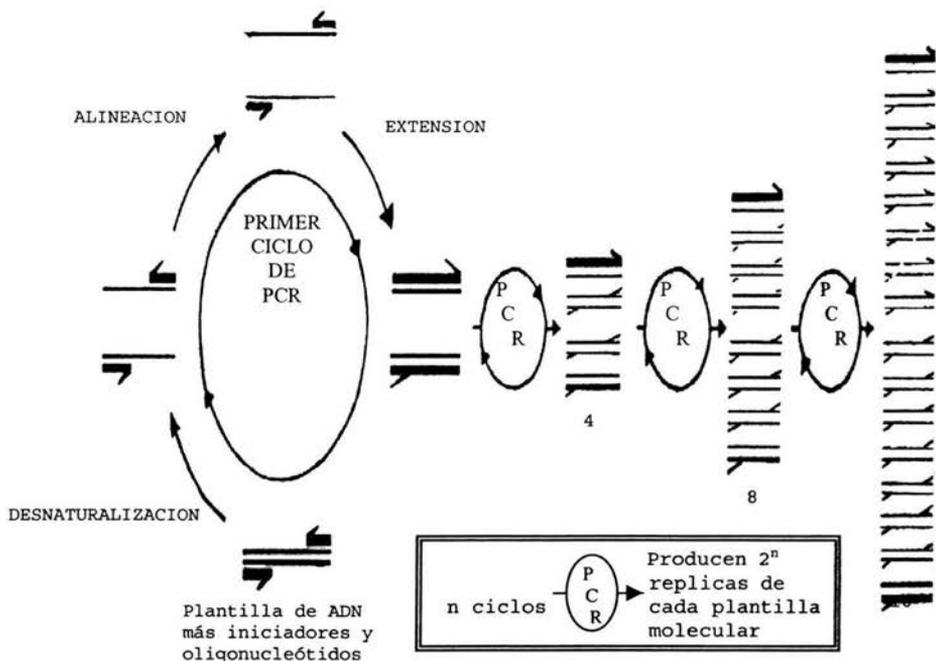


Figura 2. Reacción en Cadena de la Polimerasa, donde los pasos repetidos de la desnaturalización de ADN, alineación de los iniciadores y la extensión de los mismos resultan en el crecimiento exponencial del número de copias de la secuencia de ADN acompañado por iniciadores prediseñados ⁴⁹.

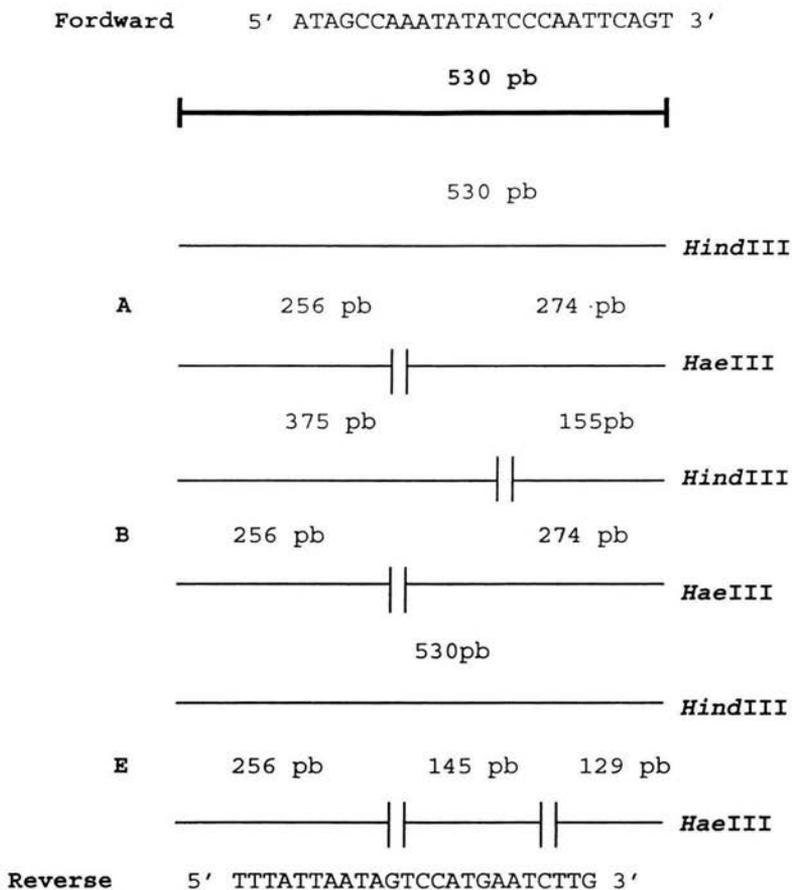


Figura 3. Mapa de los sitios de restricción de las enzimas *HindIII* y *HaeIII* para el producto amplificado por PCR. Se muestra la posición y los tamaños de los fragmentos generados con las enzimas de restricción. El alelo B es cortado por *HindIII*, el alelo E es cortado por la enzima *HaeIII* dejando intactos los alelos A y B.

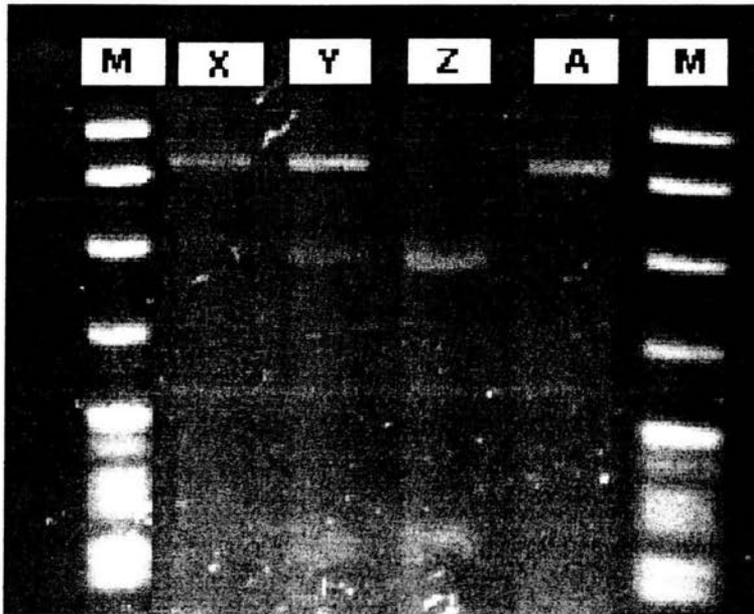
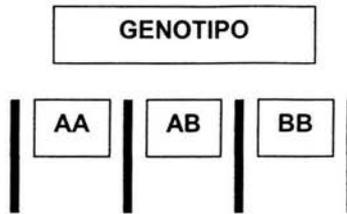


Figura 4. Patrones de los fragmentos digeridos con la enzima HindIII del segmento amplificado del gen de la κ -caseína bovina. Muestras de peso molecular pBR322/MspI; A es el producto amplificado originalmente de 530pb; X, Y y Z son las muestras digeridas.

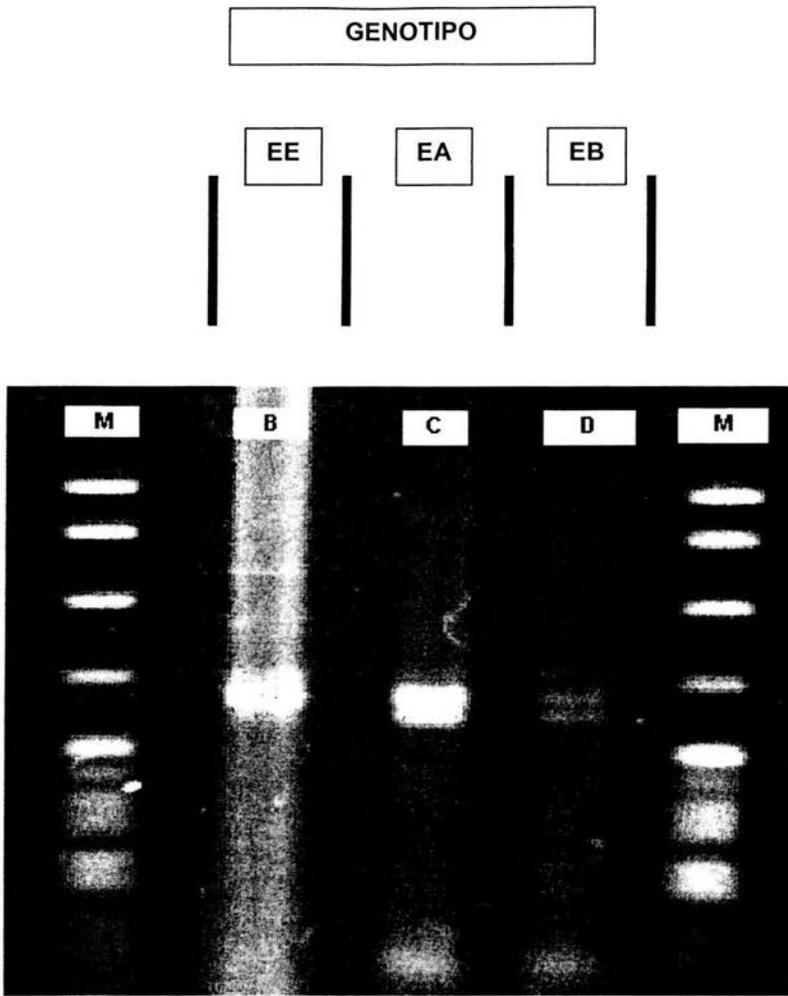


Figura 5. Patrones de los fragmentos digeridos con la enzima HaeIII del segmento originalmente amplificado del gen de la κ -caseína bovina. Muestras separadas en un gel de agarosa al 3% donde M es el marcador de peso molecular pBR322/MspI; B, C y D son las muestras digeridas.

ANEXOS

I. EXTRACCIÓN DE ADN A PARTIR DE LECHE

Verter 45ml de la muestra en tubos Falconer 50ml, y centrifugar a 14,000rpm durante 1hr a 4°C; decantar el sobrenadante sin tirar la grasa, dejando 5ml del producto centrifugado; se realizan dos lavados con un 5ml de PBS 1x estéril (para el primer lavado), se centrifuga la muestra durante 40min a 4,000rpm, temperatura ambiente, decantar sobrenadante dejando 3ml de la muestra; se resuspende la pastilla en 3ml de PBS (para el segundo lavado), centrifugar por 40min a 4,000rpm, decantar sobrenadante; agregar 1ml de TE pH 7.8 para resuspender la pastilla y verter la muestra en tubos eppendorf, para centrifugar durante 10min a 13,000rpm; decantar sobrenadante dejando 40µl de TE en el tubo y se agregan 70µl de SDS 10% y 3µl de proteinasa K (20mg/ml), agitar con vortex e incubar a 52°C durante 12hrs o bien se puede incubar durante 1hr a 65°C. Transcurrido el tiempo de incubación se agregan 100µl de NaCl 5M y 80µl de solución CTAB/NaCl precalentada; agitar con vortex hasta que el color del contenido se torne blanco lechoso; incubar durante 10min a 65°C. Al término de la incubación se agregan de 700 a 800µl de fenol-cloroformo/alcohol isoamílico, agitar con vortex y centrifugar a 13,000rpm durante 5min; recuperar el sobrenadante en tubos nuevos y agregar cloroformo/alcohol isoamílico (700-800µl), agitar con vortex y centrifugar de nuevo a 13,000rpm durante 5min; el sobrenadante se recupera una vez más en tubos nuevos y se agregan 2 volúmenes de etanol absoluto o un volumen de isopropanol para precipitar el ADN, y se incuba la muestra 12hrs a 4°C, transcurridas las 12 hrs se lava la muestra 2 veces con un volumen de etanol 70%, centrifugar a 13,000rpm durante 10min, desechar sobrenadante y en el último lavado se seca la muestra. Agregamos 50µl de agua bidestilada estéril para resuspender la pastilla y se incuba por 12hrs a 4°C.

II. ABREVIATURAS

| | |
|-------------------------------|-------------------------|
| ADN | Ácido |
| desoxirribonucléico | |
| ARN | Ácido ácido |
| BSA | Albúmina sérica bovina |
| CTAB | Cetiltrimetilamonio |
| κ CN, CSN ₃ | kappa - caseína |
| kb | Kilopares de bases |
| M | Molar |
| μ g | Microgramos |
| μ l | Microlitros |
| ml | Mililitros |
| mm | Milímetros |
| mM | Milimolar |
| μ M | Micromolar |
| ng | Nanogramos |
| pb | Pares de Bases |
| PBS | Buffer de fosfatos |
| rpm | Revoluciones por minuto |
| SDS | Dodecilsulfato de sodio |
| Tris | Hidroximetilaminometano |
| U | Unidades |

III. GLOSARIO

Alelo. Serie de posibles formas alternativas de un gen dado, que se diferencia en una secuencia de ADN y que afecta la función de un producto simple (ARN ó proteína). Presentación de determinada característica en sus diferentes formas. Si más de dos alelos han sido identificados en una población, se dice que existe alelismo múltiple.

Amplificación. Se refiere a la producción de copias adicionales de una secuencia cromosómica de ADN.

Biología molecular. Rama de la biología que estudia la naturaleza química (molecular) del material genético: genes y sus productos (proteínas).

Código genético. Reglas de correspondencia entre la secuencia de bases del ADN y la secuencia de aminoácidos de una proteína. La lectura de 3 bases de ADN constituye una secuencia de un codón que corresponde a un aminoácido determinado.

Cromosoma. Unidad genética constituida por una molécula de ADN. Su tamaño y número varía dependiendo de la especie. En los eucariontes están condensados y se hacen visibles en determinadas etapas de la división celular.

Exón. Posición de un gen que corresponde a secuencias de ADN que pueden ser transcritas a ARNm y que codifican para algún producto o función celular.

Gen. Segmento de ADN que incluye todos los nucleótidos que se han transcrito a ARNm.

Genética molecular. Rama de la biología que se encarga del estudio de los procesos bioquímicos y genéticos a nivel del ADN, así como a la identificación de genes inscritos en la molécula de ADN.

Genoma. Término utilizado para referirse a los genes que conforman la totalidad de la información genética o código genético en un determinado organismo.

Haplotipo. Es la combinación particular de alelos en una región definida de un cromosoma.

Heterocigoto. Individuo en el cual los dos genes de un *locus* genético presentan diferentes alelos.

Homocigoto. Individuo que presenta alelos iguales en un *locus* genético.

Intrón. Segmento de un gen en organismos superiores, que no codifica, interrumpiendo la secuencia de las bases que sí codifican y que se remueve en el proceso posterior a la transcripción.

Mapeo genómico. Asignación de un *locus* a un cromosoma específico y determinación de la secuencia de genes y sus distancias relativas de uno a otro en un cromosoma específico.

Marcador. Gen con una ubicación conocida en el cromosoma y un genotipo claramente distinguible; utilizado como punto de referencia al mapear una mutante nueva. También existen marcadores antigénicos que sirven para distinguir tipos celulares. Otros son los marcadores de ADNs, ARNs y proteínas, que son fragmentos de tamaños o propiedades

conocidos, empleados en la calibración de geles electroforéticos.

Marcador genético. Es un gen cuya expresión fenotípica es comúnmente de fácil distinción, es utilizado para identificar a un individuo o una célula que lo porta, tal como las sondas marcadoras del núcleo, cromosomas o locus.

Oligonucleótidos (Oligos, iniciadores o primers). Segmentos sintéticos de ADN complementarios a los sitios de inicio de la síntesis de ADN, donde la enzima ADNpolimerasa reconoce estos sitios para empezar la duplicación. Estos son diseñados para ser ubicados en las regiones que flanquean el segmento que se desea amplificar.

Polimorfismo. El polimorfismo genético puede definirse como la ocurrencia de una población de variedades discontinuas de origen genético, con una frecuencia del gen que no puede ser explicado por la acción exclusiva de la mutación recurrente, por ser este un evento sumamente raro. También se puede hablar de polimorfismo genético si por lo general genotipos heterocigotos en numerosos loci son superiores a cualquier genotipo homocigoto. Se conocen tres tipos de polimorfismo genético: a) Polimorfismo visual o morfológico, es aquel referido a las variantes genéticas que se observan y afectan la morfología del individuo, por ejemplo la presencia o ausencia de caracteres. Es fácil de observar y cuantificar, pero la mayoría son dominantes, no permiten diferenciar individuos homocigotos dominantes de heterocigotos y no existe relación directa y cercana entre el fenotipo observado y el genotipo. Polimorfismo cromosómico, son cambios en juegos completos de genes (cromosomas) ya sea de carácter numérico (ploidías, aneuploidías o poliploidías) o estructurales (traslocación,

delección, inserción o inversión de segmentos cromosómicos). Tiene como desventaja que se estudian bloques de genes completos, no se obtiene información exacta de un gen específico. Polimorfismo bioquímico, se trata de diferentes tipos de una misma molécula que determinan diferentes alelos; estas difieren en su composición de aminoácidos en el caso de las proteínas, o de nucleótidos cuando se trata de ADN.

QLT. Región conocida en un cromosoma identificado como un locus con efectos cuantitativos sin que se conozca su ubicación precisa en el gen, pero sí en el cromosoma.