

INFLUENCIA DE LAS VARIANTES GENÉTICAS DE LA β -LACTOGLOBULINA SOBRE EL PH, CASEINA TOTAL Y RENDIMIENTO EN CUAJADA EN OVEJAS DE RAZA MANCHEGA

β -LACTOGLOBULIN GENETIC VARIANTS INFLUENCE ON PH, TOTAL CASEIN AND CURD YIELD IN MANCHEGA SHEEP BREED

Martínez Hens, J.*, A. Garzón Sigler**, D. Méndez Medina*, F. Aparicio Ruíz* y A. Vera y Vega*.

* Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. I 4005 Córdoba. España.

** CERSYRA. I 3300 Valdepeñas. Ciudad Real. España.

Palabras clave adicionales

Proteínas del lactosuero. Caseínas. Producción quesera. Ganado ovino.

Additional keywords

Whey proteins. Caseins. Cheese production. Sheep.

RESUMEN

Se han utilizado 918 ovejas de raza Manchega sometidas a Control Lechero Oficial en el CERSYRA de Valdepeñas (Ciudad Real), analizándose la incidencia de las variantes genéticas de la β -lactoglobulina (β -Lg) sobre el pH de la leche, su contenido en caseínas y el rendimiento en cuajada. Identificamos tres fenotipos para la β -Lg (AA, AB y BB) regulados por un locus autosómico con dos alelos codominantes: A (p) = 0,61 y B (q) = 0,39. Los resultados obtenidos muestran un efecto de las variantes genéticas de la β -Lg sobre el pH de la leche, presentando el fenotipo AA unos valores medios de pH significativamente ($p \leq 0,05$) más básicos que los correspondientes al fenotipo BB. No existen diferencias significativas entre el pH del heterocigoto y el correspondiente a los homocigotos

AA y BB (AA = 6,69^a; AB = 6,66^{ab} y BB = 6,61^b). Se observan diferencias altamente significativas ($p \leq 0,001$) entre los contenidos de proteína total (AA = 58,67^a; AB = 59,29^a y BB = 54,96^b), caseína total (AA = 47,38^a; AB = 49,31^a y BB = 42,42^b) y rendimiento en cuajada (AA = 332,29^a; AB = 336,59^a y BB = 307,46^b) obtenidos para los fenotipos AA y AB y los resultantes para el homocigoto BB, presentando este último fenotipo los valores más desfavorables para estos tres caracteres.

SUMMARY

The incidence of β -lactoglobulin variants (β -Lg) on milk pH, caseins content and curd yield has been analysed on 918 Manchega sheep, under Official Milk Recording, in the CERSYRA of Valdepeñas (Ciudad Real). For the β -Lg, three phenotypes has been identified (AA, AB, and BB) regulated by an autosomal locus with two codominant alleles: A (p) = 0.61 and B (q) = 0.39.

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Agricultura. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha. Proyecto 55/PA-15.

The obtained results show that the β -Lg genetic variants have an effect on milk pH, because the AA phenotype has a medium values of pH significantly ($p \leq 0.05$) more alkaline than those corresponding to BB phenotype. There are not significant differences between the pH values of the heterozygous phenotype and those pH values corresponding to the homozygous AA and BB phenotypes (AA = 6.69^a; AB = 6.66^{ab} and BB = 6.61^b). Highly significant differences ($p \leq 0.001$) are observed among the values of total protein content (AA = 58.67^a; AB = 59.29^a and BB = 54.96^b), total casein (AA = 47.38^a; AB = 49.31^a and BB = 42.42^b) and curd yield (AA = 332.29^a; AB = 336.59^a and BB = 307.46^b) obtained for the AA and AB phenotypes, and those resulting for the BB homozygous one, been this phenotype the one which present the most unfavourable values for those three characters.

INTRODUCCION

Las proteínas constituyen más del 95 p.100 de los compuestos nitrogenados totales presentes en la leche de oveja (Brochet, 1982). Aunque sometida a fuertes efectos genéticos y ambientales, la cantidad de proteínas totales (PT) oscila entre 55 y 60 g/kg

de leche, de los que el 80-83 p.100 corresponde a las caseínas (PC) y el resto a las proteínas solubles (PL) (tabla I).

El conjunto de las proteínas solubles se divide en 5 clases: α -lactoalbúmina (α -La), β -lactoglobulina (β -Lg), proteasa-peptonas, inmunoglobulinas y seroalbúmina. La α -La y la β -Lg son holoproteínas, es decir, no contienen fósforo ni azúcares en su molécula, como ocurre con las caseínas (Le Mens, 1990).

La α -La representa alrededor del 12 p.100 de las proteínas del lactosuero (Le Mens, 1990). Se han descrito dos variantes genéticas, A y B, aunque la frecuencia génica de la primera es prácticamente igual a la unidad en la mayoría de las razas ovinas (tabla II).

La β -Lg constituye la fracción mayoritaria del lactosuero (50-52 p.100), siendo la primera proteína láctea en la que fué descrito un polimorfismo genético (Aschaffenburg and Drewry, 1955). Se han descrito cinco variantes, aunque sólo tres han sido definidas en ganado ovino. Estas variantes genéticas de la β -Lg parecen tener un marcado efecto sobre las

Tabla I. Comparación de los contenidos nitrogenados de la leche de oveja, vaca y cabra. (Comparison of nitrogen contents in milk of sheep, cow and goat).

Compuestos (g/kg leche)	Vacuno (1)	Caprino (2)	Ovino (3)	Raza Manchega
Compuestos nitrogenados totales	32,66	30,85	57,84	--
Proteínas totales	31,05	28,18	55,15	58,40
Caseínas	24,35	23,31	45,46	47,54
Proteínas solubles	6,70	4,87	9,69	10,86
Nitrógeno no proteico	1,61	2,67	2,69	--

(1) Grappin, 1981. (2) Brochet, 1982. (3) Le Mens, 1990

características y propiedades tecnológicas de la leche, lo cual ha despertado un especial interés en el estudio de estas proteínas y su variabilidad genética (Garzón *et al.*, 1991).

La α -La se presenta monomórfica en la raza Manchega, mientras que para la β -Lg se identifican tres fenotipos: AA, AB y BB, regulados por un *locus* autosómico con dos alelos codominantes (A y B). Las frecuencias génicas y genotípicas resultantes (**tabla II**) son similares a las de la mayoría de las razas italianas, pero significativamente distintas de las procedentes del tronco Merino y de las razas anglosajonas (Garzón *et al.*, 1991).

En este trabajo se analiza la incidencia de las variantes genéticas de la β -Lg sobre el pH, la concentración de caseínas y el rendimiento en cuajada de la leche de ovejas Manchegas.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado 918 ovejas de raza Manchega, de igual época de parto (Marzo-Abril 1991) y distribuidas en 9 ganaderías pertenecientes a AGRAMA. Estos rebaños fueron elegidos aleatoriamente entre los sometidos a Control Lechero Oficial, no siendo el grado de parentesco de los animales superior a la media de la población. Dentro de cada ganadería se realizaron, con una periodicidad mensual, 4 controles por lactación.

El pH se mide directamente (pHmetro Crison, modelo 2001), mientras que las caseínas se cuantifican mediante precipitación ácida a pH 4.6 (por adición de ácido acético y acetato

sódico), a 20°C (Garzón *et al.*, 1993)

El rendimiento en cuajada es calculado mediante la adición, a 10g de leche, de 200 μ l de cuajo comercial (cuajo en polvo HA-LA. Lab. Chr. Hansen. Copenhagen. Dinamarca.) diluido 1:50, a 32°C, durante 60 minutos. Posteriormente, se procede al cortado del gel obtenido, sometiéndolo a desuerado mediante centrifugación (2500g a 36°C durante 30 minutos). Los resultados se expresan como gramos de cuajada por kg de leche.

Las variantes genéticas de la β -Lg se identifican mediante las técnicas de electroforesis horizontal descritas por Aschaffenburg and Thymman (1965).

El análisis de los resultados obtenidos se realizó en el Centro de Cálculo de la Facultad de Veterinaria (Universidad de Córdoba) mediante el paquete estadístico SAS (1985).

RESULTADOS Y DISCUSION

La **tabla I** muestra comparativamente los valores medios de las distintas fracciones nitrogenadas presentes en la leche de vaca, cabra y oveja. La leche de oveja presenta un contenido en compuestos nitrogenados y proteínas totales casi dos veces superior al que muestra la leche de vaca y de cabra. Por el contrario, la leche de oveja contiene poco nitrógeno no proteico (4,65 p.100 del nitrógeno total), semejante al que presenta la leche de vaca (4,92 p.100), pero más bajo que el contenido en la de cabra (8,65 p.100). En la raza Manchega, los resultados obtenidos por nosotros (**tabla I**) para proteínas totales, caseínas

Tabla II. Comparación de frecuencias génicas y genotípicas para las variantes de α -La y β -Lg entre diferentes razas ovinas. (Comparison of gene and genotypic frequencies of α -La and β -Lg variants in different sheep breeds).

Lactoalbumina								
Raza	N	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Génica		Referencia	
		AA	AB	BB	A	B		
Manchega	918	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00		
Comissana	293	0,98	0,02	0,00	0,99	0,01	Russo, 1979	
Chios	78	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	Micari, 1986	
Barbaresca	200	0,99	0,01	0,00	0,99	0,01	Micari, 1986	
Pinzirita	229	0,99	0,01	0,00	0,99	0,01	Chiofalo, 1987	
Comissana	126	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	Veritá, 1991	
β -Lactoblogulina								
Raza	N	Frecuencia Genotípica			Frecuencia Génica			Referencia
		AA	AB	BB	A	B	C	
Manchega	918	0,37	0,48	0,15	0,61	0,39	-	
Manchega	243	-	-	-	0,72	0,28	-	López, 1990
Segureña	50	-	-	-	0,74	0,26	-	López, 1990
Massese	54	-	-	-	0,53	0,47	-	Russo, 1981
Massese	329	0,30	0,48	0,22	0,55	0,45	-	Bolla, 1986
Comissana	250	-	-	-	0,50	0,50	-	Chiofalo, 1986
Sarda	72	-	-	-	0,46	0,54	-	Russo, 1981
Chios	78	0,21	0,51	0,28	0,46	0,54	-	Micari, 1986
Barbaresca	62	0,39	0,47	0,14	0,62	0,38	-	Chiofalo, 1987
Pinzirita	72	0,25	0,50	0,25	0,50	0,50	-	Chiofalo, 1987
Blackface	18	-	-	-	0,56	0,44	-	King, 1969
Blackface	145	-	-	-	0,85	0,15	-	Erhardt, 1989
Pleven	36	-	-	-	0,53	0,47	-	Erhardt, 1989
Merino	189	-	-	-	0,58	0,25	0,17	Erhardt, 1988
Merino	16	-	-	-	0,78	0,22	-	King, 1969
M, Merino	126	-	-	-	0,90	0,01	-	Macha, 1974
S, Merino	304	-	-	-	0,76	0,24	-	Macha, 1974
Tsigai	129	-	-	-	0,58	0,42	-	Macha, 1974
Welsh	110	-	-	-	0,61	0,39	-	King, 1969
Clunforest	174	-	-	-	0,80	0,20	-	King, 1969
Cheviot	8	-	-	-	0,62	0,38	-	King, 1969
D. Horn	16	-	-	-	0,91	0,09	-	King, 1969
F. Landrace	8	-	-	-	0,75	0,25	-	King, 1969
Soay	11	-	-	-	0,86	0,14	-	King, 1969
Suffolk	15	-	-	-	0,70	0,30	-	King, 1969
Wallachian	61	-	-	-	0,83	0,17	-	Macha, 1974
Romanov	7	-	-	-	0,43	0,57	-	Macha, 1974
Tajik	-	-	-	-	0,05	0,62	0,33	Aliev, 1975
E. Friesian	89	-	-	-	0,77	0,23	-	Erhardt, 1988
Rhön	34	-	-	-	0,32	0,68	-	Erhardt, 1988

y proteínas solubles son más altos que los publicados por Le Mens (1990) en razas ovinas francesas.

El pH incide drásticamente sobre la coagulación enzimática de la leche, ya que muestras con un pH igual o superior a 6,92 no coagulan bajo las condiciones del ensayo. El pH medio de las 3672 muestras analizadas (918 lactaciones x 4 controles por lactación) es igual a $6,66 \pm 0,02$, observándose diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tres fenotipos de la β -Lg (tabla III). De cualquier forma, no pensamos que la β -Lg pueda ejercer un efecto importante sobre el pH de la leche, carácter fuertemente afectado por las condiciones higiéni-co-sanitarias del animal y de la muestra.

Se observan diferencias altamente significativas ($p \leq 0,001$) en los contenidos de proteína total (PT) y caseína total (PC) entre el homocigoto BB y los genotipos AA y AB de la β -Lg (tablas IV y V). Al contrario de lo

sugerido por algunos autores en ganado vacuno (Aleandri *et al.*, 1990) y caprino (Serradilla *et al.*, 1992), la variante B de la β -Lg parece estar asociada a un menor contenido en proteínas totales (tabla IV) y en caseínas (tabla V) que la variante A. Así, el fenotipo BB presenta alrededor de 4-6 g menos de proteína total y caseína total que las leches identificadas como AA y AB, entre las cuales no existen diferencias significativas. De cualquier forma el fenotipo AB presenta valores superiores para estas variables, al igual que para el rendimiento en cuajada (tabla VI), por lo que el fenómeno de heterosis puede ser considerado.

Ricordeau and Moquot (1967) y Ricordeau (1981) encuentran que la variación de la concentración de caseínas en leche de cabra explica el 76 p.100 de la variabilidad del rendimiento en queso. La cuantificación de las caseínas es lenta y costosa, razón

Tabla III. Estadísticos de pH lácteo para las tres variantes fenotípicas de la β -Lg. (Statistical values of milk pH for the three β -Lg phenotypes).

Fenotipo	Media	Error Típico	Desviación Típica	C.V.
AA (n=1364)	6,69 a	0,01	0,19	2,88
AB (n=1748)	6,66ab	0,01	0,17	2,62
BB (n=560)	6,61b	0,03	0,16	2,37
TEST F	2,93*			

* $p \leq 0,05$. Letras diferentes indican valores significativamente distintos. (Test de Duncan, $p \leq 0,05$).

Tabla IV. Estadísticos de proteína total (PT) para las tres variantes fenotípicas de la β -Lg. (Statistical values of total protein (PT) for the three β -Lg phenotypes).

Fenotipo	Media (g/kg leche)	Error	Desviación	C.V.
AA (n=1364)	58,67a	0,36	4,64	7,91
AB (n=1748)	59,29a	0,13	4,15	7,00
BB (n=560)	54,96b	0,24	2,36	4,29
TEST F	10,71***			

*** $p \leq 0,001$. Letras diferentes indican valores significativamente distintos. (Test de Duncan, $p \leq 0,05$).

Tabla V. Estadísticos de caseína total (PC) para las tres variantes fenotípicas de la β -Lg. (Statistical values of total casein (PC) for the Lg phenotypes).

Fenotipo	Media (g/kg leche)	Error Típico	Desviación Típica	C.V.	PC/PT (p. 100)
AA (n=1364)	47,38a	0,57	3,77	7,96	80,76b
AB (n=1748)	49,31a	0,33	3,08	6,25	83,17a
BB (n=560)	42,42b	1,21	2,31	5,45	77,18c
TEST F	6,48***				21,31****

*** $p \leq 0,001$. Letras diferentes indican valores significativamente distintos. (Test de Duncan. $p \leq 0,05$).

por la cual este carácter no ha sido directamente seleccionado; sin embargo, la correlación positiva existente entre proteína coagulable y proteína total (0,39-0,43) permitiría obtener una respuesta correlacionada en el supuesto de seleccionar para el segundo de estos caracteres (Serradilla *et al.*, 1992).

Los resultados aquí presentados confirman los publicados por estos autores en ganado caprino. En la raza Manchega, la concentración de caseínas explica el 64 p.100 de la variabilidad observada al rendimiento en

cuajada de la leche ($R^2 = 0,638$ ***), resultando significativa la covariación fenotípica entre estas dos variables ($r = 0,384$ ***). Las dificultades analíticas derivadas de la cuantificación de las caseínas podrían verse minoradas visto el coeficiente de correlación obtenido entre estas y la proteína total ($r = 0,60$ ***) (Martínez *et al.*, 1992).

Estos resultados parecen demostrar la existencia de asociación entre la β -Lg y la concentración de caseínas en la leche, razón por la cual sería lógico prever que la variabilidad genética de esta holoproteína pueda incidir

Tabla VI. Estadísticos de rendimiento en cuajada (RC) para tres fenotipos de la β -Lg. (Statistical values of curd yield (RC) for the β -Lg phenotypes).

Fenotipo	Rendimiento (g/kg leche)	Error Típico	Desviación Típica	C.V.
AA (n=1364)	332,29a	4,66	37,21	11,20
AB (n=1748)	336,59a	2,84	38,53	11,45
BB (n=560)	307,46b	5,32	23,08	7,51
TEST F	9,41***			

*** $p \leq 0,001$. Letras diferentes indican valores significativamente distintos. (Test de Duncan. $p \leq 0,05$).

sobre el rendimiento tecnológico de la leche (expresado como g de cuajada / kg de leche). Esta hipótesis queda suficientemente demostrada con los resultados resumidos en la **tabla IV**. Estos datos indican que leches de fenotipo β -Lg BB originan cuajadas con un peso 24-29 g menor que muestras portadoras de la variante A, lo cual se traduce en diferencias del rendimiento en torno al 8-10 p.100.

Este último porcentaje es lo suficientemente alto como para, una vez corroborados los resultados, considerar al menos la conveniencia de la

inclusión de las variantes de la β -Lg en futuros esquemas de mejora de la producción láctea de explotaciones ovinas.

AGRADECIMIENTOS

A D. José María Rodero Frangnillo, Director del Centro de Cálculo de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, por su inestimable ayuda en el análisis estadístico de los resultados.

BIBLIOGRAFIA

- Aleandri, R., G. Buttazzoni and J.C. Schneider. 1990.** The effects of milk proteins polymorphism on milk components and cheese-producing ability. *J.Dairy Sci.* 73: 241-255.
- Aliev, G.A. and R.S. Koloteva. 1975.** Some results of a study of polymorphism in a population of Tajik sheep. *Anim. Breed. Abstr.* 43: 400. n°3440.
- Aschaffenburg, R. and J. Drewry. 1955.** Occurrence of different β -lactoglobulins in cow's milk. *Nature (Lond.)* 176:218-219.
- Aschaffenburg, R. and M. Thyman. 1965.** Simultaneous phenotyping procedure for the principal proteins of cow's milk. *J. Dairy Sci.* 48:1524-1526.
- Bolla, P., A. Caroli, R. Rizzi and A. Acciaioli. 1986.** Relazioni tra polimorfismo della β -lattoglobulina e caratteri produttivi nella pecora Massese. *Atti della Soc. Ital. Sci. Veter.* Vol. XL (2): 591-595.
- Brochet, M. 1982.** Thèse. 3è Cycle. Université Claude-Bernard. Lyon. France.
- Chiofalo, L., P. Micari and A. M. Girmenia. 1986.** Polimorfismo genetico del locus β -lactoglobulina nella razza ovina Comisana allevata in Sicilia. *Zootecnica e Nutrizione Animale.* 22 (1):73-80.
- Chiofalo, L. and P. Micari. 1987.** Attuali conoscenze sulle varianti delle proteine del latte nelle popolazioni ovine allevate in Sicilia. Osservazioni sperimentali. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia.* 38 (2): 104-114.
- Erhardt, G. 1988.** Polymorphism of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in sheep milk. Procc. of the 21st International Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. Turin. Italia.
- Erhardt, G. 1989.** Evidence for a third allele at the β -lactoglobulin locus of sheep milk and its occurrence in different breeds. *Anim. Genet.* 20:197-204.

- Garzón, A.I., V. Montoro and J. Martínez.** 1991. Milk polymorphisms in the Spanish Manchega sheep breed. *Anim. Genet.* 22 (Suppl. 1): 30.
- Garzón, A.I., J. Martínez, F. Aparicio, D. Méndez y V. Montoro.** 1993. Relación entre la β -lactoglobulina y los índices tecnológicos en ganado ovino Manchego. *Arch. Zootec* 42:155-160.
- Grappin, G.** 1981. Étude du lait de chèvre, teneur du lait de chèvre en matière grasse, matière azotée et fraction azotées du lait. *Le lait.* 61: 117-133.
- King, J.W.B.** 1969. The distribution of sheep β -lactoglobulins. *Anim. Prod.* 11: 53-57.
- Le Mens, P.** 1990. En: Leche y productos lácteos I. La leche: de la mama a la lechería. Cap. 4. F.M. Luquet (Ed.). Ed. Lavoisier. París.
- López-Gálvez, G., L. Amigo, M. Ramos y M. Juárez.** 1990. Polimorfismo genético en proteínas lácteas de leche de oveja de diferentes razas. Brief Comm. and Abstr. of posters of the XXIII Int. Dairy Congress. poster 58, p 33. Montreal. Canadá.
- Macha, J. and I. Novackova.** 1974. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin in sheep milk. *Zyvcisna Vyrova.* 19: 883.
- Martínez, J., A. Garzón, J.M. Rodero y F. Aparicio.** 1992. Efecto del número de lactación sobre los índices tecnológicos en la raza ovina Manchega. 43 Reunión Anual de la Federación Europea de Zootecnia. Madrid.
- Micari, P., L. Chiofalo and J. Michailidis.** 1986. Studio elettroforetico dei loci caseinici e delle siero-proteine nell latte della pecora di Chios (Grecia). Raffronti con la pecora Barbaresca-Siciliana. *Atti della Soc. Ital. delle Sci. Veter.* Vol. XL (2): 578-581.
- Ricordeau, G. and G. Mocquot.** 1967. Influence des variations saisonnières de la composition du lait de chèvre sur le rendement en fromage. Conséquences pratiques pour la sélection. *Ann. Zootch.* 16:165-181.
- Ricordeau, G.** 1981. Genetics. En: GALL, C. (Ed.) Goat Production. Academic Press. pp. 309-344.
- Russo, V., L. Chiofalo and P. Micari.** 1979. Polimorfismo delle proteine del latte nelle pecore di razza Comisana. *Rivista di Zootecnica Veterinaria.* 4: 239-244.
- Russo, V., R. Davioli and L. Miglori.** 1981. Genetic polymorphism of milk proteins in Massa and Sardinian ewes. *Zootecnica e Nutrizione Animale.* 7: 421-428.
- S.A.S.** 1985. SAS user's guide: Statistics. SAS Inst. Inc. Cary, N.C.
- Serradilla, J.M., E. Díaz Carrillo, A. Muñoz-Serrano y A. Alonso-Moraga.** 1992. Variación cuantitativa y polimorfismos de las caseínas de la leche de cabra. Posibilidad de selección para aumentar el rendimiento en queso. *ITEA Vol. 88A* 1: 13-22.
- Verità, P., C. Sighieri, M. Martini, L. Giuliotti and E. Deiana.** 1991. Polimorfismo genetico delle proteine del latte nella pecora Comissana. *Annali della Facoltà Veterinaria di Pisa.* 4: 231-237.

Recibido: 23-11-92. Aceptado: 5-93.