

“RELACIÓN ENTRE LOS GENOTIPOS DE LA KAPPA CASEÍNA, EL
CONTENIDO PROTEÍNICÓ TOTAL DE LA LECHE Y EL RENDIMIENTO EN
CUAJADA DE LOS BOVINOS HOLSTEIN EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO”

YOHANA MELISSA ERASO CABRERA
GEMA LUCÍA ZAMBRANO BURBANO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
SAN JUAN DE PASTO
2009

“RELACION ENTRE LOS GENOTIPOS DE LA KAPPA CASEÍNA, EL
CONTENIDO PROTEÍNICÓ TOTAL DE LA LECHE Y EL RENDIMIENTO EN
CUAJADA DE LOS BOVINOS HOLSTEIN EN EL TRÓPICO ALTO DE NARIÑO”

YOHANA MELISSA ERASO CABRERA
GEMA LUCÍA ZAMBRANO BURBANO

Informe final de trabajo de grado presentado como requisito parcial para
optar al título de Zootecnista

Presidente
CARLOS SOLARTE PORTILLA
Zoot. M.S.c., Ph.D.

Copresidente
CAROL ROSERO GALINDO
Bióloga Genética. M.S.c., Ph.D

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECHNIA
SAN JUAN DE PASTO
2009

“las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del acuerdo N° 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación

CARLOS SOLARTE PORTILLA Zoot. M. Sc. Ph. D.
Presidente

CAROL ROSERO GALINDO. Bióloga Genética. M. Sc. Ph.D.
Copresidente

EFRÉN GUILLERMO INSUASTY SANTACRUZ. Zoot. Esp.
Jurado Delegado

LUIS ERNESTO VITERI SARASTY. Zoot.
Jurado

San Juan de Pasto, Mayo de 2009

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi roca, mi escudo y mi camino.
A mis padres, por sus consejos y su infinito amor en mi formación.
A mi hermana, por ser ejemplo de fortaleza y por todo su cariño.
Al amor de mi vida, por su comprensión y por todo su amor.
A mi compañera de tesis por su amistad sincera
A mis maestros por todas las enseñanzas.

Yohana Melissa Eraso Cabrera

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi luz y fortaleza

A Mi Madre: Rosa María por su bondad y amor. Razón de mi vida.

Mis hermanos: Graciela Omaira, Claudio Hernando, Andrés Abelino,
Rosa María y Gina Paola, con quienes comparto todo mi cariño.

A la memoria de Esteban Ricardo. Mi cariño infinito.

Gema Lucia Zambrano Burbano

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño y a la Cooperativa de Productos Lácteos de Nariño – Colácteos, por haber facilitado los recursos necesarios para la culminación de esta investigación

Al Doctor Carlos Solarte Portilla, nuestro presidente de tesis, por el invaluable aporte de sus conocimientos, dedicación y apoyo general en la realización de este trabajo.

A la Doctora Carol Rosero G, quien ha compartido sus conocimientos y nos ha brindado su Amistad.

A la ingeniera Araceli Romo P y las Doctoras Liliana Rosas M, Liliana Guerrero M, Mónica Benavides B, por su colaboración en el proceso y feliz término de este trabajo presentado.

A todas aquellas personas que de una u otra manera nos brindaron su apoyo y colaboración en el proceso y culminación de este trabajo de investigación.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	20
1 DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	22
2 FORMULACION DEL PROBLEMA	24
3 OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
4 MARCO TEORICO	26
4.1 ASPECTOS GENERAL DE IMPORTACIA EN LA RAZA HOLSTEIN	26
4.1.1 Características fenotípicas	26
4.1.2 Producción de leche	26
4.1.3 Genética	26
4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE	27
4.1.4 Composición básica de la leche	27
4.2.2 PROTEÍNAS	28
4.2.3 Caseínas	29
4.2.3.1 Estructura de la micela de caseína	29
4.2.3.2 Coagulación por cuajo	31
4.2.3.3 Tipo de cuajo	32

4.3	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE	32
4.3.1	Factores no nutricionales	32
4.3.1.1	Raza	32
4.3.1.2	Estado de lactancia	33
4.3.1.3	Salud de la ubre	34
4.3.1.4	Época del año	34
4.3.1.5	Numero de lactancias y edad	35
4.3.2	Factores nutricionales	35
4.3.2.1	Alimentación	35
4.4	POLIMORFISMO GENETICO DE LAS PROTEINAS DE LA LECHE	36
4.4.1	Polimorfismo de la Kappa Caseína	36
4.5	RELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO DE LA KAPPA CASEÍNA, LA PRODUCCIÓN Y EL RENDIMIENTO EN CUAJADA	37
5	DISEÑO METODOLÓGICO	38
5.1	IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA CASEÍNA	38
5.1.1	Determinación de las variantes alélicas	38
5.1.2	PCR-SSCP	38
5.1.3	Electroforesis	39

5.2	LOCALIZACION Y TAMAÑO DE MUESTRA	40
5.3	SELECCIÓN DE ANIMALES	41
5.4	MATERIALES Y EQUIPOS	42
5.4.1	Protocolo de ingreso a planta	42
5.4.1.1	Limpieza de manos	42
5.4.1.2	Limpieza de botas	43
5.4.1.3	Obtención de muestras en campo	44
5.5	PROTOCOLO DE RENDIMIENTO EN CUAJADA	45
5.5.1	Análisis físico químico y microbiológico	45
5.5.2	Proceso de rendimiento en cuajada	46
5.5.2.1	Materiales y elementos	46
5.5.2.2	Rendimiento en cuajada	46
5.6	DISEÑO EXPERIMENTAL	48
5.6.1	Modelo lineal de evaluación	48
6	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
6.1	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES ANALIZADAS	49
6.2	ANÁLISIS DE VARIANZA	50
6.2.1	Análisis de varianza para la variable rendimiento en Cuajada	50
6.2.2	Análisis de varianza para la variable proteína	52
7	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	54

7.1	CONCLUSIONES	54
7.2	RECOMENDACIONES	54
	BIBLIOGRAFÍA	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Datos promedio de la composición de la leche de vaca.	28
Tabla 2. Composición proteica general de la leche.	29
Tabla 3. Cambios en la composición de la leche asociados a elevados conteos de células somáticas (CCS).	34
Tabla 4. Condiciones de PCR-SSCP para la amplificación	38
Tabla 5. Datos de animales incluidos en el estudio.	41
Tabla 6. Estadística descriptiva para el genotipo homocigoto AA para el gen de la K-Cs.	49
Tabla 7. Estadística descriptiva para el genotipo heterocigoto AB para el gen de la K-Cs.	49
Tabla 8. Estadística descriptiva para el genotipo homocigoto BB para el gen de la K-Cs.	49
Tabla 9. Análisis de varianza para la variable rendimiento en cuajada.	50
Tabla 10. Análisis de varianza para la variable proteína.	52
Tabla 11. Promedios de producción de proteína según el tercio de lactancia	53

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Micela formada hasta cuajada por la K-Caseína.	31
Figura 2. comportamiento de la producción de leche, el porcentaje de grasa y proteína durante el ciclo de lactancia	33
Figura 3. Programa de amplificación para PCR-SSCP del gen de la Kappa caseína	39
Figura 4. Patrón de bandas generadas por la técnica PCR-SSCP para el gen de la Kappa caseína en bovinos de la raza holstein del trópico alto de Nariño	40
Figura 5. Planta procesadora de leche Aranda Colacteos	41
Figura 6. Fincas seleccionadas para muestreo	42
Figura 7. Protocolo de limpieza de manos y antebrazo para el ingreso a planta	43
Figura 8. Limpieza y desinfección de botas para el ingreso a planta	44
Figura 9. Identificación y almacenamiento de las muestras en el cuarto Frio	45
Figura 10. Laboratorio Fisicoquímico de la procesadora de leche Colacteos	45
Figura 11. Flujo para evaluar el rendimiento en cuajada	47
Figura 12. Rendimiento expresado en litros de leche por Kg de cuajada producida en la raza holstein para el genotipo de la K-Cs en el Trópico	51

Alto de Nariño

Figura 11. Cantidad de proteína expresada en porcentaje por cada genotipo de la K-Cs en el trópico alto de Nariño.

50

GLOSARIO

ADN o DNA: ácido desoxirribonucleico. Molécula que contiene y transmite la información genética de los organismos vivos, excepto en algunos de casos como los retrovirus.

ALELO: cualquiera de las formas distintas de un gen que ocupa la misma posición o locus en cromosomas homólogos y que sufren apareamiento meiótico.

CALIDAD HIGIÉNICA: referencia a todas aquellas características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas presentes en la leche.

CASEÍNA: del latín *caseus* que significa queso. Fosfoproteína presente en la leche y que en la fase soluble se encuentra asociada al calcio en un complejo denominado caseinógeno.

COLOIDE: suspensión coloidal o dispersión coloidal. Sistema físico químico compuesto por dos fases una continua, normamente fluida y otra dispersa en forma de partículas por lo general sólida, de tamaño mensoscópico o intermedio entre el macroscópico y microscópico.

CUAJADA: parte caseosa y crasa de la leche que por la acción del calor y cuajo se separa. Producto lácteo elaborado por efecto de un fermento o cuajo.

ELECTROFORESIS: técnica de separación de moléculas según la movilidad de éstas en un campo eléctrico.

EMBRIÓN: organismo pluricelular en sus primeras etapas de desarrollo.

FENOTIPO: conjunto de propiedades de tipo morfológico, físico, bioquímico y de comportamiento que un organismo desarrolla por la acción de los genes y del ambiente.

GEN: segmento corto de ADN que constituye la unidad funcional para la transmisión de los caracteres hereditarios.

GENOTIPO: constitución genética de un organismo en relación a un rasgo hereditario específico o a un conjunto de ellos.

HAPLOTIPO: del griego *Haplos* que significa simple. En genética molecular, combinación de alelos ligados a múltiples locus que se transmiten juntos.

HOMOCIGOTO: constitución genética de un individuo donde las dos copias son idénticas en los dos cromosomas homólogos.

INDUSTRIALIZACIÓN DE LECHE: proceso mediante el cual la leche natural, por medio del uso de materiales, elementos y métodos, se convierte en un derivado lácteo.

KAPPA CASEÍNA: proteína más importante para la industrialización láctea, que constituye el 13% de las caseínas totales de la leche.

LOCI: plural de locus

LOCUS: sitio físico en el cromosoma donde se localiza un gen.

VIDA PRODUCTIVA: en mejoramiento genético tiene dos definiciones: la habilidad de la vaca para evitar el descarte por razones involuntarias distintas a la baja producción tales como esterilidad o enfermedades, caso en el cual el término correcto es vida productiva funcional. Por vida productiva verdadera se entiende la longevidad total de una vaca expresada como función entre la reproducción y la producción.

MARCADORES MOLECULARES: biomoléculas (proteínas o ADN) que se pueden identificar y caracterizar para definir un genotipo determinado y en algunos casos establecer la asociación entre dichos genotipos con fenotipos específicos.

MEJORAMIENTO GENÉTICO ANIMAL: conjunto de metodologías que aplican principios biológicos, económicos y matemáticos, con el fin de encontrar estrategias óptimas para aprovechar la variación genética, dentro y entre poblaciones; seleccionar los animales de mayor mérito y decidir el tamaño de su progenie.

MICELA: conglomerado de moléculas que constituye una de las fases de los coloides.

PASTEURIZACIÓN: uno de los métodos más comunes de conservación de los alimentos, mediante tratamiento térmico de altas temperaturas por tiempos cortos, seguidos de un descenso brusco de la misma, con lo que se consigue destruir microorganismos patógenos y no patógenos.

POLIMORFISMO: múltiples formas. Por polimorfismo genético se entiende los múltiples alelos de un gen en una población que por lo general se expresan como diferentes genotipos.

PROTEÍNA: del griego *prota* que significa "lo primero". Biomoléculas formadas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, que pueden contener azufre, fósforo, hierro, magnesio y cobre entre otros elementos.

RAZA: conjunto de individuos con caracteres morfológicos y fisiológicos propios transmisibles por herencia dentro de un margen de fluctuación conocido, por los que se les distingue de otros de su misma especie.

RENDIMIENTO: resultado efectivamente obtenido por cada unidad experimental.

SÓLIDOS TOTALES: suma de los sólidos disueltos y los sólidos en suspensión que se encuentran en la leche.

RESUMEN

La ganadería especializada de leche en el trópico alto de Nariño, tiene una gran importancia socioeconómica, ya que de esta actividad dependen millares de familias de modo directo e indirecto.

Estudios realizados en la cadena láctea¹ y en el Programa de Mejoramiento Genético² indican que uno de los mayores limitantes para alcanzar niveles de competitividad, acorde con los parámetros internacionales, es el bajo rendimiento industrial de leche, ya que en la actualidad se requieren 11 litros, para producir un kilogramo de queso fresco, cantidad mucho mayor en comparación a otras regiones del país y del exterior.

Esta baja eficiencia, entre otros factores, se ha atribuido al origen de la materia prima, que en mayor volumen proviene de la raza holstein, la cual, de acuerdo con los resultados del Programa de Mejoramiento Genético³, posee una alta frecuencia del alelo A para el gen de la kappa caseína y según varios estudios, los rendimientos industriales son menores respecto al alelo B. Sin embargo, esta afirmación no es coincidente en todas las investigaciones y obliga a confirmarla, bajo las condiciones del trópico alto de Nariño.

En el presente estudio se establecieron las relaciones entre los genotipos homocigotos AA, heterocigotos AB y homocigotos BB del gen de la kappa caseína, con el contenido proteína en la leche y el rendimiento industrial en cuajada de vacas de raza holstein.

Para este propósito, el genotipo de los animales incluidos en el estudio fue determinado molecularmente mediante la técnica PCR- SSCP (Reacción en Cadena de la Polimerasa- Polimorfismos de Conformación en la Cadena Simple de ADN).

En total se utilizaron 27 unidades experimentales. Los datos se analizaron mediante un modelo lineal en el que se incluyeron los efectos fijos del genotipo, el tercio de lactancia, la interacción entre estos dos factores y como covariables la edad del animal y el contenido graso de la leche.

Los análisis de varianza, se realizaron con los programas estadísticos SAS versiones 9.13 y 9.20 y Enterprise SAS Guide versión 4.1. Los resultados de dichos análisis permitieron concluir que para la variable rendimiento en cuajada no

¹ VILORIA, J. Economía del Departamento de Nariño: ruralidad y aislamiento Geográfico. [online] Banco de la República, Centro de Estudios Económicos Regionales (CEER) - Cartagena Colombia, No 87. [15 de noviembre de 2008]. 2007. Disponible en internet: www.banrep.gov.co. ISSN 1692-3715.

² UNIVERSIDAD DE NARIÑO, Programa de Mejoramiento Genético, Asistido con Marcadores de ADN, Dirigido a la Obtención de un Modelo de Bovino Lechero para el Trópico Alto de Nariño. 2008.

³ UNIVERSIDAD DE NARIÑO, Ibid.

existe interacción estadísticamente significativa ($P > 0.05$), entre el genotipo para Kappa Caseína y el tercio de lactancia; diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos ($P < 0.05$); efecto no significativo de la covariable edad ($P > 0.05$) y efecto estadísticamente significativo de la covariable contenido de grasa ($P < 0.05$). La prueba comparación múltiple de Tukey – Kramer, indicó diferencias significativas ($P < 0.05$) en los promedios de rendimiento, siendo el genotipo BB el de mayor rendimiento, respecto al homocigoto AA y al heterocigoto AB, lo que indica que fue el tratamiento donde se requirieron menos litros de leche para producir un kilogramo de cuajada. Entre el homocigoto AA y el heterocigoto AB no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a proteína, se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) para el tercio de lactancia y los genotipos; ausencias de interacción entre estos dos factores y la covariable edad no resultó estadísticamente significativa. La prueba de Tukey – Kramer permitió concluir que el genotipo BB, en promedio, produce mayor cantidad de proteína total en la leche respecto al Homocigoto AA y el Heterocigoto AB, los cuales producen una cantidad de proteína promedio similar.

ABSTRACT

The main goal of this research work was to determine the relationships between genotypes AA, AB and BB of the Kappa casein gene and the curd cheese performance and total content of protein in Holstein breed in Nariño- Colombia. The genotype of each animal was molecularly determined by means of the PCR-SSCP technique.

In order to evaluate the curd cheese performance and protein content 27 experimental units were used. The linear models include the fixed effects genotype, the lactation stage, the interaction effect between these factors and the covariates age of animals and fat percentage.

The results indicated that there was not an interaction between the genotypes and the lactation stage. For the curd cheese performance, the age of animal was not statistically significant but the covariate fat percentage was statistically significant and the only significant factor was the genotype. The Tukey-Kramer test showed statistical differences between BB genotype and AA and AB genotype. According to these results the genotype BB was the best treatment because it required the lowest amount of milk to produce a kilogram of curd cheese.

For the analysis of protein the linear model was the same in relation to the other variable, but it only included the covariate age of animals. In this case we found differences in genotypes and lactation stage. The results indicated that the best genotype was the BB and the greatest contents of protein were found in the third stage of lactation.

INTRODUCCIÓN.

En Colombia, los sistemas de producción de leche se ubican en las siete regiones de competitividad establecidas en la Resolución 0021 de Enero de 2006 emitida por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural⁴. En Antioquia, Cundinamarca y Nariño se encuentran las cuencas lecheras de trópico alto, con una marcada tendencia hacia la lechería especializada; mientras que en las cuencas de trópico bajo predominan las lecherías de doble propósito (Observatorio Agrocadenas)⁵.

El departamento de Nariño, ubicado en la región cuatro, se caracteriza por operar con costos más altos por unidad de producto y por lo tanto requiere un mayor capital operacional, en comparación con las otras regiones. Sin embargo, por tratarse de sistemas especializados en producción de leche se obtiene más utilidad económica, cuando las condiciones del precio de la leche son favorables, aunque el riesgo es más grande, por efecto de las fluctuaciones en los precios y las dificultades para competir debido a la menor calidad de la leche que se produce en la región (Gonzales *et al*)⁶. Por lo tanto, el mejoramiento de la calidad composicional de la leche en esta zona es un aspecto importante que debe tenerse en cuenta en los planes nutricionales y genéticos.

El mejoramiento de la calidad láctea, es tan amplio y complejo, ya que implica abordar desde los eventos bioquímicos que ocurren dentro de la glándula mamaria, hasta los cuidados que debe tenerse en el almacenamiento, conservación, procesamiento industrial y distribución.

La calidad composicional de la leche depende de muchos factores ambientales y genéticos; en los últimos el gen de la Kappa caseína (K-Cs) y sus polimorfismos o diferentes formas alélicas, se han estudiado ampliamente con el fin de establecer relaciones entre dichas variantes y los rendimientos industriales en cuajada, queso fresco y queso maduro. Investigaciones de esta naturaleza han sido realizadas fuera del país y dada la complejidad de la expresión génica es necesario confirmar los resultados obtenidos, bajo las condiciones del Trópico Alto de Nariño.

En el presente estudio, se establecieron las relaciones entre los genotipos AA, AB y BB de la K-Cs y las variables contenido total de proteína en la leche, contenido graso y el rendimiento en cuajada, en animales de raza Holstein, puesto que esta raza es la más difundida en esta zona de Colombia, al igual que muchos

⁴ COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, resolución número 000012 del 2007 “por la cual se establece el sistema de pago de la leche cruda al productor”. 12 de enero 2007.

⁵ OBSERVATORIO AGROCADENAS. Segundo informe de coyunturas de leche. [online] 2006. Disponible en internet www.agrocadenas.gov.co.

⁶ GONZÁLEZ, M. F *et al*. Desarrollo de un modelo para evaluar la factibilidad productiva y económica de la progenie resultante del cruzamiento de vacas holstein friesland con toros de las vacas francesa montbeliarde y normando. [online]. 2004 departamento de ciencias animales facultad de agronomía e ingeniería forestal, pontificia universidad católica de Chile.

lugares del mundo debido a su alto potencial genético para la producción de leche, lo que constituye su mayor ventaja, aunque la composición de su leche es pobre en grasa y proteína. (Gonzales *et al*)⁷.

Este proyecto se enmarca en el Programa de Mejoramiento Genético, que adelanta la Universidad de Nariño en convenio con la Cooperativa De Productos Lácteos de Nariño – Colácteos y el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, cuyo objetivo es la selección de los individuos más apropiados para las condiciones de esta región, donde uno de los criterios de mayor importancia es la calidad composicional de la leche, especialmente en cuanto a los contenidos de proteína, grasa y rendimiento industrial.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

⁷ GONZÁLEZ, M. F *et al*. 2004. Ibid.

En varios países, especialmente en los de la Unión Europea e incluso en los Estados Unidos, existe una clara tendencia de revisar y replantear los esquemas de selección tradicionalmente utilizados en la ganadería especializada de leche, que durante muchos años se centraron casi que exclusivamente en los volúmenes de producción. En la última década, los objetivos prioritarios de selección han evolucionando hacia un aumento en la cantidad de proteína, sólidos totales, recuento de células somáticas y vida productiva (Brotherstone y Hill)⁸.

Los esquemas clásicos de selección se han basado en el control de la producción y la utilización de modelos matemáticos cada vez más complejos, con el objetivo de seleccionar los individuos de mayor mérito genético. Sin embargo, en la actualidad, la información fenotípica se complementa con la información molecular y de esta manera se han acelerado los programas de mejoramiento, al facilitarse la identificación, incluso en estado embrionario, de genes asociados a características de importancia en producción y salud animal.

El desarrollo de técnicas moleculares y genómicas se han intensificado en todas las áreas y concretamente en el campo zootécnico permitiendo la identificación de variantes alélicas de manera rápida y confiable y con ello los estudios para relacionarlas con las variables involucradas en todo el proceso productivo y de transformación o procesamiento de la leche. (Mesina⁹, Coulon¹⁰).

En Colombia, la mejora genética es un campo con escaso desarrollo, situación que puede explicarse por la ausencia de un sistema nacional de registros, altos costos en los programas de selección, falta de articulación entre las entidades oficiales con el sector productivo y las universidades para formular y desarrollar programas de mejora genética, al igual que el concepto generalizado entre los ganaderos, quienes han asumido de modo equivocado que el mejoramiento se limita a la utilización de semen bovino importado o a los cruzamientos, sin fijar criterios y objetivos de selección, acordes con las condiciones particulares de cada zona.

Por las razones antes expuestas, en el Trópico Alto de Nariño no existe un programa de selección y por lo tanto tampoco se han definido los criterios y metas

⁸ BROTHERSTONE, S y HILL, W. G. Phenotypic and genetic analyses in pedigree type classified herds. Dairy herd life in relation to linear type traits and production. [online] 1991 Anim. Prod. 53:279–287.

⁹ MESINA. Polimorfismos genéticos de las proteínas de la leche en ganado vacuno frisón. Relación con los parámetros productivos. Influencia en el RCS y la mamitis. Aplicación a la tecnología de fabricación de queso de nata, “queso de cantabria” [online] 2000. d. o. p. 8. Disponible en internet www.cifacantabria.com

¹⁰ COULON. Polimorfismos genéticos de las proteínas de la leche en ganado vacuno frisón. Relación con los parámetros productivos. Influencia en el RCS y la mamitis. Aplicación a la tecnología de fabricación de queso de nata, “queso de cantabria” [online] 1998. d.o. p. 8. Disponible en internet www.cifacantabria.com

evaluables y alcanzables para solucionar los problemas estructurales detectados. Por ejemplo, según Colácteos en esta zona se requieren en promedio 11 litros de leche para producir un kilo de queso fresco, a diferencia de Chile, donde según las cifras reportadas por Avilés¹¹, se necesitan 8.7 litros de leche por kilo de queso producido y los indicados por la Universidad Nacional de Colombia que asegura requerir 9 litros de leche para obtener un kilo de queso fresco. (Rodríguez)¹².

En este estudio se estableció la relación de los genotipos AA, AB y BB del gen de la Kappa Caseína (K-Cs) sobre el rendimiento industrial en cuajada y la cantidad total de proteína, como herramienta de orientación en el proceso selectivo que se adelanta en la región para mejorar la calidad composicional de la leche y por ende sus rendimientos en el procesamiento industrial.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¹¹ AVILÉS CAMPO SUREÑO. Productores avanzan en la industrialización, Chile. 2004. Disponible en internet

<http://www.australtemuco.cl/site/apg/campo/pags/20040320230206.html>

¹² UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, RODRÍGUEZ. Agencia De Noticias UN Unimedios, la maduración de quesos, un gusto que se toma a Colombia, Edición 109, Ciudad Universitaria - Bogotá D.C.- Colombia. 2008. Periódico disponible en internet <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/109/quesos.html>

En la raza holstein, bajo las condiciones del Trópico Alto de Nariño ¿existe relación entre los genotipos AA, AB y BB del gen de la kappa caseína, el contenido total de proteína en la leche y el rendimiento industrial en cuajada?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL.

Determinar la relación entre los genotipos AA, AB y BB de la kappa caseína, con el contenido total de proteína de la leche y el rendimiento industrial en cuajada en animales de raza holstein del Trópico Alto de Nariño.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- 3.2.1 Determinar los genotipos del gen de la K-Cs, mediante la técnica molecular PCR-SSCP en hembras holstein del Trópico Alto de Nariño.
- 3.2.2 Determinar la asociación existente entre los genotipos AA, AB, BB del gen de la Kappa caseína con el rendimiento en cuajada y el contenido total de proteína.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 ASPECTOS GENERALES DE IMPORTANCIA EN LA RAZA HOLSTEIN

La ganadería que actualmente se desarrolla en diferentes zonas del territorio colombiano se inició desde los primeros años del período colonial. Lo que hoy se denomina “ganadería de la costa atlántica”, se formó con animales provenientes de la isla la española, en el segundo viaje de Cristóbal Colon, con 200 vacas y algunos toros (Asoholstein)¹³.

Hacia finales de 1800 y debido a la necesidad de mejorar el ganado criollo se inició la importación de animales procedentes de Europa con las razas holstein, overo negro, normando, pardo suizo y jersey, las cuales mejoraron notablemente la producción lechera, especialmente en las zonas de clima frío (Ortega)¹⁴.

En la actualidad, la raza holstein es una de las más importantes en la producción lechera, tiene como sus ancestros más remotos los animales negros de los bávaros y los blancos de los frisios, tribus que hace cerca de 2.000 años se ubicaron en el delta del Rhin, en territorio que hoy corresponde a Holanda. Por sus características de color, fortaleza y producción, la holstein empezó a diferenciarse de las demás razas y pronto comenzó a expandirse por otros países, empezando por Alemania, y desde hace más de 300 años está consolidada en un lugar de privilegio en el hato mundial, por su producción y su adaptación a diferentes climas.

4.1.1 Características fenotípicas. La vaca holstein es grande, elegante y fuerte, con una alzada aproximada de 1.50 m, peso promedio entre 600 y 700 kg en edad adulta para hembras; mientras que un macho adulto alcanza un peso entre los 1,000 y 1,200 kg. Los colores característicos son blanco y negro o blanco y rojo, con un patrón de manchas bien definidas.

La edad al primer parto, en condiciones normales, está alrededor de los tres años. Puede permanecer en el hato durante más de cinco lactancias, en cada una de las cuales (305 días) su producción se encuentra entre 5.000 y 10000 Kilos; datos reportados por el Programa de Mejoramiento¹⁵.

4.1.2 Producción de leche. La holstein se distingue por su elevada producción de leche, en virtud de la permanente selección a favor de ese rasgo, principalmente en Estados Unidos y Canadá.

4.1.3 Genética. Además de la información sobre producción y genealogía, los cuales permiten tomar decisiones de selección genética, para establecer mecanismos de cruces, otro elemento importante en la selección son los marcadores genéticos que permiten identificar la mejor variación genética y

¹³ COLOMBIA ASOHOLSTEIN. . Disponible en internet www.holstein.com.co.

¹⁴ ORTEGA, J. Sistemas de Producción animal parte I. 2005.

¹⁵ UNIVERSIDAD DE NARIÑO, Programa de Mejoramiento Genético. 2008. Op. cit.

eliminar defectos hereditarios. Los marcadores pueden detectarse en machos o hembras, en cualquier tejido, en la sangre, el semen, la leche, el pelo o en cualquier célula viva e independiente de la edad del animal.

Los resultados obtenidos en la selección se miden mediante las pruebas de progenie. Inicialmente la comparación se realizaba sólo de madre a hija, luego se amplió a las compañeras de hato de las hijas de un determinado toro. La raza holstein ha sufrido un proceso de selección sostenido por más de cinco décadas, gracias a lo cual es la preferida en los sistemas especializados de producción de leche y sin duda alguna la más productora, aunque en la actualidad los objetivos de selección se están modificando en muchos países en procura de obtener un animal que produzca leche de mejor calidad composicional, una morfología funcional y mayor vida productiva.

Uno de los mayores avances en la selección del ganado holstein lo constituye el uso de herramientas moleculares para asistir la selección clásica y en los dos últimos años la evaluación genómica, lo que permitirá seleccionar animales muy jóvenes con base en su valor genético genómico, lo que probablemente eliminará la necesidad de realizar pruebas de progenie.

4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DE LA LECHE

4.2.1 Composición básica de la leche. De acuerdo a Hurley:

La leche es uno de los líquidos más complejos que se conocen, pues combina propiedades de emulsión, suspensión y solución acuosa. En el primer caso dada por la dispersión de los glóbulos de grasa, en segundo lugar por la suspensión coloidal de las micelas de caseína, proteínas globulares y partículas lipoproteínas y por último, debido a la disolución en agua de la lactosa, proteínas solubles minerales, vitaminas y otros componentes¹⁶ (Tabla 1).

¹⁶ HURLEY, W.L. Lactation biology. University Press, University of Illinois. Urbana Champaign. 2000.

Tabla 1. Composición de la leche en las principales razas lecheras.

Razas	Grasa %	Proteína total %	Proteína verdadera %	Sólidos totales %
Holstein	3.64	3.16	2.97	12.24
Ayrshire	3.88	3.31	3.12	12.69
Pardo Suizo	3.98	3.52	3.33	12.64
Jersey	4.64	3.73	3.54	14.04

Fuente: Adaptado de Amiot, 1994.

Según el Ministerio de Agricultura y desarrollo rural¹⁷ en la resolución número 000012 del 2007, resuelve en el capítulo I “la definición de calidad estándar de la leche, la cual corresponde a los parámetros mínimos para la calidad higiénica, composicional y sanitaria, relacionados directamente con el precio competitivo, que debe cumplir la leche cruda entregada por el productor a un agente económico comprador de la misma de acuerdo con cada región”.

4.2.2 PROTEÍNAS

Rivera e Insuasty¹⁸, afirman que:

La mayor de parte del nitrógeno de la leche, se encuentra en forma de proteína. Los aminoácidos que constituyen las proteínas de la leche son 20 y el orden de estos está determinado por el código genético y le otorga a la proteína una conformación única. Posteriormente, la conformación espacial de la proteína le confiere su función específica.

El Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA)¹⁹ afirma que:

¹⁷ COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Op. cit.

¹⁸ RIVERA, J e INSUASTY E. Tecnología de leche. Primera edición. Pasto. 2008.

¹⁹ INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS (ICTA) Guía para producir quesos colombianos. Banco Ganadero. Santafé de Bogotá. 1994. p.27, 31, 32, 49.

La proteína es el componente químico más importante de la leche y puede dividirse en dos grupos, la caseína y proteínas del suero. Dentro de la caseína, se encuentran la α S1- Caseína, α S2-Caseína, β -Caseína y la Kappa-Caseína, las cuales se caracterizan por coagular bajo acción del cuajo o por acidificación a pH cercano a 4.6; entre las proteínas del suero se incluyen α -lactoalbúmina, β -lactoglobulina, inmunoglobulinas y sero-albúminas (Tabla 2).

4.2.3 Caseínas. De acuerdo a Webb²⁰, Alais²¹, Fennema²²: Las caseínas son un complejo de proteínas fosforadas presentes en la leche como largas partículas coloidales o micelas que contienen cantidades apreciables de calcio, fosfato y pequeñas cantidades de magnesio y citrato. Sus diámetros fluctúan entre 30-300 nm, contienen un 92 % de proteína, compuesta por α s1, α s2, β y Kappa caseína (K-Cs) y un 8% de constituyentes inorgánicos, esencialmente fosfato cálcico.

Tabla 2. Composición proteica general de la leche.

PROTEÍNAS	PARCIALES	TOTALES
Caseínas		
Caseína α s1	1.08	
Caseína α s2	0.25	
Caseína beta (β)	0.79	2.56%
Caseína kappa (κ)	0.31	
Caseína lamda	0.13	
Lacto albúminas		
Alfa – lacto albúmina	0.15	0.52%
Beta – lacto globulina	0.34	
Albúmina sérica	0.03	
Lacto globulinas		
Euglobina	0.07	0.12%
Pseudos globulina	0.05	
Proteínas Minoritarias		0.03%

Fuente: Adaptado de Amiot, 1994

4.2.3.1 Estructura de la micela de caseína. La micela de caseína constituye un sistema coloidal muy estable en la leche. Este hecho tiene importantes implicaciones prácticas relacionadas, tanto con la formación de los geles de caseína como con la estabilidad de los productos lácteos durante su tratamiento

²⁰ WEBB, B; JOHNSON, A; ALFORD, J. Fundamentals of Dairy Chemistry. AVI Publishing Company, Inc. Westport. [online].1980 Connecticut. Pp. 2 –124.

²¹ ALAIS, CH. Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera. [online] 1985. Editorial Reverté, Barcelona, España. 873 p.

²²FENNEMA, O. Química de los alimentos. [online] 1993. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España. Pp. 889 – 929.

térmico, concentración y almacenamiento. Por estas razones, la microestructura de la micela de caseína ha sido intensamente estudiada durante las últimas cinco décadas, puesto que su conocimiento es fundamental en la elaboración del queso. (Ferrandini *et al*)²³.

La formación de la micela de caseína puede afectarse por los cambios de pH, concentración de sales, temperatura y de las regiones hidrofílicas. En condiciones normales de pH y concentración de sales, las micelas de caseínas se encuentran muy hidratadas, teniendo ligados alrededor de 3,7 gramos de agua por gramo de proteína. Cuando estas condiciones cambian, las micelas de caseína se desestabilizan por la acidez y por la proteólisis de la K-Cs, lo cual está relacionado también con la variante alélica para esta fracción proteica.

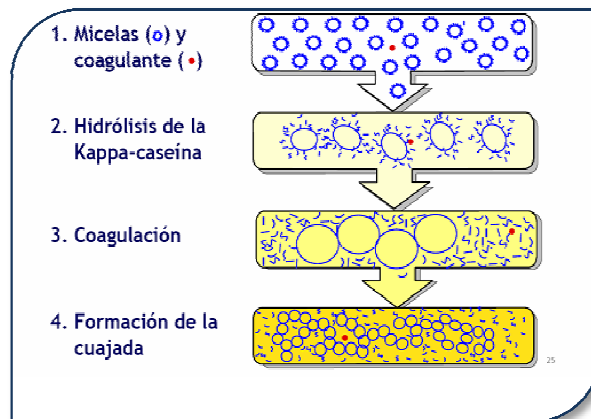
En cuanto a la acidez, se destacan dos efectos: En primer lugar, una disminución en el pH genera el rompimiento de los enlaces entre los grupos fosfato y el ion calcio, al reducirse la ionización de los fosfatos. En segundo lugar, las repulsiones entre las micelas, ya que se reducen cuando el pH se acerca al punto isoeléctrico de las caseínas. A un pH de alrededor de 4,5 y a una temperatura superior a 20 °C las caseínas se agregan, formando una cuajada poco mineralizada.

Un claro ejemplo de cómo los cambios en las regiones hidrofílicas y la temperatura afectan la estabilidad de la micela es el tratamiento con quimosina. Al adicionar quimosina, la K-Cs pierde, por proteólisis, su región hidrófila facilitando la agregación. A temperaturas bajas de refrigeración, las fuerzas hidrofóbicas que mantienen unidas a las moléculas de la β -Cs se debilitan, haciendo que esta exponga su región hidrófila hacia el exterior, esto aumenta la hidratación y el volumen de la micela. Como consecuencia, a temperaturas de refrigeración no se produce la agregación de la caseína ni por la acción de la acidez ni por la de la quimosina.

Otros factores que afectan considerablemente la agregación de la micela son el contenido de calcio y el contenido de sal. La pérdida de Ca^{++} conduce a una disociación de la β -Cs sin la desintegración del micelar. Por otro lado el contenido de sal, afecta la actividad del calcio en el suero y la cantidad de fosfato de calcio de las micelas (Figura 1).

²³FERRANDINI, M.E; *et al*. Laencina. Modelos estructurales de la micela de caseína. Departamento de Tecnología de Alimentos Nutrición y Bromatología. 2006. Universidad de Murcia.

Figura 1. Micela formada hasta cuajada por la Kappa Caseína.



Fuente: Adaptado de Chr. Hansen. 2007

4.2.3.2 Coagulación por cuajo. La coagulación de la caseína por el cuajo es la llamada reacción proteolítica limitada, donde la caseína es el sustrato de la enzima y se separa la llamada “Proteasa de Hammarsten” que representa alrededor del 6% de la caseína.

La coagulación de la leche por el cuajo es una acción compleja de la cual se distingue las siguientes etapas:

- Hidrólisis enzimática limitada de la Kappa caseína, o reacciones primarias. La hidrólisis ocurre entre los aminoácidos fenilalanina y metionina, que ocupan las posiciones 105 y 106 de la cadena de 119 aminoácidos que componen esta caseína. Esta reacción ocurre incluso a bajas temperaturas (4 °C).
- Modificación de las micelas y probable degradación de estas, con participación de fosfato de calcio en la constitución de nuevas micelas.
- Sinéresis del coágulo por retracción del retículo e inicio de la separación del suero, que es más acentuado cuando mayor sea la temperatura, acidez, cantidad de cuajo y acciones mecánicas.
- Proteólisis lenta de los componentes de la caseína o fase terciaria. Esta acción secundaria del cuajo es una proteólisis semejante a la pepsina.

La acción del cuajo se ve notablemente influenciada por la temperatura y pH. El tiempo de coagulación se extiende notablemente bajo 20 °C y es mínimo a los 40 - 42 °C. A temperaturas más altas el tiempo de coagulación aumenta ya que comienza la desnaturalización de la enzima. Por la misma razón, a pH sobre 7,5 la

coagulación no se produce y a medida que el pH desciende del valor normal de 6,7, el tiempo se acorta notablemente.

4.2.3.3 Tipo de cuajo. La Cooperativa de Productos Lácteos de Nariño-Colácteos, emplea coagulación enzimática, con un producto comercial constituido únicamente por quimosina, con las mismas características que el cuajo de ternera. Constantemente se efectúan pruebas para constatar la pureza y estabilidad enzimática para asegurar una coagulación óptima de la leche y un máximo rendimiento en la producción de todo tipo de quesos.

4.3 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE.

Según Strandberg y Lundberg²⁴, Durr²⁵, en la composición de la leche influyen factores nutricionales y no nutricionales. Según Mahieu; citado por Casado y García²⁶, dentro de los factores de variación de la composición de la leche, el 36% de ellos están ligados al animal y son caracteres hereditarios y alrededor del 60% se deben al medio en que vive el animal.

4.3.1 Factores no nutricionales

4.3.1.1 Raza. La raza constituye uno de los factores más importantes a considerar en la composición de la leche, puesto que la grasa y la proteína son caracteres genéticos con alta heredabilidad (Imagawa *et al*)²⁷. La heredabilidad estimada para producción de leche es relativamente baja 0.25%, sin embargo la heredabilidad para la composición de la leche es bastante alta 0.50% (Mercier y Vilotte)²⁸; opuestamente los factores ambientales como la nutrición y el manejo pueden tener mayor efecto sobre la producción que sobre la composición de la leche. (Ng- Kwai-Hang *et al*)²⁹ y Ponce³⁰).

Existen notables diferencias entre razas con relación a los componentes mayores de la leche, donde se distingue la raza holstein con niveles de sólidos más bajos si

²⁴STRANDBERG E y LUNDBERG C. A. note on the estimation of environmental effects on lactation curves [online] 1991. *Anim. Prod.*, 53, 399-402.

²⁵DURR, J.W; FONTANELI, R.S; BURCHARD, J.F. Fatores que afetam a composicao do leite. [online] 2000. In: *Curso de sistemas de producao para gado de leite baseado em pastagens sob plantio direto*. Passo Fundo. Anais EMBRAPA.

²⁶CASADO, P. y GARCIA, J.A. La calidad de la leche y los factores que la influncian. 1985 [online] Industrias Lácteas Españolas, N°81. P 298.

²⁷IMAGAWA, W *et al*. Control of mammary gland development. 1994. *The Physiology of Lactation*. [online] 1994. 2nd edition. P 1033.

²⁸MERCIER, J. C y VILOTTE, J. L. Structure and function of milk protein genes. *J.* 1993 [online]. *Dairy Sci.* 76:3079-3098.

²⁹NG-KWAI-HANG *et al*. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins in milk fat and protein production by dairy cattle. [online]. 1984. *J.Dairy Sci.* 67:835.

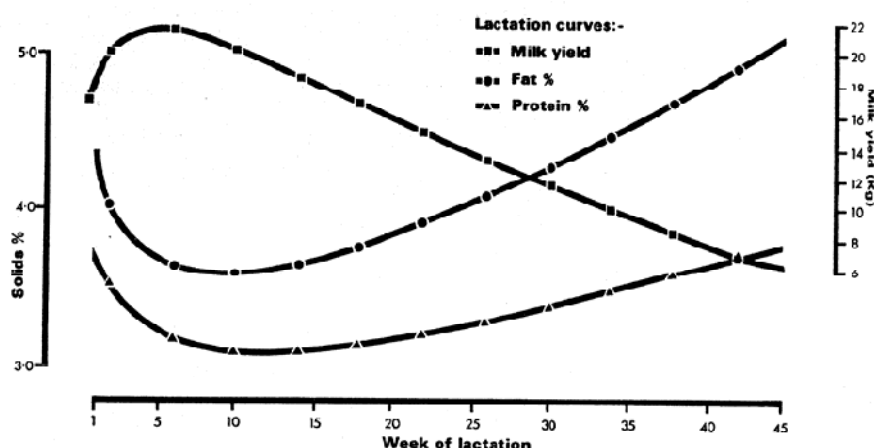
³⁰PONCE, P. Estudio de la lactancia en vacas de los cruces 5/8 H – 3/8 C y 3/4 H – 1/4 C en condiciones de Cuba. [online] 1984.

se compara con otras razas como la jersey, que registra la mayor composición (Tabla 3).

4.3.1.2 Estado de lactancia. El estado de la lactancia afecta la producción y la composición de la leche. Un aumento en el rendimiento de leche es seguido por una disminución en los porcentajes de grasa y proteína en leche. (Knight y Wilde³¹, Akers³² y Pérochon *et al*³³).

Los cambios en los rendimientos productivos durante el ciclo de lactancia influyen de manera inversa a la composición. Generalmente, en el primer tercio de lactancia correspondiente con el pico de lactancia, se registran las menores concentraciones de grasa, proteína y sólidos de la leche, situación que se invierte al final de la lactancia. (Akers³⁴, Beeyer *et al*³⁵, Blackburn³⁶ y Hurley³⁷). Se exceptúan de este cuadro las concentraciones de lactosa y potasio que disminuyen al final de la lactancia (Figura 2).

Figura 2. Comportamiento de la producción de leche, el porcentaje de grasa y proteína durante el ciclo de lactancia.



Fuente: Wood, 1976

³¹WILDE C. J. y Hurley, W. L. Animal models for the study of milk secretion. *J. Mammary Gland Biol.* [online] 1996. Neoplasia 1:123-134.

³²AKERS, R. M. Lactation physiology: A ruminant animal perspective. [online] 1990. 159:96-111.

³³PÉROCHON, L *et al.* Lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability. [online] 1996. *Anim. Sci.*, 63, 189-200.

³⁴AKERS.1990. Ibit

³⁵BEEYER D.E *et al.* A review of empirical and mechanistic models of lactational performance by the dairy cow.

³⁶BLACKBURN, D. G. Lactation: Historical patterns and potential for manipulation. 1993. *J Dairy Sci* 76:3195-3212.

³⁷HURLEY. 2000. Op. cit.

4.3.1.3 Salud de la ubre. La mastitis es la enfermedad que más afecta la producción y composición de la leche y por ello ha sido ampliamente estudiada. (Calvinho³⁸, Smith³⁹, Rajala – Schultz *et al*⁴⁰). En la Tabla 4 se indican los cambios que ocurren en la composición de la leche con altos conteos de células somáticas, ocurriendo una reducción en el contenido de grasa y caseína y un aumento en el contenido de suero de la leche. Estos cambios de las proteínas en unión con la lactosa, el contenido mineral y el pH de la leche, tienen como resultado bajos rendimientos en la producción de queso y alteraciones de las propiedades y en la industrialización de la misma. (Armenteros)⁴¹. Bajo dichas condiciones se aprecia un tiempo de coagulación más largo y una cuajada más débil.

Tabla 3. Cambios en la composición de la leche asociados a elevados conteos de células somáticas (CCS).

Componente	Leche Normal	Leche con elevados niveles de CCS
SNG	8.9%	8.8%
Grasa	3.5%	3.2%
Lactosa	4.9%	4.4
Proteína	3.61%	3.2%
Proteína del suero	0.8%	1.4%
Sodio	570mg	1050mg
Cloruro	911mg	1470mg
Potasio	1500mg	1750mg
Calcio	1200mg	400mg

Fuente: adaptado de Philpot, 1992.

4.3.1.4 Época del año. Los porcentajes de grasa y proteína son más altos durante el invierno y más bajos durante el verano (Dahl)⁴². Esta variación está

³⁸ CALVINHO, L. *La mastitis y su impacto en la calidad de la leche*. [online] 1995. [Informe](#) técnico INTA. No. 1:1-14.

³⁹ SMITH, K.L. El consejo Nacional de Mastitis y el futuro del control de mastitis y la producción de leche de calidad. [online]1996. Memorias del Congreso Regional del Consejo Nacional de Mastitis de Estados Unidos de América. Orlando, Colorado.

⁴⁰ RAJALA-SCHULTZ, P.J *et al*. Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. [online] 1999. *J. Dairy Sci.* 82:1213-1220.

⁴¹ ARMENTEROS, Mabelin. Evaluación de un desinfectante mamario post-ordeño de origen natural. [online] 1998. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias. La Habana, Cuba.

⁴² DAHL, G. E; CHASTAIN, J. P; PETERS, R.R. Manipulation of photoperiod to increase milk production in cattle: biological, economic and practical considerations. [online]1998 *Amer. Soc. Agric* pp. 259-265.

relacionada con los cambios en la disponibilidad y calidad forrajera (Coulon y Pérochon *et al*⁴³ y White *et al*⁴⁴).

4.3.1.5 Número de lactancias y edad. Los niveles de producción de leche aumentan con las sucesivas lactancias del animal, obteniéndose los mayores volúmenes de producción, entre la tercera y la cuarta lactancia, lo que depende en gran medida de la edad en la que el animal empieza su vida reproductiva y el manejo de la misma durante su vida productiva. (Ponce⁴⁵, Beeyer *et al*⁴⁶, Imagawa *et al*⁴⁷ y Aranda *et al*⁴⁸).

Mientras el contenido de grasa en la leche permanece relativamente constante, el contenido de proteína en leche gradualmente disminuye con el progreso de la edad. (Wilde y Hurley)⁴⁹. Según Rodríguez⁵⁰ en un estudio realizado en rebaños Holstein, indicaron que el contenido de la proteína en leche disminuye típicamente 0.02 a 0.05 unidades por lactancia.

4.3.2 Factores nutricionales

4.3.2.1 Alimentación. Tiene una influencia fundamental en la composición de la leche, por eso deben proporcionarse raciones equilibradas y debidamente calculadas. Si el plano nutricional, de acuerdo a los requerimientos normales, se eleva un 25-35% aumenta el ESM (extracto seco magro, sin grasa) en un 0.3%. Este cambio se debe a una alteración en el contenido proteico y a modificaciones en la caseína.

La subalimentación, además de rebajar el volumen de leche, conduce a una reducción en la concentración proteica de la leche y a un incremento en la grasa. La ingestión de gran cantidad de alimentos, además de incrementar el rendimiento, aumenta poco, pero significativamente la proteína de la leche y comúnmente la grasa disminuye. (Rivera e Insuasty)⁵¹.

⁴³ PÉROCHON *et al.* [online] 1996. Op. cit.

⁴⁴ WHITE, S. L *et al.* Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows.[online] 2002. *J Dairy Sci* .85(1):95-104.

⁴⁵ PONCE, P. 1984 Op. cit.

⁴⁶ BEEYER D. E *et al.*1991. Op. cit.

⁴⁷ IMAGAWA, W. *et al.*1994. Op. cit.

⁴⁸ ARANDA, E *et al.* Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and protein supplement. [online] 2001. *Livestock Production Science* 71:201 – 206.

⁴⁹ WILDE C. J. y HURLEY, W. L. Animal models for the study of milk secretion. *J Mammmary Gland Biol. Neoplasia* 1:123-134. [online] 1996.

⁵⁰ RODRÍGUEZ. 2008. Op. cit.

⁵¹ RIVERA e INSUASTY. 2008. Op. cit.

4.4 POLIMORFISMO GENÉTICO DE LAS PROTEÍNAS DE LA LECHE

En los tejidos animales, es posible encontrar proteínas semejantes entre sí por su composición, peso molecular y propiedades. Estas representan varias formas de una misma proteína, es decir, se trata de variantes cuya síntesis está comandada por un gen en particular. (Alais⁵², Lehninger y Nelson⁵³).

Las variantes de una proteína se diferencian solo por mínimas variaciones en su composición, a menudo se trata de la sustitución de uno o dos aminoácidos en la cadena peptídica. En las variantes genéticas se observa que la nomenclatura para cada proteína corresponde a un orden alfabético progresivo y/o al orden cronológico de los descubrimientos, al principio fue referido también a la movilidad de las bandas, pudiendo existir individuos homocigotos y heterocigotos, los que pueden presentar una variante AA, BB, ó una mezcla de ellas AB, AC, BC, respectivamente. En las especies bovinas la frecuencia con la que se presentan estas variantes está influenciada por la raza. La existencia de formas genéticas determinadas, con propiedades distintas y en proporción variable puede ser la causa esencial de las diferencias que se observan en los procesos industriales a los que se somete la leche (Alais⁵⁴, y Allmere citados por Jakob y Puhan⁵⁵).

4.4.1 Polimorfismo de la Kappa Caseína. Las variantes de la kappa caseína son controladas por genes autosómicos del cromosoma 6 y los bovinos heredan de cada progenitor un alelo, conformándose así los genotipos homocigotos o heterocigotos.

Desde 1983 hasta el 2007, se han reportado para la K- Cs 11 variantes alélicas (A, B, C, E, F, G, H, I, A1, A2, A3) pero en *Bos taurus* las variantes A y B son las de mayor frecuencia y no todos los alelos aparecen en todas las razas. (Chessa *et al*⁵⁶; Soria *et al*⁵⁷; Atherton y Newlander⁵⁸; Eigel *et al*⁵⁹).

⁵² ALAIS, CH .1985. Op. cit.

⁵³ LEHNINGER, A y NELSON, C. Principios de bioquímica. [online] 1995. Editorial Omega. Barcelona, España. Pp. 136 – 147.

⁵⁴ ALAIS, CH .1985. Ibid .

⁵⁵ JAKOB, E. y PUHAN, Z. Implications of Genetic Polymorphism of Milk Proteins on Production and Processing of Milk. 1995. Bulletin FIL -IDF. 304. 25.

⁵⁶ CHESSA, S *et al*. Development of a Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Microarray Platform for the Identification of Bovine Milk Protein Genetic Polymorphisms. [online] 2007. J. Dairy Sci. 90:451–464

⁵⁷ SORIA, L. A *et al*. Test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. Anim Biotechnol.[online] 2003. 14(1):1-5.

⁵⁸ ATHERTON, H y NEWLANDER, J. Chemistry and testing of dairy products, AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. [online] 1977. Pp. 1 –33.

⁵⁹ EIGEL, W; BUTLER, J; ERNSTROM, C. Nomenclature of Proteins of Cow's Milk. [online] 1984. Journal of Dairy Science, 67 (8): 1599 – 1631.

Ordas⁶⁰ afirma que:

El locus para la Kappa caseína posee dos variantes alélicas A y B, la variante proteica del alelo A tiene treonina en la posición 136, codificado por la tripleta ACT y aspartato en la posición 148, codificado por la tripleta GAT, mientras que la variante B, presenta isoleucina codificada por la tripleta ATT y alanina codificada por la tripleta GCT, en las posiciones antes mencionadas.

4.5 RELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO DE LA KAPPA CASEÍNA, LA PRODUCCIÓN Y EL RENDIMIENTO EN CUAJADA.

Ng-kwai-hang *et al*⁶¹, después de varios estudios han descrito que “el genotipo BB de la Kappa-Caseína determina mejores propiedades de la leche en cuanto a producción de queso, asociada con firmeza en el cuajo y menor tiempo en la formación de este. Mclean *et al*⁶², deduce que “la leche derivada de animales la Kappa caseína AA tiene menor porcentaje de caseína y como consecuencia de esto una mayor proporción de micelas grandes. Otro factor a tener en cuenta para la industrialización lechera, es el curso de la lactancia, que no solo afecta la producción de leche, sino también la composición”.

Knight y Wilde, expresan que “normalmente, un aumento en el rendimiento de leche es seguido por una disminución en los porcentajes de grasa y proteína en leche⁶³”.

⁶⁰ORDAS, J. G. Selection of bovine K-caseins by ADN and PCR (Polymerase Chain Reaction Polymorphisms). [online] 1992. Vol. 32. p. 21-23.

⁶¹ NG-KWAI-HANG, K.F *et al* 1984. Op.cit.

⁶²MCLEAN, D. M; GRAHAM H. A. MCKENZIE. Estimation of casein composition by gel electrophoresis. [online] 1982. 21st Int. Dairy Congr. Moscow 1(2): 221.

⁶³KNIGHT, C. H. y WILDE, C. J. Mammary growth during lactation: implications for increasing milk yield. [online] 1987 J. Dairy Sci. Vol 70. p. 1991 - 2000

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS VARIANTES ALÉLICAS DEL GEN DE LA KAPPA CASEÍNA.

Para la determinación del genotipo se utilizó el siguiente protocolo:

5.1.1 Determinación de las Variantes Alélicas. La genotipificación de cada ejemplar incluido en el muestreo se llevó a cabo mediante la técnica PCR-SSCP, descrita por Barroso *et al* (1998), con modificaciones y ajustes realizados en el Laboratorio de Mejoramiento Genético Animal de la Universidad de Nariño. Esta técnica reúne la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con la identificación de polimorfismos cortos de cadena simple de ADN (SSCP). En el proceso, los productos PCR son desnaturalizados en cadena simple de ADN, luego se renaturalizan para favorecer los apareamientos intracatenarios que finalmente podrán ser identificados en geles de poliacrilamida. De esta manera la estructura de cada hebra de ADN adoptará una conformación dependiente de la secuencia nucleotídica, lo que afectará su migración en el gel. Así, dos productos PCR con diferencias puntuales en sus secuencias presentarán distintos patrones electroforéticos de ADN monocatenarios.

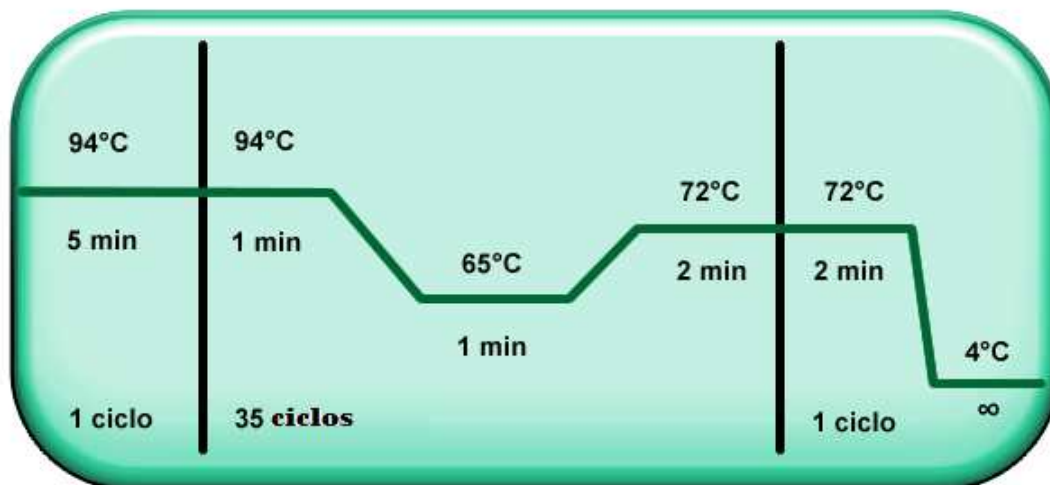
5.1.2 PCR- SSCP. La técnica PCR – SSCP se llevó a cabo con el siguiente proceso:

Amplificación del fragmento de 453 pares de bases (pb), usando un disco FTA® de 1.2 mm, el cual contenía aproximadamente 25 ng de ADN. Las condiciones de amplificación se indican en la Tabla 4 y Figura 3. En esta parte del proceso se utilizó un termociclador.

Tabla 4. Condiciones de PCR-SSCP para la amplificación.

COMPONENTES	SOLUCIÓN STOCK	CONCENTRACIÓN TRABAJO	VOLUMEN (µL)
ADN	25 ng	1 disco FTA	
Buffer PCR	5 X	1 X	4.0
d´NTPs	5 Mm	0.8 mM	0.8
Cebador Forward + Reverse	100 µM	1.0 µM	0.2
MgCl ₂	25 mM	2.0 mM	1.6
Taq polimerasa	5 U/µL	2 U/µL	0.08
Agua mili-Q			13.32
Volumen total de la reacción de PCR = 20 µL			

Figura 3. Programa de amplificación para PCR-SSCP del gen de la K-Cs en un termociclador.

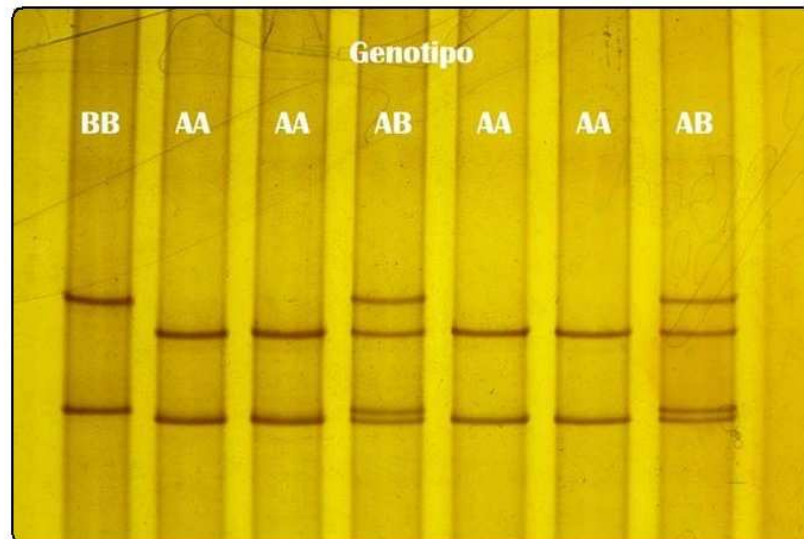


La secuencia de los cebadores (iniciadores, oligonucleótidos de iniciación o *primers*) para la cadena adelantada o *Forward* fue 5'-TGT GCT GAG TAG GTA TCC TAG TTA TGG-3' y para la cadena atrasada o *Reverse* fue 5'-GCG TTG TCT TCT TTG ATG TCT CCT TAG-3'.

5.1.3 Electroforesis. Electroforesis y tinción con plata. Las muestras fueron corridas en presencia de un control negativo para asegurar la limpieza de la reacción PCR-SSCP. Se prepararon geles de poliacrilamida al 12% en proporción 100 Acrilamida: 1 N'N-bis acrilamida. Los geles se corrieron durante 16 horas a 160 voltios y a temperatura ambiente, lográndose en ese lapso una observación correcta de los fragmentos amplificados del gen de la K-Cs. Para la visualización de los patrones electroforéticos de los alelos A y B. para la tinción de los geles se utilizaron los siguientes reactivos: solución nitrato de plata, solución fijadora (ácido acético glacial al 0.5% / etanol al 10%) y solución reveladora (NaOH \ aldehído fórmico al 37%).

Posterior al proceso de tinción se realizó la lectura de los geles de modo visual, acorde con el patrón obtenido en el laboratorio (Figura 4) y se confirmaron con el lector de geles referencia GL-4151B Epidigicam.

Figura 4. Patrón de bandas generadas por la técnica PCR-SSCP para el gen de la Kappa caseína en bovinos de raza holstein del Trópico Alto de Nariño



5.2 LOCALIZACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

La evaluación de rendimiento en cuajada se realizó en la planta de leche de la Cooperativa de Productos Lácteos de Nariño – Colácteos (Figura 5), ubicada en la comuna 10 de la ciudad de Pasto, con coordenadas de latitud norte 1° 13' 22", longitud occidente de 77° 16' 22" a una altura de 2690 m.s.n.m. con una temperatura promedio de 12°C y una humedad relativa del 82 %. IGAC⁶⁴

⁶⁴ INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. Disponible en Internet www.igac.gov.co/

Figura 5. Planta Procesadora de Leche Aranda Colácteos.



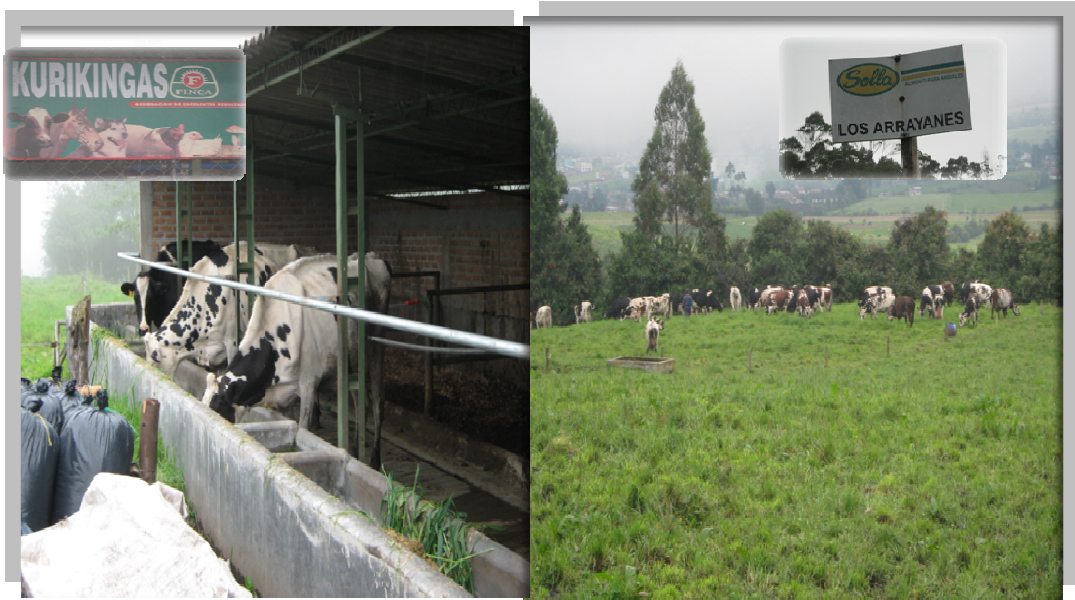
5.3 SELECCIÓN DE ANIMALES

Se seleccionó una muestra poblacional, constituida por 9 animales de la raza holstein, los cuales se encontraban en plena producción. Una vez escogida la muestra se procedió a la identificación del genotipo de la Kappa caseína en el Laboratorio de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño. Se estableció el tercio de lactancia en cada individuo y del ordeño de la mañana se obtuvieron las muestras de leche para realizar los análisis de rendimiento en cuajada y proteína (Tabla 5 y Figura 6).

Tabla 5. Datos de animales incluidos en el estudio.

Animal	Raza	Padre	Madre	Edad	Intervalo Entre Partos	Leche Ajustada a 305 y EA (PL₂)
Damisela	H	1523	12458	6,3	380	5892
Tormenta	H	150	4953	5,1	393	6582
Disney	H	0	0	5,5	472	8814
Amalia	H	13750	12982	4,5	375	5633
Mascara	H	13750	5971	4,0	511	5757
Limeña	H	12897	4904	4,3	484	7559
Góndola	H	12064	5740	6,0	318	4967
Antonia	H	13750	12810	4,5	564	6133

Figura 6. Fincas seleccionadas para muestreo de animales



5.4 MATERIALES Y EQUIPOS

Siguiendo el reglamento interno establecido por la dirección técnica de la planta Colácteos, fue indispensable contar con los siguientes elementos básicos para el ingreso a planta: Gorro, tapabocas, overol, peto, botas y bata. Además todo operario hombre que tenga contacto con leche cruda, debe tener cabello corto, sin barba, uñas cortas sin lesiones visibles, sin joyas y sin olores fuertes que puedan causar contaminación cruzada. En el caso de las mujeres debe tener el cabello recogido, abstenerse de utilizar maquillaje, crema de manos y cuerpo, sin lociones, uñas cortas sin esmalte y sin joyas.

5.4.1 Protocolo de ingreso a planta

5.4.1.1 Limpieza de manos. Se inicia con la limpieza total de manos y antebrazo con jabón antibacterial, teniendo en cuenta que la limpieza sea uniforme y entre los dedos como se aprecia en la Figura 7.

Figura 7. Protocolo de limpieza de manos y antebrazo para el ingreso a planta.



5.4.1.2 Limpieza de botas. La limpieza consiste, como se observa en la figura 8, las botas se humedecen completamente en las escobilla, luego se frota con la escoba en seguida se enjuagan e inmediatamente se desinfectan con hipoclorito al 10%.

Figura 8. Limpieza y desinfección de botas para el ingreso a planta



5.4.1.3 Obtención de muestras en campo. Se utilizaron 3 muestras por genotipo en cada tercio de lactancia, con lo que el experimento fue replicado tres veces. Para el procesamiento de la leche se tomaron cuatro litros de leche entera del ordeño de la mañana los que fueron transportadas hasta la planta de Colácteos, debidamente identificadas con el nombre del animal y de la finca. Las muestras se almacenan en el cuarto frío a - 4°C (Figura 9).

Figura 9. Identificación y almacenamiento de las muestras en el cuatro frío.



5.5 PROTOCOLO DE RENDIMIENTO EN CUAJADA

5.5.1 Análisis físico químico y microbiológico. De cada muestra se utilizó un litro de leche entera, a la cual se le realizó la valoración composicional mediante un analizador de leche de tipo industrial llamado EKOMILK, situado en el laboratorio físico químico en la planta de Colácteos (Figura 10). En el proceso automatizado, el EKOMILK succiona una pequeña muestra de leche y la somete al paso de una onda de ultrasonido. Un microprocesador traduce los resultados midiendo las variables porcentaje de materia grasa, porcentaje de sólidos totales, porcentaje de proteína total, densidad, punto de congelación y agua agregada. El tiempo empleado para la medición por cada muestra fue de un minuto.

Figura 10. Laboratorio Físico- Químico de la planta procesadora de leche Colácteos.



Adicionalmente, los resultados fueron confirmados mediante pruebas manuales, para evitar errores de calibración en el equipo EKOMILK.

En la prueba manual, en primer lugar se determinó cualitativamente la acidez por cambio de color al mezclar un volumen leche y la solución alcalina (hidróxido de sodio) y el indicador (fenolftaleína) a 0.1 N.

En segundo lugar se determinó el porcentaje en grasa, mediante el método butirométrico de Gerber (B.S.I)⁶⁵, el cual consiste en separar las grasas utilizando ácido sulfúrico concentrado y alcohol amílico, seguido por cinco minutos de centrifugación a 3000 r.p.m.

En cuanto a los análisis microbiológicos, se realizó el conteo de Unidades formadoras de colonia (UFC) y es un valor que nos indica el grado de contaminación ambiental que la leche posee.

5.5.2 Proceso de rendimiento en cuajada

5.5.2.1 Materiales y elementos. Cuajo en polvo, cloruro de calcio, ollas en acero inoxidable, liras para corte, termómetros, moldes, bolsas para empaque, medidor de litro, tinas, banco de hielo, estufas eléctricas, centrifuga, papel aluminio, buretas, pipetas, densímetro, balanza de precisión, cucharillas, frascos esterilizados, agua destilada, coladores con papel filtro, garrafas plásticas de 4 litros.

5.5.2.2 Rendimiento en cuajada. Se sometieron a pasteurización lenta durante 30 minutos a una temperatura de 63° C con agitación constante tres litros de leche. El proceso de retención consistió en mantener por 30 minutos la temperatura alcanzada sin agitar. Posteriormente se disminuyó la temperatura en tres pasos: 63° C, 34° C y 33° C, con el fin de favorecer el crecimiento de las bacterias ácido lácticas necesarias para beneficiar el proceso.

Alcanzada la temperatura de 34° C se agregaron 0.45 gramos de cloruro de calcio para contrarrestar las pérdidas causadas en la pasteurización y 0.06 g de cuajo a 33°C, con el fin de llevar a cabo el proceso de coagulación.

La cuajada formada se cortó con liras metálicas, obteniéndose granos de 1 cm³. Los granos obtenidos se calentaron durante 5 minutos aumentando la temperatura gradualmente a 38° C. Pasado este tiempo se agitó suavemente durante 25 minutos.

65 BRITISH STANDARDS INSTITUTION. Gerber Method for determination of fat in milk and milk products. [online] 1955. Londres.

El rendimiento en cuajada fue calculado teniendo en cuenta el volumen de leche procesada y el peso final de la cuajada después de 10 horas de refrigeración (Figura 11), así:

$$RC=VL/WC$$

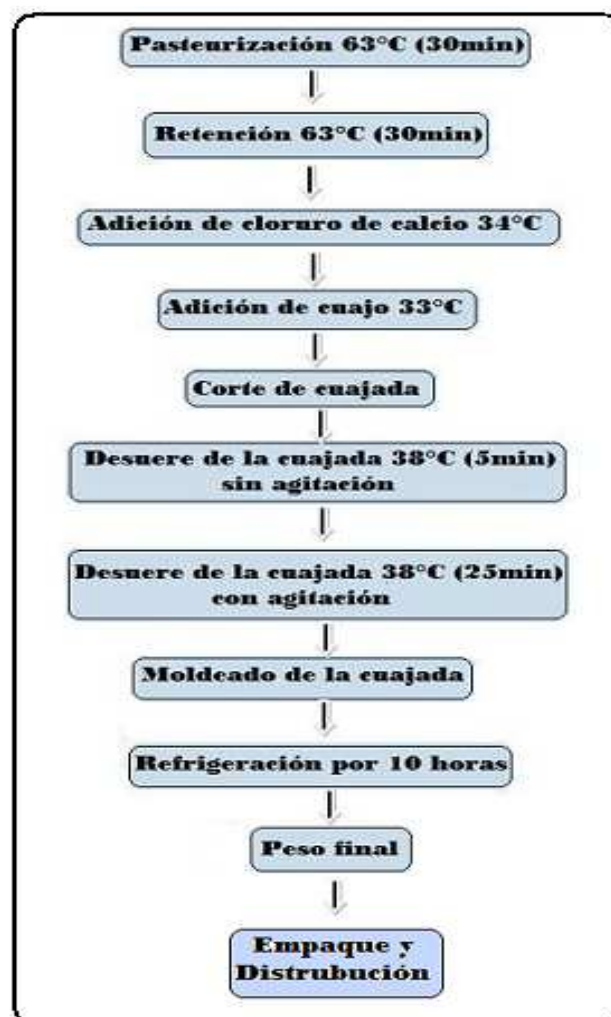
Donde:

RC = rendimiento cuajada

VL = volumen de leche

WC = peso final de cuajada

Figura 11. Flujo para evaluar el rendimiento en cuajada.



5.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.6.1 Modelo lineal de evaluación. En total se utilizaron 27 unidades experimentales y se llevaron a cabo los análisis, mediante un modelo lineal, en el que se incluyeron los efectos fijos del tercio de lactancia, los genotipos, la interacción tercio de lactancia por genotipo, el contenido graso y la edad del animal como covariables. Este modelo se representó de acuerdo con la siguiente expresión algebraica.

$$y_{ijk} = \mu + \tau_j + \alpha_k + (\tau, \alpha)_{jk} + \beta_1(x_{1i} - \bar{x}_1) + \beta_2(x_{2i} - \bar{x}_2) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = rendimiento en cuajada, asociado al j-ésimo genotipo, en el k-ésimo tercio de lactancia, en la interacción del j-ésimo genotipo con el k-ésimo tercio de lactancia, corregido por la edad del animal.

μ = Media común a todas las observaciones.

τ_j = Efecto del j-ésimo genotipo. $j = 1, 2, 3$.

α_k = Efecto del k-ésimo tercio de lactancia. $k = 1, 2, 3$.

τ, α = efecto de la interacción de j-ésimo genotipo con el k-ésimo tercio de lactancia.

$\beta_1(x_{1i} - \bar{x}_1)$ = efecto de la covariable edad.

$\beta_2(x_{2i} - \bar{x}_2)$ = efecto de la covariable grasa.

ε_{ijk} = Error experimental asociado al j-ésimo genotipo, en el k-ésimo tercio de lactancia y en la interacción entre el j-ésimo genotipo con k-ésimo tercio de lactancia.

Los análisis de varianza se realizaron con el paquete estadístico SAS versiones 9.1.3, 9.20 y Enterprise Guide versión 4.1, debidamente licenciado para el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño.

Para el análisis de la proteína se utilizó el mismo modelo sin incluir la covariable grasa.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los genotipos AA, AB y BB del gen de la K-Cs determinados en este estudio, fueron correspondientes a los reportados por Barroso *et al*⁶⁶.

6.1 ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES ANALIZADAS.

En las tablas 6,7 y 8, se indican los principales estadígrafos para las variables analizadas en esta investigación, discriminados para cada genotipo.

Tabla 6. Estadística descriptiva para el genotipo homocigoto AA para el gen de la K-Cs.

Variable	N	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar
Litros/Kg	9	6.722	7.700	5.500	0.712
Proteína	9	3.076	3.320	3.000	0.105
Grasa	9	3.117	4.120	2.310	0.582
Sólidos totales	9	11.699	13.290	10.670	0.756

Tabla 7. Estadística descriptiva para el genotipo heterocigoto AB para el gen de la K-Cs.

Variable	N	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar
Litros/Kg	9	6.111	7.000	5.000	0.653
Proteína	9	3.062	3.260	2.900	0.114
Grasa	9	3.718	4.470	2.510	0.659
Sólidos totales	9	12.269	13.470	11.140	0.774

Tabla 8. Estadística descriptiva para el genotipo homocigoto BB para el gen de la K-Cs.

Variable	N	Media	Máximo	Mínimo	Desviación estándar
Litros/Kg	9	5.456	6.400	4.300	0.615
Proteína	9	3.188	3.340	3.080	0.080
Grasa	9	3.924	4.500	3.330	0.367
Sólidos totales	9	12.730	13.330	11.950	0.477

⁶⁶ BARROSO, A *et al.* 1998. Op.Cit.

Los valores promedio, para cada uno de los tratamientos, en cuanto a litros de leche requeridos para producir un kilogramo de cuajada, no pueden compararse con experimentos similares, ya que se carece de referentes, nacionales o extranjeros que permitan establecer la existencia de rangos amplios de variación o un comportamiento dentro de los límites establecidos en la industria láctea.

En cuanto a los contenidos de proteína, grasa y sólidos totales, los promedios calculados en esta investigación son similares a los reportados para la raza holstein en Colombia y otros países como Estado Unidos, Irlanda, Canadá y Argentina (Callanan,1991).

Las cifras indicadas en las tablas antes mencionadas tienen valor informativo para la región y el país, aunque es necesario advertir el Programa de Mejoramiento Genético de la Universidad de Nariño divulgará los resultados correspondientes a todas estas variables, excepto el rendimiento en cuajada, con una muestra de gran tamaño y por ende de alta confiabilidad.

6.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

6.2.1 Análisis de varianza para la variable rendimiento en cuajada.

Al efectuar el análisis de varianza, incluyendo todos los efectos inicialmente considerados en el modelo, los resultados indicaron la ausencia de diferencias estadísticas significativas en la interacción genotipo por tercio, la edad del animal y el tercio de lactancia. A su vez se detectaron diferencias estadísticas significativas para el genotipo y la covariable contenido de grasa. En consecuencia el modelo definitivo de evaluación incluyó únicamente el genotipo y la covariable contenido de grasa. Los resultados de dicho análisis se presentan en la Tabla 9.

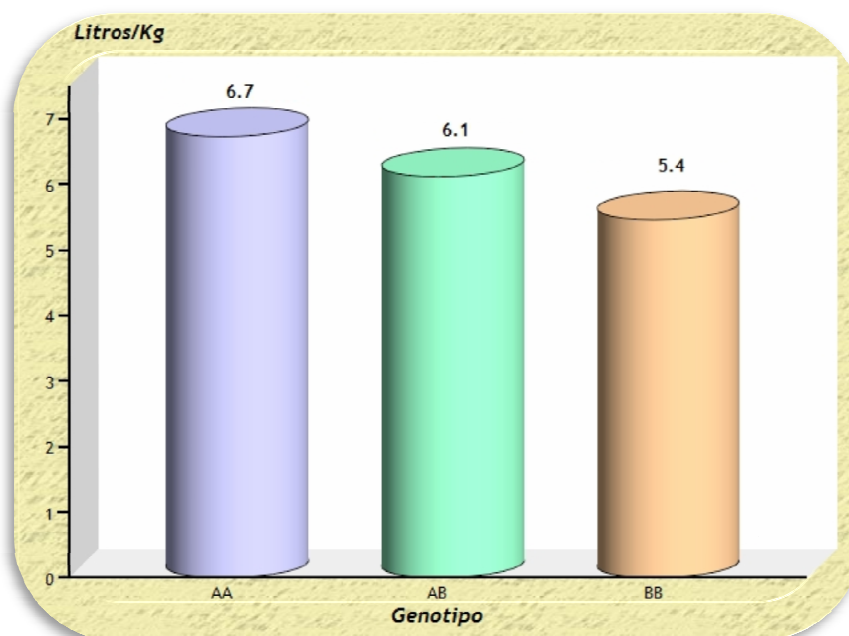
Tabla 9. Análisis de varianza para la variable rendimiento en cuajada.

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado de la Media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	9.130	3.043	8.16	0.0007*
Error	23	8.579	0.373		
Total correcto	26	17.709			

Fuente	GL	Tipo III SS	Cuadrado medio	F – Valor	Fr> F
Genotipo	2	2.52729644	1.26364822	3.39	0.05*
Grasa	1	1.90735750	1.90735750	5.11	0.03*

En la Figura 12 se consigan los valores correspondientes al promedio de rendimiento de cada genotipo, ajustado por la covariable contenido graso.

Figura 12. Rendimiento expresado en litros de leche por kg de cuajada producida en la raza Holstein para el genotipo de la K-Cs en el Trópico Alto de Nariño.



Para establecer el mejor tratamiento, las medias mínimo cuadráticas se compararon con la prueba de Tukey – Kramer, lo que permitió concluir que entre los genotipos AA y AB no existen diferencias estadísticas significativas, mientras que el genotipo BB tuvo un rendimiento mayor y estadísticamente significativo respecto a los dos genotipos antes mencionados, lo que permite asegurar, que bajo las condiciones del Trópico Alto de Nariño, el mejor rendimiento para la producción de cuajada con animales de la raza holstein, el genotipo más recomendable para la Kappa Caseína es el homocigoto BB, que requirió de 5.4 litros de leche para producir un kilogramo de cuajada; mientras que con los genotipos AA y AB fue necesario utilizar 6.7 y 6.1 litros por kilogramo de cuajada, respectivamente.

Resultados similares son reportados por Ng-kwai-hang *et al*⁶⁷ y Mclean *et al*⁶⁸ quienes, después de varios estudios, aseguran que “el genotipo BB de la Kappa-Caseína determina mejores propiedades de la leche en cuanto a producción de queso, asociada con firmeza en el cuajo y menor tiempo en la formación de micelas pequeñas. En animales de Kappa Caseína AA, se encontraron menores porcentajes de caseína y como consecuencia de esto una mayor proporción de micelas grandes”.

De acuerdo con los resultados específicos para el Trópico Alto de Nariño se puede afirmar, que en la reorientación del proceso selectivo del núcleo holstein en esta zona de Colombia, el genotipo para la Kappa Caseína es un criterio importante, dejando claro que dicho rasgo debe considerarse integralmente, junto con otros factores de marcada relevancia como el tipo funcional, la longevidad y la eficiencia reproductiva, acorde con las tendencias actuales de selección para la raza holstein en muchos países (Caraviello)⁶⁹.

6.2.2 Análisis de varianza para la variable proteína.

En la Tabla 10, se indican las medias mínimo cuadráticas de la variable proteína, las cuales se compararon con la prueba de Tukey – Kramer, resultando el genotipo y el tercio de lactancia estadísticamente significativos ($P < 0.05$); mientras que en la interacción genotipo por tercio no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$), lo que indica que tanto el tercio de lactancia como el genotipo son factores determinantes del rendimiento industrial en cuajada.

Tabla 10. Análisis de varianza para la variable proteína

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > f
Modelo	8	0.208	0.026	3.92	0.0077*
Error	18	0.119	0.006		
Total	26	0.328			

⁶⁷ NG-KWAI-HANG, K.F *et al* 1984. Op.cit.

⁶⁸ MCLEAN, D. M *et al* 1982. Op.cit.

⁶⁹CARAVIELLO D. Cruzamientos en el Ganado Lechero. Novedades Lácteas Reproducción y Genética. 2004 [online] No. 610.

Fuente	GL	Tipo III SS	Cuadrado medio	F – Valor	Fr> F
Genotipo	2	0.085	0.042	6.44	0.0078*
Tercio	2	0.049	0.024	3.72	0.0445*
Genotipo * tercio	4	0.073	0.018	2.76	0.0600 ^{NS}

Como puede apreciarse en la Tabla 11, el mayor promedio de proteína se obtuvo en el tercer tercio de lactancia. La prueba de comparación múltiple de Tukey, indicó que no existen diferencias entre los valores de proteína en los tercios 1 y 3; tampoco se encontraron diferencias entre los tercios 2 y 3, pero si se detectaron diferencias estadísticas significativas entre el tercio 1 y 2. Estos resultados son coincidentes con los reportados por Alinaghizadeh *et al*⁷⁰.

Tabla 11. Promedios de producción de proteína según el tercio de lactancia.

Tercio	Medias mínimo cuadráticas
1	3.075
2	3.062
3	3.187

⁷⁰ ALINAGHIZADEH, R *et al.* Department of animal genetics and biotechnology, agricultural college. 2007. ISSN 1028- 8880. p. 4221 – 4294.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- 7.1.1. La utilización de técnicas moleculares, es un hecho sin precedentes en la región, para determinar genotipos de la K-Cs y su implementación resultó útil para la correcta identificación de los individuos según su constitución genética y permitió el desarrollo de otros estudios para obtener medidas como la estructura poblacional y la diversidad genética para el gen de la K-Cs en el Trópico Alto de Nariño.
- 7.1.2 En la raza holstein, bajo las condiciones del Trópico Alto nariñense, el mayor rendimiento en cuajada se obtuvo con leche proveniente de animales con genotipo BB.
- 7.1.3 El mayor contenido de proteína total se obtuvo en animales con genotipo BB y en el tercer tercio de lactancia, factores que no produjeron efecto de interacción.
- 7.1.4 Los resultados de esta investigación constituyen una buena orientación para revisar y formular los programas de selección en el Trópico Alto de Nariño para el ganado holstein, ya que para mejorar la calidad composicional de la leche e incrementar los rendimientos industriales se requiere incluir el rasgo del genotipo para K-Cs en una evaluación genética integral, que incluya junto con otros factores de importancia el incremento de la frecuencia génica del alelo B para Kappa Caseína.

7.2 RECOMENDACIONES

- 7.2.1 Ampliar este estudio, incluyendo un mayor tamaño de muestra y el genotipo molecular de todas las fracciones proteicas de la leche.
- 7.2.2 Divulgar los resultados obtenidos en esta investigación para contribuir a mejorar el ingreso económico por venta de leche con características composicionales superiores, lo que permitiría a los productores acceder al pago de bonificaciones establecidas por este concepto.
- 7.2.3 Fortalecer los programas de proyección social, enfatizando la necesidad de un manejo correcto de la leche desde el hato hasta la planta de procesamiento.
- 7.2.4 Utilizar eficientemente el laboratorio de genética molecular, construido y dotado gracias a la ejecución de los convenios interinstitucionales, con la realización de trabajos de investigación y extensión en las diversas especies de interés Zootécnico.

BIBLIOGRAFÍA

- AKERS, R. M. Lactation physiology: A ruminant animal perspective. [online] 1990. 159:96-111.
- ALAIS, CH. Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera. [online] 1985. Editorial Reverté, Barcelona, España. 873 p.
- ALINAGHIZADEH, R *et al.* *Department of animal genetics and biotechnology, agricultural college.* 2007. ISSN 1028- 8880. p. 4221 – 4294.
- ARANDA, E *et al.* Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and protein supplement. [online] 2001. Livestock Production Science 71:201 – 206.
- ARMENTEROS, Mabelin. Evaluación de un desinfectante mamario post-ordeño de origen natural. [online] 1998. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias. La Habana, Cuba.
- ATHERTON, H y NEWLANDER, J. Chemistry and testing of dairy products, AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut. [online] 1977. Pp. 1 – 33.
- AVILÉS CAMPO SUREÑO. Productores avanzan en la industrialización, Chile. 2004. Disponible en internet <http://www.australtemuco.cl/site/apg/campo/pags/20040320230206.html>
- BARROSO, A; DUNNER, S; CAÑON, J. Technical note: Detection of Bovine Kappa-casein Variants A, B, C y E by Means of Polymerase Chain Reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). [online] 1998. J. Anim. Sci. 76:1535-1538.
- BEEYER D.E *et al.* A review of empirical and mechanistic models of lactational performance by the dairy cow.
- BLACKBURN, D. G. Lactation: Historical patterns and potential for manipulation. 1993. *J Dairy Sci* 76:3195-3212.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. Gerber Method for determination of fat in milk and milk products. [online] 1955. Londres.

- BROTHERSTONE, S y HILL, W. G. Phenotypic and genetic analyses in pedigree type classified herds. Dairy herd life in relation to linear type traits and production. [online] 1991 Anim. Prod. 53:279–287.
- CALVINHO, L. *La mastitis y su impacto en la calidad de la leche*. [online] 1995. [Informe](#) técnico INTA. No. 1:1-14.
- CASADO, P. y GARCIA, J.A. La calidad de la leche y los factores que la influncian. 1985 [online] Industrias Lácteas Españolas, N°81. P 298.
- CHESSA, S *et al.* Development of a Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Microarray Platform for the Identification of Bovine Milk Protein Genetic Polymorphisms. [online] 2007. J. Dairy Sci. 90:451–464.
- COLOMBIA ASOHOLSTEIN. . Disponible en internet www.holstein.com.co.
- COLOMBIA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, resolución número 000012 del 2007 “por la cual se establece el sistema de pago de la leche cruda al productor”. 12 de enero 2007.
- COULON. Polimorfismos genéticos de las proteínas de la leche en ganado vacuno frisón. Relación con los parámetros productivos. Influencia en el RCS y la mamitis. Aplicación a la tecnología de fabricación de queso de nata, “queso de cantabria” [online] 1998. d.o. p. 8. Disponible en inetrnet www.cifacantabria.com
- DAHL, G. E; CHASTAIN, J. P; PETERS, R.R. Manipulation of photoperiod to increase milk production in cattle: biological, economic and practical considerations. [online]1998 Amer. Soc. Agric pp. 259-265.
- DURR, J.W; FONTANELI, R.S; BURCHARD, J.F. Fatores que afetam a composicao do leite. [online] 2000. In: *Curso de sistemas de producao para gado de leite baseado em pastagens sob plantio direto*. Passo Fundo. Anais EMBRAPA.
- EIGEL, W; BUTLER, J; ERNSTROM, C. Nomenclature of Proteins of Cow's Milk. [online] 1984. Journal of Dairy Science, 67 (8): 1599 – 1631.
- FENNEMA, O. Química de los alimentos. [online] 1993. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España. Pp. 889 – 929.

- FERRANDINI, M.E; *et al.* Laencina. Modelos estructurales de la micela de caseína. Departamento de Tecnología de Alimentos Nutrición y Bromatología. 2006. Universidad de Murcia.
- GONZÁLEZ, M. F *et al.* Desarrollo de un modelo para evaluar la factibilidad productiva y económica de la progenie resultante del cruzamiento de vacas holstein friesland con toros de las vacas francesa montbeliarde y normando. [online]. 2004 departamento de ciencias animales facultad de agronomía e ingeniería forestal, pontificia universidad católica de Chile.
- HURLEY, W.L. Lactation biology. University Press, University of Illinois. Urbana Champaign. 2000.
- IMAGAWA, W *et al.* Control of mammary gland development. 1994. The Physiology of Lactation. [online] 1994. 2nd edition. P 1033.
- INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS (ICTA) Guía para producir quesos colombianos. Banco Ganadero. Santafé de Bogotá. 1994. p.27, 31, 32, 49.
- INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI. Disponible en Internet www.igac.gov.co/
- INSTITUTE INC, paquete estadístico SAS. 2007 [software]. Versión 9.13.
- _____, Paquete estadístico SAS Enterprise Guide. 2007 [software]. Versión 4.1.
- _____, paquete estadístico SAS. 2009 [software]. Versión 9.20
- JAKOB, E. y PUHAN, Z. Implications of Genetic Polymorphism of Milk Proteins on Production and Processing of Milk. 1995. Bulletin FIL -IDF. 304. 25.
- KNIGHT, C. H. y WILDE, C. J. Mammary growth during lactation: implications for increasing milk yield. [online] 1987 J. Dairy Sci. Vol 70. p. 1991 – 2000.
- LEHNINGER, A y NELSON, C. Principios de bioquímica. [online] 1995. Editorial Omega. Barcelona, España. Pp. 136 – 147.

- MCLEAN, D. M; GRAHAM H. A. MCKENZIE. Estimation of casein composition by gel electrophoresis. [online] 1982. 21st Int. Dairy Congr. Moscow 1(2): 221.
- MERCIER, J. C y VILOTTE, J. L. Structure and function of milk protein genes. *J.* 1993 [online]. *Dairy Sci.* 76:3079-3098.
- MESINA. Polimorfismos genéticos de las proteínas de la leche en ganado vacuno frisón. Relación con los parámetros productivos. Influencia en el RCS y la mastitis. Aplicación a la tecnología de fabricación de queso de nata, “queso de cantabria” [online] 2000. d.o. p. 8. Disponible en internet www.cifacantabria.com
- NG-KWAI-HANG *et al.* Association of genetic variants of casein and milk serum proteins in milk fat and protein production by dairy cattle. [online]. 1984. *J.Dairy Sci.* 67:835.
- OBSERVATORIO AGROCADENAS. Segundo informe de coyunturas de leche. [online] 2006. Disponible en internet www.agrocaldenas.gov.co.
- ORDAS, J. G. Selection of bovine K-caseins by ADN and PCR (Polymerase Chain Reaction Polymorphisms). [online] 1992. Vol. 32. p. 21-23.
- ORTEGA, J. Sistemas de Producción animal parte I. 2005.
- PÉROCHON, L *et al.* Lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability. [online] 1996. *Anim. Sci.*, 63, 189-200.
- PONCE, P. Estudio de la lactancia en vacas de los cruces 5/8 H – 3/8 C y 3/4 H – 1/4 C en condiciones de Cuba. [online] 1984.
- RAJALA-SCHULTZ, P.J *et al.* Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. [online] 1999. *J. Dairy Sci.* 82:1213-1220.
- RIVERA, J e INSUASTY E. Tecnología de leche. Primera edición. Pasto. 2008.
- SMITH, K.L. El consejo Nacional de Mastitis y el futuro del control de mastitis y la producción de leche de calidad. [online] 1996. Memorias del

Congreso Regional del Consejo Nacional de Mastitis de Estados Unidos de América. Orlando, Colorado.

- [SORIA, L. A](#) et al. Test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. [Anim Biotechnol](#). [online] 2003. 14(1):1-5.
- STRANDBERG E y LUNDBERG C. A. note on the estimation of environmental effects on lactation curves [online] 1991. *Anim. Prod.*, 53, 399-402.
- UNIVERSIDAD DE NARIÑO, Programa de Mejoramiento Genético, Asistido con Marcadores de ADN, Dirigido a la Obtención de un Modelo de Bovino Lechero para el Trópico Alto de Nariño. 2008.
- UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, RODRÍGUEZ. Agencia De Noticias UN Unimedios, la maduración de quesos, un gusto que se toma a Colombia, Edición 109, Ciudad Universitaria - Bogotá D.C.- Colombia. 2008. Periódico disponible en internet <http://unperiodico.unal.edu.co/ediciones/109/quesos.html>
- VILORIA, J. Economía del Departamento de Nariño: ruralidad y aislamiento Geográfico. [online] Banco de la República, Centro de Estudios Económicos Regionales (CEER) - Cartagena Colombia, No 87. [15 de noviembre de 2008]. 2007. Disponible en internet: www.banrep.gov.co. ISSN 1692- 3715.
- WEBB, B; JOHNSON, A; ALFORD, J. Fundamentals of Dairy Chemistry. AVI Publishing Company, Inc. Westport. [online].1980 Connecticut. Pp. 2 – 124.
- WHITE, S.L; BENSON, G.A; WASHBURN, S.P; GREEN, J.T. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows.[online] 2002. *J Dairy Sci* .85(1):95-104.
- WILDE C. J. y Hurley, W. L. Animal models for the study of milk secretion. *J. Mammary Gland Biol.* [online] 1996. Neoplasia 1:123-134.
- WILDE C.J. y HURLEY, W.L. Animal models for the study of milk secretion. *J* [online] 1996. Mammary Gland Biol. Neoplasia 1:123-134.