UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médica Veterinaria

Autora: Ramos Sanchez Evelyn Johanna

Tutor: Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Co-Tutor: Manuel García Herreros

Latacunga – Ecuador

Agosto-2026

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Ramos Sanchez Evelyn Johanna, con cédula de ciudadanía No. 0503630782, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación: **"EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"**, siendo el Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, PhD, Tutor del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 07 de Agosto del 2026

Ramos Sanchez Evelyn Johanna
C.C: 0503630782
ESTUDIANTE

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **RAMOS SANCHEZ EVELYN JOHANNA**, identificada con cédula de ciudadanía **0503630782** de estado civil casada, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **"EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2022 - Agosto 2022

Finalización de la carrera: Abril 2026 – Agosto 2026

Tutor: Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, PhD

Tema: **"EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"**

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
b) La publicación del trabajo de grado.
c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como

de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, Latacunga, 07 de Agosto del 2026

Evelyn Johanna Ramos Sanchez	Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.
LA CEDENTE	**LA CESIONARIA**

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

"**EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO**", de Ramos Sanchez Evelyn Johanna, de la carrera de Medicina veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre-defensa.

Latacunga, 07 de Agosto del 2026

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, PhD
C.C: 0502236623

DOCENTE TUTOR

AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Ramos Sanchez Evelyn Johanna, con el título del Proyecto de Investigación: **"EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEÍNA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 07 de Agosto del 2026

DMV. Edilberto Chacón Marcheco, Ph.D
C.C: 1756985691
LECTOR 1 (PRESIDENTE)

Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrin, Ph.D.
C.C: 0501097224
LECTOR 2 (MIEMBRO)

Dr. Luis Alonso Chicaiza Sánchez Mg.
CC: 0501308316
LECTOR 3 (MIEMBRO)

AGRADECIMIENTO

Sin su apoyo, confianza y compañía a lo largo de este camino, no habría sido posible llegar hasta aquí. Este logro también es parte de ustedes.

A mi esposo, ***Adrián****, por acompañarme, guiarme y sostenerme en cada paso de este camino. Gracias por creer en mí incluso en los momentos en los que yo misma dudaba, por tu paciencia, tus palabras de aliento y por estar siempre dispuesto a ayudarme. Tu fé en mí fue todo lo que necesite para seguir cada día.*

A mis ***padres, Patricia y William,*** *gracias por cada sacrificio, por cada palabra de ánimo, por su paciencia y por estar presentes en cada momento, incluso cuando las circunstancias hicieron difícil el camino.*

A mi ***hermana, Pamela****, por estar siempre dispuesta a ayudarme, por su cariño y por acompañarme en los momentos buenos y difíciles. Gracias por ser parte de este proceso y por recordarme que siempre puedo contar contigo.*

A mis ***suegros, Mercedes y Raúl****, por estar presentes en cada paso de este camino, por su cariño, preocupación y apoyo constante. Gracias por estar siempre pendientes de nosotros y por procurar que nunca nos faltara nada.*

A los ***amigos que hice durante este camino****, gracias por las risas, las enseñanzas, los consejos y por todos aquellos momentos que hicieron que los días en las aulas fueran más llevaderos. En especial a* ***Gaby, Karolin, Tefy, Bryan y Diego,*** *todos nuestros momentos son ahora recuerdos que quedarán guardados en mi corazón.*

*A mi tutor, el **Dr. Miguel Gutiérrez**, por compartir generosamente sus conocimientos y experiencia durante este proceso. Su preparación, dedicación y la manera en que transmite sus conocimientos son cualidades que admiro profundamente y que espero algún día poder alcanzar en mi vida profesional.*

*Expreso mi más profundo agradecimiento a **la Universidad Técnica de Cotopaxi** por el financiamiento otorgado a través del proyecto generativo DIRGI-CP2021-005. Y a la Corporación Ecuatoriana para el Desarrollo de la Investigación y la Academia (CEDIA) a través del proyecto I+D+I-XVIII-2023-09-Clonación bovina mediante su programa de fomento a la investigación; instituciones que hicieron posible la ejecución de la presente investigación.*

Evelyn Johanna Ramos Sanchez

DEDICATORIA

A la personita que no esperaba que me acompañara en los últimos momentos de mi vida universitaria, a mi hijo ***Facundo Joaquín****. Aunque eres muy pequeño para recordar estos momentos, tu compañía me brinda las fuerzas necesarias para culminar esta etapa. Gracias por llegar a mi vida e iluminarla cada día, por convertirte en mi mayor motivación y en una razón más para seguir adelante. Espero que algún día, cuando seas grande, puedas saber que mientras yo cumplía uno de mis sueños, tú ya eras parte de él.* ***Todo esto es por ti.***

Evelyn Johanna Ramos Sanchez

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: "EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEINA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"

Autora:
Evelyn Johanna Ramos Sanchez

RESUMEN

La beta-caseína, codificada por el gen CSN2, es una de las principales proteínas de la leche en el ganado bovino y presenta variantes genéticas importantes, en particular A1 y A2, cuya influencia en los rasgos de producción lechera aún se encuentra en investigación. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto del genotipo A1/A2 de la β-caseína en la producción de grasa láctea en vacas Holstein mediante análisis genómico para generar evidencia científica aplicable a los programas de mejoramiento genético de ganado lechero. Se realizó un estudio cuantitativo, observacional y longitudinal con 54 vacas Holstein de primera lactancia. La genotipificación se llevó a cabo con el Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array, que permitió la identificación de los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2. El porcentaje de grasa láctea se determinó mediante espectroscopia de infrarrojo medio. Las frecuencias genotípicas y el porcentaje de grasa láctea se analizaron mediante estadística descriptiva, análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y la prueba post hoc de Tukey ($p < 0,05$). El genotipo A2A2 fue el más prevalente (44,44%), seguido de A1A2 (40,74%) y A1A1 (14,81%). Si bien las vacas portadoras del genotipo A2A2 mostraron el mayor porcentaje medio de grasa láctea (3,40%), seguidas de A1A2 (3,39%) y A1A1 (3,32%), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos ($p = 0,068$). Estos hallazgos indican que, en la población evaluada, el polimorfismo CSN2 A1/A2 no influye significativamente en el porcentaje de grasa láctea. No obstante, la caracterización genómica proporciona información valiosa para la selección asistida por marcadores y contribuye a la implementación de estrategias de mejoramiento genético genómico dirigidas a mejorar la productividad y la calidad de la leche en el ganado lechero.

Palabras clave: β-caseína, CSN2, genotipo A1/A2, grasa láctea, análisis genómico, ganado Holstein.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

THEME: "EFFECT OF THE BETA-CASEIN A1 AND A2 DETERMINANT GENOTYPE ON MILK FAT PRODUCTION IN CATTLE"

Author:

Evelyn Johanna Ramos Sanchez

ABSTRACT

Beta-casein, encoded by the CSN2 gene, is one of the major milk proteins in cattle and exhibits significant genetic variants, particularly A1 and A2, whose influence on milk production traits is still under investigation. The objective of this study was to determine the effect of the A1/A2 β-casein genotype on milk fat production in Holstein cows using genomic analysis to generate scientific evidence applicable to dairy cattle breeding programs. A quantitative, observational, and longitudinal study was conducted with 54 first-lactation Holstein cows. Genotyping was performed using the Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array, which allowed for the identification of the A1A1, A1A2, and A2A2 genotypes. Milk fat percentage was determined using mid-infrared spectroscopy. Genotype frequencies and milk fat percentage were analyzed using descriptive statistics, one-way analysis of variance (ANOVA), and Tukey's post hoc test ($p < 0.05$). The A2A2 genotype was the most prevalent (44.44%), followed by A1A2 (40.74%) and A1A1 (14.81%). Although cows carrying the A2A2 genotype had the highest mean milk fat percentage (3.40%), followed by A1A2 (3.39%) and A1A1 (3.32%), no statistically significant differences were detected among the genotypes ($p = 0.068$). These findings indicate that, in the evaluated population, the CSN2 A1/A2 polymorphism does not significantly influence milk fat percentage. However, genomic characterization provides valuable information for marker-assisted selection and contributes to the implementation of genomic breeding strategies aimed at improving milk productivity and quality in dairy cattle.

KEYWORDS: β-casein, CSN2, A1/A2 genotype, Milk fat, Genomic analysis, Holstein cattle.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA i

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR ii

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN v

AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN vi

AGRADECIMIENTO vii

DEDICATORIA ix

RESUMEN x

1. INFORMACIÓN GENERAL 1

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO 2

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO 3

3.1. Beneficios directos 3

3.1.1. Beneficios tecnológicos 3

3.1.2. Beneficios productivos 3

3.1.3. Beneficios para pequeños, medianos y grandes productores 4

3.2. Beneficios indirectos 4

3.2.1. Impacto en la cadena de valor y el consumo humano 4

3.2.2. Impacto en la sostenibilidad y políticas sectoriales 4

3.2.3. Impacto científico y académico 5

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 5

5. OBJETIVOS 6

5.1 Objetivo general 6

5.2 Objetivos específicos 6

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS 7

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA 8
7.1 Leche 8
7.1.1 Composición química de la leche 8
7.1.2 Agua 8
7.1.3 Grasa 9
7.1.4 Carbohidratos 10
7.1.5 Proteínas 10
7.1.6 Fracción mineral 11
7.1.7 Vitaminas 11
7.2 Genética de la proteína de la leche 11
7.3 β-caseína 12
7.4 Genética de la β-caseína 12
7.4.1 Gen CSN2 12
7.5 Historia de la β-caseína A1 yA2 12
7.6 Alelos A1 y A2 13
7.7. Ganadería en Ecuador 14
7.8. Historia de la raza Holstein en Ecuador 15
7.9. Características de la raza Holstein 15
7.10 Síntesis de la grasa láctea 16
7.11. Genes relacionados con la síntesis de grasa láctea 17
7.12 Importancia de la grasa láctea en la industria 17
7.13 Factores que afectan la calidad de la grasa láctea 17
7.14 Consumo de leche 18
7.15 Digestión de la leche 19
7.16 Salud humana 20
7.16.1 Intolerancia a la lactosa 20

7.16.2 Enfermedades crónicas o trastornos neuropsiquiátricos 21
7.16.3 Diabetes tipo 1 21
7.17. Análisis genómicos en ganado bovino 21
7.17.1. DNeasy Blood & Tussue Kit 22
7.17.2. Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array 22
7.18. Análisis de la composición de la leche mediante espectroscopía de infrarrojo medio 23
8. VALIDACION DE LA HIPÓTESIS 24
8.1. Hipótesis de investigación 24
8.2. Validación 24
9. METODOLOGÍA 24
9.1 Enfoque de investigación y diseño del estudio 24
9.2 Área y período de estudio 25
9.3 Población de estudio y muestra 25
9.3.1 Consideraciones sobre el tamaño de la muestra 26
9.4 Variables del estudio 27
9.4.1 Variable independiente 27
9.4.2 Variables dependientes 27
9.4.3 Covariables y posibles factores de confusión 28
9.5 Recolección de muestras biológicas 28
9.5.1 Recolección de muestras para análisis genómico 28
9.5.2 Muestreo de leche 29
9.6 Determinación de la grasa láctea 29
9.7 Extracción de ADN y control de calidad 30
9.8 Genotipado del locus CSN2 A1/A2 30
9.8.1 Análisis genómico 30
9.9 Construcción de la base de datos y control de calidad 31

9.10 Análisis genético poblacional 32
9.11. Análisis estadísticos 32
10.ANÁLISIS Y DICUSIÓN DE LOS RESULTADOS 33
10.1 Resultados 33
10.2 Discusión 36
10.2.1 Distribución de los genotipos CSN2 A1/A2 en la población estudiada 36
10.2.2. Asociación entre el genotipo CSN2 y el porcentaje de grasa láctea 37
10.2.3 Interpretación biológica de las diferencias no significativas 38
10.2.4. Comparación con estudios de producción previos 39
10.2.5 Influencia de factores ambientales y fisiológicos 40
10.2.6. Implicaciones para la calidad de la leche y la funcionalidad tecnológica 41
10.2.7. Interpretación integrada 42
11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS) 42
12. PPRESUPUESTO DEL PROYECTO 43
13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 43
13.1 Conclusiones 43
13.2. Recomendaciones 44
14. BIBLIOGRAFÍAS 44
15. ANEXOS 1

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Componentes de la grasa 9
Tabla 2 Frecuencia de los alelos A1 y A2 en diferentes razas bovinas. 14
Tabla 3 Distribución y efecto del genotipo CSN2 A1/A2 sobre el porcentaje medio de grasa en leche 34
Tabla 4 Presupuesto 43
Tabla 5 Distribución y descubrimiento de las variantes genéticas de las caseínas presentes en bovinos .....

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Distribución de los genotipos CSN2 A1/A2 35
Figura 2 Interpretación genética de los genotipos CSN2 A1/A2 36

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Efecto del genotipo determinante beta-caseína A1 Y A2 en la producción de grasa en la leche en ganado bovino

Fecha de inicio:

Noviembre 2025

Fecha de finalización:

Julio 2026

Lugar de ejecución:

Cotopaxi – Ecuador

Facultad que auspicia:

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales F-CAREN / Carrera Medicina Veterinaria

Carrera que auspicia:

Medicina veterinaria

Equipo de trabajo:

Estudiante: Evelyn Johanna Ramos Sanchez

Tutor: Ph.D. Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel

Área de Conocimiento:

Agricultura. Subárea: veterinaria

Línea de investigación:

Producción y biotecnología animal

Línea de vinculación de la carrera:

Desarrollo de nuevos protocolos de superestimulación / superovulación para la producción de embriones bovinos de leche y carne mediante el uso de BSCRFSH-Recombinante para transferencia de embriones congelados obtenidos por tecnología in vivo e in vitro.

Sublínea de investigación de la Carrera:

Biodiversidad, mejora y conservación de recursos zoogenéticos.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La producción de grasa en la leche constituye un componente clave de la calidad composicional y del valor económico de los productos lácteos, especialmente en sistemas productivos orientados a la transformación industrial y a la diferenciación de mercados (1). En este contexto, la identificación de factores genéticos que influyen en la variabilidad de este rasgo resultará fundamental para optimizar los programas de mejora genética bovina.

El gen de la β-caseína (CSN2), específicamente sus variantes A1 y A2, ha sido reconocido como un marcador genético de interés tanto por su relación con características tecnológicas de la leche como por su impacto potencial en el consumo humano (2). Sin embargo, la evidencia científica disponible sobre el efecto directo de estos genotipos en la producción de grasa en la leche continúa siendo limitada.

La utilización de herramientas de análisis genómico permitirá caracterizar de manera precisa los genotipos de β-caseína en poblaciones bovinas, generando información objetiva y reproducible para la toma de decisiones en programas de selección genética. Esta caracterización contribuirá a fortalecer el enfoque de selección asistida por marcadores, reduciendo la dependencia exclusiva de registros fenotípicos y mejorando la eficiencia de los procesos de mejora genética (3).

Desde el punto de vista productivo, los resultados del estudio aportarán información relevante para pequeños, medianos y grandes productores, quienes podrán optimizar la composición genética de sus hatos en función de la producción de grasa en la leche, incrementando la competitividad y el valor agregado de su producción. Asimismo, la diferenciación genética de los animales favorecerá el desarrollo de sistemas productivos más especializados y orientados a mercados con mayores exigencias de calidad (4).

Adicionalmente, la caracterización de animales portadores del genotipo A2A2 tendrá implicaciones relevantes para el consumo humano, considerando la creciente demanda de productos lácteos diferenciados y respaldados por evidencia científica (5). La generación de información confiable sobre la frecuencia y el impacto de estos genotipos permitirá fortalecer la trazabilidad y la confianza del consumidor, promoviendo una producción láctea más transparente y alineada con las tendencias actuales de nutrición y salud.

En conjunto, este proyecto se justificará por su contribución al avance del conocimiento científico en genética bovina, por su aplicación directa en la mejora de la productividad y calidad de la leche, y por su potencial impacto en la sostenibilidad y modernización del sector ganadero.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Beneficios directos

3.1.1. Beneficios tecnológicos

El proyecto permitirá la incorporación de herramientas de análisis genómico de alta precisión en los sistemas productivos bovinos, fortaleciendo la adopción de tecnologías modernas para la caracterización genética del ganado. La identificación de los genotipos de β-caseína A1 y A2 facilitará la implementación de estrategias de selección genética basadas en información molecular confiable, mejorando la toma de decisiones técnicas en programas de mejoramiento genético.

Asimismo, la generación de una base de datos genotípica contribuirá al desarrollo de capacidades locales en biotecnología y genética aplicada, promoviendo la transferencia de conocimiento y el uso de tecnologías de punta en el sector ganadero.

El autor de esta investigación también es beneficiario directo del proyecto. Como estudiante de Medicina Veterinaria, el desarrollo de este estudio le permitirá fortalecer sus competencias académicas, científicas y profesionales en genética bovina y producción láctea, además de cumplir con uno de los requisitos académicos para la obtención de su título de tercer nivel como Médico Veterinario.

3.1.2. Beneficios productivos

La caracterización de los animales según su genotipo de β-caseína permitirá identificar individuos con potencial favorable para la producción de grasa en la leche, optimizando la eficiencia

productiva de los sistemas lecheros. Esta información apoyará la planificación de programas de reproducción y selección orientados a mejorar la calidad composicional de la leche, sin comprometer la adaptabilidad de los animales a condiciones ambientales distintas.

El uso estratégico de esta información genética favorecerá una producción más diferenciada y orientada a nichos de mercado con mayores exigencias de calidad.

3.1.3. Beneficios para pequeños, medianos y grandes productores

Para los pequeños productores, el proyecto ofrecerá una herramienta objetiva para mejorar gradualmente la calidad de su hato, permitiéndoles acceder a programas de selección genética con base científica y aumentar el valor de su producción lechera.

En el caso de los medianos productores, la información generada servirá para fortalecer la eficiencia productiva y la competitividad, facilitando la diferenciación de la leche según su perfil genético y composicional.

Para los grandes productores, la caracterización genómica posibilitará la implementación de esquemas avanzados de selección y manejo genético, orientados a la producción de leche con características específicas, mejorando la rentabilidad y el posicionamiento en mercados especializados.

3.2. Beneficios indirectos

3.2.1. Impacto en la cadena de valor y el consumo humano

La identificación y caracterización de animales portadores de los genotipos A1 y A2 de β-caseína contribuirá a generar información científica relevante sobre la calidad de la leche destinada al consumo humano. En particular, la diferenciación de la leche según su genotipo permitirá responder a una demanda creciente de productos lácteos con atributos específicos, asociados a una mejor digestibilidad y aceptación por parte de determinados segmentos de consumidores.

Este conocimiento favorecerá el desarrollo de productos lácteos diferenciados, fortaleciendo la confianza del consumidor mediante información trazable y respaldada científicamente.

3.2.2. Impacto en la sostenibilidad y políticas sectoriales

Los resultados del proyecto podrán ser utilizados como base para el diseño de políticas de fomento productivo orientadas a la mejora genética y la calidad de la leche. La aplicación de estrategias de

selección basadas en genotipos favorables contribuirá a una ganadería más eficiente, sostenible y alineada con las tendencias actuales de producción responsable.

3.2.3. Impacto científico y académico

El proyecto generará evidencia científica ampliando el conocimiento sobre la relación entre los genotipos de β-caseína y la producción de grasa en la leche. Esta información fortalecerá futuras investigaciones en genética bovina, mejora genética y nutrición humana, consolidando el uso de la genómica como herramienta clave para el desarrollo del sector ganadero.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La grasa láctea es uno de los principales componentes que determinan la calidad compositiva y el valor económico de la leche bovina, especialmente en sistemas de producción orientados al procesamiento industrial y la elaboración de productos lácteos (1). Su concentración y composición presentan una variabilidad considerable y están determinadas por la interacción de factores genéticos, fisiológicos, nutricionales y ambientales.

Entre los factores genéticos de interés se encuentra el gen CSN2, que codifica la β-caseína. Sus variantes A1 y A2 se han estudiado debido a su relación con ciertas características compositivas y tecnológicas de la leche (2). Sin embargo, la evidencia científica disponible sobre la asociación específica entre estos genotipos y el contenido de grasa láctea sigue siendo limitada, ya que la síntesis de grasa láctea es un rasgo complejo y poligénico influenciado por múltiples factores biológicos y productivos (1).

Desde una perspectiva productiva, la limitada disponibilidad de información genómica aplicada puede restringir la incorporación adecuada de marcadores moleculares en los programas de selección y mejora genética bovina. Por lo tanto, las decisiones reproductivas no deben basarse exclusivamente en un solo marcador genético, sino que también deben considerar el mérito genómico y los principales rasgos productivos de los animales (6).

Además, el creciente interés en productos lácteos diferenciados asociados a la β-caseína A2 ha incrementado la demanda de animales portadores del genotipo A2A2. Sin embargo, las posibles diferencias relacionadas con estas variantes deben interpretarse con cautela y estar respaldadas por evidencia científica, evitando atribuir beneficios productivos o para la salud al genotipo A2A2 que

no se hayan demostrado suficientemente (5). La falta de estudios que integren la identificación de estos genotipos con parámetros productivos específicos, como la producción de grasa, generará incertidumbre tanto en el sector productivo como en el consumidor final.

En este contexto, resulta relevante evaluar la asociación entre los genotipos A1/A2 de la β-caseína del gen CSN2 y el porcentaje de grasa en la leche de vacas Holstein de primera lactancia mantenidas en condiciones de producción en la provincia de Cotopaxi. La información obtenida ayudará a determinar si existen diferencias en el contenido de grasa en la leche entre los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2, y contribuirá a establecer con mayor precisión la utilidad del locus CSN2 como herramienta complementaria en los programas de mejora genética bovina, optimizar la calidad de la leche y responder a las demandas actuales del mercado y del consumo humano (1) (2) (6).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la asociación entre los genotipos de β-caseína A1 y A2 sobre la producción de grasa en la leche de ganado bovino, a partir del análisis genómico, con el fin de generar evidencia científica aplicable a programas de mejora genética lechera.

5.2 Objetivos específicos

- Identificar los genotipos de β-caseína A1 y A2 presentes en la población bovina en estudio, mediante técnicas de análisis genómico, y describir su distribución en relación con la producción de grasa en la leche.
- Comparar la producción de grasa en la leche entre animales portadores de los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2 de β-caseína, con el fin de establecer su influencia sobre este componente productivo

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

OBJETIVO 1	ACTIVIDAD	METODOLOGÍA	RESULTADOS
Identificar los genotipos de β-caseína A1 y A2 presentes en la población bovina en estudio, mediante técnicas de análisis genómico, y describir su distribución en relación con la producción de grasa en la leche.	Analizar el genoma de la población bovina seleccionada.	Extracción de ADN genómico a partir de folículos pilosos de la cola o la región auricular de los animales, 60 folículos por individuo, utilizando un kit de extracción comercial validado DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania). El anáalisis genómico se utilizó Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array	Conocimiento de la distribución de los genotipos CSN2 A1A1, A1A2 y A2A2 en la población analizada de vacas Holstein.
OBJETIVO 2	**ACTIVIDAD**	**METODOLOGÍA**	**RESULTADOS**
Comparar la producción de grasa en la leche entre animales portadores de los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2 de β-caseína, con el fin de establecer su influencia sobre este	Correlacionar entre variantes datos genómicos y productivos.	Recolección de muestras de leche para analizar mediante analizador de lácteos MilkoScan™ FT1, fabricado por FOSS Analytical A/S, Hillerød, Dinamarca	Correlación entre el genotipo CSN2 A1A1, A1A2 y A2A2 y la cantidad de grasa presente en la leche.

componente productivo			

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Leche

El Codex Alimentarius la define como la secreción fisiológica normal de la glándula mamaria de los animales mamíferos lactantes, se obtiene mediante procesos de ordeño, su composición no debe ser modificada, se destina para el consumo directo o de sus derivados (7).

Por otro lado, la leche constituye un líquido biológico cuya composición cambia dinámicamente durante el periodo de lactancia y también a través del transcurso del día. Dichos cambios facilitan cumplir de forma las demandas nutricionales y fisiológicas propias de la cría en cada fase de su crecimiento (8)

7.1.1 Composición química de la leche

El ganado vacuno en el principal productor de leche para el consumo humano, sus componentes la convierten en un alimento básico, completo y equilibrado, contribuye con un alto aporte energético, proteína de alta calidad, minerales y vitaminas. No obstante, su composición no siempre es constante, debido a que experimenta cambios continuos, algunas de las causas más comunes son la genética, la alimentación del animal, el estado del ciclo de lactancia, las lactancias acumuladas y el estado fisiológico (9).

7.1.2 Agua

Dependiendo de la especie de mamífero esta puede variar entre el 36 al 90,5%, pero suele representar generalmente el 87% del contenido total de la leche. El agua en la leche permite que sea posible la distribución de componentes de manera relativa y uniforme, de tal manera que cualquier cantidad de leche contenga la misma cantidad de nutrientes (10).

7.1.3 Grasa

Es un nutriente complejo constituido esencialmente por lípidos saponsables (99%) con una minoría de fracciones insaponisables (1%) (11). Es el componente que presenta más variación entre el 3,4 y 5,1% (10), se considera que esta presente alrededor de 33g de lípidos totales/l (12).

Esta se presenta en forma de glóbulos esféricos, visibles al microscópico óptico, su tamaño varía entre 0,1 a 20 μ diámetro en forma de emulsión, el tamaño varía según la especie animal, se debe tomar en cuenta que al inicio de la lactancia estos son grandes pero disminuyen según esta avanza, se encuentra formada en su mayoría por triacilglicéridos y en menor medida por diacilglicéridos, monoacilglicérido, fosfolípidos, ácidos grasos libres, esteroles y sus ésteres y algunos hidrocarburos (13,14). Los distintos componentes de la grasa se pueden observar en a Tabla 1.

Componente lipídico	Porcentaje del total de lípidos (%)	Concentración (g/L)
Triacilglicéridos	96–98	31,00
Diacilglicéridos	2,10	0,72
Monoacilglicéridos	0,08	0,03
Fosfolípidos	1,10	0,35
Ácidos grasos libres	0,20	0,08
Colesterol	0,45	0,15
Hidrocarburos	Rastros	Rastros
Ésteres de esteroles	Rastros	Rastros

Tabla 1. Componentes de la grasa

Fuente: Adaptado del libro Química de los alimentos (14)

La grasa de la leche contiene varios nutrientes esenciales para los seres humanos, como vitaminas liposolubles, compuestos energéticos y sustancias bioactivas (15).

Se han determinado más de 400 ácidos grasos diferentes en la leche, presentes en su mayoría en cantidades menores a 1%; estos dependen considerablemente de la alimentación y el rendimiento de la leche del animal, la constitución genética y la raza del animal, al igual que la etapa de lactancia. Los ácidos grasos saturados se presentan en un 68,8%, donde los más abundantes son los ácidos grasos mirísticos, plamítico y esterárico. Los ácidos grasos monoinsaturados se presentan en 27,3% aproximadamente, en este grupo el ácido oleico se encuentra en cantidades significativas. Por último, los compuestos poliinsaturados forman el 3,97%, particularmente el ácido linoleico, el ácido α-linoléico, el EPA y el DHA (11).

7.1.4 Carbohidratos

La lactosa es un disacárido exclusivo de la leche (específicamente βgalactopiranosil-(1,4)-d – glucopiranosa), representa el 4,70% de la leche (11,16), siendo esta el principal carbohidrato, está encargado del equilibrio osmótico entre la sangre y el lumen alveolar de la glándula mamaria. Es el sólido fundamental de la leche bovina, su síntesis y concentración en la leche está condicionada principalmente por la salud de la ubre, el balance energético y el metabolismo de la vaca. Adicionalmente, la lactosa forma parte esencial del valor energético de la leche, siendo un ingrediente importante para las industrias alimentarias y farmacéuticas (17). Igualmente, en pequeñas cantidades, de menos de 100 mg/L, se encuentran otros azúcares como glucosa y galactosa, glicoproteínas y glicolípidos en fracción lúcida de la leche (11).

7.1.5 Proteínas

La leche de vaca contiene proteínas que pueden dividirse en dos grupos: las caseínas, que representan el 80% del contenido total proteico y las proteínas del suero que representan el 20%, su composición depende de varios factores genéticos y no genéticos, que incluyen la raza del ganado, el rebaño y la etapa de lactancia (18).

Las caseínas se clasifican como fosfoproteínas que se caracterizan en 4 isoformas: alfa S1-caseína, alfa S2-caseína, beta-caseína y kkappa-caseína (19). Estas caseínas se forman a partir de agregados moleculares de proteínas de diversos tamaños, llamados micelas (20). Diversos estudios han demostrado que todos los genes que codifican la caseína en el ganado bovino son en su totalidad polimorfismos (21), siendo esto resultado de la presencia de SPN, inserciones o deleciones de nucleóticos, así también como modificaciones post traducción (2).

Las proteínas del suero, también conocidas como seroproteínas, son proteínas solubles que se clasifican en albúmunas y globulinas, mismas que son α-lactoalbúminas, β-lactoglobulinas, inmunoglobulinas, proteasas-peptonas y diversos compuestos nitrogenádos minoritarios no específicos (10).

7.1.6 Fracción mineral

Esta fracción representa aproximadamente el 1% de la leche, está presente disuelta en estado coloidal, formando asociaciones con las caseínas. Dentro de los minerales que contiene son el calcio es el más representativo, en concentraciones de 1,244 mg/100 ml de leche. Adicionalmente, se encuentra el fósforo, el zinc, el sodio el potasio, el yodo, el selenio, y el cromo. A pesar de ello, la leche es deficiente en hierro. (11).

7.1.7 Vitaminas

Se compone por vitaminas lipofílicas que son A, D, E y K, e hidrofílicas B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12 y C. Esta fracción se ve influenciada por la cantidad de grasa láctea, alimentación de animal y la estación del año (11).

7.2 Genética de la proteína de la leche

Analizar la variación de la genética de la proteína de la leche es útil para el estudio de los recursos animales y los genes de la proteína, además sirve para caracterizar especies y razas de mamíferos domesticados (22).

La proteína del suero α-LA y β-LG son codificada por la *LLA* y *LGB,* los cuales se ubican en el cromosoma 5, en ese orden; mientras que las proteínas que forman parte de las caseínas αS1-CN, αS2-CN, β-CN y κ-CN están codificadas por 4 genes ligados estrechamente en un grupo de 250 kb mapeado en el cromosoma 6, estos son CSN1S1, CSN1S2, CSN2 Y CSN3, respectivamente, conocidos como el locus CN o superlocus. Estos 6 genes estructurales están sujetos a variaciones genéticas que llegan a modificar la estructura de aminoácidos de la proteína específica, lo que puede llegar a generar diferencias en los puntos isoeléctricos y las cargas eléctricas de las variaciones genéticas. Afectando de esta manera la función de las proteínas, la composición y la calidad de la leche (22,23).

7.3 β-caseína

Es una proteína de 209 aa, con 4 ó 5 grupos fosfatos adheridos a sus estructuras (24). Las proteínas beta-caseína constituye el 45% de las caseínas totales (25), y aproximadamente el 30% de la proteína total de la leche, estas se presentan en dos variantes genéticas principales: A1 y A2, las cuales pueden llegar a considerarse familias. La beta- caseína A2 se considera la variante original, ya que existía antes de que ocurriera la mutación puntual en la posición 67 de la cadena de aminoácidos, donde la prolina fue sustituida por histidina (26).

7.4 Genética de la β-caseína

La primera secuencia completa del gen de la β-caseína se publica por primera vez en 1998 por Bonsing et al. (27) Actualmente, se conoce que el gen está formado por 9 exones y 8 intrones tiene una longitud total de 10,338 pb, siendo el gen más polimorfo de las caseínas bovinas, donde la mayoría de las mutaciones se encuentran en el exón 7.

Se conoce hasta el momento 15 variantes genéticas de regiones codificantes, que se nombran según el orden de descubrimiento, siendo estas A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I, J, K, L, se suman además 2 variantes reportadas que son A4 y B2, a los cuales aún no se les reconoce sustituciones de nucleótidos. Existe una variante adicional A5 con sustitución de nucleótidos encontrada en el intrión del gen que no tuvo implicación en la estructura de la proteína (27). En la Tabla 5 se puede observar distribución y descubrimiento de las variantes genéticas de las caseínas presentes en diferentes razas bovinas.

7.4.1 Gen CSN2

El gen CSN2 forma parte del clúster de los genes de la caseína que se localiza en el comosoma 6, es el encargado de codificar la β-caseína (28), presenta una longitud de 8,5 kb aproximadamente, está constituido por nueve exones y ocho intriones, es uno de los genes que presenta más polimorfismos, cuya mayor variación genética se encuentra en el exón 7, esta región concentra mutaciones que son investigadas y sirven en los programas de mejoramiento genético, dado que tiene influencia sobre la estructura de la β-caseína (27).

7.5 Historia de la β-caseína A1 yA2

Como se mencionó anteriormente la beta-caseína A2 se considera la variante original, se cree que la aparición de la beta-caseína A1 surgió en algunos rebaños de Europa hace unos 5000 – 10 000

años (26), debido a la mutación de un solo nucleótido, de esta manera algunos animales adquirieron el alelo A1, esta hipótesis se plantea principalmente en las especies pertenecientes género Bos. De igual forma, se ha formulado que la selección orientada a la alta producción incrementó de manera involuntaria la prevalencia del alelo A1 en las razas lecheras *Bos taurus* en Europa hace miles de años, al contrario, el ganado *Bos indicus* presenta mucha más frecuencia el alelo A2 debido a que habría evolucionado de manera más natural (29).

Kamiński et al., concluye que el alelo A1 de la beta-caseína apareció en la evolución de la familia Bovidae después de que Bos primigenius se separara en los linajes Bos taurus y Bos indicus (29).

7.6 Alelos A1 y A2

El estado A1/A2 de una vaca está determinado por un par de genes en el sexto cromosoma. Existen dos alelos principales, o variantes, del gen. Estos se denominan alelos de beta-caseína A1 y A2. Debido a que una vaca porta dos copias del gen de la beta-caseína, puede portar dos copias del alelo A2, o una copia de cada uno de los alelos A1 y A2, o dos copias del alelo A1. Los tres estados se denominan homocigota A2A2, heterocigota A1A2 u homocigota A1A1. Ninguno de los alelos es dominante sobre el otro. En cambio, son co-dominantes, es decir, aditivos en su efecto. Por lo tanto, una vaca A1A2 producirá beta-caseína A1 y A2 en cantidades iguales. Una vaca A2A2 solo producirá beta-caseína A2 y una vaca A1A1 solo producirá beta-caseína A1 (30).

La diferencia genética entre los alelos A1 y A2 de β-CN es el resultado del polimorfismo de un solo codón en el gen β-CN, donde la citosina es reemplazada por adenina, lo que resulta en un cambio en la secuencia de proteínas de prolina en la posición 67 (Pro ^{67}) a histidina (His ^{67}) (19).

Las razas Guernsey y Fleckvieh se consideran generalmente con una frecuencia alélica A2 particularmente alta (26), además es más común en las razas Simmental y Pardo Suizo que en Holstein (35).

En la Tabla 3 se puede observar la frecuencia de los alelos A1 y A2 en diferentes razas bovinas, lo que nos brinda una perspectiva sobre la variación genética.

Raza / población estudiada	País o población	n	Alelo A1	Alelo A2	Fuente
Holstein Friesian	Ecuador	701	37,2%	62,8%	Cartuche-Macas et al.
Brown Swiss / Pardo Suizo	Ecuador	230	35,7%	64,3%	Cartuche-Macas et al.
Jersey	Ecuador	86	27,3%	72,7%	Cartuche-Macas et al.
Gyr	Ecuador	258	14,5%	85,5%	Cartuche-Macas et al.
Charolais	Ucrania	29	9,0%	91,0%	Kulibaba et al.
Simmental	Irán	—	51,57%	48,43%	Gholami et al.
Holstein	Irán	—	50,0%	50,0%	Gholami et al.
Brahman	Colombia, Putumayo	180	7,78%	92,22%	Reinaldo et al
Girolando	Colombia, Putumayo	240	18,95%	81,05%	Reinaldo et al
Gyr	Colombia, Putumayo	133	16,54%	83,46%	Reinaldo et al.

Tabla 2. Frecuencia de los alelos A1 y A2 en diferentes razas bovinas.

Fuente: Elaboración propia a partir de datos reportados por Cartuche-Macas et al. (31), Kulibaba et al. (32), Gholami et al. (33) y Reinaldo et al. (34).

7.7. Ganadería en Ecuador

En el país, la industria láctea es una de las principales actividades de la ganadería, misma que se encuentra encaminada hacia un enfoque de optimizar la producción en busca de una calidad óptima,

que genere un valor agregado, de esta manera, se genera un ingreso más alto para el productor al mejorar la calidad de la leche (36).

7.8. Historia de la raza Holstein en Ecuador

A inicios del siglo XX, el crecimiento de las ciudades crea la necesidad de obtener ganado especializado en producción lechera. Se registra de manera oficial que en 1902 ingresan al país los primeros 4 toros Holstein, que fueron comprados a la Carnation en EEUU., de estos 2 mueren en el camino y dos llegan a Quito. Posteriormente, se fue incrementando el interés por obtener ejemplares puros de esta raza, los cuales eran traídos de diferentes países. La crianza de la raza se estableció en la Sierra, debido a su alta productividad lechera (37).

En 1941, se funda la Asociación Holstein Friesen del Ecuador, de la cual profesionales y ganaderos se formaban en el extranjero y dictaban cursos de manejo del ganado con la finalidad de elevar la producción (37).

7.9. Características de la raza Holstein

La raza Holstein-Friesian se desarrolló en las provincias de Holanda Septentrional (Noord-Holland) y Frisia (Friesland) en los Países Bajos, y durante siglos ha sido pasada por distintos procesos de mejora mediante selección genética para incrementar su elevado potencial para la producción de leche (38).

Se destaca por su elevado potencial para la producción de leche, característica que la ha convertido en una de las razas más utilizadas en la industria lechera. Los avances en estudios genéticos han permitido conocer que diferentes genes y regiones del ADN están relacionados con características productivas importantes, como el rendimiento de leche, el contenido de grasa y el porcentaje de proteína. Dentro de esta raza se han identificado diversos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) asociados con estas características; entre ellos, varios relacionados con la producción de grasa se localizan en el cromosoma 14, mientras que aquellos vinculados con la producción de proteína se encuentran principalmente en los cromosomas 1, 5 y 20. Asimismo, se han reconocido genes como la diacilglicerol O-aciltransferasa 1 (DGAT1), los cuales participan en la variación de diferentes características productivas en animales Holstein y sus cruces (39).

7.10 Síntesis de la grasa láctea

La síntesis de grasa láctea es un proceso regulado por una compleja y dinámica red de genes que actúan de manera coordinada para controlar las diferentes etapas de este mecanismo metabólico (15).

La grasa láctea se sintetiza en las células epiteliales de la glándula mamaria principalmente en forma de triglicéridos. La biosíntesis de la grasa láctea es un proceso complejo que involucra diferentes rutas metabólicas y la participación coordinada de numerosas enzimas, genes y mecanismos reguladores. Este proceso comprende la síntesis *de Novo* de ácidos grasos, en la que intervienen enzimas como el ácido graso sintasa (FASN) y la acetil-CoA carboxilasa (ACACA). Además, incluye la captación, el transporte y la activación de ácidos grasos de cadena larga mediante proteínas como la lipoproteína lipasa (LPL) y la acil-CoA sintetasa de cadena larga (ACSL). Posteriormente, estos ácidos grasos son utilizados para la síntesis de triglicéridos, proceso en el que participan enzimas como la 1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa 6 (AGPAT6) y el diacilglicerol aciltransferasa (DGAT). Todo este mecanismo está regulado por diversas vías de señalización y factores de transcripción, entre los que destacan mTOR, SREBP, PPARG y AMPK, los cuales coordinan la expresión génica y la actividad metabólica necesarias para la producción de grasa en la glándula mamaria (40).

Los ácidos grasos de cadena corta y media en la grasa de la leche comprenden una proporción aproximada de 2/3, y son fácilmente absorbidos por los humanos (15).

La posibilidad de que la glándula mamaria forme grasa láctea depende, especialmente, de la disponibilidad de los sustratos esenciales para la biosíntesis de lípidos; estos sustratos resultan del suministro de nutrientes aportados por el alimento, los productos derivados de la fermentación ruminal y los ácidos grasos generados a partir de las reservas del tejido adiposo (41).

Durante el inicio de la lactancia, la movilización de los ácidos grasos no esterificados desde el tejido adiposo toma un rol especialmente importante, pues sirve para satisfacer las elevadas demandas energéticas requeridas para la producción de leche e impacta directamente sobre la composición lipídica de esta. Este proceso está regulado primordialmente por hormonas como la insulina y las catecolaminas, pero también puede estar modificado por diferentes factores que alteran las vías de señalización que inducen la lipogénesis, entre ellos la composición del alimento,

la fase de la lactación, la genética del animal, la endotoxemia y los procesos inflamatorios. De modo similar, determinados factores ambientales, como el estrés por calor, pueden alterar tanto la movilización de las reservas adiposas como la síntesis de grasa láctea, pues ocasionan cambios en la respuesta inmunitaria, un aumento de la endotoxemia y de las concentraciones plasmáticas de insulina (41).

7.11. Genes relacionados con la síntesis de grasa láctea

La síntesis de grasa láctea es compleja y poligenética, que se regula por numerosos genes involucrados en la poligénesis, el transporte de ácidos grasos y la formación de triglicéridos. Sin embargo, también se han investigado si el gen CSN2 tiene un posible efecto sobre su producción y el porcentaje de grasa, este gen es el responsable de de codificar la β-caseína (1).

Los principales genes implicados son ACACA, que cataliza el primer y limitante paso de la síntesis de novo; FASN, que participa en la formación de ácidos grasos de cadena corta y media; SCD, que convierte ácidos saturados en monoinsaturados; DGAT1, que lleva a cabo el paso final en la síntesis de triglicéridos y que figura como uno de los genes con mayor efecto sobre el contenido graso de la leche; AGPAT6, que participa en el proceso de biosíntesis de triglicéridos; CD36, encargado de promover la capacitación de ácidos grasos de cadena larga desde la circulación; FABP3, está involucrado en el transporte intercelular de ácidos grasos; y ACSL1, el encargado de activar los ácidos grasos para su incorporación en las rutas de síntesis lipídicas (42).

7.12 Importancia de la grasa láctea en la industria

La grasa láctea posee una de las más altas calidades que presenta este líquido; es la base para la procedencia de materias como mantequilla, crema, queso o la leche entera en polvo. A mayores, el crecimiento de la producción del mundo de grasa láctea también ha hecho crecer la elaboración de nuevos productos alimentarios con un mayor valor añadido (43).

7.13 Factores que afectan la calidad de la grasa láctea

La alimentación constituye uno de los factores que más influyen en la composición de la grasa de la leche. Aspectos como el tipo de forraje proporcionado, la proporción entre forraje y concentrado que la dieta contiene, e incluso la inclusión de suplementos lipídicos son determinantes en el perfil de los ácidos grasos de la leche y, a su vez, de la importancia nutricional y tecnológica de esta (44).

La raza es un aspecto que influye determinantemente en el contenido graso de la grasa láctea, ya que se da el caso de que las diferencias raciales que manifiestan los animales están en la base de los diferenciales de la síntesis y del metabolismo de los ácidos grasos, lo que a su vez comporta variaciones en el perfil lipídico de la leche (44).

Los polimorfismos genéticos existentes en genes que participan en la síntesis y en la secreción de la grasa de la leche son una fuente importante de variación en el contenido y en la composición de la grasa de la leche, pues pueden afectar a su expresión y función, alterando el perfil de ácidos grasos (40).

La fase de la lactancia es otro de los elementos que influyen en la composición de la grasa láctea, pues tanto la concentración como el perfil de los ácidos grasos van cambiando a medida que avanza el ciclo productivo. Estas modificaciones obedecen a los cambios fisiológicos y metabólicos que se producen en la glándula mamaria a medida que avanza la lactancia (44).

La mastitis altera la síntesis de grasa láctea debido a que altera la estructura y el funcionamiento de la glándula mamaria. El proceso inflamatorio compromete la actividad de las células que secretan leche, disminuyendo el volumen de producción y alterando la grasa de la leche. Además, el aumento del recuento de células somáticas asociado a la mastitis, va a suponer unos cambios de la composición de la propia leche, entre los que se encontraran las modificaciones de la grasa, lo que repercutía negativamente en su calidad y en las propiedades tecnológicas de los productos lácteos (45).

La mastitis subclínica perjudica la producción de grasa láctea mediante la reducción de la aparición y desaturación de ácidos grasos en la glándula mamaria, de forma tal, que se modifica el perfil lipídico de la leche, sobre todo la proporción de ácidos grasos de cadena corta y la composición de la grasa láctea (46).

7.14 Consumo de leche

La leche se considera uno de los alimentos más antiguos y tradicionales consumidos por el ser humano, el hábito de su consumo se remonta a los orígenes de la evolución, actualmente la leche y sus derivados se encuentran dentro de los componentes diarios de la dieta (11).

7.15 Digestión de la leche

La digestión de las caseínas en los humanos, comienza en el estómago, debido a enzimas que degradan la proteína en péptidos más pequeños, el proceso continúa en el duodeno y el yeyuno, en este sitio los péptidos se hidrolizan en fragmentos más pequeños capaces de ser absorbidos por el intestino. Para una correcta digestión, las proteínas deben descomponerse en aminoácidos libres o en péptidos de pequeño tamaño para poder ser absorbidas. Para que este proceso se lleve a cabo es necesaria la enzima dipeptidil peptidasa IV, esta se encuentra al borde en el cepillo de la mucosa intestinal, en bacterias del microbiota y en el torrente sanguíneo de manera soluble. Además, esta enzima es responsable de la degradación de la β-casomorfína 7 (19,47).

Una vez que se realiza la digestión de la leche, se genera liberación de β-casomorfína, estas son un grupo específico de péptidos de la leche que generan una actividad biológica de agonista de los receptores opioides μ, δ y κ , de esta manera, se los consideran péptidos similares a los opioides que se genera durante el proceso de digestión. El alelo A1 al ser menos resistente a la digestión enzimática libera β-casomorfína-7, esto ocurre debido a la acción de la pepsina, leucina aminopeptidasa y la pancreatina que rompen el enlace entre los aminoácidos vanila y tirosina, dejando a la tirosina con el extremo inicial del fragmento peptídico, finalmente la pancreatina incide al enlace isoleucina e histidina liberando el extremo final del péptido; en cuanto al A2 que no divide a la posición 67 libera β-casomorfína-9, esto sucede porque el enlace entre isoleucina y prolina es más resistente a la acción enzimática, dificultando la escisión entre las posiciones 66 y 67, dando lugar a un péptido de 9 aminoácidos al cual que le atribuyen propiedades antihipertensivas y antioxidantes (19,48,49).

Se considera que la β-casomorfína-7 es un péptido liberado por la proteólisis de la β-caseína, péptido bioactivo que muestra evidencia de promover la unión y activación del receptor μ-opioide ubicado en diversas partes del cuerpo, como el tracto gastrointestinal, el sistema inmunitario y potencialmente el sistema nervioso central (19). Este péptido interactúa con los receptores μ-opioides y puede provocar dolor y alteraciones del tracto gastrointestinal y nervioso (50). Se ha logrado identificar β-casomorfína-7 en el contenido yeyunal humano posterior a la ingesta de la proteína de leche, en una concentración de 4 mg, que se consideran concentraciones compatibles a

efectos farmacológicos, esto se logró a partir de la ingesta de 30 mg de caseína y una liberación posterior de 2 horas de digestión (51).

La variante A2 se considera más saludable que la variante A1, debido a su actividad antioxidante natural, esta favorece un aumento en la producción de glutatión. Durante la digestión la variante A2 libera una menor cantidad de péptido opioide bioactivo la β-casomorfína-7, en comparación con la A1 (50).

De igual manera, la digestión de β-caseína A1 está relacionada con el retraso del vaciamiento gástrico y el aumento del tiempo de tránsito gastrointestinal en modelos animales (52). Adicionalmente se conoce que esta variante produce un aumento en las contracciones de los marcadores inflamatorios en el líquido intestinal y en la filtración de leucocitos intestinales (53). De están manera, el consuno de la variante A1 genera heces de consistencia significativamente más alto, medido en la escala de Bristol, en comparación con la variante A2 (24,54).

7.16 Salud humana

Anteriormente se identificó que la respuesta del organismo humano frente a las variantes de leche A1 y A2 está relacionada con la liberación de péptidos derivados de la β-caseína, conocidos como β-casomorfinas, estas pueden llegar a afectar la salud humana de diferentes formas (19).

Un ejemplo de cómo el consumo de leche afecta la salud humana se observa en el estudio que se realizó en la población chilena, la intolerancia a la lactosa presenta una frecuencia relevante asociada principalmente con la disminución de la actividad de la lactasa intestinal. Latorre et al. identificaron que el 57 % de los individuos evaluados presentó el genotipo relacionado con no persistencia de lactasa, mientras que la prevalencia de intolerancia determinada mediante prueba doble ciego fue del 34 %. Estos resultados evidencian que la capacidad de digestión de la lactosa varía entre individuos y depende tanto de factores genéticos como de la respuesta fisiológica al consumo de productos lácteos (55).

I7.16.1 Intolerancia a la lactosa

La enzima encargada de hidrolizar la lactosa es la lactasa o también conocida como β-galactosida, esta enzima hidroliza la lactosa en glucosa y galactosa en el tracto digestivo de los recién nacidos de mamíferos. El intestino delgado es el encargado de este proceso mediante las microvellosidades,

en el caso de los humanos, siendo codificada por el gen de la lactasa en el cromosoma 2, entre las porciones 135.787 y 135.837 Mb (17).

En algunas personas, debido a la genética, la producción de la enzima lactasa va disminuyendo con el paso de los años. De modo que, el organismo tiene dificultades para digerir la lactosa que se encuentra presente en la leche y en los alimentos que la contienen. Se conoce a esta condición como intolerancia a la lactosa, esto ocurre debido a que la lactosa no se descompone y se acumula en el intestino, lo que provoca que entre más agua al tracto intestinal y se produzca fermentaciones anormales, provocando diarrea y dolor abdominal poco después del consumo de lactosa (17).

17.16.2 Enfermedades crónicas o trastornos neuropsiquiátricos

Varios estudios centrados al eje intestino-cerebro indican que existe una influencia del tracto gastrointestinal y el cerebro, es decir, ocurre una comunicación bidireccional entre el tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central (56). Se maneja la hipótesis de que una condición de mayor permeabilidad intestinal se asocia a enfermedades crónicas o trastornos neuropsiquiátricos, esto se debe a que una permeabilidad alta permite el paso de β-casomorfína-7 al torrente sanguíneo, sumado a una deficiencia de dipeptidil peptidasa IV, llegando a generar estos trastornos (19).

17.16.3 Diabetes tipo 1

La posible relación entre las variantes A1 y A2 de la β-caseína y la diabetes tipo 1 ha sido objeto de estudio. Esto se debe a la liberación potencial del péptido β-casomorfina-7 (BCM-7) durante la digestión de la β-caseína A1. Se ha sugerido que este péptido podría afectar la actividad del sistema inmunitario en el intestino y contribuir al desarrollo de respuestas autoinmunes en personas con predisposición genética. Aunque algunas investigaciones han encontrado diferencias en la respuesta inmunológica a la β-caseína en personas con diabetes tipo 1, la evidencia científica actual no es suficiente para confirmar que el consumo de leche con β-caseína A1 sea una causa directa del desarrollo de esta enfermedad (57,58).

7.17. Análisis genómicos en ganado bovino

El ganado bovino tiene un alto valor debido a que se puede aprovechar su leche, carne, estriércol, piel y fuerza de tiro, esto a llevado a buscar la forma de mejorar las características deseables de los animales. La comunidad científica ha elaborado varias estrategias para realizar la optimización de la composición genética del ganado. En particular, la utilización de la selección genómica

conjuntamente con la aplicación de las tecnologías asistidas de la reprodución que han mejorado la genética del ganado. En principio, se basaba en la selección de reproductores que contaban con valores genéticos estimados por métodos estadísticos. Con el análisis genómico se obtienen datos que permiten la identificación de los animales con mayor mérito genético, lo que permite utilizar los mejores animales, reducir el tiempo empleado y mejorar las características deseables de los mismos (59).

El objetivo de realizar estas pruebas es maximizar la tasa de los alelos ventajosos y disminuir la prevalencia de alelos con efectos adversos, la investigación genómica ganadera se ha orientado a identificar las relación entre las variaciones en la secuencia del ADN y los fenotipos que resultan de la combinación de diferentes genotipos, permitiendo identificar variantes genéticas que se asocian a unos caracteres que son de importancia por su relación con la salud, el bienestar, la productividad, la rentabildad y la sostenibilidad de los propios sistemas productivos (59).

7.17.1. DNeasy Blood & Tussue Kit

Es un kit comercial desarrollado por Qiagen se utiliza para la extracción y purificación de ADN genómico de alta calidad de diversos tipos de muestras biológicas como sangre, tejido, pelos con folículos, células en cultivo y otros materiales biológicos. Su procesamiento esta basado en una tecnología de membrana de sílice, en la que el ADN se une selectivamente a la membrana, las proteínas y lípidos mientras que los contamnantes son eliminados mediante lavados sucesivos (60).

El proceso de extracción de ADN consta de cuatro pasos fundamentales. Primeramente, se realiza la lisis de las células mediante el uso de proteinasa K y soluciones detergentes, para liberar el material genético. En segundo lugar, el ADN de interes se une selectivamente a una membrana de sílice en fases ante la presencia de sales caotrópicas, mientras que las impurezas permanecen en la solución. Seguido por la realización de distintos lavados orientados a la eliminación de proteínas ARN y otras particulas que causan contaminación molecular. Para finalizar, en ADN purificado se recupera a partir de un tampón de baja concentración salina o agua libre de nucleasa. Consiguiendo de esta manera un ADN de alta pureza y calidad, apto para análisis (60).

7.17.2. Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array

Es una plataforma de genotificación basada en tecnología de microarreglos con un diseño específico para genoma bovino, contiene 64 000 SNP aproximadamente que se distribuyen a lo

largo de los cromosomas del genoma bovino, su funcionamento abarca las razas *Bos taurus* y *Bos indicus*. Cuenta con marcadores autosómicos, incorpora SNP localizados en el cromosoma Y y el ADN mitocondrial, sondas destinadas a la detección de variaciones en el número de copias (61).

Su aplicación se centran en la investigación y el mejoramiento genético bovino. Su uso está destinado a selección genómica, estudios de asociación del genoma completo, evaluación del mérito genético, análisis de diversidad genética, verificación de parentesco y la identificación de variantes asociadas con características de valor económico (61).

Además, incluye marcadores relacionados con la producción y composición de la leche, fertilidad, crecimiento, características cárnicas o enfermedades hereditarias, de esta manera, esta plataforma es una herramienta útil para optimizar los programas de selección genética (61).

7.18. Análisis de la composición de la leche mediante espectroscopía de infrarrojo medio

La espectroscopía infrarroja medio es una herramienta rápida y de bajo costo cuya utilización es el registro de fenotipos a gran escala. Su fundamento se encuentra en la interacción de la materia con la radiación electromagnética conjuntamente con la medición de la energía que ha sido absorbida por la muestra. Esto permite que sea una técnica de uso rutinario en los laboratorios de análisis de leche en cuanto a determinación de parámetros se refiere (62).

La leche es atravesada por la radiación del infrarrojo medio, entonces la moléculas absorben la energía en longitudes de onda específica. Dicha absorción depende de los enlaces químicos que presente la muestra para generar un espectro característico que contiene información sobre su composición (62).

Se utiliza para determinar los parámetros tradicionales de calidad de la leche tales como grasa, proteína y lactosa, igualmente se puede aplicar para predecir otros fenotipos de interees económico como la composición de ácidos grasos, la composición de proteínas, las propiedades de coagulación, la acidez, la composición mineral, los cuerpos cetónicos, el estado energético de la vaca y las emisiones de metano (62).

8. VALIDACION DE LA HIPÓTESIS

8.1. Hipótesis de investigación

El genotipo de β-caseína del gen CSN2 influye en la producción de grasa láctea de vacas Holstein de primera lactancia, de manera que existen diferencias en el porcentaje y/o en el rendimiento de grasa entre los animales con genotipos A1A1, A1A2 y A2A2.

8.2. Validación

En la investigación se planteó la hipótesis de que el genotipo de β-caseína del gen CSN2 sería capaz de influir en la producción de grasa láctea de vacas Holstein de primera lactancia. Es decir, en virtud de esta hipótesis se postula que existiría diferencias entre los porcentajes y/o rendimiento de grasa de los animales portadores de los distintos genotipos A1A1, A1A2 y A2A2.

No obstante, los resultados del análisis estadístico no mostraron que las diferencias en cuanto al porcentaje de grasa entre los tres genotipos fuesen estadísticamente significativas. Aunque sí se constató visualmente un ligero efecto descriptivo que apuntaba a un mayor porcentaje de grasa para los genotipos A1A2 y A2A2, este hecho no permite afirmar que el genotipo tenga un efecto sobre esta variable.

Por lo tanto, la hipótesis de investigación es considerada como rechazada y se acepta la hipótesis nula, concluyendo que el genotipo de β-caseína del gen CSN2 bajo las condiciones del presente estudio no influye en el porcentaje de grasa láctea de vacas Holstein de primera lactancia.

9. METODOLOGÍA

9.1 Enfoque de investigación y diseño del estudio

El estudio se realizó mediante un enfoque cuantitativo, observacional, analítico y longitudinal para determinar el efecto del genotipo β-caseína A1/A2 en la producción de grasa láctea en bovinos, a través del análisis genómico. La investigación fue observacional, ya que ni el genotipo de los animales ni sus condiciones productivas fueron manipulados experimentalmente. En cambio, se caracterizó la variación genética natural en el locus CSN2 y se relacionó con las mediciones individuales de grasa láctea.

El objetivo general fue determinar el efecto de los genotipos β-caseína A1 y A2 en la producción de grasa láctea y generar evidencia científica aplicable a los programas de mejoramiento genético de ganado lechero. Los objetivos específicos fueron identificar los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2 en la población estudiada y comparar la producción de grasa láctea entre los tres grupos genéticos.

Se consideró apropiado un diseño longitudinal, dado que cada vaca aportó varios registros de composición de la leche durante la lactancia, ya que las mediciones repetidas obtenidas del mismo animal están correlacionadas. En este diseño, cada vaca constituyó la unidad experimental y de observación, mientras que los registros sucesivos de producción lechera representaron observaciones repetidas anidadas dentro del animal. Cuando solo se disponía de una medición resumida por vaca, la comparación de genotipos se trató como un componente transversal analítico del estudio.

9.2 Área y período de estudio

La investigación se llevó a cabo en explotaciones lecheras comerciales ubicadas en la provincia de Cotopaxi, Ecuador, bajo las condiciones ambientales y de producción características de la región andina ecuatoriana.

La provincia de Cotopaxi se encuentra ubicada en la región interandina o Sierra centro, posee una superficie de 6 108 km2. Limita al norte con las provincias de Pichincha y Santo Domingo de los Tsáchilas, al sur con Tungurahua y Bolívar, al este con Napo y al oeste con Los Ríos (63).

Posee un clima diverso que va desde tropical húmedo hasta frío en las montañas, con una temperatura que varía entre 8 y 16 °C (63).

El período de estudio incluyó la identificación de los animales, el muestreo biológico, la caracterización genómica, la recolección de registros de producción lechera, el análisis de laboratorio, la construcción de la base de datos y la evaluación estadística.

9.3 Población de estudio y muestra

La población objetivo consistió en vacas Holstein de primera lactancia mantenidas en condiciones de producción lechera comercial. Inicialmente, se contaba con 110 vacas para el análisis a las cuales se les aplico ciertas consideraciones, posteriormente se concluyó con una muestra analítica de 54 animales con información genómica y fenotípica completa.

Los animales se clasificaron en los tres grupos posibles de genotipo de β-caseína:

- A1A1: homocigotos para el alelo A1.
- A1A2: heterocigotos.
- A2A2: homocigotos para el alelo A2.

Se utilizó una estrategia de muestreo intencional no probabilístico, ya que la inclusión dependía del cumplimiento de criterios biológicos, productivos y de calidad de datos predefinidos. Se incluyeron todos los animales elegibles de los hatos seleccionados siempre que fue posible para reducir el sesgo de selección.

Durante la interpretación, se consideró el número desigual de animales entre los grupos de genotipos, dado que el genotipo A1A1 es generalmente menos frecuente que el A1A2 y el A2A2 en las poblaciones Holstein. En la población analizada, los genotipos A2A2 y A1A2 representaron la mayoría de los animales, mientras que el A1A1 fue el menos frecuente.

9.3.1 Consideraciones sobre el tamaño de la muestra

La muestra final incluyó 54 vacas. Dado que el genotipo A1A1 es generalmente menos frecuente que el A1A2 y el A2A2 en poblaciones Holstein, la planificación del tamaño de la muestra debe basarse en el genotipo menos frecuente, en lugar de solo en el número total de animales. Las poblaciones Holstein-Friesian ecuatorianas han mostrado una mayor frecuencia del alelo A2 y una proporción relativamente baja de animales A1A1, lo que puede generar tamaños de grupo desiguales y reducir la precisión en la categoría menos frecuente (31).

9.3.1.1 Criterios de inclusión

Se incluyeron las vacas que cumplían las siguientes condiciones:

- Raza Holstein confirmada según los registros del rebaño o la información genómica.
- Primera lactancia.
- Identificación individual única y rastreable.
- Disponibilidad de una muestra biológica apta para la extracción de ADN.
- Disponibilidad de registros individuales de producción y composición de la leche.
- Ausencia de enfermedad clínica al momento de la toma de muestras.

- Ausencia de tratamiento antimicrobiano o periodos de espera que pudieran afectar la composición de la leche.
- Información completa sobre genotipo, días en lactancia, producción de leche y porcentaje de grasa láctea.

9.3.1.2 Criterios de exclusión

Se excluyeron los animales que presentaban identificación inconsistente, ADN insuficiente o degradado, genotipos no resueltos, registros de producción incompletos, mastitis clínica, enfermedad sistémica o cualquier afección capaz de alterar sustancialmente la composición de la leche.

También se excluyeron las muestras de leche que presentaban contaminación visible, conservación inadecuada, volumen insuficiente, errores de etiquetado o valores biológicamente inverosímiles que no pudieron confirmarse mediante los registros originales del laboratorio o de la granja.

9.4 Variables del estudio

9.4.1 Variable independiente

La principal variable independiente fue el genotipo CSN2 A1/A2, clasificado como A1A1, A1A2 o A2A2.

9.4.2 Variables dependientes

La principal variable dependiente fue la producción de grasa láctea, operacionalizada como:

- Porcentaje de grasa láctea.
- Producción diaria de grasa, expresada en kilogramos por día.
- Producción acumulada de grasa durante la lactancia, cuando se disponía de registros de producción repetidos.

La producción diaria de grasa se calculó de la siguiente manera:

Producción de grasa (kg/día) = Producción de leche (kg/día) ×100

Grasa láctea (%)

El porcentaje de grasa láctea representa la concentración, mientras que la producción de grasa representa la cantidad real de grasa producida. Una vaca puede tener un menor porcentaje de grasa, pero aun así producir más kilogramos de grasa debido a una mayor producción de leche.

9.4.3 Covariables y posibles factores de confusión

Se consideraron las siguientes covariables debido a su posible influencia en la grasa láctea:

- Días en lactancia.
- Producción diaria individual de leche.
- Sistema de alimentación y composición de la ración.
- Edad al primer parto.
- Condición corporal.
- Recuento de células somáticas.
- Presencia de mastitis clínica y subclínica.

9.5 Recolección de muestras biológicas

9.5.1 Recolección de muestras para análisis genómico

Se recolectaron muestras de folículos pilosos individualmente de cada animal. Se obtuvieron aproximadamente de 40 a 60 pelos con folículos claramente visibles de la cola o la región auricular utilizando instrumentos limpios y desinfectados.

Cada muestra se colocó en un sobre seco individual o en un recipiente aprobado por el laboratorio y se identificó mediante un código alfanumérico único vinculado a la identificación de la vaca, el rebaño, la fecha de muestreo y el registro de producción.

Los instrumentos de muestreo se cambiaron o desinfectaron entre animales para evitar la contaminación cruzada. Las muestras se almacenaron en un ambiente seco, protegidas de la luz solar y la humedad, hasta la extracción de ADN o su envío al laboratorio de genómica.

Los folículos pilosos representan una fuente biológica mínimamente invasiva, adecuada para el análisis genómico bovino, y se han utilizado para la genotipificación del gen CSN2 en poblaciones de ganado lechero ecuatoriano.

9.5.2 Muestreo de leche

Se recolectaron muestras individuales de leche durante el ordeño rutinario, tras la homogeneización de la leche producida por cada vaca. Cuando se disponía de muestras de los ordeños de la mañana y la tarde, se combinaron alícuotas proporcionales de ambas sesiones, según el volumen de leche producido en cada ordeño, para obtener una muestra diaria representativa.

Las muestras se recolectaron en recipientes estériles o aprobados por el laboratorio y se identificaron con el código del animal, la fecha de muestreo, la sesión de ordeño, los días en lactancia y la producción individual de leche.

Las muestras de leche se mantuvieron refrigeradas a aproximadamente 4 °C durante el transporte y se analizaron dentro del plazo establecido por el protocolo del laboratorio. Antes del análisis, las muestras se homogeneizaron suavemente para asegurar una distribución uniforme de la fase grasa.

9.6 Determinación de la grasa láctea

El porcentaje de grasa láctea se determinó mediante un analizador de leche calibrado de infrarrojo medio o de infrarrojo medio por transformada de Fourier, utilizando un analizador de productos lácteos MilkoScan™ FT1, fabricado por FOSS Analytical A/S, Hillerød, Dinamarca. El instrumento se operó siguiendo los procedimientos analíticos del fabricante y el programa de control de calidad del laboratorio.

Antes del análisis, las muestras se homogeneizaron y se llevaron a la temperatura recomendada para la medición instrumental. El control de calidad analítico incluyó:

- Calibración con muestras de leche de referencia.
- Materiales de control interno.
- Mediciones de muestras en blanco.
- Análisis por duplicado.
- Verificación periódica con métodos de referencia reconocidos.
- Evaluación de la repetibilidad y la variación intraensayo.

La espectroscopia de infrarrojo medio se utiliza ampliamente para la determinación rutinaria de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales en leche bovina.

9.7 Extracción de ADN y control de calidad

El ADN genómico se extrajo de folículos pilosos utilizando un kit de extracción comercial validado DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Alemania) para muestras biológicas bovinas siguiendo las instrucciones del fabricante.

La concentración de ADN se midió mediante fluorometría o espectrofotometría. La pureza se evaluó mediante índices de absorbancia y la integridad del ADN se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa o un método de control de calidad equivalente.

Las muestras se aceptaron para genotipado únicamente cuando cumplieron con los requisitos mínimos de concentración, pureza, integridad y volumen de ADN establecidos por la plataforma genómica.

El procedimiento de control de calidad del laboratorio incluyó:

- Blancos de reactivos.
- Controles de extracción negativos.
- Controles de genotipo positivos.
- Muestras duplicadas.
- Separación de los procedimientos de preamplificación y postamplificación.
- Reextracción de las muestras que no cumplieron con los estándares de calidad.

9.8 Genotipado del locus CSN2 A1/A2

9.8.1 Análisis genómico

La caracterización genómica se realizó utilizando Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array, en formato mini-96, desarrollado por Applied Biosystems–Thermo Fisher Scientific, Santa Clara, California**,** Estados Unidos, siguiendo el protocolo del fabricante. El genotipo generado por el microarreglo, correspondiente al polimorfismo A1/A2 del gen CSN2, se extrajo del conjunto de datos genómicos (31).

La distinción A1/A2 se asocia a una sustitución de nucleótidos en el exón 7 del gen CSN2, que resulta en una diferencia de aminoácidos en la posición 67 de la β-caseína madura: la variante A1 contiene histidina, mientras que la A2 contiene prolina. Se han utilizado plataformas de SNP bovino

de alta densidad, incluido el sistema Illumina BovineSNP50, para identificar animales A1A1, A1A2 y A2A2 mediante agrupaciones de genotipos de alta calidad (31).

El procedimiento de control de calidad para la determinación del genotipo incluyó:

- Verificación de la tasa de detección global de muestras.
- Verificación de la tasa de detección del marcador objetivo.
- Exclusión de muestras contaminadas o duplicadas.
- Análisis de la separación de los grupos de genotipos.
- Confirmación de la orientación de los alelos.
- Reanálisis de genotipos ambiguos.
- Evaluación de la concordancia mediante muestras duplicadas.

Cuando se disponía de análisis confirmatorio, la región diana del exón 7 se amplificó mediante reacción en cadena de la polimerasa y se analizó mediante secuenciación Sanger bidireccional. Las ampliaciones se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa, se purificaron y se secuenciaron en ambas direcciones.

Los cromatogramas de secuenciación se evaluaron en cuanto a la calidad de la señal, el ruido de fondo y el estado alélico en la posición polimórfica. Los animales homocigotos mostraron una señal de un solo nucleótido, mientras que los heterocigotos mostraron señales superpuestas correspondientes a ambos alelos.

9.9 Construcción de la base de datos y control de calidad

Se construyó una base de datos unificada utilizando un código de identificación único para cada vaca. La información genómica se vinculó con las mediciones de grasa láctea y los registros de producción individuales.

Antes del análisis estadístico, se verificó la base de datos para detectar:

- Códigos de animales duplicados.
- Etiquetas de genotipo inconsistentes.
- Unidades de medida incorrectas.
- Observaciones faltantes.
- Valores biológicamente inverosímiles.

- Inconsistencias entre las fechas de muestreo y los registros de lactancia.
- Discrepancias entre los informes de laboratorio y los registros de la granja.
- Valores extremos identificados mediante análisis gráficos y de residuos.

Los posibles valores atípicos no se eliminaron automáticamente. Cada observación se revisó utilizando el informe original de análisis de leche, el estado de salud, los días en lactancia y el historial de producción. Una observación se excluyó solo cuando existía evidencia documentada de error de identificación, medición o ingreso de datos.

9.10 Análisis genético poblacional

Las frecuencias genotípicas se calcularon dividiendo el número de animales con cada genotipo entre el número total de animales genotipados con éxito.

Las frecuencias alélicas se estimaron mediante el recuento de genes:

f(A1)=2N2nA1A1
+nA1A2f(A2)=2nA2A2+nA1A22Nf(A2)=\frac{2n_{A2A2}+n_{A1A2}}{2N}f(A2)=2N

9.11. Análisis estadísticos

El análisis estadístico se diseñó para describir la distribución de los genotipos CSN2 A1A1, A1A2 y A2A2 y para comparar el porcentaje medio de grasa láctea entre los tres grupos genéticos. Las frecuencias genotípicas se resumieron como recuentos absolutos y porcentajes relativos, mientras que la grasa láctea se expresó como media ± desviación estándar. Las diferencias entre las medias genotípicas se evaluaron mediante un análisis de varianza unidireccional, considerando el genotipo CSN2 como factor fijo y el porcentaje de grasa láctea como variable de respuesta continua. Para la comparación global, se utilizó la prueba post hoc de Tukey para evaluar las diferencias por pares entre A1A1, A1A2 y A2A2. La significación estadística se estableció en $p<0,05$, y se utilizaron letras minúsculas para indicar grupos homogéneos. El análisis no mostró diferencias significativas entre los genotipos, ya que los tres grupos compartieron la misma letra estadística.

10.ANÁLISIS Y DICUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1 Resultados

La distribución de los genotipos CSN2 A1A1, A1A2 y A2A2 en la población analizada de vacas Holstein de primera lactancia, se presenta en la tabla 4, junto con el porcentaje medio de grasa láctea y su desviación estándar para cada grupo genético. También incluye la agrupación estadística derivada del ANOVA unidireccional y la prueba post hoc de Tukey, lo que permite comparar el contenido de grasa láctea entre genotipos e identificar si las diferencias observadas son estadísticamente significativas.

De igual menera. la distribución de los genotipos CSN2 A1/A2 y el porcentaje medio de grasa láctea en la población analizada de 54 vacas Holstein de primera lactancia, se muesta en la tabla 4. El genotipo A2A2 fue el más frecuente, identificándose en 24 vacas y representando el 44,44% de la población. El genotipo heterocigoto A1A2 se observó en 22 animales, correspondiente al 40,74%, mientras que el genotipo A1A1 mostró la frecuencia más baja, con 8 vacas y una representación del 14,81%. En cuanto al contenido de grasa láctea, las vacas con el genotipo A2A2 exhibieron el valor medio más alto, en 3,40%, seguidas por las vacas A1A2 en 3,39% y las vacas A1A1 en 3,32%. La diferencia descriptiva entre A2A2 y A1A1 fue de 0,08 puntos porcentuales, mientras que la diferencia entre A2A2 y A1A2 fue de 0,01 puntos porcentuales. El porcentaje medio general de grasa láctea para las 54 vacas fue del 3,38 %, mostrando una ligera tendencia descriptiva hacia valores de grasa más altos en los animales portadores de los genotipos A1A2 y A2A2.

El análisis de varianza unidireccional no mostró diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de grasa láctea entre los genotipos CSN2 A1A1, A1A2 y A2A2 ($F^{2},51=2,84$; $p=0,068$). La prueba post hoc de Tukey confirmó que no existían diferencias significativas entre A1A1 y A1A2, entre A1A1 y A2A2, ni entre A1A2 y A2A2. En consecuencia, los tres genotipos compartieron la misma letra estadística a, lo que indica que sus porcentajes medios de grasa láctea no difirieron significativamente al nivel de significancia $p<0,05$.

Genotipo CSN2 A1/A2	Número de animales	Frecuencia (%)	Grasa, media ± SD (%)	Grupo estadístico
A1A1	8	14.81	3.32 ± 0.07	a
A1A2	22	40.74	3.39 ± 0.09	a
A2A2	24	44.44	3.40 ± 0.07	a
General	**54**	**100.00**	**3.38 ± 0.08**	—

Tabla 3. Distribución y efecto del genotipo CSN2 A1/A2 sobre el porcentaje medio de grasa en leche, ***One-way ANOVA:*** *$F_{2,51}=2.84$; $p=0.068$*

Los valores se expresan como media ± desviación estándar. Las medias seguidas de la misma letra minúscula no presentan diferencias significativas según la prueba post hoc de Tukey ($p < 0,05$). El efecto global del genotipo CSN2 sobre el porcentaje de grasa en la leche se evaluó mediante un ANOVA unidireccional ($F_{2,51}= 2,84$; $p = 0,068$).

La distribución de los genotipos CSN2 A1/A2 entre las 54 vacas Holstein de primera lactancia incluidas en el estudio, se muestra en la figura 1. El genotipo A2A2 fue el más frecuente, presente en 24 vacas y representando el 44,44% de la población. Le siguió el genotipo heterocigoto A1A2, identificado en 22 animales y que representó el 40,74%. El genotipo A1A1 tuvo la menor frecuencia, estando presente en 8 vacas o el 14,81% de la muestra total. En conjunto, estos hallazgos sugieren que el alelo A2 estuvo más ampliamente representado en la población, ya sea en forma homocigota o heterocigota.

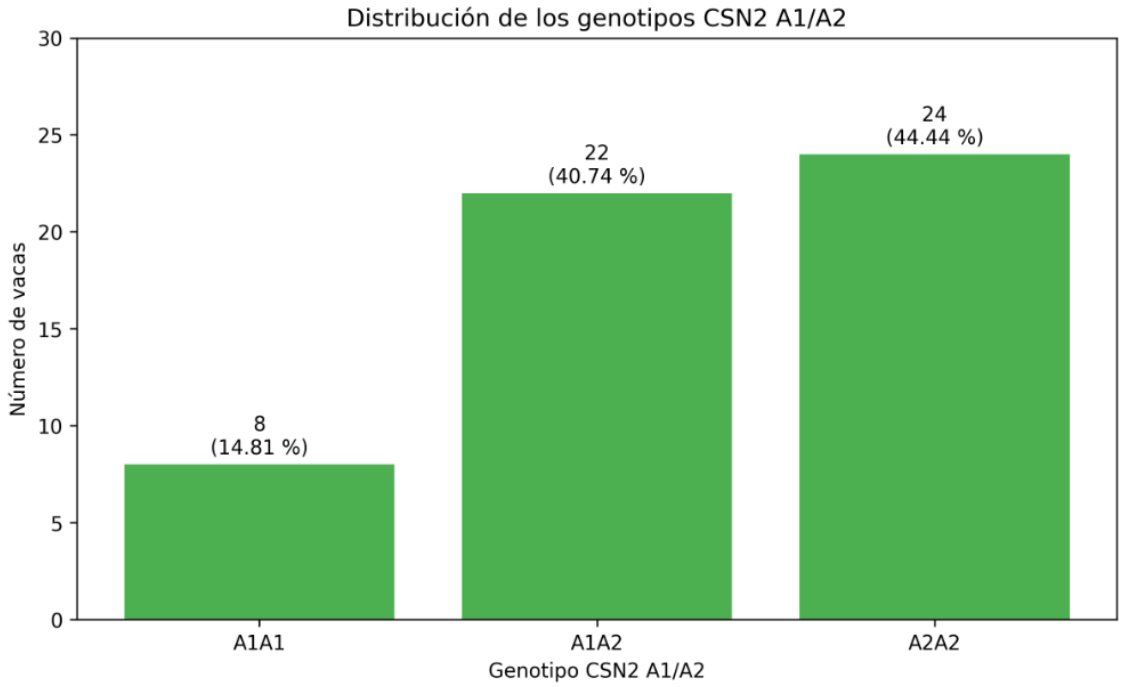


Figura 1. Distribución de los genotipos CSN2 A1/A2

La distribución de frecuencias de los genotipos CSN2 A1/A2 en la población evaluada. El genotipo A2A2 fue el más prevalente, presente en 24 vacas (44,44%), seguido del A1A2 en 22 vacas (40,74%). El genotipo A1A1 fue el menos común, detectado en 8 vacas (14,81%).

A continuación, se proporciona una visión general integrada de la interpretación genética de los genotipos CSN2 A1/A2 y el potencial de grasa láctea observado en la población analizada, como se observa en la figura 2. El panel A ilustra el significado biológico de cada genotipo, mostrando que los animales A1A1 producen solo β-caseína A1, los animales A1A2 producen tanto β-caseína A1 como β-caseína A2, y los animales A2A2 producen solo β-caseína A2. El panel B presenta los porcentajes medios de grasa láctea para cada grupo de genotipos, expresados como media ± desviación estándar, junto con la comparación estadística obtenida mediante ANOVA unidireccional y la prueba post hoc de Tukey. En general, la figura muestra que, si bien las vacas portadoras del genotipo A2A2 tuvieron el porcentaje medio de grasa descriptivo más alto, las diferencias entre genotipos no fueron estadísticamente significativas, lo que indica un potencial de grasa observado similar en los tres grupos genéticos del conjunto de datos analizado.

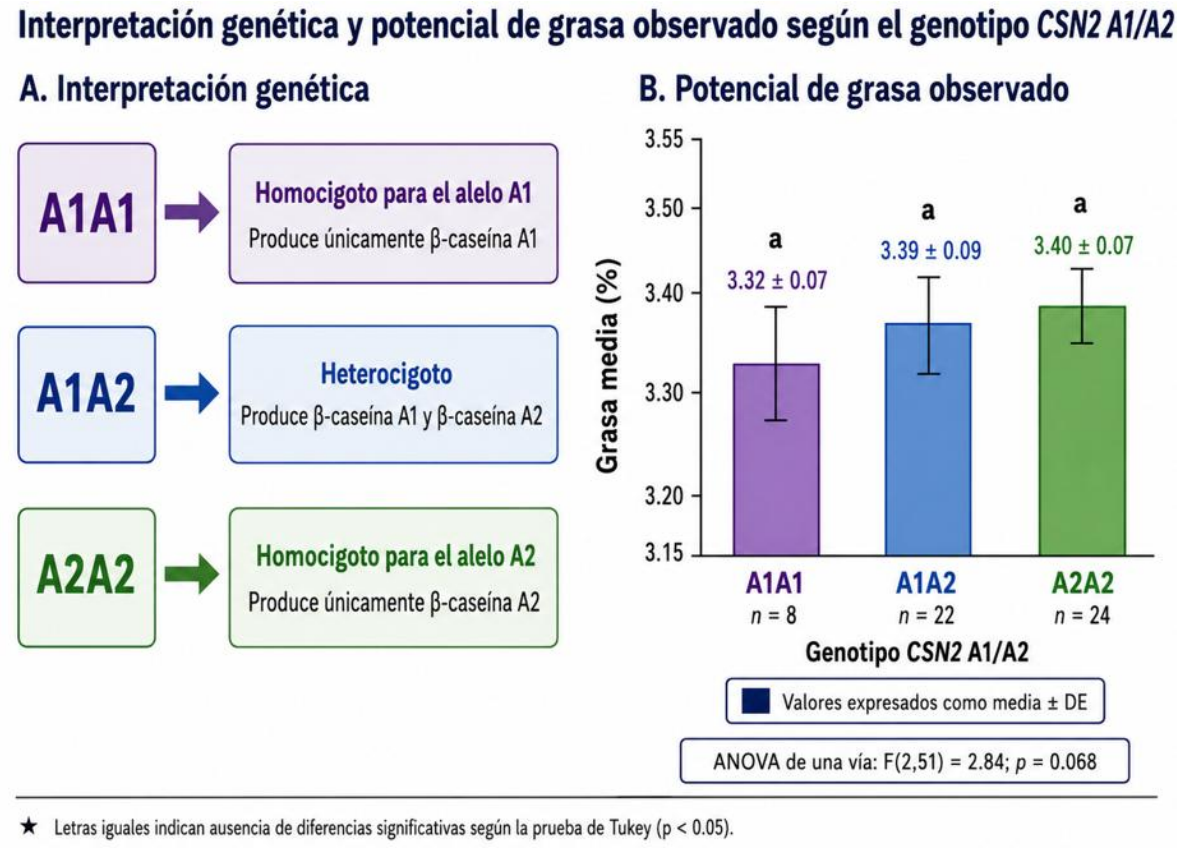


Figura 2. Interpretación genética de los genotipos CSN2 A1/A2

Los valores se expresan como media ± desviación estándar. Las medias seguidas de la misma letra minúscula no difieren significativamente según la prueba post hoc de Tukey ($p < 0,05$). El efecto del genotipo CSN2 A1/A2 sobre el porcentaje de grasa en la leche se evaluó mediante un ANOVA unidireccional ($F_{2,51} = 2,84$; $p = 0,068$).

10.2 Discusión

10.2.1 Distribución de los genotipos CSN2 A1/A2 en la población estudiada

La estructura genotípica de la población evaluada se caracterizó por el predominio del alelo A2. El genotipo A2A2 fue el más frecuente, seguido de cerca por el A1A2, mientras que el A1A1 representó el grupo genético más pequeño. Esta distribución indica que la mayoría de las vacas Holstein de primera lactancia portaban al menos una copia del alelo A2. Con base en los recuentos genotípicos observados, las frecuencias alélicas estimadas fueron aproximadamente 0,352 para A1 y 0,648 para A2. Estos valores son consistentes con el predominio de A2 reportado en el ganado

Holstein-Friesian ecuatoriano, lo que respalda la plausibilidad biológica de la estructura poblacional representada en el estudio (31).

La similitud entre la distribución actual y la reportada en poblaciones lecheras ecuatorianas es particularmente relevante, ya que la composición racial, el origen geográfico, la deriva genética, las prácticas de inseminación artificial y la selección de sementales pueden modificar sustancialmente las frecuencias alélicas de CSN2. Cartuche-Macas et al. (31), reportaron que el alelo A2 era más frecuente que el A1 en el ganado Holstein-Friesian ecuatoriano, aunque el genotipo heterocigoto se mantuvo altamente representado. Por lo tanto, la estructura observada no debe interpretarse como la fijación del alelo A2, sino más bien como una población en la que A2 se ha vuelto predominante, mientras que se conserva una heterocigosidad sustancial.

Desde una perspectiva de mejoramiento genético, la alta frecuencia combinada de animales A1A2 y A2A2 proporciona un punto de partida favorable para aumentar la proporción de ganado A2A2 mediante apareamientos planificados. Sin embargo, la selección centrada exclusivamente en CSN2 podría reducir la diversidad genética o producir respuestas correlacionadas desfavorables si se ignoran el rendimiento reproductivo, la producción de leche, la salud de la ubre, la longevidad, la eficiencia alimenticia y otros indicadores de mérito genómico. En consecuencia, CSN2 debe tratarse como un componente de un índice de selección multidimensional en lugar de como un determinante aislado de la productividad lechera (31).

10.2.2. Asociación entre el genotipo CSN2 y el porcentaje de grasa láctea

El porcentaje de grasa láctea mostró un incremento descriptivo progresivo desde A1A1 hasta A1A2 y A2A2. Sin embargo, las diferencias entre los genotipos no alcanzaron el umbral convencional de significación estadística, y los tres grupos compartieron la misma clasificación de Tukey. Por lo tanto, los resultados no proporcionan evidencia suficiente para concluir que el genotipo CSN2 A1/A2 determine de forma independiente la concentración de grasa láctea en la población evaluada. La interpretación científicamente más apropiada es que se observó una tendencia numérica, pero el potencial de producción de grasa de los tres genotipos se mantuvo estadísticamente comparable.

Esta ausencia de un efecto genotípico significativo concuerda con evidencia reciente que indica que la variación de la β-caseína A1/A2 no modifica de forma consistente las principales fracciones

compositivas de la leche. En una investigación controlada que consideró el genotipo de la β-caseína junto con factores biológicos y de manejo relevantes, la grasa láctea total no difirió entre los animales A1A1, A1A2 y A2A2. Aunque algunos ácidos grasos individuales variaron, el perfil global de ácidos grasos no mostró una clara separación dependiente del genotipo, lo que sugiere que CSN2 puede ejercer efectos sutiles en fracciones lipídicas específicas sin necesariamente modificar el porcentaje total de grasa (40,48).

Los hallazgos actuales también son compatibles con estudios que muestran que la influencia del polimorfismo de la β-caseína es más evidente en la composición proteica, la estructura micelar, la liberación de péptidos, el comportamiento de la coagulación o las propiedades de procesamiento que en la concentración de grasa en la leche. Bisutti et al. (2), demostraron que la variante A2 modificaba el perfil de proteínas de la leche y afectaba ligeramente las características de coagulación, pero estos hallazgos no implican un efecto directo y consistente en la síntesis de lípidos mamarios. Esta distinción es importante porque CSN2 codifica la β-caseína, un componente proteico principal, en lugar de una enzima directamente involucrada en la síntesis de novo de ácidos grasos o la secreción de triglicéridos.

De manera similar, Gai et al. (64), Se observaron diferencias relacionadas con el genotipo en las propiedades fisicoquímicas y funcionales, incluyendo la estabilidad de la crema y el comportamiento de los glóbulos de grasa, sin establecer un aumento consistente en la concentración total de grasa atribuible al alelo A2A2. Sus observaciones indican que el genotipo CSN2 puede afectar la organización física de la leche y su comportamiento durante el procesamiento, incluso cuando las mediciones composicionales convencionales permanecen similares. Por lo tanto, el porcentaje total de grasa por sí solo puede ser insuficiente para detectar cambios más sutiles asociados al genotipo en la fase lipídica.

10.2.3 Interpretación biológica de las diferencias no significativas

El efecto limitado de CSN2 sobre la grasa total de la leche es biológicamente plausible, ya que la síntesis de grasa en la glándula mamaria bovina es un proceso poligénico complejo. Los triglicéridos de la leche se originan a partir de la síntesis de novo de ácidos grasos de cadena corta y media dentro de las células epiteliales mamarias y de la captación de ácidos grasos de cadena larga circulantes derivados de la dieta y del tejido adiposo (65). Este proceso está regulado por

numerosos genes y vías metabólicas, incluyendo aquellos involucrados en el transporte de ácidos grasos, el metabolismo del acetil-CoA, la lipogénesis, la desaturación, el ensamblaje de triglicéridos y la secreción de glóbulos de grasa láctea. Por lo tanto, se esperaría que un polimorfismo estructural de la caseína explicara solo una proporción limitada de la variabilidad total de la grasa de la leche (66).

Aunque CSN2 no regule directamente la síntesis de lípidos, el genotipo de la caseína puede asociarse con las características de la grasa láctea mediante desequilibrio de ligamiento con loci cercanos, relaciones metabólicas pleiotrópicas o diferencias en la estructura de los glóbulos de grasa de la leche. La investigación sobre haplotipos compuestos de caseína ha mostrado asociaciones con el tamaño de los glóbulos de grasa y la composición de ácidos grasos en la leche de vacas Holstein. Sin embargo, estos efectos se detectaron para combinaciones de alelos de caseína αS1, β y κ, y no para el locus A1/A2 de forma aislada, lo que subraya que el contexto genómico del clúster completo de caseína puede ser más informativo que un único polimorfismo de CSN2 (67).

Los genes de la caseína se encuentran agrupados físicamente en el *cromosoma 6* bovino, y sus alelos pueden heredarse como haplotipos. En consecuencia, una asociación aparente entre CSN2 y la composición de la leche puede reflejar parcialmente un desequilibrio de ligamiento con las variantes CSN1S1, CSN1S2 o CSN3. Estudios que evalúan genotipos compuestos de β- y κ-caseína han demostrado que los efectos específicos del genotipo pueden variar a lo largo de la lactancia y ser más pronunciados para el porcentaje de proteína y las propiedades de coagulación que para el contenido de grasa. Esto refuerza laa necesidad de evitar atribuir efectos composicionales amplios exclusivamente a la sustitución A1/A2 (68).

10.2.4. Comparación con estudios de producción previos

Investigaciones clásicas en ganado Holstein informaron que los genotipos de β-caseína podrían estar asociados con diferencias en los rasgos de producción, pero la dirección y magnitud de estos efectos no fueron uniformes. Ng-Kwai-Hang et al. (69) observaron que las vacas A2A2 producían más leche pero tenían una menor concentración de grasa que las vacas A1A1 a lo largo de varias lactancias. Esta evidencia histórica contrasta con la ligera ventaja numérica para A2A2 observada

en el presente conjunto de datos y demuestra que los efectos del genotipo pueden variar según la estructura de la población, la lactancia, el nivel de producción y el ajuste estadístico aplicado.

Evaluaciones anteriores a gran escala también mostraron que los polimorfismos de la proteína de la leche podrían estar asociados con la producción de leche, grasa y proteína, pero las relaciones detectadas a menudo eran pequeñas y se veían afectadas por varios loci simultáneamente. Ng-Kwai-Hang et al. (70). Se enfatizó que la interpretación requiere considerar tanto la concentración como el rendimiento total, ya que un animal puede producir leche con un menor porcentaje de grasa, pero aun así generar más kilogramos de grasa si su producción de leche es suficientemente alta. Por consiguiente, una comparación basada únicamente en el porcentaje de grasa no permite determinar si un genotipo tiene una capacidad superior de producción de grasa en general.

Esta distinción tiene implicaciones directas para el presente estudio. La variable de respuesta fue la concentración de grasa, no la producción total diaria o durante la lactancia. Por lo tanto, la ausencia de diferencias en el porcentaje no excluye posibles diferencias en los kilogramos de grasa producidos. Una evaluación sólida del potencial productivo debe incorporar la producción individual de leche y calcular la producción diaria de grasa como la producción de leche multiplicada por el porcentaje de grasa. Este mismo principio debe extenderse a la producción estandarizada de grasa a los 305 días siempre que se disponga de registros longitudinales de producción de leche (70).

10.2.5 Influencia de factores ambientales y fisiológicos

La grasa láctea es particularmente sensible a las variaciones nutricionales y ambientales. La ingesta de fibra, los patrones de fermentación ruminal, la suplementación lipídica en la dieta, el balance energético, el estrés térmico, la etapa de lactancia, la estación del año, la frecuencia de ordeño y la inflamación mamaria subclínica pueden modificar la concentración de grasa. Dado que estos factores pueden diferir entre animales, incluso dentro del mismo rebaño, no tenerlos en cuenta puede enmascarar un pequeño efecto genético o generar una asociación aparente no relacionada con CSN2.

La etapa de lactancia es especialmente importante porque la composición de la leche sigue una trayectoria dinámica. El porcentaje de grasa puede disminuir durante el pico de producción de leche y aumentar posteriormente en la lactancia, mientras que la paridad, la edad, el recuento de células

somáticas y la producción diaria de leche también contribuyen a la variabilidad compositiva. Estudios con mediciones repetidas han demostrado que la composición de la leche está influenciada simultáneamente por polimorfismos genéticos y factores ambientales, lo que indica que las comparaciones de genotipos deberían ajustarse idealmente según los días de lactancia y el estado de salud (69).

La restricción de la muestra a vacas de primera lactancia mejora la comparabilidad biológica al reducir la variación asociada a la paridad. Sin embargo, no controla las diferencias en días de lactancia, edad al primer parto, ingesta de alimento, manejo del rebaño, estación del año, mérito genético para la producción de leche ni recuento de células somáticas. Estos factores deben incorporarse como covariables o efectos fijos en un análisis confirmatorio. De lo contrario, el efecto estimado de CSN2 podría quedar sesgado por influencias ambientales o poligénicas.

10.2.6. Implicaciones para la calidad de la leche y la funcionalidad tecnológica

Aunque los genotipos no mostraron diferencias en el porcentaje de grasa total, la variación del gen CSN2 podría influir en las características físicas de la fase grasa de la leche. La leche A2A2 se ha asociado con diferencias en la estabilidad de la crema y el tamaño de los glóbulos de grasa, mientras que los haplotipos compuestos de caseína se han vinculado a perfiles específicos de ácidos grasos e índices nutricionales. Estas propiedades pueden afectar la homogeneización, la estabilidad de la emulsión, la textura del yogur, la separación de la crema y otros procesos tecnológicos sin producir un cambio detectable en la concentración de grasa total (64,67).

Por consiguiente, las futuras investigaciones deberían ir más allá del porcentaje de grasa habitual y cuantificar la distribución del tamaño de los glóbulos de grasa, el potencial zeta, la estabilidad de la crema, las clases de triglicéridos y los ácidos grasos individuales. La cromatografía de gases podría determinar las fracciones de ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y bioactivos, mientras que la microscopía o la difracción láser podrían caracterizar el diámetro de los glóbulos. Estos análisis permitirían determinar si la tendencia numérica observada en la grasa total se corresponde con diferencias significativas en la calidad lipídica o el comportamiento tecnológico.

La ausencia de una diferencia significativa en la grasa total también indica que la selección para la leche A2A2 difícilmente garantizará un aumento en la concentración de grasa láctea. Por lo tanto,

los programas de mejoramiento genético orientados a la producción de leche A2 deberían seguir utilizando valores genéticos estimados o predicciones genómicas para el rendimiento y el porcentaje de grasa, en lugar de asumir que el gen CSN2 A2A2 es un marcador directo de una producción lipídica superior.

10.2.7. Interpretación integrada

En conjunto, los hallazgos indican que el alelo A2 predominó en la población evaluada, pero el genotipo CSN2 A1/A2 no se asoció significativamente con el porcentaje total de grasa en la leche. Por lo tanto, el pequeño incremento numérico observado en las vacas A1A2 y A2A2 debe interpretarse como una tendencia descriptiva, más que como evidencia de un aumento en la concentración de grasa dependiente del genotipo. Esta interpretación concuerda con investigaciones de alto impacto que demuestran que la variación A1/A2 puede afectar la composición proteica, la liberación de péptidos, el comportamiento de los glóbulos de grasa o ácidos grasos específicos sin modificar necesariamente la grasa total de la leche (2,64,71).

La conclusión científicamente sólida es que, con base en los resultados actuales, el genotipo CSN2 A1/A2 no debe considerarse un predictor independiente del porcentaje de grasa en la leche. Su influencia potencial debe evaluarse dentro del contexto genómico y ambiental más amplio de la síntesis de leche, idealmente mediante modelos mixtos, fenotipado repetido, análisis de haplotipos y caracterización directa del perfil lipídico de la leche.

11. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

El presente estudio genera principalmente un impacto técnico y científico, debido a que incorpora herramientas de análisis genómico para identificar los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2 del gen CSN2 y relacionarlos con el porcentaje de grasa en la leche de vacas Holstein. Su principal aporte consiste en demostrar que, aunque los animales A1A2 y A2A2 presentaron valores de grasa ligeramente superiores, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas; por lo tanto, el genotipo de β-caseína no debe utilizarse de manera aislada como predictor de una mayor producción de grasa láctea. Este resultado genera impacto porque proporciona una base científica para evitar decisiones incorrectas en los programas de reproducción y orienta a los productores y técnicos a considerar conjuntamente otros factores genéticos, nutricionales, fisiológicos, sanitarios y ambientales. También produce un impacto económico potencial, ya que puede evitar inversiones

dirigidas exclusivamente a la selección de animales A2A2 con la expectativa de aumentar la grasa de la leche; sin embargo, la identificación de animales portadores del alelo A2 puede servir para desarrollar productos lácteos diferenciados y acceder a mercados especializados. En el ámbito social, la caracterización genética favorece la trazabilidad de la producción y brinda información respaldada científicamente, lo que puede fortalecer la confianza de los consumidores. El impacto ambiental es indirecto, debido a que una selección genética mejor planificada puede contribuir al uso eficiente de los recursos productivos; no obstante, la investigación no evaluó indicadores ambientales específicos, por lo que no puede afirmarse que haya producido un efecto ambiental directo.

12. PPRESUPUESTO DEL PROYECTO

El presente proyecto cuenta con un presupuesto que engloba los siguientes costos recolección de muestras, materiales de laboratorio, reactivos, análisis moleculares, transporte, equipos, papelería y otros gastos indispensables para que se cumplan los objetivos planteados de manera adecuada.

Característica	Costo unitario	Cantidad	Total
Prueba genómica, Axiom™ Bovine Genotyping v3 Array	20 dólares	54	1 080 dólares
Análisis lácteo, MilkoScan™ FT1	5,50 dólares	54	297 dólares
Movilización e insumos	20	30 visitas	600 dólares
	Total		1977 dólares

Tabla 4 Presupuesto

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1 Conclusiones

- La caracterización genómica del locus CSN2 A1/A2 mostró un predominio del alelo A2 en las vacas Holstein de primera lactancia evaluadas, siendo los genotipos A2A2 y A1A2 los más frecuentes.

- La comparación entre los genotipos A1A1, A1A2 y A2A2 no reveló diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de grasa láctea. Si bien las vacas A2A2 presentaron el valor medio más alto, los resultados no respaldan una asociación significativa entre el genotipo CSN2 A1/A2 y este componente de la leche.
- El genotipo CSN2 A1/A2 no debe considerarse un predictor aislado del contenido de grasa láctea. Su uso en programas de mejora genética debe complementar otros factores genéticos, productivos, nutricionales y ambientales que influyen en este rasgo.

13.2. Recomendaciones

- Futuros estudios deberían evaluar la relación entre los genotipos CSN2 A1/A2 y el contenido de grasa en la leche en poblaciones más amplias de ganado lechero, incluyendo diferentes hatos, regiones y sistemas de producción.
- En los estudios longitudinales incluir mediciones repetidas del porcentaje de grasa en la leche, la producción diaria de leche y la producción total de grasa a lo largo de la lactancia para identificar posibles diferencias relacionadas con el genotipo.
- En los análisis futuros considerar factores biológicos y ambientales relevantes, como la dieta, el rebaño, la estación del año, la condición corporal, el recuento de células somáticas, la salud de la ubre y la producción de leche, para estimar la contribución del genotipo CSN2.

14. BIBLIOGRAFÍAS

1. Singh A, Malla WA, Kumar A, Jain A, Thakur MS, Khare V, et al. Review: genetic background of milk fatty acid synthesis in bovines. Trop Anim Health Prod. 2023 Oct 26;55(5):328. doi:10.1007/s11250-023-03754-6

2. Bisutti V, Pegolo S, Giannuzzi D, Mota LFM, Vanzin A, Toscano A, et al. The β-casein (CSN2) A2 allelic variant alters milk protein profile and slightly worsens coagulation properties in Holstein cows. J Dairy Sci. 2022 May 1;105(5):3794–809. doi:10.3168/jds.2021-21537 PubMed PMID: 35248385.

3. Gutierrez-Reinoso MA, Aponte PM, Garcia-Herreros M. Genomic Analysis, Progress and Future Perspectives in Dairy Cattle Selection: A Review. Animals. 2021 Feb 25;11(3):599. doi:10.3390/ani11030599

4. Scott BA, Haile-Mariam M, MacLeod IM, Xiang R, Pryce JE. Evaluating the potential impact of selection for the A2 milk allele on inbreeding and performance in Australian

Holstein cattle. Frontiers in Animal Science. 2023 Apr 17;4. doi:10.3389/fanim.2023.1142673

5. Brooke-Taylor S, Dwyer K, Woodford K, Kost N. Systematic Review of the Gastrointestinal Effects of A1 Compared with A2 β-Casein. Advances in Nutrition. 2017 Sep;8(5):739–48. doi:10.3945/an.116.013953

6. Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. J Dairy Sci. 2009 Feb;92(2):433–43. doi:10.3168/jds.2008-1646

7. FAO. NORMA GENERAL PARA EL USO DE TÉRMINOS LECHEROS. 2022.

8. AlSulaiti B, Ferguson-Smith AC, Hanin G. From mammary glands to nutrients: genetic insights into milk composition. Biol Reprod. 2026 Feb 1;114(2):442–61. doi:10.1093/biolre/ioaf237 PubMed PMID: 41128813.

9. Garro-Aguilar Y, Fernández R, Calero S, Noskova E, Gulak M, de la Fuente M, et al. Acute Stress-Induced Changes in the Lipid Composition of Cow's Milk in Healthy and Pathological Animals. Molecules. 2023 Feb 1;28(3). doi:10.3390/molecules28030980

10. Milke García María, García Garibay Mariano, Maza Pastrana Mónica, Pérez Lizaur Mónica, Legorreta Cao Paola, Moncada Jiménez Alfonso, et al. libro_blanco_de_la_leche. Litho Offset. 2011 Mar;1:15–32.

11. Sanjulián L, Fernández-Rico S, González-Rodríguez N, Cepeda A, Miranda JM, Fente C, et al. The Role of Dairy in Human Nutrition: Myths and Realities. Nutrients . Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2025. doi:10.3390/nu17040646 PubMed PMID: 40004974.

12. Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. Bovine milk in human nutrition - A review. Lipids in Health and Disease. 2007. doi:10.1186/1476-511X-6-25 PubMed PMID: 17894873.

13. Romero del Castillo RS, Mestres Lagarriga J. La leche y los productos lácteos como alimentos composición y estructura en productos lácteos. Cataluña: Ediciones UPC; 2004.

14. Badui S, Badui D. Química de los alimentos [Internet]. Cuarta edición. Quintanar Duarte Enrique, editor. Méxco: PEARSON EDUCACIÓN; 2006. Available from: www.pearsoneducacion.net

15. Tian Z, Zhang Y, Zhang H, Sun Y, Mao Y, Yang Z, et al. Transcriptional regulation of milk fat synthesis in dairy cattle. Journal of Functional Foods. Elsevier Ltd; 2022. doi:10.1016/j.jff.2022.105208

16. Dimberg L. Bioactive components in milk and dairy products [Internet]. 2016. Available from: http://stud.epsilon.slu.se

17. Costa A, Lopez-Villalobos N, Sneddon NW, Shalloo L, Franzoi M, De Marchi M, et al. Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. J Dairy Sci. 2019 Jul 1;102(7):5883–98. doi:10.3168/jds.2018-15955 PubMed PMID: 31079905.

18. Zhou C, Li C, Cai W, Liu S, Yin H, Shi S, et al. Genome-wide association study for milk protein composition traits in a chiniese holstein population using a single-step approach. Front Genet. 2019;10(FEB). doi:10.3389/fgene.2019.00072

19. de Vasconcelos ML, Oliveira LMFS, Hill JP, Vidal AMC. Difficulties in Establishing the Adverse Effects of β-Casomorphin-7 Released from β-Casein Variants—A Review. Foods. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023. doi:10.3390/foods12173151

20. Padilla Doval J, Zambrano Arteaga JC. Estructura, propiedades y genética de las caseínas de la leche: una revisión. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2021 Dec 31;16(3):62–95. doi:10.21615/cesmvz.5231

21. Gallinat JL, Qanbari S, Drögemüller C, Pimentel ECG, Thaller G, Tetens J. DNA-based identification of novel bovine casein gene variants. J Dairy Sci. 2013 Jan;96(1):699–709. doi:10.3168/jds.2012-5908 PubMed PMID: 23102962.

22. Caroli A, Rizzi R, Lühken G, Erhardt G. Short communication: Milk protein genetic variation and casein haplotype structure in the Original Pinzgauer cattle. J Dairy Sci. 2010 Mar;93(3):1260–5. doi:10.3168/jds.2009-2521 PubMed PMID: 20172246.

23. Caroli AM, Chessa S, Erhardt GJ. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. Journal of Dairy Science. American Dairy Science Association; 2009. p. 5335–52. doi:10.3168/jds.2009-2461 PubMed PMID: 19841193.

24. Barroso A, Dunner S, Cañón J. POLIMORFISMO GENÉTICO DE LAS LACTOPROTEÍNAS DE LOS RUMIANTES DOMÉSTICOS-REVISIÓN R E SUM EN. Vol. 9. 1999.

25. Farrell HM, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, et al. Nomenclature of the proteins of cows' milk - Sixth revision. J Dairy Sci. 2004;87(6):1641–74. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6 PubMed PMID: 15453478.

26. Pal S, Woodford K, Kukuljan S, Ho S. Milk intolerance, beta-casein and lactose. Nutrients. MDPI AG; 2015. p. 7285–97. doi:10.3390/nu7095339 PubMed PMID: 26404362.

27. Cieślińska A, Fiedorowicz E, Rozmus D, Sienkiewicz-Szłapka E, Jarmołowska B, Kamiński S. Does a Little Difference Make a Big Difference? Bovine β-Casein A1 and A2

Variants and Human Health—An Update. International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022. doi:10.3390/ijms232415637 PubMed PMID: 36555278.

28. Casas E, Kehrli ME. A Review of Selected Genes with Known Effects on Performance and Health of Cattle. Front Vet Sci. 2016 Dec 15;3. doi:10.3389/fvets.2016.00113

29. Kamiński S, Śmiełowski J, Malewski T, Oleński K, Tokarska M. Occurrence of the beta-casein allele A1 in Bovidae species. Animal Science and Genetics. 2024 Jun 30;20(2):17–26. doi:10.5604/01.3001.0054.5676

30. Woodford K. A vibrant rural economy the challenge for balance edited by Seamus O'Reilly et al peer reviewed papers Vol 1. International Farm Management Association; 2007.

31. Cartuche-Macas LF, Navarrete-Mera JF, Gutiérrez-Reinoso MA, García-Herreros M. Differential A1/A2 β-casein (CSN2) gene-derived allelic and genotypic frequencies across Ecuadorian exotic dairy cattle breeds. Front Vet Sci. 2025;12. doi:10.3389/fvets.2025.1616426

32. Kulibaba R, Sakhatskyi M, Liashenko Y. Comparative analysis of A1 and A2 allele detection efficiency for bovine CSN2 gene by AS-PCR methods. Acta Biochim Pol. 2023;70(1):205–9. doi:10.18388/abp.2020_6530 PubMed PMID: 36773313.

33. Gholami M, Hafezian SH, Rahimi G, Farhadi A, Rahimi Z, Kahrizi D, et al. Allele specific-PCR and melting curve analysis showed relatively high frequency of β-casein gene A1 allele in Iranian Holstein, Simmental and native cows. Cell Mol Biol. 2016;62(12):138–43. doi:10.14715/cmb/2016.62.12.23 PubMed PMID: 27894411.

34. Reinaldo D, Leal C, Fabián D, Delgado F, Mario C, Cañas D, et al. GENOTYPIC AND ALLELIC FREQUENCIES OF B-CASEIN IN CATTLE IN THE DEPARTMENT OF PUTUMAYO [Internet]. Vol. 9. 2024. Available from: https://orcid.org/0009-

35. Reiche AM, Martín-Hernández MC, Spengler Neff A, Bapst B, Fleuti C, Dohme-Meier F, et al. The A1/A2 β-casein genotype of cows, but not their horn status, influences peptide generation during simulated digestion of milk. J Dairy Sci. 2024 Sep 1;107(9):6425–36. doi:10.3168/jds.2024-24403 PubMed PMID: 38490553.

36. Puga-Torres B, Aragón Vásquez E, Ron L, Álvarez V, Bonilla S, Guzmán A, et al. Milk Quality Parameters of Raw Milk in Ecuador between 2010 and 2020: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. Foods. 2022 Nov 1;11(21). doi:10.3390/foods11213351

37. Vizarra R, Tapia D, Lasso R. HISTORIA DE LA LECHERÍA ECUATORIANA. 2015.

38. Scherf BD., Pilling Dafydd. The second report on the state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2015. 562 p.

39. Bekele R, Taye M, Abebe G, Meseret S. Genomic Regions and Candidate Genes Associated with Milk Production Traits in Holstein and Its Crossbred Cattle: A Review. Int J Genomics. 2023 Jul 27;2023:1–18. doi:10.1155/2023/8497453

40. Guo Y, Wei Z, Zhang Y, Cao J. Research Progress on the Mechanism of Milk Fat Synthesis in Cows and the Effect of Conjugated Linoleic Acid on Milk Fat Metabolism and Its Underlying Mechanism: A Review. Animals. 2024 Jan 8;14(2):204. doi:10.3390/ani14020204

41. Rico DE, Razzaghi A. Animal board invited review: The contribution of adipose stores to milk fat: implications on optimal nutritional strategies to increase milk fat synthesis in dairy cows. Animal. Elsevier B.V.; 2023. doi:10.1016/j.animal.2023.100735 PubMed PMID: 36889250.

42. Mu T, Hu H, Ma Y, Feng X, Zhang J, Gu Y. Regulation of Key Genes for Milk Fat Synthesis in Ruminants. Frontiers in Nutrition. Frontiers Media S.A.; 2021. doi:10.3389/fnut.2021.765147

43. Mohan MS, O'Callaghan TF, Kelly P, Hogan SA. Milk fat: opportunities, challenges and innovation. Crit Rev Food Sci Nutr. 2021 Aug 6;61(14):2411–43. doi:10.1080/10408398.2020.1778631

44. Hanuš O, Samková E, Křížová L, Hasoňová L, Kala R. Role of Fatty Acids in Milk Fat and the Influence of Selected Factors on Their Variability—A Review. Molecules. 2018 Jul 4;23(7):1636. doi:10.3390/molecules23071636

45. Lakhani P, Rautela A, Punia PS, Singh RP. Impact of mastitis on the composition and quality of milk. In: Handbook of Milk Production, Quality and Nutrition. Elsevier; 2025. p. 627–39. doi:10.1016/B978-0-443-24820-7.00040-7

46. Pegolo S, Toscano A, Bisutti V, Vanzin A, Giannuzzi D, Gallo L, et al. Associations between subclinical intramammary infection and milk fatty acid profile at the quarter level in Holstein cattle. animal. 2023 Oct;17(10):100978. doi:10.1016/j.animal.2023.100978

47. Tulipano G. Role of bioactive peptide sequences in the potential impact of dairy protein intake on metabolic health. International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 1–27. doi:10.3390/ijms21228881 PubMed PMID: 33238654.

48. Arens SC, Sharpe KT, Schutz MM, Hardie LC, Dechow CC, Heins BJ. Relationships of beta-casein genetics with production, fertility, and survival of purebred organic Holstein dairy cows. JDS Communications. 2023 Nov 1;4(6):458–63. doi:10.3168/jdsc.2022-0367

49. Jarmołowska B, Sidor K, Iwan M, Bielikowicz K, Kaczmarski M, Kostyra E, et al. Changes of β-casomorphin content in human milk during lactation. Peptides (NY). 2007 Oct;28(10):1982–6. doi:10.1016/j.peptides.2007.08.002

50. Pratelli G, Tamburini B, Badami GD, Lo Pizzo M, De Blasio A, Carlisi D, et al. Cow's Milk: A Benefit for Human Health? Omics Tools and Precision Nutrition for Lactose Intolerance Management. Nutrients. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024. doi:10.3390/nu16020320 PubMed PMID: 38276558.

51. Boutrou R, Gaudichon C, Dupont D, Jardin J, Airinei G, Marsset-Baglieri A, et al. Sequential release of milk protein-derived bioactive peptides in the jejunum in healthy humans. American Journal of Clinical Nutrition. 2013 Jun 1;97(6):1314–23. doi:10.3945/ajcn.112.055202 PubMed PMID: 23576048.

52. Song CH, Kim N, Choi Y, Kim S, Kim KS, Park MH, et al. Beneficial effect of consuming milk containing only A2 beta-casein on gut microbiota: A single-center, randomized, double-blind, cross-over study. PLoS One. 2025 May 1;20(5 May). doi:10.1371/journal.pone.0323016 PubMed PMID: 40338897.

53. Milan AM, Shrestha A, Karlström HJ, Martinsson JA, Nilsson NJ, Perry JK, et al. Comparison of the impact of bovine milk β-casein variants on digestive comfort in females self-reporting dairy intolerance: A randomized controlled trial. American Journal of Clinical Nutrition. 2020 Jan 1;111(1):149–60. doi:10.1093/ajcn/nqz279 PubMed PMID: 31773165.

54. Ho S, Woodford K, Kukuljan S, Pal S. Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study. Eur J Clin Nutr. 2014 Sep 2;68(9):994–1000. doi:10.1038/ejcn.2014.127

55. Latorre G, Besa P, Parodi CG, Ferrer V, Azocar L, Quirola M, et al. Prevalence of Lactose Intolerance in Chile: A Double-Blind Placebo Study. Digestion. 2014;90(1):18–26. doi:10.1159/000363229

56. Cryan JF, O'Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu K V., Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The Microbiota-Gut-Brain Axis. Physiol Rev. 2019 Oct 1;99(4):1877–2013. doi:10.1152/physrev.00018.2018

57. Padberg S, Schumm-Draeger PM, Petzoldt R, Becker† F, Federlin K. Wertigkeit von A1- und A2-Antikörpern gegen β-Kasein beim Typ-1-Diabetes mellitus. DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift. 2008 Mar 25;124(50):1518–21. doi:10.1055/s-2007-1023884

58. Clemens RA. Milk A1 and A2 Peptides and Diabetes. In. 2011. p. 187–95. doi:10.1159/000325584

59. Ghavi Hossein-Zadeh N. An overview of recent technological developments in bovine genomics. Vet Anim Sci. 2024 Sep;25:100382. doi:10.1016/j.vas.2024.100382

60. Schwenker JA, Friedrichsen M, Waschina S, Bang C, Franke A, Mayer R, et al. Bovine milk microbiota: Evaluation of different DNA extraction protocols for challenging samples. Microbiologyopen. 2022 Apr 31;11(2). doi:10.1002/mbo3.1275

61. ThermoFisher SCIENTIFIC. Enabling effective breeding programs with verified beef and dairy content. 2022.

62. Ferrand-Calmels M, Palhière I, Brochard M, Leray O, Astruc JM, Aurel MR, et al. Prediction of fatty acid profiles in cow, ewe, and goat milk by mid-infrared spectrometry. J Dairy Sci. 2014;97(1):17–35. doi:10.3168/jds.2013-6648 PubMed PMID: 24268398.

63. Consorcio de Gobiernos Autónomos Provinciales del Ecuador. Provincia de Cotopaxi. 2025.

64. Gai N, Uniacke-Lowe T, O'Regan J, Goulding DA, Kelly AL. Influence of β-casein genotype on physicochemical properties and functionality of bovine milk. J Dairy Sci. 2023 Dec 1;106(12):8357–67. doi:10.3168/jds.2023-23687 PubMed PMID: 37641250.

65. Clegg RA, Barber MC, Pooley L, Ernens I, Larondelle Y, Travers MT. Milk fat synthesis and secretion: molecular and cellular aspects. Livest Prod Sci. 2001 Jul;70(1–2):3–14. doi:10.1016/S0301-6226(01)00194-4

66. Osorio JS, Lohakare J, Bionaz M. Biosynthesis of milk fat, protein, and lactose: roles of transcriptional and posttranscriptional regulation. Physiol Genomics. 2016 Apr;48(4):231–56. doi:10.1152/physiolgenomics.00016.2015

67. Perna A, Intaglietta I, Simonetti A, Gambacorta E. The influence of casein haplotype on morphometric characteristics of fat globules and fatty acid composition of milk in Italian Holstein cows. J Dairy Sci. 2016 Apr;99(4):2512–9. doi:10.3168/jds.2015-10397

68. Vallas M, Kaart T, Värv S, Pärna K, Jõudu I, Viinalass H, et al. Composite β-κ-casein genotypes and their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows. J Dairy Sci. 2012 Nov;95(11):6760–9. doi:10.3168/jds.2012-5495

69. Ng-Kwai-Hang KF, Hayes JF, Moxley JE, Monardes HG. Variation in Milk Protein Concentrations Associated with Genetic Polymorphism and Environmental Factors. J Dairy Sci. 1987 Mar;70(3):563–70. doi:10.3168/jds.S0022-0302(87)80042-5

70. Ng-Kwai-Hang KF, Hayes JF, Moxley JE, Monardes HG. Association of Genetic Variants of Casein and Milk Serum Proteins with Milk, Fat, and Protein Production by Dairy Cattle. J Dairy Sci. 1984 Apr;67(4):835–40. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81374-0

71. da Fonseca D de CM, Vasconcellos AN, Marino ED, Chequer TN, Oliveira LMFS, Negrão JA, et al. Association of β-casein gene polymorphism with milk production characteristics in Holstein cows. JDS Communications. 2025 Jul;6(4):548–51. doi:10.3168/jdsc.2025-0746

15. ANEXOS

Anexo 1. Tabla 5 Distribución y descubrimiento de las variantes genéticas de las caseínas presentes en bovinos

Tipo de caseína	Gen	Variantes genéticas	Raza/especie	Autor/Año
αS1-caseína	**CSN1S1**	A	Holstein-Friesian, Red Danish, German Red, Kostroma	Thompson *et al.* (1962)
		B	*Bos indicus*, Holstein, Siboney de Cuba	Thompson *et al.* (1962); Kishore (2013); Molee (2015); Acosta (2016)
		C	Holstein	Molee (2015)
		E	*Bos grunniens*	Grosclaude *et al.* (1976)
		F, G, H	*Bos taurus*	Erhardt (1993); Mariani *et al.* (1993); Mahé *et al.* (1999)
		I	*Bos taurus* y *Bos indicus*	Lühken *et al.* (2009)
αS2-caseína	**CSN1S2**	A	Holstein, Siboney de Cuba	Molee (2015); Acosta (2016)
		D	*Bos taurus*	Whitney (1988); Acosta (2016)

β-caseína	**CSN2**	A1	Holstein-Friesian	Farrell *et al.* (2004); Molee (2015); Ristanic (2020)
		A2	Holstein-Friesian	Farrell *et al.* (2004); Oleński (2012); Molee (2015); Ristanic (2020)
		B	Holstein, Siboney de Cuba	Farrell *et al.* (2004); Molee (2015); Acosta (2016)
		A	Frieswal, Gyr, *Bos taurus*	Kemenes (1999); Alipanah *et al.* (2007); Deb (2014); Shaidullin (2020)

Fuente: Adaptado de Estructura, propiedades y genética de las caseínas de la leche: una revisión (20).

Anexo 2. Aval de traducción.

AVAL DE TRADUCCIÓN - PROFESIONAL EXTERNO

Yo Mena Barthelotty Alison Paulina, con cédula de identidad número: 0501801252, Licenciada en Ciencias de la Educación Especialización Inglés con número de registro de la SENESCYT No. ***1020-06-657642***; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma Inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: **"EFECTO DEL GENOTIPO DETERMINANTE BETA-CASEINA A1 Y A2 EN LA PRODUCCIÓN DE GRASA EN LA LECHE EN GANADO BOVINO"** de: **Ramos Sanchez Evelyn Johanna,** de la carrera de **MEDICINA VETERINARIA** perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

En virtud de lo expuesto y para constancia de lo mismo se registra la firma respectiva.

Latacunga, 07 de agosto del 2026



Alison Paulina Mena Barthelotty
C.I: 0501801252
Email: alisonmena914@gmail.com
Contacto: 0992662355