

VARIABILIDAD GENÉTICA DE CASEÍNAS EN LA RAZA OVINA MERINA

CASEIN GENETIC VARIANTS IN OVINE MERINO BREED

Serrano Moyano, B.¹, A.I. Garzón Sígler¹, G. Garro², L. Chianese² y J. Martínez Hens¹

¹Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Avda. Medina Azahara s/n. Córdoba. 14005 España. E-mail: pa2sem@lucano.uco.es

²Departamento de Ciencia y Tecnología Alimentaria de la Universidad de Estudios de Nápoles Federico II. Via Università, 100. 80055 Portici (Nápoles). Italia.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Polimorfismo genético. Proteínas lácteas. Isoelectroenfoque.

ADDITIONAL KEYWORDS

Genetic polymorphism. Milk proteins. Isoelectric focusing.

RESUMEN

El polimorfismo genético de la leche de oveja Merina fue investigado mediante electroforesis en gel de poliacrilamida a pH 8,6 (PAGE) e isoelectroenfoque en gel ultrafino (UTLIEF), siguiendo las técnicas descritas por Krause *et al.* (1988) y Chianese *et al.* (1992).

Dentro de las fracciones caseínicas se identificaron siete fenotipos de α_{s1} -caseína (CC, BB, BC, AB, AC, BD y CD), según la nomenclatura establecida por Chianese *et al.* (1996). Mientras que, a nivel de α_{s2} - y β -caseína se han observado tres perfiles electroforéticos, denominados provisionalmente F, S e I; K, L y M respectivamente, ya que no se conoce su segregación genética.

Se presenta la distribución fenotípica de las fracciones caseínicas estudiadas, así como su ajuste a la distribución normal.

electrophoresis at pH 8.6 and ultra thin-layer isoelectric focusing techniques, according to Krause *et al.* (1988), and Chianese *et al.* (1992).

The casein fractions identified were:

- Seven α_{s1} -casein phenotypes: CC, BB, BC, AB, AC, BD and CD (Chianese *et al.*, 1996).

- Three α_{s2} -casein phenotypes, provisionally nominated F, S, and I.

- Three β -casein phenotypes, also provisionally nominated K, L and M, because their genetic segregation is not well known yet.

The phenotypical distribution of the observed casein fractions and their adjustment to a normal distribution is presented.

SUMMARY

The genetic polymorphism on Merina ewe milk was investigated, using polyacrylamide gel

INTRODUCCIÓN

Desde 1955, año en que Aschaffenburg y Drewry descubrieron la existencia de polimorfismo en una proteína láctea (β -lactoglobulina), se han

Arch. Zootec. 48: 197-206. 1999.

desarrollado muchas investigaciones sobre este tema, fundamentalmente en leche de vaca.

Los primeros estudios sobre variantes genéticas de las proteínas lácteas en ganado ovino fueron realizados por Bell y McKenzie (1964) sobre la β -lactoglobulina, y por King (1966) sobre la α_s -caseína.

A partir de estos estudios, se han realizado distintos trabajos que intentan determinar el polimorfismo de las fracciones caseínicas (Dall'Olio *et al.*, 1990; Chianese *et al.*, 1990 y 1996; Davoli *et al.*, 1990; Addeo *et al.*, 1992; López-Gálvez, 1993) y de las proteínas del suero (López-Gálvez *et al.*, 1990, 1994; López-Gálvez, 1993; Garzón *et al.*, 1992; Martínez *et al.*, 1993; Garzón, 1996; Recio *et al.*, 1997) en leche de oveja.

Chianese *et al.* (1996) encontraron, mediante técnicas electroforéticas e inmunoquímicas, cinco variantes para la fracción α_{s1} -Cn (A, B, C, D y E) en leche de ovejas italianas.

Respecto a la fracción β -Cn, este grupo de investigadores evidenciaron, mediante técnicas de inmunotransferencia, cinco perfiles electroforéticos: tres de ellos (Tipos I, II y III) presentan una heterogeneidad similar, diferenciándose sólo en la intensidad relativa de las siete bandas de la β -Cn. El cuarto perfil (Tipo IV) es similar a los anteriores, excepto por la ausencia de la banda de menor migración estando, por tanto, constituido por seis bandas. El Tipo V está formado por dos bandas principales y una de migración más rápida al complejo anterior (Chianese *et al.*, 1995).

Existen algunos trabajos que han

confirmado que la κ -Cn no presenta variabilidad genética en ganado ovino (Chianese *et al.*, 1992; López-Gálvez *et al.*, 1994).

Al igual que ocurre en ganado vacuno (Ng-Kwai-Hang and Grosclaude, 1992), se ha encontrado que la variabilidad caseínica en ovino se debe no sólo a la existencia de polimorfismo genético (cuatro fracciones caseínicas, cada una con diferentes alelos), sino también a modificaciones postranscripcionales, que no se corresponden a un verdadero polimorfismo genético (formas no alélicas de las caseínas, fracciones caseínicas discretamente fosforiladas y κ -Cn glicosilada) y a productos de proteólisis (γ -Cn derivadas de la β -Cn) (Addeo *et al.*, 1997), que se observan a nivel electroforético dependiendo de la técnica utilizada.

El objetivo del presente estudio es la identificación de las variantes genéticas de las fracciones caseínicas, mediante diferentes técnicas electroforéticas, de una muestra de la población de ovino Merino del valle de los Pedroches, con el fin de conocer sus frecuencias relativas y comprobar si se ajustan a una distribución normal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 168 ovejas de raza Merina, de igual época de parto (noviembre-diciembre 1996) y distribuidas en cuatro ganaderías de la comarca del valle de Los Pedroches (Córdoba). La elección de estas cuatro ganaderías se realizó en función de una encuesta directa a los ganaderos de las explotaciones ovinas lecheras de la

comarca, designando las ganaderías a estudiar sobre la base de su accesibilidad y disponibilidad.

Se realizaron cuatro controles con una frecuencia quincenal a lo largo del periodo de ordeño. Del ordeño manual de la mañana se tomaron 80 ml de leche individual, en botes identificados con etiquetas que llevaban el número de cada animal, la sigla de la ganadería y el número de control.

Las muestras se mantuvieron en refrigeración (4°C) y no se les añadió conservante en la fase de recogida.

La separación de los componentes proteicos de la leche, caseína y suero, se realizó según la técnica descrita por Garzón (1996). Posteriormente, se procedió a la preparación de las muestras según la técnica descrita por Aschaffenburg y Drewry (1959).

Las fracciones caseínicas se analizaron mediante las siguientes técnicas electroforéticas:

- Electroforesis vertical en gel de poliacrilamida a pH alcalino (PAGE). Se utilizó un aparato de electroforesis vertical (Bio-Rad, Protean® IIx Cell) con alimentador Power Supply ECPS 2000/300 (LKB-Pharmacia). El desarrollo de la prueba se realizó a 220 V, 150 mA y 100W, durante 6 horas (Chianese *et al.*, 1990).

- Isoelectroenfoque en gel ultrafino de poliacrilamida (UTLIEF). Se utilizó un aparato Multiphor II (LKB-Pharmacia) con alimentador Power Supply 2297 Macrodrive (LKB-Pharmacia). Las condiciones generales de desarrollo son: 2000-2800 V, 4-20 mA, 5-15 W, con un gradiente de pH 2,5-6-5 y durante 3 horas (Krause *et al.*, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

TÉCNICAS ELECTROFORÉTICAS

Electroforesis vertical en gel de poliacrilamida a pH alcalino (PAGE)

La **figura 1** muestra los perfiles electroforéticos obtenidos de muestras de caseína representativas de la población ovina estudiada.

Las fracciones caseínicas se disponen en dos zonas: una primera zona de menor movilidad (**figura 1, A**), representada por el complejo de la b-Cn y la k-Cn (esta última solapada bajo la b₁-Cn), y otra de mayor movilidad (**figura 1, B**), representada por el complejo a_s-Cn (a_{s1}-Cn+ a_{s2}-Cn).

Mediante esta técnica se han observado 7 fenotipos para la fracción a_{s1}-Cn que se han denominado, siguiendo la nomenclatura utilizada por Chianese *et al.* (1996):

- a_{s1}-Cn BB (**figura 1.1**) constituido por tres bandas, donde la central (b) presenta mayor resolución.

- a-Cn CC (**figura 1.2**) que presenta tres bandas, siendo la menos anódica (c) la que presenta mayor intensidad.

- a_{s1}-Cn BC (**figura 1.3**) representado por tres bandas, donde las dos bandas más catódicas (b y c) presentan similar intensidad, superior a la de la banda más anódica (a).

- a_{s1}-Cn BD (**figura 1.4**) constituido por cinco bandas. El triplete de bandas más anódico (a, b y c) constituye el perfil del fenotipo a_{s1}-Cn BB, al que se añaden dos bandas de migración más catódica (d y e).

- a_{s1}-Cn CD (**figura 1.5**) representado por cinco bandas. El triplete de bandas más anódico (a, b y c) constituye el perfil del fenotipo a_{s1}-Cn CC,

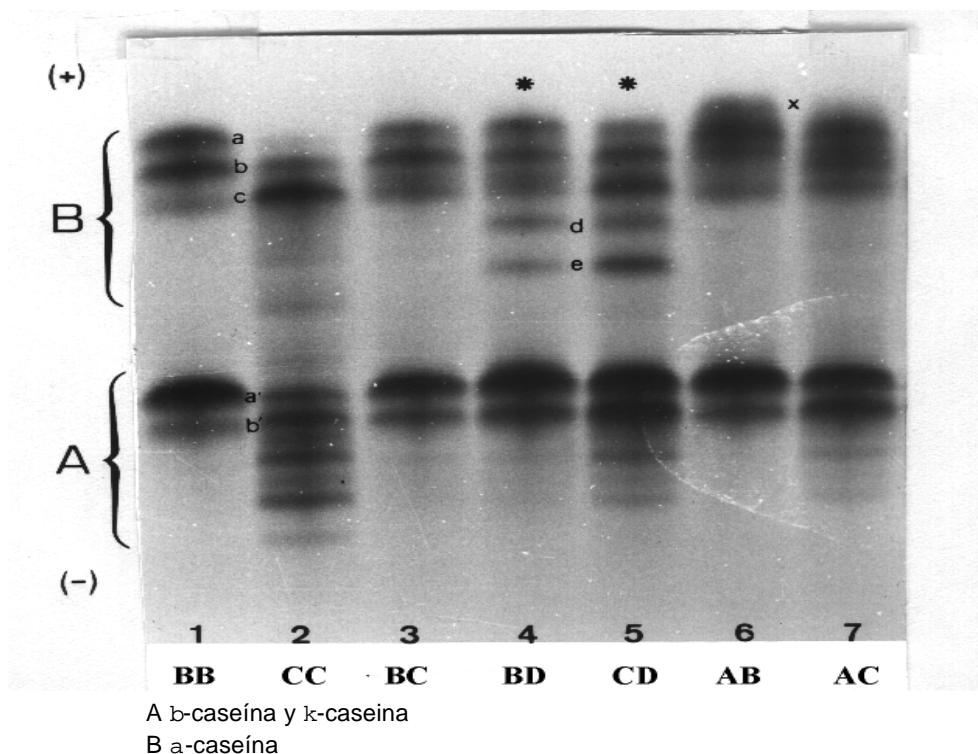


Figura 1. Electroforesis en gel de poliacrilamida a pH 8.6. Fenotipos de α_{s1} -Cn. 1: BB. 2: CC. 3: BC. 4: BD. 5: CD. 6: AB. 7: AC. (Polyacrylamide gel electrophoresis at pH 8.6. α_{s1} -Cn phenotypes. 1: BB. 2: CC. 3: BC. 4: BD. 5: CD. 6: AB. 7: AC.).

al que se añaden dos bandas de migración más catódica (*d* y *e*).

- α_{s1} -Cn AB (**figura 1.6**) representado por cuatro bandas, donde se observa una banda de migración más anódica (*x*), no presente en los fenotipos anteriores y, por tanto, marcadora de éste.

- α_{s1} -Cn AC (**figura 1.7**) formado por cuatro bandas. Al igual que en el fenotipo anterior, la banda marcadora sería la *x*. La diferencia, respecto al fenotipo α_{s1} -Cn AB, se presenta en la menor intensidad de resolución de la

banda marcadora.

Como ya se ha comentado, en la zona de migración de la α_{s1} -Cn, los fenotipos de las variantes A, B y C presentan un perfil electroforético similar, con 3 ó 4 bandas de migración, diferenciándose entre ellos por la intensidad de las bandas marcadoras de cada tipo. Sin embargo, los fenotipos con la variante D (indicado con un * en la **figura 1.4** y **1.5**) presentan un perfil electroforético diferente, de migración más catódica, respecto al de las anteriores (A, B y C). Su diferente

migración electroforética ha sido explicada por Ferranti *et al.*, (1995) según la estructura primaria de los alelos A, C y D - el B se ha encontrado, pero no ha sido secuenciado - presentándose diferencias entre aquellos en función de simples sustituciones silenciosas, que provocan la presencia de distinto número de grupos fosfato y, como consecuencia, la mayor carga negativa en el alelo A - de 9 a 11 grupos fosfato, y en el C - de 8 a 10 grupos fosfato- mientras que el D presenta una menor carga negativa - 5 grupos fosfato-.

Estos mismos autores han descrito la presencia de, al menos, de tres componentes principales en cada una de las variantes encontradas, denominados forma larga de la α_{s1} -Cn, que corresponden a tres diferentes niveles de fosforilación. En el presente estudio, estos tres niveles de fosforilación se han puesto de manifiesto con la utilización de esta técnica, quedando descritos en la **figura 1** (a, b y c).

Tomando como criterio de identificación de los fenotipos el número de bandas observadas, los perfiles de los tipos α_{s1} -Cn BB, CC y BC (**figura 1.1, 1.2 y 1.3**, respectivamente) son similares a los encontrados por distintos autores (King, 1966; Caroli *et al.*, 1989; Dall'Olio *et al.*, 1989).

Además del número de bandas, se ha tenido en cuenta la diferencia de intensidad de las mismas como criterio de identificación observando, en el presente estudio, perfiles similares a los descritos por López-Gálvez (1993). Así, el tipo α_{s1} -Cn BB coincide con el perfil T1 y el α_{s1} -Cn BC con el T3, mientras que se encuentra similitud entre el α_{s1} -Cn CC y el T2.

Respecto a los perfiles electroforéticos de los fenotipos de cinco bandas: α_{s1} -Cn BD y CD (**figura 1.4 y 1.5**, respectivamente), se han obtenido resultados similares, respecto al número de bandas, a los descritos por distintos autores (King, 1966; Caroli *et al.*, 1989; Dall'Olio *et al.*, 1989; Pieragostini *et al.*, 1989; Chianese *et al.*, 1992 y 1996).

En cuanto a los perfiles de cuatro bandas: α_{s1} -Cn AB y AC (**figura 1.6 y 1.7**, respectivamente), los resultados coinciden con aquellos encontrados por King (1966) y por Chianese *et al.* (1996). Basándose en la diferencia de intensidad de las bandas, se observa que el perfil α_{s1} -Cn AB (**figura 1.6**) corresponde al patrón Q1 descrito por López-Gálvez (1993).

Distintos autores, mediante electroforesis a pH alcalino, han observado dos tipos de patrones de la α_{s2} -Cn: uno con una banda más lenta (Chianese *et al.*, 1992) y otro, descrito en la raza Manchega, que se caracteriza por presentar dos bandas más rápidas (Chianese *et al.*, 1993) asociadas al complejo de la α_s -Cn, dando lugar a los perfiles que López-Gálvez (1993) ha denominado C y S respectivamente. La técnica utilizada en el presente trabajo no ha permitido resolver los fenotipos de la α_{s2} -Cn.

En la fracción β -Cn se observan tres perfiles electroforéticos denominados provisionalmente: K, L y M.

- El perfil *K* (veloz), se caracteriza por presentar dos bandas, donde la más anódica β_1 es de mayor intensidad respecto a la más catódica β_2 (**figura 1.1 y 6**).

- En el perfil *L* se observan las dos bandas principales (β_1 y β_2) y bandas satélites de la β -Cn con mediana inten-

sidad de resolución (**figura 1.2**).

- El perfil *M* está representado por dos bandas principales (β_1 y β_2) y bandas satélites de la β -Cn con una resolución menor que las pertenecientes al perfil *L* (**figura 1.3, 1.4, 1.5 y 1.7**).

Estos resultados corroboran los encontrados por Chianese *et al.* (1995), que observaron cinco perfiles electroforéticos para esta fracción que se diferencian entre ellos por presentar uno o más grupos fosfato, identificados según su masa molecular, y por la diferencia de intensidad de las bandas. Así, los patrones Tipo I, II y III son similares al perfil β -Cn *L* (**figura 1.2**); el Tipo IV coincide con el perfil β -Cn *K* (**figura 1.1**), mientras que el Tipo V se correspondería con el perfil β -Cn *M* (**figura 1.3**).

Chianese *et al.* (1990) han comparado los perfiles electroforéticos obtenidos a partir de muestras de caseínas con y sin adición de quimosina, demostrando la migración similar de la κ -Cn y la β -Cn en gel de poliacrilamida. Nuestros resultados coinciden con los de estos autores, al encontrar que, mediante esta técnica, la κ -Cn migra conjuntamente con la β_1 -Cn.

Isoelectroenfoque en gel ultrafino de poliacrilamida (UTLIEF)

En la **figura 2** se muestran los 7 patrones electroforéticos de α_{s1} -Cn - descritos anteriormente - analizados mediante isoelectroenfoque en gel ultrafino. Con esta técnica se observó una mayor heterogeneidad en la fracción α_{s1} -Cn. Esta heterogeneidad se basa en la intensidad relativa y en la diferente migración electroforética de las bandas que componen la α_{s1} -Cn.

El UTLIEF confirma los 7 fenotipos de α_{s1} -Cn, observados mediante PAGE, aunque se evidencian algunas diferencias entre las técnicas:

- Con el UTLIEF todos los fenotipos de la α_{s1} -Cn presentan el mismo patrón que en PAGE si bien se observa la focalización, entre las bandas principales, de otras con menor intensidad, denominadas por Ferranti *et al.* (1995) forma corta de la α_{s1} -Cn.

- En el fenotipo α_{s1} -Cn AB (**figura 2.6**) se observan dos bandas centrales (*a* y *b*) de mayor resolución. Sin embargo, para el fenotipo α_{s1} -Cn AC (**figura 2.7**) se encontró mayor resolución en la tercera banda más anódica (*b*).

En la zona de α_{s2} -Cn se observan tres perfiles electroforéticos, denominados provisionalmente: F, S e I.

- El perfil *F* presenta un subgrupo de tres bandas anódicas de baja focalización (**figura 2.1, zona D**).

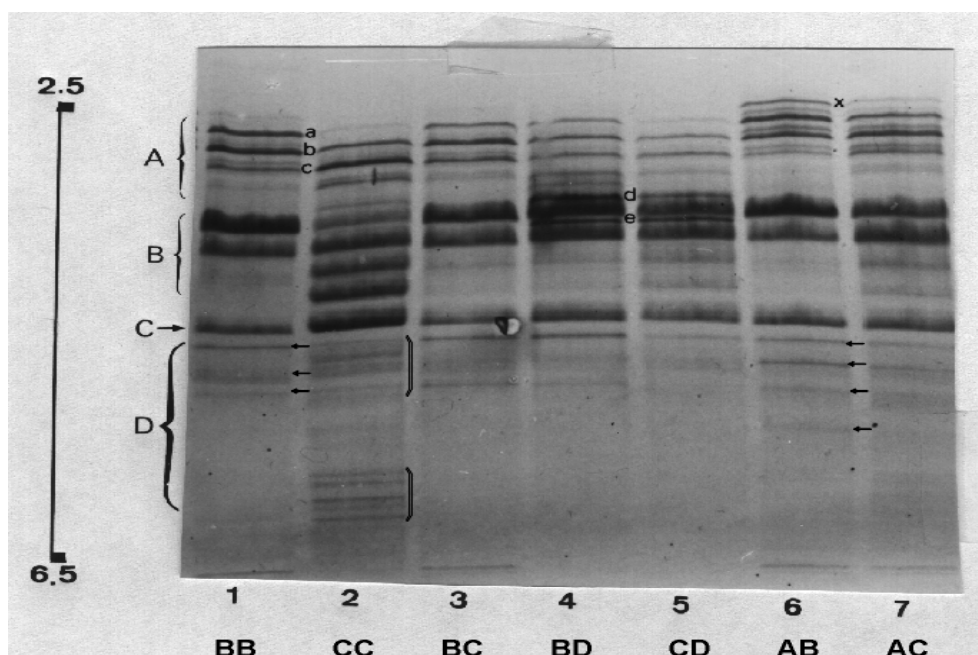
- El perfil *S* presenta dos subgrupos: uno de migración más anódica, con bandas de ligerísima focalización, y otro más catódico, con varias bandas de baja resolución (**figura 2.2, zona D**).

- El perfil *I* presenta un subgrupo de cuatro bandas de baja-media resolución (**figura 2.6, zona D**).

Respecto a la variabilidad de la α_{s2} -Cn ovina, no disponemos de otras referencias en el momento de redactar el presente trabajo.

La zona de la β -caseína muestra una mejor resolución de las bandas de focalización, respecto a la electroforesis alcalina, siendo más fácilmente diferenciables los tres perfiles electroforéticos descritos anteriormente.

CASEÍNAS ENGANADO OVINO



A α -caseína; B β -caseína; C κ -caseína y B α -caseína

Figura II. Isoelectroenfoque en gel ultrafino de poliacrilamida a pH 2.5-6.5. Fenotipos de α_{s1} -Cn. 1: BB. 2: CC. 3: BC. 4: BD. 5: CD. 6: AB. 7: AC. (Ultra-thin layers polyacrylamide gel isoelectric focusing at pH 2.5-6.5. α_{s1} -Cn phenotypes. 1: BB. 2: CC. 3: BC. 4: BD. 5: CD. 6: AB. 7: AC.).

Nuestros resultados coinciden con los de distintos autores (Chianese *et al.*, 1992; López-Gálvez *et al.*, 1994) que han observado, mediante isoelectroenfoque, que la κ -Cn se presenta formada por una sola banda de focalización que comigra con la última banda de las β -Cn satélites (figura 2.2).

DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS Y FENOTÍPICAS

α_{s1} -Cn

La **tabla I** muestra las frecuencias alélicas de las variantes de α_{s1} -Cn.

Los alelos A y D son de rara aparición en la población estudiada, con una frecuencia de 0,0297 y 0,0089, respectivamente. Los alelos C y B son los más comunes, con una frecuencia de 0,5476

Tabla I. Frecuencias alélicas de las variantes de α_{s1} -caseína. (α_{s1} -casein variants allelic frequencies).

A	B	C	D
0.0297	0.4137	0.5476	0.0089

y 0,4137, respectivamente.

En un estudio realizado en razas ovinas italianas (Chianese *et al.*, 1996), se ha observado una frecuencia alélica para el alelo D de 0,016, es decir, casi el doble a la observada en el presente estudio. Asimismo, se encontró el alelo α_{s1} -Cn E en baja frecuencia (0,005), alelo que no ha sido observado en el conjunto de la población estudiada en este trabajo.

Con respecto a la distribución de las frecuencias fenotípicas observadas en el presente estudio, el fenotipo más frecuente es el α_{s1} -Cn BC (70,8 p.100). Por el contrario, los menos frecuentes son los fenotipos α_{s1} -Cn CD y BD (0,6 y 1,2 p.100, respectivamente) (**tabla II**). No se han encontrado referencias bibliográfica respecto a la distribución fenotípica de esta fracción en otras razas ovinas.

La prueba χ^2 de significación para la fracción α_{s1} -Cn presenta valores altamente significativos ($\chi^2=52,298^{***}$) para el total de la muestra estudiada.

Tabla II. Frecuencias fenotípicas de la α_{s1} -caseína. (α_{s1} -casein phenotypic frequencies).

	CC	BB	BC	AB	AC	BD	CD
n	30	6	119	6	4	2	1
p.100	17.9	3.6	70.8	3.6	2.4	1.2	0.6

Ello significa que la población no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

β -Cn

Respecto a las frecuencias fenotípicas de los perfiles de la β -Cn, el más frecuente es el *M* (79,7 p.100), seguido del *L* (11,9 p.100) y, el *K* con una frecuencia del 8,3 p.100.

Al igual que ocurría con la fracción α_{s1} -Cn, en otras razas ovinas, no se han encontrado trabajos relacionados con la distribución fenotípica de la β -Cn.

BIBLIOGRAFÍA

- Addeo, F., R. Mauriello, L. Moio, P. Laezza and L. Chianese. 1992. Ovine casein variant identification using electrophoretic, immunochemical and chromatographic techniques. *Milchwissenschaft*, 47: 283-287.
- Addeo, F., P. Ferranti, G. Garro, P. Laezza and L. Chianese. 1997. Ovine casein heterogeneity: the analytical methods for its identification and some implications on the casein micelle structure. *Sci. Tec. Latt.-Casearia*, 59: 320-330.
- Aschaffenburg, R. and J. Drewry. 1955. Occurrence of different β -lactoglobulins in cow's milk. *Nature*, 176: 218-219.
- Aschaffenburg, R. and J. Drewry. 1959. New Procedure for the routine determination of the various noncasein proteins of milk. *15th International Dairy Congress*, London 3 1631-1637.
- Bell, K. and H.A. McKenzie. 1967. The whey proteins of ovine milk: b-lactoglobulins A and B. *Biochim. Biophys. Acta*, 147:123-134.
- Caroli, A., P. Bolla, G. Pagnacco and A. Fraghi. 1989. Studio sul controllo genetico del fenotipo Welsh di α_s -caseina nella pecore. *Atti. XXIV Symp. Int. Zootecnia*. Milán. Italia.

CASEÍNAS EN GANADO OVINO

- Chianese, L., R. Mauriello, L. Moio, N. Intorcia, R. Campus and F. Addeo. 1990. Casein Characterization in the Sarda ovine breed. *Proceedings of the XLIVth S.I.S. Vet. (Italian Society of Veterinary Science) National Congress*, Stresa 44 1701-1704.
- Chianese, L., R. Mauriello, L. Moio, N. Intorcia and F. Addeo. 1992. Determination of ovine casein heterogeneity using gel electrophoresis and immunochemical techniques. *J. Dairy Res.*, 59: 39-47.
- Chianese, L., G. Garro, F. Addeo, G. López-Gálvez and M. Ramos. 1993. Discovery of an ovine α s2-casein variant. *J. Dairy Res.*, 60: 485-493.
- Chianese, L., G. Garro, P. Ferranti, A. Malorni, F. Addeo, A. Rabasco and P. Molina. 1995. Discrete phosphorylation generates the electrophoretic heterogeneity of ovine b-casein. *Journal of Dairy Research*, 62: 89-100.
- Chianese, L., G. Garro, R. Mauriello, P. Laezza, P. Ferranti and F. Addeo. 1996. Occurrence of five α s1-casein variants in ovine milk. *J. Dairy Res.*, 63: 49-59.
- Dall'Olio, S., R. Davoli and P. Bosi. 1989. Ricerche elettroforetiche delle proteine del latte nella razza ovina Sopravvisana. *Sci. Tecn. Latt.-Casearia*, 40: 189-194.
- Dall'Olio, S., R. Davoli and V. Russo. 1990. Affinity chromatography of ovine casein. *J. Dairy Sci.*, 73: 1707-1711.
- Davoli, R., S. Dall'Olio and V. Russo. 1990. Prove in favore dell'attribuzione all' α s1-caseina della variante Welsh. *Sci. Tec. Latt.-Casearia* 41: 327-333.
- Ferranti, P., A. Malorni, G. Nitti, P. Laezza, R. Pizzano, L. Chianese and F. Addeo. 1995. Primary structure of ovine α s1-casein: localization of phosphorylation sites and characterization of genetic variants A, C and D. *Journal of Dairy Research*, 62: 281-296.
- Garzón, A.I., J. Martínez, V. Montoro and F. Aparicio. 1992. β -lactoglobulinas en la raza ovina Manchega. I. Relación con el pH, caseína total y rendimiento en cuajada. 43rd Ann. Meet. EEAP. Madrid. España.
- Garzón, A. 1996. Incidencia de las variante genéticas de las proteínas lácteas sobre al aptitud tecnológica de la leche en ovejas de raza Manchega. *Tesis Doctoral*. Universidad de Córdoba. 301 pp.
- King, J.W.B. 1966. The caseins of sheep's milk. En: *Polimorphismes Biochimiques des animaux*. I.N.R.A. (Ed.). París. Francia. pp. 427-431.
- Krause, I., J. Buchberger, G. Weiss, M. Pflügler and H. Klostermeyer. 1988. Isoelectric focussing in immobilized pH gradients with carrier ampholytes added for high-resolution phenotyping of bovine β -lactoglobulins: Characterization of a new genetic variant. *Electrophoresis*, 9: 609-613.
- López-Gálvez, G., L. Amigo, M. Ramos and M. Juárez. 1990. Polimorfismo genético en proteínas lácteas de leche de oveja de diferentes razas. Proc. of 23rd Int. Dairy Congress. Montreal. Canadá. Vol.1: 33. Poster nº 58.
- López-Gálvez, G., 1993. Estudio del polimorfismo de las proteínas de leche de oveja de las razas Manchega y Segureña. Aptitud a la coagulación y rendimiento quesero. *Tesis Doctoral*. Universidad complutense. Facultad de Veterinaria. Madrid.
- López-Gálvez, G., L. Amigo and M. Ramos. 1994. Genetic polymorphism of whey proteins in two ovine breeds. *Milchwissenschaft*, 49: 123-125.
- Martínez, J., A. Garzón, A. Mendez, F. Aparicio and A. Vera. 1993. β -lactoglobulin genetic variants influence on pH, total casein and curd yield in Manchega sheep breed. *Arch. Zootec.*, 42: 245-252.
- Ng-Kwai-Hang, K.F and F. Grosclaude. Genetic polymorphism of milk proteins. En: *Advanced dairy chemistry*. Vol. I: proteins. P.F. Fox (Ed.). Elsevier Applied Science. 1992. London y New York. 781 pp.
- Pieragostini, E., L. Chianese, R. Mauriello and C.

- D'Acierno. 1989. Polimorfismo delle caseine in pecore di razza Leccese. *Atti. Soc. Ital. Sci. Vet.*, 43: 1875-1879.
- Recio, I., A. Fernández-Fournier, P.J. Martín-Álvarez and M. Ramos. 1997. β -Lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheesemaking properties and milk composition. *Lait*, 77: 259-265.

Recibido: 14-10-98. Aceptado: 9-3-99.

Archivos de zootecnia vol. 48, núm. 182, p. 206.