

## IMPACTO DE LA BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR LÁCTEO. Potenciales nichos de aplicación en Chile.

Andrés Carvajal<sup>1\*</sup>, Ricardo Felmer<sup>2</sup>, Fernando Mujica<sup>3</sup>, Manuel Ortíz<sup>4</sup>, Boris Sagredo<sup>5</sup>, Ximena Valderrama<sup>3</sup>.

1, Laboratorio de Biotecnología, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Remehue, Osorno.

2, Laboratorio de Biotecnología Animal, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Carillanca, Temuco.

3, Instituto de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

4, Laboratorio de Marcadores Moleculares, Centro de Inseminación Artificial, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

5, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Rayentué, Rengo.

\* Contacto: Dr. Andrés Carvajal. INIA Remehue, Ruta 5 sur Km. 8, Casilla 24-0, Osorno, Chile. Fono: 64-450420. E-mail: [arcarvajal@inia.cl](mailto:arcarvajal@inia.cl)

Esta publicación es parte de las actividades del proyecto M3P3 “Evaluación productiva homologada de genotipos lecheros del rebaño nacional mediante el uso de herramientas biotecnológicas” y se enmarca en la plataforma de Ganado Lechero del Consorcio Tecnológico de la Leche S.A.

### Resumen

Los actuales y futuros escenarios del mercado lácteo requieren el desarrollo de productos mejorados con nuevas propiedades nutricionales y/o funcionales, o con ventajas para los procesos de producción. Gracias al actual desarrollo científico-tecnológico en especial del área de biología molecular, el rubro lechero tiene a mano diversas herramientas para trabajar hacia estos objetivos. La composición de la leche puede ser modificada para obtener mejores elementos bioactivos para la salud humana y también mejorar la calidad de sus derivados como queso, yogurt, mantequilla y otros. Leche con un contenido modificado de proteínas, grasas y azúcares o expresando componentes terapéuticos está comenzando a ser realidad, con objeto de prevenir o tratar enfermedades humanas o del propio animal. Mediante el análisis de genes y/o marcadores moleculares, los genetistas están identificando animales que naturalmente favorecen la expresión de rasgos o características deseadas en producción. La obtención de la secuencia del genoma del bovino permitirá identificar los genes que controlan la expresión de proteínas, grasas y azúcares en leche, pudiendo desarrollarse productos con mejores propiedades físicas y organolépticas a partir de animales más sanos y de mejor rendimiento. Grandes promesas se avizoran en el área pero aún se requiere un mejor desarrollo en la estandarización de métodos, el estudio acabado de los efectos de estas intervenciones en la salud humana y animal, consideraciones bioéticas y ambientales, generar conciencia social y de mercado para la aceptación de estos productos, y finalmente, obtener el marco regulatorio para su comercialización.

## Introducción

La Biotecnología se ha definido como toda aplicación tecnológica que utiliza sistemas biológicos, organismos vivos o derivados de éstos, para realizar o modificar productos o procedimientos con un uso específico (Convenio sobre la diversidad biológica, 1992), y como tal se ha utilizado desde tiempos remotos, por ejemplo, en la elaboración de pan, vino, cerveza, queso, etc. Durante los últimos años, se ha generado una revolución científica en el área de las ciencias biológicas debido a la llegada de métodos modernos de biología molecular y celular, los que han impactado fuertemente disciplinas como la genética, con lo que se ha redefinido la biotecnología como el uso de técnicas de biología celular y molecular, que incluye las nuevas áreas de las “ómicas”: genómica, proteómica y bioinformática.

Este nuevo concepto de la biotecnología está teniendo un gran impacto en diversas áreas del quehacer humano, incluyendo la producción animal y en particular el sector lácteo, donde están surgiendo aplicaciones hasta hace poco imposibles. Por ejemplo, la modificación de bacterias para mejorar el sabor y estabilidad del queso, o la generación de una bacteria transgénica expresando la enzima bovina quimosina, fundamental para la coagulación de  $\kappa$ -caseína en la fabricación de quesos, y que ya se utiliza en aprox. el 95% de la industria norteamericana. El desarrollo mediante biología molecular de nuevos cultivos de bacterias fermentadoras que afectan la maduración y aroma de quesos. La intervención nutricional y molecular así como el estudio e identificación de la variación genética natural permitirá el desarrollo de productos de mejor calidad y con un mayor valor agregado a partir de la leche y sus derivados.

Desde la domesticación del bovino y hasta ahora, el hombre ha logrado excelentes niveles de rendimiento mediante programas de manejo y selección basado en fenotipos. Hoy en día, el avance en el área de la ingeniería genética y el conocimiento de la información genética o genoma del bovino, está permitiendo desvelar los

genes que están detrás de cada característica asociada tanto a rasgos de interés productivo como de resistencia a enfermedades, así como la generación de productos lácteos con nuevas propiedades. Esto sumado al gran avance de las tecnologías de reproducción augura nuevos programas de selección basados en información genética precisa, los cuales serán más rápidos, económicos y precisos.

## Productos funcionales y procesamiento

Durante los últimos años se han identificado varios compuestos bioactivos derivados de la leche que además de su función nutricional poseen propiedades que afectan favorablemente la salud humana, por ejemplo, reduciendo el riesgo de enfermedades crónicas. La demanda de estos alimentos “funcionales” va en aumento y se estima en un mercado por sobre los US 25 mil millones anuales (Hilliam, 2003; Korhonen y Pihlanto, 2006). Estos compuestos están contenidos en las proteínas de la leche y son generados principalmente por proteólisis o el rompimiento de ellas por agentes como las bacterias acidolácticas (LAB, también conocidas como bacterias probióticas; Meisel, 2005; Fitzgerald y Murray, 2006). En varios países de Europa, Japón, USA y Australia se comercializan leches fermentadas y productos derivados como queso y yogurt, en donde se han identificado compuestos derivados de caseína, lactoferrina y otros con propiedades antihipertensivas, antimicrobiales, antitrombóticas e inmunomodulatorias (ejemplo, Calpis® y Evolus®, Festivo, Gouda; Clare et al, 2003; Hayes et al, 2007 B). Actualmente, los estudios se enfocan principalmente en la identificación de relaciones entre sistemas de proteólisis de proteínas en bacterias fermentadoras y generación de péptidos bioactivos para nutrición y farmacéutica, siendo la estabilidad y biodisponibilidad de estos compuestos las principales características.

La resistencia a degradación y biodisponibilidad han sido abordados mediante modificaciones químicas y desarrollando sistemas de encapsulación, pero recientemente, se están

utilizando técnicas de ingeniería genética en bacterias entéricas como bifidobacteria y lactobacilo, pudiendo también expresar otros componentes para tratar enfermedades como colitis o intolerancia a grasa (Shanahan, 2000; Hayes et al, 2007 A).

Respecto al proceso de fermentación de productos lácteos, numerosos avances han sido desarrollados en el área de cultivos de cepas bacterianas, sin embargo, la contaminación con bacteriófagos es una amenaza persistente en la industria. Estos agentes víricos infectan las bacterias acidolácticas provocando su lisis y muerte, aumentando el tiempo de fermentación o inhibiendo el proceso, lo que genera leche parcialmente acidificada. Diversos tratamientos como la utilización de medios inhibidores de fagos, rotación de cepas lácticas o mezclas de cepas permiten solucionar en parte este problema. En los años recientes, la aplicación de técnicas de biología molecular ha permitido mejorar los sistemas de defensa de las bacterias generando cepas de lactococos resistentes a bacteriófagos (Mc Grath et al, 2007).

Las acciones de los fagos no son sólo negativas. Se ha descrito que algunos poseen funciones líticas sobre las proteínas de la leche facilitando la formación del cuajo y ciertas propiedades de sabor. Asimismo, se ha observado que ciertas cepas bacterianas poseen en su propio ADN secuencias “profago”, es decir, que son en parte las mismas de los fagos, teniendo actividad autolítica, favoreciendo la maduración por ejemplo de quesos (Mc Grath et al, 2007). Otra característica de los bacteriófagos es su capacidad de destruir y eliminar de manera específica ciertas bacterias, lo que tiene una aplicación potencial para la inocuidad de la industria láctea y de alimentos en general. *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes* (la bacteria causante de listeriosis) pueden ser eliminadas casi en su totalidad mediante el uso de fagos. Actualmente, la compañía holandesa EBI comercializa el producto Listex P100 basado en una preparación del fago P100 (Carlton et al, 2005).

Por último, diversas acciones han sido realizadas sobre etapas del procesamiento

tecnológico de los productos lácteos. Por ejemplo, la estabilización de micelas de caseína mediante enzimas para la formación de textura y cuajo en la manufactura de queso y yogurt, generación de nuevas cepas bacterianas para controlar la acidez y pH del yogurt, generación de compuestos pre y probióticos, entre otros (Rastall and Maitin, 2002; Jaros et al, 2006; Ozrenk, 2006; Moller et al, 2007). Estas áreas demuestran que la tecnología y procesamiento de lácteos es un campo de activa investigación con objeto de mejorar el valor nutritivo y la inocuidad para los consumidores.



### Modificación de los principales componentes de la leche

La leche es uno de los fluidos biológicos más complejos y de significativa importancia como alimento básico a nivel mundial debido a la riqueza nutritiva de sus componentes. Su producción mundial excede los  $400 \times 10^9$  litros anuales y como sector lácteo engloba un mercado de US\$ 400 billones. Recientemente, se ha identificado la presencia de varios compuestos bioactivos de valor nutracéutico en leche

(Karatzas, 2003; Haug et al, 2007). De aquí el gran interés por mejorar o modificar la composición de sus diversos componentes.

- **Proteínas.** Un área de intervención de mucho interés es el aumento selectivo de los componentes proteicos de la leche, por ejemplo, las caseínas o el enriquecimiento de aminoácidos específicos con fines nutricionales y/o nutracéuticos. Existen varios tipos de caseínas siendo las más conocidas:  $\alpha_{s1}$ -caseína,  $\alpha_{s2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína y  $\kappa$ -caseína. Estas proteínas condicionan varias propiedades físicas de la leche y sus derivados siendo utilizadas en tabletas, bebidas y formulaciones, además de envolturas, adhesivos, plásticos y surfactantes (Karatzas, 2003). Los primeros estudios utilizando biología molecular fueron enfocados en generar ratones transgénicos que expresaban  $\beta$  ó  $\kappa$ -caseínas produciendo leche con mayor contenido de proteína y sólidos totales, favoreciendo así el rendimiento y cuajo del queso. Más recientemente, Brophy y colaboradores (2003) reportaron que bovinos transgénicos sobreexpresando (que expresan mayores cantidades de lo normal)  $\beta$  y  $\kappa$ -caseínas mostraban mayor contenido de caseína y proteína totales, con perfiles similares de ácidos grasos y aminoácidos e igual contenido de vitaminas en leche pero con pequeñas diferencias en queso (Laible et al, 2007), demostrando la factibilidad de alterar la composición de la leche mediante ingeniería genética y con el potencial de generar una influencia positiva sobre las industrias relacionadas como producción de queso y concentración de proteínas de leche, entre otras (CRC Australia, 2006). Otro interesante avance se ha logrado mediante la identificación y selección de animales con un determinado perfil genético pero hacer sin realizar una modificación o alteración directa. Mediante la selección asistida por marcadores moleculares la compañía neozelandesa a2corporation ha logrado obtener leche que contiene mayoritariamente la caseína A2 (A2 Milk™) y solo trazas de caseína A1, esto a partir de animales que de manera natural sólo contienen la información genética de caseína A1. Actualmente, esta cuestionada leche respecto a su potencial para disminuir el riesgo de enfermedades como diabetes, enfermedades coronarias y otras, se comercializa en Nueva Zelanda y Australia (Truswell, 2005; Bell et al, 2006).

**Grasas.** El contenido de grasa en la leche influye en las propiedades fisicoquímicas de subproductos y derivados lácteos y por tanto determina el valor de la leche en los Centros de Acopio Lecheros (CAL); por otro lado, la grasa tiene componentes que afectan la salud humana como el nivel de colesterol, que está asociado al riesgo de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (Sabikhi, 2007). Respecto a la composición de ácidos grasos en la dieta humana, en 1988 un panel de especialistas de rubro leche y nutrición (denominado mesa redonda de grasa en leche) reunido en Wisconsin (USA), concluyó que la leche debería contener aproximadamente <10% ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), <8% ácidos grasos saturados y >80% ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) (O'Donnell, 1989). Estas recomendaciones han sido confirmadas y están disponibles para el consumidor y por tanto, es de gran interés llegar a producir leche con una mayor proporción de ácidos grasos saludables como los monoinsaturados. Nutricionalmente, este objetivo ha sido afrontado sometiendo los animales a dietas ricas en grasas insaturadas como el aceite de soya, de canola y otros, donde aparte de disminuir la saturación de la grasa, tecnológicamente se obtiene un menor punto de fusión de ésta, lo que beneficia las propiedades físicas y organolépticas de la mantequilla. Además, la reducción de la grasa en leche disminuye la energía requerida por el animal para producir leche, disminuyendo los costos de producción; sin embargo, animales alimentados con dietas ricas en grasa disminuyen el rendimiento de ésta en leche debido a una depresión de la función ruminal (Sabikhi, 2007).

Desde el punto de vista biotecnológico, se ha planteado intervenir genéticamente en los sistemas complejos de conversión de ácidos grasos que ocurren en el rumen y la glándula mamaria, con el objeto de favorecer la acumulación de ácidos grasos inocuos para la salud humana, como aquellos que disminuyen los niveles de colesterol sanguíneo. Estudios preliminares en cabras modificadas genéticamente que expresan una enzima clave en la transformación de ácidos grasos, esteroil-CoA desaturasa, muestran mayores niveles de ácidos monoinsaturados (Reh et al, 2004). En el bovino, se ha reportado que la

manipulación genética de enzimas que regulan la biosíntesis de grasa en la glándula mamaria (ej: acetil-CoA carboxilasa) produce leche con menores niveles de grasa (2%). Desde hace unos años, la organización California Dairy Research Foundation (USA) se encuentra trabajando en un proyecto para identificar y validar genes y/o marcadores moleculares relacionados a la biosíntesis de ácidos grasos asociados a la cantidad, composición y estructura de los lípidos en bovinos Holstein Jersey. El estudio de asociación incluye la determinación de parámetros básicos del control lechero así como la composición de ácidos grasos, triglicéridos y el tamaño de gotas lipídicas, y como resultado, espera generar un programa de selección de animales produciendo leche con una determinada composición grasa (Wall et al, 1997).

Otro importante componente graso de la leche es el ácido linoleico conjugado (CLA), producto sintetizado durante la biohidrogenación ruminal y mamaria, y con comprobadas acciones anti-cancerígenas, anti-aterogénicas y anti-diabetogénicas, entre otras (Bell y Kennelly, 2001). Por lo tanto, la obtención de una leche enriquecida en CLA tiene un potencial valor agregado al “commodity” del rubro lechero. El contenido de CLA en la leche puede aumentarse mediante la modificación de la dieta animal (Stanton, 2000) o utilizando la variación genética animal. La enzima esteroil-CoA desaturasa (de origen animal y no de bacterias ruminales) limita la biosíntesis de CLA y es regulada por varios factores genéticos. Se han descrito marcadores moleculares basados en polimorfismos asociados a un mayor o menor contenido de CLA en leche, y en varios países se espera comenzar un programa de selección de reproductores asistida por genes (GAS) (Macciota et al, 2008; Schennink et al, 2008). Los tipos de ácidos grasos contenidos en la leche también determinan propiedades organolépticas como sabor, palatabilidad y suavidad en subproductos como mantequilla y queso, y la resistencia a microorganismos de estos últimos. La biotecnología podría influir fuertemente en la modificación de aspectos relacionados a estas propiedades generando productos funcionales o nutraceuticos de gran interés comercial.

- **Azúcares.** El principal azúcar contenido en la leche es lactosa. Su metabolismo ocurre en el intestino delgado mediante la enzima intestinal lactasa, la que en algunos individuos disminuye gradualmente desde la infancia hasta la adultez, provocando la digestión incompleta del azúcar y su degradación por bacterias generando un cuadro denominado intolerancia a lactosa que presenta varias complicaciones como retención de agua, acumulación de gases, deshidratación, y a largo plazo osteoporosis (Vilotte, 2002). Para prevenir o aminorar estas molestias, los pacientes deben evitar el consumo de leche y derivados, privándose de los nutrientes contenidos en ellos. La biotecnología puede utilizarse como una herramienta para introducir o remover en el animal enzimas que regulan el nivel de expresión de lactosa, como  $\beta$ -galactosidasa y  $\alpha$ -lactoalbúmina, o producir una leche con bajo contenido de lactosa. Este último enfoque produce otros efectos como una mejor coagulación de la leche, disminución del volumen total de leche (lactosa arrastra agua durante su biosíntesis) lo que genera la concentración de sólidos, una reducción de los contaminantes durante la producción y menores volúmenes que transportar; sin embargo, debe mantenerse la viscosidad necesaria para una fácil ordeña. Inicialmente, varios estudios fueron descritos utilizando ratones transgénicos y con buenos resultados, sin embargo, en bovinos han surgido dificultades como leche sin azúcares, de muy baja viscosidad o con dilución de otros constituyentes (Yom y Bremel, 1993; Jost et al, 1999; Vilotte, 2002).

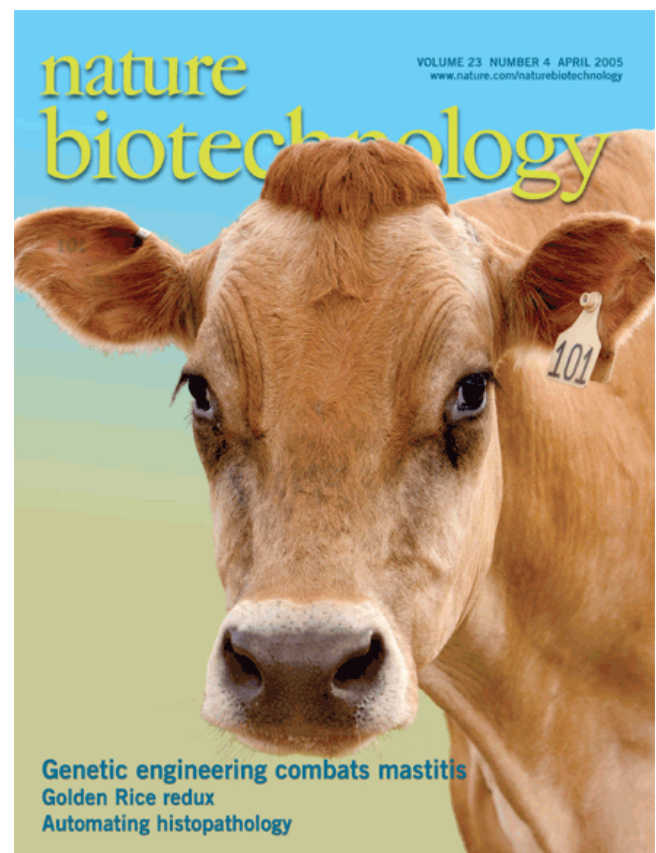
### **Leche con propiedades terapéuticas**

Un área de mucho interés para la biotecnología es producir agentes terapéuticos para los animales y el hombre, con el propósito de combatir enfermedades o prevenir la aparición de ellas, mejorar el bienestar animal y generar productos alimenticios saludables y nutraceuticos para el consumo humano. La biotecnología y la ingeniería genética tienen un gran potencial para alcanzar este objetivo, debido a la capacidad de mejorar, introducir o eliminar genes que codifican para proteínas que participan en dichos procesos.

En base a sus componentes nutricionales y bioprotectores, la leche materna es el alimento más completo para los lactantes. Sin embargo, algunas dificultades como insuficiencia en la secreción de leche o enfermedades maternas transmisibles pueden suscitarse durante la lactancia, en cuyo caso se recomienda utilizar un sustituto o formulación láctea. Estas formulaciones son potenciales blancos para las herramientas biotecnológicas, pudiendo suplementar la composición de éstas con constituyentes de la leche materna. Un importante componente de ésta es la proteína transportadora de hierro Lactoferrina (LF), la cual tiene propiedades anti-microbianas y estimulantes del sistema inmune, además de participar en procesos digestivos. Leche suplementada con LF bovina se comercializa en Japón (por ejemplo, Hagukumi, Non-Lact, GP-P y otras) con buenos efectos sobre la salud de los lactantes como mayor resistencia a infecciones. En Holanda la compañía Pharming NV en colaboración con investigadores de la Universidad de Leiden han desarrollado bovinos que expresan LF humana de concentración constante y con propiedades similares a la proteína nativa (que se expresa normalmente), la cual está en fase de prueba para evaluar sus efectos en la población (Thomassen et al, 2005).

Otra proteína de interés ha sido Lisozima, enzima proteolítica también presente en la leche materna y con actividad anti-bacteriana. Maga y colaboradores (2006) desarrollaron cabras transgénicas cuya leche contiene lisozima humana, la cual presenta un menor recuento de células somáticas y además posee un menor tiempo de cuajado. Cerdos alimentados con esta leche genéticamente modificada han mostrado una frecuencia menor de infecciones intestinales. Actualmente, el desafío es generar bovinos cuya leche posea estos mismos atributos. Por otro lado, la leche de origen bovino puede producir algunas alergias en ciertos grupos de personas incluyendo lactantes, debido a varios componentes alergénicos como inmunoglobulinas, proteínas del suero, caseínas y  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG). Con objeto de disminuir la incidencia de alergias,  $\beta$ -LG ha sido objeto de estudios preliminares en bovinos en que se ha eliminado genéticamente su expresión (AgResearch, Nueva Zelanda).

A nivel mundial, la mastitis es una de las infecciones más importantes de la glándula mamaria en los rebaños lecheros, debido al alto costo y pérdidas económicas para los productores por concepto de fármacos y menor producción láctea. Si bien existen vacunas y un manejo preventivo, ninguna de ellas ha permitido el control completo de la situación (Kerr y Wellnitz, 2003). Wall y colaboradores (2005) reportaron la generación de vacas Jersey transgénicas que expresan una proteína con propiedades antibacterianas, Lisostafina, específicamente en las células epiteliales de la glándula mamaria. Estas vacas secretan la lisostafina a la leche y expresan un menor número de células somáticas, siendo resistentes a la infección con *Staphylococcus aureus*, el patógeno más importante en la mastitis. Actualmente se realizan estudios para evaluar los efectos de la proteína recombinante en los alimentos destinados al consumo humano y a futuro se espera su aplicación comercial (Van Hekken et al, 2009).



También se han realizado ensayos de terapia génica local en la glándula mamaria utilizando adenovirus que codifican para proteínas

bactericidas o bacteriófagos que destruyen bacterias causantes de mastitis (Fan et al, 2004; O'Flaherty et al, 2005). Otros estudios han permitido la identificación de un gen que confiere resistencia a bacterias coliformes, patógenos comúnmente encontrados en episodios de mastitis. El gen codifica para la proteína de membrana de glóbulos blancos CD14; la inyección de CD14 bovina recombinante disminuye el número de muertes en ensayos con ratones, y previene la mastitis por *Escherichia coli* en vacas lactantes (Wang et al, 2002). Estos resultados destacan el papel de la ingeniería genética como una herramienta para obtener resistencia a enfermedades o reducir la presencia de patógenos y mejorar el bienestar animal, y para obtener consecuentemente productos más sanos.

En relación a la salud humana, un área atractiva de investigación es obtener leche bovina conteniendo proteínas terapéuticas, lo cual tiene el potencial de menores costos de producción y mayor seguridad respecto a otros sistemas de generación de proteínas recombinantes como microorganismos, mamíferos inferiores y cultivo de células. Se han realizado estudios en bovinos y ovejas para generar leche que contenga proteínas humanas que participan en el proceso de coagulación sanguínea que son importantes en transfusiones y en pacientes con hemofilia, como albúmina, fibrinógeno y el activador de plasminógeno tisular (Sabikhi, 2007). Por otro lado, pacientes con fenilcetonuria son incapaces de metabolizar el aminoácido fenilalanina, el cual forma parte de todas las proteínas. La  $\alpha$ -lactoalbúmina, es una proteína importante de la leche con una composición aminoacídica bien balanceada que tiene el potencial de disminuir alergias. En ella se han identificado solo cuatro residuos aminoacídicos de fenilalanina, y es un potencial candidato para modificar su composición y generar productos especiales para los fenilcetonúricos.

La ingeniería genética puede ser una herramienta para cambiar atributos nutricionales o mejorar la seguridad de los productos lácteos de una manera que no es posible a través de técnicas clásicas de selección. Se avizora un futuro donde la leche de bovinos y de otros rumiantes exprese

proteínas para mejorar o estimular el sistema inmune (inmunoglobulinas) y combatir diversas enfermedades humanas (cardiovasculares, diabetes, infecciones, neurológicas, etc.). En la actualidad, varias empresas, consorcios e institutos biotecnológicos de países desarrollados están investigando productos terapéuticos en leche como proteínas plasmáticas, anticuerpos y vacunas (AgResearch; BioProtein Technologies; Genzyme; GTC Biotherapeutics; Hematech; Pharming, NV; PPL Therapeutics; Nexia Biotechnologies; etc.).

### **Rendimiento animal y biofactorías**

Probablemente el caso mas conocido de los últimos años en relación a la utilización de biotecnología en el rubro lechero, es el uso de somatotropina (ST) u hormona de crecimiento recombinante en bovinos, que en Chile se comercializa como Lactotropina o Boostin-S. La ST se expresa de forma natural en la hipófisis o glándula pituitaria del bovino y tiene por función regular varios procesos fisiológicos relacionados al crecimiento y metabolismo, principalmente. La ST de bovino recombinante (rbST) es una copia artificial exacta de la hormona endógena o natural del bovino, y fue aprobada para su comercialización en 1993 por la FDA (USA) después de varios estudios que concluyeron la ausencia de efectos negativos sobre los animales tratados con la hormona, así como en los productos generados para el consumo humano (leche y carne). Está demostrado que la hormona de origen bovino no tiene efectos en la salud humana al ser inyectada o consumida oralmente. Si bien ha generado cuestionamientos respecto a posibles efectos sobre otras proteínas humanas como el factor de crecimiento insulínico (IGF) o un putativo aumento en la incidencia de mastitis, no existen resultados que avalen dichas conjeturas en los diversos estudios realizados. El gran efecto de la rbST es estimular la glándula mamaria provocando un aumento sostenido en la producción de leche (entre 10-20%) y en la eficiencia productiva independiente del potencial genético animal. Recientemente, un estudio de Capper y colaboradores (2008), concluyó que la rbST es una herramienta invaluable para mejorar la eficiencia productiva de vacas lecheras,

produciendo menos efectos negativos sobre el ambiente. Cuando la STbs es inyectada, el sistema digestivo de las vacas parece más eficiente para la producción de leche y los requerimientos de alimento, agua y suplementos para mantener el nivel de producción son menores, ahorrando recursos y generando menos desechos (un área que ha cobrado gran interés es la aplicación de la biotecnología para disminuir contaminantes generados por la producción animal, ejemplo: metano).

Otra área de interés en producción animal es el mejoramiento de la digestión ruminal con objeto de aumentar el rendimiento o productividad de leche y/o carne. Una alternativa es la manipulación de la flora bacteriana mediante nutrición o ingeniería genética. En primer lugar se están realizando estudios para identificar *in situ* la población (diversidad de géneros y/o especies) de bacterias presentes en el rumen mediante herramientas moleculares y genómicas como la identificación de secuencias específicas de ADN. El segundo paso será la identificación de la función de cada miembro identificado, por ejemplo, en relación a estimuladores de la adherencia y fermentación de fibra, producción de inhibidores o bacteriocinas, secreción de complejos enzimáticos degradadores de la fibra, bacterias productoras de metano o amoníaco, etc., así como el establecimiento de relaciones entre evolución de poblaciones microbianas en función del tipo y cantidad de alimento suministrado y absorción de nutrientes. Las nuevas tecnologías ómicas, las cuales relacionan la información genética contenida en los genes con la expresión funcional de las proteínas utilizando herramientas de bioinformática, permitirán descifrar las respuestas productivas (producción de grasa y proteínas) en respuesta a la composición de la dieta, influencias medioambientales y el estado fisiológico del animal mediante la identificación de los genes involucrados en dichos procesos.

La necesidad de obtener grandes cantidades de proteína con fines comerciales ha dirigido las investigaciones hacia la utilización de animales como biorreactores, es decir, animales que produzcan proteínas que después de purificarlas se utilicen en salud, nutrición y otras

áreas. En esta línea, existen vacas, ovejas y cabras en las que se han introducido, en las células productoras de la leche, genes (humanos y de otras especies) que codifican proteínas de gran interés terapéutico. Recién el 2008 la empresa BioSidus (Argentina) ha generado bovinos transgénicos que expresan la ST de origen humano en la glándula mamaria, la cual es secretada a la leche. Luego de ser purificada, la rhST podrá utilizarse como hormona de crecimiento en pacientes. BioSidus ha sido pionera en Latinoamérica en obtener rebaños o hatos de bovinos transgénicos, ya obteniendo animales que sobreexpresan insulina humana, con objeto de tratar pacientes diabéticos. En 2007, la agencia europea regulatoria de medicinas (EMEA) recomendó por primera vez autorizar el uso de un fármaco producido a partir de leche de mamíferos transgénicos, el anticoagulante ATryn (antitrombina alfa recombinante), desarrollado por Genzyme Europe. Actualmente, la empresa Pharming NV se encuentra en trámites para la aprobación de la proteína recombinante humana inhibidor C1 a partir de leche de conejos, la cual sirve para tratar pacientes con la enfermedad hereditaria angioedema (HAE). Estos datos muestran un campo promisorio para el desarrollo de productos farmacéuticos y otros en leche bovina.

### **Mejoramiento genético del bovino**

Una meta importante del sector lechero es avanzar en la genética de los animales con objeto de mejorar la sanidad de los rebaños y obtener un mejor rendimiento, de forma de mantener y/o aumentar la competitividad necesaria para los escenarios futuros. Hasta hace poco, el mejoramiento genético se ha desarrollado principalmente identificando aquellos animales que expresan los mejores atributos físicos y características biológicas, o sea, determinando el fenotipo. Estas determinaciones se realizan en los reproductores y también en su descendencia, para obtener un índice de mérito genético individual y también por raza.

Cuando un animal tiene un índice esperado de diferencia de progenie (EPD) por sobre el promedio, significa que el animal ha



heredado una proporción mayor de alelos para genes que afectan favorablemente una determinada característica. En otras palabras, la selección basada en EPD resulta en un aumento del número favorable de alelos que el animal tiene pero se desconoce cuáles son esos genes. Por otro lado, las limitaciones de estos programas son el alto costo de las evaluaciones a realizar a un número elevado de animales, y el tiempo requerido para hacer las evaluaciones, correlatos y la validación de los resultados, además de desconocer si se han heredado también alelos no deseados para otras características. Idealmente, un productor quisiera tener la información genética de sus animales lo antes posible, ganando tiempo para idear su plan de negocios y preparar las condiciones necesarias para el aprovechamiento óptimo de sus animales. Las características que expresa el animal están codificadas o determinadas por su información genética o genotipo, el cual en interacción con otros factores como el medio ambiente determinan la expresión final de esta información. Los genes son regiones de los cromosomas que contienen la información genética que codifica para las proteínas que controlan cada uno de los rasgos o características que se expresan en el animal. Recientemente, se ha logrado obtener la secuencia completa de la información genética del bovino gracias a un esfuerzo internacional conformado por laboratorios de varios países que son potencia en el rubro lácteo y tienen capacidades fuertes en genómica y biología molecular (The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium et al, 2009).

Gracias al desarrollo avanzado de las técnicas de biología molecular, bioinformática y genética cuantitativa, el análisis de la información genética será un proceso cada vez más accesible y permitirá la identificación de genes o regiones asociadas a la expresión de una determinada característica de interés, y de esta forma contribuir y proveer herramientas para mejorar los programas de manejo, mejoramiento y selección animal utilizando la variación genética natural acumulada durante la domesticación, especialmente para rasgos que son difíciles de mejorar mediante los métodos de selección convencionales (de baja heredabilidad o de difícil, onerosa o tardía medición del fenotipo).



Actualmente, se están realizando asociaciones entre un determinado gen o una región específica que sirve como un marcador, ejemplo de esto son los marcadores moleculares llamados “SNP” (“Single Nucleotide Polymorphism” o polimorfismos de nucleótidos simples), microsátelites, y otros. Así, es posible seleccionar aquellos animales que poseen la información de interés sin hacer una intervención en sus genes sino simplemente evaluando el mérito genético de ellos pero esta vez analizando su genotipo, proceso llamado selección basada en el ADN o asistida por marcadores moleculares (MAS, Marker-Assisted Selection), la cual es un complemento al método de selección clásico (Fadiel et al, 2005). Un programa basado en MAS podría ser utilizado para pre-seleccionar toros jóvenes candidatos para inseminación antes de las pruebas de progenie, aumentando el diferencial de selección, acortando el intervalo generacional y aumentando la ganancia genética. Actualmente, ya están disponibles kits de diagnóstico para la genotipificación de miles de marcadores moleculares aunque el costo de análisis es todavía elevado (Affymetrix Inc., Illumina Inc., Igenity). Esta metodología se llama “Selección Genómica” y está comenzando a ser aplicada por varias organizaciones gubernamentales y privadas y

empresas en los principales países productores lecheros (Australia, Nueva Zelanda, Holanda y USA; Khatkar et al, 2004; Hayes et al, 2009; The Bovine HapMap Consortium, 2009). Los marcadores están siendo asociados a procesos de eficiencia de conversión de alimento (FCE), rendimiento de leche y sus componentes (proteína, grasa, sólidos), resistencia a enfermedades contagiosas y reproductivas, etc. Para fines de 2009 se esperan los resultados de la evaluación de miles de SNP relacionados a conformación, recuento de células somáticas y rendimiento de leche, proteína y grasa en aprox. 20.000 bovinos seleccionados en una colaboración entre USA y Canadá, con lo cual se mejorará la predicción del mérito en la selección de toros jóvenes. La exitosa aplicación de la selección genómica y programas de selección asistida por marcadores moleculares requiere como base tener un registro confiable de fenotipos y pedigrís, frecuencia de enfermedades, un sólido control lechero, además de la disponibilidad de herramientas genómicas y bioestadísticas.

En Nueva Zelanda, el instituto AgResearch estudió marcadores moleculares relacionados con la enfermedad eczema facial, la que es causada por una toxina de hongo y que provoca daños en el hígado del animal, afectando la producción de leche y llegando a ser letal. Algunos animales no sufren la enfermedad, característica que es heredable, lo que se relacionó a la presencia de marcadores de ADN favorables. Desarrollaron entonces, un test diagnóstico (FE'nd™) para evaluar la probable resistencia del animal a la enfermedad, el cual sumado a medidas de prevención permite seleccionar sólo aquellos animales más resistentes, eliminando la enfermedad del rebaño y mejorando el bienestar y producción animal. Actualmente, este marcador molecular es parte del índice de mérito genético comercializado por GenomNZ™ para bovinos Holstein y Jersey. En los países nórdicos, se han identificado marcadores moleculares que señalan aquellos animales susceptibles de sufrir mastitis; estos marcadores están en proceso de patentamiento. En Francia, se han identificado marcadores para la susceptibilidad a sindactilia ("mulefoot"), cojera producida por un defecto genético en las patas que también afecta la producción de leche; y para el síndrome de

hiploprospia generalizada tipo cabra (comunicación personal de André Eggen, INRA, 2008).

Otro ejemplo de la aplicación de marcadores moleculares en animales es la identificación individual, análisis de paternidad, caracterización genética de razas, trazabilidad molecular de productos y genética forense (abigeato). Técnicas como el DNA fingerprint (huella digital de ADN) o detección de microsatélites han sido aprobadas por la ISAG (International Society of Animal Genetics) y se basan en la detección de secuencias repetidas de ADN de cadena corta u otros marcadores, lo que permite identificar el perfil genético individual de un animal vivo o muerto a partir de diversas muestras biológicas (sangre, músculo, semen o pelo). La identificación exacta de los animales es requisito para las biotecnologías reproductivas utilizadas en programas de mejoramiento genético (Felmer et al, 2006).

### **Biotecnologías reproductivas**

En los últimos años se ha producido un significativo avance en la aplicación de tecnologías relacionadas con la reproducción animal gracias al desarrollo de técnicas que aumentan la capacidad reproductiva y que permiten un mayor progreso en el mejoramiento genético de los animales. El uso combinado de estas tecnologías forma parte de un sistema para la producción y comercialización de los mejores animales productores y ha facilitado considerablemente el intercambio de material genético entre países, permitiendo que este progreso genético llegue a todos los sectores.

#### **- Inseminación artificial**

La inseminación artificial (IA) fue una de las primeras tecnologías reproductivas en alcanzar aplicaciones comerciales, la cual se fortaleció con la criopreservación de semen que facilitó el transporte de material genético y la capacidad de sincronizar el celo de las hembras mediante el tratamiento con prostaglandinas. Esta técnica se creó principalmente para aprovechar el hecho de que en cada monta el macho elimina suficientes espermatozoides para inseminar y dejar cubiertas

varias hembras. De esta forma, la IA acelera el progreso genético alcanzado en los rebaños, al poder seleccionar reproductores de alto mérito genético y con rendimiento probado, la eliminación de características no deseables como hernias, permitiendo además la introducción de material genético exótico o de países distantes, pudiendo disminuir la consanguinidad. El uso masivo de la IA con semen de toros cuidadosamente seleccionados a través de pruebas de progenie ha permitido un gran desarrollo de la genética al facilitar también la regresión de genes letales recesivos, y un mejor control sanitario reduciendo el riesgo de transmisión de enfermedades venéreas como tricomoniasis y campilobacter. Además, permite al productor evitar la compra de reproductores y el cuidado y mantención de ellos en el predio (evitando cruzamientos indeseados); y lo que es más importante, mejora el ordenamiento reproductivo del rebaño al tener que implementar registros adecuados de las épocas de partos, encastes, y otros.

#### - **Transferencia de embriones**

A principios de los 70 se introduce la segunda generación de tecnologías reproductivas conocida como Transferencia de Embriones (TE). Básicamente, la técnica consiste en superovular hembras donantes de alta calidad genética mediante tratamiento hormonal e inseminarlas con semen de un toro también de alta calidad, para luego transferir los embriones a otras hembras sincronizadas para que los gesten o congelarlos para su utilización en el futuro. Esto permite que animales genéticamente superiores produzcan muchos más nacimientos que los que producirían en condiciones naturales durante su vida reproductiva (5-6). Aunque en principio los embriones podían recuperarse sólo por métodos quirúrgicos, actualmente es posible obtenerlos por métodos no quirúrgicos como perfusiones, pudiendo evaluar su calidad y desarrollo embrionario. Desde finales de los años 90 la TE ha pasado a ser una técnica utilizada comercialmente, debido al mejoramiento de los métodos de sincronización de receptoras y congelación de embriones, aumentando la eficiencia y disminuyendo los costos en productores de leche. Se estima que actualmente se realizan más de

500.000 transferencias de embriones bovinos en todo el mundo. Además, esta técnica permite la aplicación de otras tecnologías reproductivas más avanzadas, como la punción folicular de ovocitos (OPU), maduración y fecundación *in vitro*, sexaje de embriones, clonación y transgénesis.

#### - **Fertilización *in Vitro***

La fertilización *in vitro* (FIV) es el proceso a través del cual el espermatozoide es capaz de unirse y penetrar al óvulo para formar un nuevo individuo bajo condiciones de laboratorio (fuera del animal). Este proceso requiere de la maduración del óvulo para que esté en condiciones de ser fecundada por el semen, el cual también debe ser preparado (capacitado). Los embriones resultantes de este proceso se cultivan en medios líquidos enriquecidos con nutrientes y en condiciones físicas (temperatura, humedad, gases) similares a las que tendrían en el útero de la madre para permitir su crecimiento y desarrollo. Este proceso dura 7-8 días, período a partir del cual el embrión está en condiciones de ser transferido a una hembra receptora o congelado para futuras transferencias o estudios. De esta forma, la FIV nos permite ejercer un control sobre las condiciones de formación, crecimiento y desarrollo de los embriones bovinos durante la primera semana de gestación. En general, el material de partida para FIV son ovocitos obtenidos de ovarios de matadero, en donde el material genético no necesariamente es de la mejor calidad. Sin embargo, hoy en día puede hacerse punción folicular de ovocitos de una hembra de alta calidad genética y recuperar folículos con la ayuda de un ecógrafo transvaginal, mejorando considerablemente la calidad genética de los embriones obtenidos y aumentando con esto el progreso genético de los rebaños. El proceso de punción se puede realizar muchas veces y a edades tempranas (hembras pre-púberes) sin consecuencias para la hembra donante. La FIV puede utilizarse en predios donde ya se aplique alguna tecnología reproductiva como IA o TE ya que los embriones son generados en un laboratorio donde se almacenan congelados hasta su utilización. Desde ahí, pueden ser transportados fácilmente al predio en pajuelas similares a las utilizadas en la IA donde son transferidos a receptoras previamente sincronizadas, por lo que

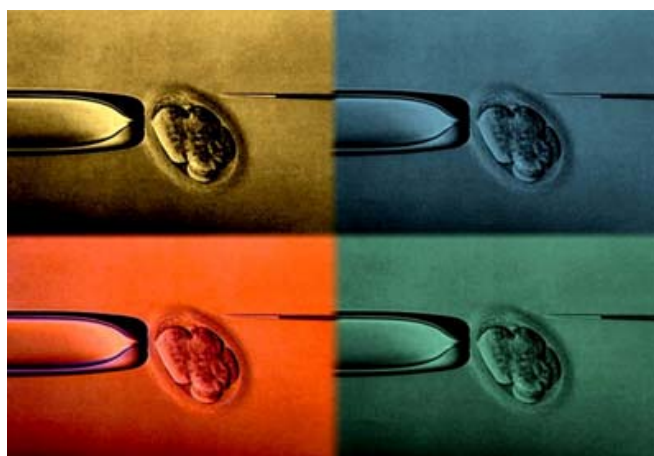
estos procesos podrían ser fácilmente adoptados por productores innovadores que busquen maximizar el progreso genético en sus rebaños.

#### - Sexaje de embriones y semen

La tecnología para el sexaje de embriones permite generar ejemplares del sexo deseado. Consiste en disponer de una biopsia del embrión, desde donde se obtienen células que son sometidas a un análisis molecular que permite confirmar la presencia de un marcador genético específico de los machos que se expresa en el cromosoma Y. Esta metodología ha sido recientemente desplazada por la técnica del sexaje de semen, la cual permite la separación de las distintas fracciones de un eyaculado, separando los espermios con el cromosoma X (femeninos) de los espermios con el cromosoma Y (masculinos) por tamaño (el cromosoma X es más grande que el cromosoma Y, y por tanto contiene una mayor cantidad de ADN). De esta forma, al mezclar el semen con un colorante específico que se une al ADN, el cromosoma X retiene más del colorante y esto puede ser detectado mediante fluorescencia, pudiendo separar los espermios en base a su intensidad de fluorescencia. Una limitación del método, sin embargo, es su baja velocidad de separación (5.000 espermatozoides/segundo) por lo que en general, las dosis de semen sexado contienen una menor concentración de espermatozoides que las dosis convencionales (2 millones v/s 20 millones, respectivamente). Además, la pureza alcanzada en la separación es de 85-90%, por lo tanto no se obtiene un 100% de nacimientos del sexo deseado. De todas formas, la inseminación con semen sexado permite incrementar el número de vaquillas en lecherías en un fuerte período de crecimiento, y disminuye los problemas de distocia al permitir inseminar vaquillas para generar terneras hembras que en general por su menor tamaño comparado a los terneros machos, dan menos problemas al parto. Por otro lado, predios que venden vaquillas pueden venderlas preñadas con semen sexado dependiendo de las condiciones y precios (demandas) del mercado y en los cruzamientos terminales para producir novillos destinados a la faena, entre otras aplicaciones.

#### - Clonación

La clonación es la única técnica que permite producir individuos genéticamente idénticos a su progenitor, o bien al material nuclear con que se los generó (Heyman, 2005). Esto brinda la posibilidad de multiplicar animales de gran valor (por ejemplo, de una gran productividad) y diseminar el progreso genético en forma más eficiente que los actuales programas de mejoramiento animal. La clonación animal se puede realizar de dos formas: i) por división (partición) de embriones o ii) por transferencia nuclear. La primera consiste en la segmentación mecánica de un embrión en dos o más partes, generando individuos genéticamente idénticos entre sí denominados gemelos o clones. No obstante el potencial de esta técnica, su eficiencia es baja y el número de individuos que se pueden generar a partir de un embrión es limitado. La segunda técnica es la clonación por transferencia nuclear, la cual se desarrolló en animales de granja en la década de los 80 enfocándose en un principio a la producción de animales a partir de embriones en etapas tempranas de desarrollo (blastómeros).



Si bien esta técnica permitió generar ovejas y terneros clonados (1986 y 1987, respectivamente), el hito en este campo ocurrió recién una década más tarde, cuando en 1997 se anunció a la comunidad científica mundial el nacimiento de la oveja Dolly, primer mamífero clonado a partir de células de un animal adulto (Wilmut et al, 1997). Esto es considerado un logro científico en el campo de la biología de la reproducción, ya que demostró que los genes inactivados durante el proceso de diferenciación celular pueden ser completamente reactivados por

un proceso denominado reprogramación nuclear, es decir, demostró que una célula diferenciada puede volverse totipotencial, capaz de regenerar cualquier tipo de células. A esta técnica se le conoce como transferencia nuclear de células somáticas (SCNT) y su gran ventaja es que permite generar virtualmente copias ilimitadas de individuos genéticamente idénticos a su progenitor, y en producción animal representa la única técnica que permite la generación de descendencia desde donantes de alto valor genético y con rendimiento probado.

El gran potencial de la clonación radica, además, en las áreas de medicina y biotecnología. Entre sus muchas otras aplicaciones, la clonación puede ser una alternativa para rescatar especies en peligro de extinción, permite además la generación de animales transgénicos que sinteticen proteínas humanas para su uso en medicina y/o en trasplantes de órganos y representa un potencial para producir células madre embrionarias para uso terapéutico. Además, constituye una valiosa herramienta para estudiar y comprender distintos procesos biológicos como el cáncer y el envejecimiento celular. Sin embargo, a pesar de sus muchas aplicaciones, la eficiencia de esta técnica es aún muy baja por lo que son necesarios más estudios antes de que esta técnica pueda alcanzar realmente una aplicación comercial en los predios. Por último, hay un fuerte componente ético y legal respecto a los estudios a realizar y las futuras aplicaciones que se desprendan, además del alto costo del proceso.

### **Bovinos transgénicos**

Los animales transgénicos u organismos modificados genéticamente son aquellos que poseen un segmento de ADN foráneo incorporado en su genoma, o que poseen alguna modificación introducida artificialmente (Felmer, 2004). Hace más de 30 años comenzaron los trabajos para transformar mamíferos con el objeto de producir biofarmacéuticos a gran escala y a bajo costo mediante la inyección de ADN foráneo a pronúcleos del cigoto. Con la llegada de la clonación por transferencia nuclear y debido a la posibilidad de manipular los genes de interés

mediante ingeniería genética antes de su transferencia al núcleo, se comenzó a trabajar con animales de granja, incluido el bovino, con la potencialidad de realizar modificaciones tendientes a mejorar características cualitativas y cuantitativas (producción de leche, prolificidad, etc.), producción de biomoléculas y xenotrasplantes. Hitos importantes han sido la generación del primer ternero transgénico, la clonación de los primeros terneros y la generación de bovinos resistentes a *S. aureus* que no desarrollan mastitis (Krimpenfort et al, 1991; Cibelli et al, 1998; Wall et al, 2005). Además, la transgenia ha permitido desarrollar el concepto de animales como biofactorías, esto es, utilizar el animal como una fábrica para producir compuestos de interés comercial. Por ejemplo, la producción a gran escala de lactoferrina recombinante humana, albúmina y anticuerpos policlonales en leche de bovino (van Berkel PH et al, 2002; Kuroiwa et al, 2009). También se están realizando los últimos estudios antes de fase clínica para la secreción de antitrombina III, un potente inhibidor de la coagulación en cabras lecheras (Melo et al, 2007).

Las enfermedades constituyen otra área de interés, como es el caso de la mastitis descrita previamente. Otra patología investigada ha sido la enfermedad de las vacas locas o encefalopatía espongiforme bovina (BSE), la cual causó graves pérdidas económicas debido al sacrificio de animales y desecho de subproductos en el reino unido durante el año 2000 (Detwiler y Rubenstein, 2000). La causa de la enfermedad es una mutación en una proteína de membrana de células nerviosas llamada proteína prion. Richt y colaboradores (2006) generaron vacas deficientes en la proteína prion que son resistentes a la infección y propagación con priones anómalos, estableciendo un modelo de estudio para la generación de kits diagnósticos y vacunas. Otros trabajos se han realizado en bovinos de carne como el belga azul y Piedmontese, identificando el gen de miostatina, responsable del fenotipo de doble músculo (Grobet et al, 1997; McPherron y Lee, 2007). La ausencia de miostatina produce un dramático aumento de la masa de músculo esquelético.

## Una mirada al exterior

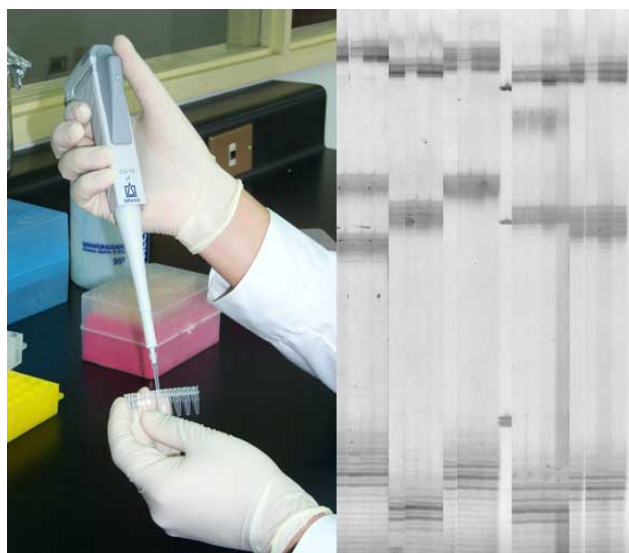
**Australia.** Dado que el sector agropecuario es una industria fundamental para Australia, sus políticas se han centrado en desarrollar programas de innovación tendientes a potenciar dicha área, especialmente en el rubro de productos lácteos. La “Cooperative Research Centre for Innovative Dairy Products”, es una iniciativa que agrupa a diversas organizaciones que realizan investigación y transferencia tecnológica como universidades, institutos, el gobierno, la industria y/o el sector privado (ejemplo, University of Sydney, CSIRO, Australian Dairy Farmers Ltd., Genetics Australia), y cuyo objetivo principal ha sido desarrollar y comercializar nuevos productos y tecnologías basadas en herramientas reproductivas y genómicas que afiancen de manera progresiva la competitividad de la industria láctea en base a la innovación. Pero además, crecer en otros mercados que utilicen las tecnologías desarrolladas (ej: industrias de manufactura, farmacéutica y nutracéutica).

En particular, Australia se ha concentrado en tres grandes áreas o programas de investigación y desarrollo: 1- Identificación de genes; 2- Transferencia de tecnologías y 3- Desarrollo de negocios. El programa de identificación de genes tiene capacidades para desarrollar estudios en biología molecular y celular y ha contado con la colaboración de la empresa ParAllele BioScience (USA). Se centra en la identificación de marcadores moleculares y/o genes de importancia comercial, y el estudio de su función en el bovino de leche. Los candidatos incluyen genes relacionados a parámetros o procesos biológicos como lactancia, reproducción y fertilidad, resistencia a enfermedades, rendimiento (conversión de alimentos y utilización de energía) y producción animal; componentes y productos bioactivos en leche (nutrigenómica, rendimiento y tipo de proteína). Además, en colaboración con centros de investigación internacionales han trabajado en la génesis y construcción de un mapa genómico del bovino (ver <http://www.medvet.angis.org.au/ldb>).

El programa de transferencia de tecnologías se desarrolla con apoyo del Centro

Nacional de Células Madre y se enfoca en cómo acelerar la mejora genética del animal aplicando los resultados generados en el programa de identificación de genes, basándose en estudios de reproducción y desarrollo embrionario temprano y con el trabajo en células troncales o “madre” de embriones o individuos adultos, éste último pensando en trasplantes autólogos (para el mismo individuo). En conjunto con programas de FIV, estas tecnologías tienen el potencial de acelerar el mejoramiento genético. También hay avances importantes en la generación de plantas modificadas genéticamente para mejorar su resistencia a patógenos como la resistencia a virus en el trébol blanco.

La tercera área, el programa de desarrollo de negocios, pretende asegurar la utilidad de los estudios desarrollados hacia los agricultores mediante mejora genética del animal y productos de mayor valor funcional. Para esto se están estudiando las aplicaciones y oportunidades comerciales para la diseminación de genotipos mejorados y productos de mejor valor, desarrollando estrategias de mercado, así como para el patentamiento de los productos generados en cada programa, utilizando las herramientas de mercado, negocios y comunicaciones del Dairy Cooperative Research Centre (CRC).



También hay que señalar el trabajo desarrollado en la University of Sydney, con el programa de investigación ReproGen (<http://www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen>), que

realiza estudios en las áreas de reproducción y tecnología de células, genómica y bioestadística, e identificación de marcadores moleculares (QTL's).

**Resultados esperados:** 1- Generar una plataforma de información genética del bovino de interés comercial; 2- Comercialización de tests diagnósticos de producción y calidad de leche basados en biología molecular y marcadores; 3- Producción de lácteos modificados con propiedades funcionales y/o características nutricionales o nutraceuticas con beneficio directo sobre la salud humana; 4- Rápido progreso genético mediante FIV apoyado con nuevas tecnologías reproductivas; y 5- Mejoramiento del bienestar y salud animal, y generación de productos inocuos.

**Nueva Zelanda.** Este país líder del rubro lechero (principal exportador mundial de productos lácteos) está trabajando fuertemente en desarrollar nuevos productos y tecnologías relacionadas al mejoramiento genético, la eficiencia y productividad del ganado lechero y la generación de productos con propiedades funcionales para la salud humana (Fuente: The Strategy for New Zealand Dairy Farming 2009-2020). Las iniciativas son llevadas a cabo en universidades e institutos, siendo lideradas por el instituto de investigación AgResearch con gran énfasis en la investigación biológica básica y aplicada, teniendo por objeto descifrar y entender el genoma de plantas y animales representativos de los sistemas basados en pastoreo, y aplicando dicho conocimiento para mejorar la competitividad de la industria láctea. La investigación se desarrolla en diferentes áreas: genómica animal, tecnología y biología reproductivas, mejoramiento y biotecnología de forrajes, además de estadística y bioinformática. En estas áreas se destaca fuertemente el trabajo relacionado con la identificación de genes y/o marcadores asociados a rasgos de interés productivo, resultados que están siendo comercializados a través de una empresa subsidiaria, Genomnz™. Otra área priorizada es el desarrollo de nuevos forrajes resistentes a plagas y de mayor longevidad utilizando como modelo el trébol o especies endófitas, así como la agricultura sustentable, con investigaciones tendientes a disminuir los

contaminantes asociados a la producción animal mediante mejoramiento genético.

**Logros alcanzados.** En el área de genómica el instituto es parte del consorcio internacional para la secuenciación del genoma bovino el cual ha desarrollado un “browser” o buscador de información genómica en Internet y se ha liberado un programa de bioestadística, GenStat 9.1 para el análisis de información genómica. En bovinos, se ha caracterizado una región cromosómica relacionada a una proteína con propiedades antimicrobianas y en colaboración con la Universidad de Otago se desarrolló una vacuna contra la tuberculosis. Además, en colaboración con la empresa holandesa Pharming NV, están realizando estudios para generar bovinos transgénicos que secreten en leche proteínas humanas de interés biomédico como son la proteína mielínica y lactoferrina. En plantas se ha diseñado un sistema de microarreglo para la identificación de genes encontrados en ballicas y la endófito *N. lolii* relacionados a resistencia a insectos, nemátodos y sequía (AgResearch Affymetrix genechip); se han generado nuevas variedades de endófitas resistentes a insectos (AR37 ryegrass); y plantas con ácidos grasos poliinsaturados para la dieta animal y biodisponibles para el hombre; y por último, regulación de las propiedades organolépticas de la leche mediante la modificación del contenido de proteína y azúcar en trébol.

**Holanda.** En 2004 Holanda comenzó un programa de mejoramiento del rubro lechero denominado Iniciativa Genómica Láctea Holandesa liderado por investigadores del Centro de Genómica y Mejoramiento Animal (ABGC) y el Grupo de Ciencia y Tecnología Láctea de la Universidad de Wageningen, en cooperación con la asociación láctea holandesa (NZO) y organizaciones de mejoramiento y manejo del bovino de leche (CRV; Holland Genetics). El objetivo del programa cuyo presupuesto ha sido aprox. €5 millones (EUR) es el mejoramiento genético de características de calidad de leche y la innovación y desarrollo de productos lácteos funcionales, a través de la identificación de genes que contribuyen a la variación genética natural del contenido y composición de proteína y grasa en leche y así

mejorar los programas de manejo genético y reproductivo.

El enfoque que están desarrollando se basa en investigación básica y aplicada en las áreas de ciencias lácteas, genética cuantitativa, genómica y bioinformática. Para esto han creado un “bio-banco” donde se almacenan muestras de ADN y leche provenientes de 2000 bovinos Holstein-Friesian holandeses en su primera lactancia, y están realizando correlaciones rutinarias entre parámetros de control lechero (composición de leche: cantidad de leche, grasa y proteína, composición de grasa, proteína y lactosa, RCS, urea, pH) y el genotipo que porta el animal de manera individual y poblacional mediante análisis de heredabilidad y su correlación genética con marcadores moleculares. Además, están trabajando en la identificación de regiones cromosómicas asociadas a caracteres cuantitativos de importancia comercial o QTLs utilizando marcadores moleculares (“SNPs genome scan”). Hasta ahora han encontrado 6 y 3 regiones cromosómicas relacionadas a la composición de grasa y proteína en leche, respectivamente. Luego de su validación, los resultados serán utilizados en los programas futuros de MAS para procesos de eficiencia de producción y calidad de leche y se predice un aumento significativo de ambos parámetros (10% en el caso de ácidos grasos insaturados en los próximos 10 años, con ganancias de aprox. €25 millones). Convenios con la industria garantizarán la utilización y difusión de los datos para establecer las condiciones de mejoramiento genético e innovación en productos.

Los proyectos actualmente en desarrollo se agrupan en tres áreas: biología y fisiología animal, genómica y marcadores moleculares y genética cuantitativa. Los estudios del área de biología tienen por objeto entender los mecanismos de expresión de genes y cómo la variabilidad genética o polimorfismos podrían afectar la función y rendimiento del animal. Los proyectos de esta área se enmarcan en el estudio de los procesos de fertilidad y reproducción y sanidad de la glándula mamaria; por ejemplo, han surgido interesantes resultados que relacionan el gen de leptina y el consumo de alimento, rendimiento de leche y aspectos reproductivos en

el bovino (van der Lende et al, 2005). En el área de genómica, este año finaliza un proyecto donde se han estudiado los factores genéticos que regulan la composición de la leche. Este proyecto de 1,7 millones de euros pretende mantener el gran posicionamiento de la industria láctea holandesa y mejorar su competitividad mediante la innovación de productos con mejores propiedades organolépticas y compuestos funcionales con efectos benéficos sobre la salud humana, por ejemplo, la disminución de la presión arterial o la eliminación de alergias provocadas por lactosa. El estudio se basa en identificar marcadores y/o genes relacionados a la composición de la leche y aplicar los resultados en programas de MAS (Stoop et al, 2008). Según el líder del proyecto Johan van Arendonk, “Holanda está en un posición sobresaliente pues cuenta con todos los componentes para lograr estos desafíos, posee organizaciones de manejo y mejoramiento genético avanzadas, realiza rutinariamente registros de animales y control lechero y está llevando a cabo investigación genética y en leche”. Por último, en el área de genética cuantitativa se están desarrollando nuevos modelos bioestadísticos e informáticos con el fin de validar las asociaciones entre los rasgos de interés actualmente seleccionados y el manejo de rebaños en ambientes comerciales y de experimentación, así como la identificación de las mejores condiciones de conservación, manejo, producción y bienestar animal en sistemas orgánicos.

**Opening up new horizons in livestock farming**

**Genomics revolution hits dairy and meat production**

**Genes determine the fatty acid composition of meat and milk. Our genomics research opens up possibilities for developing a large number of new products.**

**Scientific foundation**

**Animal disease control**

The Animal Sciences Group plays an active role in the prevention, detection and control of infectious animal diseases. The issues facing the international pharmaceutical industry and responsible governments are our main focus.

The Animal Sciences Group specialises in long-term collaborative working relations in which confidentiality and exclusivity receive top priority. Our strength is the ability to put together flexible research



**Irlanda.** Al igual que en la zona sur de Chile, Irlanda basa su producción de leche en animales alimentados principalmente con praderas, compartiendo algunas dificultades como la estacionalidad de producción o la necesidad de fertilizar los suelos para aumentar el contenido de nitrógeno. El desarrollo e innovación del sector agropecuario y alimentos en Irlanda es liderada por el instituto de investigación Teagasc (con apoyo gubernamental), el cual posee un fuerte programa en el rubro lechero en el centro de investigación y producción Moorepark, enfocándose en una producción competitiva y sustentable. Para esto están estudiando el funcionamiento de procesos biológicos utilizando herramientas de biología molecular y biotecnología para luego aplicarlos a la industria agroalimentaria. En el área de producción animal y genética se desarrollan varios proyectos con objeto de identificar animales con la mejor genética adaptada a sus sistemas de producción, por ejemplo, estudio de cruzamientos y consanguinidad (inbreeding), introducción y rendimiento de razas foráneas como el rojo noruego, predisposición a tuberculosis, etc. Otra área de interés es un estudio realizado en bovinos Holstein, en donde se estudian los mecanismos fisiológicos, genómicos y proteómicos, así como aspectos de nutrición, genética y sus interacciones, con el objeto de identificar factores de riesgo que expliquen la disminución de la fertilidad y otros parámetros reproductivos en sus rebaños. La sanidad y bienestar animal no han sido dejados de lado, llevando a cabo estudios y evaluaciones de nuevas sustancias con actividad anti-bacteriana e identificando marcadores moleculares relacionados a patologías como mastitis o paratuberculosis. Además, están realizando estudios para aumentar el valor de la leche, por ejemplo, aumentando la calidad de ésta en términos del contenido de sólidos (proteína), disminuyendo las células somáticas, y mejorando sus propiedades para procesamiento industrial. Leche con propiedades funcionales con efectos benéficos para la salud humana como mayor cantidad de proteína y ácidos grasos conjugados (CLA) son objeto de evaluaciones dado algunos reportes que muestran el enriquecimiento en sistemas basados en praderas (Teagasc ha publicado recientemente un handbook de calidad

de leche que incluye entre otros aspectos, SCC, TBC, otras bacterias, residuos químicos y contenido de lactosa).

**Estados Unidos.** Estados Unidos a través del ministerio de agricultura y sus servicios CSREES, ARS y AIPL (ver <http://www.ars.usda.gov/>) y en colaboración con varias universidades está desarrollando un fuerte programa de investigación de frontera en el área de biotecnología animal con el propósito de obtener nuevas herramientas y productos para la sustentabilidad del sector, generando nuevas oportunidades económicas acordes con los desafíos de producción para las actuales y futuras demandas. El programa de “Manejo, Genética y Genómica animal” tiene como colaboradores a universidades e institutos de investigación, industrias de alimentos y organizaciones de consumidores y tiene como metas mejorar las áreas de: rendimiento animal mediante el uso eficiente de nutrientes y con bajo impacto en el medio ambiente, desarrollo de animales más fuertes y vigorosos con resistencia a enfermedades y de mejores índices reproductivos, y mejora del bienestar animal y obtención de productos de mejor calidad e inocuidad alimentaria para el consumo humano. Los diversos proyectos incluyen secuenciación y análisis del genoma bovino, identificación de marcadores moleculares asociados a rasgos de interés comercial como rendimiento y calidad de leche, genómica funcional, transgénesis y clonación, y se espera que aceleren la tasa de mejoramiento genético generando animales mejor adaptados al medio y de mejor rendimiento productivo (Fuente: Blueprint for USDA Efforts in Agricultural Animal Genomics 2008-2017).

Un proyecto liderado por la Fundación para la Investigación Láctea de California (CDRF) y la Universidad de California denominado “Entendimiento genómico de los lípidos de la leche, explorando la variabilidad natural”, se basa en la búsqueda de marcadores moleculares (SNPs) asociados al rendimiento, composición y estructura de ácidos grasos presentes en razas lecheras, las cuales están bajo un estricto control lechero. Se espera generar un banco de información genética conteniendo el análisis de ADN de animales individuales y seleccionar así

los animales de mayor mérito para productos específicos como leche enriquecida en ácidos grasos monoinsaturados. Hasta ahora se han identificado marcadores localizados en el cromosoma 5, uno de ellos relacionado a una proteína que controla la biosíntesis de lípidos.

En 2001 la “Association of Animal Breeders”, organización que agrupa y representa la industria de inseminación artificial, priorizó las áreas de fertilidad y cruzamientos en animales bajo programas continuos de mejoramiento genético para rasgos de producción. Como respuesta se inició un programa multiestatal de selección genética y manejo reproductivo, implementando evaluaciones y registros de fertilidad y facilidad de parto para generar un índice de mérito económico que incluye aspectos reproductivos y los gastos de mantención asociados, imitando programas internacionales como Interbull. Como resultados, se espera la identificación de genes y/o marcadores que permitan mejorar la fertilidad, la tasa de preñez al primer servicio (inseminación) y aumentar el intervalo entre partos y mejorar resistencia a enfermedades (ej: distocia; Green et al, 2007).

Otras áreas de desarrollo y aplicaciones de la biotecnología han sido: 1- Aprovechamiento de la producción de suero a partir de leche de bovino, particularmente en California, y su utilización en otras industrias, por ejemplo, desarrollando películas (films) y cubiertas donde se incorporan compuestos bioactivos provenientes de la leche con actividad anti-bacteriana como lactoferrina, lizosima y lactoperoxidasa, entre otros, los cuales tienen un uso potencial en la industria de conservación de alimentos; 2- Desarrollo de mejores test diagnósticos para enfermedades basados en herramientas de nanotecnología y biología molecular, por ejemplo, para toxina botulínica ; 3- Detección y monitoreo de contaminantes biológicos asociados a sistemas de producción animal.

En el área de genómica, Norteamérica ha liderado el Consorcio Internacional para la Secuenciación y Análisis del Genoma Bovino y la identificación de marcadores moleculares asociados a rasgos de interés productivo

publicando recientemente la secuencia del genoma bovino y la primera validación de un panel de aprox. 37.000 SNPs en Holstein (The Bovine HapMap Consortium, 2009), y se están iniciando la recolección de registros y análisis en bovinos Jersey.

### **Nuestro escenario**

Chile, al igual que nuestros países vecinos también ha desarrollado algunas áreas de la biotecnología en el rubro lechero. Hace varios años existen programas de manejo y mejoramiento genético basados en registros genealógicos y fenotipos asociados a la importación de semen congelado (principalmente de Norteamérica, Holanda y Alemania) e inseminación artificial. Si bien estas acciones han contribuido, en general, al progreso genético, a excepción de muy pocos trabajos (ver Elzo et al, 2004; Uribe y Smulders, 2004), no existen evaluaciones y/o estudios del material introducido respecto al impacto real de éstos sobre parámetros de producción en nuestras condiciones locales, las cuales pueden diferir de lo reportado en otros países debido a su interacción con el medio ambiente, siendo recomendable tener una mayor fiscalización y control del material importado. Además, se han dejado de lado los animales “criollos” que estando bien adaptados a las condiciones medioambientales y fitosanitarias de nuestro país, tienen menor rendimiento debido a veces, a un manejo inadecuado. Como consecuencia, la diversidad de su potencial genético se ha ido perdiendo progresivamente. En este sentido, es necesario trazar directrices para comenzar un programa nacional de mejoramiento y evaluación genética del bovino lechero que establezca e impulse las políticas y objetivos necesarios en relación a herramientas de información genética que determinen el mérito de la genética a introducir a nuestros sistemas, así como la evaluación de los animales que conforman nuestros rebaños, acompañado de un programa de conservación de la genética local. Por supuesto, antes se debe elegir el o los biotipos del animal requerido para los principales sistemas de producción del sector lácteo a nivel nacional, por ejemplo, para mayor producción de leche o con una composición enriquecida en proteína o grasa;

## Proteínas intervenidas mediante herramientas biotecnológicas en Rumiantes

Blanco	Acción	Biotecnología	Efectos
<b>Acil-coA carboxilasa</b>	Expresión de enzima.	Modificación genética	Mayor nivel de ácidos monoinsaturados en leche.
<b>Caseína</b>	Sobreexpresión de $\beta$ y $\kappa$ -caseínas en bovino.	Transgénesis	Aumento de proteínas en leche, mejores propiedades para la industria.
	Selección de bovinos que expresan sólo caseína A2.	MAS*	Leche con propiedades nutracéuticas.
<b>DGAT1</b>	Selección de bovinos con alelos favorable.	MAS	Mayor producción de leche, con un mayor contenido de grasa.
<b>Inmunoglobulinas</b>	Sobreexpresión de anticuerpos humanos en bovino.	Transgénesis	Terapia humana.
<b>Insulina</b>	Expresión de la hormona humana en bovino.	Transgénesis	Terapia humana.
<b>Lactoferrina</b>	Expresión de la proteína humana en bovino.	Transgénesis	Mayor contenido en leche, mejores propiedades antibacterianas.
<b><math>\beta</math>-Lactoglobulina</b>	Eliminación de la proteína en leche bovina.	Modificación genética	Leche con menores efectos alergénicos.
<b>Lactosa</b>	Sobreexpresión de lactasa y $\alpha$ -lactoalbúmina.	Transgénesis	Reducción de intolerancia a lactosa pero con menor contenido de azúcares.
<b>Leptina</b>	Selección de bovinos con alelos favorable.	MAS	Mayor producción de leche, con mayor contenido de proteína.
<b>Lisostafina</b>	Expresión de la proteína en glándula mamaria de vacas.	Transgénesis	Resistencia a <i>S. aureus</i> (mastitis) con menor RCS*.
<b>Lisozima</b>	Expresión de la proteína humana en cabras.	Transgénesis	Leche con mejores propiedades antibacterianas y para la industria, menor RCS.
<b>Prion</b>	Eliminación de la proteína en bovino.	Modificación genética	Resistencia a encefalopatía espongiiforme bovina.
<b>Somatotropina</b>	Expresión exógena de hormona recombinante.	Terapia hormonal	Aumento de la producción de leche.
	Expresión de la hormona humana en bovino.	Transgénesis	Terapia humana.

\*MAS: selección asistida por marcadores moleculares. \*RCS: recuento de células somáticas.

o para sistemas de producción más o menos intensivos. Estas iniciativas deben tener su origen en el gobierno y reafirmadas por los actores que conforman la cadena productiva de la leche.

Otro aspecto que se está desarrollando en el país es el control lechero que se utiliza para asegurar la calidad y producción de leche. Este servicio es ofrecido por unas pocas empresas y laboratorios privados, sin embargo, hasta la fecha sólo un porcentaje menor de la masa total de animales en producción están bajo control (aprox. 15%), a diferencia de potencias como los países nórdicos donde este control se aplica por norma, alcanzando a más del 90% de los rebaños, incluyendo parámetros de salud debido a su importancia para la producción. Debido a que los resultados del control lechero nacional no están públicamente disponibles para el resto de los productores, no se obtiene provecho directo de los resultados obtenidos, información vital para aumentar la producción, salud y calidad de la leche en todo el rubro (Concha, 2008). Es fundamental, entonces, realizar acciones tendientes a fortalecer el control lechero aumentando la población de animales sujeta a análisis hasta alcanzar un programa nacional de control lechero oficial uniforme para todo el país, dirigido por el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) o el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), accediendo libremente pero cautelando la información particular para realizar estudios comparativos y/o desarrollar políticas con objeto de aumentar la competitividad de todo el sector. Es necesario mejorar los sistemas de registros genéticos, establecer procedimientos oficiales para el reconocimiento de nuevas razas (ejemplo, razas criollas o producto de nuevos cruzamientos) y aumentar el diagnóstico y control de enfermedades infecciosas y reproductivas que aún son prevalentes y que merman el proceso de producción y rentabilidad del sector lácteo. Estas acciones son pilares fundamentales para pensar en acceder a programas genéticos modernos como la identificación y utilización de marcadores moleculares en programas de mejoramiento basados en selección asistida por marcadores.

En el ámbito de las tecnologías reproductivas, la fertilización *in vitro*,

transferencia de embriones y el sexaje de semen tienen escaso desarrollo en nuestro país, aunque algunas empresas están ofreciendo estos servicios y análisis pero aún sin consolidarse. Otras técnicas más avanzadas como clonación y transgénesis han sido abordadas sólo a nivel de investigación en universidades e institutos (INIA Carillanca, Universidad de Concepción y Universidad Austral de Chile) hasta ahora con distinto éxito (Martínez-Díaz et al, 2007; Rodríguez-Alvarez et al, 2009). Los estudios se han enfocado en establecer tecnologías de transformación genética y transferencia nuclear, y la estandarización de condiciones óptimas de cultivo para la generación de embriones bovinos viables que permitan avances en el área de transgénesis y biofactorías con objeto de producir en leche proteínas recombinantes de uso terapéutico y/o industrial.

En relación a marcadores moleculares, el Centro de Inseminación de la Universidad Austral (CIA) ofrece servicios de identificación, paternidad o análisis de pedigrí por genotipificación principalmente en equinos, y en menor medida brindando apoyo a estudios de abigeato en bovinos. En 2004 investigadores de INIA Carillanca y Remehue comenzaron a trabajar en la identificación y validación de marcadores moleculares (10 microsátélites) para estudios de trazabilidad en bovinos de carne, implementando una técnica que permite garantizar la calidad del producto, al ser utilizada como herramienta certificadora de la trazabilidad convencional. Esta técnica de huella genética que es altamente confiable está disponible para bovinos de leche. Actualmente, el equipo de INIA Remehue está trabajando en la identificación y validación de marcadores moleculares (SNPs) en bovinos de leche, con objeto de realizar una valoración más exacta del mérito genético en relación a caracteres de interés productivo como son el rendimiento, contenido y composición de proteína y grasa en leche, y resistencia a enfermedades, además de su utilización como herramienta útil para direccionar los planteles dependiendo de su objetivo comercial.

Por último, en el área de microbiología se han realizado algunos proyectos (INIA Carillanca, UACH) basados en inmunología y biología

molecular con objeto de identificar patógenos causantes de patologías como brucelosis, diarrea viral bovina, tuberculosis, entre otras, a nivel de estanque lechero y rebaños, señalando la gran precisión y sensibilidad de estas técnicas (Felmer et al, 2006). Recientemente, se han comenzado estudios para caracterizar la flora bacteriana presente en el rumen de bovinos lecheros mediante biología molecular, y su modificación por los diferentes tipos de forraje disponibles (UACH). En esta línea, sería muy interesante identificar microorganismos probióticos para el consumo humano, desarrollar biomarcadores y estudiar sus interacciones con la flora bacteriana ruminal o humana.

Debido a varios factores, por ejemplo la geografía y el tamaño de nuestro territorio, el volumen de producción de leche es aún bajo en comparación con nuestros vecinos y las grandes potencias lecheras. La posibilidad de aumentar la producción, entonces, es una meta clara a alcanzar. Sin embargo, y en concordancia con los escenarios a nivel mundial, proponemos que el sector lácteo debería apostar por generar productos diferenciados con un mayor valor agregado, (por ejemplo con mayor calidad proteica), de mayor inocuidad y enriquecida en compuestos que promuevan la salud de los consumidores (productos funcionales) direccionando así sus productos a segmentos específicos del mercado que están cobrando importancia, debido al poder adquisitivo de la creciente población interesada en dichos productos. En el caso de estos alimentos, no existen suficientes laboratorios especializados para realizar el análisis, identificación y cuantificación de proteínas de leche o ácidos grasos específicos como los conjugados y otros. Se deberían realizar esfuerzos para aumentar la oferta de estos análisis en las principales regiones lecheras. Es necesario, también, incentivar e invertir en la formación de recursos humanos especializados con objeto de desarrollar y adaptar tecnologías moleculares en nuestro país y reducir la brecha tecnológica existente y de I+D+i con los países desarrollados, algunos de ellos competidores directos. Si bien nuestro país ha aumentado la oferta de becas de especialización a través de CONICYT o el Programa de Becas Chile, pocos son los interesados en realizar dichos estudios en los

rubros de biotecnología tanto animal como vegetal y genética cuantitativa. Otra posibilidad de avanzar rápidamente es aumentar el apoyo a los centros especializados que se han formado en Chile y atraer a centros tecnológicos internacionales de excelencia para que se instalen en Chile, instancia que tiene el apoyo del gobierno. En conjunto, estos esfuerzos contribuirán a alcanzar la meta de constituirnos en potencia agroalimentaria y aumentar la competitividad y eficiencia especialmente en el rubro de la leche y sus derivados.

El objetivo del rubro lechero en Chile es aumentar la competitividad y sustentabilidad del sector lechero nacional agregando valor agregado a la cadena láctea, con objeto de lograr un desarrollo que posicione a Chile como líder en el mercado mundial. Si bien existen fortalezas como sistemas de control y seguimiento de algunas enfermedades, disponibilidad de alimento a costos bajos (forrajes) y algunas otras ya mencionadas, este escenario puede cambiar en un corto tiempo, constituyendo una amenaza para el desarrollo del rubro. Ejemplo de esto son los altos costos de producción que se han visto en el último tiempo, principalmente debido a mayores costos de fertilizantes y uso de granos para palear los efectos de un clima cada vez más agresivo, y al voluble precio de la leche. La experiencia de otros rubros señala que no podemos sobre-exigir o intensificar los sistemas sin evaluar los efectos sobre el medio ambiente y sobre los propios animales si queremos mantener la sustentabilidad del negocio.

### **Potenciales áreas de desarrollo en Chile**

En base al estado actual del sector lácteo nacional y las capacidades en el área de biotecnología ya descrita, proponemos los siguientes programas con potencial desarrollo para la aplicación de herramientas biotecnológicas:

**1- Aumento de la producción nacional de leche.** Chile requiere mayores volúmenes de leche tanto para satisfacer la demanda nacional como para aumentar la disponibilidad de leche para exportación. La selección de animales mediante la identificación y/o validación de marcadores

moleculares relacionados a parámetros de rendimiento, eficiencia de conversión de alimentos y parámetros reproductivos como facilidad de parto, número de lactancias y enfermedades como laminitas (cojeras), permitirá aumentar la producción de leche por animal y en conjunto con el manejo predial la producción por hectárea.

## **2- Generación de productos diferenciados.**

La tendencia mundial apunta a aumentar el valor agregado de los alimentos y debido a nuestra reputación sanitaria tenemos la oportunidad de generar leche y derivados inocuos con mejores atributos como propiedades funcionales o nutraceuticas. La selección de animales mediante marcadores para tipos de grasa, proteína y otros puede generar productos lácteos y derivados bajos en grasas saturadas, o enriquecidos en grasas insaturadas tipo CLA y/o omega 3, libres de azúcares o enriquecidos con compuestos bioactivos. Además, los productores podrían direccionar sus sistemas de producción mediante la selección de animales para la producción de leche, fabricación de queso, yogurt u otros derivados. Este programa puede potenciarse con el estudio del efecto de sistemas de alimentación basados en la administración de granos o sistemas pastoriles en base a ballicas y forrajeras específicos.

## **3- Caracterización de forrajes y flora ruminal.**

La nutrición animal es clave para una eficiente conversión del alimento en leche y se relaciona estrechamente con la función ruminal. Se propone caracterizar el potencial genético de las variedades locales de forrajes frente a estrés hídrico y de nutrientes, resistencia a acidificación de suelo (amenazas directas del cambio climático) y eficiencia de uso del nitrógeno, mediante el estudio de la expresión y regulación de genes asociados empleando técnicas biología molecular. Asociado a ensayos microbiológicos, se propone identificar la flora bacteriana ruminal y establecer las relaciones de eficiencia de conversión de alimentos y generación de compuestos contaminantes, de modo de mantener la sustentabilidad ambiental del rubro. También, identificar bacterias y/o cepas con putativas propiedades pre o probióticas (ejemplo, identificación de compuestos bioactivos mediante análisis proteómico) para generar productos con un mayor valor agregado o para mejorar los

procesos tecnológicos como fermentación, formación de cuajo y otros.

## **4- Desarrollo de métodos diagnósticos.**

A pesar de su condición sanitaria excepcional, Chile aún presenta algunas enfermedades que merman la productividad de los planteles lecheros, siendo la prevención y el diagnóstico temprano y preciso factores claves para el manejo y/o tratamiento. Proponemos incentivar el desarrollo e implementación de métodos de diagnóstico cuantitativos y trazabilidad de patógenos basados en biología celular y molecular para enfermedades como tuberculosis, mastitis u otras enfermedades de alta prevalencia e impacto a nivel predial, de modo asegurar la sanidad de los rebaños y la calidad higiénica de la leche, parámetros cada vez más requeridos por los mercados nacionales e internacionales.

## **Conclusiones**

Desde la domesticación de los primeros bovinos, el hombre ha realizado mejora genética mediante el manejo reproductivo y la observación del fenotipo pero sin el conocimiento de los genes y/o mecanismos detrás de esta selección. Actualmente, vemos resultados que permiten avizorar que a futuro, y echando mano al cúmulo de información que se está generando a través de las técnicas nuevas de genómica, ingeniería genética y biotecnología, se podrán identificar los genes involucrados en procesos relacionados a resistencia a enfermedades, aprovechamiento de nutrientes o composición de la leche y sus derivados, pudiendo seleccionar aquellos animales de interés mediante selección asistida por marcadores, o introducir o retirar alelos de genes específicos, lo que permitirá acelerar el progreso genético y hacer más eficiente la producción de productos lácteos funcionales. La adopción de estas técnicas, metodologías y/o servicios por la industria privada requiere un tiempo para su instalación y desarrollo y un costo asociado para la producción, por lo que son necesarios estudios para evaluar la factibilidad técnico-económica de ejecución de proyectos, considerando los recursos y capacidades necesarios (ejemplo, los animales destinados a cada estudio que son sacados de los

predios de producción). La importación de genética es importante para el mejoramiento genético pero requiere tomar en cuenta sus efectos sobre la consanguinidad y la consecuente pérdida genética y por ende de biodiversidad en nuestros predios debiendo ir acompañado de la conservación de nuestros recursos genéticos. Por último, la sociedad y los consumidores deben avalar la introducción de estas nuevas tecnologías, restando aún esfuerzos por educar la conciencia pública acerca del real aporte de ellas en la generación de nuevos productos y la inocuidad y beneficios de su inserción en el mercado lácteo.

## Glosario

**ADN (Ácido desoxirribonucleico).** Macromolécula que contiene la información genética de los organismos.

**Alelo o Polimorfismo.** Cada una de las formas alternativas que puede tener un gen o región. Se diferencian en su secuencia lo que puede traducirse en modificaciones de la función de ese gen entre individuos de una misma especie.

**Alimentos Funcionales.** Alimentos que aparte de su función nutricional confieren beneficios sobre la salud humana.

**Genoma.** Toda la información genética de una especie y que está contenida en los cromosomas. El estudio de su estructura y función se llama genómica.

**Marcador molecular.** Región del ADN cuya variabilidad (polimorfismo) permite diferenciar individuos o identificar regiones asociadas a características específicas.

**MAS (Marker-assisted selection).** Selección asistida por marcadores moleculares. Programa de mejoramiento basado en el uso de marcadores de ADN para predecir el mérito genético y asistir en la selección de progenitores.

**PCR (Polymerase Chain Reaction).** Reacción en Cadena de la Polimerasa, que permite la amplificación enzimática de fragmentos o secuencias específicas de ADN.

**Proteómica.** Estudio de la expresión e interacción de las proteínas en una célula o tejido.

**QTL (Quantitative Trait Loci).** Loci de rasgos cuantitativos, región de ADN que contribuye a la variabilidad de caracteres cuantitativos complejos.

**SNP (Single Nucleotide Polymorphism).** Polimorfismo de Nucleótido Simple, marcador molecular que consiste en una mutación puntual del ADN.

## Abreviaturas

ADHIS: Australian Dairy Herd Improvement Scheme  
 AIPL: Animal Improvement Programs Laboratory  
 ARS: Agricultural Research Service  
 CSREES: Cooperative State Research, Education and Extension Service  
 CDRF: California Dairy Research Foundation  
 CRC: Dairy Cooperative Research Centre  
 CSIRO: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation  
 ISAG: International Society of Animal Genetics  
 USDA: United States Department of Agriculture

## Links de interés

- <http://www.agresearch.co.nz/>
- <http://www.angis.org.au/Databases/BIRX/omia/>
- <http://www.animalbiotechnology.org/>
- <http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech/>
- <http://www.ars.usda.gov/>
- <http://www.asg.wur.nl/UK/>
- <http://www.biotechlearn.org.nz/>
- <http://www.biotechnology.gov.au>
- <http://www.csrees.usda.gov/animalbreedinggenetics/genomics.cfm>
- <http://www.dairyerc.com>
- <http://www.idfa.org>
- <http://www.imgconsortium.org/>
- [http://www.lic.co.nz/lic\\_DNA\\_Proven.cfm](http://www.lic.co.nz/lic_DNA_Proven.cfm)
- <http://www.livestockhorizons.com>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/cow/>
- <http://www.teagasc.ie/>
- <http://www.vetsci.usyd.edu.au/reprogen/>

## Referencias

- Bell JA and Kennelly JJ. (2001) “Conjugated linoleic acid enriched milk: A designer milk with potential”. *Adv. Dairy Technol.* 13: 213-28.
- Bell SJ, Grochoski GT and Clarke AJ. (2006) “Health implications of milk containing beta-casein with the A2 genetic variant”. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46: 93-100.
- The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik C, Tellam R and Worleys K. (2009) “The genome sequence of taurine cattle: A window to ruminant biology and evolution”. *Science* 324: 522-8.
- The Bovine HapMap Consortium. (2009) “Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds”. *Science* 324: 528-32
- Bremel RD, Yom, HC and Bleck GT. (1989) “Alteration of milk composition using molecular genetics”. *J. Dairy Sci.* 72: 2826–33.
- Brophy B, Smolenski G, Wheeler T, Wells D, L’Huillier P and Laible G. (2003) “Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of b-casein and k-casein”. *Nat. Biotechnol.* 21: 157–62.

- Capper JL, Castañeda-Gutiérrez E, Cady RA and Bauman DE. (2008) "The environmental impact of recombinant bovine somatotropin (rbST) use in dairy production". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 9668-73.
- Carlton RM, Noordman WH, Biswas B, et al. (2005) "Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application". *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 43: 301-12.
- Concha C. (2008) "Mejoramiento del rebaño lechero en Chile". En: *Tierra Adentro (INIA)*. 78: 30-32.
- CRC Factsheet. (2006) "Research in Genetic Modification". [www.dairycrc.com](http://www.dairycrc.com).
- Cibelli JB, Stice SL, Golueke PJ, Kane JJ, Jerry J, Blackwell C, Ponce de León FA and Robl JM. (1998) "Clones transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts". *Science*. 280: 1256-8.
- Clare DA, Castignani GL and Swaisgood HE. (2003) "Biodefense properties of milk: the role of antimicrobial proteins and peptides". *Curr. Pharm. Des.* 9: 1239-55.
- Detwiler L and Rubenstein R. (2000) "Bovine spongiform encephalopathy: an overview". *Asaio J.* 46: S73-S79.
- Elzo MA, Jara A and Barria N. (2004) "Genetic parameters and trends in the Chilean multibreed dairy cattle population". *J. Dairy Sci.* 87: 1506-18.
- Fadiel A, Anidi I and Eichenbaum K. (2005) "Farm animal genomics and bioinformatics: an update". *Nucleic Acids Res.* 33: 6308-18.
- Fan W., Plaut K, Bramley AJ, Barlow JW, Mischler SA and Kerr DE. (2004) "Persistence of adenoviral-mediated lysostaphin expression in goat mammary glands". *J. Dairy Sci.* 87: 602-8.
- Felmer R. (2004) "Animales transgénicos: pasado, presente y futuro". *Arch. Med. Vet.* 36: 105-17.
- Felmer R, Zúñiga J y Recabal M. (2006) "Estudio comparativo de un PCR anidado, ELISA y AGID en la detección del virus de la leucosis bovina en muestras de suero, sangre y leche". *Arch. Med. Vet.* 38: 137-41.
- Felmer R, Chávez R, Catrileo A y Rojas C. (2006) "Tecnologías actuales y emergentes para la identificación animal y su aplicación en la trazabilidad animal". *Arch. Med. Vet.* 38: 197-206.
- Fitzgerald GF and Murray BA. (2006) "Bioactive peptides and lactic fermentations". *Int. J. Dairy Technol.* 16: 945-60.
- Giovambattista G, Ripoli M, Lirón J, et al. (2001) "Aplicación de las técnicas de polimorfismo de DNA en la resolución de casos de abigeato, identificación individual y determinación de paternidad". *Analecta Veterinaria*. 21:5-11.
- Mc Grath S, Fitzgerald GF and van Sinderen D. (2007) "Bacteriophages in dairy products: Pros and cons". *Biotechnol. J.* 2: 450-55.
- Green RD, Qureshi MA, Long JA, Burfening PJ and Hamernik DL. (2007) "Identifying the future needs for long-term USD efforts in agricultural animal genomics". *Int. J. Biol. Sci.* 3: 185-91.
- Haug A, Høstmark AT and M Harstad OM. (2007) "Bovine milk in human nutrition – a review". *Lipids Health Dis.* 6: 25-40.
- Hayes M, Ross RP, Fitzgerald GF and Stanton C. (2007 A) "Putting microbes to work: Dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part I: Overview". *Biotechnol. J.* 2: 426-34.
- Hayes M, Stanton C, Fitzgerald GF and Ross RP. (2007 B) "Putting microbes to work: Dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part II: Bioactive peptide functions". *Biotechnol. J.* 2: 435-49.
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ and Goddard ME. (2009) "Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges". *J. Dairy Sci.* 92: 433-43.
- Heyman Y. (2005) "Nuclear transfer: a new tool for reproductive biotechnology in cattle". *Reprod. Nutr. Dev.* 45: 353-61.
- Hilliam M. (2003) "Future for dairy products and ingredients in the functional foods market". *Aust. J. Dairy Technol.* 58: 98-103.
- Jaros D, Partschefeld C, Henle T and Rohm H. (2006) "Transglutaminase in dairy products: Chemistry, physics, applications". *J. Texture Stud.* 37: 113-55.
- Jost B, Vilotte JL, Duluc I, Rodeau JL and Freund JN. (1999) "Production of low lactose milk by ectopic expression of intestinal lactase in the mouse mammary gland". *Nat. Biotechnol.* 17: 160-14.
- Karatzas CN. (2003) "Designer milk from transgenic clones". *Nat. Biotechnol.* 21: 138-9.
- Kerr DE and Wellnitz O. (2003) "Mammary expression of new genes to combat mastitis". *J. Anim. Sci.* 81(Suppl. 3): 38-47.
- Khatkar M, Thomson P, Tammen I and Radsma H. (2004) "Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analyses". *Genet. Sel. Evol.* 36: 163-90.
- Korhonen H and Pihlanto A. (2006) "Bioactive peptides: production and functionality". *Int. Dairy J.* 16: 945-60.
- Krimpenfort P, Rademakers A, Eyestone W, van der Schans A, van den Broek S, Kooiman P, Kootwijk E, et al. et al. (1991) "Generation of transgenic dairy cattle using in vitro embryo production". *Biotechnology (NY)*. 9: 844-7.
- Kuroiwa Y, Kasinathan P, Sathiyaseelan T, Jiao J, Hiroaki M, Sathiyaseelan J, Wu HMellquist J, Hammitt M, Koster J, et al. (2009) "Antigen-specific human polyclonal antibodies from hyperimmunized cattle". *Nat. Biotechnol.* 27: 173-181.
- Laible G, Brophy B, Knighton D and Wells DN. (2007) "Compositional analysis of dairy products derived from clones and cloned transgenic cattle". *Theriogenology* 67: 166-77.
- Macciota NP, Mele M, Conte G, Serra A, Cassandro M, et al. (2008) "Association between a polymorphism at the stearoyl CoA desaturase locus and milk production traits in Italian Holsteins". *J. Dairy Sci.* 91: 3184-9.
- Maga EA, Shoemaker CF, Rowe JD, Bondurant RH, Anderson GB and Murray JD. (2006) "Production and processing of milk from transgenic goats expressing human lysozyme in the mammary gland". *J Dairy Sci.* 89: 518-24.
- Martínez-Díaz MA, Gatica R, Correa J y Eyestone W. (2007) "Gestaciones producidas con embriones bovinos clonados por transferencia nuclear". *Arch. Med. Vet.* 39: 59-62.
- Meisel H. (2005) "Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins". *Curr. Med. Chem.* 12: 1905-19.



- Melo E, Canavessi A, Franco M and Rumpf R. (2007) "Animal transgenesis: state of the art and applications". *J. Appl. Genet.* 48: 47-61.
- Möller C, Bockelmann W, Ammann A and Heller KJ. (2007) "Production of yoghurt with mild taste by a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mutant with altered proteolytic properties". *Biotechnol. J.* 2: 469-79.
- O'Donnell JA. (1989) "Milk fat technologies and markets: A summary of the Wisconsin Milk Marketing Board 1988 Milk Fat Roundtable". *J. Dairy Sci.* 72: 3109-1801.
- O'Flaherty SO, Coffey A, Meaney WJ, Fitzgerald GC and Ross RP. (2005) "Inhibition of bacteriophage K proliferation on *Staphylococcus aureus* in raw bovine milk". *Lett. Appl. Microbiol.* 41: 274-9.
- Özrenk E. (2006) "The use of transglutaminase in dairy products". *Int. J. Dairy Technol.* 59: 1-7.
- Rastall RA and Maitin V. (2002) "Prebiotics and synbiotics: towards the next generation". *Curr. Opin. Biotechnol.* 13: 490-6.
- Reh WA, Maga EA, Collette NMB, Moyer A, Conrad-Brink JS, Taylor SJ, DePeters EJ, Oppenheim S, Rowe JD, et al. (2004) "Using a stearoyl-CoA desaturase transgene to alter milk fatty acid composition". *J. Dairy Sci.* 87: 3510-4.
- Richt JA, Kasinathan P, Hamir AN, Castilla J, Sathiyaseelan T, Vargas F, Sathiyaseelan J, Wu H, Matsushita H, Koster J, Kato S, et al. (2006) "Production of cattle lacking prion protein". *Nat Biotechnol.* 25: 132-8.
- Rodríguez-Alvarez L, Cox J, Navarrete F, Valdés C, Zamorano T, Einspanier R and Castro FO. (2009) "Elongation and gene expression in bovine cloned embryos transferred to temporary recipients". *Zygote.* 8:1-13.
- Sabikhi L. (2007) "Designer Milk". *Adv. Food Nut. Res.* 53: 161-98.
- Schennink A, Heck JM, Bovenhuis H, Visker MH, van Valenberg HJ and van Arendonk JA. (2008) "Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of SCD1 and DGAT1". *J. Dairy Sci.* 91: 2135-43.
- Shanahan F. (2000) "Therapeutic manipulation of gut flora". *Science* 289: 1311-12.
- Stanton C. (2000) "CLA: A health-promoting component of animal and milk fat. End of project report". In: *The Dairy Products Research Centre Moorepark, Fermoy, Co. DPRC N° 26: 1-13.*
- Thomassen EA, et al. (2005) "The protein structure of recombinant human lactoferrin produced in the milk of transgenic cows closely matches the structure of human milk-derived lactoferrin". *Transgenic Res.* 14: 397-405.
- Truswell AS. (2005) "The A2 milk case: a critical review". *Eur. J. Clin. Nutr.* 59: 623-31.
- van Berkel PH, Welling MM, Geerts M, van Veen HA, Ravensbergen B, Salaheddine M, Pauwels EK, et al. (2002) "Large scale production of recombinant human lactoferrin in the milk of transgenic cows". *Nat Biotechnol.* 20: 484-7.
- van der Lende T, Te Pas M, Veerkamp R and Liefers S. (2005) "Genetics and physiology of leptin in periparturient cows". *Domest. Anim. Endocrinol.* 29: 227-38.
- van Hekken DL, Wall RJ, Somkuti GA, Powell MA, Tunick MH and Tomasula PM. (2009) "Fate of lysostaphin in milk from individual cows through pasteurization and cheesemaking". *J. Dairy Sci.* 92:444-57.
- Vilotte JL. (2002) "Lowering the milk lactose content in vivo: Potential interests, strategies and physiological consequences". *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 127-32.
- Wall RJ, Kerr DE and Bondioli KR. (1997) "Transgenic dairy cattle: Genetic engineering on a large scale". *J. Dairy Sci.* 80: 2213-24.
- Wall RJ, Powell AM, Paape MJ, Kerr DE, Bannerman DD, Pursel VG, Wells KD, et al. (2005) "Genetically enhanced cows resist intramammary *Staphylococcus aureus* infection". *Nat. Biotechnol.* 23: 445-51.
- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ and Campbell KH. (1997) "Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells". *Nature.* 385: 810-3.
- Yom HC and Bremel RD (1993) "Genetic engineering of milk composition: modification of milk components in lactating transgenic animals". *Am. J. Clin. Nutr.* 58 (2 Suppl): 299S-306S.