

## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

### Identificação de alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Gir Leiteiro<sup>1</sup>

Anibal Eugênio Vercesi Filho<sup>2</sup>, Gregório Miguel Ferreira de Camargo<sup>3</sup>, Diercles Francisco Cardoso<sup>3</sup>, Lenira el Faro Zadra<sup>4</sup>, André Rabelo Fernandes<sup>5</sup>, Humberto Tonhati<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Projeto financiado pelo PROEX/Unesp

<sup>2</sup>Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - PRDTA - Nordeste Paulista - Mococa SP. E-mail: [pop.aevf@apta.sp.gov.br](mailto:pop.aevf@apta.sp.gov.br)

<sup>3</sup>Pós-graduando em Genética e Melhoramento Animal - Unesp/Jaboticabal - [gregoriocamargo@hotmail.com](mailto:gregoriocamargo@hotmail.com);

[diercles.cardoso@yahoo.com.br](mailto:diercles.cardoso@yahoo.com.br)

<sup>4</sup>Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - PRDTA - Centro Leste - Ribeirão Preto - SP. E-mail: [lenira@apta.sp.gov.br](mailto:lenira@apta.sp.gov.br)

<sup>5</sup>Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro - ABCGIL - Uberaba/MG. E-mail: [andre@girleiteiro.org.br](mailto:andre@girleiteiro.org.br)

<sup>6</sup>Professor Titular do Departamento de Zootecnia - Unesp /Jaboticabal. [tonhati@fcav.unesp.br](mailto:tonhati@fcav.unesp.br)

**Resumo:** As caseínas são as proteínas mais abundantes no leite bovino. Dessas, as beta-caseínas respondem por cerca de 25 a 35% do total. Dentre as beta-caseínas, as mais frequentes são as codificadas pelos alelos A1 e A2. O alelo A1 está associado a algumas doenças em humanos, assim como com a alergia ao leite bovino. Na literatura, são descritas as frequências dos alelos desse gene apenas em raças taurinas. Foram genotipadas para este estudo, 385 matrizes da raça Gir Leiteiro, raça zebuína mais utilizada para produção de leite no Brasil, principalmente para a produção de animais mestiços. As frequências alélicas foram 88,5% para o alelo A2 e 11,5% para o alelo A1. Esse resultado pode agregar valor ao leite das vacas desta raça pelo fato do alelo A1, em baixa frequência na população estudada, estar associado a problemas de saúde humana. Também facilita a seleção por marcadores moleculares em rebanhos de produtores interessados.

**Palavras-chave:** *Bos taurus indicus*, leite A2, marcadores moleculares, produção de leite, sequenciamento.

### Identification of the alleles A1 e A2 for beta-casein gene in dairy Gyr.

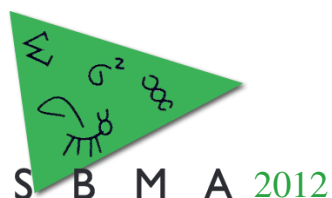
**Abstract:** The caseins are the more abundant proteins in cattle milk. The beta-caseins represent from 25% to 35% of the total protein. The most frequent beta-caseins are the ones codified by the alleles A1 and A2. The allele A1 is associated with some diseases in humans, as well as the allergy of cattle milk. There are studies describing these allelic frequencies only in taurine cattle. In this study, 385 Gyr cows were genotyped. The Gyr is the most used zebu breed to produce milk in Brazil also used in crossbreeds. The allelic frequencies were 88,5% to the allele A2 and 11,5% to the allele A1. This result may add value to the milk produced by this breed because the allele A1 that is associated with some human diseases is in a low frequency. It also facilitates the molecular markers assisted selection in herds of producers interested.

**Keywords:** *Bos taurus indicus*, milk A2, molecular markers, milk production, sequencing.

### Introdução

O leite bovino é uma importante fonte de proteínas na alimentação humana. Das proteínas presentes no leite, cerca de 80% são as caseínas. Essas se dividem em quatro grupos: alfa S1 (30-46% das caseínas), alfa S2 (8-11%), beta (25-35%) e kappa (8-15%) e são codificadas por genes presentes no cromossomo bovino 6.

As beta-caseínas se dividem em 13 variantes: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, H1, H2, I e G. As formas mais comuns no leite de bovinos são as caseínas A1 e A2 que se diferenciam pela mudança de um nucleotídeo na posição 67 da cadeia (prolina A2 e histidina A1). Estudos indicaram que inicialmente, toda população bovina continha apenas o alelo A2 e que através de uma mutação surgiu o alelo A1 (<http://vetconcerns.org/content/beta-casein-a2-gene-found-vechur-cattle>). A digestão da beta-caseína A1 no trato gastrointestinal humano tem como um de seus produtos finais um peptídeo bioativo que foi relacionado a várias doenças em humanos como: problemas coronarianos (Mc Lachlan 2001), alergia (Gobbetti et al, 2002) e diabetes mellitus tipo 1 (Elliot et al, 1999) entre outros.



## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

Em um estudo envolvendo a raça Vermelha Norueguesa (Nilsen et al, 2009) encontrou associação genética favorável do alelo A2 com maior produção de leite e proteína. Resultado semelhante foi obtido por Olenski et al (2010) que encontrou uma associação positiva entre o alelo A2 e o valor genético para produção de leite e proteína e associação negativa entre este gene e o valor genético para percentagem de gordura em touros Holstein na Polônia. Assim sendo, além de um valor agregado para a saúde humana, o alelo A2 da beta-caseína pode estar relacionado com maior produção de leite e proteína em bovinos.

A frequência do alelo A1 é maior em raças taurinas como a Holandesa e Pardo Suíço, intermediária na raça Jersey e muito baixa na raça Guernsey. Há, na Nova Zelândia, atualmente, laticínios que comercializam apenas leite com proteína A2 (o chamado leite A2) devido às suposições dessa variante não ser nociva à saúde humana como a variante A1.

No Brasil, cerca de 80% do leite é produzido por animais mestiços oriundos de acasalamento de uma raça taurina (predominantemente Holandês) com uma zebuína (predominantemente o Gir Leiteiro). Do total de sêmen produzido e comercializado no Brasil para a produção de leite, a raça Gir Leiteiro é responsável por cerca de 48% (ASBIA, 2011). Não existem na literatura, trabalhos que indicam as frequências desses alelos em raças zebuínas, em especial do Gir Leiteiro.

É objetivo desse estudo genotipar vacas da raça Gir Leiteiro de diferentes linhagens que fazem parte da população de animais que compõe o Programa Nacional de Melhoramento do Gir Leiteiro (PNMGL), executado pela Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro (ABCGIL) em parceria com a EMBRAPA-CNPGL verificando-se suas frequências genotípicas e alélicas.

### Material e Métodos

As extrações de DNA foram feitas a partir de folículo piloso a partir da metodologia de Fenol-Clorofórmio-Álcool Isoamílico. Os *primers* utilizados na amplificação foram 5' TGACCCCAATTTCTTAACCAAACCAA3' e 5'CTGGCTTTCAGTAAAGGGCTCAACTG3' que amplificaram uma região de 389pb que compreende uma região parcial do íntron 6 e éxon 7 do gene da beta-caseína.

As reações de amplificação tinham um volume final de 15µL seguindo protocolo da GoTaq Colorless Master Mix (Promega). Os ciclos de amplificação seguiram a programação: 95°C por 5 min, 95°C por 1 min, 63°C por 1 min, 72°C por 1 min (35 ciclos) e 72°C por 5 min.

O produto de PCR foi sequenciado a partir de ambos *primers* usando a técnica de terminação de cadeia por dideoxynucleotídeos (ddNTPs). Para a análise e identificação dos polimorfismos, as sequências obtidas foram analisadas e visualizadas com os programas CodonCode Aligner.

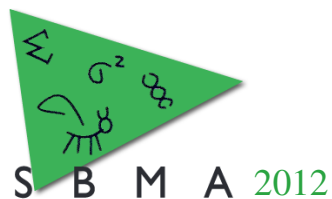
### Resultados e Discussão

Foram genotipadas 385 vacas Gir Leiteiro de 8 rebanhos localizados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Os resultados estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1-** Frequências alélicas e genotípicas para os alelos A1 e A2 em um amostra de 385 matrizes da população de Gir Leiteiro no Brasil.

Frequências alélicas		Frequências genotípicas		
A1	A2	A1A1	A1A2	A2A2
0,115	0,885	0,084	0,062	0,854

O alelo A1 está associado a uma série de problemas de saúde humana como diabetes tipo 1, problemas coronarianos, alergia ao leite bovino, entre outros. É encontrado em baixa frequência na população de Gir Leiteiro no Brasil, sendo uma situação favorável como promotor da saúde humana. As frequências genotípicas não se encontram em equilíbrio de Hardy-Weinberg a 5% indicando que o locus pode estar sob efeito de seleção. Uma amostra de cada genótipo foi sequenciada e o depósito feito no NCBI sob os número de acesso JN051275 e JN051276.



## IX Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal

João Pessoa, PB – 20 a 22 de junho de 2012

Estima-se que cerca de 80% das vacas que produzem leite no Brasil possuem algum grau de herança de Gir Leiteiro e mais de 46% do sêmen produzido e no Brasil para leite é dessa raça. Assim sendo, o Gir Leiteiro pode agregar valor ao leite de seus animais pelo fato de transmitir em baixa proporção o alelo A1.

Facilita também a seleção assistida por marcadores moleculares para aqueles produtores que quiserem produzir leite A2 a partir do seu rebanho. A alta frequência do alelo A2 facilita a seleção dos genótipos A2A2 e não acarreta em perda genética substancial do rebanho no descarte dos genótipos desfavoráveis para a atividade. Todavia, aconselha-se que a ajuda nas tomadas de decisão sejam feitas por técnicos especializados. A Unesp-Jaboticabal em parceria com o APTA de Mococa e Ribeirão Preto e a ABCGIL realiza gratuitamente através de um projeto de extensão a genotipagem desse alelos para o gene da beta-caseína em bovinos de produtores interessados.

Estudos de associação dos genes A1 e A2 com características de produção do leite e seus constituintes devem ser conduzidos nessa população, assim como possíveis influências do leite com a caseína A1 na saúde humana.

### Conclusões

O alelo A2 se encontra em uma frequência bastante superior ao do alelo A1 na população de Gir Leiteiro, o que agrega valor ao leite das vacas dessa raça pelo fato do alelo A1, em baixa frequência na população estudada, estar associado a problemas de saúde humana. Facilita também a seleção assistida por marcadores moleculares nos rebanhos dos produtores interessados.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro (ABCGIL) pelo auxílio na coleta do material genético.

### Literatura citada

Elliot RB, Harris, Dp, Hill, JP, et al. Type I (insulindependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. **Diabetologia** 42:292-296, 1999.

Gobbetti, M., Stepaniak L., De Angelis, M., et al. Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 42:223-239, 2002.

<http://vetconcerns.org/content/beta-casein-a2-gene-found-vechur-cattle> acesso em 15/09/2011.

Kaminski, S., Cieslinska, A., Kostyra, E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potencial effect on human health. **J. Appl. Genet.** 48(3), 189-198, 2007.

Mc Lachian, CNS. Beta casein A1, ischemic heart disease mortality and other illness. **Med. Hypotheses** 56, 262-272, 2001.