

XIV Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal
Santa Catarina, Brasil –18 a 19 de Outubro de 2021

Frequência alélica e genotípica para beta-caseína do leite em rebanhos leiteiros na microrregião de Araguaína, Tocantins, Brasil.

Rodolfo Olinto Rotoli Garcia Oliveira¹, **Jorge Luís Ferreira**^{1,2*}, Matheus Henrique Dias Rodrigues², Ana Beatriz Bezerra Sousa², Itallo Romero Marques Sobreira², Minos Esperandio de Carvalho³, Helcileia Dias Santos¹, Silvia Minharro¹, José Bento Sterman Ferraz³.

¹Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública, Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil.

²Núcleo de Pesquisa e Extensão em Genética e Melhoramento Animal, Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, TO, Brasil.

³Grupo de Melhoramento Animal e Biotecnologia, FZEA, USP, Pirassununga, SP, Brasil.

*Autor correspondente: jlferreira@uft.edu.br

Resumo: Atualmente existe uma preocupação em relação à qualidade e doenças relacionadas ao consumo de leite, pois o mesmo pode gerar desconfortos e reações alérgicas em alguns indivíduos devido aos constituintes proteicos. Objetivou-se verificar a frequência alélica e genotípica de genes para beta caseína, A1 e A2, em rebanhos leiteiros da microrregião de Araguaína-TO. A amostragem foi constituída de 421 animais, e dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizados e confirmados por PCR em tempo real, usando um sistema de detecção de sequências ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems). As frequências alélicas e genotípicas foram determinadas utilizando o sistema de detecção TaqMan™ com emissão de sinais de fluorescência diferentes para cada alelo. Observou-se frequência do alelo A1 de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral. A frequência genotípica de A2A2 foi de 52,96%, com genótipo A1A2 37,53%, e de 9,50% com genótipo A1A1. A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da microrregião de Araguaína, TO se mostrou baixa e seguiu a mesma tendência já observada na literatura nacional. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativa alta, entretanto o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção.

Palavras-chave: beta-caseína, bovinos, gado leiteiro, Tocantins

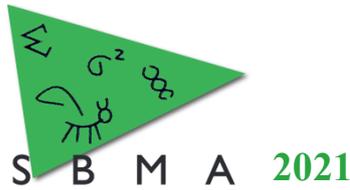
Allelic and genotypic frequency for milk beta-casein in dairy cattle in the micro region of Araguaína, Tocantins, Brazil

Abstract: At present, there is a concern about the quality of milk and diseases related to its consumption, as it can generate discomfort and allergic reactions in some individuals due to its protein components. Thus, the present study was developed to identify the allele and genotype frequencies of genes for β -casein, A1 and A2, in dairy herds in the region of Araguaína-TO, Brazil. Genetic material from 421 animals (crossbred dairy cattle in production) from the region of Araguaína were used. All animals were numbered for identification, and DNA samples were extracted from hair bulbs. Samples for two markers from the polymorphic regions were characterized and confirmed by real-time PCR using the ABI Prism® 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Allele and genotype frequencies were determined using the TaqMan™ detection system, where the primer and probe release different fluorescence signals for each allele of the polymorphism. The sampled herd showed frequencies of 28.27% for the A1 allele and 71.73% for the A2 allele. Genotype frequencies were 52.96% (223/421) for A2A2; 37.53% (158/421) for the A1A2 genotype; and 9.50% (40/421) for the A1A1 genotype. The frequency of the A1 allele for β -casein in dairy herds from the northern region of Tocantins was low and followed the same trend described in the literature. Although the A2A2 genotype of β -casein had a high relative frequency, the A1A2 genotype is still rather frequent, warranting greater selection pressure.

Keywords: beta-casein, dairy cattle, genotyping, Tocantins.

Introdução

No leite, a beta-caseína representa de 25 a 35% do total das proteínas contidas e de acordo com a genética do animal serão expressos no leite as variantes β -caseína A1 e/ou A2, originando a denominação leite A1 (no qual haverá apenas β -caseína do tipo A1 ou uma mistura de β -caseína A1 e A2) e leite A2 (no qual haverá apenas a β -caseína do tipo A2) (Barbosa et al. 2019). A presença da beta-caseína A1 no leite causa a clivagem, quebra da ligação peptídica como resultado do processo de digestão, liberando peptídeos



bioativos β -casomorfina-7 (BCM-7) que provoca reações alérgicas. Assim, a presença do alelo A2 evita a hidrólise da ligação peptídica e inibe a liberação de BCM-7 (KAMIŃSKI et al., 2007; SHARMA et al., 2013). No Brasil estudos relacionados a frequência da presença dos alelos para beta caseína ainda são escassos, principalmente referente a rebanhos zebuínos. Estudo realizado por Silva et al. (2017) com vacas Gir leiteria encontrou 41% (7/17) dos animais com alelo A1A2 e 59% (10/17) apresentavam o alelo A2A2. Pereira (2018) trabalhando com animais da raça Crioula lageana encontrou frequências de 0,01 (A1A1), 0,301 (A1A2) e 0,689 (A2A2). Dessa forma, o objetivo do presente estudo é identificar a frequência alélica e genotípica para beta caseína, A1 e A2, em rebanhos leiteiros na microrregião de Araguaína, Estado do Tocantins, Brasil.

Material e Métodos

O presente experimento foi realizado no período de agosto de 2020 a fevereiro de 2021. Foram selecionados três (03) rebanhos da bacia leiteira da microrregião de Araguaína, Tocantins, localizados nos municípios de Araguaína, Colinas do Tocantins e Arapoema, totalizando 421 amostras. A seleção dos animais obedeceu aos seguintes critérios: 60% das vacas de primeira, segunda ou terceira lactação e entre 30 e 250 dias de lactação, a raça e idade não foram consideradas, em virtude da composição e diversidade genética dos rebanhos. Todas as propriedades foram caracterizadas como granjas leiteiras. Reprodutores e tourinhos de repasse também foram amostrados. A extração do DNA do folículo piloso foi realizada no Laboratório de Melhoramento Animal (LMA) do curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal do Tocantins (UFT) conforme protocolo reportado por Olerup e Zetterquist (1992). As amostras de genótipos para dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizadas e confirmados por PCR em tempo real no equipamento, ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems). As frequências alélicas e genotípicas foram determinadas utilizando o sistema de detecção TaqMan™, no qual o primer e a sonda emitem diferentes sinais de fluorescência para cada alelo do polimorfismo, e foram pareados na região do DNA alvo, permitindo a identificação dos diferentes alelos (A1 e A2) pela leitura da fluorescência de cada amostra. A taxa de indivíduos heterozigotos e homozigotos para um de seus genótipos foi estimada pelos sinais fluorescentes das sondas. Para a reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real, foi usado aproximadamente 15 ng de DNA para um volume de reação de 10 μ L, contendo 0,25 μ L Assay Mix® (Applied Biosystems), e 5,0 μ L Taqman® Master Mix Universal PCR (Applied Biosystems), sob condições de reação de 10 min à 95 ° C e 45 ciclos de 15 s à 92 ° C e 1 min à 60 ° C. A partir da visualização do padrão de curvas dos genótipos, foi possível calcular as frequências gênicas (x_i e x_j) e genotípicas (x_{ii} , x_{ij} e x_{jj}), que foram determinadas a partir da contagem direta dos genótipos observados. Para testar as frequências observadas, foi realizado cálculo de teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (Falconer & MacKay, 1996).

Resultados e Discussão

Para a genotipagem do polimorfismo para beta caseína do leite, a metodologia utilizada mostrou-se adequada, com boa visualização dos genótipos. A frequência do alelo A1 foi de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral. Do total de amostras (421) 2,13% (09/421) foram de machos, reprodutores, que representaram 0,47% (02/421) com o genótipo A1A1, 0,47% com A1A2 (02/421) e 1,19% com o genótipo A2A2 (05/421). As fêmeas representaram 97,86% (412/421) do plantel analisado, com 9,02% (38/421) com genótipo A1A1, 37,05% (156/421) com genótipo A1A2, e 51,79% (218/421) com genótipo A2A2. As propriedades eram todas caracterizadas como granjas leiteiras, com produção média de 15,8 litros/animal e teor de gordura médio de 4,11. Os rebanhos apresentaram na sua composição grande variação de raças, sendo 41,33% dos animais caracterizados como mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*), 49,88% da raça Girolanda, 7,60% da raça Gir, e o restante 1,19% de outras raças (Jersey e Sindi). Uma característica marcante dos animais mestiços é que fenotipicamente foi possível verificar que a composição genética zebuína prevalecia sob outros fenótipos europeus, embora não se pudesse definir a contribuição de cada raça. Possivelmente essa caracterização fenotípica pode justificar a maior frequência de genótipos A2A2, com 20,66% (87/421) do rebanho total e 50% (87/174) do grupo de animais provenientes de mestiçagem. Os outros animais mestiços apresentaram frequência de 9,77% (17/174) com genótipos A1A1 e 40,23% (70/174) com A1A2. Em todos os rebanhos analisados a frequência de alelos A2 foi superior a de A1, apresentando genótipos A2A2, em 52,97% dos animais

avaliados, com genótipo A1A2 37,53%, e de 9,50% com genótipo A1A1. A figura abaixo representa as frequências absolutas e relativas dos genótipos para beta-caseína do leite em cada um dos rebanhos analisados.

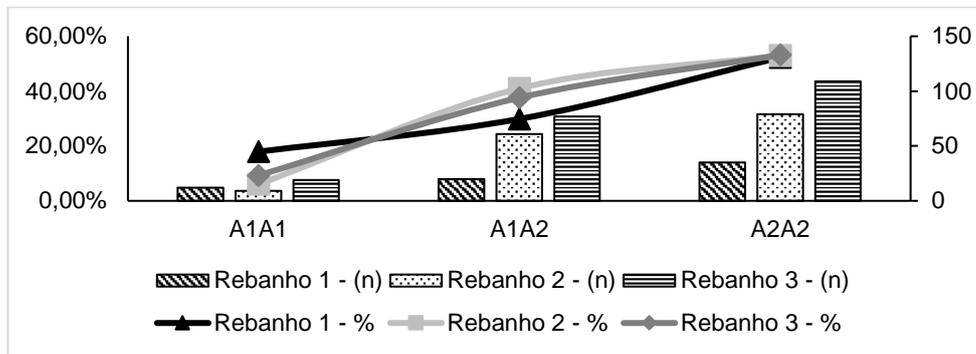


Figura 1. Frequências absolutas e relativas dos genótipos para beta-caseína do leite (A1A1, A1A2 e A2A2) dos rebanhos analisados.

Conclusão

A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da região norte do Tocantins se mostrou baixa e seguiu a mesma tendência já observada na literatura. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativamente alta, entretanto, o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção, uma vez que é recomendado o descarte de animais com este genótipo.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia – PROCAD/Amazônia da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES/Brasil.

Literatura citada

- KAMINSKI, S.; CIESLINSKA, A.; KOSTYRA, E. Polymorphism of bovine betacasein and its potential effect on human health. *Journal Applied Genetics.*, v. 48, p. 189–198, 2007.
- OLERUP, O.; ZETTERQUIST, H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39: 225-235.
- FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C. *Introduction to quantitative genetics*. 4.ed. Edinburgh: Longman Group Limited, 1996. 464p.
- PEREIRA, T.C. Identificação dos alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Crioula Lageana. Trabalho de conclusão de curso (graduação), Universidade Federal de Santa Catarina, CCA. Graduação em zootecnia. Florianópolis, 2018. 42p.
- BARBOSA, M.G., SOUZA, A.B., TAVARES, G.M., ANTUNES, A.E.C. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. *Segur.Aliment.Nutr.*, Campinas, v.26,p.1-11.e019004.2019.
- SHARMA, V., NAROTAM, S., PREM, R.S., BINISH, J., SATISH, C.N. AND SINGH, R.K. Amplification of the bovine beta casein gene relevance to modern human health. *Am. J. PharmTech. Res.*, v. 3, n.1, p. 439-444, 2013.
- SILVA, M.B.; PASCHOAL, J.J.; HORTOLANI, B. Beta caseína A2 e sua relação com a produção e composição do leite de vacas Gir leiteiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, XXVII, 2017, Santos, São Paulo. Anais... 2017.