

## **IDENTIFICAÇÃO DE ALELOS PARA O GENE DA BETA-CASEÍNA NA RAÇA GIR LEITEIRO**

**Anibal Eugênio Vercesi Filho<sup>1,2</sup>**

Med. Vet., Dr., PqC do Polo Regional Nordeste Paulista/APTA

[pop.aevf@apta.sp.gov.br](mailto:pop.aevf@apta.sp.gov.br)

### **Introdução**

O leite bovino é uma importante fonte de proteínas na alimentação humana. Das proteínas presentes no leite, cerca de 80% são as caseínas. Estas 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 dividem-se 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 gastrintestinal humano tem como um de seus produtos finais um peptídeo bioativo que foi relacionado a várias doenças como: problemas coronarianos (Mc Lachlan 2001), alergia (Gobbetti et al, 2002) e diabetes mellitus tipo 1 (Elliot et al, 1999), entre outros.

Em um estudo envolvendo a raça Vermelha Norueguesa (Nilsen et al, 2009) encontraram associação genética favorável do alelo A2 com maior produção de leite e proteína. Resultado semelhante foi obtido por Olenski et al (2010) que encontraram 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 Suisso, intermediária na raça Jersey e muito baixa na raça Guernesey. Há na Nova Zelândia, atualmente, laticínios que comercializam apenas leite com proteína A2 devido às suposições desta 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.

Assim, o Pólo Regional Nordeste Paulista, juntamente com o Pólo Regional Centro Leste em parceria com a UNESP-Jaboticabal, Universidade Estadual da Bahia e Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro (ABCGIL) implantaram um projeto para estudar esta questão.

O objetivo deste artigo é relatar o projeto em desenvolvimento cuja meta é genotipar 400 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.

### **Coleta de material biológico**

Coletaram-se amostras de pêlo da vassoura da cauda de 400 vacas da raça Gir. As amostras serão colocadas em envelopes, identificadas e armazenadas a temperatura ambiente até a extração de DNA.

## **Extração de DNA**

A extração de DNA é feita a partir da metodologia adaptada de LIMA (2003). Esse método consiste em submeter às amostras com os folículos (aproximadamente 40 folículos/amostra), inicialmente a incubações com TE-Tween e Proteinase-K, seguidas da extração efetiva do DNA com PCL (Fenol-Clorofórmio-Alcool Isoamílico / 25:24:1), precipitação com acetato de Sódio (0,3M) e etanol absoluto e ressuspensão do DNA em tampão TE (10 mM Tris HCl pH = 7,6 e 1mM EDTA pH = 8,0) na proporção de 10:1, sendo posteriormente armazenadas a 4 °C.

## **Técnica do ARMS-PCR**

A técnica a ser usada na discriminação dos alelos A1 e A2 da beta-caseína é o ARMS (Amplification Refractory Mutation Systems). Utilizam-se quatro primers: dois primers internos alelo específicos (denominados inner primers) e dois primers complementares à sequência que flanqueia o SNP, os primers externos (outer primers). Como os dois primers internos possuem sequência complementar à alelos específicos do SNP, cada primer se anelará apenas a região genômica que contém o alelo correspondente. Esses primers alelo-específicos contêm um mismatch no antepenúltimo nucleotídeo da extremidade 3' para aumentar a especificidade alélica. Os primers externos se ligam as regiões flanqueadoras a distâncias distintas em relação ao SNP, de forma a amplificar regiões de diferentes tamanhos dependendo do alelo presente.

## **Resultados preliminares**

Até o presente momento já foram genotipadas 237 vacas de 7 rebanhos. Os resultados estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1-** Frenquencias gênicas e genotípicas para os alelos A1 e A2 em um amostra de 237 matrizes da população de Gir Leiteiro no Brasil.

<i>Frequência Gênica</i>	<i>Alelo A1</i>	<i>Alelo A2</i>
	0,05 (24)	0,95 (450)
<i>Frequência Genotípica</i>	<i>A1A2</i>	<i>A2A2</i>
	0,10 (24)	0,90 (213)

### Considerações Finais

As primeiras amostras genotipadas mostram que o alelo A2 se encontra em uma frequência bastante superior ao do alelo A1 na população de Gir Leiteiro.

Após a confirmação dos resultados e com a genotipagem das 400 matrizes será realizado um estudo de associação que permitirá verificar se na população de Gir Leiteiro existe influência dos alelos A1 e A2 da beta caseína em características de produção de leite, gordura e proteína.

Estes resultados preliminares mostram que pelas frequências iniciais obtidas, o Gir Leiteiro pode ser utilizado como recurso genético apropriado para produção de leite apenas com a proteína beta caseína A2, que, segundo dados da literatura agrega valor ao leite bovino por não estar associado a uma série de problemas de saúde humana.

### Referências

ASBIA. <http://www.asbia.org.br> acessado em 10/12/2011

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.

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

Olenski, K., Kaminski, S., Szyda, J., et al. Polymorphism of the beta-casein gene and its association with breeding value for production traits of Holstein-Frisian bulls. **Livestock Science** 131, 137-140, 2010

<sup>1</sup> A equipe deste projeto é composta pelo autor deste artigo e de Gregório Miguel Ferreira de Camargo - UNESP-Jaboticabal, Marcelo Cervini – Universidade Estadual da Bahia – Jequié, Lenira el Faro Zadra e Vera Lúcia Cardoso – Pólo Regional Centro Leste, André Rabelo Fernandes – Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro – ABCGIL e Humberto Tonhati - UNESP-Jaboticabal

<sup>1</sup> O autor e equipe do projeto agradecem a Associação Brasileira de Criadores de Gir Leiteiro (ABCGIL) pelo auxílio na coleta do material genético.