

FREQUÊNCIAS GÊNICAS E GENOTÍPICAS DAS VARIANTES A1 E A2 DA β -CASEÍNA EM GADO LEITEIRO

 <https://doi.org/10.56238/sevened2025.008-031>

Kátia Regina Ferreira Sousa

Médica Veterinária, doutoranda em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional
Universidade Federal do Piauí
E-mail: katiaregina@unifsa.com.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7080-6470>

Gláucia Brandão Fagundes

Médica Veterinária, doutoranda em Zootecnia Tropical
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: glauciatuante@hotmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8219-4325>

Tábatta Arrivabene Neves

Médica Veterinária, mestranda em Ciência Animal
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil
E-mail: tabatabarrivabene@hotmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6855-1007>

Wanderson Fiares de Carvalho

Zootecnista, doutor em Zootecnia Tropical
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí
E-mail: wanderson.fiares@ifpi.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6780-0606>

José Lindenberg Rocha Sarmiento

Zootecnista, doutor em Genética e Melhoramento Animal
Universidade Federal do Piauí, Brasil
E-mail: sarmiento@ufpi.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4215-1515>

Cleidson Manoel Gomes da Silva

Médico Veterinário, doutor em Ciências Veterinárias
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil
E-mail: gomesvet@hotmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0286-480>

Francisca Elda Ferreira Dias

Médica Veterinária, doutora em Medicina Veterinária
Universidade Federal do Norte do Tocantins, Brasil
E-mail: francisca.dias@ufnt.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0745-5775>



Jael Soares Batista

Médico Veterinário, doutor em Patologia Experimental e Comparada
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil
E-mail: jael.batista@ufersa.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9663-7468>

Tânia Vasconcelos Cavalcante

Médica Veterinária, doutora em Medicina Veterinária
Universidade Federal do Piauí
E-mail: tania@ufpi.edu.br
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6660-1461>

RESUMO

Levando em consideração os possíveis benefícios que o leite contendo apenas a β -caseína A2 pode trazer para a saúde intestinal dos indivíduos e constituintes do leite, objetivou-se neste trabalho identificar a frequência alélica e genotípica das variantes A1 e A2 do gene da β -caseína e sua influência na composição físico-química do leite de vacas mestiças. Para identificação do perfil genético, foram coletados pelos da cauda de 51 vacas mestiças para extração do DNA e genotipagem e calculadas as frequências gênicas e genotípicas das variantes A1 e A2 da beta-caseína. Os genótipos foram associados com as seguintes características do leite: gordura, proteína total, lactose, caseína, sólidos totais e extrato seco desengordurado, densidade e pH. Os dados da análise físico-química foram submetidos ao teste t com correção de Bonferroni a 5% de significância ($P < 0,05$). O teor de sólidos totais (12,42 e 15,31%) e gordura (2,14 e 4,05%) foram distintos entre os genótipos A1A2 e A2A2, respectivamente ($P < 0,05$). O rebanho se encontra em Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Palavras-chave: Beta-casomorfina-7. CSN2. Leite A2. Polimorfismo.



1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira é considerada uma atividade que apresenta elevada possibilidade de crescimento e exerce um papel econômico significativo nos países em desenvolvimento. O Brasil está em 3º lugar no ranking de maiores países produtores mundiais de leite (ROCHA et al., 2020).

Dada a crescente associação do consumo de leite com efeitos adversos em indivíduos suscetíveis e o aumento do interesse no consumo de alternativas ao leite, tem estimulado pesquisadores, produtores rurais e consumidores a uma nova tendência no mercado de lácteos: a produção de leite proveniente de vacas apenas com o alelo A2 da β -caseína, denominado Leite A2A2. O consumo de leite A2 tem sido associado a efeitos benéficos à saúde humana e é mais fácil de digerir em indivíduos sensíveis.

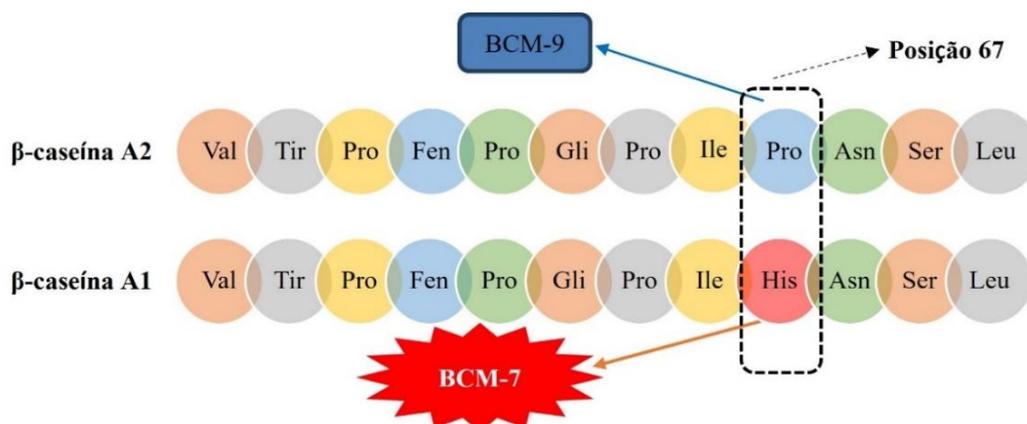
As proteínas lácteas são classificadas em dois grandes grupos: as caseínas e proteínas do soro (alfa-lactalbumina e beta-lactoglobulina). As caseínas constituem cerca de 80% das proteínas do leite bovino e apresentam quatro formas: α S1 (variando de 12 a 15 g/L ou 38%), α S2 (3 a 4 g/L ou 10%), β -caseína (9 a 11 g/L ou 34%) e k-caseína (2–3 g/L ou 15%) (RASIKA, 2021). Essas proteínas diferem na sequência de aminoácidos e são codificadas por quatro genes (CSN1-S1, CSN1-S2, CSN2 e CSN3), respectivamente (VISKER et al., 2011).

A β -caseína contém 209 aminoácidos e quinze variantes (A1, A2, A3, A4, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I, J, K) (GAZI et al., 2022), no entanto, apenas sete destas (A1, A2, A3, B, C, I e E) foram detectadas em raças bovinas europeias, sendo as variantes A1 e A2 mais comuns (MONTENEGRO et al., 2022).

Estudos indicam que a β -caseína A2 é a variante mais antiga, presente no rebanho bovino desde sua domesticação, sendo considerada a forma original da proteína, da qual as demais se originaram por mutação e espalharam-se com a reprodução dirigida dos animais para o aumento da produção leiteira. É considerada uma mutação via seleção natural (MONTENEGRO et al., 2022).

A caseína A1 e A2 são diferenciadas pelo polimorfismo de um nucleotídeo no gene CSN2 localizado no cromossomo 6, o que resulta na substituição de apenas um aminoácido na posição 67ª dos 209 aminoácidos que compõem esta proteína. A variante A1 apresenta uma histidina, enquanto a variante A2 apresenta uma prolina, conforme apontado na Figura 1. (JIAQUIN et al., 2016). Essa diferença afeta a forma como essas proteínas serão hidrolisadas no trato gastrointestinal. (VITTE et al., 2022).

Figura 1 – Fragmento das variantes genéticas A1 e A2 da β -caseína, destacando a diferenciação na posição 67 e liberação de β CM-7.



Fonte: adaptado de Daniloski et al., (2021).

O consumo do leite oriundo de vacas portadoras da variante A1 da β -caseína permite a clivagem da cadeia peptídica do aminoácido na 67^a posição liberando a Beta-Casomorfina-7 (β CM-7). A β CM-7 é composta por sete aminoácidos (Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile), que atuam como fonte de peptídeos opioides no corpo durante a digestão, conhecidos como exorfinas (AYAZ et al., 2022). A presença da prolina na 67^a posição da variante A2 da β -caseína impede a quebra da sequência polipeptídica neste ponto, formando outro peptídeo denominado Beta-Casomorfina-9 (BCM-9) (MARKO et al., 2020).

A digestão gastrointestinal da β caseína A1 através da degradação proteolítica com a ajuda de diferentes enzimas como pepsina, tripsina, alcalase, quimotripsina, pancreatina e termolisina libera a β CM-7 no epitélio intestinal, que devido ao seu baixo peso molecular, atravessa a barreira hematoencefálica e distribui-se em vários órgãos e tecidos do corpo incluindo ouvido, cérebro, pâncreas e rins (VISKER et al., 2011). A β CM-7 é um agonista opioide que apresenta uma ampla variedade de potenciais efeitos à saúde, incluindo atividade imunossupressora, entretanto, mais pesquisas são necessárias nesta área (SWINBURN, 2004).

A hipótese de que uma alta ingestão de leite contendo CNS2-A1 promove doenças cardiovasculares (doença cardíaca isquêmica, aterosclerose), diabetes mellitus tipo 1, e problemas neurológicos (esquizofrenia e autismo) é intrigante e prematura. Há algumas evidências muito sugestivas de estudos ecológicos para diabetes mellitus tipo 1 e doença isquêmica do coração, e certamente há uma possibilidade que as variantes A1/A2 do leite estejam envolvidas na etiologia dessas doenças. No entanto, esta hipótese ainda não apresenta evidências científicas suficientes. A evidência em relação para a esquizofrenia é mínima (SWINBURN, 2004).

Estudos recentes demonstraram que o consumo do leite contendo a variante A1 da β -caseína aumenta a atividade de MPO (Mieloperoxidase), MCP-1(proteína quimiotática de monócitos), IgE (imunoglobulina E), IgG (imunoglobulina G) e IL-4 (interleucina 4) no trato gastrointestinal juntamente com a infiltração de leucócitos nas vilosidades intestinais. O aumento dessas moléculas

que atuam como marcadores de processos inflamatórios e desempenham papel importante nas reações alérgicas, estão atribuídas à liberação da β CM-7 (HAQ et al., 2014).

Segundo Jianquin et al. (2016), com base nos efeitos da β CM-7 no trato gastrointestinal, é possível que parte dos desconfortos atribuídos a intolerância de produtos lácteos, podem ser em decorrência dos efeitos da β CM-7 no trato gastrointestinal, em vez da lactose em si.

Devido a sua característica inflamatória, a β CM-7 pode afetar a produção e diminuição da atividade da enzima lactase, conseqüentemente, redução na motilidade e inflamação, alterando a metabolização da lactose e promovendo sintomas semelhantes de intolerância à lactose em indivíduos sensíveis à β CM-7 (BARBOSA et al., 2019).

Pesquisas recentes também detectaram a influência da variante A2 da β -caseína no aumento dos constituintes do leite, principalmente em relação à concentração de proteínas, gordura e volume (VISKER et al., 2011). Portanto, a preferência pelo alelo A2 em bovinos leiteiros pode ter várias implicações positivas não somente para humanos, mas também para produção e composição do leite. No entanto, para esclarecer os efeitos definitivos das variantes A1 e A2 da β -caseína na saúde humana e nas características de produção do leite, mais investigações são necessárias.

Tendo em vista que, as raças mestiças são responsáveis por grande parte da produção de leite no país, e que com a expansão dos cruzamentos, os níveis de mistura entre raças são imprevisíveis e a falta de registro de pedigree pode levar à falta de informações genéticas sobre os rebanhos, destaca-se a importância e utilidade do estudo desses rebanhos para sua caracterização (KHAN et al., 2023).

Diante do exposto, objetivou-se neste estudo verificar as frequências gênicas e genotípicas das variantes A1 e A2 da β -caseína e seu efeito na composição do leite de vacas mestiças.

2 METODOLOGIA

2.1 PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

Este trabalho foi submetido à avaliação e apreciação na Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Piauí (CEUA/UFPI) e aprovado em 18 de março de 2022, através do protocolo N° 709/2022.

2.2 LOCAL E REBANHO DO ESTUDO

O presente experimento foi realizado no período de abril de 2021 a dezembro de 2022. Os animais utilizados neste experimento são provenientes do rebanho de uma granja leiteira, localizada no município de Paragominas - Pará. O rebanho estudado era composto por 51 vacas mestiças Holandês x Gir, com cinco composições genéticas: 1/2 HO + GL; 3/4 HO + GL; 5/8 HO + GL; 9/16 HO + GL e 13/16 HO + GL em período de lactação. A propriedade utiliza o sistema de instalação

Compost Barn com dieta à base de silagem de milho, milho e farelo de soja e suplementação com Núcleo da Nutron. A ordenha é realizada duas vezes ao dia com intervalo de 12 horas (4h e 16h).

2.3 ANÁLISE GENOTÍPICA DAS VACAS

Os animais foram genotipados para as variantes A1 e A2 da β -caseína a partir de DNA extraído dos folículos pilosos. Os pelos foram retirados da vassoura da cauda do animal, laçando-se entre 15 e 25 pelos nos dedos da mão, puxando-os com firmeza e logo em seguida, verificando se os bulbos se encontravam intactos. Em seguida, foram colocados em envelopes, identificados e armazenados a temperatura ambiente até serem enviados ao Instituto de Zootecnia em Nova Odessa-SP, responsável em realizar a extração de DNA e genotipagem.

A extração de DNA dos folículos capilares foi realizada utilizando o kit Easy-DNA™ (Cat. nº K1800-01—Protocolo nº 1—Pequenas amostras de sangue e folículos capilares; Invitrogen, Carlsbad, EUA), conforme recomendado pelo fabricante. O DNA foi diluído em 20 μ L de Tris-EDTA. A quantificação e a pureza do DNA extraído foram estimadas por leituras espectrofotométricas nas proporções de 260 nm e 260/280 nm, respectivamente. As concentrações de DNA de todas as amostras testadas foram ajustadas para 5 ng μ L⁻¹. Uma nova PCR em tempo real usando uma combinação de sondas conjugadas de ácido nucleico bloqueado modificado (LNA) foi desenvolvida para genotipar os alelos A1 e A2 do gene da β -caseína (CSN2), conforme metodologia de Giglioti et al., (2021). Baseando-se nas amostras controles (genótipos A2A2, A1A1 e A1A2) as amostras avaliadas foram confrontadas. Posteriormente, com o recebimento dos resultados, calculou-se as frequências alélicas e genotípicas para a beta-caseína.

2.4 CÁLCULO DAS FREQUÊNCIAS GÊNICAS E GENOTÍPICAS

As frequências alélicas (X_i e X_j) e genotípicas (X_{ii} , X_{ij} e X_{jj}) foram determinadas por meio das seguintes equações:

$$\text{Frequências alélicas} \quad X_i = \frac{2N_{ii} + \sum N_{ij}}{2N} \times 100 \quad X_j = \frac{\sum N_{ij}}{2N} \times 100$$

$$\text{Frequências genotípicas} \quad X_{ii} = \frac{N_{ii}}{N} \times 100 \quad X_{ij} = \frac{N_{ij}}{N} \times 100 \quad X_{jj} = \frac{N_{jj}}{N} \times 100$$

Onde, N_{ii} , N_{jj} e N_{ij} representam o número de homozigotos e heterozigotos observados nos alelos i e j ; e N corresponde ao número de indivíduos observados.

Para testar as frequências observadas, foi realizado cálculo de teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg que se dá pela expansão do binômio descrito: $(X_i + X_j)^2 = X_i^2 + 2X_iX_j + X_j^2$

Onde, $2X_i$ é a frequência esperada dos homozigotos para o alelo i ; $2X_iX_j$ = frequência esperada para heterozigotos ij ; $2X_j$ = frequência esperada dos homozigotos para o alelo j .



2.5 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

Para as coletas de leite das análises físico-químicas, foram separadas e selecionadas 20 vacas mestiças, dentre os 51 animais genotipados, sendo 10 vacas com genótipo heterozigoto A1A2 e 10 vacas com genótipo homozigoto A2A2 para a beta-caseína com três composições genéticas: 1/2 HO+GL, 3/4 HO+GL e 5/8 HO+GL. As coletas foram efetuadas 72 horas pós-parto, durante a ordenha manual das vacas, acondicionados em frascos coletores estéreis com volume de 50ml, devidamente identificados e congelados à - 20°C.

Posteriormente as amostras foram descongeladas em temperatura refrigerada e acondicionadas em frascos com conservante bronopol, sendo enviadas ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás-LQL/CPA/EVZ/UFG responsável pela determinação da gordura, proteína total, lactose, caseína, sólidos totais e extrato seco desengordurado em instrumento de absorção infravermelha. A determinação de densidade a 15°C e pH foram efetuadas no Núcleo de Estudos, Pesquisas e Procedimentos de Alimentos da Universidade Federal do Piauí – NUEPPA/UFPI, por meio do equipamento ultrassônico portátil analisador de leite, o Ekomilk® (Cap-Lab Ind.e Com. Ltda.). Seguindo-se as recomendações do fabricante, foi selecionado o modo de análise de leite cru no aparelho.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para efetuar o ajuste do modelo linear generalizado (GLM), foi utilizado o procedimento GENMOD para análise da associação entre as variáveis (gordura, proteína, lactose, sólidos totais, sólidos não gordurosos, pH, caseína e densidade) e fatores: genótipos (A1A2, A2A2) e grau de sangue (1/2 HO, GL; 3/4 HO, GL; 5/8 HO, GL), em que se considerou a idade dos animais como covariável. As médias foram comparadas através do teste t com correção de Bonferroni a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa computacional Statistical Analysis System® Academy (SAS, 2023). O teste do qui-quadrado foi realizado para determinar se as frequências genotípicas observadas desviavam significativamente do Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS

As raças zebuínas têm sido utilizadas com sucesso na geração de mestiços e raças sintéticas no Brasil, principalmente na produção de leite. Os animais estudados revelaram-se promissores para a produção de leite contendo apenas a β -caseína A2, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Frequência gênica e genotípica da beta-caseína em vacas mestiças.

	Genótipos Observados			Frequências Alélicas	
	A1A1	A1A2	A2A2	A1	A2
Frequência observada	0,019	0,27	0,70	0,156	0,843
Frequência esperada	0,024	0,26	0,71		
N	1	14	36		

Fonte: Os autores (2024).

Dos 51 animais genotipados, apenas 1% apresentou homozigose para o alelo A1, 27% apresentaram heterozigose (A1A2) e 70% homozigose para o alelo A2. Para a frequência alélica, observou-se 16% para o alelo A1 e 84% para o alelo A2. As frequências alélicas observadas demonstraram que o alelo A2 encontra-se com frequência superior ao alelo A1 nos animais mestiços, assim como a frequência do genótipo A2A2 prevaleceu sobre os genótipos A1A1 e A1A2.

Os resultados apresentados corroboram com os resultados encontrados na literatura nacional (Sousa et al., 2019; Paschoal et al., 2017; Schettini et al., 2020), que de modo geral apresentam maior frequência do alelo A2, e de seu genótipo A2A2, em detrimento do alelo A1 e do genótipo A1A1 nas mais variadas raças.

Sousa et al. (2019) e Paschoal et al. (2017) trabalhando com vacas Gir observaram maior frequência para o genótipo A2A2, representando 91,2% para o primeiro autor e 59% para o segundo autor. Tais resultados estão de acordo com estudos presentes na literatura e indicam uma associação do polimorfismo genético com a raça, sendo que raças zebuínas apresentam maior prevalência do genótipo A2A2 em comparação com a taurina. Esta informação valoriza as raças zebuínas que associada aos animais de origem européia, dão origem ao gado mestiço, responsáveis por aproximadamente 70% da produção leiteira no Brasil.

Para a raça Sindi, Schettini et al. (2020) encontraram frequência de 94% para o alelo A2 e 90% para o genótipo A2A2 da mesma raça. E ainda, Silva et al. (2022) ao avaliarem 114 animais da raça Gado Curraleiro Pé Duro, encontraram frequência de 40% para o alelo A1 e 60% para o alelo A2 e as frequências dos genótipos A1A1, A1A2 e A2A2 foram 20%, 39% e 41%, respectivamente.

Vários estudos vêm sendo realizados para quantificar as frequências alélicas e genotípicas nas mais variadas raças. No entanto, ainda há poucos dados sobre as frequências do gene CSN2 nas raças mestiças, principalmente animais Holandês x Gir de variadas composições genéticas.

Assim sendo, 84% dos animais desta pesquisa são portadores do alelo A2, e podem transmitir esse alelo aos seus descendentes, produzindo um leite com menores níveis de β CM-7, uma vez que, esse peptídeo tem potencial para afetar os receptores opioides do sistema nervoso, imunológico, endócrino e gastrointestinal.

Além disso, foi possível concluir que as frequências observadas estão de acordo com o que era esperado, há constância das frequências gênicas e genóticas ao longo das gerações, ou seja, a população encontra-se em equilíbrio de Hardy Weinberg.

3.2 ASSOCIAÇÃO POLIMÓRFICA DO GENE CNS2 COM CARACTERÍSTICAS DE COMPOSIÇÃO DO LEITE

A mediana, distância interquartis (1° e 3° quartis) e valores mínimos e máximos das características de composição do leite de vacas mestiças associadas aos genótipos (A1A2 e A2A2) da β -caseína foram expostos na forma de diagrama de caixa (boxplot) e estão apresentados na Figura 2. Os resultados relacionados aos dois genótipos (A1A2 e A2A2) e grau de sangue (1/2 HO, GL 3/4 HO, GL e 5/8 HO, GL) em relação aos componentes físico-químicos do leite de vacas mestiças estão descritos na Tabela 2.

Figura 2. Estimativas das médias, medianas, mínimo, máximo e coeficiente de variação (CV) relacionadas aos parâmetros composicionais do leite de vacas mestiças A1A2 e A2A2.

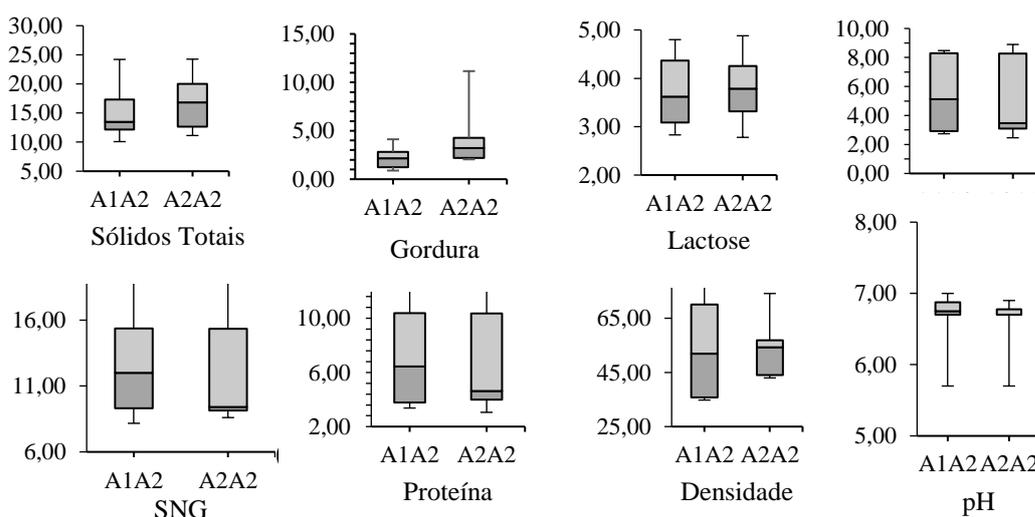


Tabela 2. Composição físico-química do leite em função dos genótipos A1A2 e A2A2 para a β -caseína e grau de sangue das vacas mestiças.

Variáveis	Genótipos		Grau de Sangue			EPM	p-valor ¹	p-valor ²
	A1A2	A2A2	1/2 HO, GL	3/4 HO, GL	5/8 HO, GL			
Gordura (%)	2,14	4,05	2,84	3,86	2,33	0,77	0,019*	0,536
Proteína (%)	4,95	5,69	7,69	5,90	3,32	1,33	0,549	0,203
Lactose (%)	4,12	3,88	3,63	4,08	4,31	0,21	0,460	0,404
ST (%)	12,42	15,31	16,14	15,58	10,42	1,35	0,046*	0,182
Caseína (%)	3,91	4,46	6,16	4,63	2,56	1,10	0,574	0,189
SNG (%)	10,14	10,99	13,25	11,01	8,07	1,34	0,526	0,161
Densidade (g/mL)	47,38	49,7	56,97	43,79	45,80	5,37	0,728	0,289
pH	6,82	6,77	6,76	6,72	6,91	0,03	0,232	0,209

Fonte: Os autores (2024). ST = Sólidos Totais; SNG = Sólidos não gordurosos; HO = Holandesa; GL = Gir leiteiro; EPM = Erro padrão da média; p-valor¹ = probabilidade do teste t corrigido para genótipo; p-valor² = probabilidade do teste t corrigido para grau de sangue.

Entre os componentes, a gordura apresentou maior variabilidade, com coeficiente de variação de 78,3%, seguida da caseína (61,1%) e proteína (59,2%). O teor de lactose apresentou a menor variação na composição (18,7%), pois sua quantidade é sempre constante por ser responsável pelo equilíbrio osmótico do leite, resultados estes que estão de acordo com os publicados na literatura (GONZÁLEZ, 2001).

O intervalo interquartil (diferença entre o terceiro e primeiro quartil) para os dados referente à gordura foi de 1,59 e 2,18 para os genótipos A1A2 e A2A2, respectivamente. Para as medidas de posição foram encontrados os seguintes valores: 2,46 e 3,20 para mediana e média. O valor máximo foi de 4,12 e 11,16 e mínimo de 0,89 e 2,05 para os genótipos A1A2 e A2A2, respectivamente (Figura 2.) Essa alta faixa de variação deve-se à própria natureza variável do componente.

Os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, caseína, sólidos não gordurosos, densidade e pH foram associados de duas maneiras: a primeira dentro dos genótipos A1A2 e A2A2 da β -caseína, a segunda levando em consideração o grau de sangue dos animais. A análise dos parâmetros da primeira revelou diferenças estatísticas significativas ($P < 0,05$) para o rendimento de gordura e sólidos totais, enquanto na segunda não apresentou diferenças significativas.

A influência do gene CSN2 nos parâmetros de produção do leite vem sendo avaliada por diferentes autores (Nilsen et al., 2009; Hanusová et al., 2010; Visker et al., 2011; Gustavsson et al., 2014; Oleński et al., 2010; Hallén et al., 2008).

Para o teor de sólidos totais, de acordo com os resultados do teste de média, houve diferença significativa ($P < 0,05$), com média de 12,42% para o genótipo A1A2 e 15,31% para o genótipo A2A2. Gordura, proteína e lactose são os principais constituintes dos sólidos totais, e este resultado positivo provavelmente está correlacionado à maior concentração de gordura. Os valores não significativos de lactose e proteína possivelmente é devido estes parâmetros se correlacionarem negativamente com a gordura. A lactose é o principal agente osmótico do leite e quanto maior a quantidade de água retirada pela lactose, menor ou mais diluído será o teor de gordura e vice-versa.

A correlação positiva do teor de gordura está relacionada com a quantidade de proteína, indicando que o aumento no rendimento de gordura irá influenciar negativamente os níveis de proteína do leite.

No rebanho estudado, a concentração de gordura para o genótipo A1A2 foi de 2,14% e 4,05% para o genótipo A2A2. Isso quer dizer que, para cada animal A2A2 no rebanho, há um acréscimo de 1,91% nos teores de gordura do leite.

Este resultado está de acordo com os resultados relatados por Marko et al. (2020) que ao avaliarem o efeito dos genótipos da β -caseína com características de produção, proteína e gordura do leite em uma população de vacas Holstein-Friesian, encontraram concentrações de gordura significativamente maiores nos animais A2A2 em relação aos genótipos A1A1 e A1A2.



Kumar et al. (2022) ao estudarem a associação do polimorfismo da β -caseína e características de produção economicamente importantes em uma população de vacas mestiças Vrindavani, revelaram que o genótipo A1A1 apresentou porcentagem de gordura significativamente menor em comparação com os genótipos A1A2 e A2A2, enquanto o genótipo A2A2 apresentou a maior porcentagem de gordura.

A gordura do leite apresenta consequências tecnológicas importantes, sobretudo associadas ao rendimento na fabricação de queijos, além de ser fonte de diversos ácidos graxos bioativos com propriedades benéficas à saúde.

No entanto, nossos resultados diferem com os obtidos por Ikonen et al. (2001); Nilsen et al. (2009); Olenski et al. (2010); Ivánkovi'c et al. (2020); e Miluchová et al. (2023) que associaram a influência do alelo A2 da β -caseína com alta concentração de proteína e baixo teor de gordura. Miluchová et al. (2023) ao analisarem o efeito do polimorfismo do gene da beta-caseína e a associação dos genótipos com características de produção do leite em rebanhos de gado Holstein, encontraram um efeito positivo significativo do genótipo A2A2 para o teor de proteína e tendência ligeiramente negativa para o teor de gordura no leite.

As diferenças encontradas provavelmente se devem ao fato de que a gordura é o componente mais variável do leite, podendo ser afetada pelas particularidades entre as raças, a estação do parto, ou ainda, o tipo de alimentação.

Os resultados foram contraditórios, possivelmente devido ao pequeno tamanho amostral e oferece espaço para uma investigação mais aprofundada para fornecer clareza e robustez na associação do alelo A2 da β -caseína e características de produção e composição do leite.

Embora as pesquisas ainda estejam em andamento para fornecer uma resposta concreta sobre a segurança das variantes A1/A2 da β -caseína, a demanda e os preços dos produtos que contenham exclusivamente o alelo A2, estão aumentando muito rapidamente em nível nacional e internacional devido ao impacto adverso relatado da variante A1 da β -caseína na saúde humana. A presente investigação, no entanto, lança luz sobre o desempenho comparativo das variantes de β -caseína A1/A2 em animais mestiços, garantindo mais estudos de associação genômica que podem levar ao estabelecimento de um marcador confiável para melhorar os lucros do rebanho, características de composição, qualidade do leite e a saúde humana.



4 CONCLUSÃO

A frequência alélica do alelo A2 e a frequência genotípica dos genótipos A2A2 para o gene β -caseína nos animais mestiços avaliados indicam que esses rebanhos podem produzir leite menos alergênico para indivíduos sensíveis à proteína β -caseína.

A investigação ressalta a falta de superioridade da variante A1 da β -caseína, sobre a variante A2, predominante na maioria das raças estudadas a nível nacional e internacional, pontuando positivamente sobre as características do leite.

Devido à inconsistência na literatura relacionada aos efeitos dos alelos A1 e A2 da β -caseína, principalmente em relação aos teores de proteína e gordura do leite, uma investigação mais extensa com um maior número de animais é necessária.



REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. G. et al. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 2019.
- DANILOVISKI, D. et al. Health-related outcomes of genetic polymorphism of bovine β -casein variants: A systematic review of randomised controlled trials. *Trends in Food Science & Technology*, 2021.
- GAZI, I. et al. Heterogeneity, Fractionation, and Isolation. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)*. Academic Press, 2022.
- GIGLIOTI, R. Novel LNA probe-based assay for the A1 and A2 identification of β -casein gene in milk samples. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 2021.
- GUSTAVSSON, F. et al. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *Journal Dairy Science*, 2014.
- HALLÉN, E. et al. Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *Journal of Animal Breeding Genetics*, 2008.
- HANUSOVÁ, E. Genetic variants of beta-casein in Holstein dairy cattle in Slovakia. *Journal Animal Science*, 2010.
- HAQ, M.R.U. et al. Comparative evaluation of cow β -casein variants (A1/A2) consumption on Th2-mediated inflammatory response in mouse. *European journal of nutrition*, 2014.
- IKONEN T. Associations between casein haplotypes and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science*, 2001.
- IVANKOVIĆ, A. et al. Genetic polymorphism and effect on milk production of CSN2 gene, *Mljekarstvo*, 2021.
- JIANQIN, S. et al. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 betacasein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutrition Journal*, 2016.
- KHAN, R. et al. Potential status of A1 and A2 variants of bovine beta-casein gene in milk samples of Indian cattle breeds. *Animal Biotechnology*, 2023.
- KUMAR, A. et al. Investigation of genetic polymorphism at β -casein A1/A2 loci and association analysis with production & reproduction traits in Vrindavani crossbred cows. *Animal Biotechnology*, 2022.
- MARKO, R. et al. Beta-Casein Gene Polymorphism in Serbian Holstein-Friesian Cows and Its Relationship with Milk Production Traits. *Acta Veterinaria*, 2020.
- MILUCHOVÁ, M. et al. The Effect of the Genotypes of the CSN2 Gene on Test-Day Milk Yields in the Slovak Holstein Cow. *Agriculture*, 2023.
- MONTENEGRO, J. L. et al. Worldwide Research Trends on Milk Containing Only A2 β -Casein: A Bibliometric Study. *Animals*, 2022.



- NILSEN, H. Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genetics Selection Evolution*, 2009.
- OLEŃSKI K. et al. Polymorphism of the beta-casein gene and its associations with breeding value for production traits of Holstein–Friesian bulls. *Livestock Science*, 2010.
- PASCHOAL, J.J. et al. Beta caseína A2 e sua relação com a produção e composição do leite de vacas gir leiteiro. In: XXVII Congresso brasileiro de zootecnia. Anais eletrônicos [...] Campinas: 2017.
- ROCHA, D. T. et al. Cadeia Produtiva do leite no Brasil: produção primária. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de leite, 2020.
- SCHETTINI, G. P. et al. Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production. *Animal Production Science*, 2020.
- SOUSA, N. F. M. Avaliação das frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo A1/A2 no gene da beta-caseína em animais da raça gir leiteiro. In: Planeta Inovação. VIII seminário de iniciação científica do IFMG. Anais eletrônicos[...] Bambuí: 2019.
- SWINBURN, B. Beta casein A1 and A2 in milk and human health: Report to New Zealand Food Safety Authority. 2004.
- VISKER, M. H. P. W. et al. Association of bovine β -casein protein variant I with milk production and milk protein composition. *Animal Genetics*, 2011.
- VITTE, K. DE. et. al. Relationship between β -casein genotypes (A1A1, A1A2, and A2A2) and coagulation properties of milk and the fatty acid composition and sensory characteristics of dairy products (soft cheese, sour cream, and butter) *Acta Agriculturae Scandinavica*, 2022.