



**Universidade Norte do Paraná**

---

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE**

**ALINE TANCLER STIPP**

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DA  
KAPPA-CASEÍNA E DA BETA-LACTOGLOBULINA E  
A PRODUTIVIDADE DE BOVINOS DAS RAÇAS  
GIROLANDO, HOLANDÊS E JERSEY**

---

Londrina  
2010

ALINE TANCLER STIPP

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DA  
KAPPA-CASEÍNA E DA BETA-LACTOGLOBULINA E  
A PRODUTIVIDADE DE BOVINOS DAS RAÇAS  
GIROLANDO, HOLANDÊS E JERSEY**

Dissertação apresentada à Universidade Norte do Paraná - UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marcela de Rezende Costa  
Co-orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Kátia Sivieri

Londrina  
2010

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

**Dados Internacionais de catalogação-na-publicação  
Universidade Norte do Paraná  
Biblioteca Central  
Setor de Tratamento da Informação**

S876a Stipp, Aline Tancler.  
Associação dos polimorfismos genéticos da Kappa-caseína e da Beta-lactoglobulina e a produtividade de bovinos das raças Girolando, Holandês e Jersey / Aline Tancler Stipp. Londrina: [s.n], 2010.  
vii; 53p.

Dissertação (Mestrado). Ciência e Tecnologia do Leite. Universidade Norte do Paraná.  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup>. Marcela de Rezende Costa  
Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Kátia Sivieri

1- Tecnologia do leite- dissertação de mestrado – UNOPAR  
2- Leite 3- Raças bovinas 4- Gado leiteiro 5- Produtividade I- Costa, Marcela de Rezende, orient. II- Universidade Norte do Paraná.

CDU 637.1

ALINE TANCLER STIPP

**ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS DA  
KAPPA-CASEÍNA E DA BETA-LACTOGLOBULINA E  
A PRODUTIVIDADE DE BOVINOS DAS RAÇAS  
GIROLANDO, HOLANDÊS E JERSEY**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite, sendo o aluno considerado APROVADO, de acordo com a Banca Examinadora formada pelos professores:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcela de Rezende Costa  
Universidade Norte do Paraná

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Regina Célia Poli-Frederico  
Universidade Norte do Paraná

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Kátia Sivieri  
Universidade Estadual Paulista

## Dedicatória

As pessoas essenciais para a minha vida:  
Meus pais Paulo e Ana Maria Stipp, meu irmão  
Danilo, meu namorado Fulvio; fontes de apoio,  
carinho e segurança em todos os momentos.

A todos os meus familiares, em especial a  
minha avó Nilza que nunca deixou de me  
incentivar e de me falar palavras de carinho.  
À minha madrinha Tia Mara que me incentivou  
a seguir a carreira acadêmica.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me iluminado ao longo deste trabalho, tornando possível a concretização desse sonho.

Aos meus amados pais Paulo e Ana Maria, ao meu querido irmão Danilo e minha avó Nilza; pela compreensão, paciência, carinho e apoio em todos os momentos, sempre me auxiliando no que fosse necessário. Amo vocês.

Ao meu namorado Fulvio, pela compreensão, amor e carinho e, principalmente, pelo companheirismo sempre que precisei; lembranças que jamais se apagarão da minha memória e do meu coração.

A todos os meus familiares, em especial minha madrinha Tia Mara, aos meus Tios Francisco e Carmem Tancler, Rogério e Zezé Tancler, Sergio Tancler; agradeço a todos pelo respeito e confiança. Aos meus primos que sempre me incentivaram a buscar meus objetivos.

À professora e orientadora Prof. Dr. Marcela Rezende e à minha co-orientadora Prof. Dr. Kátia Sivieri pela oportunidade concedida e confiança em mim depositada. Agradeço por todos os conselhos que recebi, pelo excelente convívio ao longo desses dois anos e pelo exemplo de profissionalismo a ser seguido. Muito obrigada!

Às professoras e amigas Dra. Regina Poli, Sílvia Felix, Dra. Christiane Rensis e Dra. Lina Casale, pelas orientações e conversas por todo este período.

Ao meu amigo Paulo Bignardi e à minha amiga Cintia Real pela ajuda indispensável, consideração, confiança e, principalmente, pela amizade durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho; onde os momentos de alegria e descontração também não serão esquecidos.

A todos os professores do curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia do Leite, em especial ao Coordenador Prof. Dr. Salvador Massaguer, minha eterna gratidão.

Aos funcionários dos Laboratórios Jorge Donato, Claudia, Elaine e Elisângela pelo auxílio e atenção durante a realização dos trabalhos.

Aos alunos e amigos Larissa Medeiros, Sílvia, Pedro Giovani, Everlan, Alisson, meu muito obrigada por toda ajuda e consideração, jamais me esquecerei de vocês.

À Universidade Norte do Paraná - UNOPAR pela estrutura e suporte fornecidos.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e que deixei de citar, muito obrigada.

STIPP, Aline Tancler. **Associação dos polimorfismos genéticos da kappa-caseína e da beta-lactoglobulina e a produtividade de bovinos das raças Girolando, Holandês e Jersey**. 2010. 53p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2010.

## RESUMO GERAL

A beta-lactoglobulina ( $\beta$ -LG) e a kappa caseína (k-CN) são as proteínas lácteas mais estudadas com relação aos seus polimorfismos genéticos. As variantes dos genes relacionados a essas proteínas podem apresentar associação com a produção, a qualidade e as características de processamento do leite. O objetivo desse trabalho foi analisar as frequências dos genótipos AA, AB e BB da  $\beta$ -LG e da k-CN bovina, bem como suas possíveis associações com a produção leiteira em animais das raças Girolando, Holandês e Jersey. O DNA genômico e a produtividade (kg leite/dia) de 38 animais da raça holandesa, 48 da Girolando e 42 da Jersey foram avaliados. Os polimorfismos genéticos foram analisados através da técnica de PCR-RFLP com a enzima de restrição Hinf I para a k-CN e Hae III para a  $\beta$ -LG. Para a  $\beta$ -LG, houve predominância do genótipo AB em todas as raças. O genótipo AB foi o mais encontrado nos animais das raças Girolando (54%) e Holandês (58%), já nos animais da raça Jersey houve predomínio do genótipo BB (45%). Houve associação do alelo A com maior produtividade leiteira na raça Jersey ( $p < 0,05$ ). Já para a k-CN, a frequência do genótipo AA foi maior nos animais das raças Holandesa (37%) e Girolando (63%), já nos animais da raça Jersey houve predomínio do genótipo BB (60%). Houve associação do alelo B com maior produtividade leiteira nas raças Girolando e Holandês ( $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram que para as raças Girolando e Holandês as variantes genéticas da k-CN ser usados como marcadores na seleção para a produtividade leiteira. Já para a raça Jersey as variantes da  $\beta$ -LG seriam mais adequadas para esta seleção.

**Palavras-chave:** leite; raças bovinas; gado leiteiro; produtividade.

STIPP, Aline Tancler. **Association between the genetic polymorphisms of kappa-casein and beta-lactoglobulin and productivity in Girolando, Holstein and Jersey cattles.** 2010. 53p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciência e Tecnologia do Leite) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Norte do Paraná, Londrina, 2010.

### GENERAL ABSTRACT

Bovine beta-lactoglobulin ( $\beta$ -LG) and kappa-casein ( $\kappa$ -CN) are the milk proteins most studied with relation to their genetic polymorphism. Variants of the genes related to these proteins can show association with productivity, quality and processing features of the milk. The objective of this study was to analyze the frequency of AA, AB and BB genotypes of the bovine beta-lactoglobulin and kappa-casein and their possible association to milk production in Girolando, Holstein and Jersey cattle. Genomic DNA and milk production (kg milk/day) of 38 Holsteins, 48 Girolando e 42 Jerseys were evaluated Genetic polymorphism were analyzed through PCR-RFLP technique using Hinf I for k-CN and Hae III for  $\beta$ -LG as restriction enzymes. For  $\beta$ -LG, there was predominance of AB genotype in all breeds. The BB genotype was the most found in Girolando (54%) and Holstein (58%), while there was predominance of BB genotype (45%) in Jersey. There was positive association between A allele and milk production in the Jersey cattle ( $p < 0.05$ ). For k-CN, the frequency of AA genotype was higher in Holstein (37%) and Girolando (63%), while there was predominance of BB genotype in Jersey. There was positive association between B allele and milk production in the Girolando and Holstein cattle ( $p < 0.05$ ). Results showed that the genetic variants of k-CN could be used as markers for selection to productivity in Girolando and Holstein cattle. On the other hand, the genetic variants of  $\beta$ -LG would be more appropriated to this selection in Jersey breed.

**Keywords:** milk; bovine breeds; dairy cattle; milk production.



## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 1 – PROTEÍNAS DO LEITE BOVINO.....</b>	<b>15</b>
1 REVISÃO DE LITERATURA .....	15
1.2 Caseínas.....	16
1.2.1 Kappa-caseína.....	17
1.3 Proteínas do soro.....	18
1.3.1 Beta-lactoglobulina.....	19
1.4 Polimorfismos genéticos .....	20
1.5 Raças Bovinas Leiteiras.....	21
1.5.1 Raça Holandesa.....	22
1.5.2 Raça Girolando .....	23
1.5.3 Raça Jersey .....	24
2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
<b>CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA KAPPA-CASEÍNA E A PRODUTIVIDADE LEITEIRA EM ANIMAIS DAS RAÇAS HOLANDESA, GIROLANDO E JERSEY .....</b>	<b>30</b>
RESUMO.....	30
ABSTRACT .....	31
1 INTRODUÇÃO .....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
2.2 Amostragem.....	33
2.3 Extração de DNA .....	33
2.4 PCR-RFLP .....	33
2.5 Análise Estatística.....	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4 CONCLUSÃO .....	39
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

<b>CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA BETA-LACTOGLOBULINA E A PRODUTIVIDADE LEITEIRA EM ANIMAIS DAS RAÇAS HOLANDESA, GIROLANDO E JERSEY .....</b>	<b>42</b>
RESUMO.....	42
ABSTRACT .....	43
1 INTRODUÇÃO .....	44
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	45
2.2 Amostragem.....	45
2.3 Extração de DNA .....	45
2.4 PCR-RFLP .....	45
2.5 Análise Estatística.....	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4 CONCLUSÃO .....	50
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1. Principais proteínas do leite bovino..... 15

### Capítulo 2

Tabela 1. Produtividade média (kg leite/dia) das raças avaliadas de acordo com os genótipos relativos à kappa-caseína .....37

### Capítulo 3

Tabela 1. Produtividade média (kg leite/dia) das raças avaliadas de acordo com os genótipos relativos à beta-lactoglobulina..... 49

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

- Figura 1. Corte transversal de uma micela de caseína..... 16
- Figura 2. Bovinos leiteiros da raça Holandesa. ....23
- Figura 3. Bovinos leiteiros da raça Girolando. ....24
- Figura 4. Bovinos leiteiros da raça Jersey. ....25

### Capítulo 2

- Figura 1. Perfil eletroforético dos fragmentos de restrição de acordo com os genótipos relativos à kappa-caseína. ....35
- Figura 2. Distribuição dos genótipos relativos à kappa-caseína de acordo com a raça.....36

### Capítulo 3

- Figura 1. Perfil eletroforético dos fragmentos de restrição de acordo com os genótipos relativos à beta-lactoglobulina.....47
- Figura 2. Distribuição dos genótipos relativos à beta-lactoglobulina de acordo com a raça.....48

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A fração proteica do leite bovino é constituída por inúmeras proteínas. As caseínas constituem aproximadamente 80% do total de proteínas do leite e podem ser definidas como a fração protéica do leite que sofre precipitação em pH próximo a 4,6. As proteínas que não sofrem esta precipitação são chamadas coletivamente de proteínas do soro (FOX e McSWENNEY, 2003).

As caseínas  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\kappa$  e as proteínas do soro  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina são as mais abundantes, representando de 90 a 95% de proteínas do leite. Essas principais proteínas são sintetizadas na glândula mamária, enquanto outras proteínas que fazem parte das proteínas do soro vêm diretamente da corrente sanguínea do animal (FOX e McSWENNEY, 1998).

As variantes genéticas das principais proteínas, em particular da  $\kappa$ -caseína e da  $\beta$ -lactoglobulina, interferem na produção, qualidade e processamento do leite (PATERSON et. al., 1999). A  $\beta$ -lactoglobulina é a proteína encontrada em maior concentração no soro de leite bovino, representando cerca de 50% das proteínas do soro e 12% do total de proteína no leite. Já a  $\kappa$ -caseína, apesar de estar em relativamente baixa proporção comparada às outras caseínas, é essencial na estabilização das micelas de caseínas no leite (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

A identificação de genes polimórficos que codificam as principais proteínas do leite pode permitir uma melhor compreensão do comportamento do leite durante o processamento pela indústria (PATERSON et. al., 1999).

Os genes que codificam as proteínas do leite podem ser úteis como marcadores genéticos para critérios de seleção e cruzamentos de animais de gado leiteiro (ASCHAFFENBURG e DREWRY, 1955).

A relação entre as variações genéticas das proteínas lacteas e a produtividade leiteira tem sido estudadas a varias décadas, porém não há um consenso entre os autores a respeito deste assunto. (FOX e McSWENNEY, 2003; NG-KWAI-HANG, MONARDES e HAYES, 1990; LIN et al, 1986; JAIRAM et al, 1983; ATROSHI et al, 1982; BOVENHUIS et al, 1992; COMBERG et al, 1964; COWAN et al, 1992).

O presente trabalho foi subdividido em três capítulos: o primeiro refere-se a aspectos gerais e revisão de literatura sobre o tema abordado; o segundo capítulo aborda o polimorfismo da kappa-caseína nas raças Holandes, Girolando e Jersey; e o terceiro capítulo trata do polimorfismo da beta-lactoglobulina nas mesmas raças.

## **2 OBJETIVOS**

Avaliar a frequência dos genótipos AA, AB e BB da kappa-caseína e da beta-lactoglobulina bovinas nas raças Girolando, Holandês e Jersey.

Verificar a possível associação desses genótipos com a produção leiteira nessas mesmas raças.

## CAPÍTULO 1 – PROTEÍNAS DO LEITE BOVINO

### 1 REVISÃO DE LITERATURA

As glândulas mamárias secretam o leite como uma mistura complexa de diversos componentes. O leite bovino é constituído por aproximadamente 3,9% de gorduras, 3,4% de proteínas, 4,8% de lactose e 0,8% de minerais. As proteínas do leite são divididas em caseínas e proteínas do soro (Tabela 1). As caseínas representam cerca de 80% do conteúdo protéico e precipitam quando se acidifica o leite em pH 4,6. As proteínas do soro somam ao redor de 20% do total de proteínas e permanecem solúveis em pH 4,6 (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

Tabela 1. Principais proteínas do leite bovino

<b>Proteínas lácteas</b>	<b>Concentração (g/L)</b>
<b>Caseínas</b>	
$\alpha$ s1-CN	10,0
$\alpha$ s2-CN	2,6
$\beta$ -CN	9,3
$\kappa$ -CN	3,3
<b>Proteínas do soro</b>	
$\alpha$ -lactoalbumina	1,2
$\beta$ -lactoglobulina	3,2
Imunoglobulinas	0,8
Soroalbumina	0,4
Lactoferrina	0,1

Fonte: Fox e McSweneey (2003).

Todas as caseínas e algumas das proteínas do soro exibem variações nos polimorfismos genéticos, os quais refletem na substituição de um ou



dois aminoácidos ou, mais raramente, a deleção de uma sequência de resíduos de aminoácidos. A presença de certas variantes genéticas encontradas em animais produtores de leite tem um efeito significativo em algumas características no leite, como perfil e teor protéico, estabilidade térmica e propriedades para a fabricação de queijos (YADA, 2004). Os polimorfismos mais estudados são os que envolvem a  $\kappa$ -caseína e a  $\beta$ -lactoglobulina (FOX e McSWENNEY, 2003).

## 1.2 Caseínas

As caseínas são secretadas pelas células alveolares da glândula mamária na forma de micelas. Essas micelas estão dispersas no leite formando uma suspensão coloidal e são constituídas pelas  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 2-,  $\beta$ - e  $\kappa$ -caseínas formando agrupamentos de moléculas ligadas através de fosfato de cálcio (FOX e McSWENNEY, 1998).

O modelo de estrutura mais aceito para a organização das caseínas no leite é o micelar (Figura 1).

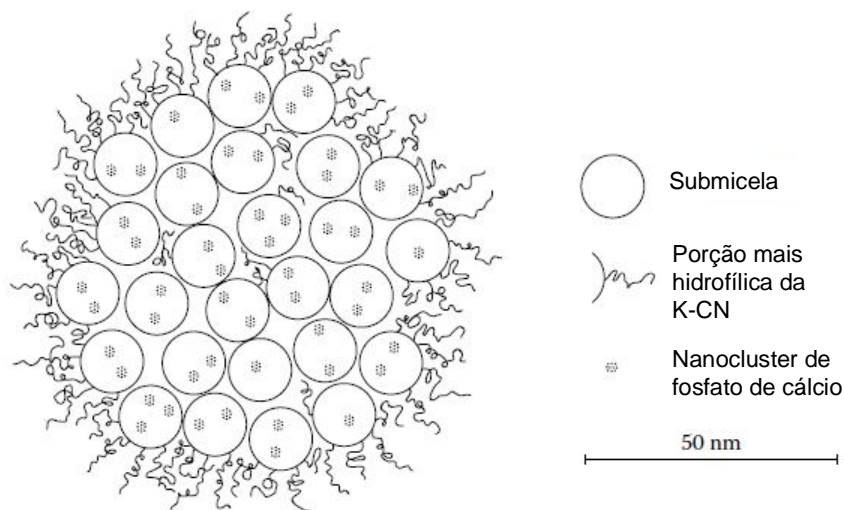


Figura 1. Corte transversal de uma micela de caseína. Fonte: Walstra, Wouters e Geurts (2006).

As micelas de caseína consistem em um complexo de submicelas com um diâmetro de 12 a 15 nm cada. O conteúdo de  $\alpha$ ,  $\kappa$  e  $\beta$  caseína é heterogeneamente distribuído nas diferentes micelas. Devido à localização dominante da  $\kappa$ -caseína na superfície das micelas, estas são solúveis na forma de colóides. O fosfato cálcico e as interações hidrofóbicas entre as submicelas são as responsáveis pela integridade das micelas de caseína (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

Cada caseína é formada por uma sequência diferente de peptídeos e tem, por conseguinte, uma estrutura secundária e terciária diferente. As caseínas são fosfoproteínas, contendo número variável de radicais fosfato ligados à serina (P-Ser), concentrados em diferentes regiões das cadeias polipeptídicas, originando nas moléculas regiões mais hidrofílicas ou mais hidrofóbicas, caráter anfipático ou anfifílico. Todas as caseínas, exceto a  $\kappa$ -caseína, possuem a capacidade de ligação ao cálcio, o que ocorre, sobretudo, através dos seus resíduos de fosfato. Essa ligação é fundamental para o leite cumprir sua principal função biológica, isto é, transportar cálcio da mãe para os filhos (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

### 1.2.1 Kappa-caseína

A  $\kappa$ -caseína é composta por 169 aminoácidos e possui um peso molecular de aproximadamente 19 kDa. Apresenta-se como a mais hidrofílica das caseínas, apesar de apresentar um radical fosforilserina, por possuir carboidratos em sua molécula, caracterizando-se como uma P-glicoproteína. Ela tem os resíduos de aminoácidos dicarboxílicos localizados na sua região carboxiterminal glicosilada. Em geral, três monossacarídeos (galactose, N-acetil-galactosamina ou ácido N-acetilneuramínico), formando tri ou tetrassacarídeos, ligados aos resíduos de treonina 131, 133, 135 ou 136, constituem a parte glicosídica da molécula. A estrutura secundária e/ou terciária parece ser o fator primordial na determinação dos sítios de glicosilação, sendo a única caseína glicosilada (FOX e McSWENNEY, 1998).

A estrutura secundária da  $\kappa$ -caseína é formada por cinco regiões em  $\alpha$ -hélice (23% do total), sete regiões em folhas  $\beta$  (31% do total) e dez regiões em

alças em conformação  $\beta$  (24%). A estrutura secundária do segmento para- $\kappa$ -caseína, onde se ligam os carboidratos, é muito ordenada, sobretudo as regiões em folhas  $\beta$  entre os resíduos de aminoácidos 22-32 e 40-56, e contém dois resíduos de cisteína suscetíveis à oxidação e à reação de intercâmbio sulfidrilo-dissulfeto (FOX e McSWENEEY, 1998).

A solubilidade da  $\kappa$ -caseína não é afetada pela presença do cálcio, impedindo, assim, a precipitação das caseínas sensíveis ao cálcio livre no leite. A região da seqüência primária da para- $\kappa$ -caseína, por ser de natureza apolar, orienta-se para o interior das micelas e interage, por meio de grupos hidrofóbicos, com as caseínas  $\alpha$ s e  $\beta$  dispostas no núcleo da micela, ao passo que sua porção glicosilada, o glicomacropéptido (GMP), em virtude de sua polaridade, orienta-se para a fase soro, interagindo com a água. Essas interações da seqüência primária da  $\kappa$ -caseína estabilizam as micelas no leite (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

A hidrólise enzimática que ocorre durante a fabricação da maioria dos queijos, bem como o tratamento térmico em temperaturas elevadas, resulta na remoção ou dissociação da  $\kappa$ -caseína da superfície das micelas, eliminando a estabilização eletrostática e estérica da superfície micelar e aumentando a hidrofobicidade de superfície, o que resulta em agregação das micelas e formação de um coágulo (FOX e McSWENEEY, 1998).

A  $\kappa$ -caseína bovina apresenta numerosas variantes genéticas já identificadas (A, B, C, E, F, G, H, I e J), sendo que A e B são as mais comumente encontradas (FOX e McSWENEEY, 2003).

### 1.3 Proteínas do soro

A maioria das proteínas do soro é globular, com conformação bastante fechada, alta proporção de  $\alpha$ -hélice e folhas  $\beta$  e distribuição de cargas relativamente homogênea na cadeia. Devido a sua estrutura são proteínas propensas à desnaturação, especialmente sob ação de calor (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

As proteínas do soro estão dispersas no leite como monômeros ou como pequenas estruturas quaternárias. Ao contrário das caseínas, as principais proteínas do soro não são fosforiladas, são ricas em enxofre e pouco propensa à proteólise. A  $\alpha$ -lactoalbumina e a  $\beta$ -lactoglobulina são sintetizadas na glândula mamária, enquanto as demais proteínas do soro, encontrada em pequena concentração no leite, são derivadas do sangue (FOX e McSWENEEY, 2003)

Essas proteínas têm sido utilizadas em diversas aplicações alimentícias, devido às suas propriedades funcionais, tais como gelatinização, emulsificação, solubilidade, formação de espuma e viscosidade, além do alto valor nutricional, sendo uma excelente fonte de aminoácidos essenciais (MORR; HA, 1993).

As diferentes proteínas presentes no soro apresentam funcionalidades distintas. Assim, por exemplo, a  $\beta$ -lactoglobulina possui excelentes propriedades gelatinizantes, a  $\alpha$ -lactoalbumina tem a capacidade de formar espuma similar à clara do ovo, e a lactoferrina e a lactoperoxidase apresentam propriedades bacteriostáticas (ANTUNES, 2003).

### 1.3.1 Beta-lactoglobulina

A proteína presente em maior quantidade no soro de leite bovino é a  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -LG). É uma proteína altamente estruturada, apresentando 10-15% de  $\alpha$ -hélices e 43% de folhas- $\beta$ . Ela é constituída por 162 aminoácidos, possui um peso molecular de aproximadamente 18 kDa e é rica no aminoácido sulfurado cisteína. O conteúdo desse aminoácido é especialmente importante já que reage com ligações dissulfido da  $\kappa$ -caseína, afetando a capacidade de coagulação por renina e a estabilidade térmica do leite (FOX e McSWENEEY, 2003).

A estrutura particular da  $\beta$ -LG, do tipo lipocalina, forma uma espécie de cálice de caráter hidrofóbico que lhe confere propriedades funcionais de grande aplicação na indústria de alimentos, como capacidade de emulsificação, formação de espuma, gelificação e ligação de compostos de sabor (MORR e FOEGEDING, 1990). A estrutura da  $\beta$ -LG contribui para que ela seja uma proteína bastante estável em solução em uma ampla faixa de pH, apresentando, porém, diferentes estados de

associação (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

Pela sua organização altamente estruturada, é uma proteína termossensível, mas resistente à proteólise em seu estado nativo (FOX e McSWENEEY, 2003). Vários efeitos são produzidos por ação da temperatura, entre eles perda de solubilidade e exposição de regiões da molécula apropriada para diferentes tipos de interação com outros componentes, em sistemas complexos (IAMETTI et al., 1996).

Já foram identificadas cinco variantes genéticas principais (A-E) da  $\beta$ -LG em bovinos, sendo as variantes A e B as mais frequentes na maior parte dos rebanhos. Porém, pelo menos mais quatro outras variantes de ocorrência rara já foram relatadas (FOX e McSWENEEY, 2003).

#### 1.4 Polimorfismos genéticos

Diferentes versões de uma seqüência de DNA em um determinado local cromossômico (*locus*) são chamadas de alelos. O polimorfismo genético ocorre quando diferentes formas alélicas de um mesmo *locus* gênico podem ser observadas na frequência de pelo menos 1% em uma população. Existem quatro tipos básicos de alterações que podem ocorrer em um *locus* gênico: (1) as que mudam a seqüência de DNA, mas não mudam a seqüência de aminoácidos da proteína, (2) as que mudam a seqüência da proteína sem mudar a sua função, (3) as que geram proteínas com diferentes atividades, e (4) aquelas que resultam em proteínas alteradas e não funcionais (WATSON e BERRY, 2006).

A  $\beta$ -lactoglobulina foi a primeira na qual o polimorfismo foi detectado. (ASCHAFFENBURG e DREWRY, 1955). Desde então foram descobertos polimorfismos genético em todas as caseínas e em outros genes que codificam as principais proteínas do soro do leite. Esse assunto tem sido foco de diversas investigações pela relação das variantes polimórficas com características tecnológicas e de composição do leite (FOX e McSWENEEY, 2003). Diferenças entre genótipos podem alterar a estrutura primária das proteínas e resultar em alterações de suas propriedades físico-químicas (HILL et al., 1996).

A detecção de polimorfismos genéticos, especialmente de nucleotídeos únicos (SNPs), pode ser realizada por métodos que permitam a identificação da sequência de DNA alterada. Um dos mais utilizados é a PCR-RFLP, uma associação da técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) e de RFLP (Polimorfismo de Tamanhos de Fragmentos de Restrição) (HIRATA, TAVARES e HIRATA, 2006).

A técnica de PCR-RFLP consiste em quatro etapas principais: (1) extração do DNA genômico das amostras, como sangue ou sêmen, (2) amplificação de um determinado segmento de DNA genômico através de uma PCR utilizando *primers* com uma seqüência específica de nucleotídeos, os quais servem como pontos de início da replicação do DNA, (3) uso de enzimas de restrição para clivagem dos segmentos amplificados, e (4) identificação de variações no tamanho dos fragmentos gerados através de técnicas de eletroforese em gel (FARAH, 2007; HIRATA, TAVARES e HIRATA, 2006; VAS, 1992).

As enzimas de restrição reconhecem sítios específicos na sequência de DNA, que é clivada somente quando esse sítio está presente. No caso dos polimorfismos a ocorrência de seqüências diferentes no DNA pode levar na ocorrência do sítio alvo da enzima em posições diferentes ou até a ausência desse sítio, levando à formação de fragmentos de tamanhos diferentes para cada alelo polimórfico após a clivagem (WATSON et al., 2006).

### 1.5 Raças Bovinas Leiteiras

As raças mais comumente utilizadas para a produção de leite no mundo são Holandesa preta e branca, Holandesa marrom e branca, Ayrshire, Guernsey e Jersey (McALLISTER, 2002). Esses animais são da espécie gênero *Bos taurus taurus* de alta produção, entretanto, por terem sido selecionados na Europa, estão totalmente adaptados ao clima frio da região (SCHNIER et al., 2003). No Brasil, devido ao clima quente estes animais sofrem um estresse térmico extremamente acentuado (MADALENA, 1998). Visando amenizar o efeito da temperatura no plantel produtor de leite é muito comum a utilização de raças adaptadas ao clima quente.

No Brasil, a maior parte da produção de leite é oriunda da utilização de mestiços zebuínos, com destaque para os resultantes do cruzamento Holandês x Gir, incluindo animais da raça Girolando (FACÓ et al., 2002).

### 1.5.1 Raça Holandesa

A raça holandesa é a mais difundida no mundo, presente em mais de 50 países. Possui mais de dois milhões de animais registrados no Brasil. Apresenta uma excelente relação custo x benefício, sendo a raça matriz para cruzamentos absorventes ou de raças compostas (VALENTE et al., 2001; SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007).

Foi domesticada há 2.000 anos nas terras planas e pantanosas da Holanda setentrional e da Alemanha. Eram animais de origem grega, de acordo com ilustrações antigas (VALENTE et al., 2001). No Brasil, não há consenso de uma data de introdução da raça, mas acredita-se que foi trazida por volta de 1535, período em que o Brasil foi dividido em capitânicas hereditárias (ALBUQUERQUE; COUTO, 2001).

Existem variações entre animais na mesma raça, entretanto, a cor da pelagem quase sempre serve para distinguir animais da mesma raça (VALENTE et al., 2001). De acordo com Durães et al. (2001), há dois tipos de gado Holandês principais, o preto e branco, e o vermelho e branco (Figura 1).

Essa raça apresenta ainda as seguintes características: idade para a primeira cobertura de 16 a 18 meses; idade para o primeiro parto de 25 a 27 meses; duração da gestação de 261 dias a 293 dias (média de 280 dias) e intervalo entre partos de 15 a 17 meses (McALLISTER, 2002; SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007).

Esta raça é capaz de produzir 20 a 25 kg de leite por dia, podendo chegar a 50 kg (ABCBRH, 2010). O leite de animais da raça Holandesa tem composição média de 3,6% de gordura, 3,0% de proteína, 4,6% de lactose e 12,12% de sólidos totais (FONSECA; SANTOS, 2000).



Figura 2. Bovinos leiteiros da raça Holandesa. Fonte: Holstein World (2010).

### 1.5.2 Raça Girolando

Essa raça é oriunda do cruzamento do Gir com o Holandês, em que, procurou-se preservar a rusticidade do Gir com a produtividade da raça holandesa. Muitos consideram a superioridade do Girolando indiscutível, que além de ter conjugado a rusticidade do Gir e a produção do Holandês, adicionou características desejáveis das duas raças em um único tipo animal, fenotipicamente soberano, com qualidades imprescindíveis para produção leiteira nos trópicos (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007).

Em 1989, a então Assoleite, hoje Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, ganhou abrangência nacional e conseguiu junto ao Ministério da Agricultura delegação para conduzir o programa para formação da raça bovina Girolando em todo o Brasil. Dada a importância dos cruzamentos Holandês x Gir no panorama da produção de leite nacional, o Ministério da Agricultura, juntamente com as Associações representativas, traçaram as normas para a formação da raça Girolando - Gado Leiteiro Tropical (5/8 Holandês + 3/8 Gir) (BRASIL, 1992). E em 1996, o Ministério da Agricultura oficializou a raça Girolando (Portaria 79 de 01 de fevereiro de 1996) (FACÓ et al., 2002).



É uma raça que não possui suas características totalmente definidas, tendo variações na pelagem, na produção e na sua conformação (Figura 2) (SARCINELLI; VENTURINI; SILVA, 2007). Esta raça produz em média 10 a 12 kg de leite por dia (ABCG, 2010). O leite de animais da raça Girolando tem composição média de 4,0% de gordura, 3,52% de proteína, 4,8% de lactose, 0,7% de cinzas e 13,02% de sólidos totais (FONSECA; SANTOS, 2000).



Figura 3. Bovinos leiteiros da raça Girolando. Fonte: Girolando Brasil (2010).

### 1.5.3 Raça Jersey

Essa raça é originária da Inglaterra, o primeiro lote que veio para o Brasil era pertencente à rainha Vitória da Inglaterra. De lá saíram os touros que passaram a ser usados em cruzamentos com as vacas crioulas de diversas regiões gaúchas, formando um grande rebanho de vacas puras e mestiças (ABCGJ, 2010).

A raça Jersey surgiu numa pequena ilha, entre a Inglaterra e França, na região da Normandia. A sua discutida origem pode ter sido a partir das raças Bretona ou da Normanda, além de ser considerada ainda a possibilidade de sua origem a partir de raças germânicas. Devido as característica de seu leite, a raça foi rapidamente difundida pelo mundo, chegando ao Brasil ao redor de 1896 (ALBURQUEQUE; COUTO, 2001).

Embora pequena - o peso de uma Jersey adulta varia de 350 a 450 kg - é capaz de produzir de 12 a 15 kg de leite, por dia. Possuem uma pelagem parda, com uma variação do pardo-escuro ao amarelo-claro, sendo que nas extremidades do corpo e na face, a pelagem encontrada é mais escura (Figura 3). Mesmo esta raça sendo proveniente da Europa, adapta-se bem ao clima tropical quando está sob um manejo adequado (ABCGJ, 2010)

Sabe-se que o leite de Jersey tem um grande potencial tecnológico, por conter alto teor de gordura, proteína e cálcio. Por isso, tem sido utilizada além para a produção de leite em larga escala. Além disso, é bastante usada no cruzamento para a formação de raças mestiças (FOX e MCSWEENEY, 1998).

A composição média do leite de Jersey possui 4,2% de lactose, 4,4% de gordura e 3,7% de proteína (FOX e MCSWEENEY, 1998; GONZALEZ, 2009).



Figura 4. Bovinos leiteiros da raça Jersey. Fonte: ABCGJ (2010).

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCBRH – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE BOVINO DA RAÇA HOLANDESA. Disponível em: < <http://www.gadoholandes.com.br/>>. Acesso em 10 dez 2010.

ABCG – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE GIROLANDO. Disponível em: <http://www.girolando.com.br/>. Acesso em 10 dez 2010.

ABCGJ - JERSEY BRASIL. Disponível em: <<http://www.gadojerseybr.com.br/>>. Acesso em 10 dez 2010.

ADAMS, D. M.; BARACH, J. T.; SPECK, M. L. Effect of psychrotrophic bacteria from raw milk on milk proteins and stability of milk proteins to ultrahigh temperature treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 5 p. 823-827, 1976.

ALBUQUERQUE, L. C.; COUTO, M. A. C. L. **Raça Holandesa**. Minas Gerais, 2001. Disponível em: <[www.cienciadoleite.com.br](http://www.cienciadoleite.com.br/)>. Acesso em: 29 nov. 2010.

ASCHAFFENBURG, R.; DREWRY, J. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. **Nature**, v. 176, p. 218-219, 1955.

ATROSHI, F.; KANGASNIEMI, R.; HONKANON-BUZALSKI, T.; SANDHOLM, M. Beta-lactoglobulin phenotypes in Finnish Ayrshire and Friesian cattle with special reference to mastitis indicators. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.23, p. 135-143, 1982.

BOVENHUIS H.; JOHAN, A. M.; ARENDONK, V.; KORVER, S. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2549-2559, 1992

BRASIL. Departamento Nacional de Produção Agropecuária – Coordenação de Produção Animal. **Normas para formação da raça Girolando**. Brasília, DF: 1992. 31p.

COMBERG, G. H.; MEYER; GROWING, M. Correlation between beta-lactoglobulin types in cattle and age at first calving, milk yield and fat contents and distribution of protein fraction. **Journal of Dairy Science**, v. 36, p. 248, 1964.

COWAN, C. M.; DENTINE, M. R.; COYLE, T. Chromosome substitution effects associated with k-casein and  $\beta$ -lactoglobulin in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 1097-1104, 1992.

DURÃES, M. C.; VALENTE, J.; FREITAS, A. F.; TEIXEIRA, N. M.; BARRA, R. B. Diferenças entre produções de leite e de gordura de vacas PC e PO de raça Holandesa no estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.701-707, 2001.

FACÓ, O; LÔBO, R. N. B.; MARTINS FILHO, R.; MOURA, A. A. A. Análise do desempenho produtivo de diversos grupos genéticos Holandês x Gir no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 5, p. 1944-1952, 2002.

FARAH, S. B. **DNA segredos e mistérios**. 2ed. São Paulo: Sarvier, 2007. 538p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Advanced dairy chemistry: proteins**. 3ed. New York: Kluwer Academic, 2003. v1.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Dairy chemistry and biochemistry**. Londres: Blackie Academic & Professional. 1998.

GIROLANDO BRASIL. Disponível em: <<http://www.girolandobrasil.com.br/>>. Acesso em 10 dez 2010.

GONZALEZ, H. L. et al. Milk quality of Jersey cows kept on winter pasture supplemented or not with concentrate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p.1983-1988, 2009.

HILL, J. P.; BOLAND, M.J.; CREAMER, L. K.; ANEMA, S. G.; OTTER, D. E.; PATERSON, G. R.; LOWE, R.; MOTION, R. L.; THRESHER, W. C. Effect of the bovine beta-lactoglobulin phenotype on the properties of beta-lactoglobulin, milk

composition and dairy products. **Macromolecular interactions in food technology**, v. 650, p.281-294, 1996.

HIRATA, M. H.; TAVARES, V.; HIRATA, R. D. C. Da biologia molecular à medicina: métodos comumente utilizados em farmacogenética. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 39, n. 4, p. 522-534, 2006.

HOLSTEIN WORLD. Disponível em: <<http://www.holsteinworld.com/>>. Acesso em: 10 dez 2010.

IAMETTI, S.; DE GREGORI, B.; VECCHIO, G.; BONOMI, F. Modifications occur at different structural levels during the heat denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. **European Journal of Biochemistry**, v. 237, p. 106-112, 1996.

JAIRAM, B. T.; NAIR, P. G. Genetic polymorphisms of milk protein and economic characters in dairy animals. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 53, p. 1-8, 1983.

LIN, C. Y.; McALLISTER, K. F.; NG-KWAIHANG, K. F. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 704 -712, 1986.

McALLISTER, A.J. Is crossbreeding the answer to questions of dairy breed utilization? **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2352-2357, 2002.

MADALENA, F.E. Lucrando com os cruzamentos: a expansão do F1. In: Simpósio Nacional da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2, 1998, Uberaba. **Anais...** Uberaba, 1998. p.121-126.

MORR, C. V.; HA, Y. W. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 431-476, 1993.

NG-KWAI-HANG, K. F.; MONARDES, H. G.; HAYES, J. F. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 3414-3420, 1990.

PATERSON, G. R.; MACGIBBON, A. K. H, HILL, J. P. Influence of kappa-casein and beta-lactoglobulin phenotype on the heat stability of milk. **International Dairy**

**Journal**, v. 9, n. 3-6, p. 375-376, 1999.

SARCINELLI, M. F.; VENTURINI, K. S.; SILVA, L. C. **Produção de Bovinos – tipo leite**. Vitória: UFES. Boletim técnico. 2007

SCHNIER, C.; HIELM, S.; SALONIEMI, H.S. Comparison of milk production of dairy cows kept in cold and warm loose-housing systems. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 61, n. 4, p. 295-307, 2003.

SOARES, R. F. O Gado Jersey. In: DUQUE, A. C. A; AZAMBUJA, A.; DORNELAS, M. S. Histórico das principais raças leiteiras puras no cenário nacional. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.1, p.847-855, jan/fev. 2009. Disponível em: <[http://www.nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/081V6N1P847\\_855\\_JAN2009\\_.pdf](http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/081V6N1P847_855_JAN2009_.pdf)> Acesso 06dez.2010.

VALENTE, J.; DURÃES, M. C.; MARTINEZ, M. L.; TEIXEIRA, N. M. **Melhoramento genético de bovinos de leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de leite, 2001.

VAS, A. Polymerase chain reaction and other gene techniques in pharmacogenetics: na introduction and review. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 79, p. 253-260, 1992.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. 2ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

WATSON, J. D. ; BAKER, T. A.; BELL, S. P.; GANN, A.; LEVINE, M.; LOSICK, R. **Biologia molecular do gene**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 728p

WATSON, J. D.; BERRY, A. **DNA: the secret of life**. New York: Alfred A. Knopf, 2006. 446p.

YADA, R. Y. **Proteins in food processing**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; Boca Raton: CRC Press LLC. 2004.

## **CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA KAPPA-CASEÍNA E A PRODUTIVIDADE LEITEIRA EM ANIMAIS DAS RAÇAS HOLANDESA, GIROLANDO E JERSEY**

### **RESUMO**

A kappa-caseína é uma das principais proteínas lácteas, especialmente responsável pela estabilidade das micelas de caseína no leite. A associação de suas variantes genéticas com a produtividade leiteira ainda não está esclarecida. O objetivo deste trabalho foi analisar as frequências dos genótipos AA, AB e BB da kappa-caseína bovina e sua possível associação com a produção leiteira em animais das raças Girolando, Holandês e Jersey. O DNA genômico e a produtividade (kg leite/dia) de 38 animais da raça holandesa, 48 da Girolando e 42 da Jersey foram avaliados. O polimorfismo genético foi analisado através da técnica de PCR-RFLP com a enzima de restrição Hinf I. A frequência do genótipo AA foi maior nos animais das raças Holandesa (37%) e Girolando (63%), já nos animais da raça Jersey houve predomínio do genótipo BB (60%). Houve associação do alelo B com maior produtividade leiteira nas raças Girolando e Holandês ( $p < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** raças bovinas; produtividade leiteira; proteínas do leite.

## **ABSTRACT**

Kappa-casein is one of the main milk proteins, especially responsible by the casein micelle stability in milk. The association of genetic variants with milk productivity is not yet clear. The objective of this study was to analyze the frequency of genotypes AA, AB and BB of bovine kappa-casein and their possible association to milk production in Girolando, Holstein and Jersey cattle. Genomic DNA and milk production (kg milk/day) of 38 Holsteins, 48 Girolandos e 42 Jerseys were evaluated. Genetic polymorphism were analyzed through PCR-RFLP technique using Hinf I as the enzyme restriction. The frequency of AA genotype was higher in Holstein (37%) and Girolando (63%), while there was predominance of BB genotype in Jersey. There was positive association between B allele and milk production in the Girolando and Holstein cattle ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** bovine breeds; milk production; milk proteins.



## 1 INTRODUÇÃO

A kappa-caseína representa cerca de 12% do total das caseínas do leite bovino. Ela se diferencia das demais caseínas especialmente pela sua estabilidade perante a presença de íons cálcio. Assim, como é encontrada principalmente na superfície das micelas de caseínas, exerce um papel fundamental na estabilização das mesmas no leite. Assim, é uma proteína importante do ponto de vista tecnológico, podendo influenciar o comportamento do leite frente a processos de elaboração de queijos e de tratamento térmico (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

Já foram encontradas diversas variantes genéticas da k-CN, sendo a A e a B as mais freqüentes. As variantes A e B diferem nos aminoácidos 136 e 148 respectivamente, para a variante A na posição 136, a treonina é substituída por isoleucina; e na posição 148, para a variante B, o ácido aspártico é substituído por alanina (ALEXANDER et al., 1988).

Essas variações genéticas modificam a estrutura da proteína, afetando assim as características do leite e, conseqüentemente, sua capacidade de processamento (FOX e McSEWEENEY, 2003). O polimorfismo genético da kappa-caseína tem sido associado com as diferenças na composição, características de processamento e qualidade do leite, além de parâmetros de produtividade (FOX e McSEWEENEY, 2003; LIN et al., 1986).

A avaliação das diferenças alélicas de genes específicos e suas freqüências em diversas raças podem auxiliar programas de seleção e de melhoramento animal. Além disso, investigações de associações entre polimorfismo e características quantitativas e qualitativas do leite podem direcionar sua utilização pela indústria. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a freqüência dos genótipos AA, AB e BB relativos ao gene da kappa-caseína bovina em animais das raças Girolando, Holandês e Jersey, bem como verificar se há associação entre os genótipos dos animais e a produtividade leiteira.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2 Amostragem

Animais das raças Holandesa (n=38), Girolando (n=48) e Jersey (n=42) foram selecionados de rebanhos da Fazenda Experimental da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Tamarana-PR. De cada animal foram coletados 5 mL de sangue da circulação periférica, em tubo estéril contendo anticoagulante EDTA. Os tubos com sangue foram transportados e mantidos refrigerados até a realização da extração do DNA. A produtividade leiteira de cada animal foi calculada através da média dos últimos seis meses (kg leite/ dia) de lactação.

### 2.3 Extração de DNA

O DNA genômico de cada animal foi extraído a partir de 1 ml da fase leucocitária do sangue coletado, utilizando o PureLink™ Genomic DNA Extraction Mini Kit (Invitrogen Bioscience). O DNA extraído foi mantido em ultrafreezer (-73 a -80 °C) até a realização das análises.

### 2.4 PCR-RFLP

As amostras de DNA foram submetidas à amplificação por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e à clivagem através da técnica de RFLP (Polimorfismo de Tamanho de Fragmentos de Restrição) de acordo com o procedimento descrito por Medrano e Aguilar-Cordoba (1990).

Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), utilizados foram sintetizados (Invitrogen®) conforme seqüência a seguir:

**JK5: 5' ATCATTTATGGCCATTCCACCAAAG 3'**

**JK3: 5' GCCCATTTGCGCTTCTCTGTAACAGA 3'**

Para cada reação de amplificação foram utilizados 2,5 µL de solução tampão para PCR 10X (KCl 500 mM, Tris-Cl pH 8.3 100 mM), 10 pM de cada primer (100 pM), 250 mM de dNTP (200 mM), 1 UI de Taq DNA Polimerase (5 UI/µL), 37,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 2,5 µL de DNA extraído e água ultra pura qsp 25 µL. Em todas as reações de amplificação, utilizou-se um controle negativo (sem DNA), para confirmar a ausência de contaminação na execução da análise.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Multigene) através das seguintes etapas: pré-desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 60 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos, com extensão final a 72 °C por 10 minutos. O DNA amplificado foi mantido em ultrafreezer até a realização do RFLP.

Para a confirmação da amplificação das amostras, realizou-se eletroforese em gel de agarose a 0,8%, em cuba horizontal de acrílico com tampão de corrida TBE 1X a 60 volts por 60 minutos utilizando SYBR SAFE® como corante.

O produto da PCR passou pela análise de RFLP utilizando a enzima de restrição Hinf I para clivagem a 37 °C por 12 horas. Os fragmentos de DNA resultantes foram separados em gel de poliacrilamida 6% com corrida a 70 V e depois corados com nitrato de prata.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O produto amplificado correspondeu a um fragmento de 350 pares de bases (pb), do éxon IV do gene para a kappa-caseína bovina. Esse fragmento foi clivado pela endonuclease Hinf I, cujo sítio de reconhecimento é a sequência **G↓ANTC**. A digestão permitiu a diferenciação genotípica dos animais para essa proteína láctea. O genótipo AA apresentou três fragmentos de 132, 134 e 84 pb, o genótipo BB dois de 266 e 84 pb e o genótipo AB quatro fragmentos de 266, 134, 132 e 84 pb (Figura 1).

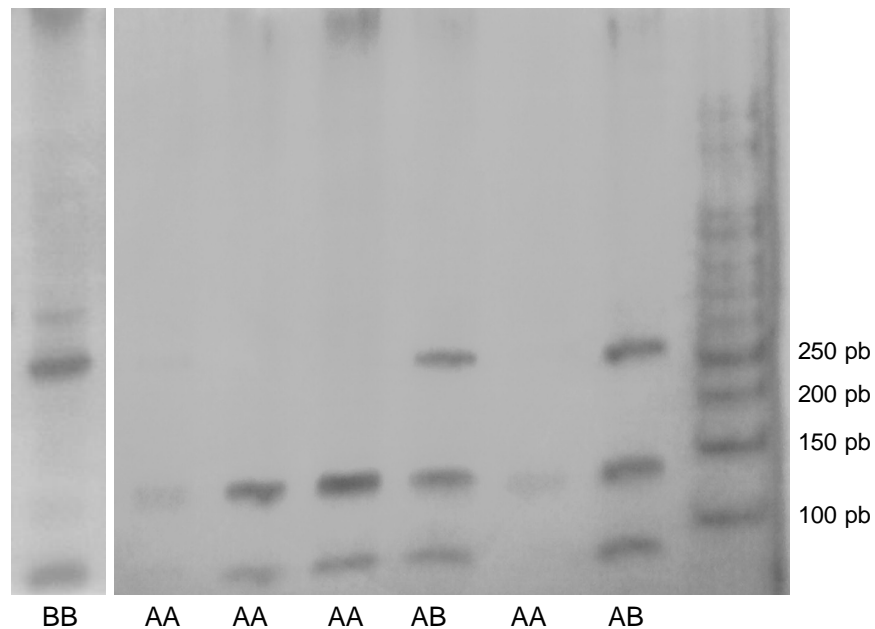


Figura 1. Perfil eletroforético dos fragmentos de restrição de acordo com os genótipos relativos à kappa-caseína.

A figura 2 mostra as frequências genotípicas encontradas nas três raças estudadas.

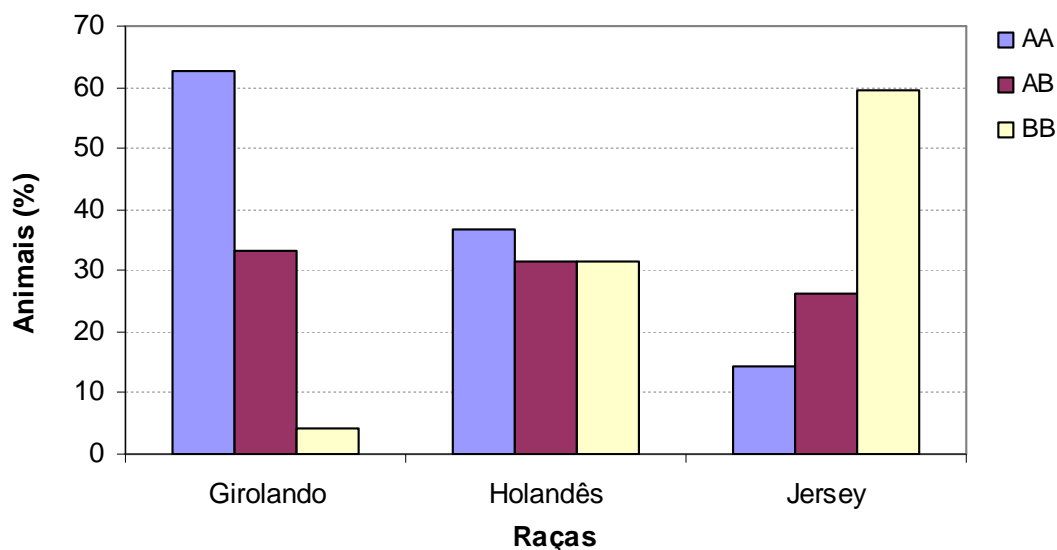


Figura 2. Distribuição dos genótipos relativos à kappa-caseína de acordo com a raça.

A raça Girolando apresentou grande número de animais com genótipo AA (63%) enquanto a Jersey apresentou maior concentração do genótipo BB (60%). Na raça Holandesa foram encontradas freqüências similares para os três genótipos possíveis (~30% cada). Botaro et al. (2009), avaliando rebanhos do interior do estado de São Paulo, encontraram uma freqüência do genótipo AA de 67% na raça Girolando e de 71% na raça Holandesa. Buchberger (1995) relatou menores freqüências do alelo A nas raças Jersey e Normanda, que variaram entre 0,49 e 0,32.

A alta freqüência do alelo A na raça Girolando, provavelmente está relacionada à sua origem em cruzamentos das raças Gir e Holandesa. Há uma alta freqüência do genótipo AA no gado Gir (VALENTE, 1996; RODRIGUES, 2006).

Relatos encontrados na literatura afirmam que o alelo B da kappa-caseína tem um efeito significativo na qualidade do leite para a produção de queijo (MAO et al., 1992). Van der Berg et al. (1992) mostraram que o leite produzido por vacas de genótipo BB teve maior rentabilidade na produção de queijos quando comparadas as vacas de genótipo AA. A maior freqüência do genótipo BB foi

encontrada na raça Jersey, podendo ser associada a propriedades de manufatura de queijos, já que a presença deste alelo contribui com 8 a 10% na composição proteica do leite.

NG-KWAI-HANG et al. (1987) encontraram que o leite de animais com genótipo BB para a kappa-caseína apresenta maiores teores de  $\alpha$ 1-CN,  $\kappa$ -CN, soroalbumina e imunoglobulinas, mas menores de  $\beta$ -CN,  $\beta$ -LG e  $\alpha$ -La. O alelo B, em geral, também é associado às melhores características para o processamento industrial do leite. A utilização de leite oriundo de animais com este genótipo resulta em menor tempo de coagulação para o preparo de queijo, formação de coágulo com maior densidade devido ao menor tamanho da micela, assim como uma maior produção de queijo em relação ao leite de vacas com o genótipo AA para a kappa-caseína (HALLÉN et al., 2007; MEDRANO e AGUILAR-CORDOBA, 1990).

Neste estudo, houve associação do genótipo com a produtividade ( $p < 0,05$ ) nas raças Girolando e Holandês (Tabela 1). Nos animais Girolando o genótipo BB foi o que apresentou maior produtividade enquanto nos animais holandeses os genótipos AB e BB mostraram maior produção leiteira do que animais AA. Enquanto nos animais das raças Jersey isto não ocorre, tendo em vista que o genótipo BB é um bom marcador para a seleção de gado para as raças Girolando e Holandesa.

Tabela 1. Produtividade média (kg leite/dia) das raças avaliadas de acordo com os genótipos relativos à kappa-caseína

<b>Genótipo</b>	<b>Girolando</b>	<b>Holandês</b>	<b>Jersey</b>
AA	10,6 ± 3,2 <sup>ab</sup>	10,7 ± 3,2 <sup>b</sup>	10,6 ± 2,7 <sup>a</sup>
AB	8,4 ± 1,9 <sup>b</sup>	16,4 ± 4,2 <sup>a</sup>	12,2 ± 4,1 <sup>a</sup>
BB	14,4 ± 0,8 <sup>a</sup>	14,9 ± 3,4 <sup>ab</sup>	10,8 ± 2,6 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

Com relação à produtividade leiteira, não há um consenso na literatura sobre a influência dos os alelos A e B do gene para a k-CN (FOX e McSWENNEY, 2003). Alguns estudos, com as raças Holandesa e Girolando, não encontraram correlação entre as variantes genéticas da k-CN e a produtividade (NG-KWAI-HANG, MONARDES e HAYES, 1990; LIN et al, 1986), enquanto outros sugerem que para animais da raça Holandesa, Ayrshire e Jersey a k-CN AA (BOVENHUIS et al., 1992), ou a k-CN AB (Kim et al., 1996) ou a k-CN BB (PUPKOVA, 1980) são positivamente associadas com a produção leiteira.

Esta diferença entre estudos com a mesma raça ocorre, pois a produtividade leiteira é influenciada por vários fatores, como clima e alimentação (FOX e McSWENNEY, 2003), os quais podem variar entre os diversos experimentos.

#### 4 CONCLUSÃO

Com relação ao gene bovino para a kappa-caseína, os genótipos AA, AB e BB foram encontrados em diferentes frequências nas três raças avaliadas. A frequência do genótipo AA foi maior nos animais das raças Girolando e Holandês, enquanto nos animais da raça Jersey houve o predomínio do genótipo BB. Houve associação do alelo B com maior produtividade leiteira nas raças Girolando e Holandês ( $p < 0,05$ ).



## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, L. J.; STEWART, A. F.; MACKINLAY, A. G.; KAPELINSKAYA, T. V. Isolation and characterization of the bovine kappa-casein gene. **European Journal of Biochemistry**, v.178, p. 395-401, 1988.

BOVENHUIS H.; JOHAN, A. M.; ARENDONK, V.; KORVER, S. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2549-2559, 1992.

BUCHBERGER, J. Genetics polymorphisms of milk protein: differences between breeds. **Bulletin of the International Dairy Federation**, n. 304, p.5-6, 1995.

FARIA, F.J.C., GUIMARÃES, S.E.F, MOURÃO, G.B., LIMA, R.M.G, PINHEIRO, L.E.L. Análise de polimorfismos do gene da beta-lactoglobulina em vacas da raça Nelore e efeitos sobre o peso à desmama de suas progênes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 3, p. 261-265, 2000.

HALLEN, E.; ALLMERE, T.; NASLUND, J.; ANDREN A.; LUNDEN, A. Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. **International Dairy Journal**, v.17, p.791-799, 2007.

KIM, S., NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F. The relationship between milk protein phenotypes and lactation traits in Ayrshires and Jerseys. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 9, n. 6, p. 685-693, 1996.

LIN, C. Y.; McALLISTER, K. F.; NG-KWAIHANG, K. F. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.69, p. 704 -712, 1986.

MAO, I.L., BUTTAZOZONI L.G., ALEANDRI R. Effects of Polymorphic milk protein genes on milk yield and composition traits in Holstein cattle. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 42, p.1-7, 1992.

MEDRANO, J.F., AGUILAR-CORDOVA E. Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. **Bio/Technology**, v. 8, p. 144-146, 1990.

NG-KWAI-HANG, K. F.; MONARDES, H. G.; HAYES, J. F. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 3414-3420, 1990.

PUPKOVA, G. V., Milk protein polymorphism and milk production of Estonian Black Pied cows, **Dairy Science Abstracts**, v. 45, p. 6620, 1980

RODRIGUES, S. G., **Estudo das frequências dos alelos A e B dos genes da kappa-caseína e beta-lactoglobulina e suas associações com produção de leite em bovinos F<sub>1</sub> Girolando**. 30 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

VALENTE, E. P. **Levantamento das frequências dos fenogrupos do sistema B de grupos sangüíneos e dos alelos A e B do gene da k-caseína em populações das raças Holandesa e Gir do Estado de Minas Gerais**. 69 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, 1996.

VAN DER BERG G., ESCHER. J. T. M., DE KONNING, P. J., BOVENHUIS, H. Genetic polymorphism of  $\kappa$ - casein and  $\beta$ -lactoglobulin in relation to milk composition and processing. **Netherland Milk Dairy Journal**, v. 46, p.145-168, 1992.

VIANA, J.; FERNADEZ, A.; IGLESIA, A.; SANCHEZ, L.; BECERRA, J. Análisis de los genotipos más frecuentes de la k-caseína en la raza vacuna rubia galega mediante pcr/rflps (analysis by pcr/rflps of the most frequent k-casein genotypes in rubia galega cattle breed). **Archivos de Zootecnia**, v. 50, p. 91-96, 2001.

### **CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA BETA-LACTOGLOBULINA E A PRODUTIVIDADE LEITEIRA EM ANIMAIS DAS RAÇAS HOLANDESA, GIROLANDO E JERSEY**

#### **RESUMO**

A beta-lactoglobulina bovina foi a primeira a ter o seu polimorfismo evidenciado. Suas variantes apresentam associação com a produção, qualidade e processamento do leite. A associação de suas variantes genéticas com a produtividade leiteira ainda não está esclarecida. O objetivo desse trabalho foi analisar as frequências dos genótipos AA, AB e BB da beta-lactoglobulina bovina e sua possível associação com a produção leiteira em animais das raças Girolando, Holandês e Jersey. O DNA genômico e a produtividade (kg leite/dia) de 38 animais da raça holandesa, 48 da Girolando e 42 da Jersey foram avaliados. O polimorfismo genético foi analisado através da técnica de PCR-RFLP com a enzima de restrição Hae III. Houve predominância do genótipo AB nas raças Girolando, Holandesa e Jersey. O genótipo AB foi o mais encontrado nos animais das raças Girolando (54%) e Holandês (58%), já nos animais da raça Jersey houve predomínio do genótipo BB (45%). Houve associação do alelo A com maior produtividade leiteira na raça Jersey ( $p < 0,05$ ).

**Palavras-chave:** raças bovinas; produtividade leiteira; proteínas do leite.

## **ABSTRACT**

Bovine beta-lactoglobulin was the first one to have its polymorphism evidenced. Its variants show association to productivity, quality and processing of milk. The association of genetic variants with milk productivity is not yet clear. The objective of this study was to analyze the frequency of AA, AB and BB genotypes of bovine beta-lactoglobulin and their possible association to milk production in Girolando, Holstein and Jersey cattle. Genomic DNA and milk production (kg milk/day) of 38 Holsteins, 48 Girolandos e 42 Jerseys were evaluated. Genetic polymorphism were analyzed through PCR-RFLP technique using Hae III as the enzyme restriction. There was predominance of AB genotype in all breeds. The BB genotype was the most found in Girolando (54%) and Holstein (58%), while there was predominance of BB genotype (45%) in Jersey. There was positive association between A allele and milk production in the Jersey cattle ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** bovine breeds; milk production; milk proteins.

## 1 INTRODUÇÃO

A beta-lactoglobulina representa cerca de 50% da proteína do soro e 12% da proteína total do leite bovino (FOX e McSWENEEY, 1998). Sua função biológica ainda não está estabelecida, mas parece estar envolvida no metabolismo e transporte de retinol e ácidos graxos (FORMAGGIONI et al., 2003). Por sua estrutura altamente organizada é uma proteína bastante susceptível a desnaturação, especialmente pelo calor (WALSTRA, WOUTERS e GEURTS, 2006).

A beta-lactoglobulina foi a primeira proteína do leite que teve polimorfismos genético detectados (ASCHAFFENBURG e DREWRY, 1955). Dentre as cinco variantes genéticas principais (A-E) da  $\beta$ -LG em bovinos, a A e a B são as mais frequentes (FOX e McSWENEEY, 2003). A  $\beta$ -LG apresenta uma molécula com 162 aminoácidos e as variantes A e B diferem nas posições 64 e 118. A variante A possui ácido aspártico na posição 64 e valina na 118, enquanto a variante B apresenta glicina e alanina, respectivamente (FOX e McSWENEEY, 2003).

A modificação no locus da beta-lactoglobulina, nas variantes A e B influenciam a composição e as propriedades de processamento do leite, como modificações no tempo de coagulação do leite durante a manufatura de queijos. (ALEANDRI et al., 1990).

De acordo com Litwinczuk e Król (2002), a seleção de gado leiteiro baseada em marcadores genéticos, como os genes relativos às proteínas do leite, pode incrementar em 5% a eficiência do melhoramento genético quando comparada com a seleção tradicional. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a frequência dos genótipos AA, AB e BB da beta-lactoglobulina bovina em animais das raças Girolando, Holandês e Jersey, e analisar se há associação entre os genótipos dos animais e a produtividade leiteira.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2 Amostragem

Animais das raças Holandesa (n=38), Girolando (n=48) e Jersey (n=42) foram selecionados animais de rebanhos da Fazenda Experimental da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR), Tamarana-PR. De cada animal foram coletados 5 mL de sangue da circulação periférica, em tubo estéril contendo anticoagulante EDTA. Os tubos com sangue foram transportados e mantidos refrigerados até a realização da extração do DNA. A produtividade leiteira de cada animal foi calculada através da média dos últimos seis meses (kg leite/ dia) de lactação.

### 2.3 Extração de DNA

O DNA genômico de cada animal foi extraído a partir de 1 mL da massa leucocitária do sangue coletado, utilizando o PureLink™ Genomic DNA Extraction Mini Kit (Invitrogen Bioscience). O DNA extraído foi mantido em ultrafreezer (-73 a -80 °C) até a realização das análises.

### 2.4 PCR-RFLP

As amostras de DNA foram submetidas à amplificação por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e à clivagem através da técnica de RFLP (Polimorfismo de Tamanho de Fragmentos de Restrição) de acordo com o procedimento descrito por Medrano e Aguilar-Cordoba (1990).

Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), utilizados foram sintetizados (Invitrogen<sup>®</sup>) conforme seqüência a seguir:

**BLGP3: 5`GTCCTTGTGCTGGACACCGACTACA 3`**

**BLGP4: 5` CAGGACACCGGCTCCCGGTATATGA 3`**

Para cada reação de amplificação foram utilizados 2,5 µL de solução tampão para PCR 10X (KCl 500 mM, Tris-Cl pH 8.3 100 mM), 10 pM de cada primer (100 pM), 250 mM de dNTP (200 mM), 1 UI de Taq DNA Polimerase (5 UI/µL), 37,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), 2,5 µL de DNA extraído e água ultra pura qsp 25 µL. Em todas as reações de amplificação, utilizou-se um controle negativo (sem DNA), para confirmar a ausência de contaminação na execução da análise.

As amplificações foram realizadas em termociclador (Multigene) através das seguintes etapas: pré-desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 60 °C por 30 segundos e extensão a 72 °C por 30 segundos, com extensão final a 72 °C por 10 minutos. O DNA amplificado foi mantido em ultrafreezer até a realização do RFLP.

Para a confirmação da amplificação das amostras, realizou-se eletroforese em gel de agarose a 0,8%, em cuba horizontal de acrílico com tampão de corrida TBE 1X a 60 volts por 60 minutos utilizando SYBR SAFE<sup>®</sup> como corante.

O produto da PCR passou pela análise de RFLP utilizando a enzima de restrição Hae III para clivagem a 37 °C por 12 horas. Os fragmentos de DNA resultantes foram separados em gel de poliácridamida 6% com corrida a 70 V e depois corados com nitrato de prata.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O produto amplificado do DNA correspondeu a um fragmento de 262 pares de bases (pb), do éxon IV do gene da beta-lactoglobulina. A digestão com a enzima Hae III, o qual tem como sítio de reconhecimento a sequência **GG↓CC** permitiu a diferenciação genotípica da beta-lactoglobulina. Os fragmentos clivados foram separados em gel de poliacrilamida a 6% sendo que, para o genótipo AA foram encontradas três bandas de 153, 79 e 74 pb, três bandas de 109, 79 e 74 pb para o genótipo BB e quatro bandas de 153, 109, 79 e 74 pb para o genótipo AB (Figura 1).

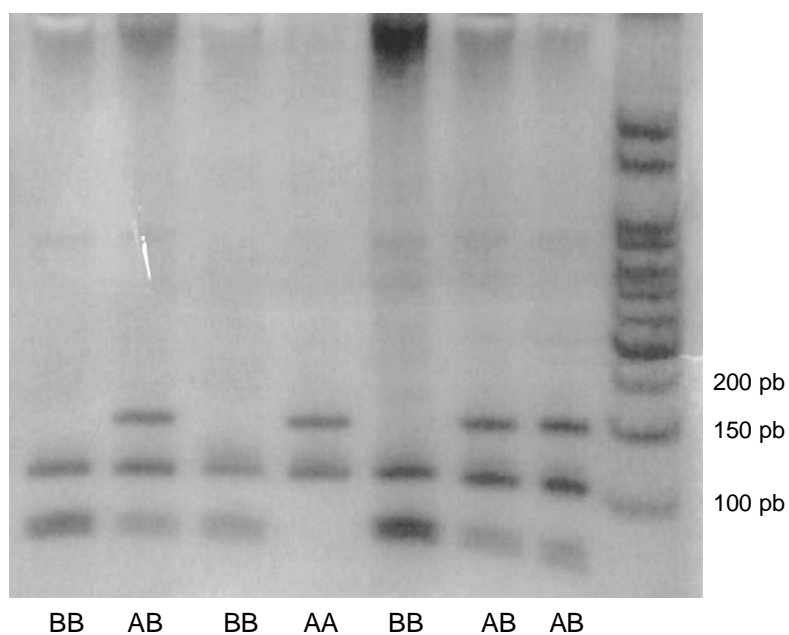


Figura 1. Perfil eletroforético dos fragmentos de restrição de acordo com os genótipos relativos à beta-lactoglobulina.

A figura 2 mostra as frequências genotípicas encontradas nas três raças estudadas. O genótipo AB foi o mais freqüente nas raças Girolando (54%) e Holandês (58%), já na raça Jersey a maior frequência foi do genótipo BB (45%).



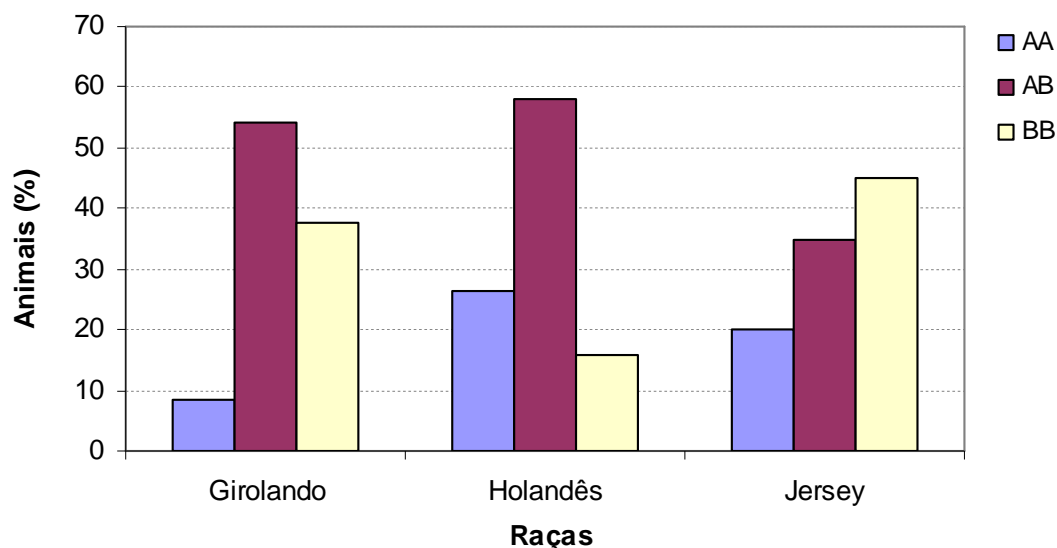


Figura 2. Distribuição dos genótipos relativos à beta-lactoglobulina de acordo com a raça.

Rodrigues (2006), avaliando rebanhos de Minas Gerais obteve uma frequência de 57% para o genótipo AB da beta-lactoglobulina na raça Girolando. Na raça holandesa, Celik (2003) observou maior frequência (53%) do genótipo BB em Nova Zelândia, enquanto Ojala et al. (1997), na Califórnia, e Orner e Elmaci (2006), na Turquia, do genótipo AB (51-56%). Para a raça Jersey, vários autores verificaram maior frequência para o heterozigoto AB, de 43% na Holanda (PATERSON et al., 1999), 51% na Nova Zelândia (HILL et al., 1993) e 58% na Califórnia (OJALA et al., 1997).

Lodes et al. (1997) verificaram que o genótipo BB estava associado com maiores teores de caseína e gordura no leite. Isso acarreta maior rendimento na produção de queijos e implicações na textura e caracterização sensorial de produtos lácteos (BOBE et al., 1999). Além disso, o alelo B da  $\beta$ -LG está relacionado a maior estabilidade térmica do leite (FOX e McSWENNEY, 2003).

Segundo Molina et al. (2006), há interação entre as variantes genéticas de kappa-caseína e beta-lactoglobulina, as quais apresentam combinação

mais favorável entre a kappa-caseína A e beta-lactoglobulina AA, e kappa-caseína B e beta-lactoglobulina AB para maior conteúdo protéico no leite da raça Holandesa.

Vários estudos sobre o efeito dos genótipos da beta-lactoglobulina sobre a produção de leite têm sido realizados. O genótipo AA tem demonstrado ter um efeito favorável sobre a quantidade de proteínas e o rendimento na produção de leite, enquanto os efeitos positivos do genótipo BB têm sido relatados ao maior teor de gordura (BOVENHUIS et al., 1992).

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 1), observa-se que a produtividade leiteira está associada com os genótipos somente para a raça Jersey, na qual os genótipos AA e AB apresentaram a maior produtividade. As diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) para as raças Holandês e Girolando.

Tabela 1. Produtividade média (kg leite/dia) das raças avaliadas de acordo com os genótipos relativos à beta-lactoglobulina

<b>Genótipo</b>	<b>Girolando</b>	<b>Holandês</b>	<b>Jersey</b>
AA	6,8 ± 3,6 <sup>a</sup>	12,8 ± 4,4 <sup>a</sup>	10,3 ± 4,7 <sup>ab</sup>
AB	10,3 ± 2,6 <sup>a</sup>	14,1 ± 4,5 <sup>a</sup>	12,3 ± 1,9 <sup>a</sup>
BB	10,4 ± 3,4 <sup>a</sup>	14,4 ± 4,1 <sup>a</sup>	8,9 ± 1,4 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Em cada coluna, valores com letras iguais não diferem estatisticamente ( $p > 0,05$ ).

Jairam e Nair (1983) e Marziali & Ng-Kwai-Hang (1986) observaram produção leiteira superior para vacas da raça Holandesa com genótipo BB. Já nos trabalhos de Atroshi et al (1982), de Bovenhuis et al (1992) e de Comberg et al (1964) com a mesma raça, a variante A foi relacionada com maior produção de leite em animais bovinos das raças Jersey e Gir. Cowan et al (1992) não encontraram diferença na produção leiteira entre os genótipos da beta-lactoglobulina bovina.

A produtividade leiteira é afetada por vários fatores, desde as condições ambientais ao manejo dos animais. Assim, esses fatores podem afetar o resultado de diferentes trabalhos resultando nas variações encontradas entre os estudos.

#### 4 CONCLUSÃO

Com relação ao gene da beta-lactoglobulina bovina, os genótipos AA, AB e BB foram encontrados em diferentes freqüências nas três raças avaliadas. O genótipo AB foi o mais freqüente nos animais das raças Girolando e Holandês, enquanto nos animais da raça Jersey houve o predomínio do genótipo BB. Houve associação do alelo A com maior produtividade leiteira na raça Jersey ( $p < 0,05$ ).

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEANDRI, R., BUTTAZZONI, L. G., SCHNEIDER, J. C., CAROLI, A., DAVOLI, R. The effects of milk protein polymorphisms on milk components and cheese producing ability. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 241-255, 1990.

ASCHAFFENBURG, R.; THYMANN, M. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk. **Nature**, v. 176, p. 218-219, 1955.

ANDREWS, A.T. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. **Journal of Dairy Research**, v.50, n.1, p.45-55, 1983.

ATROSHI, F.; KANGASNIEMI, R.; HONKANON-BUZALSKI, t. Betalactoglobulin phenotypes in Finnish Ayrshire and Friesian cattle with special reference to mastitis indicators. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.22, p. 135, 1982.

BOBE, G.; FREEMAN, A. E.; LINDBERG, G. L.; BEITZ, D. C. The influence of milk protein phenotypes on fatty acid composition of milk from Holstein cows. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 1-2, p. 3-6, 2004.

BOVENHUIS H.; JOHAN, A. M.; ARENDONK, V.; KORVER, S. Association between milk protein polymorphisms and milk production traits. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 2549-2559, 1992.

CELIK, S. Beta-Lactoglobulin genetic variants in Brown Swiss breed and association with compositional properties and rennet clotting time of milk. **International Dairy Journal**, v 13, n. 9, p. 727-731, 2003.

COMBERG, G. H.; MEYER; GROWING, M. Correlation between beta-lactoglobulin types in cattle and age at first calving, milk yield and fat contents and distribution of protein fraction. **Journal of Dairy Science**, v. 36, p. 248, 1964.

COWAN, C. M.; DENTINE, M. R.; COYLE, T. Chromosome substitution effects associated with k-casein and  $\beta$ -lactoglobulin in Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**, v.75, p. 1 097-1104, 1992.

FORMAGGIONI, P.; SUMMER, A.; MALACARNE, M. Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. Disponível em: <<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm>>. Acessado em 13-12-2010.

FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Advanced dairy chemistry: proteins**. 3ed. New York: Kluwer Academic, 2003. v1.

HILL, J. P. The relationship between beta-lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 1, p. 281-286, 1993.

JAIRAM, B. T.; NAIR, P. G. Genetic polymorphisms of milk protein and economic characters in dairy animals. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 53, p. 1-8, 1983.

LODES, A.; BUCHEBERGER, J.; KRAUSE, I.; AUMANN, J.; KLOSTERMEYER, H. The influence of genetic variants of milk proteins on the compositional and technological properties of milk: 3. Content of protein, casein, whey protein and casein number. **Milchwissenschaft**, v. 52, n. 1, p. 3-8, 1997.

LITWINCZUK, Z.; KRÓL, J. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. **Animal Sciences**, v.20, supl.1, p.33-40, 2002.

MARZIALI, A. S.; NG-KWAIN-HANG. Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. **Journal of Dairy Science**, v.69, p. 2533-2542, 1986.

MOLINA, L. H.; KRAMM, J.; BRITO, C.; CARRILLO, B.; PINTO, M.; FERRANO, A. Protein composition of milk from Holstein-Friesian dairy cows and its relationship with the genetic variants A and B of kappa-casein and beta-lactoglobulin (Part I). **International Journal of Dairy Technology**, v. 59, n.3, p. 183-187, 2006.

OJALA, M.; FAMULA, T. R., MEDRANO, J. F. Effects of milk protein genotypes on the variation for milk production traits of Holstein and Jersey cows in California. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 8, p. 1776-1785, 1997.

ORNER, Y., ELMACI, C. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. **International**

**Journal of Dairy Technology**, v. 59, n. 3, p. 180-182, 2006.

PATERSON, G. R.; MACGIBBON, A. K. H, HILL, J. P. Influence of kappa-casein and beta-lactoglobulin phenotype on the heat stability of milk. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 3-6, p. 375-376, 1999.

RODRIGUES, S. G., **Estudo das frequências dos alelos A e B dos genes da kappa-caseína e beta-lactoglobulina e suas associações com produção de leite em bovinos F<sub>1</sub> Girolando**. 30 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.