

POLIMORFISMO GENÉTICO DA α s1 – CASEÍNA E DA κ - CASEÍNA EM CABRAS

Eleonora de Figueiredo MORAES^{1*}, Ana Elysa Travassos OLIVEIRA², Aurea WISCHRAL³, Manoel Adrião GOMES FILHO⁴

RESUMO – Na seleção de caprinos leiteiros, em décadas passadas, o critério utilizado era quantidade de leite. Atualmente, a seleção feita pelo polimorfismo genético tem auxiliado na agroindústria onde esta seleção visa mais a qualidade do leite. Esta revisão foi realizada com o objetivo de discutir aspectos relacionados às características genéticas da caseína em cabras e suas implicações na utilização do leite. O estudo do polimorfismo genético das caseínas é importante, pois algumas variantes são mais benéficas do ponto de vista da nutrição humana, enquanto outras estão associadas com a qualidade do leite, sua composição e características tecnológicas. Em vista disto, vários estudos confirmaram que o melhor queijo procede de leite associado com os alelos fortes A, B e C da α S1-caseína. Por outro lado, o leite de cabra contendo α S1-caseína, procedente de alelos intermediários, é mais utilizado para as pessoas alérgicas. A β -caseína, apresenta cinco alelos diferentes em bovinos e é monomórfica em ovinos. Em caprinos já foram observados diferentes alelos, sendo o alelo B mais importante para a produção de queijo. Além dos aspectos produtivo e nutricional, o polimorfismo para o gene CSN1S1 da α S1-caseína caprina também pode ser utilizado para caracterização da diversidade genética e da proximidade racial de caprinos.

Termos para indexação: Alelos, alergia, caprinos, DNA, leite, PCR-RFLP.

GENETIC POLYMORPHISM OF THE α S1 – CASEIN AND κ - CASEIN IN GOATS

ABSTRACT – In the past decades, “milk quantity” was criterion used for the selection of goat milk. Nowadays, the selection made by the genetic polymorphism has helped the agriculture industry where this selection aims to improve milk quality. The objective of this review is to discuss aspects related to the genetic characteristics of the casein in female goats and its implications on milk usage. The study of genetic polymorphism of the casein is very important, for some variants are more beneficial in terms of human nutrition, while other variants are associated to the quality of milk, its composition and technological characteristics. Because of this, several studies confirmed that best cheese comes from milk associated with strong A, B and C alleles from the α S1-casein. On the other hand, milk from the goat that contains the α S1-casein that comes from intermediate alleles is more used for allergic people. The α -casein presents five different alleles in cattle, but in ovine it is monomorphic. In goats, different alleles have been observed being the B allele more important for cheese production. Besides its nutritional and productive aspect, polymorphism for

¹ Médica Veterinária - MSc - UFRPE. *Autor para correspondência: eleonorafg@yahoo.com.br

² Médica Veterinária - Mestranda em Ciência Veterinária - UFRPE . R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - CEP 52071-030, Recife / PE

³ Professor(a) Associado(a) do Departamento de Medicina Veterinária, UFRPE

⁴ Professor(a) Associado(a) do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE - Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n - CEP 52071-030, Recife / PE

the CSN1S1 gene from the caprine α S1-casein can also be used for the characterization of genetic diversity and breed proximity in goats.

Index Terms: Alleles, allergy, caprine, DNA, milk, PCR-RFLP.

INTRODUÇÃO

O fator principal que afeta as propriedades tecnológicas do leite e seu rendimento de produção de queijo é a concentração de proteínas coagulantes ou caseínas que, no caso de leite de cabra, diferentemente do que acontece no leite de vaca e ovelha é muito variável. Na seleção de caprinos leiteiros, em décadas passadas, o critério utilizado era quantidade de leite. Atualmente, a seleção feita pelo polimorfismo genético tem auxiliado na agroindústria, onde esta seleção visa mais a qualidade do leite (BEVILACQUA et al., 2002). Com base nos estudos existentes, foi realizada esta revisão com o objetivo de discutir aspectos relacionados às características genéticas da α S1-caseína e da α -caseína em cabras e suas implicações na utilização do leite.

OS CAPRINOS NO BRASIL

Há evidências de que a cabra foi o primeiro animal ruminante a ser domesticado pelo homem e o uso do seu leite remonta aproximadamente a 8.000 anos a.C. Nesta época os caprinos passaram de animais selvagens a domesticados pelos povos nômades da Ásia e Oriente Médio (JARDIM, 1985). A formação das raças e tipos nativos no Brasil desenvolveu-se a partir de raças trazidas pelos colonizadores portugueses, franceses e holandeses por volta de 1535 (PORTER, 1996).

Entre 1930 e 1940, os caprinos da raça nativa Moxotó eram encontrados de Pernambuco à Ilha de Marajó, no Pará, sendo mais frequentes no Vale do Moxotó, origem de seu nome. Neste período, encontrava-se ainda, em pequena escala, os mestiços de Toggenburg, Nubiana, Murciana, Malteza e Angorá (DOMINGUES, 1942).

A raça Moxotó encontra-se distribuída em alguns núcleos abertos (sem controle

de monta), formando rebanhos sem raça definida (SRD) e alguns núcleos fechados (controlados para manter a padronização da raça), sendo estes últimos de interesse para a conservação. Estudos realizados pela Embrapa Caprino e Ovino mostraram que a raça Moxotó tem o mesmo tronco genético das demais raças nativas, apesar de apresentar pequena segregação de pelagem (ROCHA, 2007).

Existem grupos de pesquisadores empenhados em estudar as raças nativas, buscando subsídios para a conservação deste material genético tão importante para a subsistência da população nordestina. No entanto, ainda são poucos estudos relacionados com as variantes genéticas das caseínas em caprinos no Brasil, destacando-se apenas os trabalhos de Marini et al. (2007) com cabras Saanen da região sudeste e Silva et al. (2007) com animais das raças Moxotó e Alpina Americana.

De acordo com o Censo Agropecuário, a produção de leite de cabra no Brasil é de 21.275.000 litros (IBGE, 2006), encontrando-se na 19ª posição na produção mundial, segundo as estatísticas da FAO (2007). O interesse pelo leite caprino deve-se, basicamente, ao consumo de leite *in natura* e de produtos feitos com leite de cabra, especialmente queijos e iogurtes, além de ser uma alternativa para pessoas com alergia ao leite de vaca e outras desordens gastrointestinais (HAENLEIN, 2004).

AS CASEÍNAS

A principal fração protéica do leite de ruminantes corresponde às caseínas, componentes valiosos em função de seu valor nutricional e de suas propriedades tecnológicas. Mais de 95% do leite dos ruminantes é composto pelas quatro caseínas (α S1, α S2, α e κ) e pelas duas principais proteínas do soro: α lactoglobulina e α

lactoalbumina (FERRETI et al., 1990). Tanto no leite da vaca como no da cabra, o teor protéico de caseína tem valor aproximado de 80%, ou seja, superior ao do leite humano, onde a caseína representa 40% das lactoproteínas (MARTIN, 1997). Os 20% restantes das lactoproteínas são constituídos de α -lactoalbumina e α -lactoglobulina (NOUAILLE et al., 2005).

As caseínas são proteínas conjugadas que, além das cadeias polipeptídicas, têm na sua constituição substâncias de natureza não peptídica, denominando-se de fosfoproteínas (RICARDO e TEIXEIRA, 1983). Estas proteínas, além da função biológica de fornecer fosfato, cálcio e aminoácidos aos mamíferos jovens, representam fonte de peptídeos biologicamente ativos com atividade, opióide, antihipertensiva, imunomoduladoras, antitrombótica e antibacteriana, entre outras (FIAT et al., 1993).

Os leites de cabra e de vaca contêm proporções similares de proteínas como κ -caseína (10 - 24%) e α S2-caseína (5- 19%). Contudo, o leite de cabra contém níveis mais elevados de β -caseína (42 - 64% *versus* 34 - 41%) e mais baixos de α S1-caseína (0 - 26% *versus* 36 - 40%) (WALSTRA; JENNES, 1984; LAW; TZIBOULA, 1992).

POTENCIAL ALERGÊNICO DAS CASEÍNAS

Desde o tempo de Hipócrates (Grécia Antiga: 460-377 a.C.) os médicos recomendavam o uso do leite de cabra para crianças enfermas, devido a sua fácil digestibilidade. Além disso, aquelas alérgicas ao leite de vaca podiam, usualmente, tolerar o leite de cabra (FRENCH, 1970). As intolerâncias apresentadas por algumas pessoas ao leite bovino parecem estar relacionadas às altas concentrações de α S1-caseína. As pessoas sensíveis a esta proteína, têm como sintomas: urticária, rinoconjuntivite, asma, vômito, diarreia e, na maioria dos casos graves, choque anafilático e morte (LARA-VILLOSLADA et

al., 2005).

Algumas pesquisas já demonstraram a relação das características das caseínas do leite com as alergias aos produtos lácteos. Segundo Bevilacqua et al. (2001), a vantagem do consumo do leite caprino por pessoas alérgicas pode ser atribuída ao baixo conteúdo de α S1 e α S2 caseína determinado por haplótipos particulares nos animais. Também Haenlein (2004) atribuiu o menor percentual de α S1-caseína no leite das cabras como fator determinante da hipoalergenicidade. Já Munoz Martin (2004) considerou as caseínas do leite da vaca como fatores alergênicos.

Nouaille et al. (2005) consideraram a α -lactoglobulina como dominante alergênico e que não é somente a α -caseína do leite de vaca que induz alta resposta de IgE, isto também ocorre com a α -caseína do leite humano. Segundo Pina et al. (2005), a α -lactoglobulina está ausente no leite humano, todavia está presente no leite de cabra numa concentração inferior ao leite de vaca.

POLIMORFISMOS DAS CASEÍNAS E PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO LEITE

Nessas duas últimas décadas, o cDNA e sequências genômicas de genes das caseínas têm sido determinados. Evolutivamente, são compostos por três ou quatro genes (dependendo da espécie) relacionados que correspondem às caseínas sensíveis ao cálcio: CSN1S1 (α S1-caseína), CSN2 (β -caseína) e CSN2S2 (α S2-caseína) e ao gene CSN3 (κ -caseína) que está funcionalmente e fisicamente ligado aos outros genes (RIJNKELS, 2002).

Nos ruminantes, os quatro genes estão organizados no segmento de DNA genômico, de 250kb, na seguinte ordem: – caseína, α S2-caseína, β -caseína e α S1-caseína (FERRETI et al., 1990). Os tipos de mutação relatados, que ocasionam alto grau de polimorfismo das caseínas, são substituição ou deleção de um único nucleotídeo, ou grande deleção ou inserção

de sequências de nucleotídeos (MARTIN, 1993).

α 1- caseína

O gene CSN1S1 caprino apresenta o maior grau de variabilidade de todos os genes de caseína de ruminantes já estudados, representando um excelente modelo para demonstração de que grande parte da variabilidade observada na α 1- caseína, presente no leite de cabra, deve-se à presença de alelos autossomais no loco estrutural da α 1- caseína (CSN1S1). Assim, foram identificados alelos associados com diferentes níveis de expressão de α 1- caseína no leite, sendo que os alelos fortes determinam um maior conteúdo de proteína e gordura por lactação, em relação às cabras que possuem os alelos fracos. Os alelos foram classificados como forte, intermediário, fraco e nulo relacionados, respectivamente, com os níveis da proteína no leite: alto, médio, baixo e nulo (MANFREDI et al., 1993).

A α 1-caseína apresenta pelo menos 18 alelos conhecidos que estão relacionados aos diferentes níveis da proteína no leite. Os alelos fortes são A, A', B1-4, B', C, H, L e M, que representam 3,5 g da α 1-caseína/litro de leite por alelo. Já o nível médio (1,1g/l de leite) é representado pelos alelos E e I e o nível baixo (0,45g/l de leite) é representado pelos alelos F e G. O nível nulo, associado à ausência de caseína no leite, é caracterizado pelos alelos O1, O2 e N (GROSCLAUDE et al., 1994; BEVILACQUA et al., 2002; RAMUNNO et al., 2002; KÜPPER et al., 2010).

As diferenças estruturais entre os diferentes alelos baseiam-se em mutações ocorridas ao longo da evolução. O alelo B1 parece ter originado os alelos do tipo A (A, A', G, I, H, O1 e O2) e do tipo B (B2, B3, B4, B', C, E, F, L e D). O alelo M é considerado como resultante da recombinação interalélica entre os alelos do tipo A e B (BEVILACQUA et al., 2002). As diferenças entre a maioria dos alelos devem-se a uma mudança de nucleotídeo, mas também são

observadas inserções de um único ou de uma sequência de vários nucleotídeos. O alelo nulo O1 é caracterizado por uma grande deleção (maior do que 8 kb) na região 3' do gene CSN1S1 (COSENZA et al., 2003).

Devido ao loco da α 1- caseína caprina ser caracterizado por polimorfismo qualitativo e quantitativo (BEVILACQUA et al., 2002), a genotipagem deste gene foi incluída na avaliação de machos utilizados para inseminação artificial na França onde os estudos demonstraram que o alelo A é benéfico para melhorar a qualidade do leite com maior razão caseína/proteína e melhores características físico-químicas para a produção de queijo (BARBIERI et al., 1995; MANFREDI et al., 1995).

α 2- caseína

O gene CSN1S2 exibe um grau de variabilidade maior no caprino doméstico do que no bovino e ovino. Oito alelos correspondem a três níveis diferentes de expressão da proteína α 2-caseína no leite (g/l) sendo: nível normal (2,5g/l) – alelos A, B (BOULANGER et al., 1984), C (BOUNIOL et al., 1994), E (VELTRI et al., 2000) e F (RAMUNNO et al., 2001a), nível intermediário (1,25g/l) – alelo D (RAMUNNO et al., 2001a) e nível nulo – O (RAMUNNO et al., 2001b). Para o alelo G (ERHARDT et al., 2002) não há informações sobre o nível de expressão proteica desta variante.

β – caseína

Variações no loco do gene CSN2 em caprinos são indicadas pela existência de cinco alelos com expressão diferenciada de α -caseína no leite. Os alelos A (ROBERTS et al., 1992), B (MAHÉ e GROSCLAUDE, 1993) e C (NEVEU et al., 2002) são associados com uma produção normal de α -caseína enquanto os alelos O (PERSUY et al., 1999) e O' (RAMUNNO et al., 1995) são associados com uma concentração não detectável ou traços da proteína no leite. Além disso, dois alelos nulos deste gene foram identificados, ambos ca-

racterizados por mutações responsáveis por códons de parada prematuros no éxon 7, sendo um encontrado em rebanhos do Sul da Itália (RAMUNNO et al., 1995) e o outro em cabras Creole e Pyrenean (PERSUY et al., 1999).

κ -caseína

Muitos estudos, utilizando técnicas diversas, relataram polimorfismos no gene da -caseína caprina, porém apenas recentemente as variantes genéticas foram caracterizadas (ANGIOLILLO et al., 2002). Essa proteína foi analisada pela primeira vez por Zittle e Custer (1966) e, devido a modificações pós-transcricionais, mostra-se heterogênea em sua análise por eletroforese, com cinco formas diferentes. É a proteína do leite que determina o tamanho e funções específicas das micelas e sua clivagem pela quimosina é responsável pela coagulação do leite (YAHYAOUUI et al., 2003). O gene da κ -caseína caprina (CSN3) compreende 5 exons, estando a região codificante para a proteína contida nos exons 3 (9 aa) e 4 (171 aa). Por sua vez, o exon 4, contém uma região de 459 pares de bases (pb), que é responsável pela maior parte da região codificante para a proteína -caseína (YAHYAOUUI et al., 2003). Este locus não era considerado polimórfico até que Di Luccia et al. (1990) relataram variações (alelos A e B) em um rebanho italiano. Outros estudos demonstraram que o gene da -caseína caprina é considerado polimórfico (CAROLI et al., 2001; YAHYAOUUI et al., 2001; ANGIOLILLO et al., 2002).

Estudos têm demonstrado que o genótipo BB da -caseína bovina determina uma melhor propriedade do leite para a produção de queijo (NG-KWAI-HANG, 1998; VIANA, et al., 2001). Em particular, o genótipo BB está associado com o coalho mais firme, produzido em menor tempo e com maior rendimento da produção de queijo. Devido à importância da -caseína nas propriedades tecnológicas do leite, alguns pesquisadores analisaram esta proteína em caprinos descrevendo a existência de

polimorfismos (DI LUCCIA et al., 1990; LAW e TZIBOULA, 1993; RECIO et al., 1997).

IMPORTÂNCIA DOS POLIMORFISMOS PROTÉICOS NO LEITE

Os polimorfismos protéicos são formas variantes de proteínas geneticamente determinadas, geralmente identificadas por métodos de fracionamento eletroforéticos associados às técnicas histoquímicas, que permitem a revelação das atividades de enzimas específicas. Estes polimorfismos têm sido fonte de inúmeras investigações, tanto no homem como nos animais, principalmente de interesse zootécnico (ROCHA, 1997). Os polimorfismos protéicos ou polimorfismos bioquímicos são considerados ferramentas úteis para os melhoristas, sendo muito investigados em estudos de associação com características de interesse econômico, por marcarem uma estrutura ou processo biológico, sendo largamente empregados na identificação de paternidade, distância entre raças e endocruzamentos (IGARASHI, 1997).

O estudo do polimorfismo genético das caseínas é muito importante em virtude de muitas variantes serem mais benéficas do ponto de vista da nutrição humana, enquanto outras variantes estão associadas com a qualidade do leite, sua composição e características tecnológicas (BOLAND et al., 2001).

A possibilidade de se detectar, ao nascer, o genótipo dos animais, quanto ao gene da α S1 caseína, pode fazer com que os produtores possam optar pela criação de animais com baixo teor desta proteína, para o desenvolvimento de um produto com propriedades nutracêuticas ou, alto teor, quando o interesse for a produção de queijo ou outros derivados. Assim, por razões econômicas e com objetivo de melhorar a eficiência de programas de seleção, muitos estudos foram conduzidos para avaliação da relação do polimorfismo gênico com a qualidade do leite (MARINI et al., 2007).

Segundo Martin et al. (2002), os polimorfismos afetam as propriedades do

leite, incluindo a produção de queijo e características organolépticas e podem ser aplicados em programas de seleção visando aumentar a produção de proteína no leite. A diversidade encontrada nos genes bovinos das proteínas lácteas tem sido utilizada para realizar análises geográficas e da diversidade genética em bovinos europeus (BEJA-PEREIRA et al., 2003).

Em caprinos, os polimorfismos genéticos já relatados para os genes da α 1S1, α 2S2 e β -caseínas foram associados com diferenças no conteúdo de proteína no leite, na razão caseína/total de proteína e no rendimento de queijo (GROSCLAUDE et al., 1994).

Altos níveis de α 1S1 - caseína têm sido associados a elevado nível de proteína total e micelas menores, contendo menos cálcio. Sendo assim, apresentam melhor potencial na fabricação de queijos e coalho firme, com menor granulação (CLARK e SHERBON, 2000). Baixos níveis de proteína estão associados a baixos conteúdos de gordura e lipólise mais intensa, com queijo de sabor mais forte (BARBIERI et al., 1995). Por outro lado, queijos feitos com leite procedente de animais portadores de genótipos com alelos fortes e intermediários têm aroma menos típico do que os de genótipo com alelos fracos, devido aos diferentes ácidos graxos. Contudo, tem sido discutido se isto é realmente um efeito do gene ou a consequência da lipólise dos ácidos graxos durante a maturação do queijo (DELACROIX-BUCHET et al., 1996).

Os efeitos deste polimorfismo foram estudados também em rebanho misto nos EUA. Além do sabor suave que os alelos fortes produzem no queijo de cabra, Clark e Sherbon (2000) comprovaram propriedades de rápida coagulação e formação de micelas mais consistentes; estes estudos foram realizados anteriormente por Ambrosoli et al. (1988) e Barbieri et al. (1995) que mostraram esta característica.

Estudos franceses têm constatado que não existe diferença entre os genótipos com respeito à quantidade de leite produzido, porém tem-se comprovado os efeitos

do polimorfismo genético da α 1S1-caseína sobre as características físico-químicas do leite de cabra, sendo que os alelos AA induzem maior síntese de α 1S1 - caseína, proporcionando a fabricação de queijos superiores aos obtidos com outros tipos de leite. O leite procedente de genótipos com alelos fortes apresenta propriedades de fácil coagulação, sólida coalhada e queijo mais firme, melhores do que o leite obtido nos genótipos com alelos intermediários e estes apresentam, por sua vez, melhores propriedades de que os genótipos com alelos fracos (MAHÉ et al., 1994; BARBIERI et al., 1995; MARTIN et al., 1999). Por outro lado, como foi relatado anteriormente, os genótipos fracos não apresentam efeitos alergênicos no leite e/ou derivados.

Segundo Kusza et al. (2007), trabalhando com cabras leiteiras na Hungria, a relação entre as variantes alélicas dos genes CSN1S1, CSN1S2 e CSN2 e o conteúdo de caseína, que influenciam nas propriedades físico-químicas do leite, podem ser utilizadas em esquemas de seleção, levando ao aumento da qualidade de processamento do leite e seus produtos. De acordo com Marletta et al. (2005), trabalhando com caprinos Girgentana e Argentata dell'Etna, o estudo dos locos de caseínas sensíveis ao cálcio (α 1S1-caseína, α 2S2-caseína e β -caseína) tornou possível entender o efeito dos alelos quantitativos na qualidade e no conteúdo de caseína produzido por esses animais. Kumar et al. (2007) concluíram que a variabilidade observada no loco CSN1S1, de rebanhos caprinos indianos, pode ser utilizada tanto para conservação como para melhoramento genético, com a finalidade de aumentar a qualidade e quantidade da produção leiteira.

Devido à estreita associação entre os genes das caseínas, a estimativa da relação entre as variantes genéticas e a produção de leite pode ser melhorada quando são considerados os haplótipos das caseínas e não somente um gene isolado. O efeito de um alelo, de um loco específico, pode ser confundido com o efeito de um alelo relacionado de outro loco (SACHI et al.,

2005). Portanto, a ligação entre os genes das caseínas faz com que os estudos voltados às estratégias de cruzamento e seleção sejam feitos observando-se os haplótipos (KÜPPER et al., 2010).

MARCADORES MOLECULARES APLICADOS AO ESTUDO GENÉTICO ANIMAL

Apesar da grande importância da caprinocultura brasileira, poucos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de caracterizar geneticamente as caseínas, especialmente nas populações das regiões semiáridas, onde os animais existem como fonte de renda e alimentar. Apesar da importância que se tem dado aos estudos de recursos genéticos em animais domésticos, as populações caprinas nativas da região Nordeste e Sem Raça Definida (SRD) são pouco caracterizadas (HENSON, 1992).

O desenvolvimento de novas técnicas na área da biologia molecular tem facilitado o estudo da composição genética dos animais, tornando possível a realização da seleção de animais baseada em características genotípicas. Estas técnicas vêm sendo utilizadas, através do uso de marcadores moleculares para estudar genes que afetam a composição corporal, ganho de peso e produção de leite. A vantagem do uso dos marcadores moleculares é que estes permitem a determinação do potencial de um animal com maior precisão, uma vez que são pouco afetados pelo meio ambiente e podem ser utilizados precocemente, até mesmo na fase embrionária. Trabalhos têm demonstrado o melhoramento das características genotípicas/fenotípicas de interesse zootécnico através da análise comparativa entre diferentes modelos biológicos (KEMENES e COUTINHO, 2000).

Para a identificação de certos caracteres, pode-se recorrer à técnica de RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) que se baseia na presença de sítios de restrição para uma ou mais endonucleases de

restrição na região amplificada do DNA-molde que pode ser determinada por intermédio do processamento do produto da PCR (*polymerase chain reaction*) (GARCIA, 1995).

Marcadores moleculares são características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdadas geneticamente. A caracterização genética com o uso desta técnica tem demonstrado ser uma ferramenta eficaz para quantificação da diversidade genética de animais domésticos. Estes marcadores são locos que apresentam características detectáveis que diferenciam os indivíduos de determinada população, demonstrando variações individuais e entre grupos de animais (MENEZES et al., 2006).

Os principais tipos de marcadores moleculares podem ser classificados em dois grupos, conforme a metodologia utilizada para identificá-los: hibridização e amplificação de DNA. Entre os identificados por hibridização estão os marcadores RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) e minissatélites ou locos VNRT (Variable Number of Tandem Repeats). Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores do tipo: RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions), STS (Sequence Tagged Sites), Microsatélite e AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (POLLASTRI, 2002).

Em estudos genéticos, diferentes técnicas moleculares têm sido empregadas com sucesso, as quais revelam classes distintas de marcadores moleculares. Estes têm sido fonte de inúmeras investigações, principalmente nos estudos de caracterização genética, parentesco, relações filogenéticas e associações com genes de interesse zootécnico. O uso eficiente destes marcadores deve considerar: a base genética dos polimorfismos revelados; os aspectos técnicos dos métodos que os definem e as vantagens e limitações de cada classe (ROCHA, 2005). As análises de marcadores genéticos, tais como gru-

pos sanguíneos e polimorfismos bioquímicos, permitem a caracterização da variabilidade intra e inter populacional, sendo ferramentas úteis nos estudos da caracterização e de relações genéticas entre as raças (LIPPI e MORTARI, 2003). Os marcadores moleculares têm sido muito utilizados também na caracterização de populações, de acordo com Kuhnlein et al. (1989), Mannen et al. (1993) e Yang et al. (1999).

Segundo Silva et al. (2007), existe polimorfismo para o gene CSN1S1 da α S1-caseína caprina entre as raças Alpina Americana e Moxotó e animais SRD, no Estado de Pernambuco, o que demonstra a proximidade genética entre a Moxotó e SRD, decorrente dos cruzamentos realizados aleatoriamente, uma vez que a raça Moxotó predomina na região do Estado em que o estudo foi realizado.

Os polimorfismos de tamanho dos fragmentos de restrição, ou RFLP, resultam da possibilidade de cortar o DNA utilizando enzimas de restrição que são capazes de reconhecer pequenas sequências específicas (normalmente com 4 a 8 pares de bases de comprimento). Entende-se que um gene (ou locos) é polimórfico quando se caracteriza pela ocorrência de pelo menos duas formas alternativas com frequências superiores a 1%. Essas formas alternativas têm o nome de alelos, e da sua combinação resultam os genótipos dos indivíduos (BEJA-PEREIRA e ALMEIDA, 2005).

A correlação entre marcadores moleculares e características de produção tem sido investigada em várias espécies de interesse econômico. O objetivo nesses estudos é a obtenção de marcadores que possam ser utilizados nos programas de seleção para a identificação mais precisa de genótipos superiores. Muitos autores sugerem que algumas das variações das proteínas do leite estão associadas a características diferenciadas deste produto, no que diz respeito ao seu processamento para a fabricação de queijos. A κ -caseína, por exemplo, é controlada por um loco com dois alelos principais, A e B e é possível uti-

lizar a RFLP para a caracterização dos genótipos dessa proteína (DAMIANI et al., 1990).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a relevância das caseínas para a produção e tecnologia do leite caprino, há a necessidade de maior divulgação deste tema entre os criadores e, principalmente, entre aqueles interessados em melhorar geneticamente os rebanhos de animais nativos, bem como os exóticos de aptidão leiteira dessa espécie. A utilização do conhecimento dos alelos das caseínas presentes em animais de diferentes raças, nativas ou exóticas, pode contribuir para a produção de animais direcionada para o tipo de exploração leiteira desejada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBROSOLI, R.; DI STASIO, L.; MAZZOCCO, P. Content of α s1-casein and coagulation properties in goat milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n. 71, p.24-28, 1988.
- ANGIOLILLO, A.; YAHYAOU, M.H.; SÁNCHEZ, A. et al. Short communication: Characterization of a new genetic variant in the caprine κ -casein gene. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.85, p. 2679-2680, 2002.
- BARBIERI, M.E.; MANFREDI, E.; ELSE, J.M. et al. Influence du locus de la caséine alpha S1 sur les performances laitières et les paramètres génétiques des chèvres de race alpine. **Genetics Selection Evolution**, Paris, v. 27, n.1, p. 437-450, 1995.
- BEJA-PEREIRA, A.; LUIKART, G.; ENGLAND, P.R. et al. Gene culture co-evolution between cattle and human lactase genes. **Nature Genetics**, New York, v. 35, p. 311-313, 2003.
- BEJA-PEREIRA, A.; ALMEIDA, N. F. Métodos moleculares na análise da diversidade biológica. **Genética, Biotecnologia e Agricultura**, Porto: Sociedade Portuguesa de Inovação, 2005.
- BEVILACQUA, C.; MARTIN, P.; CANDALH, C. et al. Goats milk defective alpha (S1) casein genotype decreases intestinal and systemic sensitization to beta lactoglobulin in guinea pigs.

- Journal of Dairy Research**, London, v. 68, p. 217-227, 2001.
- BEVILACQUA, C.; FERRANTI, P.; GARRO, G. et al. Interallelic recombination is probably responsible for the occurrence of a new s1 casein variant found in the goat species. **European Journal of Biochemistry**, Oxford, v. 269, n. 4, p.1293-1303, 2002.
- BOLAND, M.; MACGIBBON, A.; HILL, J. Designer milks for the new millennium. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 72, p. 99-109, 2001.
- BOULANGER, A.; GROSCLAUDE, F.; MAHE, M. F. Polymorphisme des caseínes α S1 et α -S2 de la chevre (*Capra hircus*). **Genetics Selection Evolution**, Paris, v.16, n.2, p.157-175, 1984.
- BOUNIOL, C.; BRIGNON, G.; MAHÉ, M.F. et al. Biochemical and genetic analysis of variant C of caprine alpha s2 casein (*Capra hircus*). **Animal Genetics**, Oxford, v.25, p. 173-177, 1994.
- CAROLI, A.; JANN, O.; BUDELLI, E. et al. Genetic polymorphism of goat k-casein in different breeds and characterization at DNA level. **Animal Genetics**, Oxford, v.32, p. 226-230, 2001.
- CLARK, S.; SHERBON, J. W. Genetic variants of α s1 -CN in goat milk: breed distribution and association with milk composition and coagulation properties of goat milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 38, p. 123-134, 2000.
- COSENZA, G.; ILLARIO, R.; RANDO, A. et al. Molecular characterization of the goat CSN1S101 allele. **Journal of Dairy Research**, London, v. 70, p. 237-240, 2003.
- DAMIANI, G., FERRETTI, L., GOGNONI, G. et al. Restriction fragment length polymorphism analysis of the α -casein locus in cattle. **Animal Genetics**, Oxford, v. 21, p. 107-114, 1990.
- DELACROIX-BUCHET, A.; DEGAS, C.; LAMBERET, G. et al. Influence des variants AA et FF de la caséíne α s1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles des fromages. **Lait**, Rennes Cedex, v. 76, p.217-241, 1996.
- DI LUCCIA, A.; MAURIELLO, R.; CHIANESE, L. et al. Kappa casein polymorphism in caprine milk. **Scienza e Técnica Lattiero-Casearia**, Parma, v. 41, p. 305-314, 1990.
- DOMINGUES, O. **À margem da zootecnia: estudos e ensaios**. Rio de Janeiro: Alba, 1942. 384p.
- ERHARDT, J.; JAGER, S.; BUDELLI, E. et al. Genetic polymorphism of goat as2-casein (CSN1S2) and evidence for a further allele. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 57, p. 137-140, 2002.
- FAO. FAOSTAT, Food and Agricultural commodities production. 2007. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> Acesso em: 10 de fevereiro de 2010..
- FERRETI, L.; LEONE, P.; SGARAMELLA, V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. **Nucleic Acid Research**, New York, v. 18, p. 6829-6833, 1990.
- FIAT, A. M.; MIGLIORE-SAMOUR, D.; JOLLÈS, P. et al. Biologically active peptides from milk proteins with emphasis on two examples concerning antithrombotic and immunomodulating activities. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n.1, p. 301-310, 1993.
- FRENCH, M. H. Observaciones sobre las cabras. Roma: Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion, 1970. 234 p. (FAO Estudios agropecuários, n. 80).
- GARCIA, J. F. **Micromanipulação, criopreservação e sexagem pela técnica de PCR (polymerase chain reaction) de embriões bovinos**. 1995. 172 p. Tese (Doutorado em Genética) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.
- GROSCLAUDE, F.; MARTIN, P.; RICORDEAU, G. et al. Du gène au fromage: le polymorphisme de la caséíne α -s1 caprine, ses effets, son évolution. **Revista de Produção Animal**, v. 7, n. 1, p. 3-19, 1994.
- HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.51, p.155-163, 2004.
- HENSON, E.L. **In-situ conservation of livestock and poultry**. Rome: FAO, 1992. (FAO Animal Production and Health, paper 99).
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Censo agropecuário**, Rio de Janeiro, p.1-146, 2006.

- IGARASHI, M. L. S. P. **Variabilidade genética em caprinos de rebanhos do Nordeste Brasileiro**. 1997. 83f. Tese (Doutorado em Ciências Genéticas) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- JARDIM, W. R. **Criação de caprinos** 11^a. ed. São Paulo: Nobel, 1985. 239 p.
- KEMENES, P. O.; COUTINHO, L. L. Frequências dos alelos “A” e “B” dos genes de kappa casein e α lactoalbumina fre nas raças holandesa, nelore, gir e caracu. **Arquivos de Zootecnia**, v.1, p.190-192, 2000.
- KUHNLEIN, U.; DAWE, Y.; ZADWORN, D. et al. DNA fingerprinting: a tool for determining genetic distances between strains of poultry. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.77, p.669 – 672, 1989.
- KUMAR, A.; ROUT, P.K.; MANDAL, A. et al. Identification of the CSN1S1 allele in Indian goats by the PCR-RFLP method. **Animal**, New York, v. 1, n. 8, p. 1099-1104, 2007.
- KÜPPER, J.; CHESSA, S.; RIGNANESE, D. et al. Divergence at the casein haplotypes in dairy and meat goat breeds. **Journal of Dairy Research**, London, v. 77, p. 56-62, 2010.
- KUSZA, S.; VERESS, G.; KUKOVICS, S. et al. Genetic polymorphism of α S1 and α S2 caseins in Hungarian Milking Goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 68, p. 329-332, 2007.
- LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; XAUS, J. The Balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88 p.1654-1660, 2005.
- LAW, A. J. R.; TZIBOULA, A. Fractionation of caprine k-casein and examination of polymorphism by FPLC. **Milchwissenschaft**, Munchen, v. 48, p. 68-71, 1993.
- LIPPI, A. S.; MORTARI, N. **Studies of blood groups and protein polymorphisms in the Brazilian horse breeds Mangalarga Marchador and Mangalarga (Equus caballus)**. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, p. 431-434, 2003.
- MAHÉ, M.F.; MANFREDI, E.; RICORDEAU, G. et al. Effets du polymorphisme de la caséine α s1 caprine sur les performances laitières: analyse intradescendance de boucs de race Alpine. **Genetics Selection Evolution**, Paris, v. 26, p. 151-157, 1994.
- MAHÉ, M.F.; GROSCLAUDE, F. Polymorphism of α -casein in the Creole goat of Guadeloupe: evidence for a null allele. **Genetics, Selection, Evolution**, Paris, v. 25, p. 403-408, 1993.
- MANFREDI, E.; BARBIERI, M.E.; BOUILLON, J. et al. Effects des variants de la caséine S1 sur les performances laitières de chèvres. **Lait**, Rennes Cedex, v.73, p.567-572, 1993.
- MANFREDI, E.; RICORDEAU, G.; BARBIERI, M.E. et al. Génotype caséine s1 et sélection des boucs sur descendance dans les races Alpine et Saanen. **Genetics Selection Evolution**, Paris, v. 27, p. 451-458, 1995.
- MANNEN, H.; TSUJI, S.; MUKAI, F. et al. Genetic similarity using DNA fingerprinting in cattle to determine relationship coefficient. **Journal of Heredity**, Washington, v.84, p.166-169, 1993.
- MARINI, S.; SOARES, M.A.M.; RODRIGUES, M.T. et al. Estudo do alelo G da alpha S1 caseína em uma população de cabras leiteiras. **Arquivo de Ciência Veterinária e Zoologia**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 105-110, 2007.
- MARLETTA, D.; BORDONARO, S.; GUASTELLA, A.M. et al. Genetic polymorphism of the calcium sensitive caseins in Sicilian Girgentana and Angentata dell'Etna goat breeds. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 57, p. 133-139, 2005.
- MARTIN, P. Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. **Lait**, Rennes Cedex, v. 73, n. 5-6, p. 511-532, 1993.
- MARTIN, P. La composition protéique du lait de chèvre: ses particularités. Actes du colloque: le lait de chèvre, un atout pour la santé. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1997. p. 27-50. (INRA Editions, n. 81).
- MARTIN, P.; OLLIVIER-BOUSQUET, M.; GROSCLAUDE, F. Genetic polymorphism of caseins: a tool to investigate casein micelle organization. **International Dairy Journal**, Barking, v. 9, p. 163-171, 1999.
- MARTIN, P.; SZYMANOWSKA, M.; ZWIERZCHOWSKI, L. et al. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant's milks. **Reproduction Nutrition**

- Development**, Paris, v. 42, p. 433-459, 2002.
- MENEZES, M.P.C.; MARTINEZ MARTINEZ, A.; RIBEIRO, M.N. et al. Caracterização genética de raças caprinas nativas brasileiras utilizando-se 27 marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.35, n.4, p.1336-1341, 2006.
- MUNOZ MARTIN, T. Selective allergy to sheep's and goat's milk proteins. **Allergologia et Immunopathologia**, Madri, v. 32, n.1, p. 39-42, 2004.
- NEVEU, C.; MOLLÉ, D.; MORENO, J. et al. Heterogeneity of caprine beta-casein elucidated by RP-HPLC/MS: genetic variants and phosphorylation. **Journal of Protein Chemistry**, New York, v. 21, p. 557-567, 2002.
- NG-KWAI-HANG, K.F. Genetic polymorphism of milk proteins: relationships with production traits, milk composition and technological properties. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.78, (Suplemento 1), p.131-147, 1998.
- NOUAILLE, S.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L.G.; COMMISSAIRE, J. et al. Improvement of bovine B-lactoglobulin production and secretion by *Lactococcus lactis*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.38, p. 353-359, 2005.
- PERSUY, M.-A.; PRINTZ, C.; MEDRANO, J.F. et al. A single nucleotide deletion resulting in a premature stop codon is associated with marked reduction of transcripts from a goat casein null allele. **Animal Genetics**, Oxford, v. 30, p. 444-451, 1999.
- PINA, D. I.; CARNICE, R. T.; ZANDUETA, M. C. Empleo de leche de cabra em pacientes com alergia a las proteínas de la leche de vaca. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 59, n. 2, p.138-142, 2005.
- PORTER, V. Goats of the world. London: **Farming Press**. p. 151-156, 1996.
- POLLASTRI, J. R. R. Marcadores Moleculares. Disponível em: <<http://www.ufv.br/dbg/trab2002/GMOL/GMOL004.htm>> Acesso em: 20 de fevereiro de 2009.
- RAMUNNO, L.; MARIANI, P.; PAPPALARDO, M. et al. Um gene ad effetto maggiore sul contenuto di caseína β nel latte di capra. XI Cong. Naz. ASPA, Proceedings, GRADO, Italy, 1995, p. 185-186.
- RAMUNNO, L.; COSENZA, G.; PAPPALARDO, M. et al. Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus. **Animal Genetics**, Oxford, v. 32, p.264-268, 2001a.
- RAMUNNO, L.; LONGOBARDI, E.; PAPPALARDO, M. et al. An allele associated with a non detectable amount of as2-casein in goat milk. **Animal Genetics**, Oxford, v.32, p. 19-26, 2001b.
- RAMUNNO, L.; COSENZA, G.; GALLO, D. et al. Um nuovo allele a lócus CSN1S1 di capra:CSN1S1N. XV Congr. Naz. SIPAOC, Proceedings Cagliari, Italy, 2002, p.221.
- RECIO, I.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, M.A.; AMIGO, L. et al. Study of the polymorphism of caprine milk caseins by capillary electrophoresis. **Journal of Dairy Research**, London, v. 64, p. 515-523, 1997.
- RICARDO, C.; TEIXEIRA, A. **Moléculas biológicas, estruturas e propriedades**. 2.ed. Lisboa: Didactica Editora, 1983. p. 131-133.
- RIJNKELS, M. Multispecies Comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, New York, v. 7, n. 3, p. 327-345, 2002.
- ROBERTS, B.; DITULLIO, P.; VITALE, J. et al. Cloning of the goat casein encoding gene and expression in transgenic mice. **Gene**, Amsterdam, v. 121, p. 255-262, 1992.
- ROCHA, D. **Raça Moxotó: Importância e critérios para conservação**. 2007. Disponível em: <http://www.zootecniabrasil.com.br/sistema/modules/wfsection/article.php?articleid=13> Acesso em: 20 dez. 2008
- ROCHA, L. L. **Caracterização genética e morfoestrutural de caprinos da raça Moxotó nos estados da Paraíba, Pernambuco e Rio Grande do Norte**. 2005. 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- ROCHA, R. H. **Possíveis associações entre polimorfismos genéticos-bioquímicos de proteínas sanguíneas e produção de leite em búfalos (*Bubalis bubalis*)**. 1997. 172p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista,

Botucatu.

SACCHI, P.; CHESSA, S.; BUDELLI, E. et al. Casein haplotype structure in five Italian goat breeds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p.1561-1568, 2005

SILVA, A. A.; ADRIÃO, M.; JIMENEZ, G. C. et al. Estudo do polimorfismo genético da α S1 caseína em cabras, no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta Scientiarum, Animal Science**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 255-259, 2007.

VELTRI, C.; LAGONIGRO, R.; PIETROLLÀ, E. et al. Molecular characterization of the goat α s2 casein E allele and its detection in goat breeds of Italy. International Conference on Goats, Tours, France, 14-20 May. P.727, 2000.

VIANA, J.L.; FERNÁNDEZ, A.; IGLESIAS, A. et al. Análises de los genótipos más frecuentes de la k-caseína em la raza vacuna rubio galega mediante PCR/RFLPs. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.50, p. 91-96, 2001.

WALSTRA, P.; JENNES, R. **Dairy chemistry and physics**. New York: Wiley, 1984.

YAHYAOU, M. H.; AGUSTINA COLL, A.; SANCHEZ, A. et al. Genetic polymorphism of the caprine kappa casein gene. **Journal of Dairy Research**, London, v. 68, p. 209-216, 2001.

YAHYAOU, M. H.; ANGIOLILLO, A.; PILLA, F. et al. Characterization and genotyping of the caprine k-casein variants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86, p. 2715-2720, 2003.

YANG, L.; ZHAO, S.H.; LI, K. et al. Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers. **Animal Genetics**, Oxford, v.30, p.452-455, 1999.

ZITTLE, C. A.; CUSTER, J. H. Identification of the k-casein among the componentes of whole goat casein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 49, p.788-791, 1966.