

FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS PARA O GENE DA BETA CASEÍNA EM BOVINOS DE DIFERENTES GRUPOS GENÉTICOS

Ermosinda Rocha Colares¹

Ciro de Miranda Pinto²

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar um mapeamento de bovinos A2A2, com base em marcadores genômicos, frequências alélicas e genotípicas para o gene da beta-caseína, em propriedades leiteiras tradicionais nos municípios de Quixeramobim, Morada Nova, Limoeiro do Norte, Sobral e Boa Viagem, no estado do Ceará, Brasil. Para este fim, foram percorridas algumas propriedades leiteiras selecionadas, posteriormente foram escolhidas 5 propriedades nas quais foram selecionados 250 animais de ambos os sexos e categorias. Foram coletadas amostras da pelagem dos animais de 3 grupos genéticos para extração, amplificação parcial do gene da β -caseína e o sequenciamento do DNA. Nos mesmos animais foram coletadas amostras de sangue para hemograma e para análise bioquímica sérica. Nas vacas em lactação foram colhidas amostras de leite após a genotipagem, com o intuito de comparar aspectos sanitários, através de exames microbiológicos, assim como a composição química e o proteoma do leite de vacas A1, em comparação com o de vacas A2. Os resultados indicam que a frequência do alelo A2 foi superior à do alelo A1 em todas as fazendas analisadas, sugerindo um alto potencial para a produção de leite A2. Especificamente, as fazendas 1 e 2 apresentaram a maior frequência do genótipo A2A2, caracterizado pela predominância da beta-caseína, o que as torna ideais para a produção de leite A2.

Palavras-chave: agregação de valor; genotipagem; lácteos.

ABSTRACT

The aim of this study was to map A2A2 cattle, based on genomic markers and allele and genotype frequencies for the beta-casein gene, on traditional dairy farms in the municipalities of Quixeramobim, Morada Nova, Limoeiro do Norte, Sobral and Boa Viagem, in the state of Ceará, Brazil. To this end, a number of selected dairy farms were visited, after which five farms were chosen from which 250 animals of both sexes and categories were selected. Samples were taken from the coats of animals from 3 genetic groups for extraction, partial amplification of the β -casein gene and DNA sequencing. Blood samples were taken from the same animals for a haemogram and serum biochemistry analysis. Milk samples were taken from the lactating cows after genotyping in order to compare health aspects through microbiological tests, as well as the chemical composition and proteome

¹ Discente do curso de graduação em Agronomia pela Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira.

² Orientador. Doutor (2011) em Agronomia/Fitotecnia pela Universidade Federal do Ceará. Pós-Doutorado em Zootecnia na área de forragicultura e pastagens (2011-2012) pela Universidade Federal do Ceará.

Data de submissão e aprovação: 12/07/2024

of the milk from A1 cows compared to A2 cows. The results indicate that the frequency of the A2 allele was higher than that of the A1 allele on all the farms analysed, suggesting a high potential for producing A2 milk. Specifically, farms 1 and 2 had the highest frequency of the A2A2 genotype, characterised by a predominance of beta-casein, which makes them ideal for A2 milk production.

Keywords: adding value; genotyping; dairy products.

1. INTRODUÇÃO

Segundo Martins *et al.* (2021), o agronegócio do leite é crucial para o Produto Interno Bruto (PIB) agropecuário do Brasil, dado que o país ocupa a quinta posição global na produção de leite bovino. Em 2020, apesar da pandemia de COVID-19, o Brasil registrou um aumento de 2,85% na disponibilidade de leite, atingindo uma produção recorde de 25,53 bilhões de litros de leite inspecionado e aproximadamente 35 bilhões de litros no total. O estado do Ceará, apesar de ocupar o décimo lugar nacional, contribui com apenas 2,29% da produção total brasileira (MARTINS *et al.*, 2021). Esses dados evidenciam a necessidade de melhorias tanto quantitativas quanto qualitativas para impulsionar a produção e desenvolver novos produtos, fortalecendo assim a competitividade da cadeia produtiva do leite bovino. Estratégias nesse sentido são essenciais para promover um setor mais robusto e eficiente, capaz de atender às demandas internas e competir globalmente, impulsionando um crescimento sustentável e inovador no agronegócio do leite.

Nas últimas décadas, houve um aumento significativo no número de pessoas alérgicas à proteína do leite de vaca, conhecidas como APLVs, especialmente entre crianças (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Os sintomas variam desde alterações no sistema imunológico, como lesões cutâneas inflamatórias causadas por anticorpos, até problemas gastrointestinais e respiratórios. Essas reações são atribuídas à presença da caseína A1 no leite bovino (LIU *et al.*, 2017).

Nesse contexto, a produção de leite A2 emerge como uma alternativa promissora para agregar valor ao leite bovino, proporcionando não apenas retorno financeiro aos produtores, mas também fortalecendo a cadeia produtiva. O leite A2 é produzido por vacas homozigotas para a beta-caseína A2, compreendendo cerca de 80% da proteína total do leite de vaca. A beta-caseína possui duas variantes principais: A1 e A2 (METROPULOS, 2023), que se diferenciam por um único polimorfismo de nucleotídeo, resultando na substituição do aminoácido histidina por prolina na posição 67 da cadeia (JAISWAL *et al.*, 2014; SHARMA *et al.*, 2013). Este polimorfismo influencia os efeitos no organismo humano: a digestão da beta-caseína A1 no intestino delgado produz o peptídeo beta-casomorfina 7, potencialmente causando desconfortos estomacais semelhantes aos da intolerância à lactose (BARBOSA *et al.*, 2019).

Comparativamente, o leite de vacas A2A2 demonstra maior digestibilidade em indivíduos sensíveis, devido à semelhança estrutural da beta-caseína A2 com a encontrada no leite humano, bem como no leite de cabra e de asininos (BARBOSA *et al.*, 2019). Oliveira et al. (2021) observaram que caprinos produzem exclusivamente beta-caseína A2 em seu leite, recomendando-o para pessoas intolerantes ao leite de vaca. No entanto, a produção limitada e a baixa aceitação do leite de cabra pelos consumidores destacam a importância de promover melhorias no leite bovino para atender a essa demanda crescente e diversificada.

O leite A2 é um produto com alto valor agregado, demandando o uso de rebanhos com genótipos comprovados por meio de testes genômicos específicos, gerenciados separadamente dos demais animais, especialmente em termos de manejo reprodutivo e ordenha. Vale ressaltar que há uma alta frequência do alelo A2 na pecuária brasileira, o que representa uma vantagem competitiva para os produtores que exploram esse nicho de mercado emergente (BARBOSA *et al.*, 2019). Atualmente, existem três possíveis genótipos: A1A1, A1A2 e A2A2. Embora a raça Guernsey seja a única com 100% de indivíduos produzindo leite A2, uma raça incomum no Brasil, as raças zebuínas, especialmente o Gir, possuem uma predominância significativa com cerca de 98% dos indivíduos positivos para o alelo A2 (ZANCANARO; CRUZ, 2021).

No Brasil, a incidência do alelo A2 nos rebanhos é alta devido à base genética zebuína, composta por raças que apresentam uma frequência elevada do alelo A2, destacando-se o Gir, que foi pioneiro entre as raças indianas estudadas. Em 2015, o rebanho de animais destinados à produção de leite era de 53,5 milhões de cabeças, correspondendo a 25,5% do total nacional (MILKPOINT, 2017; SILVA, 2021).

No atual cenário, o melhoramento genético em gado zebuino e seus mestiços é uma técnica altamente viável. A Associação Brasileira de Criadores de Zebu (ABCZ) oferece aos seus associados o serviço de genotipagem para incluir essa certificação no registro genealógico de vacas de raças importantes para a pecuária leiteira, como Gir, Girolanda, Guzerá e Sindi.

No Brasil, já existem rebanhos certificados como A2A2, produzindo leite e derivados disponíveis no mercado. Esses estabelecimentos, no entanto, estão concentrados nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Diante desse novo cenário e nicho de mercado, identificar e selecionar nas fazendas produtoras de

leite animais das raças zebuínas e seus mestiços com genótipo A2 positivo, confirmado por análises proteômicas, representa uma importante ferramenta para agregar valor, gerar renda e criar empregos nas cadeias produtivas de leite e derivados A2A2.

A multiplicação desses animais e o melhoramento genético dos rebanhos podem ser rápidos e seguros. Utilizando uma combinação de ferramentas biotecnológicas, como genômica associada a biotecnologias reprodutivas, é possível identificar genes de interesse e reproduzir esses genótipos de forma acelerada. Além disso, é possível conservar o germoplasma de animais melhoradores para uso no próprio rebanho ou para comercialização, aumentando as receitas e garantindo a alta frequência do alelo A2 nas gerações futuras.

Por fim, a utilização sustentável de bovinos A2A2 para a produção de leite e derivados representa uma atividade pecuária com grande potencial econômico. Esse mercado promissor oferece produtos de alto valor agregado e novas oportunidades de geração de emprego e renda.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo realizar um mapeamento de bovinos A2A2, com base em marcadores genômicos, frequências alélicas e genotípicas para o gene da beta-caseína, em propriedades leiteiras tradicionais nos municípios de Quixeramobim, Morada Nova, Limoeiro do Norte, Sobral e Boa Viagem, no estado do Ceará, Brasil. A finalidade do trabalho foi realizar um mapeamento preciso de bovinos A2A2 para promover avanços na produção leiteira de maior valor agregado, contribuindo para a inovação no setor agropecuário.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Levantamento e seleção de propriedades nos municípios das principais bacias leiteiras do Ceará

Os rebanhos foram selecionados independentemente do tamanho das propriedades, com o intuito de investigar as frequências alélicas A2 e genotípicas A2A2, categorizando os animais em três grupos distintos: mestiços, puros zebuínos e puros europeus. A finalidade deste estudo foi realizar um mapeamento detalhado de bovinos A2A2 a fim de promover avanços na produção leiteira de maior valor agregado, contribuindo assim para a inovação no setor agropecuário.

2.2. Coletas, processamento e análises de material biológico: sangue, pelos e leite

Inicialmente, foi feito um levantamento das propriedades leiteiras com o auxílio de órgãos oficiais (ADAGRI e EMATER) em cinco propriedades nos municípios das bacias leiteiras de Quixeramobim, Morada Nova, Limoeiro do Norte, Sobral e Boa Viagem.

Após o levantamento, foram escolhidos 250 animais, incluindo vacas adultas em produção, novilhas, bezerras e reprodutores. Coletou-se para extração de DNA do bulbo capilar, os quais foram armazenados em envelopes e enviados ao laboratório.

Adicionalmente, foram obtidas duas amostras de sangue total de cada animal em tubos com EDTA, congeladas a -80°C no Laboratório de Genética e Biologia Molecular do IDR/UNILAB, garantindo o armazenamento seguro e disponibilidade futura do material genético.

Nos animais em lactação, foi colhida uma amostra de leite em recipientes específicos, devidamente acondicionada e armazenada no Laboratório de Análise de Qualidade do Leite do IDR – UNILAB. Essas amostras foram submetidas a análises microbiológicas, contagem de células somáticas, acidez, densidade e composição físico-química, conforme estabelecido pela Instrução Normativa MAPA N° 77 de 26 de novembro de 2018.

2.3. Genotipagem

A genotipagem dos animais foi realizada pela extração do DNA, amplificação parcial do gene da β -caseína e sequenciamento.

2.4. Análise de dados

Após a coleta do material biológico, os dados foram processados utilizando o software Excel para organização e categorização. Cada amostra foi atribuída aos respectivos municípios de origem: Quixeramobim, Morada Nova, Limoeiro do Norte, Sobral e Boa Viagem. Além disso, durante o processo de análise, os dados foram subdivididos conforme o status dos animais, distinguindo entre aqueles em fase de lactação e os demais. Essa abordagem permitiu uma avaliação detalhada

e específica das características genéticas e da qualidade do leite nos diferentes contextos regionais e fases produtivas dos animais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da extração de DNA e da genotipagem do material genético de 250 animais coletados nas propriedades, foi observada uma predominância maior da frequência alélica para o gene da beta-caseína, uma das proteínas mais abundantes do leite bovino (Tabela 1). Isso pode ser atribuído aos cruzamentos entre raças encontradas nas propriedades, como na classe número 2 da propriedade número 3 (VS), onde foi identificado o cruzamento com a raça Sindi, pertencente ao grupo de raças puras zebuínas, que apresentam maior prevalência do alelo A2. Da mesma forma, na classe número 1 da propriedade número 2 (B), foi observado cruzamento com a raça Guzerá, que também está entre as raças puras zebuínas (Tabela 1). Esses dados são corroborados também por Miranda e Freitas (2009), que destacam que o cruzamento entre raças diferentes permite combinar características desejáveis de cada uma, resultando em animais com conjunto de qualidades superiores, como resistência a doenças, adaptabilidade a diferentes ambientes e maior produtividade.

Tabela 1 - Frequências alélicas para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros mestiços, puros zebuínos e puros europeus.

Classes	Fazendas	A2	A1	Total
1	BV	72	28	
	B	75	25	
Total		147	53	200
2	VS	97	3	
	PB	86	14	
Total		183	17	200
3	L	70	30	
Total		70	30	100

Fonte: Elaboração própria.

As classes referem-se às categorias genéticas dos bovinos leiteiros analisados na tabela, que são classificados como mestiços, puros zebuínos e puros europeus. Essas categorias são utilizadas para agrupar os animais de acordo com suas origens genéticas distintas, permitindo comparar as frequências alélicas do gene da β -Caseína entre diferentes grupos genéticos.

Os termos "A1" e "A2" não se referem diretamente aos tipos de leite, mas sim às variantes genéticas da β -Caseína, uma proteína presente no leite bovino. A β -Caseína possui duas variantes principais: A1 e A2, que diferem molecularmente devido a um único nucleotídeo no gene da β -Caseína. Essas variantes podem influenciar aspectos da digestão e são objeto de estudo devido a possíveis efeitos na saúde humana.

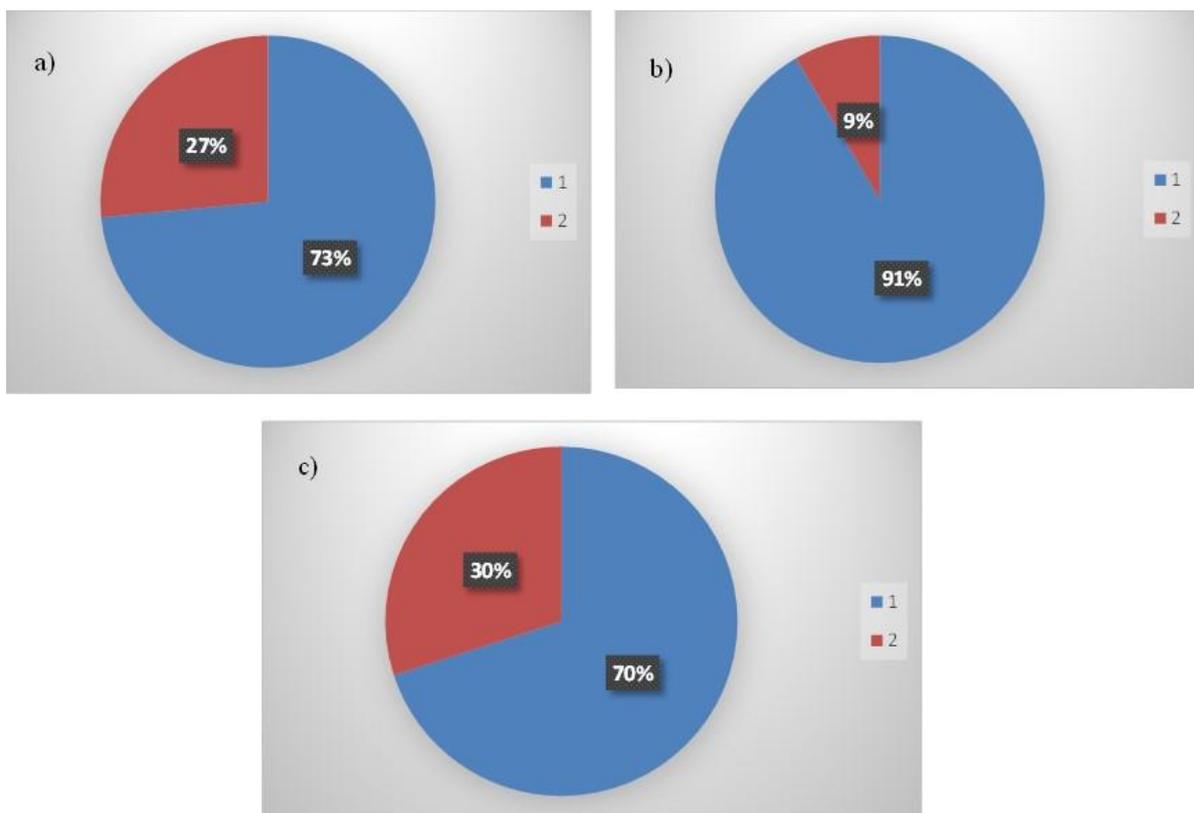
Portanto, a Tabela 1 apresenta as frequências alélicas das variantes A2 e A1 da β -Caseína em bovinos de diferentes origens genéticas (mestiços, puros zebuínos e puros europeus), organizados por fazendas localizadas em diferentes municípios. Essa organização permite uma análise detalhada das diferenças nas frequências genéticas entre os grupos e as regiões estudadas.

Na figura 1a, 1b e 1c, constam as frequências alélicas para o gene da β -caseína em bovinos leiteiros mestiços, puros zebuínos e puros europeus. A frequência alélica A2 predominou nos três grupos, evidenciando que os animais amostrados possuem potencial genético para a produção de leite A2 (Figura 1a, 1b, 1c). Conforme Braga *et al.* (2023), esse padrão de resposta sugere uma pressão de seleção favorável à variável analisada, devido ao alto valor da frequência observada para o gene desejado.

A produção de leite A2 agrega mais valor ao produto e aos animais, permitindo ingresso em um mercado promissor e contribuindo para uma alimentação mais balanceada, devido ao fato de o leite A2 possuir menores quantidades de beta-casomorfina 7, um peptídeo bioativo associado a doenças em humanos como diabetes e doenças cardiovasculares (McLachlan, 2001; Elliott *et al.*, 1999). Em outros estudos, também foi observada uma frequência maior do alelo A2 em relação ao alelo A1 (Lima *et al.*, 2014; Paschoal *et al.*, 2017; Vercesi, *et al.* 2011).

Figura 1 - Frequência alélica para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros. a) bovinos mestiços (europeu x zebu), b) bovinos leiteiros puros zebuínos e c)

bovinos leiteiros puros europeus. Onde rotulo: 1 significa Alelo A2 e 2 significa Alelo A1



Fonte: Elaboração própria.

Na Tabela 2, constam os dados referentes às frequências genóticas para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros mestiços, puros zebuínos e puros europeus.

A análise genotípica na Tabela 2 revela as distribuições de genótipos para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros de diferentes categorias genéticas, divididos entre mestiços, puros zebuínos e puros europeus em três fazendas distintas.

Na Classe 1, representada por Bela Vista (BV), dos 100 animais analisados, 54 foram identificados como A2A2, 39 como A2A1 e 7 como A1A1. A fazenda B, mencionada na tabela, não possui dados específicos disponíveis.

Na Classe 2, que inclui Vale do Sindi (VS), dos 100 animais analisados, 84 foram classificados como A2A2, 15 como A2A1 e 1 como A1A1. Já em Pedra Branca (PB), não há dados detalhados disponíveis na tabela.

Na Classe 3, representada por Lages (L), foram analisados 50 animais, dos quais 26 foram identificados como A2A2, 18 como A2A1 e 6 como A1A1.

Esses resultados permitem observar como os diferentes genótipos estão distribuídos entre as fazendas e regiões, oferecendo insights sobre a diversidade genética e a potencial influência de práticas de criação e cruzamentos na composição genômica dos rebanhos leiteiros estudados. Essa análise é crucial para orientar estratégias de melhoramento genético que visem otimizar a produção e a qualidade do leite nas diversas regiões consideradas.

Tabela 2 - Frequências Genotípicas para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros mestiços, puros zebuínos e puros europeus.

CLASSES	FAZENDAS	A2A2	A2A1	A1A1	TOTAL
1	BV B	54	39	7	100
2	VS PB	84	15	1	100
3	L	26	18	6	50

Fonte: Elaboração própria.

A análise genotípica do gene da β -caseína em bovinos leiteiros tem sido um tema de interesse crescente devido às suas potenciais implicações na saúde humana e na qualidade do leite. Estudos como os de Sharma *et al.* (2013) e Jaiswal *et al.* (2014) destacam o polimorfismo genético presente nesse gene em diversas raças de gado leiteiro, evidenciando as variantes A1 e A2 que diferem

em um único nucleotídeo. Essas variantes têm sido associadas a efeitos diferentes sobre a saúde, especialmente no que diz respeito à produção de beta-casomorfina durante a digestão, como discutido por Metropulos (2023).

Barbosa *et al.* (2019) reforça a importância dessas variantes na qualidade do leite, enfatizando que a beta-caseína A2 está mais próxima da encontrada no leite humano e em outras espécies como cabras, o que pode torná-la mais digestível para indivíduos sensíveis à proteína do leite de vaca. Além disso, estudos como o de Oliveira *et al.* (2021) exploram o polimorfismo genético da β -caseína em outras espécies, como cabras, destacando suas implicações na qualidade do leite e na saúde humana.

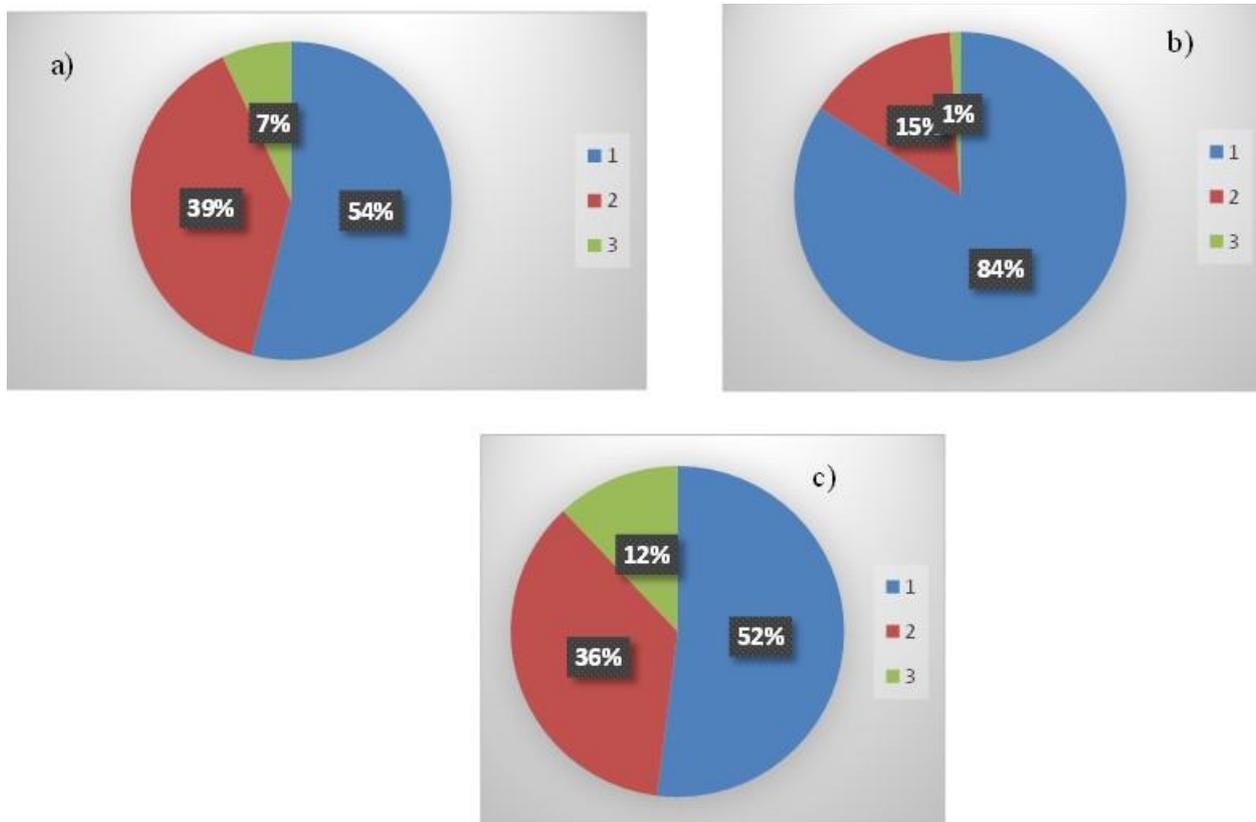
Portanto, compreender as frequências alélicas e genotípicas do gene da β -caseína em bovinos leiteiros, conforme discutido nessas referências, não apenas é fundamental para a seleção e melhoramento genético de rebanhos, mas também para explorar novas oportunidades na produção de leite de maior valor agregado e potencialmente mais saudável para o consumo humano. Esses estudos não só ampliam nosso conhecimento sobre a genética bovina, mas também destacam a importância de considerar essas variantes na busca por uma produção leiteira mais sustentável e adaptada às necessidades dos consumidores modernos.

Na figura 2, constatou-se que frequência genotípica, A2A2, foi superior a 50%, nos três grupos de animais, bovinos mestiços (europeu x zebu), bovinos leiteiros puros zebuínos e bovinos leiteiros puros europeus. O maior valor da frequência genotípica, A2A2, foi constatado em bovinos leiteiros puros zebuínos, com 84%.

Os resultados encontrados corroboram com constados por Paschoal *et al.* (2017), que salientam que as raças zebuínas tem uma frequência mais alta do alelo A2, e que consequentemente também possuem maior pré disposição para os genotípicos A2A2. Estudos já realizados por outros autores, afirma-se que foram encontradas cerca de 98% para o alelo A2 e 93% para o genótipo A2A2 em raças Gir e Guzerá (Rangel *et al.*, 2017). Isso nos mostra que mesmo se cruzados com animais SRD como os da classe 1 (Figura 2), as raças zebuínas ainda carregam em seu material genético uma maior frequência para o genótipo A2A2. Marko *et al.* (2020), estudando vacas “HOLSTEIN-FRIESIAN” , ou seja, as conhecidas como Holnadês, verificaram que frequência genotípica A1A1 (12,26%), A1A2

(54,72%) e A2A2 (33,02%), tendo uma frequência alélica de A1 (0,396) e A2(0,604).

Figura 2 - Frequência Genotípica para o gene da β -Caseína em bovinos leiteiros. a) bovinos mestiços (europeu x zebu), b) bovinos leiteiros puros zebuínos e c) bovinos leiteiros puros europeus. Onde rotulo, 1 significa Genótipo A2A2, 2 significa Genótipo A2A1 e 3



Fonte: Elaboração própria.

4. CONCLUSÃO

A frequência do alelo A2 foi maior do que a do alelo A1 em todas as fazendas onde foi feito o levantamento, mostrando que possuem potencial para a produção do leite A2 em suas propriedades. A frequência genotípica A2A2 apresenta-se maior nos animais encontrados nos grupos 1 e 2, nos quais podemos observar a raça Sindi, que faz parte do grupo de raças zebuínas e carrega material genético com maior predominância da beta-caseína, evidenciando que podem ser usados para a produção do leite A2.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, Marina Gomes; SOUZA, Alisson Borges; TAVARES, Guilherme Miranda; et al. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, n. 01, p. e019004–e019004, 2019. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8652981/19170>. Acesso em: 1 ago. 2022.

BRAGA, M. H.; RODRIGUES, M. H. D.; FIORAVANTE, F. C. R. C.; OLIVEIRA, R. O. R. G.; NEPOMUCENO, L. L.; ALMEIDA, J. A.; GARICA, J. A. S.; FERREIRA, J. L. Allelic and genotypic frequencies of the CSN-2 gene in a population of dairy cattle in the northern region of the state of Tocantins. **JNT Facit Business and Technology Journal**, v.1. p. 234-243, 2023.

ELLIOTT, R. B.; HARRIS, D. P.; HILL, J. P.; BIBB, N. J.; WWASMUTH, H. E. Type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. **Diabetologia**, v.42, p.292-296, 1999.

GOMES, F.P., PARK, R., VIANA, A.G. et al. Protein signatures of seminal plasma from bulls with contrasting frozen-thawed sperm viability. **Sci. Rep. Sep**, v.4, n. 14661, 2020.

IBGE. **Pesquisa Trimestral do Leite**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9209-pesquisa-trimestral-do-leite.html>. Acesso em: 14 jul. 2024.

JAISWAL, K.; DE, S.; SARSAVAN, A. Detection of single nucleotide polymorphism by T-ARMS PCR of cross bred cattle Karan Fries for A1, A2 beta casein types. *Inter. J. Sci. Rev. Biol. Sci.*, v.1, p.18-20, 2014.

LAUGESEN, M.; ELLIOT, R. **Ischemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 b-casein**. *NZ. Med. J.*, v.116, p.1–19, 2003.

LIMA, A.C.J.; LARA, M.A.C. Polimorfismo do gene b-caseína em bovinos. **AICA.**, v.6, p.280-285, 2015.

LIMA, T.C.C., RANGEL, A.H.N., MEDEIROS, L.G.Z., COUTINHO, L.L., PEIXOTO, M.G.C.D., BORBA, L.H., LIMA, G.F.C. Sem contraindicação: estudo confirma capacidade do zebu de produzir leite não alergênico. **Revista ABCZ**. 2014. 84:87-9.

LIU, S.; ZHANG, F.; YIN YAO SHUGART; et al. The early growth response protein 1-miR-30a-5p-neurogenic differentiation factor 1 axis as a novel biomarker for schizophrenia diagnosis and treatment monitoring. **Translational Psychiatry**, v. 7, n. 1, p. e998–e998, 2017.

MARKO, R.; UROS, G.; BRANISLAV, V.; MILAN, M.; DANIJELA, K.; VLADO, T.; ZORAN, S. Beta-casein gene polymorphism in Serbian Holstein-Friesian cows and its relationship with milk production traits. **Acta Veterinaria-Beograd**, v.70, n.4, p.497-510, 2020.

MARTINS, P.C.; ZOCCAL, R.; BERNARDO, W.F. et al. **Anuário do Leite 2021**. In: Documentos Embrapa. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1132875/anuario-leite-2021-saude-unica-e-total>.

McLACHLAN, C. N. S. Beta casein A1, ischemic heart disease mortality and other illness. **Med. Hypotheses**, v.56, p.262-272, 2001.

METROPULOS, Megan. A2 milk: Benefits, vs. **A1 milk, side effects, alternatives, and more**. www.medicalnewstoday.com. Disponível em: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/318577>. Acesso em: 13 mar. 2020.

MILKPOINT. **Criatórios estão selecionando seus plantéis para a comercialização de animais e leite A2A2**. PIRACICABA, 26 jun. 2017. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/wp-content/uploads/2021/09/Artigo-544.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. CONITEC. **Alergia à Proteína do Leite de Vaca**. [s.l.: s.n.], 2022. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2022/20220427_pcdt_aplv_cp_24.pdf. Acesso em: jul. 14DC.

MIRANDA, João Eustáquio Cabral de; FREITAS, Ary Ferreira de. **Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite**. [s.l.: s.n.], 2009. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/65294/1/CT-98-Racas-e-tipos-de-cruzamentos.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2024.

OLIVEIRA, L.S.M.; ALVES, J.S.; BASTOS, M.S. et al. Water buffaloes (*Bubalus bubalis*) only have A2A2 genotype for beta-casein. **Tropical Animal Health and Production**. v. 53, n-145, 2021.

PASCHOAL, J.J.; SILVA, M.B.; HORTOLANI, B. Beta caseína A2e sua relação com a produção e composição do leite de vacas Gir leiteiro. In: **ZOOTEC 2017 / XXVII Congresso Brasileiro de Zootecnia**. 2017. Available from: <https://proceedings.science/zootec/papers/beta-caseina-a2-e-sua-relacao-com-aproducao-e-composicao-do-leite-de-vacas-gir-leiteiro>.

RANGEL, A.H.N., ZAROS, L.G., LIMA, T.C., BORBA, L.H.F., NOVAES, L.P., MOTA, L.F.M., SILVA, M.S. Polymorphism in the Beta Casein Gene and analysis of milk characteristics in Gir and Guzera dairy cattle. **Genetics and Molecular Research**, 16 (2), 2017.

SHARMA, V.; SHARMA, N.; JAWED, B.; NAUTIYAL, S. C. High resolution melt curve analysis for the detection of A1, A2 β -casein variants in Indian cows. **J. Microbiol. Biot. Res.**, v.3, p.144-148, 2013.

SILVA, Fábio. **Leite e Derivados JANEIRO/FEVEREIRO DE 2021**. [s.l.: s.n.], 2021. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-leite/item/download/35921_409843e8ecc003068cf3dc9f064caa14. Acesso em: 14 jul. 2024.

VERCESI FILHO, A.E.; CAMARGO, G.M.F.; CARDOSO, D.F.; ZADRA, L.F.; FERNANDES, A.R.; TONHATI, H. Identificação de alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Gir Leiteiro. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO ANIMAL**. 9., 2012. João Pessoa. Anais... João Pessoa, Paraíba: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2012. Disponível em: <http://sbmaonline.org.br/anais/ix/trabalhos/pdf/4TAN.pdf>. Acesso em: 18 novembro. 2023.

ZANCANARO, Emilly; CRUZ, Pedro Henrique. Análise da produção e viabilidade na produção do leite tipo A2 em animais da raça Gir. **Nutritime Revista Eletrônica**, Viçosa, v. 18, n. 5, ed. 5, p. 8981 - 8987, 15 set. 2021. DOI 1983-9006. Disponível em: <https://www.nutritime.com.br/wp-content/uploads/2021/09/Artigo-544.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2024.