



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS**

RODOLFO OLINTO ROTOLI GARCIA OLIVEIRA

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO GENE CSN-2 (BETA CASEÍNA)
EM GADO LEITEIRO E PERFIL DE CONHECIMENTO DE CONSUMIDORES DE
LEITE NO TOCANTINS**

ARAGUAÍNA (TO)

2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE
PÚBLICA NOS TRÓPICOS**

RODOLFO OLINTO ROTOLI GARCIA OLIVEIRA

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO GENE CSN-2 (BETA CASEÍNA)
EM GADO LEITEIRO E PERFIL DE CONHECIMENTO DE CONSUMIDORES DE
LEITE NO TOCANTINS**

ARAGUAÍNA (TO)

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- O48f Oliveira, Rodolfo Olinto Rotoli Garcia.
FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO GENE CSN-2
(BETA CASEÍNA) EM GADO LEITEIRO E PERFIL DE
CONHECIMENTO DE CONSUMIDORES DE LEITE NO TOCANTINS. /
Rodolfo Olinto Rotoli Garcia Oliveira. – Araguaína, TO, 2022.
85 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do
Tocantins – Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-
Graduação (Mestrado) em Sanidade Animal e Saúde Pública nos
Trópicos, 2022.
Orientador: Jorge Luís Ferreira
Coorientador: Minos Esperandio de Carvalho

1. Bovinos leiteiros. 2. Leite A2. 3. Consumidor. 4. Tocantins. I.
Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RODOLFO OLINTO ROTOLI GARCIA OLIVEIRA

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO GENE CSN-2 (BETA CASEÍNA)
EM GADO LEITEIRO E PERFIL DE CONHECIMENTO DE CONSUMIDORES DE
LEITE NO TOCANTINS.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública dos Trópicos da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestre(a).em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Luís Ferreira

Co-Orientador: Prof. Dr. Minos Esperandio de Carvalho

ARAGUAÍNA (TO)

2022

RODOLFO OLINTO ROTOLI GARCIA OLIVEIRA

**FREQUÊNCIAS ALÉLICAS E GENOTÍPICAS DO GENE CSN-2 (BETA CASEÍNA)
EM GADO LEITEIRO E PERFIL DE CONHECIMENTO DE CONSUMIDORES DE
LEITE NO TOCANTINS.**

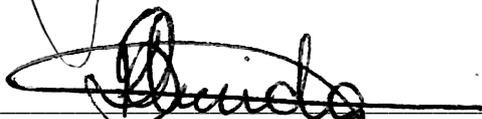
Dissertação apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Araguaína - TO, Curso de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de Aprovação 27/05/2022

Banca examinadora:



Prof. Dr. Jorge Luís Ferreira, Orientador (a), UFT



Profª. Drª. Katyane de Sousa Almeida, Membro Interno, UFT



Profª. Drª. Susana Queiroz Santos Mello, Membro Externo, UFT

O mundo não é feito somente de raios de sol e arco-íris, é um lugar duro e maldoso e não importa o quanto você ache que é forte, ele sempre vai te deixar de joelhos e te deixar assim permanentemente se você permitir. Nem você, nem ninguém baterá tão forte quanto a vida. Porém não é se tratar de quão forte pode bater, se trata de quão forte pode ser atingido e continuar seguindo em frente. É assim que a vitória é conquistada.

Rocky Balboa

Á Deus, essa força maior, que me guia e ilumina meus pensamentos para que eu desenvolva minha luz.

Á minha família, força guerreira, que me ampara e faz lutar todos os dias.

Ao meu filho querido, João Pedro! Que trouxe luz e esperança para toda a família!

Á minha amada e querida noiva, Laura Carolina!!! Que faz com quem cada dia seja melhor e cheio de encantos e bondade.

Dedico!

HOMENAGEM PÓSTUMA

Ao eterno amigo Munir, cuja partida precoce não pôde estar presente nessa conquista;

Meu avô, Luiz Rotoli, que sonhava tanto com minha graduação, seria uma honra apresentar para ele;

Sra. Glória, a quem tive o prazer de conhecer e conviver, uma pessoa abençoada e amada;

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar e proteger, colocar pessoas maravilhosas em meu caminho, as quais me fazem acreditar em um mundo melhor e me encorajam a prosseguir. Obrigado por tudo e sempre estar comigo em todos os momentos.

À minha família, sinônimo de amor e união. Obrigado por acreditar no meu sonho e sempre me motivar a seguir em frente. É muito bom saber que posso contar com vocês em todos os momentos. Amo vocês!

Ao Núcleo de Pesquisas e Extensão em Genética e Melhoramento Animal (NAPGEM) pela oportunidade de realizar este trabalho. Obrigado pela confiança e pelas amizades. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados de forma admirável, e por me guiar nos primeiros passos da pós-graduação. Muito obrigado por tudo!

Ao Laboratório de Melhoramento Animal e Biotecnologias “Dr. Gordon Dickerson” da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Campus de Pirassununga, Universidade de São Paulo, pelas análises genômicas. Em especial ao meu co-orientador, professor Minos Esperandio de Carvalho, por toda a ajuda durante a realização deste trabalho. Obrigado pela confiança!!!

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Norte do Tocantins, pela oportunidade e todo o conhecimento e pela convivência agradável!

Em especial ao professor Dr. Jorge Ferreira, que eu tenho a satisfação de chamar de amigo, preciso dar o principal agradecimento a ele, pois nada disso estaria se concretizando sem sua incansável dedicação para que eu me tornasse médico veterinário, e agora alcançando um título de mestre.

Aos produtores rurais que compartilharam e acreditaram na ideia de nosso projeto, querendo constituir um novo nicho de mercado e promover saúde à população tocantinense!!!!

A todos aqueles que direta ou indiretamente auxiliaram nessa conquista!!!! Muito obrigado!!!

RESUMO

Atualmente, a indústria láctea diversifica produtos com propriedades organolépticas, dietéticas, funcionais e nutricionais em função de demandas do consumidor e do bem-estar dos clientes. Da mesma forma, nos sistemas de produção existe uma preocupação em relação à qualidade e doenças que estão relacionadas ao consumo de leite. Assim, no presente trabalho objetivou-se verificar as frequências alélicas e genótípicas do gene CSN-2 (beta caseína) em rebanhos leiteiros do Tocantins, bem como o perfil e nível de conhecimento dos consumidores de leite no referido estado. Foram utilizados material genético de 421 animais (bovinos leiteiros mestiços em produção) proveniente de três rebanhos da região norte do Tocantins, e uma pesquisa qualitativa, através de questionário, com 389 pessoas distribuídas em 34 municípios do Estado, incluindo dados de consumo de leite, conhecimento e familiaridade com o leite A2. As amostras para dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizadas e confirmadas por PCR em tempo real, usando um sistema de detecção de sequências ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems). As frequências alélicas e genótípicas foram determinadas utilizando o sistema de detecção TaqMan™, no qual o primer e a sonda emitem diferentes sinais de fluorescência para cada alelo do polimorfismo. Em relação ao perfil do consumidor, foi realizado um questionário semiestruturado formado por 19 perguntas, articuladas em três partes, sendo a primeira com referência ao perfil do entrevistado, a segunda visou identificar o consumo de lácteos em geral, assim como a frequência e quantidade consumida, enquanto que na terceira houve questionamentos em relação aos conhecimentos sobre leite A2A2. A frequência do alelo A1 foi de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral. A frequência genotípica de A2A2 foi de 52,96% (223/421), com genótipo A1A2 de 37,53% (158/421), e de 9,50% (40/421) animais com genótipo A1A1. A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da região norte do Tocantins se mostrou baixa e seguiu a mesma tendência já observada na literatura. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativa alta, entretanto o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção. Em relação ao consumo de lácteos, 21,31% apresentam algum tipo de desconforto ao consumirem, e, 46,27% possuem um consumo semanal de um a dois litros, 28,28% entre dois a quatro litros e 25,45% com consumo superior a quatro litros, sendo o leite o principal produto lácteo consumido por 59,13% dos entrevistados. Dos 76,10% entrevistados tem pouca ou nenhuma atenção às informações do rótulo contra 28,53%. Sobre o leite A2 40,36% contra 59,64% detinham ou não algum conhecimento. Foi observado que 42,93% e 30,59% estariam dispostos a pagar mais de 10% ou mais de 50%, respectivamente, e 24,94% revelaram não pagar nenhum acréscimo sobre o valor para o leite A2. Uma parcela da população tem um nível de exigência quanto à qualidade e especificidade do leite em relação a problemas de saúde. No entanto, a capacidade de consumo está diretamente ligada ao nível de conhecimento e familiaridade sobre leite A2, assim como, pagar um valor adicional baixo, foi relacionado a consumidores que ouviram falar, mas, que conhecem pouco esse produto e pagar valores adicionais maiores esteve relacionado com entrevistados que ouviram falar e conhecem sobre o produto.

Palavras-chave: Leite A2. Genótipo. Conhecimento. Bovino de leite. Mercado. Tocantins.

ABSTRACT

Currently, the dairy industry diversifies products with organoleptic, dietary, functional and nutritional properties based on consumer demands and customer well-being. Likewise, in production systems there is a concern about the quality and diseases that are related to the consumption of milk. Thus, the present study aimed to verify the allelic and genotypic frequencies of the CSN-2 gene (beta casein) in dairy herds in Tocantins, as well as the profile and level of knowledge of milk consumers in that state. Genetic material from 421 animals (crossbred dairy cattle in production) from three herds in the northern region of Tocantins were used, and a qualitative research, through a questionnaire, with 389 people distributed in 34 municipalities in the state, including data on milk consumption, knowledge and familiarity with A2 milk. Samples for two markers of the polymorphic regions were characterized and confirmed by real-time PCR using an ABI Prism® 7500 sequence detection system (Applied Biosystems). Allele and genotypic frequencies were determined using the TaqMan™ detection system, in which the primer and probe emit different fluorescence signals for each allele of the polymorphism. In relation to the consumer profile, a semi-structured questionnaire was carried out consisting of 19 questions, divided into three parts, the first with reference to the profile of the interviewee, the second aimed at identifying the consumption of dairy products in general, as well as the frequency and quantity consumed, while in the third there were questions regarding knowledge about A2A2 milk. The frequency of the A1 allele was 28.27%, and of the A2 allele, 71.73% in the sampled herd. The genotypic frequency of A2A2 was 52.96% (223/421), with A1A2 genotype of 37.53% (158/421), and 9.50% (40/421) of animals with A1A1 genotype. The frequency of the A1 allele for beta-casein in dairy herds in the northern region of Tocantins was low and followed the same trend already observed in the literature. The A2A2 beta-casein genotypes showed a high relative frequency, however the A1A2 genotype is still quite frequent, requiring greater selection pressure. Regarding the consumption of dairy products, 21.31% have some type of discomfort when consuming, and 46.27% have a weekly consumption of one to two liters, 28.28% between two to four liters and 25.45% with consumption of more than four liters, with milk being the main dairy product consumed by 59.13% of respondents. Of the 76.10% interviewed, they pay little or no attention to the label information, against 28.53%. About A2 milk, 40.36% against 59.64% had or did not have some knowledge. It was observed that 42.93% and 30.59% would be willing to pay more than 10% or more than 50%, respectively, and 24.94% revealed that they did not pay any increase over the value for A2 milk. A portion of the population has a level of demand regarding the quality and specificity of milk in relation to health problems. However, the ability to consume is directly linked to the level of knowledge and familiarity with A2 milk, as well as paying a low additional amount was related to consumers who heard about it, but who know little about this product and paying higher additional amounts was related to respondents who have heard about and know about the product.

Keywords: A2 milk. Genotype. Market. Know. Milk bovine. Tocantins.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 - Evolução da Produção de leite no Brasil no período de 2010 a 2020.....20
- Figura 2 - Evolução da produção de leite (mil litros) no Estado do Tocantins, no período de 2000 a 2020.23
- Figura 3 - Fragmento das variantes genéticas β -caseína A1 e A2 bovinas, destacando a diferenciação de aminoácido na posição 67, responsável pela clivagem diferencial e liberação de BCM-7.29

CAPÍTULO 2

- Figura 4** - Frequências absolutas e relativas dos genótipos para beta-caseína do leite (A1A1, A1A2 e A2A2) nos rebanhos analisados.59

CAPÍTULO 3

- Figura 5** – Disposição de consumidores em pagar valores adicionais pelo leite A2A2 dependendo do conhecimento sobre o diferencial do produto (a), nível de conhecimento (b) e familiaridade com o leite A2A2 (c).68
- Figura 6** – Probabilidade de consumidores pagar valores adicionais pelo leite A2A2 dependendo do nível de conhecimento e familiaridade sobre leite A2A2; a=sem disposição; b=até 10% a mais; c=entre 10 e 20%; d=mais que 20%.69

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Indicadores da atividade leiteira brasileira no período de 2006 e 2017....21

Tabela 2 - Composição média dos constituintes do leite de vaca.25

CAPÍTULO 3

Tabela 3. Percentual dos produtos lácteos consumidos pelos participantes.65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CSN-2	- Gene da Beta Caseína
PIB	- Produto Interno Bruto
ICPL Leite/EMBRAPA	- Índice de Custo de Produção de Leite da Embrapa
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
FNO	- Fundo financeiro do Norte
APL	- Arranjo Produtivo Local
MAPA	- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
FAO	- Organização para a Alimentação e Agricultura
BCM-7	- Beta Casomorfina 7
BCM-9	- Beta Casomorfina 9
GDP	- Global Dairy Platform
APLV	- Alergia a Proteína do Leite de Vaca
LMA	- Laboratório de Melhoramento Animal
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS	18
2.1. O agronegócio do leite no Brasil	18
2.2. O agronegócio do leite na região norte do Brasil, e no Tocantins	21
2.3. Leite – composição, importância na alimentação humana e consumo	24
2.4. Polimorfismo do gene CSN-2 (beta caseína)	28
2.5. Frequências dos alelos A1 e A2 do gene CSN-2 (beta caseína), e dos genótipos A1A1, A1A2 E A2A2 em populações bovinas.	31
2.6. Perfil do consumidor de leite	33
REFERÊNCIAS	37
3 CAPÍTULO II – ARTIGO 1.....	47
3.1. Introdução.....	48
3.3. Resultados.....	51
3.4. Discussão	52
3.5. Conclusão.....	54
Referências.....	55
4 CAPÍTULO III – ARTIGO 2.....	60
4.1. Introdução.....	62
4.2. Material e Métodos	63
4.3. Resultados e Discussão	64
4.4. Conclusão.....	70
Referências.....	70
5 CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
ANEXOS.....	75

1 INTRODUÇÃO

O leite é um dos principais alimentos universalmente consumidos, considerado um dos mais ricos em termos nutritivos, por ter em sua composição proteínas, sais minerais e vitaminas, contendo todos os aminoácidos essenciais de que os seres humanos necessitam para o crescimento e a manutenção do corpo (SOUZA et al., 2015).

A cadeia produtiva do leite é de grande importância para a economia do Brasil, pelo alto número de agentes que estão envolvidos em sua produção, industrialização e distribuição, mas apresenta pequena participação na balança comercial gerando pouco superávit (ASSIS et al. 2016).

No Brasil, a produção de leite, além da questão econômica, tem uma grande importância social em virtude, principalmente, da relevância dessa atividade para produtores de pequena escala, uma vez que representa a maior parte da formação de sua renda (CARVALHO et al. 2002).

Nos últimos anos houve uma série de mudanças no sistema agroindustrial do leite, que impactaram diretamente os produtores e de forma mais intensa os pequenos, que geralmente são responsáveis por uma grande parcela de contribuição na produção do país. As mudanças variaram nos padrões de exigências de boas práticas de fabricação e principalmente decorrentes das preferências e exigências do consumidor (VILELA, 2016).

Essas exigências e alterações permitiram que o setor se reinventasse e novas modalidades de produtos e nichos de mercados fossem estabelecidos. Um desses novos nichos de mercado insere um leite com maior capacidade digestiva e características de menor efeito alergênico (leite A2), assim como o aumento de derivados do leite (HOFFMANN, 2021).

Estamos vivendo a era do protagonismo do consumidor, visto que, o mercado seleciona os produtos com base na demanda e necessidade dos consumidores. Nessa lógica, a indústria láctea estando inserida em um mundo altamente competitivo e diverso, para continuar no mercado, precisa entender, valorizar e traduzir os desejos e anseios dos consumidores em seus produtos e propostas de valor (MEGIDO, 2021).

Esse novo produto, leite com selo A2, tem alcançado destaque no mercado nacional, pois está relacionado ao aumento de proteína, volume e queda dos níveis de gordura no leite, além disso, apresenta melhor digestibilidade e não está

relacionado ao desenvolvimento de alergias a proteína do leite e doenças humanas, diferentes de leites que contém a variante A1 (SHARMA et al., 2013; PACCHIAROTTI, MENDES e FERREIRA, 2020).

Os produtores de leite em todo o mundo são incentivados a produzir leite A2 e seus derivados para atender à crescente demanda do consumidor (BODNÁR et al., 2018; BENTIVOGLIO et al., 2020; MILAN et al., 2020). O leite A2 é semelhante ao leite humano e pode ser facilmente absorvido pelo corpo, o que leva ao alívio dos sintomas de desconforto digestivo, alergias a proteína do leite e doenças humanas (JIANQIN et al., 2015; HE et al., 2017; MILAN et al., 2020).

O leite A2A2 resulta em um produto com maior valor agregado em relação ao leite convencional, sendo uma opção para aumentar a renda com a produção leiteira. No Brasil estudos relacionados a frequência da presença dos alelos para beta caseína ainda são escassos, principalmente na região norte do Brasil (EMBRAPA, 2017).

Diante ao exposto, no presente trabalho objetivou-se verificar as frequências alélicas e genotípicas para o gene CSN-2 (beta caseína), dos alelos A1 e A2, em rebanhos leiteiros da microrregião de Araguaína, bem como estudar o perfil dos consumidores de leite e analisar fatores determinantes no consumo de leite A2 no Estado do Tocantins.

2 CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES INICIAIS

2.1. O agronegócio do leite no Brasil

A cadeia produtiva do leite e derivados é um setor de grande importância econômica e social para o Brasil, cabendo ao país atenção especial, tanto no cenário público quanto privado (MAIA et al., 2018).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, com mais de 34 bilhões de litros por ano, com produção em 98% dos municípios brasileiros, tendo a predominância de pequenas e médias propriedades, empregando perto de quatro milhões de pessoas. O país conta com mais de um milhão de propriedades produtoras de leite e as projeções do agronegócio da Secretaria de Política Agrícola, estimam que, para 2030, irão permanecer os produtores mais eficientes, que se adaptarem à nova realidade de adoção de tecnologia, melhorias na gestão e maior eficiência técnica e econômica, e adequação às exigências do consumidor (MAPA, 2021).

Segundo Bandeira (2001), o sistema agroindustrial leiteiro no Brasil é formado por um enorme número de produtores, na maioria pequenos e médios, espalhados por todo o território, que apresentam rebanho numeroso e de baixa produção, e os problemas enfrentados estão ligados às mudanças constantes numa economia globalizada, devido a eliminação de barreiras comerciais entre países, a pressão competitiva, na qual a qualidade e os custos têm forte influência sobre o setor leiteiro. O histórico do setor leiteiro no Brasil tem sido constituído de momentos de glórias e fracassos, e somente passou a ser entendido como commodities após o término do processo de precificação do governo, na década de 90. Nesse período, o setor leiteiro passou por profundas oscilações de preços, consumo, oferta, mudanças no processo de competição, lucratividade e comercialização (PIONNER, 2013).

Nessa década também foi iniciada a coleta de leite granel, quando a economia brasileira e a mundial foram contaminadas pela globalização. A ordem era ser moderno, competitivo e estar preparado para enfrentar a concorrência. O Brasil criou o Código de Defesa do Consumidor, e a sociedade passou a ter uma postura mais crítica em relação aos produtos que comprava, o que levou as empresas de laticínios a buscar seus lucros mais na parte operacional do que na especulativa (PIONNER, 2013).

Aliado a estes fatores, outros aspectos como concorrência com mercado externo, através das importações de produtos, crises ambientais marcadas por períodos de seca, e baixa produção de alimentos, em conjunto ao aumento dos custos de produção a oferta e produção de leite no Brasil sofre grandes quedas, chega-se ao ano de 2015, no qual houve a primeira queda no mercado, impactando toda a produção dos anos seguintes, com sequelas até o presente momento, existindo produtores que ainda tentam se recuperar da crise (CARVALHO et al.,2006; ANUÁRIO LEITE,2018).

Segundo dados do Anuário Leite (2018), em 2015 a produção de leite no Brasil teve uma redução de 2,8%, valor que se intensificou no período seguinte para 3,7%. Isso aconteceu por causa da crise enfrentada pelo país, que diminuiu o PIB e, conseqüentemente, a renda familiar. Somado a isso, o custo de produção, medido pelo ICPL Leite/Embrapa, aumentou 9,8% em 2015, e, para 15,3% em 2016 (ANUÁRIO LEITE, 2018).

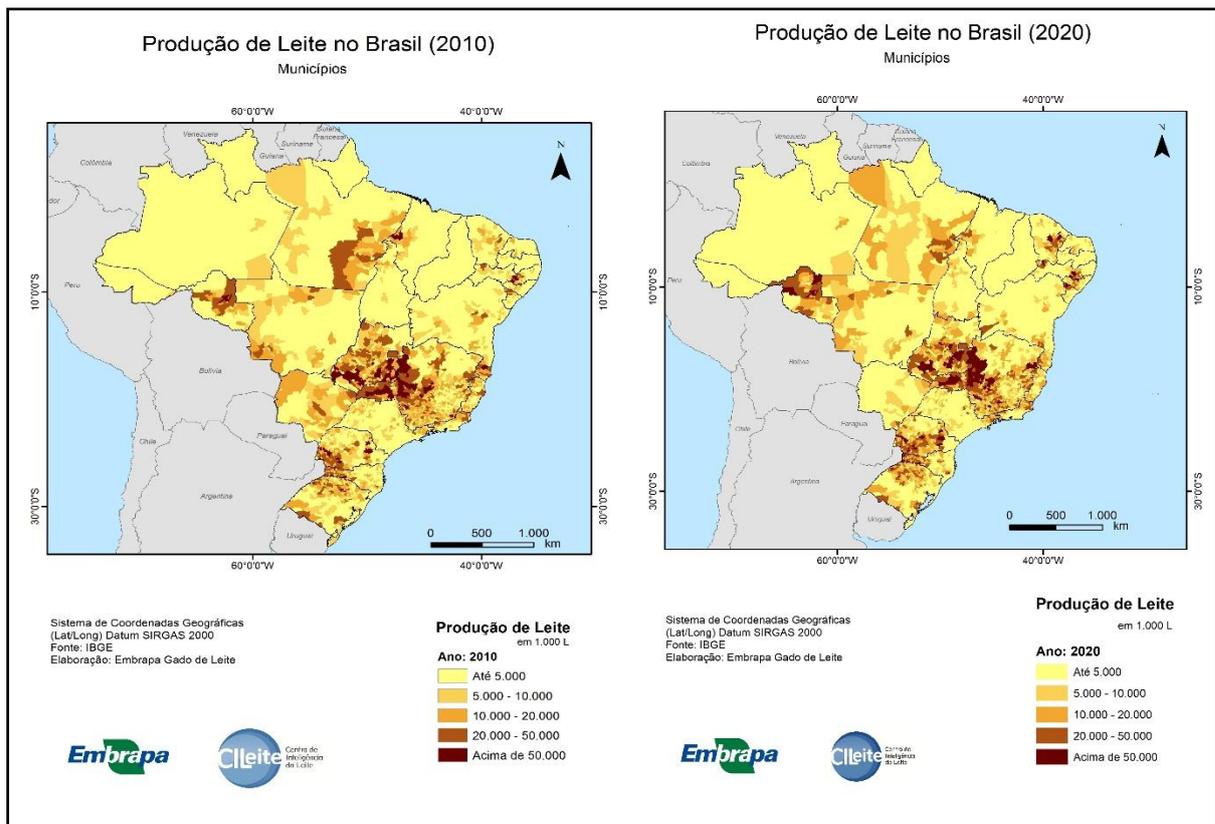
Com o preço internacional baixo e o elevado gasto para fornecer leite no Brasil, as importações cresceram de 725 milhões de litros em 2014, passando de 1,092 bilhão em 2015 para 1,880 bilhão em 2016, sendo essa última remessa superior a 8% da produção brasileira de leite sob inspeção naquele ano. Somente em 2017 o Brasil voltou a registrar crescimento na produção de leite, com recuperação dos preços pagos por produtores e aumentos significativos na safra de grãos que proporcionou redução dos custos de produção, e conseqüentemente expansão da atividade leiteira (ANUÁRIO LEITE, 2018).

Para esse significativo crescimento, não se pode desconsiderar a abertura de novas fronteiras, como a Região do Cerrado (especialmente Goiás) e as Regiões de Triângulo Mineiro e Alto Paraíba em Minas Gerais, além de outras regiões emergentes com Rondônia, Mato Grosso e Sul do Pará. O ganho na produtividade também contribuiu para esse aumento. É seguro afirmar que os ganhos de produtividade advêm, basicamente, da adoção de tecnologias que melhoram a eficiência do uso dos fatores de produção, melhoramento genético dos rebanhos, e novas tecnologias na alimentação e na saúde animal (DE LEITE, 2009).

A produção de leite tem perspectiva de continuar a crescer nos próximos anos, com condições reais de o país mudar o panorama de importador para exportador de produtos lácteos. Como pode se observar na Figura 1, mapas em que se demonstram o aumento do número de regiões brasileiras expandindo e promovendo o agronegócio

do leite, bem como na produtividade por animal. Em verdade, de acordo com dados do IBGE, (2001 a 2020), a produção formal de leite no país cresceu cerca de 90% e a produção total aproximadamente 72%. Esta evolução da produção de leite brasileira pode ser atribuída a diversos fatores, entre eles a maior profissionalização e gestão das propriedades, novos conhecimentos aplicados ao campo e maior acesso à tecnologia. Entretanto, ainda existem grandes desafios para o leite brasileiro.

Figura 1 - Evolução da Produção de leite no Brasil no período de 2010 a 2020.



Fonte: <https://www.cileite.com.br/content/leite-mapas>. Acesso em 15/04/2022.

Essa profissionalização do setor e sua adequação ao mercado competitivo e ajuste ao novo sistema de produção pode ser explicado também pela evolução dos indicadores da atividade leiteira, apresentados na Tabela 01, que possibilita analisar a transformação ocorrida na atividade leiteira nesse período.

Tabela 1 - Indicadores da atividade leiteira brasileira no período de 2006 e 2017.

Indicador	Unidade	2006	2017	Varição
Número de estabelecimentos	Milhões de produtores	1,351	1,176	-0,175
Número de vacas ordenhadas	Milhões de cabeças	12,711	11,507	-1,204
Quantidade de Leite Produzido	Bilhões de litros	20,568	30,156	9,589
Produtividade Animal	Litros/Vaca/Ano	1.618	2.621	1.003

Fonte: <https://www.milkpoint.com.br/noticias-e-mercado/giro-noticias/evolucao-da-producao-de-leite-sob-a-otica-do-censo-agropecuário-221618>. Acesso em 15/04/2022.

2.2. O agronegócio do leite na região norte do Brasil, e no Tocantins

A economia da região Norte do Brasil tem suas atividades diretamente ligadas ao setor primário da economia, com grande participação da produção agropecuária, indústria extrativa e complexos agroindustriais, e indústrias do setor de transformação e serviços (LOBÃO, 2018).

Costa (2012) informa que a região Norte já possui uma economia rural com dinâmica e amplitude próprias, no período de 1995 a 2007, a economia da região cresceu a taxas médias de cerca de 5% a.a., e que o Valor Bruto de Produção agropecuário Rural (VBPR) cresceu de 5,5 para 9,0 bilhões de reais, no intervalo de 2005 a 2007.

Mesmo com a forte expansão da produção de grãos na região e abertura de novas fronteiras agrícolas, ainda é na pecuária que a economia rural do bioma Amazônia tem se sustentado (LOBÃO, 2018). Esta representa a principal atividade desenvolvida na região e é, sem dúvida, grande exportadora de carne para o restante do Brasil (CARRERO et al., 2015).

Entretanto, um dos grandes desafios para o desenvolvimento da região é manter o crescimento da produção agropecuária e, ao mesmo tempo, reduzir os impactos dessa produção sobre os recursos naturais. Assim, a crescente inserção do agronegócio na economia globalizada tem levado o setor a exercer um significativo papel no desenvolvimento econômico de regiões predominantemente agropecuárias, através de um elevado nível de competitividade associado com aumento significativo da produtividade e redução dos custos e impactos ambientais (VIANA e FERRAS, 2007).

A produção total de leite em 2019, aumentou cerca de 2,7% em relação ao ano anterior, conforme registrado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020). Segundo o estudo, os cinco maiores estados em produção concentraram quase 70% do total nacional, com Minas Gerais detendo participação de 27,11%, seguido do Paraná e Rio Grande do Sul, com 12,45% e 12,26%, respectivamente. Enquanto isso, a produção dos 100 maiores produtores do Brasil cresceu 8,67%, indicando movimento de concentração produtiva e de ganhos de escala (HOTT; ANDRADE; MAGALHÃES JÚNIOR; 2021).

Na região Norte destaque para o estado de Rondônia, que representa 3,24% da produção nacional. No Tocantins, fronteira agrícola, já são 22,5 mil estabelecimentos produtores de leite, sendo que 75% desses, são de agricultura familiar, com participação de 1,15% da produção nacional. Em 2017 foram quase 200 mil vacas ordenhadas, com um volume total de 237 milhões de litros de leite, cujo valor de comercialização ultrapassou os 264 milhões de reais (SIDRA, 2020).

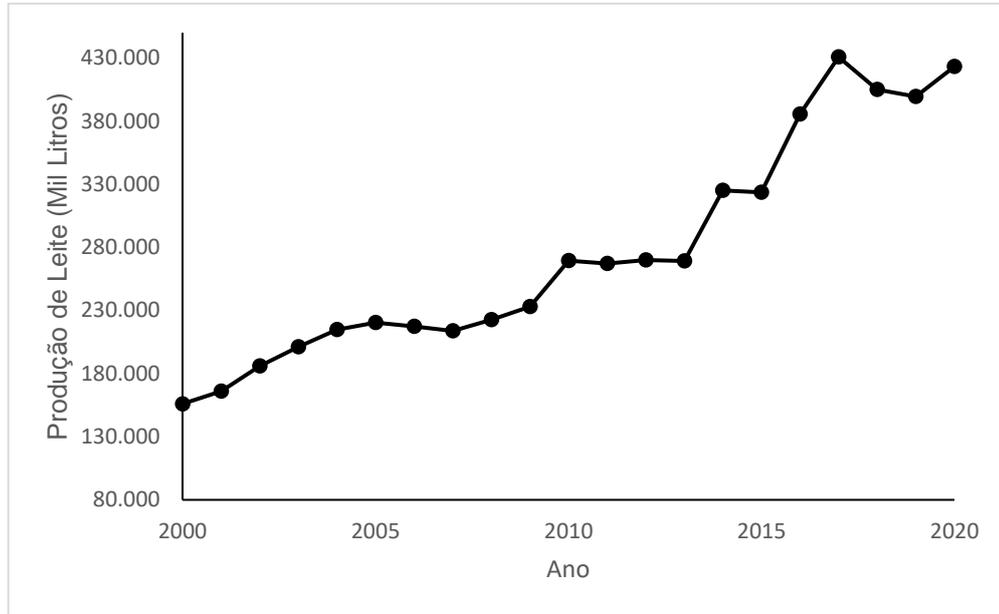
O Estado obteve uma evolução expressiva na produção de leite desde a sua criação em 1988, apresentando um crescimento de mais de 250% nesse período. Os municípios que se destacam na cadeia leiteira são Araguatins, Pequizeiro, Bernardo Sayão, Araguaína, Colméia, Augustinópolis e Goianorte, sendo os responsáveis por alavancar o patamar produtivo estadual (SIDRA, 2020).

No período de 20 anos (2000-2020) a produção leiteira no Estado vem aumentando consideravelmente, tendo uma pequena retração em 2018-2019, mas, com aumento de produtividade registrada, devido ao aumento de políticas públicas e promoção do melhoramento genético do rebanho (SEPLAN-TO, 2021), (Figura 2).

Segundo informações de Sidra (2020) e de Polastrini et al. (2019), o município de Araguaína sempre se destacou na produção leiteira no estado. Porém, tem-se verificado que na última década o município apresentou recuo na produção de leite e foi observado uma ascensão de outros municípios como Araguaçu, Araguatins, Arapoema, Bandeirantes do Tocantins, Colmeia e Pequizeiro. Essa elevação da produção leiteira refletiu em elevação também em valores monetários, Polastrini et al. (2019) constataram especialização de pequenas propriedades no extremo norte e na região central do estado, incluindo a capital Palmas, já na região sudoeste houve maior especialização na produção de leite em propriedades maiores. Embora a atividade leiteira no Estado seja caracterizada por pequenos rebanhos e grande número de unidades, a mesma é oriunda de produtores da agricultura familiar, que

correspondem a 60% da produção, com produção de 109 milhões de litros de leite por ano.

Figura 2 - Evolução da produção de leite (mil litros) no Estado do Tocantins, no período de 2000 a 2020.



Fonte: SEPLAN-TO, (2021).

Santos et al. (2014) também citaram outras estatísticas relevantes para a caracterização da pecuária leiteira no Tocantins, como: o uso da ordenha mecânica por apenas 1,3% das propriedades (48% nos municípios com alto nível tecnológico e 46% nos municípios com nível médio); adoção de técnicas como a inseminação artificial e transferência de embrião por, respectivamente, 1,6% e 0,3% dos estabelecimentos; e alocação de valores expressivos (no período de 2000 a 2009), de crédito rural e de recursos do Fundo de Financiamento do Norte (FNO), principalmente nos municípios com menor nível tecnológico, para a aquisição de matrizes e reprodutores, formação de pastagens, infraestrutura da propriedade e aquisição de rações, sal mineral e outros insumos.

Esses dados vêm a corroborar a constatação *in loco* nos desafios enfrentados pela pecuária leiteira no Tocantins, como em elevar a escala de produção, a escassez de mão de obra qualificada, a dificuldade em tecnificar o processo de produção, apesar dos programas implantados no estado, não conseguiu superar barreiras críticas de uma maneira uniformizada. A situação se agrava pela falta de estímulo das indústrias à melhoria da qualidade do leite; pela ausência da cultura empreendedora

que busque o aporte de novas tecnologias e ganhos em escala e da necessidade de conscientização dos produtores da adoção de manejos com o objetivo de incrementá-la (FIETO, 2019).

Sousa e colaboradores (2018) também destacam outra barreira ao desenvolvimento da atividade leiteira no Tocantins: a fraqueza da governança dos arranjos produtivos locais, o que dificulta a solução de problemas relacionados à qualidade e comercialização do produto. Os autores estudaram a alergia a proteína do leite (APL) da região do Bico do Papagaio, envolvendo 138 produtores, e identificaram a ausência de lideranças capazes de aproximar os atores econômicos e criar as condições necessárias ao estabelecimento da confiança entre eles.

Esse cenário dificulta o desenvolvimento da produção, pois inibe a realização de programas de capacitação aos produtores, bem como a elaboração de projetos para instituições sem fins lucrativos e financiadoras, visando a melhoria da infraestrutura e a aquisição de máquinas e equipamentos, tanto para ordenha mecânica, como para mini-indústrias de produção de derivados (FIETO, 2019).

Para um desenvolvimento consolidado do setor lácteo no Estado há necessidade de modernização e investimentos em toda a cadeia produtiva, pois o setor não tem se adaptado às demandas de tecnologia, e conseqüentemente às regularizações e modernizações que o setor necessita para atender as demandas do mercado. Dentre as propostas para o setor, atrair investimentos para a cadeia de leite do estado, promover o desenvolvimento das indústrias de laticínios regionais, com foco no sistema de produção dos pequenos e médios produtores de forma a fortalecer, desenvolver e estruturar arranjos produtivos locais de leite do estado. Além da necessidade de investimentos na malha rodoviária e logística refrigerada para o setor lácteo (FIETO, 2019).

2.3. Leite – composição, importância na alimentação humana e consumo

De acordo com a Instrução Normativa (IN) 62/2011 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas.

Também é definido como emulsão de coloração branca, opaco, duas vezes mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e de odor pouco

acentuado, sendo uma secreção nutritiva produzida pelas glândulas mamárias das fêmeas dos mamíferos (SARAN NETO & VIDAL, 2018).

Já do ponto de vista físico-químico, o leite é uma solução aquosa de lactose, sais orgânicos e inorgânicos, no qual estão dispersas partículas coloidais de três tamanhos: proteínas do soro dissolvidas ao nível molecular, caseína dispersa como grandes agregados coloidais (micelas) (50 a 500 nm), e lipídeos emulsificados como grandes glóbulos (1 a 20 µm) (FOX, 2004).

De forma geral, a composição média do leite de vaca apresenta cerca de 87-88% de água e de 12-13% de sólidos (Tabela 2). Esta composição varia em função de diversos fatores, como raça, alimentação, individualidade animal, paridade, fase da lactação, época do ano, entre outros (WALSTRA et al., 2006).

Tabela 2 - Composição média dos constituintes do leite de vaca.

Componentes	Composição média	Variação
Água (g/100g)	87,1	85,5 – 88,7
Lactose (g/100g)	4,6	3,8 – 5,3
Gordura (g/100g)	4,0	2,5 -5,5
Proteína (g/100g)	3,3	2,3 – 4,4
Minerais (g/100g)	0,7	0,57- 0,83
Ácidos orgânicos (g/100g)	0,17	0,12 – 0,21
Outros (g/100g)	0,15	-
Sólidos não gordurosos (g/100g)	8,9	7,9 – 10,0
Sólidos totais (g/100g)	12,9	11,3 – 14,7

Fonte: Adaptado de WALSTRA et al., (2006); BRASIL, (2018).

Atualmente, o leite que mais se utiliza na produção de laticínios é o de vaca, em razão das propriedades físico-químicas que possui, das quantidades que se obtém, agradável sabor, fácil digestão, assim como a grande quantidade de derivados obtidos. Contudo, não é o único que se consome, sendo também consumido o leite de cabra, de jumenta, de égua, de camela, entre outros (SARAN NETO & VIDAL, 2018).

O leite bovino e seus derivados são fontes consideráveis de proteínas de alto valor biológico, sendo amplamente consumido pela população mundial com reconhecimento amplo sobre seus benefícios à saúde humana dentro de uma dieta equilibrada e saudável (DUTRA et al., 2007).

O leite está presente diariamente na vida e mesa do povo brasileiro. O Brasil ocupa a 65ª posição no consumo mundial de produtos lácteos, com uma média anual de 169 litros por pessoa, valor abaixo do ideal estabelecido pelas Nações Unidas, que é de 200 a 220 litros por ano. É o quarto maior produtor mundial, com 34 bilhões de litros, sendo Minas Gerais, o maior produtor nacional (ROCHA: CARVALHO: RESENDE, 2021).

No Brasil a estimativa é de que o consumo de leite per capita, em 2017, foi de 173 litros/habitante, sendo considerado um consumo ainda baixo, quando comparado com países desenvolvidos, tendo em vista que os indicadores variam entre 250 - 300 litros nestes países (SIQUEIRA, 2020). Estimativas de FAO (2013) para 144 países em 2005 mostram que os produtos lácteos têm elasticidade de renda, e demanda maiores do que outros produtos alimentícios, como carnes e peixes, por exemplo. Isso ocorre principalmente em países de menor renda per capita, implicando que quanto maior for a renda maior será, em termos percentuais, o consumo de lácteos.

Conforme Siqueira (2019), os níveis de consumo per capita de leite, assim como outros produtos de origem animal, são determinados por uma série de fatores, os quais incluem fatores econômicos tais como nível de renda e preços relativos; fatores demográficos como urbanização, e fatores socioculturais. E segundo o mesmo autor, no Brasil, crescimento econômico e aumento da renda têm sido os principais determinantes do consumo de produtos de origem animal.

Ademais, em 2020 e 2021 com a pandemia e redução da renda do consumidor, principalmente das classes C e D, além do fechamento de pequenos negócios, como sorveteria, padaria e lanchonetes, principais clientes da maioria dos pequenos laticínios, houve uma queda acentuada no consumo de lácteos no Brasil (IEA, 2021). Segundo dados da Pesquisa Trimestral do Leite (IBGE, 2021), houve uma redução de 4,9% na captação do leite no terceiro trimestre de 2021 em relação ao mesmo período de 2020, apesar de ser 6,1% maior que o volume captado no segundo trimestre do mesmo ano, o que normalmente ocorre e é esperado (ME: SECEX, 2021).

No entanto, o comportamento do consumidor é afetado por diferentes fatores culturais, econômicos, sociais e familiares que agem de forma conjunta, interferindo sobre a decisão de compra, ao adquirir um produto (ENGEL et al., 2000). No atual cenário mundial, pesquisar e identificar o perfil consumista do cliente, acaba por se tornar crucial, e, um diferencial para as empresas. Alguns autores (SOLOMOM, 2002;

KOTLER e KELLER, 2006) resumem que o comportamento envolve diferentes processos, como satisfação de necessidades e desejos.

Atualmente, estamos vivendo a era do protagonismo do consumidor, visto que, o mercado seleciona os produtos com base na demanda e necessidade dos consumidores. Nessa lógica, a indústria láctea estando inserida em um mundo altamente competitivo e diverso, para continuar no mercado, precisa entender, valorizar e traduzir os desejos e anseios dos consumidores em seus produtos e propostas de valor.

Atualmente, devido à grande pressão do mercado, a indústria de alimentos necessita se reinventar constantemente para atender as expectativas do consumidor, que a cada ano é mais exigente e preocupado com a saúde e bem-estar, sendo fatores determinantes para a escolha de produtos (PACCHIAROTTI, MENDES e FERREIRA, 2020). Um exemplo disso é o constante crescimento dos produtos destinados aos chamados nichos de mercado. Pessoas que possuem uma ideologia, valores e preferências muito marcantes e inegociáveis e que procuram nas marcas produtos que atendam estas necessidades. (LIOTTI et. al., 2015; EMBRAPA, 2019; NÉMETH et al., 2020; RIZZO; HARWOOD; DRAKE, 2020).

De acordo com Muniz et al. (2013), o conhecimento da frequência e da distribuição da ingestão de leite e derivados pela população é indispensável para direcionar estratégias nacionais e locais de incentivo ao consumo desses alimentos.

A composição proteica do leite reúne várias proteínas específicas, tendo a caseína como a proteína mais importante do leite (85% das proteínas lácteas), apresentando vários tipos de caseínas (alfa, beta, gama, kappa), que possuem estruturas similares, porém, diferente importância para qualidade do leite (BRASIL et al. 2015; KOZERSK et al. 2017).

As caseínas são anfipáticas (características hidrofílicas e hidrofóbicas) e se agregam formando grânulos insolúveis chamados “micelas”, unidas através de fosfato de cálcio. As demais proteínas do leite estão em forma solúvel. As proteínas do soro do leite de vaca são a β -lactoglobulina e a α -lactoglobulina, esta última correspondendo a 2,5% do total de proteínas e funcionando como uma das subunidades da enzima lactase-sintetase (GONZÁLEZ e NORO, 2011). A proteína é o segundo componente que mais variabilidade tem em função dos fatores ambientais, incluindo a nutrição (CARVALHO, 2002).

A função biológica das caseínas na glândula mamária é transportar cálcio, fosfato e proteína para o neonato (KRUIF e HOLT, 2003), compreendem cerca de 80% das proteínas do leite e consistem de quatro proteínas principais: α 1-, α 2-, β - e κ caseína, representando cerca de 38%, 10%, 35% e 15%, respectivamente, as quais são constituídas por 199, 207, 209 e 169 resíduos de aminoácidos, com pesos moleculares de 23, 25, 24 e 19 kDa, respectivamente (GOFF, 2009) e 8% de fosfato de cálcio coloidal aproximadamente (DALGLEISH, 2011).

2.4. Polimorfismo do gene CSN-2 (beta caseína)

O leite é composto por proteínas do soro que são as beta-lactoglobulinas e alfa-lactoalbumina, e, também por caseínas que podem ser beta-caseínas, codificadas pelo gene CSN-2, kappa-caseínas, alfa s1 e alfa s2. As beta-caseínas (CSN2) possuem treze variantes, em que as mais comuns são a variante A1 e a variante A2. Esses dois alelos se diferem apenas por um nucleotídeo, em decorrência do polimorfismo no éxon 7 do sexto cromossomo, em que há a modificação de um nucleotídeo na posição 67 da cadeia, com os aminoácidos prolina (A2), e histidina (A1). São citadas ainda as variantes A3, A4, B, C, D, E, F, H1, H2, I e G que são menos observadas (CORBUCCI & SADER, 2017; PACCHIAROTTI, MENDES e FERREIRA, 2020).

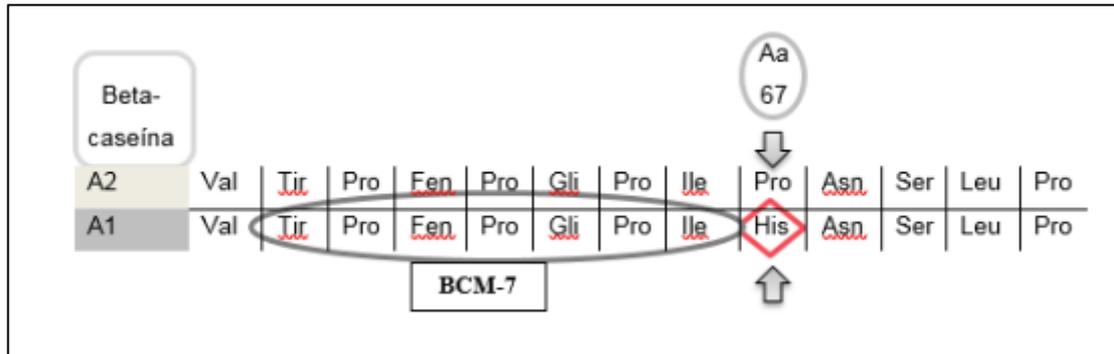
A beta-caseína representa 30% da proteína total do leite de vaca (HAQ et al., 2013; KEATING et al., 2008), e a variante beta caseína A1 pode apresentar homozigose (A1A1) e heterozigose (A1A2), sendo conhecido como “leite A1”. Já a Beta-caseína A2 apresenta homozigose (A2A2) e é denominada de “leite A2” e expressa a síntese de beta-caseína A2 (BARBOSA et al, 2019).

A beta-caseína A2 é reconhecida como a variante original, pois existia antes da mutação pontual no aminoácido 67, onde surge o aminoácido “Histidina” no lugar do aminoácido “Prolina”. A beta-caseína A1 apresenta o aminoácido “Histidina”, na posição 67, enquanto a beta-caseína A2 apresenta o aminoácido “Prolina” (BELL et al., 2006; DE NONI e CATTANEO, 2010; HO et al., 2014; NGUYEN, 2015; PAL et al., 2015; SHARMA et al., 2013), como observado na figura 3.

Vale ressaltar que o surgimento dessa mutação se deu entre cinco mil e dez mil anos atrás, em rebanhos europeus - taurinos (HO et al., 2014). A priori, existiam apenas animais com genotipagem A2A2, todavia, cruzamentos aleatórios

desencadearam aumento do número de animais com genes A1, o que foi difundido com o passar dos anos.

Figura 3 - Fragmento das variantes genéticas β -caseína A1 e A2 bovinas, destacando a diferenciação de aminoácido na posição 67, responsável pela clivagem diferencial e liberação de BCM-7.



Fonte: Barbosa et al., 2019.

Embora a diferença na estrutura seja sutil, estas variantes de β -caseína são digeridas de forma diferente. A His⁶⁷ favorece a liberação do peptídeo opioide β -casomorfina-7 (BCM-7), durante sua digestão gastrointestinal, por outro lado, a presença do resíduo de aminoácido Pro⁶⁷ na β A2 não a torna suscetível a esta liberação, ou seja, não ocorre à liberação do BCM-7 ou ocorre em quantidades muito pequenas, gerando o peptídeo β -casomorfina-9 (BCM-9) (KOSTYRA, 2004).

Durante o processo de metabolização da variante A1 ocorre a liberação de metabólitos bioativos, em que o resíduo de histidina durante a hidrólise enzimática pelas enzimas gastrintestinais libera como subproduto a beta-casomorfina-7, que é um peptídeo bioativo ou peptídeo opioide que possui atividades biológicas com a capacidade de agir sobre a motilidade gastrointestinal e de secreção gástrica e pancreática (JIANQUIN et. al., 2016; BARBOSA et.al., 2019).

A BCM-7 também pode ser encontrada em derivados do leite A1, tais como iogurte e queijos (NONI, 2008), embora sejam propostos que certos microrganismos presentes nestes produtos teriam a capacidade de hidrolisar o BCM-7 até peptídeos menores ou mesmo em aminoácidos (NONI, 2008). Ainda não foi demonstrado se tais microrganismos também apresentam similar influência dentro do trato gastrintestinal (NGUYEN et al., 2014). Pode ser prospectado ainda, o potencial da microbiota intestinal humana em hidrolisar peptídeos bioativos, incluindo aqueles com atividade opioide (NGUYEN et al., 2014).

O peptídeo bioativo com opioide BCM-7, tem sido sugerido como suspeita de ser o fator de risco para doenças humanas como diabetes tipo 1, doença cardíaca coronária, síndrome da morte infantil, distúrbios neurológicos (por exemplo, autismo e esquizofrenia) e alergia ao leite (ELLIOTT 1992; MCLACHLAN 1996, 2001; LAUGESEN e ELLIOTT 2003; WOODFORD, 2007). Entretanto, embora exista tais relatos, associando as doenças com o consumo de leite, outros estudos não conseguiram demonstrar essa mesma associação (HUNTER et al. 2003; TRUSWELL 2005; CHIN DUSTING et al. 2006; VENN et al. 2006; CASS et al. 2008).

Mais recentemente, novas pesquisas apontaram para possíveis intolerâncias e efeitos gastrointestinais do BCM7, associando o consumo de leite CSN2 A1A1 ao retardo do trânsito intestinal, consistência das fezes, inflamação, e desconfortos gastrointestinais (BROOKE-TAYLOR et al. 2017).

Embora os estudos e a seleção de animais baseiam-se exclusivamente na seleção de genótipos A2A2 ou produção de leite A2, e, se tenha a ideia da associação do variante A2, que tem o aminoácido prolina na posição 67, e que não liberam o opóide BCM7, as variantes A3, D, E, H2 e I se comportam da mesma forma não liberando o BCM7 e também podem ser definidas como tipo A2. Já as variantes B, C, F, G, H1 possuem o aminoácido Histidina na posição 67 (His⁶⁷) e potencialmente liberam BCM-7, e podem ser definidas como tipo A1 (HEDGE, 2019; TRUSWELL, 2005; CHESSA et al. 2014; CHESSA et al. 2020)

Assim, para manter a variabilidade genética, todas as variantes devem ser consideradas, para produzir o chamado leite A2, vacas homozigotas para alelo A2, juntamente com o homozigoto e o heterozigoto para os alelos do tipo A2, podem ser usados, uma vez que nenhum BCM7 será lançado (HEDGE, 2019; CHESSA et al. 2020).

Chessa et al. (2020) em estudos analisando as frequências das principais variantes de beta caseína e haplótipos em rebanhos da Itália para as raças Holandesa puro de origem, raça Holandesa Italiana, e raça Jersey Italiana verificaram que do total de genótipos, A2A2 (A2A2 real e A2A2-tipo) representou 36% no gado Holandes puro de origem (HPO), 37% no gado Holandes Italiano (HI), e 63% no gado Jersey Italiano (JI). Em relação ao genótipo A1A1 (real A1A1 e A1A1-tipo) a proporção foi 16% no HPO, 15% em HI e 5% em JI, e o total de A1A2 (tipo A1A2 e A1A2 real) foi 48% em HPO e HI e 32% em JI.

Assim, parece que outras estratégias de seleção, ao invés da seleção direta para aumentar frequência alélica de A2, estão mudando a frequência das demais variantes de caseína, o que provavelmente pode comprometer as propriedades tecnológicas do leite, uma vez que a variante beta caseína B é considerada positivamente associada a esta propriedade, embora pertença às variantes do tipo A1. Portanto, a seleção contra esta variante pode determinar um agravamento das propriedades tecnológicas do leite (HEDGE, 2019; CHESSA et al. 2020).

2.5. Frequências dos alelos A1 e A2 do gene CSN-2 (beta caseína), e dos genótipos A1A1, A1A2 E A2A2 em populações bovinas.

No Brasil, estudos relacionados a frequência da presença dos alelos para beta caseína ainda são escassos, principalmente referente a rebanhos zebuínos. Estudo realizado por Paschoal et al. (2017) com vacas Gir leiteiro encontraram 41% (7/17) apresentavam o alelo A1A2 e 59% (10/17) apresentavam o alelo A2A2. Kaminski et al. (2007) constataram maior frequência do alelo A1 para as raças taurinas. Hanusová et al. (2010), na raça Holandesa, identificaram maior frequência para o alelo A1 com 54% e 60% para fêmeas e machos, respectivamente.

Já na raça Gir Leiteiro foram relatadas frequências de 89% para o alelo A2 e 11% para o alelo A1 (VERCESI FILHO, 2011). Sendo assim observa-se uma associação do polimorfismo genético com a raça, sendo que as raças de origem zebuína têm apresentado maior frequência do alelo A2. Em estudo realizado no Rio Grande do Norte, Rangel et al. (2017) encontraram uma frequência de 98 e 97% para o alelo A2, e de 96% e 93% para o genótipo A2A2 nas raças Gir e Guzerá, respectivamente.

Segundo Kamiński et al. (2007) a frequência do alelo A1 em diferentes raças varia de 6% (Guernsey), 1% a 12% (Jersey) e 31% a 66% (holandês). E o alelo A2 é predominante em raças zebuínas (TAILFORD et al., 2003). Ayaza et al. (2022) trabalhando com rebanhos das raças Lohani, Achai, Jersey, Holstein Friesian, Achai x Jersey, Friesian x Sahiwal e Sahiwal x Friesian de diferentes regiões da província de Khyber Pakhtunkhwa no Paquistão, observaram que o gado Holstein Friesian exibiu A1A2 em 33%, A1A1 em 50% e A2A2 em 17% das amostras analisadas. Já para o rebanho Jersey obteve 68% com A1A1, 18% com A1A2 e 14% com A2A2. No gado Sahiwal x Friesian encontraram 56% com A1A1, 26% com A1A2 e 18% com

A2A2. Enquanto no gado Jersey observaram 78% com A2A2, 15% com A1A2 e 7% com A1A1, e nos rebanhos Achai e Lohani 100% das amostras foram A2A2.

Ozcam & Boztepe (2022) em estudos realizados com quatro raças bovinas (Holandes, Pardo Suíço, Jersey e Simental) em duas províncias da Turquia, observaram frequências dos alelos A1 e A2, da ordem de 47,5/52,5 %, 37/63 %, 21,5/78,5 % e 44/56 %, respectivamente para as raças Holandes, Pardo Suíço, Jersey e Simental. Em relação aos genótipos A1A1, A1A2 e A2A2 encontraram 24/47/29 %, 15/44/41 %, 3/37/60 %, e 16/56/28 %, respectivamente para as raças Holandes, Pardo Suíço, Jersey e Simental.

Chessa et al. (2020) em estudos analisando as frequências das variantes A1 e A2 de beta caseína em rebanhos da Itália para as raças Holandesa puro de origem, raça Holandesa Italiana, e raça Jersey Italiana verificaram para somente os genótipos A1A1, A1A2 e A2A2 as frequências de 14/40/30 %, 13/41/32 %, e 0/6/54 %, respectivamente para as raças Holandesa puro de origem, raça Holandesa Italiana, e raça Jersey Italiana.

Hortoloni (2019) analisando dados provenientes de 2.496 animais da raça Gir, sendo 408 machos e 2.088 fêmeas, observaram para machos, uma frequência genotípica para beta caseína foi de 0,01, 0,15 e 0,84 para os genótipos A1A1, A1A2 e A2A2, respectivamente. Para as fêmeas a frequência genotípica para a beta caseína foi similar, de 0,01 0,19 e 0,80 para A1A1, A1A2 e A2A2, respectivamente. A frequência alélica para a beta-caseína foi de 0,09 para o alelo A1 e 0,91 para o A2, nos machos e, nas fêmeas, de 0,11 para o alelo A1 e de 0,89 para o alelo A2.

Lina e Lara (2015) analisando 155 bovinos das raças Caracu, Gir, Holandês e Sindi para a variabilidade do polimorfismo de beta caseína (alelos A1 e A2) pela técnica de PCR-RFLP, verificaram que as frequências do alelo A2 variaram de 0,5 (Holandês) a 0,92 (Gir). As frequências dos genótipos A1A1, A1A2 e A2A2, estimadas para o Caracu, foram 0,08, 0,58 e 0,34 e, para o Gir, 0,02, 0,13 e 0,85, respectivamente. Rangel et al (2017) encontraram frequências alélicas de 98 e 97%, e genotípicas de 96 e 93% para a beta-caseína A2, nas raças Gir e Guzerá, respectivamente, e não houve frequência do genótipo A1A1.

Massella et al (2017) em levantamento com 1226 vacas holandesas de duas propriedades leiteiras na Itália, encontraram frequências genotípicas de 13,9% para A1A1, 40,3% para A1A2 e 30,1% para A2A2, e as frequências alélicas foram de 37,1 e 54,6% para A1 e A2, respectivamente. Sebastiani et al (2020), trabalhando com esta

mesma raça, encontraram frequência alélica de 60,65 e 30,39% para A2 e A1, respectivamente, e 8,96% para os demais alelos da beta-caseína. E frequência genotípica de 36,96, 35,79 e 9,88% para A2A2, A1A2 e A1A1, respectivamente.

A identificação de alelos polimórficos relacionados à produção de leite, não excreção de bioativos opioides, teores de gordura e proteína pode levar o produtor a direcionar melhor a seleção e os acasalamentos em seu rebanho para que ocorra um aumento na frequência gênica ou genotípica desejada. Especificamente, o genótipo A2A2 em bovinos, em que vários estudos têm associado essa variante ao fenótipo superior para características de qualidade do leite, melhor digestibilidade e menor impacto sobre a saúde humana.

2.6. Perfil do consumidor de leite

O leite é uma das commodities agropecuárias mais importantes do mundo e todos os dias, bilhões de pessoas consomem leite no mundo, nas suas mais diversas formas. Ele apresenta importância econômica como fonte de renda e sobrevivência para grande parte da população mundial, além de ser uma fonte vital de nutrição (GDP, 2017; SIQUEIRA, 2019).

Segundo FAO (2013), estima que, todos os dias, bilhões de pessoas consomem leite no mundo, nas suas mais diversas formas, sendo um dos produtos mais versáteis da agroindústria de alimentos, que pode ser consumido na sua forma original ou transformado em diversos tipos de produtos, que variam desde diferentes tipos de queijos e manteiga até iogurte, bebida láctea, leite condensado, leite fermentado e doce de leite.

Dados do GDP (2017), 816 milhões de toneladas de leite são produzidos anualmente no mundo e, em média, 116,5 equivalentes kg de leite são consumidos por cada habitante por ano (HEMME, 2018). No Brasil estima-se que o consumo aparente per capita foi de 166,4 L/hab. (em 2018), valor que ainda se encontra abaixo do consumo verificado em outros países desenvolvidos (cerca de 250-300). Contudo, ainda existe a comercialização do leite cru no mercado brasileiro varejista, devido a fatores culturais e sociais, falta de conhecimento ou percepções errôneas do produto.

Os níveis de consumo de leite, assim como outros produtos de origem animal, são determinados por uma série de fatores, os quais incluem fatores econômicos,

renda e preços relativos; fatores demográficos como urbanização, e fatores socioculturais (SIQUEIRA, 2019).

Nos últimos anos, as mudanças mais acentuadas no que se refere à alimentação, já não estão relacionadas ao surgimento de novos alimentos ou novas formas de preparo, mas sim ao comportamento do consumidor sobre os inúmeros tipos de alimentos disponíveis e a sua orientação alimentar, atrelados a seu poder de compra (DEZANI; LA RETONDO; WAIDEMAN, 2015; LAMBERT et. al., 2005).

O fator renda e poder de compra sempre foi e ainda permanece como um grande limitador no consumo de leite no Brasil, fato que foi observado devido à queda no consumo nos anos de 2020 e 2021, durante a pandemia, em que houve uma queda no poder aquisitivo dos brasileiros. Carvalho et al. (2015), analisando dados de 2008/2009, verificaram que um aumento de 1% no preço provoca queda de 1,038% na demanda de leite pasteurizado, 0,71% na demanda de leite em pó, 0,571% na demanda de muçarela, 0,97% na demanda de leite condensado e 0,239% no consumo de iogurte.

Entender o comportamento não é fácil, algumas empresas de marketing desenvolveram uma metodologia para acompanhar os padrões do consumidor, em que a população é segregada por gerações (SIQUEIRA, 2019). Esse modelo divide a população em seis gerações que apresentam comportamentos distintos e específicos que favorecem sua definição por produtos e seus influenciadores.

Em estudo sobre o comportamento da população brasileira sobre sua percepção sobre os hábitos de consumo e o seu esclarecimento quanto a qualidade nutricional, sanitária e do serviço de inspeção do leite Júnior et al (2020) verificaram que 89% dos entrevistados consomem o leite fluido, em que 83,5% têm preferência por leite longa vida, 92,3% preferem o queijo como derivado, sendo que 72,7% do leite adquirido advêm de supermercados. Uma proporção de 7,3% relatou adquirir com frequência leite cru, sendo que 77,3% afirmam não realizar nenhum tratamento térmico que lhe confira segurança microbiológica, do total de entrevistados 38,2% consome leite mais de cinco vezes por semana. Concluindo assim, a existência da falta de esclarecimento do consumidor sobre a qualidade nutricional e sanitária do leite e derivados, sendo indispensável a realização de programas de conscientização que visem a minimização de perigos sanitários de produtos clandestinos.

Pesquisa realizada por Dezani: La Retondo: Waideman (2015) revelaram que o formato de varejo alimentício preferido pela população do município estudado é o

supermercado. O fator determinante na escolha desse formato de varejo é a facilidade de acesso, haja vista que os supermercados estão distribuídos por toda a cidade. O produto lácteo predileto é o leite condensado, as variáveis que determinam a compra desse produto são o preço, a marca e o sabor. Mais de 50% das pessoas acreditam que o consumo de lácteos traz benefícios a saúde, e quase 20% fazem uso de tais alimentos em busca da forma física ideal. E aproximadamente 14% consomem leite e seus derivados por recomendações médicas.

Molina, Pelissari e Feihrmann (2010) em estudo na cidade de Maringá, Estado do Paraná verificaram que o mais importante para o consumidor, no momento da compra, encontra-se na relação entre preço e qualidade do produto, e aproximadamente metade dos entrevistados (48,17%) tem preferência pelo leite integral, seguido pelo desnatado com 26,20%. Entretanto, constatou-se que 8,73% dos entrevistados declararam não consumir leite, e a maior parte dos casos justificava-se por possuírem algum nível de desconforto gastrointestinal. Enquanto isso, o iogurte e os queijos foram apontados como os derivados com maior percentual de frequência de consumo e aceitação.

Regis et al (2019) em estudo sobre o perfil do consumidor de leite e preferência de consumo no município de Santa Inês, Bahia por meio de um questionário aplicado a 384 pessoas, revelaram que os entrevistados preferem mais o leite em pó e que ainda há consumo de leite cru, e ,que as preferencias no momento da compra são marca e preço além do prazo de validade. Vidal et al (2013) também avaliando as preferencias e consumo de leite 805 entrevistados em São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, verificaram que 97,76% (787/805) dos entrevistados consomem leite ou seus derivados, e aproximadamente 30% são obtidos por meios informais de comércio. Além disso, 80,24% (646/805) dos consumidores não procuram nas embalagens se o produto passou por algum tipo de fiscalização antes de chegar ao comércio.

Tuzzi et al. (2019) em estudo mais completo sobre o processo de modernização e consumo de leite e derivados em Santa Catarina, Brasil, através da aplicação de um questionário obtiveram que 62,6% dos entrevistados consomem leite diariamente, 20,9% consomem com índice de frequência semanal e apenas 5% dos indivíduos não consomem esse produto. Um total de 93,2% dos consumidores compra leite e produtos derivados em supermercado, e 4% preferem comprar leite e derivados

diretamente do produtor, alegando ser um produto mais saudável, com menos conservantes.

Nesse mesmo trabalho, os autores Tuzzi et al. (2019), observaram ainda que fatores preço e informação nutricional estão bastante interligados, uma vez que, potenciais consumidores de leite e derivados, demonstram preocupação com os gastos. Por conseguinte, a embalagem procedida de inovação, também foram relatados como fator de decisão. Os entrevistados também foram questionados em relação às restrições alimentares no consumo de leites e derivados, e percebeu-se que 12,6% dos entrevistados possuíam intolerância à lactose ou alergia à proteína do leite ou desconforto gastrointestinal ao ingerir produtos lácteos.

De acordo com os resultados das pesquisas analisadas tem-se observado que o setor lácteo vem se modernizando ao longo dos anos, assim como apresentando produtores, embalagens, rótulos e novos produtos que venham atender a demanda relacionada às restrições alimentares e nutricionais, vida do consumidor, orientação e facilidade de acesso, durabilidade e variedade. Além disso, os consumidores enfatizam a busca por alimentos favoráveis a uma vida saudável, não só relacionada às restrições à lactose ou à proteína do leite, como também relacionada a leite e derivados com percentual de gordura reduzido, de maneira a controlar doenças (CARVALHO e OLIVEIRA, 2006; VILELA et al. 2016; FIETO, 2018; SIQUEIRA, 2019).

REFERÊNCIAS

ASSIS, J. de et al. Cadeia produtiva do leite no Brasil no contexto do comércio internacional. **Revista de Ciências Empresariais**, v. 17, n. 1, p. 63-93, 2016. Disponível em: <<https://revistas.unipar.br/index.php/empresarial/article/view/5199>>.

AYAZ et al. Detection of A2A2 genotype of beta casein protein (CSN2) gene in local, exotic and cross bred cattle in Pakistan. **Animal Biotechnology**, p. 1-12, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2022.2031204>

BANDEIRA, A. **Melhoria da qualidade e a modernização da pecuária leiteira nacional**. In: GOMES, A. T.; LEITE J. L.; CARNEIRO A. V. (Eds.) O Agronegócio do leite no Brasil. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 89-100.

BARBOSA, M. G. et al. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019004-e019004, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8652981>

BELL, S. J. et al. Health implications of milk containing β -casein with the A2geneticvariant. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 46, n. 1, p. 93-100, 2006. <https://doi.org/10.1080/10408390591001144>

BENTIVOGLIO, D. et al. Is there a promising market for the A2 milk? Analysis of Italian consumer preferences. **Sustainability**, v. 12, n. 17, p. 6763, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/su12176763>

BODNÁR, Á. et al. A2 milk and its importance in dairy production and global market. **Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia**, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2018. DOI: <https://doi.org/10.17205/SZIE.AWETH.2018.1.001>

BRASIL, R. B. et al. **Estrutura e estabilidade das micelas de caseína do leite bovino**. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 76**. Aprovar os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Brasília, DF: 26 de novembro de 2018. Diário Oficial da União, Brasília, 2018.

BROOKE-TAYLOR, S. et al. Systematic review of the gastrointestinal effects of A1 compared with A2 β -casein. **Advances in nutrition**, v. 8, n. 5, p. 739-748, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3945/an.116.013953>

CARRERO, G. C. et al. A cadeia produtiva da carne bovina no Amazonas. **Manaus: Idesam**, 2015. Disponível em: <https://idesam.org/publicacoes/a-cadeia-produtiva-da-carne-bovina-no-amazonas/>

CARVALHO, G. R. et al. DEMAND ANALYSIS ON FOOD:: EFFECTS OF BOLSA FAMÍLIA ON DAIRY CONSUMPTION AS A SOURCE OF CALCIUM. **Planejamento E Políticas Públicas**, n. 45, 2015.

CARVALHO, G. F., et al. **Milk yield, somatic cell count and physicochemical characteristics of raw milk collected from dairy cows in Minas Gerais state**. In: Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle da Mastite. Anais... Ribeirão Preto, 2002.

CARVALHO, G. R.; DE OLIVEIRA, A. F. O setor lácteo em perspectiva. **Embrapa Territorial-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 2006.

CARVALHO, L. A. et al. **Sistema de Produção de Leite (Cerrado)**. Embrapa Gado de Leite, Sistema de Produção, 2. Documento Eletrônico. 2002. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteCerrado/introducao.html>

CASS, H. et al. Absence of urinary opioid peptides in children with autism. **Archives of Disease in Childhood**, v. 93, n. 9, p. 745-750, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1136/adc.2006.114389>

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA. **Variação mensal do índice de custos de produção de leite**. Piracicaba: CEPEA, 2021. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/variacao-mensal-do-indice-de-custos-de-producao-de-leite.aspx>.

CHESSA, S. et al. Selection for milk coagulation properties predicted by Fourier transform infrared spectroscopy in the Italian Holstein-Friesian breed. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 7, p. 4512-4521, 2014. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7798>

CHESSA, S. et al. The effect of selection on casein genetic polymorphisms and haplotypes in Italian Holstein cattle. **Italian Journal of Animal Science**, v. 19, n. 1, p. 833-839, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1802356>

CHIN-DUSTING, J. et al. Effect of dietary supplementation with β casein A1 or A2 on markers of disease development in individuals at high risk of cardiovascular disease. **British Journal of Nutrition**, v. 95, n. 1, p. 136-144, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN20051599>

CIEŚLIŃSKA, A. et al. Genetic polymorphism of β -Casein gene in Polish Red Cattle—Preliminary study of A1 and A2 frequency in genetic conservation herd. **Animals**, v. 9, n. 6, p. 377, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani9060377>

CORBUCCI, FLÁVIO SADER. Beta-caseína A2 como um diferencial na qualidade do leite. 2017. 23 f. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2017.

DA ROCHA, D. T.; CARVALHO, G. R.; DE RESENDE, J. C. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária. **Embrapa Gado de Leite-Circular Técnica** (INFOTECA-E), 2020.

DALGLEISH, DOUGLAS G. On the structural models of bovine casein micelles—review and possible improvements. **Soft matter**, v. 7, n. 6, p. 2265-2272, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1039/C0SM00806K>

DE LEITE, **Embrapa Gado. Sistema de Produção de Leite** (Zona da Mata Atlântica). 2009. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Leite/LeiteZonadaMataAtlantica/>. Acesso em: 14 abr. 2022.

DE NONI, I.; CATTANEO, S. Liberação de β -casomorfina 5 e 7 durante a digestão gastrointestinal simulada de variantes de β -caseína bovina e fórmulas infantis à base de leite. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 897-903, 2008.

DEZANI, A. A; LA RETONDO B. B; WAIDEMAN M. A. Determinantes de consumo dos produtos derivados do leite. **Revista Eletrônica de Administração** (online)., v. 14, n.1, ed. 26. 2015.

DUTRA, E. S; FRANCO, M. C; OTERO, I. **Alimentação saudável e sustentável**. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 2007. 92 p.

ELLIOTT, R. B. et al. Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. **Diabetologia**, v. 42, n. 3, p. 292-296, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001250051153>. PMID:10096780

ELLIOTT, ROBERT B. Epidemiology of diabetes in polynesia and New Zeland: child health research unit. **Pediatric and adolescent endocrinology**, v. 21, p. 66-71, 1992.

EMBRAPA DAIRY CATTLE. **Cattle breeding allows for production of less allergenic milk**, Embrapa, 7 nov. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/29569359/cattle-breeding-allows-for-production-of-less-allergenic-milk>. Acesso em: 14 abr. 2022.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Anuário leite**. Embrapa: Texto comunicação corporativa, 2021. 104 p. Disponível em: embrapa.br/gado-de-leite. Acesso em: 14 abr. 2022.

EMBRAPA. Anuário Leite 2019: sua excelência, o consumidor. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa. **Embrapa Gado de Leite**, 2019.

ENGEL, J. F; BLACKWELL, R. D; MINIARD, P. W. **Comportamento do consumidor**. 8. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000.

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DO TOCANTINS (FIETO). **Lácteos: plano estratégico para as cadeias produtivas do agronegócio no Estado do Tocantins: 2018 - 2027** / José Roberto Fernandes (Coordenador). Palmas, TO: Sistema FIETO, 2018. 170 p. ISBN: 978-85-60759-44-6.

FERREIRA, A. G. G. et al. Perfil dos consumidores de leite bovino in natura no município de Santana do Ipanema—Alagoas. **Revista Nutritime Eletrônica**, v. 14, n. 4, p. 6056-6065, 2017.

FOX, P. F. et al. (Ed.). **Cheese: chemistry, physics and microbiology, volume 2: major cheese groups**. Elsevier, 2004.

GDP – Global Dairy Platform. **Annual Review 2016**. Rosemont, IL, [2017]. Disponível em: <<https://www.globaldairyplatform.com/wp-content/uploads/2018/04/2016-annual-review-final.pdf>>.

GIGLIOTI, R. et al. New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples. **Food chemistry**, v. 313, p. 126167, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126167>

GIGLIOTI, R. et al. Novel LNA probe-based assay for the A1 and A2 identification of β -casein gene in milk samples. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 3, p. 100055, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100055>

GOFF, H. D. **University of Guelph. Dairy Science and Technology**. [online], 2009. Disponível em: <https://www.uoguelph.ca/foodscience/dairyscience-and-technology/dairy-chemistryand-physics>. Acesso em: 10 de Agosto de 2013.

GONZÁLEZ, F. H. D; NORO, G. **Variações na composição do leite no subtrópico brasileiro**. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; PINTO, A.T.; ZANELLA, M.B.; FISCHER, V.; BONDAN, C. Qualidade do leite bovino: variações no trópico e no subtrópico, Passo Fundo: UPF Editora, 2011, cap.2, p.28-53.

HANUSOVÁ, E. et al. Genetic variants of beta-casein in Holstein dairy cattle in Slovakia. **Slovak Journal of Animal Science**, v. 43, n. 2, p. 63-66, 2010. Available from: http://www.cvzv.sk/slju/10_2/Hanusova.pdf

HAQ, M. R. U. et al. Comparative evaluation of cow β -casein variants (A1/A2) consumption on Th 2-mediated inflammatory response in mouse gut. **European journal of nutrition**, v. 53, n. 4, p. 1039-1049, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0606-7>

HE, M. et al. Effects of cow's milk beta-casein variants on symptoms of milk intolerance in Chinese adults: a multicentre, randomised controlled study. **Nutrition journal**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12937-017-0275-0>.

HEGDE, NARAYAN G. Research on A1 and A2 milk: A1 milk is not a matter of health concern. **Indian J Anim Sci**, v. 89, n. 7, p. 707-711, 2019.

HEMME, T. (ed.). **IFCN Dairy Report 2018**. Kiel, Germany: IFCN, 2018.

HO, S. et al. Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: blinded randomised cross-over pilot study. **European journal of clinical nutrition**, v. 68, n.9, p. 994-1000, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.127>

HOFFMANN, A. **Alimentos seguros: desafio tecnológico em resposta à sociedade**. IN: OLHARES PARA 2030: DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. Agregação de valor nas cadeias produtivas agrícolas. Disponível em: <https://www.embrapa.br/olhares-para-2030/agregacao-de-valor-nas-cadeias->

produtivas-agricolas/-/asset_publisher/SNN1QE9zUPS2/content/alexandre-hoffmann?redirect=%2Ffolhas-para-2030%2Fagregacao-de-valor-nas-cadeias-produtivas-agricolas&inheritRedirect=true

HOLT, C. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein micelles and its application to the calculation of the partition of salts in milk. **European Biophysics Journal**, Germany, v. 33, p. 421-434, 2004.

HOLT, C. et al. Substructure of bovine casein micelles by small-angle X-ray and neutron scattering. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 213, p. 275–284, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(02\)00520-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(02)00520-4)

HORTOLANI, BRUNA Estudo de características produtivas da raça Gir leiteiro. Nova Odessa, SP: [s.n.], 2019. 65p.; II. **Dissertação** (mestrado) – Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, Nova Odessa. IN: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfs/1569327486.pdf>

HOTT, M. C; ANDRADE, R. G; MAGALHÃES Jr., W. C. P. Distribuição da produção de leite por estados e mesorregiões. **ANUÁRIO LEITE 2021**. p. 10-13, 2001. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1134836/1/Distribuicao-producao-leite.pdf>

HUNTER, L. C. et al. Opioid peptides and dipeptidyl peptidase in autism. **Developmental medicine and child neurology**, v. 45, n. 2, p. 121-128, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0012162203000227>

IBGE - **Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira: 2016 / IBGE**, Coordenação de População e Indicadores Sociais. - Rio de Janeiro: IBGE, 2016 146 p. - (Estudos e pesquisas. Informação demográfica e socioeconômica, ISSN 1516-3296; n. 36)

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Banco de dados: preços médios recebidos pelos agricultores**. São Paulo: IEA, 2021. Disponível em: http://ciagri.iea.sp.gov.br/nia1/precos_medios.aspx?cod_sis=2.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. **Comportamento do Mercado de Leite em 2021 e Expectativa para 2022**. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/TerTexto.php?codTexto=16001>

JIANQIN, S. et al. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. **Nutrition journal**, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0147-z>. PMID: 27039383

KAMIŃSKI, S; CIEŚLIŃSKA, A; KOSTYRA, E. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. **Journal of applied genetics**, v. 48, n. 3, p. 189-198, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03195213>. PMID: 17666771

KEATING, A. F. et al. A note on the evaluation of a beta-casein variant in bovine breeds by allele-specific PCR and relevance to β -casomorphin. **Irish Journal of Agricultural and Food Research**, p. 99-104, 2008.

KOTLER, P., KELLER, K. L. **Administração de Marketing. Tradução Sônia Midori Yamamoto; revisão técnica Edson Crescitelli**. – 14. ed. – São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2012.

KOTLER, P.; KELLER, L. K. **Administração de Marketing**. 12. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2006.

LAMBERT, D. M.; GARCÍA-DASTUGUE, S. J.; CROXTON, K. L. An evaluation of process-oriented supply chain management frameworks. **Journal of business Logistics**, v. 26, n. 1, p. 25-51, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.2158-1592.2005.tb00193.x>

LAUGESEN, M; ELLIOTT, R. Ischaemic heart disease, type 1 diabetes, and cow milk A1 beta-casein. **The New Zealand Medical Journal (Online)**, v. 116, n. 1168, 2003.

LIMA, A. C. J.; LARA, M. A. C. Polimorfismo do gene β -Caseína em bovinos. **Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA**, v. 6, n. 1, p. 280-285, 2015.

LOBÃO, MÁRIO SÉRGIO PEDROZA. NOTAS SOBRE A ECONOMIA RURAL DA REGIÃO NORTE BRASILEIRA. **RDE-Revista de Desenvolvimento Econômico**, v. 3, n. 41, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.21452/rde.v3i41.5613>

MAIA, G. B. da S. et al. Produção leiteira no Brasil. **BNDES Setorial**, n. 37, mar. 2013, p. 371-398, 2013.

SANTOS, M. A. S. et al. Fatores tecnológicos de modernização da pecuária leiteira no estado do Tocantins. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.7, n.3, p. 591-612, set./dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2014v7n3p%25p>

• MCLACHLAN, C. N. S. New Zealand **patent application** 306584. 1996.

MCLACHLAN, C. N. S. β -casein A1, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. **Medical Hypotheses**, v. 56, n. 2, p. 262-272, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1054/mehy.2000.1265>. PMID: 11425301

MCMAHON, D. J.; OOMMEN, B. S. **Casein micelle structure, functions, and interactions**. In: Advanced dairy chemistry. Springer, Boston, MA, p. 185-209. 2003.

MEDEIROS, IZAAC PEREIRA DA SILVA. Efeito do polimorfismo do gene da beta-caseína na qualidade do leite da raça Sindi. 64f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal). Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos - PB, 2020. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/16576>

MEGIDO, J.L.T. **Liderança, empreendedorismo e cooperativismo no agronegócio do futuro**. IN: OLHARES PARA 2030: DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL.

Protagonismo do consumidor. Disponível em: https://www.embrapa.br/olhares-para-2030/protagonismo-do-consumidor/-/asset_publisher/SNN1QE9zUPS2/content/jose-luiz-tejon-megido?redirect=%2Folhares-para-2030%2Fprotagonismo-do-consumidor&inheritRedirect=true

MILAN, A. M. et al. Comparison of the impact of bovine milk β -casein variants on digestive comfort in females self-reporting dairy intolerance: a randomized controlled trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 111, n. 1, p. 149-160, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz279>

MINISTÉRIO DA ECONOMIA. Secretaria de Comércio Exterior. **Sistema ComexStat: exportação e importação geral**. Brasília: ME: SECEX, 2021. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br>. Acesso em: 30 dez. 2021.

MOLINA, G., PELISSARI, F. M., FEHRMANN, A. C. Perfil do consumo de leite e produtos derivados na cidade de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Technology, Maringá**, v. 32, n. 3, p. 327-334, 2010. DOI: 10.4025/actascitechnol.v32i3.36.

MUNIZ, L. C; MADRUGA, S. W.; ARAÚJO, C. L. Consumo de leite e derivados entre adultos e idosos no Sul do Brasil: um estudo de base populacional. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 18, p. 3515-3522, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232013001200008>

NÉMETH, A., SZABÓ E., ÓZSVÁRI L. Development of Lactose Free, Functional Dairy Foods based on Consumer Survey. Rev. **GRADUS**, v. 7, n. 1, p. 26-29, 2020. DOI: <https://doi.org/10.47833/2020.1.AGR.006>

NGUYEN, D. D. et al. Formation and degradation of beta-casomorphins in dairy processing. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 14, p. 1955-1967, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.740102>

NGUYEN, D. D. et al. Isotope dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry for simultaneous identification and quantification of beta-casomorphin 5 and beta-casomorphin 7 in yoghurt. **Food chemistry**, v. 146, p. 345-352, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.057>

DE NONI, IVANO. Release of β -casomorphins 5 and 7 during simulated gastrointestinal digestion of bovine β -casein variants and milk-based infant formulas. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 897-903, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.077>

OLIVEIRA, A. V. D. et al. Identificação e caracterização do consumidor de leite bovino e derivados lácteos. **Revista Agrária Acadêmica**, v. 3, n. 1, p. 111-121, 2020.

OLIVEIRA, R. O. R.G. et al. Allele and genotype frequency for milk beta-casein in dairy cattle in the northern region of Tocantins State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 58, p. e186603-e186603, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029592>. PMID:28549202.

PACCHIAROTTI, V. L; MENDES, J. P. G; FERREIRA, L. M. Produção do leite A2 e melhoramento genético do rebanho. **Revista Interdisciplinar de Saúde e Educação**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 2, p. 208-226, 2020. Disponível em: <https://periodicos.baraodemaua.br/index.php/cse/article/view/123/109>.

PAL, S. et al. Milk intolerance, beta-casein and lactose. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 7285-7297, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7095339>

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>

PIONNER, **Evolução da produção de leite no Brasil nos últimos 40 anos**. 2013. Disponível em: <https://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/161/evolucao-da-producao-de-leite-no-brasil-nos-ultimos-40-anos>

POLASTRINI, A. Estratégias de inclusão produtiva de produtores na cadeia de valor do leite em Palmas, TO: Uma análise a partir da teoria de upgrading. **Dissertação**. (Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Regional), Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas, TO, 2020.

REGIS, N. S. et al. Perfil do consumidor de leite e preferência de consumo no município de Santa Inês, Bahia. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 10, n. 2, p. 66-79, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v10n2.9209>

JÚNIOR, J. C. R. et al. Perfil do consumidor brasileiro e hábitos de consumo de leite e derivados. **Archives of Veterinary Science**, v. 25, n. 2, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/avs.v25i2.72429>

Rizzo, P. V; Harwood, W. S; Drake, M. A. Consumer desires and perceptions of lactose-free milk. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.8, 2020, p. 6950–6966. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17940>

ŞAHIN, Ö; BOZTEPE, S. ASSESSMENT of A1 and A2 variants in the CNS2 gene of some cattle breeds by using ACRS-PCR method. **Animal Biotechnology**, p. 1-9, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/10495398.2022.2036176>

SARAN NETTO, A; VIDAL, A. M. C. Composição do Leite. Capítulo 2. p. 22-65. IN: VIDAL, A.M.C. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. / Ana Maria Centola Vidal, Arlindo Saran Netto (Orgs). -- Pirassununga : Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018. 220 p. Disponível em: <http://www.livrosabertos.sibi.usp.br/portaldelivrosUSP/catalog/download/200/181/850?inline=1>

SEBASTIANI, C. et al. Frequencies evaluation of β -casein gene polymorphisms in dairy cows reared in Central Italy. **Animals**, v. 10, n. 2, p. 252, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10020252>

SEBRAE. **Diagnóstico da Pecuária Leiteira do Estado do Tocantins 2012/2013**. 2014. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/267166/>

SECRETARIA DO PLANEJAMENTO E ORÇAMENTO (SEPLAN). **Diretoria de Gestão de Informações Territoriais e Socioeconômicas (DIGIT)**. Gerência de Informações Socioeconômicas (GEFIS). Estado do Tocantins–Tocantins em Números - Evolução da Pecuária no Tocantins - 1989 a 2020. Palmas: SEPLANGEFINS, setembro/2021.35p.

SHARMA, V. et al. Amplification of the Bovine Beta Casein Gene-Relevance to Modern Human Health. **Am. J. PharmTech. Res**, v. 3, n. 1, p. 439-444, 2013. from: https://www.academia.edu/17193808/Amplification_of_the_Bovine_Beta_Casein_Gene_Relevance_to_Modern_Human_Health

SILVA, R. de O. P. e. Comportamento do mercado de leite em 2021 e expectativa para 2022. **Análises e Indicadores do Agonegócio**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 1-8, jan. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10020252>

SIQUEIRA K. B. Leite e derivados: novas tendências. Anuário Leite 2019 - **EMBRAPA**. 2019:74-75. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE2019.pdf>

SIQUEIRA, K. B. et al. Consumo de lácteos na pandemia: Principais mudanças no comportamento do consumidor brasileiro de leite e derivados durante a pandemia de Covid-19. EMBRAPA, **CIRCULAR TÉCNICA 126**, Juiz de Fora, MG Abril, 2021. 24p. Disponível em: <file:///C:/Users/UFT/Downloads/CT-126-Consumo-de-Lacteos-na-Pandemia.pdf>

SIQUEIRA, KENNYA B. O mercado consumidor de leite e derivados. Circular Técnica **EMBRAPA**, v. 120, p. 1-17, 2019.

SIQUEIRA, K. B. et al. Custo benefício dos nutrientes dos alimentos consumidos no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, p. 1129-1135, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232020253.11972018>

SISTEMA IBGE DE RECUPERAÇÃO AUTOMÁTICA (SIDRA). **SIDRA 2020**. 2020. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/home/pms/brasil>.

SOLOMON, MICHAEL R.; STUART, Elnora W. **Marketing: real people, real choices**. 2. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2000.

SOUSA, E. C. D. et al. ARRANJO PRODUTIVO LOCAL (APL) DO LEITE: REGIÃO DO BICO DO PAPAGAIO. IN: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO INSTITUTO FEDERAL DO TOCANTINS, **Anais... IX. CIÊNCIA PARA A REDUÇÃO DAS DESIGUALDADES**. PALMAS, TOCANTINS. 2018. Disponível em: <https://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/jice/9jice/paper/viewFile/9288/4171>.

SOUZA, A. P. B; FUKU, G.; NORBERG, J. L. Fatores que influenciam a compra e conhecimento sobre propriedades funcionais de produtos lácteos. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v. 14, n.2 p. 273-284. 2013.

TAILFORD, K. A. et al. A casein variant in cow's milk is atherogenic. **Atherosclerosis**, v. 170, n. 1, p. 13-19, 2003. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9150\(03\)00131-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9150(03)00131-x). PMID: 12957678

TRUSWELL, A. S. The A2 milk case: a critical review. **European journal of clinical nutrition**, v. 59, n. 5, p. 623-631, 2005.

TUZZI, A. B. et al. **Modernização do consumo de leite e derivados: Uma revisão da literatura científica**. 2021.

VENN, B. J. et al. A comparison of the effects of A1 and A2 β -casein protein variants on blood cholesterol concentrations in New Zealand adults. **Atherosclerosis**, v. 188, n. 1, p. 175-178, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.10.020>

VERCESI FILHO A. E. Identificação de alelos para o gene da beta-caseína na raça gir leiteiro. **Pesquisa & Tecnologia**. v. 8, n. 108, 2011. Available from: <http://aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao2011/2011-julho-dezembro/1249-identificacao-de-alelos-para-o-gene-da-betacaseina-na-raca-gir-leiteiro-1/file.html>

VIANA, G.; FERRAS, R. P. R. A cadeia produtiva do leite: um estudo sobre a organização da cadeia e sua importância para o desenvolvimento regional. **Revista Capital Científico-Eletrônica (RCCe)-ISSN 2177-4153**, v. 5, n. 1, p. 23-40, 2007. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/230463982.pdf>

VIDAL-MARTINS, A. M. C. et al. Avaliação do consumo de leite e produtos lácteos informais e do conhecimento da população sobre os seus agravos à saúde pública, em um município do Estado de São Paulo, Brasil. **Boletim de Indústria Animal**, v. 70, n. 3, p. 221-227, 2013. DOI: <https://doi.org/10.17523/bia.v70n3p221>

VILELA, D. et al. **Pecuária de leite no Brasil : cenários e avanços tecnológicos / Duarte Vilela ...** [et al.], editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2016. 435 p. : il. color. ; 18,5 cm x 25,5 cm. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164236/1/Pecuaria-de-leite-no-Brasil.pdf>

WALSTRA, P; WOUTERS, J. T. M; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology**. 2 ed, Boca Raton: CRC Press. 2006.

WOODFORD, KEITH B. **Devil in the milk: illness, health and politics of A1 and A2 milk**. Chelsea Green Publishing, 2009.

3 CAPÍTULO II – ARTIGO 1.

ALLELE AND GENOTYPE FREQUENCY FOR MILK BETA-CASEIN IN DAIRY CATTLE IN THE NORTHERN REGION OF TOCANTINS STATE, BRAZIL

(Frequências alélicas e genotípicas para beta-caseína do leite em bovinos leiteiros da microrregião de Araguaína, Tocantins)

Artigo publicado no periódico Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science.

Publicado em: 2021;58:e186603

DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.186603>

ABSTRACT

At present, there is a concern about the quality of milk and diseases related to its consumption, as it can generate discomfort and allergic reactions in some individuals due to its protein components. Thus, the present study was developed to identify the allele and genotype frequencies of genes for β -casein, A1 and A2, in dairy herds in the region of Araguaína-TO, Brazil. Genetic material from 421 animals (crossbred dairy cattle in lactation) was used. All animals were numbered for identification, and DNA samples were extracted from hair bulbs. Samples for two markers from the polymorphic regions were characterized and confirmed by real-time PCR using the ABI Prism® 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Allele and genotype frequencies were determined using the TaqMan™ detection system, where the primer and probe release different fluorescence signals for each allele of the polymorphism. The sampled herd showed frequencies of 28.27% for the A1 allele and 71.73% for the A2 allele. Genotype frequencies were 52.96% (223/421) for A2A2; 37.53% (158/421) for the A1A2 genotype; and 9.50% (40/421) for the A1A1 genotype. The frequency of the A1 allele for β -casein in dairy herds from the northern region of Tocantins was low and is per the results of previous studies. Although the A2A2 genotype of β -casein had a high relative frequency, the A1A2 genotype is still rather frequent, warranting greater selection pressure.

Keywords: Beta-casein. Dairy cattle. Genotyping. Tocantins.

RESUMO

Atualmente existe uma preocupação em relação à qualidade e doenças que estão relacionadas ao consumo de leite, pois o mesmo pode gerar desconfortos e reações alérgicas em alguns indivíduos devido aos seus constituintes protéicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar a frequência alélica e genotípica de genes para beta caseína, A1 e A2, em rebanhos leiteiros da região de Araguaína-TO. Foram utilizados material genético de 421 animais (bovinos leiteiros mestiços em lactação), e todos os animais foram numerados para identificação e amostras de DNA foram extraídas de bulbo de folículos pilosos. As amostras para dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizadas e confirmadas por PCR em tempo real, usando um sistema de detecção de sequências ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems). As frequências alélicas e genotípicas foram determinadas utilizando o sistema de detecção TaqMan™, no qual o primer e a sonda emitem diferentes sinais de fluorescência para cada alelo do polimorfismo. Observou-se frequência do alelo A1 de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral. A frequência genotípica de A2A2 foi de 52,96% (223/421), com genótipo A1A2 de 37,53% (158/421), e de 9,50% (40/421) animais com genótipo A1A1. A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da região norte do Tocantins foi baixa e seguiu a mesma tendência já observada em estudos anteriores. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativa alta, entretanto o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção.

Palavras-chave: Beta-caseína. Bovino de leite. Genotipagem. Tocantins.

3.1. Introdução

O Tocantins é o terceiro maior produtor de leite da região norte do Brasil, com produção de 405 milhões de litros de leite por ano, ou seja, 1,20% da produção nacional de leite bovino (Zoccal, 2020). Embora a produção seja ainda baixa, o leite tem importância significativa na economia regional, com potencial para geração de emprego e renda, em especial na agricultura familiar.

No leite, a beta-caseína representa de 25 a 35% do total das proteínas, possuindo dois alelos A1 e A2 (Barbosa et al., 2019). O que diferencia essas variantes da beta-caseína é a substituição de um aminoácido na posição 67 da proteína. A beta-caseína A1 apresenta um resíduo de histidina (His67), enquanto a beta-caseína A2 apresenta uma prolina (Pro67) (Ramakrishnan et al., 2020).

Atualmente há uma preocupação da população em relação às enfermidades que estão relacionadas ao consumo de leite e derivados (Siqueira, 2019), pois o consumo pode gerar desconfortos em algumas pessoas. Segundo Ingram et al. (2009), cerca

de 65% da população mundial possui algum grau de alergia ou intolerância a componentes do leite. Dados referentes à alergia alimentar no Brasil são escassos, mas estima-se que 2,2% da população mundial possui alergia a proteína do leite de vaca (APLV), e afeta 5,4% das crianças (Sole, et al., 2018; Vieira et al., 2010).

Essa alergia pode ser devido a qualquer constituinte do leite, sendo mais comum o metabólito produzido pelo genótipo A1A1 da beta-caseína. No entanto, isso pode ser corrigido através da seleção de animais A2A2, e assim, a genotipagem para tal genótipo pode contribuir para não produção desse metabólico (Kay et al., 2021).

O organismo de algumas pessoas ao realizar a digestão do leite com beta-caseína A1 promove a quebra da ligação peptídica e libera o peptídeo bioativo beta-casomorfina-7 (BCM-7) que provoca reações alérgicas. Entretanto, a presença do alelo A2 evita a hidrólise da ligação peptídica e inibe a liberação de BCM-7 (Kamiński et al., 2007; Sharma et al., 2013).

O leite A2A2 resulta em um produto com maior valor agregado em relação ao leite convencional, sendo uma opção para aumentar a renda com a produção leiteira. No Brasil estudos relacionados a frequência da presença dos alelos para beta caseína ainda não escassos, principalmente na região norte do Brasil.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo é verificar a frequência alélica e genotípica para beta caseína, A1 e A2, em rebanhos leiteiros da microrregião de Araguaína, Tocantins.

3.2. Material e Métodos

O presente experimento foi realizado no período de Agosto de 2020 a fevereiro de 2021. Foram selecionados três (03) rebanhos da bacia leiteira da microrregião de Araguaína, Tocantins, localizados nos municípios de Arapoema (Fazenda 1), Colinas do Tocantins (Fazenda 2) e Araguaína (Fazenda 3).

Foram coletadas 421 amostras distribuídas entre três rebanhos, caracterizados como mestiços de tipo leiteiro, e em produção. O cálculo amostral foi realizado considerando 500.000 vacas lactantes, 95% de intervalo de confiança, e 5% de erro experimental, utilizando a calculadora eletrônica (<https://comentto.com/calculadora-amostal>). Esse experimento foi aprovado pelo Comiê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Federal do Tocantins sob protocolo nº 23.101.002.456/2020-23.

A seleção dos animais para amostragem obedeceu aos seguintes critérios:

60% das vacas de primeira, segunda ou terceira lactação e entre 30 e 250 dias de lactação, a raça e idade não foram consideradas, em virtude da composição e diversidade genética dos rebanhos. Todas as propriedades foram caracterizadas como granjas leiteiras. Reprodutores e tourinhos de repasse também foram amostrados.

A extração do DNA do folículo piloso foi realizada no Laboratório de Melhoramento Animal (LMA) do curso de Medicina Veterinária, da Universidade Federal do Tocantins (UFT) conforme protocolo reportado por Olerup & Zetterquist (1992).

Após as extrações do material genético, a quantidade e pureza do DNA foram determinadas usando um espectrofotômetro NanoDrop 1000 (ThermoScientific, Waltham, MA, USA). As amostras de genótipos para dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizadas e confirmados por PCR em tempo real no equipamento, ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems).

As frequências alélicas e genotípicas foram determinados utilizando o sistema de detecção TaqMan™, no qual o primer e a sonda emitem diferentes sinais de fluorescência para cada alelo do polimorfismo, e foram pareados na região do DNA alvo, permitindo a identificação dos diferentes alelos (A1 e A2) pela leitura da fluorescência de cada amostra. Quando apenas um sinal fluorescente é detectado, a amostra é homozigótica para um alelo, e quando dois sinais fluorescentes diferentes são detectados, a amostra é heterozigótica, considerando os dois alelos possíveis.

As sondas foram sintetizadas para emparelhar seletivamente no molde de DNA onde o polimorfismo de interesse está localizado. A taxa de indivíduos heterozigotos e homozigotos para um de seus genótipos foi estimada pelos sinais fluorescentes das sondas.

Para a amplificação dos genótipos correspondente aos alelos A1 e A2 para beta-caseína, área do gene responsável pela codificação da proteína, foi utilizado um par de primers previamente desenhados com as regiões de interesse, contendo as respectivas sequências de nucleotídeos:

Forward - 5' CCCAGACACAGTCTCTAGTCTATCC 3'

Reverse - 5' GGTTTGAGTAAGAGGAGGGATGTTT 3'

E a sonda de fluorescência, pelas sequências:

Forward - 5' CCCATCC[C]TACAGCCT 3'

Reverse - 5' CCCATCC[A]TACAGCCT 3'

Para a reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real, foi usado aproximadamente 15 ng de DNA para um volume de reação de 10 μ L, contendo 0,25 μ L Assay Mix® (Applied Biosystems), e 5,0 μ L Taqman® Master Mix Universal PCR (Applied Biosystems), sob condições de reação de 10 min a 95°C e 45 ciclos de 15s a 92°C e 1 min a 60°C.

A partir da visualização do padrão de curvas dos genótipos, foi possível calcular as frequências gênicas (x_i e x_j) e genótípicas (x_{ii} , x_{ij} e x_{jj}), que foram determinadas a partir da contagem direta dos genótipos observados. Para testar as frequências observadas, foi realizado cálculo de teste do equilíbrio de Hardy-Weinberg (Falconer & Mackay, 1996).

3.3. Resultados

Para a genotipagem do polimorfismo para beta caseína do leite, a metodologia utilizada mostrou-se adequada, com boa visualização dos genótipos. A frequência do alelo A1 foi de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral.

Do total de amostras (421) 2,13% (09/421) foram de machos, reprodutores, que representaram 0,47% (02/421) com o genótipo A1A1, 0,47% com A1A2 (02/421) e 1,19% com o genótipo A2A2 (05/421). As fêmeas representaram 97,86% (412/421) do plantel analisado, com 9,02% (38/421) com genótipos A1A1, 37,05% (156/421) com genótipo A1A2, e 51,79% (218/421) com genótipos A2A2.

Na fazenda 1 foram genótipados 67 animais com 17,91% (12/67) com o genótipo A1A1, 29,85% (20/67) A1A2 e 52,24% (35/67) com genótipo A2A2. Na fazenda 2 foram genótipados 149 animais sendo 6,04% (9/149) A1A1, 40,94% (61/149) A1A2 e 53,02% (79/149) A2A2. Na fazenda 3 foi realizado a genotipagem de 205 animais sendo 9,27% (19/205) A1A1, 37,56% (77/205) A1A2 e 53,17% (109/205) A2A2 (Figura 4).

As propriedades eram todas caracterizadas como granjas leiteiras, com produção média de 15,8 litros/animal e teor de gordura médio de 4,11%. Os rebanhos apresentaram na sua composição grande variação de raças, sendo 41,33% dos animais caracterizados como mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*), 49,88% da raça Girolanda, 7,60% da raça Gir, e o restante 1,19% de outras raças (Jersey e Sindi). Uma característica marcante dos animais mestiços é que fenotipicamente foi possível verificar que a composição genética zebuína prevalecia

sob outros fenótipos europeus, embora não se pudesse definir a contribuição de cada raça.

Possivelmente essa caracterização fenotípica pode justificar a maior frequência de genótipos A2A2, com 20,66% (87/421) do rebanho total e 50% (87/174) do grupo de animais provenientes de mestiçagem. Os outros animais mestiços apresentaram frequência de 9,77% (17/174) com genótipos A1A1 e 40,23% (70/174) com A1A2.

Em todos os rebanhos analisados a frequência de alelos A2 foi superior a de A1, apresentando genótipos A2A2, em 52,97% dos animais avaliados, com genótipo A1A2 37,53%, e de 9,50% com genótipo A1A1. A figura abaixo representa as frequências absolutas e relativas dos genótipos para beta-caseína do leite em cada um dos rebanhos analisados.

Economicamente o leite tem importância significativa para o Estado, com potencial para geração de emprego e renda. Atualmente, algumas propriedades têm investido significativamente no melhoramento dos rebanhos, e procurando investir na comercialização de produtos diferenciados. Entretanto, ainda há necessidade de um acompanhamento técnico, com diretrizes para promoção de uma seleção eficiente e formação de um mercado diferenciado.

3.4. Discussão

Essa caracterização do rebanho, de certa forma, justifica não ser observado o equilíbrio de Hardy-Weinberg na população de estudo, uma vez que a variabilidade é grande e existe presença de seleção nos rebanhos. Outra característica que corrobora esta afirmativa é a alta frequência do genótipo A2A2 (55,55%) nos touros de repasse das fazendas (05/09). Outro aspecto que pode ter contribuído é a utilização de 100% de semen de touros já genotipados para A2A2 nas fêmeas.

Os resultados apresentados não diferem dos resultados encontrados na literatura nacional (Lima et al., 2014; Paschoal et al., 2017; Vercesi Filho, 2011), que de modo geral apresentam maior frequência do alelo A2, e de seu genótipo A2A2, em detrimento do alelo A1 e do genótipo A1A1. Assim, percebe-se que muitos criadores já vêm direcionando os acasalamentos para o aumento da frequência de genótipos A2A2.

Lima et al. (2014) e Vercesi Filho (2011) trabalhando com vacas Gir observaram maior frequência para o genótipo A2A2, representando 0,85 para o primeiro autor e

0,96 para o segundo. A frequência do alelo A1 pode variar em diferentes raças sendo que algumas delas têm uma predisposição menor para este alelo, predominando assim o alelo A2. Assim, a maior composição zebuína do rebanho pode ter contribuído para essa frequência, uma vez que raças zebuínas apresentam maior frequência do alelo A2 (Paschoal et al., 2017).

No Brasil, estudos relacionados a frequência da presença dos alelos para beta caseína ainda não escassos, principalmente referente a rebanhos zebuínos. Estudo realizado por Paschoal et al. (2017) com vacas Gir leiterio encontraram 41% (7/17) apresentavam o alelo A1A2 e 59% (10/17) apresentavam o alelo A2A2.

É de conhecimento que todas as espécies mamíferas produzem apenas a beta-caseína A2, mas por causa de uma mutação genética que ocorreu há aproximadamente 10 mil anos, algumas vacas passaram a produzir a beta-caseína A1. E devido a um processo de seleção esse gene (A1) é encontrado com maior frequência em raças europeias (Beba mais leite, 2019). Kaminski et al. (2007) constataram maior frequência do alelo A1 para as raças taurinas. Hanusová et al. (2010), na raça Holandesa, identificaram maior frequência para o alelo A1 de 54% e 60% para fêmeas e machos, respectivamente.

Já na raça Gir Leiteiro foram relatadas frequências de 89% para o alelo A2 e 11% para o alelo A1 (Vercesi Filho, 2011). Sendo assim observa-se uma associação do polimorfismo genético com a raça, sendo que as raças de origem zebuína têm apresentado maior frequência do alelo A2. Como foi verificado que a maioria dos animais amostrados foram caracterizados como zebuínos e/ou mestiços, essa condição pode justificar a frequência observada.

Em estudo realizado no Rio Grande do Norte, Rangel et al. (2017) encontraram uma frequência de 98 e 97% para o alelo A2, e de 96% e 93% para o genótipo A2A2 nas raças Gir e Guzerá, respectivamente. Segundo Kamiński et al. (2007) a frequência do alelo A1 em diferentes raças varia de 6% (Guernsey), 1% a 12% (Jersey) e 31% a 66% (holandês). E o alelo A2 é predominante em raças zebuínas (Tailford et al., 2003).

Os resultados observados para a frequência do alelo A2 em comparação com a baixa frequência do alelo da beta-caseína A1 indicam que esses rebanhos apresentam baixa produção de BCM-7. Assim, a seleção de animais para o genótipo A2A2 tem menor probabilidade de causar os mesmos problemas de saúde que o leite com alta quantidade de beta caseína A1 (Pereira, 2018). Estudos

realizados por Jianquin et al. (2016) mostraram que indivíduos que consumiram leite A1 tendem a sentir sintomas significativamente maiores de desconforto digestivo, atraso no trânsito gastrointestinal, gastroenterite e desencadear a intolerância a lactose quando comparados com o consumo de leite A2.

A BCM-7, metabolito da beta-caseína A1, também aumenta a predisposição para outras doenças como doença cardíaca isquêmica humana (McLachlan, 2001), diabetes mellitus tipo1 (Elliot et al., 1999), arteriosclerose (Tailford et al., 2003) e autismo (Sokolov et al., 2014).

Dessa forma, a genotipagem dos animais para tal gene pode contribuir para diminuir essas enfermidades em decorrência da ingestão de leite e seus derivados. Além disso, estudos sugerem que vacas genotipadas como A2A2 produzem maior teor de proteínas, em contrapartida os resultados em relação ao teor de gorduras são controversos (Olenski et al., 2010; Nilsen et al., 2009; Paschoal et al., 2017). Tais características do leite A2A2 culminam em um produto com maior valor agregado em relação ao leite convencional, sendo uma opção para aumentar a renda com a produção leiteira.

3.5. Conclusão

A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da região norte do Tocantins se mostrou baixa e seguiu a mesma tendência já observada na literatura. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativa alta, entretanto o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção, uma vez que é recomendado o descarte de animais com este genótipo.

Conflito de Interesses

Todos os autores atestam não existir qualquer forma de conflitos de interesses.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica na Amazônia – PROCAD/Amazônia da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES/Brasil. Ao Núcleo de

Pesquisa e Extensão em Genética e Melhoramento Animal (NAPGEM) da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína.

Referências

Barbosa MG, Souza AB, Tavares GM, Antunes AEC. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. *Segur Aliment Nutr.* 2019;26:1-11. <https://doi.org/10.20396/san.v26i0.8652981>.

Elliott RB, Harris DP, Hill JP, Bidy NJ, Wasmuth HE. Type I (Insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia.* 1999;42:292-96. <https://doi.org/10.1007/s001250051153>. PMID:10096780

Falconer DS, Mackay TFC. *Introduction to quantitative genetics.* 4th ed. Edinburgh, Scotland: Longman Group Limited; 1996.

Hanusová E, Huba J, Oravcová M, Polák P, Vrtková I. Genetic variants of beta-casein in Holstein dairy cattle in Slovakia. *Slovak J Anim Sci.* 2010;3(2):63-66. Available from: http://www.cvzv.sk/slju/10_2/Hanusova.pdf

Ingram CJE, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum genet.* 2009;124:579-91. <https://doi.org/10.1007/s00439-008-0593-6>. PMID: 19034520

Jianqin S, Leiming X, Lu X, Yelland GW, Ni J, Clarke AJ. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutr J.* 2016;15(35):1-16. <https://doi.org/10.1186/s12937-016-0147-z>. PMID: 27039383

Kay SS, Delgado S, Mittal J, Eshraghi RS, Mittal R. Beneficial effects of milk having A2 β -casein protein: Myth or Reality?. *The Journal of Nutrition.* 2021;151:1061-72. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa454>.

Kaminski S, Cieslinska A, Kostyra E. Polymorphism of bovine betacasein and its potential effect on human health. *J Appl Genet.* 2007;48(3):189-98. <https://doi.org/10.1007/BF03195213>. PMID: 17666771

Lima TCC, Rangel AHN, Medeiros LGZ, Coutinho LL, Peixoto MGCD, Borba LH, Lima GFC. Sem Contraindicação: Estudo confirma capacidade do zebu de produzir leite não alergênico. *Revista ABCZ.* 2014;84:87-89.

Mclachlan CNS. Beta casein A1, ischemic heart disease mortality and other illness. *Med Hypotheses.* 2001;56(2):262-72. <https://doi.org/10.1054/mehy.2000.1265>. PMID: 11425301

Nilsen H, Olsen HG, Hayes B, Sehested E, Svendsen M, Nome T, Meuwissen T, Lien S. Casein haplotypes and their associations with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genet Sel Evol.* 2009;41(24):1-12. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-24>. PMID: 19284706

Olenski K, Kaminski S, Szyda J, Cieslinska A. Polymorphism of the beta-casein gene and its association with breeding value for production traits of Holstein-Frisian bulls. *Livestock Science.* 2010;131:137-40. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.023>.

Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens.* 1992;39(5):225-35. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1992.tb01940.x>. PMID: 1357775

Paschoal JJ, Silva MB, 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-a-producao-e-composicao-do-leite-de-vacas-gir-leiteiro>

Pereira TC. Identificação dos alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Crioula Lageana [completion of course work]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, centro de ciências agrárias; 2018. 42 s.

Ramakrishnan M, Eaton TK, Sermet OM, Savaiano DA. Milk containing A2 β -casein only, as a single meal, causes fewer symptoms of lactose intolerance than milk containing A1 and A2 β -caseins in subjects with lactose maldigestion and intolerance: A Randomized, double-blind, crossover trial. *Nutrients*. 2020;12(12):3855-69. <https://doi.org/10.3390/nu12123855>. PMID: 33348621

Rangel AHN, Zaros LG, Lima TC, Borba LHF, Novaes LP, Mota LFM, Silva MS. Polymorphism in the Beta Casein Gene and analysis of milk characteristics in Gir and Guzera dairy cattle. *Genet Mol Res*. 2017;16(2):1-9. <https://doi.org/10.4238/gmr16029592>. PMID: 28549202

Sharma V, Narotam S, Prem RS, Binish J, Satish CN, Singh RK. Amplification of the bovine beta casein gene relevance to modern human health. *Am J PharmTech Res*. 2013;3(1):439-44. Available from: https://www.academia.edu/17193808/Amplification_of_the_Bovine_Beta_Casein_Gene_Relevance_to_Modern_Human_Health

Siqueira KB. Leite e derivados: novas tendências. *Anuário Leite 2019 - EMBRAPA*. 2019:74-75. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>

Sokolov O, Kost N, Andreeva O, Korneeva E, Meshavkin V, Tarakanova Y, Dadayan A, Zolotarev Y, Grachev S, Mikheeva I, Varlamov O, Zozulya A. Autistic children display elevated urine levels of bovine casomorphin-7 immunoreactivity. *Peptides*. 2014;56:56-68. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.03.007>. PMID: 24657283

Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, Pastorino AC, Weffort V, Morais MB, Barreto BP, Oliveira JC, Castro APM, Franco JM, Neto HJC, Rosário NA, Alonso MLO, Sarinho EC, Yang A, Maranhão H, Toporosvski MS, Epifanio M,

Wandalsen NF, Rubini NM. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 1 - Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. Arquivos de asma, alergia e imunologia. 2018;2(1):7-38. <http://dx.doi.org/10.5935/2526-5393.20180004>.

Tailford KA, Berry CL, Thomas AC, Campbell JH. A casein variant in cow's milk is atherogenic. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):13-9. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9150\(03\)00131-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9150(03)00131-x). PMID: 12957678

Vercesi Filho AE. Identificação de alelos para o gene da beta-caseína na raça gir leiteiro. *Pesquisa & Tecnologia*. 2011;8(108). Available from: <http://apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/educacao-2011/2011-julho-dezembro/1249-identificacao-de-alelos-para-o-gene-da-beta-caseina-na-raca-gir-leiteiro-1/file.html>

Vieira MC, Moraes MB, Spolidoro JV, Toporovski MS, Cardoso AL, Araujo GT, Nudelman V, Fonseca MC. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. *BMC Pediatr*. 2010;23:10-25. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2431-10-25>. PMID: 20416046

Zoccal R. Estados e regiões: destaques em produção. *Anuário Leite 2020* - EMBRAPA. 2020;38-39. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1124722/anuario-leite-2020-leite-de-vacas-felizes>

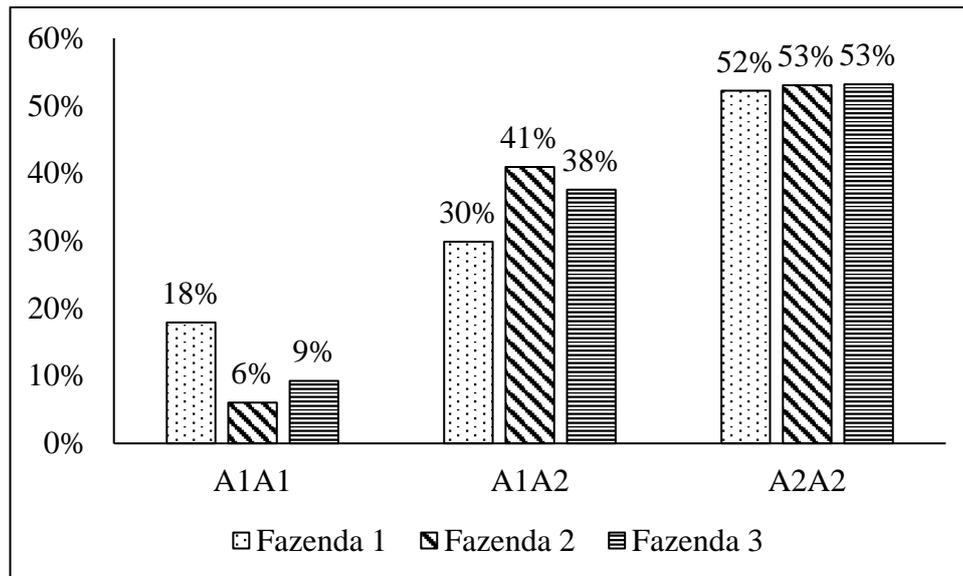


Figura 4 - Frequências absolutas e relativas dos genótipos para beta-caseína do leite (A1A1, A1A2 e A2A2) nos rebanhos analisados.

4 CAPÍTULO III – ARTIGO 2

PERFIL DOS CONSUMIDORES DE LEITE E FATORES DETERMINANTES DO CONSUMO DE LEITE A2 NO ESTADO DO TOCANTINS

*(Profile of milk consumers and determinants of A2A2 milk consumption in the
State of Tocantins)*

*Artigo submetido ao periódico Brazilian Journal Veterinary Research and Animal
Science.*

Publicado em: v.xx, n.xx, 2022, p.1-13

DOI: <http://dx.doi.org/xxxxxxxx/rsd-vXiXX.XXXXX>

RESUMO

Atualmente, a indústria láctea diversifica produtos com propriedades organolépticas, dietéticas, funcionais e nutricionais em função de demandas do consumidor e do bem-estar. Assim, objetivou-se estudar o perfil dos consumidores, incluindo dados de consumo de leite, conhecimento e familiaridade com o leite A2 no estado do Tocantins. Foi realizado uma pesquisa qualitativa, através de questionário, com 389 pessoas distribuídas em 34 municípios do estado. Em relação ao consumo de lácteos, 21,31% apresentam algum tipo de desconforto ao consumirem, e, 46,27% possuem um consumo semanal de um a dois litros, 28,28% entre dois a quatro litros e 25,45% com consumo superior a quatro litros, sendo o leite o principal produto lácteo consumido por 59,13% dos entrevistados. Com 76,10% dos entrevistados apresentando pouca ou nenhuma atenção às informações do rótulo. Sobre o leite A2, 40,36% detinham ou algum conhecimento a respeito, e, foi observado que 42,93% e 30,59% estariam dispostos a pagar mais de 10% ou mais de 50% no valor do produto, respectivamente, enquanto que 24,94% revelaram não ter intenção de pagar nenhum acréscimo sobre o valor para o leite A2. Uma parcela da população tem um nível de exigência quanto à qualidade e especificidade do leite em relação a problemas de saúde. No entanto, a capacidade de consumo está diretamente ligada ao nível de conhecimento e

familiaridade sobre leite A2, assim como, pagar um valor adicional baixo, foi relacionado a consumidores que ouviram falar, mas, que conhecem pouco esse produto e pagar valores adicionais maiores esteve relacionado com entrevistados que ouviram falar e conhecem sobre o produto.

Palavras-chave: beta-caseína, consumidor, exigência, mercado, Tocantins.

ABSTRACT

Currently, the dairy industry has been diversifying products with organoleptic, dietary, functional and nutritional properties depending on consumer demands and their health well-being. Thus, the objective was to study the profile of bovine milk consumers and analyse determining factors in the consumption of A2A2 milk in the State of Tocantins. A qualitative survey was carried out, through a questionnaire, with 389 people distributed in 34 municipalities in the state. Among the respondents, it was found that 62.30% were female and 37.70% male, and that 57.58% were single, 37.01% married, 2.83% in a stable relationship, and 0, 77% widowed. Regarding the consumption of dairy products 46.27% have a weekly consumption of one to two litres, 28.28% between two to four liters and 25.45% with consumption above four litres. It was found that 76.10% of respondents pay little or no attention to the information on the label and 28.53% observe the label. In 17.48% of respondents needed to consume products without lactose, and 21.31% have some type of discomfort when consuming milk, and 40.36% with 59.64% had or not some knowledge about milk A2. It was observed that 42.93% and 30.59% would be willing to pay up to 10% and 50% more, respectively, and 24.94% revealed not to pay any percentage increase on the value for A2 milk. A portion of the population has a level of demand regarding the quality and specificity of milk in relation to health problems. However, the consumption capacity is directly linked to the level of Knowledge and familiarity about the product.

Keywords: beta-casein, consumer, demand, marketing, Tocantins

4.1. Introdução

O leite bovino e seus derivados são fontes consideráveis de proteínas de alto valor biológico, sendo amplamente consumido pela população mundial com reconhecimento amplo sobre seus benefícios à saúde humana dentro de uma dieta equilibrada e saudável. (DUTRA et al., 2007).

Atualmente, o mercado consumidor tem priorizado a certificação de segurança e qualidade nutricional dos alimentos adquiridos e consumidos em suas residências (Silva & Tancredi, 2014). Dessa forma, a indústria, o mercado e a cadeia produtiva como um todo, tem buscado oferecer produtos que venham suprir as necessidades, exigências e qualidades apontadas pelo consumidor (MARTINS, SILVA & TANCREDI, 2014).

Estamos vivendo a era do protagonismo do consumidor, visto que, o mercado seleciona os produtos com base na demanda e necessidade dos consumidores. Nessa lógica, a indústria láctea estando inserida em um mundo altamente competitivo e diverso, para continuar no mercado, precisa entender, valorizar e traduzir os desejos e anseios dos consumidores em seus produtos e propostas de valor.

Atualmente, devido à grande pressão do mercado, a indústria de alimentos necessita se reinventar constantemente para atender as expectativas do consumidor, que a cada ano é mais exigente e preocupado com a saúde e bem-estar, sendo fatores determinantes para a escolha de produtos. Há diversos tipos de leite que atendem as diferentes demandas nutricionais, e recentemente, vem-se introduzindo no mercado o leite com selo A2.

Esse novo produto, leite com selo A2, vem tendo destaque no mercado nacional, pois está relacionado ao aumento de proteína, volume e queda dos níveis de gordura no leite, além disso, apresenta melhor digestibilidade e não está relacionado ao desenvolvimento de alergias a proteína do leite e doenças humanas, diferente de leites que contém a variante A1 (SHARMA et al., 2013).

Cada vez mais é observado um crescente aumento na parcela da população que sente algum desconforto ao consumir o leite comum, tipo A1, bem como seus derivados. Uma alternativa para contornar esse problema é a produção do leite tipo A2, considerado um produto de melhor digestão.

Um exemplo disso é o constante crescimento dos produtos destinados aos chamados nichos de mercado. Pessoas que possuem uma ideologia, valores e

preferências muito marcantes e inegociáveis e que procuram nas marcas produtos que atendam estas necessidades. (LIOTTI et. al., 2015; EMBRAPA, 2019; NÉMETH et al., 2020; RIZZO; HARWOOD; DRAKE, 2020).

No entanto, o comportamento do consumidor é afetado por diferentes fatores culturais, econômicos, sociais e familiares que agem de forma conjunta, interferindo sobre a decisão de compra, ao adquirir um produto (ENGEL et al. 2000). No atual cenário mundial, pesquisar e identificar o perfil consumista do cliente, acaba por se tornar crucial, e, é um diferencial para as empresas. Alguns autores (SOLOMOM, 2002; KOTLER e KELLER, 2006) resumem que o comportamento envolve diferentes processos, como satisfação de necessidades e desejos.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar o perfil dos consumidores de leite e analisar fatores determinantes no consumo de leite A2 no Estado do Tocantins.

4.2. Material e Métodos

Para definição do perfil e grau de conhecimento do consumidor de leite no estado do Tocantins, foi realizado estudo exploratório descritivo do tipo “Survey”, através de um questionário semiestruturado digital, ‘Google Formulários’, disseminado de forma ampla via redes sociais (Instagram e WhatsApp), com o apoio da comunidade acadêmica da Universidade Federal do Tocantins (UFT), técnicos da área, associações de produtores e produtores rurais, no período de janeiro à setembro de 2021.

Como garantia da representatividade amostral e distribuição homogênea, o número de entrevistados foi definido pela estimativa da proporção populacional do estado (1.607.363 IBGE, 2021), por cálculo de unidade amostral a partir da ferramenta calculadora online “Calculator.net”, com grau de confiança de 95% (Z = desvio padrão 1,96) e margem de erro de 5%, conforme descrito por Malhotra, (2012).

A adesão ao questionário ocorreu de forma voluntária e ao acaso, por pessoas consumidoras ou não de leite, sendo eles de diferentes municípios do estado do Tocantins. O estudo foi realizado com a participação de 389 pessoas respondendo ao questionário, formado por 19 perguntas, articuladas em três partes, a primeira parte foi referente ao perfil do entrevistado, a segunda visou identificar o consumo de lácteos

em geral, assim como a frequência e quantidade consumida, enquanto que na terceira foram questionados em relação aos conhecimentos sobre leite A2A2.

Ao fim da aplicação destes foi realizado um banco de dados no Microsoft Excel (2010), por meio de planilha eletrônica, os dados foram analisados através de frequências no programa em questão. Para verificação da percepção dos consumidores em relação ao leite A2, foram elaborados gráficos de barras e dispersão (scatterplot), agrupando-se algumas variáveis qualitativas e valores de probabilidade, através do software Minitab 17.

4.3. Resultados e Discussão

No presente estudo, a partir dos dados dos entrevistados observou-se maior predomínio de mulheres, sendo essas 62,30%, enquanto que os homens representaram 37,70% das respostas obtidas. Em relação ao estado civil, 57,58% das pessoas se identificaram como solteiros, 37,01% como casados, 2,83% com união estável, e apenas 0,77% como viúvos. Foi observado que os participantes foram provenientes de 24,46% dos municípios tocantinenses, distribuídos nas diferentes regiões do Estado do Tocantins. Esse percentual corresponde a um nível de confiança de 90% e erro amostral de 10%.

Ainda sobre o perfil, foi identificado que a composição familiar dos entrevistados foi de 5,40% advindos de famílias compostas por um membro, 16,45% com dois membros, 21,34% com três membros e 56,80% possuem quatro ou mais membros. Regis et al. (2019), Ferreira et al. (2017), Longhi et al. (2010) e Molina et al. (2010) encontraram nas populações entrevistadas maior frequência do sexo feminino, seguido do estado civil casado e/ou união estável como de maior frequência, entre os entrevistados.

Ademais, no Brasil, segundo IBGE (2016) em 2015, os arranjos multipessoais com parentesco, ou seja, as famílias, correspondiam a 85,1% do total de arranjos, e o tipo de núcleo familiar mais comum foi o de casal com filhos (42,3% do total de arranjos), seguido por casal sem filho (20,0%) e por mulher sem cônjuge com filhos (16,3%).

Em relação ao consumo de lácteos no geral, 46,27% dos entrevistados possuem um consumo semanal de um a dois litros de leite em suas residências, 28,28% consomem entre dois a quatro litros e 25,45% possuem um consumo semanal

superior a quatro litros, também foi possível observar entre os participantes, que o principal produto lácteo consumido é o leite, em 59,13% dos entrevistados (Tabela3).

Tabela 3. Percentual dos produtos lácteos consumidos pelos participantes.

Produto lácteo	F%
Não consumimos	
lábteos	0,52
logurte	5,91
Manteiga	12,85
Queijo	21,59
Leite	59,13

Elaborada pelos autores.

O leite foi o produto lácteo mais consumido entre os entrevistados, resultados semelhantes foram reportados por Goldberg (2007), Longi et al. (2010), Aguilar et al. (2012), Dezani et al. (2015), Oliveira et al. (2020), Ferreira et al. (2017) e Regis et al. (2019). A presença desse alimento na dieta ocorre, principalmente, pelo fato de ser fonte de proteínas e de minerais essenciais à promoção do crescimento e manutenção da vida para o ser humano (Molina et al. 2010).

Na tentativa de tipificar um padrão em relação ao critério estabelecido para a compra de produtos lácteos, observou-se que os parâmetros marca, preço e embalagem corresponderam por 29,56%, 23,91%, e 1,54% respectivamente, da preferência dos consumidores em relação ao critério para compra. Os demais consumidores, 45 % levaram em conta a associação de dois ou mais critérios, associando preço, marca, embalagem e informações do rótulo.

Para se obter clareza nas informações acima descritas, foi realizado um questionamento sobre o grau de importância das informações do rótulo como fator decisivo para a compra, e verificou-se que 76,10% dos entrevistados tem pouca ou nenhuma atenção às informações do rótulo e apenas 28,53 % apresentam uma atenção ou muita atenção às informações do rótulo.

Ao serem questionados sobre o tipo de leite consumido, foi observado que 17,48% necessitavam consumir produtos sem lactose, por apresentarem algum desconforto, e, 82,52% não consumiam esse tipo de produto. No entanto, também foi

relatado que 21,31% apresentam algum tipo de desconforto ao consumirem o leite normal comercializado, independentemente de ser integral, desnatado ou semidesnatado. A partir destas perguntas os entrevistados foram conduzidos a apresentarem o conhecimento que detinham em relação ao leite A2, 59,64% dos entrevistados disse nunca ter ouvido nada em relação ao produto, enquanto 40,36% apresentava algum conhecimento.

Ainda sobre o conhecimento dos participantes em relação ao leite A2, foi perguntado sobre os benefícios associados ao seu consumo, revelando-se que 67,87% dos entrevistados afirmaram não ter conhecimento, enquanto 32,13% detinham algum tipo de conhecimento. Da mesma forma, 50,90% revelaram não ter nenhum conhecimento sobre o leite A2, 26,99% apresentaram baixo conhecimento, 18,25% conhecimento médio e apenas 3,86 consideraram ter alto conhecimento sobre o leite em questão.

Considerando-se um conhecimento prévio sobre o leite A2 e seu diferencial, questionou-se quanto os consumidores estariam dispostos a pagar a mais por esse tipo de produto, sendo observado que 42,93% dos entrevistados estariam dispostos a pagar 10% a mais do valor comercial do leite pasteurizado, 30,59% até 50% a mais, e 1,54% pagariam mais que 50%, contra 24,94% que revelaram não pagariam acréscimo percentual sobre o valor do leite pasteurizado.

Nesta mesma linha de raciocínio, foi perguntado aos entrevistados qual critério seria decisivo para que o mesmo adquirisse produtos à base de leite A2A2, em que foi verificado que 49,61% dos entrevistados afirmaram que, seria a relação da marca com a certificação do produto, 29,05% afirmaram que seria informações detalhadas do produto no rótulo, 15,94% afirmaram que não adquiriam o produto, e apenas 5,40% se satisfariam com a marca.

Com base nos resultados, da estatística descritiva, revelou-se que os consumidores levam em consideração na escolha do produto a marca, preço e embalagem, sendo que a marca teve maior percentual. Essa condição, mostra a confiança e qualidade a determinados fabricantes pelo consumidor, o que também foi reportado por Regis et al. (2019).

Entretanto, o preço também obteve destaque uma vez que o consumidor tende a optar por produtos mais baratos, pelas condições socioeconômicas da população. Em estudos realizados por Molina et al. (2010), Mallmann et al. (2012), Passarini et al. (2014), e Regis et al. (2019), em estudos nas cidades de Maringá (Paraná),

Palmeira das Missões (Rio Grande do Sul), São José do Rio Preto (São Paulo) e Santa Inês (Bahia), respectivamente, também verificaram que o preço representou fator de decisão de compra pelo consumidor. Dessa forma, não adianta o produto ter excelente qualidade, com um preço que o consumidor não está disposto a pagar. Alguns perfis de consumidores são mais orientados por qualidade, mas ainda existem muitas pessoas cujas compras são orientadas exclusivamente por preço (Schiffman e Kamuk, 2000).

Arelado a essa orientação, foi verificado que 75,06% estavam dispostos a pagar a mais por um produto diferenciado como o leite A2, enquanto 24,94% não pagariam a mais por esse tipo de produto. Assim, cabe ao mercado explorar esse potencial, seja pelo uso de ferramentas mercadológicas, estratégias de marketing e até utilizando benchmarking, conferindo a esses produtos vantagens competitivas, fidelização de clientes e oferta de um produto de qualidade, pois os consumidores em geral, estão cada vez mais informados e preocupados com a saúde.

Segundo Schiffman e Kanuk (2000), o consumidor é um elemento complexo, e seu processo de decisão também se tornou extremamente desafiador. O consumidor atual tem maior acesso à canais de informações, tem necessidade de respeitar questões ambientais e de saúde, com valores agregados à qualidade de vida e bem-estar. Cabe ao mercado aprimorar técnicas e metodologias de reconhecimento dessas transformações, como também desenvolverem estratégias que visem atender e superar todas as expectativas em relação ao produto e valores agregados ao mesmo (Engel et al., 2000)

Conhecer ou não estar familiarizado com o diferencial do leite A2A2, apresentou uma proporção mais equilibrada entre os respondentes que alegaram disposição em pagar entre 10 a 20% a mais ou por pagar mais que 20% por esse produto (Fig 5A). Contudo, disposição em pagar um pouco a mais (até 10%) ou não pagar adicional nenhum foram relacionados com a falta de familiaridade com o diferencial do leite A2A2 (Fig 5A).

De modo similar, a proporção de entrevistados que alegaram que pagariam um pouco a mais (até 10%) ou nenhum valor adicional foi marcante para aqueles que alegaram não ter conhecimento nenhum sobre o leite A2A2 (Fig 5C). A falta de conhecimento, relacionado com a disposição de pagar pouco (até 10%) ou de não pagar nenhum adicional, foi reiterada em função dos entrevistados terem maior disponibilidade em pagar mais (mais que 10%) quando ouviram falar do leite A2A2.

Quando a proporção dos que não ouviram falar foi maior que a dos que ouviram, os entrevistados alegaram que pagariam somente até 10% ou não pagariam adicional (Fig 5A).

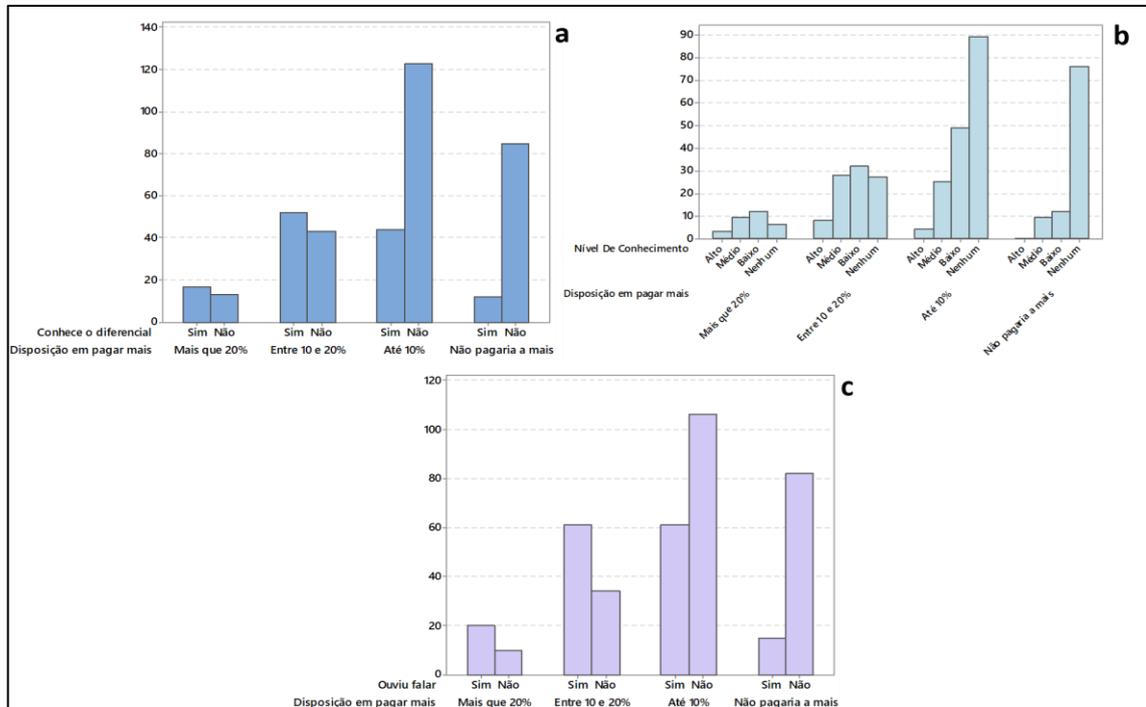


Figura 5 – Disposição de consumidores em pagar valores adicionais pelo leite A2A2 dependendo do conhecimento sobre o diferencial do produto (a), nível de conhecimento (b) e familiaridade com o leite A2A2 (c).

Uma análise complementar realizada comparando-se níveis de conhecimento e familiaridade com o leite A2A2, contra valores de probabilidade, revelou que consumidores que alegaram ter ouvido falar do leite A2, e que tem maior conhecimento sobre esse produto tem maior probabilidade de pagar valores adicionais maiores, entre 10 e 20% (Fig 6C) ou mais que 20% (Fig 6D). Os consumidores que ouviram falar do leite, mas conhecem pouco, provavelmente pagariam um valor adicional menor (Fig 6B).

A probabilidade de os entrevistados não pagarem valor adicional é maior quando estes não ouviram falar do leite A2A2 (Fig 6A). Estes podem pagar valores adicionais baixos (até 10%) com maior probabilidade (entre 0,46 e 0,48) que os que ouviram falar do leite, em função que quem ouviu falar pode estar disposto a pagar mais que 10%.

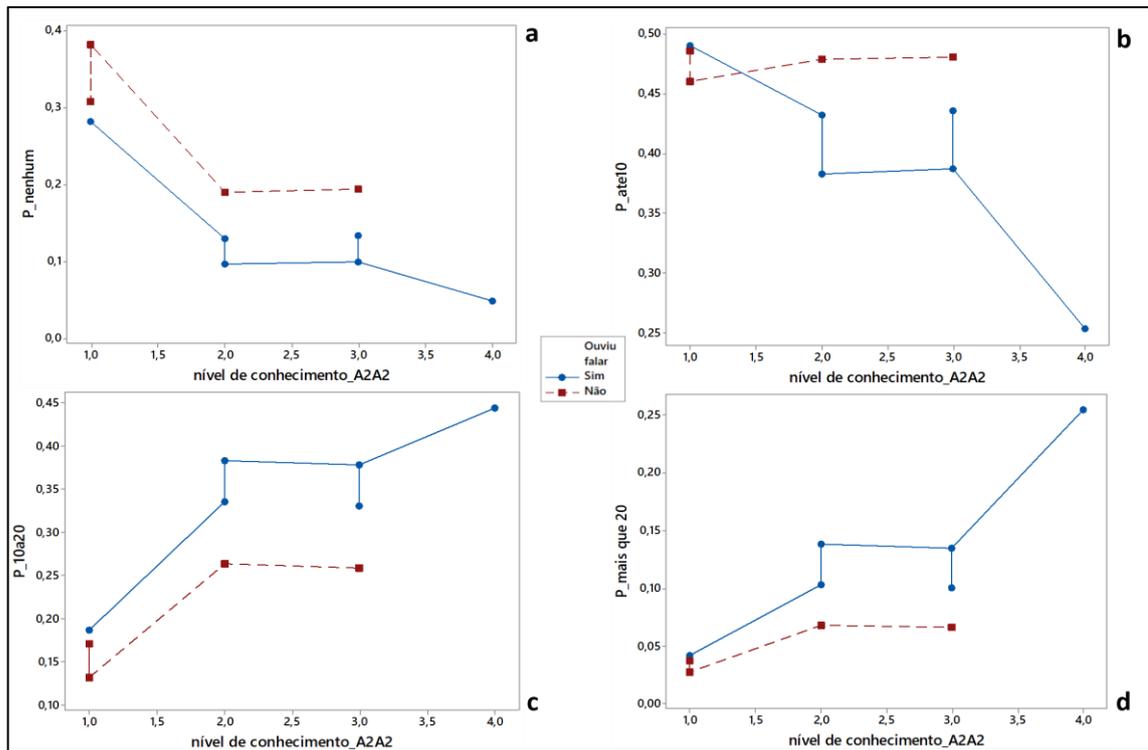


Figura 6 – Probabilidade de consumidores pagar valores adicionais pelo leite A2A2 dependendo do nível de conhecimento e familiaridade sobre leite A2A2; a=sem disposição; b=até 10% a mais; c=entre 10 e 20%; d=mais que 20%.

Ao que tudo indica, a disposição em pagar valores adicionais que motivariam a indústria e os produtores depende da divulgação desse produto lácteo. Assim, seria oportuno que o leite A2A2 fosse alvo de marketing e propaganda, em maior extensão e intensidade, de modo a informar e esclarecer as propriedades e diferenciais desse produto. O leite é produto mais comercializado e consumido, e a introdução de leite A2 pode representar um novo nicho de mercado no cenário industrial e comercial do Tocantins, uma vez que com uma política de marketing e informações adequadas e foco na população em geral, pode alavancar esse mercado.

É importante ressaltar que a competitividade da indústria láctea passa pela atenção a ser mantida sobre o comportamento dos consumidores. Entretanto, os produtos disponíveis no varejo precisam se adequar melhor ao estilo de vida e necessidades do consumidor (FIETO, 2018), favorecendo assim a formação de um nicho para o mercado de leite A2.

4.4. Conclusão

A população do Estado do Tocantins tem alta frequência do consumo de leite bovino, e uma parcela considerável tem um nível de exigência quanto à qualidade e sua especificidade em relação a problemas de saúde. O consumidor também é atento às questões de informações do produto, no entanto, a capacidade de consumo está diretamente ligada ao nível de conhecimento sobre o produto.

Conflito de Interesses

Os autores revelam não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da PROPESQ/UFNT, Edital nº 071/2021. Ao Núcleo de Estudos, Pesquisa e Extensão em Genética e Melhoramento Animal (NAPGEM) da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína.

Referências

DE AGUILAR, Poliana Batista et al. Perfil dos consumidores de leites pasteurizado tipo C e esterilizado (UHT) de Janaúba–MG. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 4, p. 1581-1588, 2012.

DEZANI, Adriana Alvarenga Alvarenga; LA RETONDO, Bárbara Buosi; WAIDEMAN, Mateus Alves. Determinantes de consumo dos produtos derivados do leite. **REA-Revista Eletrônica de Administração**, v. 14, n. 1, p. 62-84, 2015.

Dutra, E.S., Franco, M.C., Otero, I. **Alimentação saudável e sustentável**. Brasília, DF: Universidade de Brasília, 2007. 92 p.

EMBRAPA. **Anuário Leite 2019: sua excelência, o consumidor**. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa. Embrapa Gado de Leite, 2019.

Engel, J.F., Blackwell, R.D., Miniard, P.W. **Comportamento do consumidor**. 8. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000.

Ferreira, A.G.G., Lyra, D.G., Silva, J.C.S., Soares, F.M.F., Araújo, C.A. Perfil dos consumidores de leite bovino in natura no município de Santana do Ipanema - **Alagoas. Nutritime.**, v.14, n.4, p.6056-6062, 2017.

Goldberg, M. Perfil do Consumidor de Leite da cidade de Volta Redonda.2007. **Monografia** (Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária em Alimentos) – Universidade Castelo Branco, RJ, 2007.

IBGE - **Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira: 2016 / IBGE**, Coordenação de População e Indicadores Sociais. - Rio de Janeiro: IBGE, 2016 146 p. - (Estudos e pesquisas. Informação demográfica e socioeconômica, ISSN 1516-3296; n. 36)

Kotler, P., Keller, K. L. **Administração de Marketing. Tradução Sônia Midori Yamamoto; revisão técnica Edson Crescitelli**. – 14. ed. – São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2012.

Longhi, R., Moreno, A. C. P., Reis, A. B., Okano, W., Aragon-Alegro, L. C., Santana, E. H. W. Perfil dos consumidores de leite cru da cidade de Arapongas – PR. **Revista Instituto Laticínios “Cândido Tostes”**, n.373, v.65, p.14-19, 2010.

Malhortra, N.K. **Pesquisa de Marketing**. 6ª Edição. Ed. Bookman, 2012. 768p.

Mallmann, E., Cavalheiro, M., Mello, P., Magro, D., Miritz, L.D., Coronel, D.A. Caracterização do consumo de leite no município de Palmeira das Missões - RS. **Sociais e Humanas**. Santa Maria, v. 25, n. 02, p. 295 - 308. 2012.

Martins, L.A., Silva, Y., Tancredi, R.C.P. **Sistemas de gerenciamento da qualidade na área de alimentos**. IN: Marins, B.R., Tancredi, R.C.P., Gemal, A.L. Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas. Rio de Janeiro: EPSJV, 2014, p. 266-282.

Molina, G., Pelissari, F.M., Feihmann, A.C. Perfil do consumo de leite e produtos derivados na cidade de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 327-334, 2010. DOI: 10.4025/actascitechnol.v32i3.363.

Németh, A., Szabó E., Ózsvári L. Development of Lactose Free, Functional Dairy Foods based on Consumer Survey. **Rev. GRADUS**, v. 7, n. 1, p. 26-29, 2020.

Oliveira, A.V.D., Lima, C.S., Rodrigues, D.P., Santos, M.A., Verçosa, M.J.S., Costa, D.A., Souza, C.L., Reis, E.M.B. identificação e caracterização do consumidor de leite bovino e derivados lácteos. **Rev. Agr. Acad.**, v.3, n.1, Jan/Fev, 2020.

Passarini, A.A., Paulino, L.C.L., Dezani, A.A. Os determinantes de consumo de leite e derivados em São José do Rio Preto: uma aplicação da teoria do comportamento planejado. **FACEF Pesquisa: Desenvolvimento e Gestão**, v.17, n.1 - p.70-87 - jan/fev/mar/abr 2014.

Pennis Filho, R.R. Preocupação dos Consumidores com a Alimentação Saudável. **Revista Idea**, v. 6, n. 2, 2015. P. 01-41.

Polastrini, A. Estratégias de inclusão produtiva de produtores na cadeia de valor do leite em Palmas, TO: Uma análise a partir da teoria de upgrading. **Dissertação** Mestrado. Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Regional, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Palmas, 2020, 168f.

Regis, N.S., Jesus, S.S., Garcia, R.V., Santos, V.S. Perfil do consumidor de leite e preferência de consumo no município de Santa Inês, Bahia. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 10 n. 2, p. 66-79, abr./jun. 2019.

Rizzo, P.V., Harwood, W.S., Drake, M.A. Consumer desires and perceptions of lactose-free milk. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.8, 2020, p. 6950–6966.

Sharma, V., Narotam, S., Prem, R. S., Binish, J., Satish, C. N., Singh, R. K. Amplification of the bovine beta casein gene relevance to modern human health. **American Journal PharmTech Research**, v. 3, n. 1, p. 439-444, 2013.

Silva, A.F.M., Oliveira, B.C.M., Brito, D.R., Martins, J.C.M., Sales, J.K., Liotti, K., Silva, Y., Tancredi, R.C.P. **Doenças de origem alimentar: integralidade nas ações das vigilâncias responsáveis pelo processo investigativo e controle**. IN: Marins, B.R., Tancredi, R.C.P., Gemal, A.L. Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas. Rio de Janeiro: EPSJV, 2014, p. 231-263.

Solomon, Michael R. **O comportamento do consumidor: comprando, possuindo e sendo**. Trad. Bete Honorato. 11 ed. Porto Alegre: Bookman, 2016.

Souza, A.P.B, Fuke, G., Nornberg, J.L. Fatores que influenciam a compra e conhecimento sobre propriedades funcionais de produtos lácteos. **Disciplinarum Sciential Saúde**, v. 14, n.2 p. 273-284. 2013.

Schiffman, L.G.; Kanuk, L.L. **Comportamento do consumidor**. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 476p. ISBN: 8521612206.

Federação das Indústrias do Estado do Tocantins (FIETO). **Lácteos: plano estratégico para as cadeias produtivas do agronegócio no Estado do Tocantins: 2018 - 2027** / José Roberto Fernandes (Coordenador). Palmas, TO: Sistema FIETO, 2018. 170 p. ISBN: 978-85-60759-44-6

5 CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento da atividade leiteira no Tocantins passa por mudanças na governança de arranjos produtivos locais, em que se poderia proporcionar o desenvolvimento de regiões e nichos de mercados especializados na produção láctea. Assim como proporcionar a aproximação de atores econômicos locais, como também enfatizar o conhecimento e a confiança dos consumidores com produtos diferenciados e de qualidade, que pode ser realizado por meio da promoção de eventos de difundam conhecimento sobre esse e por mobilizações em mídias sociais, como já vem ocorrendo, no entanto com maior intensidade.

A falta de programas e políticas governamentais dificulta o desenvolvimento da produção, inibe a profissionalização do sistema, e o acesso da população a um programa de educação sanitária e projetos de melhoria da infraestrutura e a aquisição de máquinas e equipamentos para produção de leite e derivados.

Para um desenvolvimento consolidado do setor lácteo no Estado há necessidade de modernização e investimentos em toda a cadeia produtiva, pois o setor não tem se adaptado às demandas atuais de tecnologia, e conseqüentemente às regularizações e modernizações que o setor necessita para atender as demandas do mercado.

Programas de melhoramento genético e genotipagem dos animais podem contribuir também para o aprimoramento do setor, bem como aumentar a oferta de animais genotipados como A2A2 e assim ofertar um produto com maior teor de proteínas, e um produto com maior valor agregado em relação ao leite convencional, sendo uma opção para aumentar a renda com a produção leiteira.

A população do Estado do Tocantins tem alta frequência do consumo de leite bovino, e uma parcela considerável tem um nível de exigência quanto à qualidade e sua especificidade em relação a problemas de saúde. O consumidor também é atento às questões de informações do produto, no entanto, a capacidade de consumo está diretamente ligada ao nível de conhecimento sobre o produto.

ANEXOS

Normas para submissão de artigos científicos no periódico “Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science”

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. Acesso em uma conta existente ou Registrar uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e inédita.
- A revisão do inglês foi feita por profissional especializado e o comprovante foi anexado.
- As “Diretrizes aos Autores” foram totalmente seguidas.
- As figuras e tabelas estão inseridas após as referências, no mesmo arquivo.
- O protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética foi anexado.
- O tipo do artigo (Artigo Completo, Artigo de Revisão ou Nota Prévia/Relato de Caso) foi identificado antes do título e texto do documento.

Diretrizes para Autores

Diretrizes para Autores

O periódico *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* é uma publicação trimestral, exclusivamente online e em inglês, vinculada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e conta com o apoio da Fundação Medicina Veterinária (FUMVET). Destina-se a publicar trabalhos científicos sobre medicina veterinária e ciências afins.

Política Editorial

Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação da comissão editorial, com assessoria de especialistas da área (*peer review*). A lista de colaboradores (avaliadores) é publicada anualmente, com o fechamento do volume. Os trabalhos cujos textos necessitem de revisões ou correções que não puderem ser feitas pelos editores serão devolvidos aos autores. Os trabalhos aceitos para publicação tornam-se propriedade dessa revista. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. Os trabalhos que tratam de pesquisa que use animais deverão apresentar a aprovação do protocolo experimental por Comitê de Ética. Qualquer que seja o tipo do trabalho deverá ser inédito e destinar-se exclusivamente a este periódico. Os trabalhos para publicação deverão ser submetidos no portal de revistas da USP no URL: <http://www.revistas.usp.br/bjvras>.

Direitos autorais

Uma vez aprovado o manuscrito, os autores devem conceder uma licença exclusiva para publicar o artigo na forma eletrônica. A lei de direitos autorais requer que os autores forneçam à BJVRAS as permissões para uso de materiais publicados por outros periódicos ou editoras, o que inclui figuras, tabelas e imagens. A Carta de Transferência de Direitos será enviada aos autores pela Revista após aprovação do artigo para publicação, que deverá ser assinada e inserida no sistema como um arquivo suplementar.

Taxa de Publicação

Após o aceite do artigo, será cobrada a taxa de R\$ 800,00. Toda a tramitação necessária para publicação será iniciada após o pagamento da taxa.

Condições para Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados abaixo. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- A contribuição é original e inédita.
- A revisão do inglês foi feita por profissional especializado e o comprovante foi anexado.
- As “Diretrizes aos Autores” foram totalmente seguidas.
- As figuras e tabelas estão inseridas após as referências, no mesmo arquivo.
- O protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética foi anexado.
- O tipo do artigo (Artigo Completo, Artigo de Revisão ou Nota Prévia/Relato de Caso) foi identificado antes do título e texto do documento.

Apresentação dos Trabalhos

O **Artigo Completo** deve:

1. Ser escrito em língua inglesa;
2. Limitar-se ao máximo de quinze páginas digitadas, não contando apenas as páginas onde constem tabelas e ilustrações;
3. Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo;
4. Ser estruturado dentro dos seguintes itens:
 - a) Título em inglês e português;
 - b) Autores e filiação institucional;
 - c) Abstract/Keywords e Resumo/Palavras-chave (limitadas a cinco);
 - d) Introduction;
 - e) Materials and Methods;
 - f) Results;
 - g) Discussion (se conveniente, é possível a associação dos tópicos “Results” e “Discussion”);
 - h) Conclusion;
 - i) Conflict of Interest;
 - j) Acknowledgements;
 - k) References.

A **Nota Prévia / Relato de Caso** deve:

1. Ser escrita em língua inglesa.
2. Limitar-se ao máximo de cinco páginas digitadas.
3. Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo.
4. Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introduction, Materials and Methods, Results, etc.), mas devem apresentar, obrigatoriamente, dois resumos (inglês e português), com Keywords/Palavras-chave, além de referências.

Artigos de revisão

Só poderão ser publicados por especialistas de renome a convite da comissão editorial. Não devem ser subdivididos em seções separadas (Introduction, Materials and Methods, Results, etc.), mas devem

apresentar, obrigatoriamente, dois resumos (inglês e português), com Keywords/Palavras-chave, além de referências.

* Quando o artigo for originado de uma dissertação ou tese, os autores deverão mencionar em nota de rodapé.

Características

Formatação: documento em Word, folha em tamanho A4, espaçamento entre linhas de 1,5, margens de 2 cm e fonte Times New Roman, tamanho 12.

Página de rosto: elemento obrigatório que deve ser enviado separado do arquivo do artigo e deve conter o título do artigo (inglês e português), nome completo e sem abreviações dos autores, instituições de origem (em português), endereço de e-mail e ORCID (Open Researcher and Contributor ID) de todos os autores. Para o autor-correspondente, indicar o endereço institucional completo.

Idioma: deverão estar escritos em língua inglesa, com certificado de revisão realizada por profissional especializado. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão.

Tabelas: devem ser numeradas em algarismos arábicos e encabeçadas por um título, seguido de local e data. O limite de tabelas por trabalho é de cinco. Em casos excepcionais, conhecida a opinião da comissão editorial, esse número poderá ser ultrapassado. Para citar as tabelas no texto, indicar a nomenclatura por extenso conforme segue: se estiver entre parênteses utilizar letra maiúscula na inicial da palavra, ex: "(Table 1)" e minúsculas se estiver inserida no texto, ex. "table 1". As tabelas devem ser inseridas após as referências, no mesmo arquivo do manuscrito.

Figuras (fotografias, gráficos, quadros, desenhos ou esquemas): devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas no texto. As ilustrações devem ser identificadas com o título e fonte, quando não forem de autoria própria. Os gráficos devem trazer sempre os valores numéricos que lhes deram origem. Para citar as ilustrações no texto, indicar a nomenclatura por extenso conforme segue: se estiver entre parênteses, utilizar letra maiúscula na inicial da palavra, ex: "(Figure 1)" e minúsculas se estiver inserida no texto, ex. "figure 1". As figuras devem ser inseridas após as referências, no mesmo arquivo do manuscrito.

Agradecimentos (Acknowledgements): a critério dos autores.

Financiamento (Financial support): a critério dos autores. Recomenda-se, neste item, citar a agência financiadora da pesquisa, quando houver. Os autores devem lembrar que algumas agências de fomento definem por portaria / resolução a forma como o agradecimento será ser feito.

Referências (References):

- A partir de 2019 as referências seguem a norma Vancouver, disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>;
- Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o Index Medicus/Medline: <http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng> sem destaque; T
- Todos autores devem ser incluídos na referência
- Quando os artigos citados possuírem título e resumo em mais de um idioma, a referência deverá ser da versão em inglês;
- Referências a resumos apresentados em eventos não serão aceitas;
- As referências são organizadas por ordem alfabética e reunidas no final do trabalho;
- O estilo Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science está disponível nos softwares Mendeley e Zotero.

Para referenciar tipos documentais não exemplificados a seguir, consulte os fascículos já publicados

Artigos de periódico

Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, Raspa M. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim.* 2014;48(3):178-92. <http://dx.doi.org/10.1177/0023677213516312>. PMID:24496575

Livro

Boon JA. Veterinary echocardiography. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2011.

Capítulos de livro**Quando o autor do capítulo e do livro são os mesmos**

Boon JA. Veterinary echocardiography. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2011. Chapter 4, Evaluation of size, function, and hemodynamics; p. 153-266.

Quando o autor do capítulo é diferente do autor do livro

Ackermann MR. Inflammation and healing. In: Zachary JF, McGavin MD. Pathologic basis of veterinary disease. 5th ed. St. Louis, MO: Elsevier; 2012. p. 89-146.

Dissertações e teses

Molina CV. Pathogen surveillance (*Leptospira* spp., Rotavirus, Hepatitis E virus and Norovirus) in a wild golden-headed lion tamarin (*Leontopithecus chrysomelas*) population from an urban Atlantic Forest park in Niterói, Rio de Janeiro, Brazil [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2018. 137 s.

Documentos legais

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil). Instrução normativa n. 31, de 29 de junho de 2018. Diário Oficial da União [Internet]. Brasília; 2018 jul 2 [cited 2019 Apr 15]. Available from: http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/28166433/do1-2018-07-02-instrucao-normativa-n-31-de-29-de-junho-de-2018-28166402

Citações:

Devem ser apresentadas no texto e subordinar-se à forma (Autor, data), como no exemplo "(Santos, 2001)". E quando a citação estiver inserida no texto, ex.: "Santos (2001)". Ao utilizar mais de uma citação, as mesmas devem ser mencionadas em ordem cronológica e separadas por "&".

Um autor – sobrenome do autor e data

Valberg (1996) ou (Valberg, 1991);

Dois autores – sobrenome dos autores e data

Strunk & White (1979) ou (Strunk & White, 1979);

Três ou mais autores – sobrenome do primeiro autor com a expressão "et al." sem itálico

Carvalho et al. (2003) ou (Carvalho et al., 2003);

Citação de publicações do mesmo autor com o mesmo ano – diferencia-se por letras:

Carvalho et al. (2003a, 2003b) ou (Carvalho et al., 2003a, 2003b);

Várias citações dentro do mesmo parêntese:

(Strunk & White, 1979; Santos, 2001; Carvalho et al., 2014a, 2014b).

Declaração de Direito Autoral

O conteúdo do periódico está licenciado sob uma Licença Creative Commons BY-NC-SA (resumo da licença: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0> | texto completo da licença: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/legalcode>). Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam ao autor o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Allele and genotype frequency for milk beta-casein in dairy cattle in the northern region of Tocantins State, Brazil

Frequências alélicas e genotípicas para beta-caseína do leite em bovinos leiteiros da microrregião de Araguaína, Tocantins

Rodolfo Olinto Rotoli Garcia Oliveira¹ ; Minos Esperandio de Carvalho² ; Matheus Henrique Dias Rodrigues¹ ,
Mirele Daiana Poleti² ; José Bento Sterman Ferraz² ; Ana Beatriz Bezerra Souza¹ , Silvia Minharmo¹ 
Helcileia Dias Santos¹ ; Jorge Luís Ferreira¹ 

¹ Universidade Federal do Tocantins, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Araguaína, Araguaína – TO, Brazil

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Medicina Veterinária, Campus Pirassununga, Pirassununga – SP, Brazil

ABSTRACT

At present, there is a concern about the quality of milk and diseases related to its consumption, as it can generate discomfort and allergic reactions in some individuals due to its protein components. Thus, the present study was developed to identify the allele and genotype frequencies of genes for β -casein, A1 and A2, in dairy herds in the region of Araguaína-TO, Brazil. Genetic material from 421 animals (crossbred dairy cattle in lactation) was used. All animals were numbered for identification, and DNA samples were extracted from hair bulbs. Samples for two markers from the polymorphic regions were characterized and confirmed by real-time PCR using the ABI Prism[®] 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Allele and genotype frequencies were determined using the TaqMan[™] detection system, where the primer and probe release different fluorescence signals for each allele of the polymorphism. The sampled herd showed frequencies of 28.27% for the A1 allele and 71.73% for the A2 allele. Genotype frequencies were 52.96% (223/421) for A2A2; 37.53% (158/421) for the A1A2 genotype; and 9.50% (40/421) for the A1A1 genotype. The frequency of the A1 allele for β -casein in dairy herds from the northern region of Tocantins was low and is per the results of previous studies. Although the A2A2 genotype of β -casein had a high relative frequency, the A1A2 genotype is still rather frequent, warranting greater selection pressure.

Keywords: Beta-casein. Dairy cattle. Genotyping. Tocantins.

RESUMO

Atualmente existe uma preocupação em relação à qualidade e doenças que estão relacionadas ao consumo de leite, pois o mesmo pode gerar desconfortos e reações alérgicas em alguns indivíduos devido aos seus constituintes protéicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo identificar a frequência alélica e genotípica de genes para beta caseína, A1 e A2, em rebanhos leiteiros da região de Araguaína-TO. Foram utilizados material genético de 421 animais (bovinos leiteiros mestiços em lactação), e todos os animais foram numerados para identificação e amostras de DNA foram extraídas de bulbo de folículos pilosos. As amostras para dois marcadores das regiões polimórficas foram caracterizadas e confirmadas por PCR em tempo real, usando um sistema de detecção de sequências ABI Prism[®] 7500 (Applied Biosystems). As frequências alélicas e genotípicas foram determinadas utilizando o sistema de detecção TaqMan[™], no qual o primer e a sonda emitem diferentes sinais de fluorescência para cada alelo do polimorfismo. Observou-se frequência do alelo A1 de 28,27%, e do alelo A2 de 71,73% no rebanho amostral. A frequência genotípica de A2A2 foi de 52,96% (223/421), com genótipo A1A2 de 37,53% (158/421), e de 9,50% (40/421) animais com genótipo A1A1. A frequência do alelo A1 para beta-caseína em rebanhos leiteiros da região norte do Tocantins foi baixa e seguiu a mesma tendência já observada em estudos anteriores. Os genótipos A2A2 da beta-caseína apresentaram frequência relativa alta, entretanto o genótipo A1A2 ainda é bastante frequente, necessitando de maior pressão de seleção.

Palavras-chave: Beta-caseína. Bovino de leite. Genotipagem. Tocantins.

Correspondence to:

Jorge Luís Ferreira
 Universidade Federal do Tocantins, Escola de Medicina
 Veterinária e Zootecnia, Campus Araguaína
 TO-421, 6
 CEP: 77804-970, Araguaína – TO, Brazil
 e-mail: jlferreira@uft.edu.br

Received: June 06, 2021

Approved: September 28, 2021

How to cite: Oliveira RORG, Carvalho ME, Rodrigues MHD, Poleti MD, Ferraz JBS, Souza ABB, Minharro S, Santos HD, Ferreira JL. Allele and genotype frequency for milk beta-casein in dairy cattle in the northern region of Tocantins State, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2021;58:e186603. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.186603>

Introduction

Tocantins State is the third-largest milk-producing state in the northern region of Brazil, with 405 million liters of milk produced per year, i.e., 1.20% of the national bovine milk production (Zoccal, 2020). Although this index is still low, milk holds significant importance for the regional economy, with employment and income-generating potential, especially in family farming.

In milk, β -casein represents 25 to 35% of total proteins, bearing two alleles: A1 and A2 (Barbosa et al., 2019). What differentiates these β -casein variants is the substitution of an amino acid at position 67 of the protein. A1 β -casein has a histidine residue (His67), whereas A2 β -casein has a proline (Pro67) (Ramakrishnan et al., 2020).

At present, there is a concern among the population regarding diseases related to the consumption of milk and dairy products (Siqueira, 2019), as it can cause discomfort for some people. According to Ingram et al. (2009), about 65% of the world population has some degree of allergy or intolerance to milk components. Data referring to food allergy in Brazil are scarce, but it is estimated that 2.2% of the world population has cow's milk protein allergy (CMPA), which affects 5.4% of children (Solé et al., 2018; Vieira et al., 2010).

This allergy can be due to any component of milk, the most common being the metabolite produced by the A1A1 genotype of β -casein. However, this can be corrected through the selection of A2A2 animals and, therefore, genotyping for that genotype may contribute to the non-production of this metabolite (Kay et al., 2021).

In some people, to digest milk with A1 β -casein, the organism breaks peptide bonds and releases the bioactive

peptide β -casomorphin-7 (BCM-7), which causes allergic reactions. Nonetheless, the presence of the A2 allele prevents peptide bond hydrolysis and inhibits the release of BCM-7 (Kamiński et al., 2007; Sharma et al., 2013).

Compared with conventional milk, A2A2 milk is a product of greater added value that constitutes an option to increase income from milk production. In Brazil, studies related to the frequency of the presence of β -casein alleles are still scarce, especially in the northern region of the country. Thus, this study was undertaken to examine the allele and genotype frequencies for β casein, A1 and A2, in dairy herds in the microregion of Araguaína - TO, Brazil.

Material and Methods

The present experiment was carried out from August 2020 to February 2021. Three (03) herds were selected from the dairy production chain of the microregion of Araguaína - TO, Brazil, located in the municipalities of Arapoema (Farm 1), Colinas do Tocantins (Farm 2), and Araguaína (Farm 3).

A total of 421 hair bulb samples distributed across three herds, characterized as dairy crossbreeds in production, were collected. The sample number was calculated considering 500,000 lactating cows, a 95% confidence interval, and a 5% experimental error, using an electronic calculator ("Calculator.net") with 95% confidence level ($Z=1.96$ standard deviation) and 5% margin of error. This experiment was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEUA) at the Federal University of Tocantins (approval n. 23.101.002.456/2020-23).

The selection of animals for sampling was based on the following criteria: 60% of the cows in the first, second, or third lactation, between 30 and 250 days in milk. Breed and age were not considered, due to the composition and genetic diversity of the herds. All properties were characterized as dairy farms. Sires and young service bulls were also sampled.

DNA extraction from the hair follicle was performed at the Animal Breeding Laboratory (LMA) of the Veterinary Medicine Program at the Federal University of Tocantins (UFT), following the protocol described by Olerup & Zetterquist (1992).

After the extractions of genetic material, the quantity and purity of DNA were determined using a NanoDrop 1000 spectrophotometer (ThermoScientific, Waltham, MA, USA). The genotype samples for two markers from the polymorphic regions were characterized and confirmed by real-time PCR using the ABI Prism[®] 7500 instrument (Applied Biosystems) (Carvalho et al., 2017).

The allele and genotype frequencies were determined using the TaqMan™ detection system, whereby the primer and probe release different fluorescence signals for each allele of the polymorphism and are paired in the target DNA region, allowing the identification of different alleles (A1 and A2) by reading the fluorescence of each sample. When only one fluorescent signal is detected, the sample is homozygous for one allele, and when two different fluorescent signals are detected, the sample is heterozygous, considering both possible alleles (Carvalho et al., 2017).

The probes were synthesized to selectively pair on the DNA template where the polymorphism of interest is located. The rate of heterozygous and homozygous individuals to one of their genotypes was estimated by the fluorescent signals of the probes (Carvalho et al., 2017).

To amplify the genotypes corresponding to the A1 and A2 alleles for β -casein, the area of the gene responsible for encoding the protein, a pair of primers previously designed with the regions of interest, containing the respective nucleotide sequences, was used:

Forward - 5' CCCAGACACAGTCTCTAGTCTATCC 3'

Reverse - 5' GGTGGAGTAAGAGGAGGGATGTTT 3'

And the fluorescence probe, by the following sequences:

Forward - 5' CCCATCC[C]TACAGCCT 3'

Reverse - 5' CCCATCC[A]TACAGCCT 3'

For the real-time polymerase chain reaction (PCR), approximately 15 ng of DNA were used for a reaction volume of 10 μ L, containing 0.25 μ L Assay Mix[®] (Applied Biosystems), and 5.0 μ L of Taqman[®] Master Mix Universal PCR (Applied Biosystems), under reaction conditions of 10 min at 95 °C and 45 cycles of 15 s at 92 °C and 1 min at 60 °C (Carvalho et al., 2017).

By visualizing the genotypes' curve pattern, it was possible to calculate the gene (x_i and x_j) and genotype (x_{ii} , x_{ij} and x_{jj}) frequencies, which were determined by directly counting the observed genotypes. To test the observed frequencies, Hardy-Weinberg equilibrium testing was performed (Falconer & Mackay, 1996).

Results

The frequencies of the A1 and A2 alleles in the sampled animals were 28.27% and 71.73%, respectively. Of the total 421 samples, 2.13% (09/421) corresponded to males, sires, of which 0.47% (02/421) showed the A1A1 genotype; 0.47% (02/421) A1A2; and 1.19% (05/421) the A2A2 genotype. Females represented 97.86% (412/421) of the analyzed herd, with 9.02% (38/421) having the A1A1 genotype; 37.05% (156/421) A1A2; and 51.79% (218 /421) the A2A2 genotype.

At farm I, 67 animals were genotyped. Of these, 17.91% (12/67) showed the A1A1 genotype; 29.85% (20/67); A1A2 and 52.24% (35/67) the A2A2 genotype. At farm II, 149 animals were genotyped, consisting of 6.04% (9/149) with the A1A1 genotype; 40.94% (61/149) with A1A2; and 53.02% (79/149) with A2A2. Finally, oat farm III, 205 animals were genotyped, with 9.27% (19/205) showing the A1A1 genotype; 37.56% (77/205) A1A2; and 53.17% (109/205) A2A2 (Figure 1).

All properties were characterized as dairy farms, with average milk production of 15.8 L/animal and an average fat content of 4.11%. The herds exhibited a great variation in their breed composition, with 41.33% of the animals characterized as crossbred (*Bos taurus* \times *Bos indicus*), 49.88% as Girolando breed, 7.60% as Gir breed, and the remaining 1.19% as other breeds (Jersey and Sindhi). A noteworthy trait of the crossbred animals is that, in phenotypic terms, the zebu genetic composition prevailed over other European phenotypes, although the contribution of each breed could not be defined.

This phenotypic characterization possibly explains the higher frequency of the A2A2 genotype, which represented 20.66% (87/421) of the total herd and 50% (87/174) of the group of animals from crossbreeding. Among the other crossbred animals, 9.77% (17/174) showed the A1A1 genotype and 40.23% (70/174) A1A2.

In all herds analyzed, the frequency of A2 alleles was higher than that of A1, with A2A2 genotype seen in 52.97% of the evaluated animals, A1A2 in 37.53%, and A1A1 in 9.50%. Figure 1 represents the absolute and relative frequencies of the genotypes for milk β -casein in each of the analyzed herds.

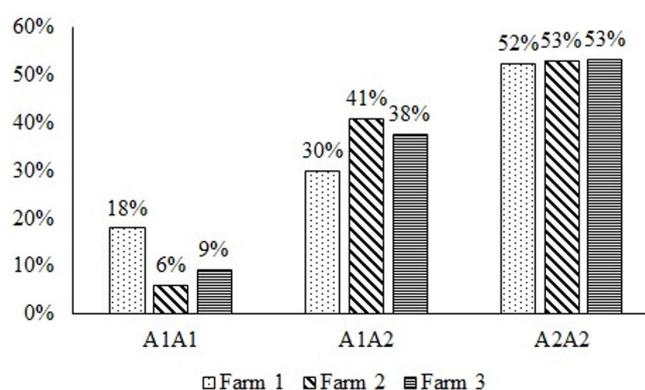


Figure 1 – Absolute and relative frequencies of genotypes for milk beta-casein (A1A1, A1A2, and A2A2) in hair bulb samples collected in three dairy cattle herds in the northern region of Tocantins State, Brazil, 2020-2021.

Discussion

This herd characterization somehow explains the non-observance of Hardy-Weinberg equilibrium in the studied population, since the variability is large and selection is present in the herds. Another characteristic that corroborates this statement is the high frequency of the A2A2 genotype (55.55%) in the service bulls of the farm (05/09). Yet another aspect that may have contributed is the use of 100% semen from bulls already genotyped for A2A2 on the females.

The presented results do not differ from those reported in the previous studies in Brazil (Lima et al., 2014; Paschoal et al., 2017; Vercesi, 2011), which overall indicate a higher frequency of the A2 allele and its A2A2 genotype over the A1 allele and the A1A1 genotype. Thus, it suggests that many breeders have already been directing mating to increase the frequency of A2A2 genotypes.

Lima et al. (2014) and Vercesi (2011) evaluated Gir cows and observed a higher frequency of the A2A2 genotype, which represented 0.85 for the first author and 0.96 for the second. The frequency of the A1 allele can vary across breeds, with some of them having a lesser predisposition for this allele and thus the A2 allele predominating. In this way, the high zebu composition of the herd may have contributed to this frequency, since zebu breeds have a higher frequency of the A2 allele (Paschoal et al., 2017).

In Brazil, studies investigating the frequency of the presence of alleles for β -casein are still rare, especially in Zebu herds. In a study with dairy Gir cows, Paschoal et al. (2017) found that 41% (7/17) had the A1A2 allele and 59% (10/17) the A2A2 allele.

It is known that all mammalian species once produced A2 β -casein only, but because of a genetic mutation that occurred approximately 10,000 years ago, some cows started to produce A1 β -casein. And, due to a selection process, this gene (A1) is found more frequently in European breeds. Kamiński et al. (2007) found a higher frequency of the A1 allele in taurine breeds. Hanusová et al. (2010) identified, in the Holstein breed, a higher frequency for the A1 allele, of 54% and 60% among females and males, respectively.

In the dairy breed Gir, in turn, frequencies of 89% for the A2 allele and 11% for the A1 allele were reported (Vercesi, 2011). Therefore, there is an association between genetic polymorphism and the breed, with zebu breeds having a higher frequency of the A2 allele. Because most of the sampled animals were characterized as zebu and/or crossbred, this condition may explain the observed frequency.

In a study carried out in the state of Rio Grande do Norte, Rangel et al. (2017) found frequencies of 98 and 97% for the A2 allele and 96% and 93% for the A2A2 genotype in the Gir and Guzarat breeds, respectively. According

to Kamiński et al. (2007), the frequency of the A1 allele in different breeds ranges from 6% (Guernsey), 1 to 12% (Jersey), and 31 to 66% (Holstein). Tailford et al. (2003) stated that the A2 allele is predominant in zebu breeds.

The observed results regarding the frequency of the A2 allele compared with the low frequency of the A1 β -casein allele indicate that these herds have low production of BCM-7. Thus, the selection of animals for the A2A2 genotype is less likely to cause the same health problems as milk with a high amount of A1 β -casein (Pereira, 2018). Studies led by Jianqin et al. (2016) showed that individuals who consumed A1 milk tend to experience significantly greater symptoms of digestive discomfort, delayed gastrointestinal transit, and gastroenteritis and that it may trigger lactose intolerance when compared with A2 milk.

Beta-casomorphin-7, a metabolite of A1 β -casein, also increases predisposition to other diseases such as human ischemic heart disease (McLachlan, 2001), type-1 diabetes mellitus (Elliott et al., 1999), arteriosclerosis (Tailford et al., 2003), and autism (Sokolov et al., 2014).

Therefore, the genotyping of animals for this gene can contribute to reducing the incidence of these diseases as a result of the ingestion of milk and its derivatives. Additionally, studies suggest that cows genotyped as A2A2 produce milk with higher protein content. In contrast, results regarding fat content are controversial (Nilsen et al., 2009; Olenski et al., 2010; Paschoal et al., 2017). Such characteristics of A2A2 milk culminate in a product with greater added value compared with conventional milk, constituting an option to increase income from milk production.

Milk holds great economic importance to the State of Tocantins, with employment and income-generating potential. Currently, some farms have significantly invested in improving their herds and sought to invest in the sale of differentiated products. However, there is still a need for technical monitoring, with guidelines to promote an efficient selection and formation of a differentiated market.

Conclusion

The frequency of the A1 allele for β -casein in dairy herds in the northern region of Tocantins was low and is per the results of previous studies. The A2A2 genotypes of β -casein had a high relative frequency; however, the A1A2 genotype is still rather frequent, warranting greater selection pressure, since it is recommended to cull animals with this genotype.

Conflict of interests

All authors declare that there are no conflicts of interest.

Ethics Statement

The project entitled 'Frequencies of A1 and A2 beta-casein alleles in dairy cattle herds from the mesoregion of Araguaína – Tocantins', case n. 23101.002456/2020-23, under the responsibility of Jorge Luís Ferreira, complies with the ethical standards established by the procedural law for the scientific use of animals, of October 8th, 2008, and its execution was approved by the Ethics Committee on Animal Use at the Federal University of Tocantins. Araguaína, 06/10/2020.

References

- Barbosa MG, Souza AB, Tavares GM, Antunes AEC. Leites A1 e A2: revisão sobre seus potenciais efeitos no trato digestório. *Segur Aliment Nutr.* 2019;26:1-11. <http://dx.doi.org/10.20396/san.v26i0.8652981>.
- Carvalho ME, Eler JP, Bonin MN, Rezende FM, Biase FH, Meirelles FV, Regitano LCA, Coutinho LL, Balieiro JCC, Ferraz JBS. Genotypic and allelic frequencies of gene polymorphisms associated with meat tenderness in Nellore beef cattle. *Genet Mol Res.* 2017;16(1). <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16018957>. PMID:28218779.
- Elliott RB, Harris DP, Hill JP, Bibby NJ, Wasmuth HE. Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus and cow milk: casein variant consumption. *Diabetologia.* 1999;42(3):292-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s001250051153>. PMID:10096780.
- Falconer DS, Mackay TFC. *Introduction to quantitative genetics.* 4th ed. Edinburgh, Scotland: Longman Group Limited; 1996.
- Hanusová E, Huba J, Oravcová M, Polák P, Vrtková I. Genetic variants of beta-casein in Holstein dairy cattle in Slovakia. *Slovak J Anim Sci.* [Internet]. 2010 [cited 2021 June 6];3(2):63-6. Available from: http://www.cvzv.sk/slju/10_2/Hanusova.pdf.
- Ingram CJE, Mulcare CA, Itan Y, Thomas MG, Swallow DM. Lactose digestion and the evolutionary genetics of lactase persistence. *Hum Genet.* 2009;124(6):579-91. <http://dx.doi.org/10.1007/s00439-008-0593-6>. PMID:19034520.
- Jianqin S, Leiming X, Lu X, Yelland GW, Ni J, Clarke AJ. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutr J.* 2016;15:35. <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0147-z>. PMID:27039383.
- Kamiński S, Cieslinska A, Kostyra E. Polymorphism of bovine betacasein and its potential effect on human health. *J Appl Genet.* 2007;48(3):189-98. <http://dx.doi.org/10.1007/BF03195213>. PMID:17666771.
- Kay SS, Delgado S, Mittal J, Eshraghi RS, Mittal R, Eshraghi AA. Beneficial effects of milk having A2 β -casein protein: myth or reality? *J Nutr.* 2021;151(5):1061-72. <http://dx.doi.org/10.1093/jn/nxaa454>. PMID:33693747.
- Lima TCC, Rangel AHN, Medeiros LGZ, Coutinho LL, Peixoto MGCD, Borba LH, Lima GFC. Sem contra-indicação: estudo confirma capacidade do zebu de produzir leite não alergênico. *Revista ABCZ.* 2014;84:87-9.
- Mclachlan CN. Beta casein A1, ischemic heart disease mortality and other illness. *Med Hypotheses.* 2001;56(2):262-72. <http://dx.doi.org/10.1054/mehy.2000.1265>. PMID:11425301.
- Nilsen H, Olsen HG, Hayes B, Sehested E, Svendsen M, Nome T, Meuwissen T, Lien S. Casein haplotypes and their associations with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genet Sel Evol.* 2009;41(1):24. <http://dx.doi.org/10.1186/1297-9686-41-24>. PMID:19284706.
- Oleński K, Kamiński S, Szyda J, Cieslinska A. Polymorphism of the beta-casein gene and its association with breeding value for production traits of Holstein-Frisian bulls. *Livest Sci.* 2010;131(1):137-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.02.023>.
- Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in

- 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens*. 1992;39(5):225-35. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.1992.tb01940.x>. PMID:1357775.
- Paschoal JJ, Silva MB, Hortolani B. Beta caseína A2 e sua relação com a produção e composição do leite de vacas Gir leiteiro [Internet]. In: 27 Congresso Brasileiro de Zootecnia: ZOOTEC 2017; Santos. Campinas: Galoá; 2017 [cited 2021 June 6]. Available from: <https://proceedings.science/zootec/papers/beta-caseina-a2-e-sua-relacao-com-a-producao-e-composicao-do-leite-de-vacas-gir-leiteiro>.
- Pereira TC. Identificação dos alelos A1 e A2 para o gene da beta-caseína na raça Crioula Lageana [final paper]. Florianópolis: Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina; 2018.
- Ramakrishnan M, Eaton TK, Sermet OM, Savaiano DA. Milk containing A2 β -casein only, as a single meal, causes fewer symptoms of lactose intolerance than milk containing A1 and A2 β -caseins in subjects with lactose maldigestion and intolerance: a randomized, double-blind, crossover trial. *Nutrients*. 2020;12(12):3855-69. <http://dx.doi.org/10.3390/nu12123855>. PMID:33348621.
- Rangel AHN, Zaros LG, Lima TC, Borba LHF, Novaes LP, Mota LFM, Silva MS. Polymorphism in the Beta Casein Gene and analysis of milk characteristics in Gir and Guzera dairy cattle. *Genet Mol Res*. 2017;16(2):1-9. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16029592>. PMID:28549202.
- Sharma V, Narotam S, Prem RS, Binish J, Satish CN, Singh RK. Amplification of the bovine beta casein gene relevance to modern human health. *Am J PharmTech Res* [Internet]. 2013 [cited 2021 June 6];3(1):439-44. Available from: https://www.academia.edu/17193808/Amplification_of_the_Bovine_Beta_Casein_Gene_Relevance_to_Modern_Human_Health.
- Siqueira KB. Leite e derivados: novas tendências. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Anuário Leite 2019. Sua excelência, o consumidor. Novos produtos e novas estratégias da cadeia do leite para ganhar competitividade e conquistar os clientes finais. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa; 2019 [cited 2021 June 6]. p. 74-5. Available from: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/198698/1/Anuario-LEITE-2019.pdf>.
- Sokolov O, Kost N, Andreeva O, Korneeva E, Meshavkin V, Tarakanova Y, Dadayan A, Zolotarev Y, Grachev S, Mikheeva I, Varlamov O, Zozulya A. Autistic children display elevated urine levels of bovine caseomorphin-7 immunoreactivity. *Peptides*. 2014;56:68-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2014.03.007>. PMID:24657283.
- Solé D, Silva LR, Cocco RR, Ferreira CT, Sarni RO, Oliveira LC, Pastorino AC, Weffort V, Morais MB, Barreto BP, Oliveira JC, Castro APM, Franco JM, Neto HJC, Rosário NA, Alonso MLO, Sarinho EC, Yang A, Maranhão H, Toporosvski MS, Epifanio M, Wandalsen NF, Rubini NM. Consenso Brasileiro sobre Alergia Alimentar: 2018 - Parte 1 - Etiopatogenia, clínica e diagnóstico. Documento conjunto elaborado pela Sociedade Brasileira de Pediatria e Associação Brasileira de Alergia e Imunologia. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2018;2(1):7-38. <http://dx.doi.org/10.5935/2526-5393.20180004>.
- Tailford KA, Berry CL, Thomas AC, Campbell JH. A casein variant in cow's milk is atherogenic. *Atherosclerosis*. 2003;170(1):13-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150\(03\)00131-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00131-X). PMID:12957678.
- Vercesi Filho AE. Identificação de alelos para o gene da beta-caseína na raça gir leiteiro. *Pesqui Tecnol* [Internet]. 2011 [cited 2021 June 6];8(2):1-5. Available from: <http://apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/educacao-2011/2011-julho-dezembro/1249-identificacao-de-alelos-para-o-gene-da-beta-caseina-na-raca-gir-leiteiro-1/file.html>.
- Vieira MC, Morais MB, Spolidoro JV, Toporosvski MS, Cardoso AL, Araujo GT, Nudelman V, Fonseca MC. A survey on clinical presentation and nutritional status of infants with suspected cow' milk allergy. *BMC Pediatr*. 2010;10:25. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2431-10-25>. PMID:20416046.
- Zoccal R. Estados e regiões: destaques em produção. In: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Anuário Leite 2020. Leite de vacas felizes [Internet]. São Paulo: Texto Comunicação Corporativa; 2020 [cited 2021 June 6]. p. 38-9. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1124722/anuario-leite-2020-leite-de-vacas-felizes>.

Financial Support: Financial support National Program for Academic Cooperation in the Amazon – PROCAD/Amazônia, by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – CAPES/Brazil (Process n. 88881.200559/2018-01, support n. 1696/2018).