

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ БЕТА-КАЗЕЇНУ ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З СКЛАДОМ МОЛОКА У КОРІВ СИМЕНТАЛЬСЬКОЇ ПОРОДИ

В. І. ЛАДИКА¹, Ю. М. ПАВЛЕНКО¹, Т. І. ДРЕВИЦЬКА², В. Є. ДОСЕНКО²,
Ю. І. СКЛЯРЕНКО³, Л. С. БАРТЕНЄВА⁴

¹Сумський національний аграрний університет (Суми, Україна)

²Інститут фізіології імені О. Богомольця НАН України (Київ, Україна)

³Інститут сільського господарства Північного Сходу НААН (Сад, Україна)

⁴Територіально відокремлена кафедра «Хмельницька філія Академії Державної пенітенціарної служби» (Давидківці, Україна)

<https://orcid.org/0000-0001-6748-7616> – В. І. Ладика

<https://orcid.org/0000-0002-4128-122X> – Ю. М. Павленко

<https://orcid.org/0000-0002-3192-4682> – Т. І. Древицька

<https://orcid.org/0000-0002-6919-7724> – В. Є. Досенко

<https://orcid.org/0000-0002-6579-2382> – Ю. І. Скляренко

<https://orcid.org/0000-0003-2579-9384> – Л. С. Бартенєва

Sklyrenko9753@ukr.net

Вивчали поліморфізм гену бета-казеїну та його вплив на якісний склад молока корів симентальської породи. Проведене генотипування 76 корів. Визначення поліморфізму гену бета-казеїну проводили в генетичній лабораторії Інституту фізіології ім. Богомольця. Для проведення алейної дискримінації використовувалась система TagMan@Genotyping та набір праймерів та зондів.

Встановлено, що частоти алелю A2 була високою (0,645). Частіше в стадах зустрічались тварини з генотипом A1A2 та A2A2 (частота відповідно 45 та 42%). За даними генетико-статистичного аналізу фактична частота генотипів співпадала з теоретично розрахованою.

За вмістом жиру та білка в молоці тварини всіх генотипів відповідали стандарту породи. Між тваринами різних генотипів статистично значущої різниці за якісними характеристиками молока не виявлено. Можна констатувати, що формування стад з генотипом A2A2 за бета-казеїном не матиме негативного достовірного впливу на ступінь розвитку продуктивних ознак корів і таким чином забезпечить збереження високих показників якості молока худоби стад нового типу.

Ключові слова: генотип, казеїн, алель, гетерозиготність, вміст жиру, вміст білка

STUDY OF BETA-CASEIN GENE POLYMORPHISM AND ITS RELATIONSHIP WITH MILK COMPOSITION IN SIMMENTAL COWS

V. I. Ladyka¹, Yu. M. Pavlenko¹, T. I. Drevytska², V. Ye. Dosenko², Yu. I. Skliarenko³,
L. S. Bartienieva⁴

¹Sumy National Agrarian University (Sumy, Ukraine)

²Bohomolets Institute of Physiology of NAS of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

³Institute of Agriculture of the North-East of NAAS of Ukraine (Sad, Ukraine)

⁴Territorially separate department «Khmelnitsky branch of Academy of the State Penitentiary Service» (Davydkivtsi, Ukraine)

The polymorphism of β -casein gene and its influence on the qualitative composition of milk of Simmental cows were studied. Genotyping of 76 cows was carried out. Determination of β -casein

gene polymorphism was performed in the genetic laboratory of Bohomolets Institute of Physiology. The TagMan@Genotyping system and a set of primers and probes were used for allelic discrimination.

It was found that the frequency of the A2 allele was high (0.645). Animals with A1A2 and A2A2 genotypes were more common in herds (frequency of 45 and 42%, respectively). According to genetic and statistical analysis, the actual frequency of genotypes coincided with the theoretically calculated.

In terms of milk fat and protein content, animals of all genotypes met the breed standard. No statistically significant difference in the quality characteristics of milk was found between animals of different genotypes. It can be stated that the formation of herds with A2A2 genotype for beta-casein will not have a negative impact on the development of cows' productive traits and thus ensure the preservation of high quality milk of new type cattle herds.

Keywords: genotype, casein, allele, heterozygosity, fat content, protein content

Впродовж тривалого часу об'єктом досліджень вітчизняних та закордонних вчених є не лише кількісні, а й якісні показники молока. Особливо актуальним це питання стало після виявлення науковцями негативного впливу молока на стан здоров'я людини. Так в останні роки дослідники відмічають, що при вживанні коров'ячого молока у людини можуть виникати розлади шлунково-кишкового тракту. Науковці пов'язують ці проблеми з наявністю в молоці бета-казеїну А1 [5, 15, 18, 20]. Також зі споживанням молока, що містить бета-казеїн типу А1 пов'язують розвиток серцево-судинних захворювань, діабету 1 типу, синдрому раптової дитячої смерті та різних неврологічних розладів, алергії [7, 9, 13, 16]. Отже актуальним питанням є проведення генотипування тварин молочних стад з метою отримання молочної сировини лише з бета-казеїном А2 [13, 6].

Нещодавно проведені дослідження вказують на те, що тварини інших видів, а саме кози, вівці, верблюди, коні, віслюки, буйволи виробляють молоко лише з бета-казеїном А2 [2, 12].

У молоці корів міститься більше 5 варіантів бета-казеїну. Проте два з них А1 та А2 зустрічаються найчастіше. У корів різних порід частота алелів суттєво різняться. У тварин найпоширенішої в світі породи – голштинської частота бажаного алелю знаходиться в межах 0,5–0,6. Частота бажаного генотипу – в межах 35–40%. У тварин швіцької породи частота бажаного алелю А2 суттєво більша – 0,70–0,75, а бажаного генотипу А2А2 – близько 70% [10]. У африканських та азійських порід великої рогатої худоби частота алеля А2 та генотипу А2А2 дуже високі і знаходяться в межах 0,90–0,98 [17, 20]. Сьогодні в окремих країнах світу створюються молочні стада де розводять гомозиготних тварин А2А2 [10]. При цьому споживачі зацікавлені в споживанні подібної продукції не дивлячись на її більшу вартість майже в 1,5–2 рази [3].

На сьогоднішній день для селекціонерів залишається відкритим питання – чи впливає генотип за бета-казеїном на вміст складових молока, а саме вміст жиру, білка та інших [3, 14, 18]. За попередніми результатами, що отримані дослідниками статистично значущої різниці між тваринами різних генотипів за бета-казеїном за вмістом жиру та білка не встановлено [8, 11].

Тому **метою** нашої роботи було дослідити поліморфізм гена бета-казеїну у корів симентальської породи та його зв'язок з якісними показниками молочної продуктивності.

Матеріали та методи досліджень. Проведене генотипування корів симентальської породи, що утримуються в ПЗ «Михайлівка» Лебединського району Сумської області (n = 46) та СФГ «Урожай» Роменського району Сумської області (n = 30).

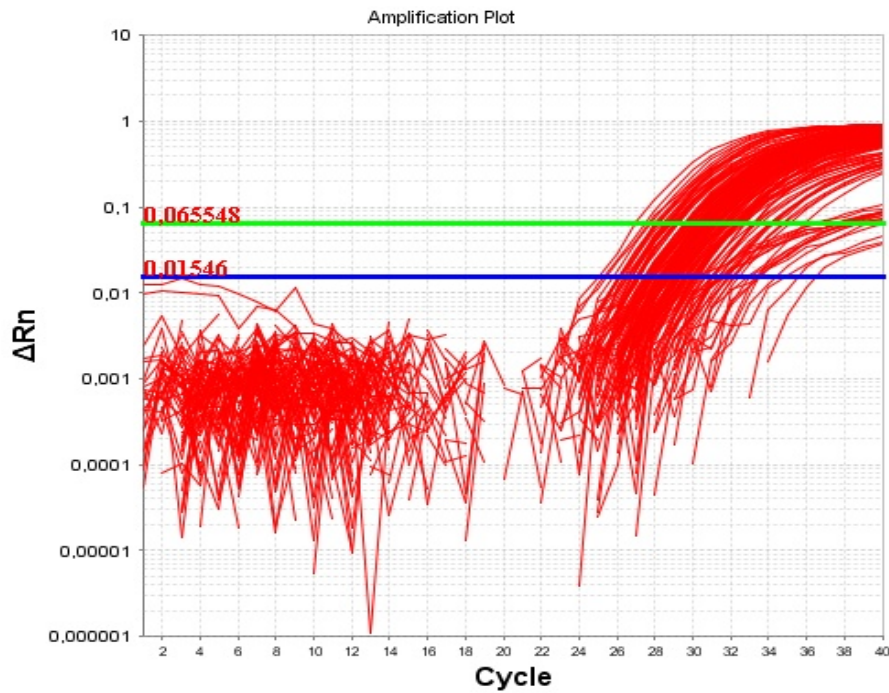


Рис 1. Ампліфікаційні криві визначення генотипу за поліморфізмом гену бета-казеїну CSN2 (rs43703011).

Визначення поліморфізму гену бета-казеїну проводили в генетичній лабораторії Інституту фізіології ім. Богомольця НАН за допомогою молекулярно-біологічного аналізу розпізнавання алелів методом полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі.

Зразки крові відбирали у моновети об'ємом 2,7 мл ("Sarstedt", Німеччина) з наступним заморожуванням зразків та їх зберіганням при -20°C . Для отримання ДНК для подальшого генотипування використовували набір для очищення геномної ДНК Monarch® New England BioLab (США) згідно з протоколом виробника. Для проведення алельної дискримінації використовувалась система TagMan@Genotyping та набір праймерів та зондів.

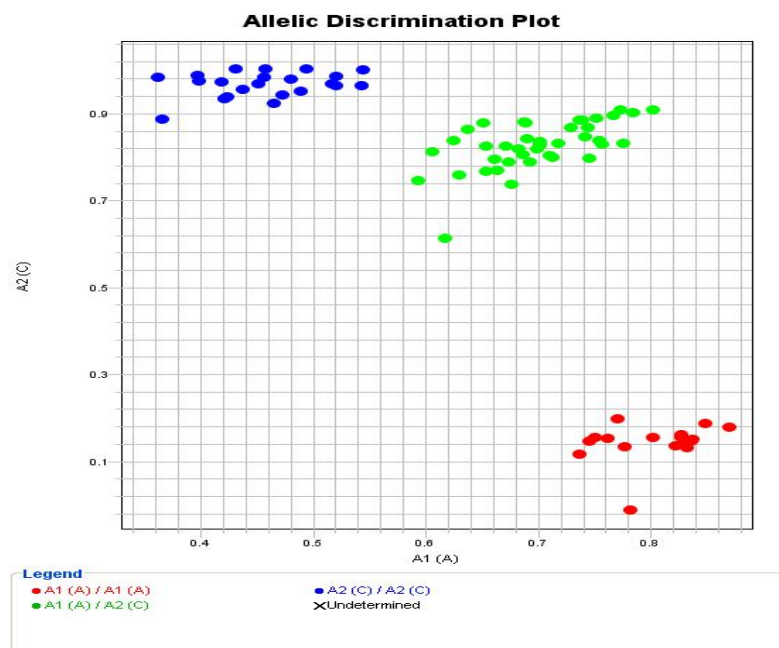


Рис 2. Алельна дискримінація за генотипами поліморфізмом гену бета-казеїну CSN2 (rs43703011).

Підрахунок частот алелів проводили із врахуванням кількості гомозигот і гетерозигот, знайдених за відповідним алелем за формулою:

$$P(A) = \frac{2N_1 + N_2}{2n}$$

де N_1 і N_2 – відповідно число гомозигот і гетерозигот для досліджуваного алеля;
 n – число вибірки.

З метою оцінки статистичної достовірності розбіжності розподілів одержаних результатів використовували критерій Пірсона:

$$\chi^2 = \frac{\sum(\Phi - T)^2}{T}$$

де: Φ – фактична кількість генотипів;

T – теоретична кількість генотипів.

Фактичну (наявну) гетерозиготність визначали шляхом прямого підрахунку за формулою:

$$H_O = \frac{N_2}{n}$$

Очікувану гетерозиготність визначали за формулою:

$$H_E = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

де p_1, p_2, \dots, p_n – частоти алелів.

Для генетичної характеристики поголів'я також визначали рівень гомозиготності (Ca):

$$Ca = (p(A)^2 + p(B)^2) * 100;$$

рівень поліморфності, Na :

$$Na = 1/Ca;$$

тест гетерозиготності, визначали шляхом співставлення відношень між емпіричними гетерозиготами і емпіричними гомозиготами з аналогічним відношенням, отриманими за теоретичними даними;

коефіцієнт ексцесу (D) кількісно оцінює нехватку або перебільшення фактичної гетерозиготності у досліджуваних популяцій в порівнянні з теоретично розрахованим показником.

Для відбору проб молока використовували лічильник – індикатор ИУ-1. Пробу молока зберігали у пластиковій емкості (25 мл). Проаналізовано біохімічний склад молока від семи корів кожного генотипу (A1A1, A1A2, A2A2). Вміст жиру та білку в молоці визначали у лабораторії Сумського національного аграрного університету на обладнанні Ultrasonic milk analyzer Master Classic.

Результати досліджень обробляли методами математичної статистики засобами пакету «Statistica-6.1» у середовищі Windows на ПЕОМ.

Результати й обговорення. Аналіз даних генотипування тварин симентальської породи виявив, що з більшою частотою зустрічаються генотипи A1A2 та A2A2 – більше 40%. Як результат частота бажаного алеля A2 була досить високою (табл. 1).

1. Частота алелів та генотипів за локусом гена бета-казеїну

Розподіл*	Генотипи						Алель, од		χ^2
	A1A1		A1A2		A2A2		A1	A2	
	n	%	n	%	n	%			
Ф	10	13	34	45	32	42	0,355	0,645	0,041
О	9,6	13	34,8	45	31,6	42			

*Примітка: Ф – фактична, О – очікувана

Розрахунок за формулою Харді-Вайнберга показав відсутність різниці між фактичними та очікуваними частотами генотипів у тварин. Використовуючи генетико-статистичні методи аналізу, шляхом визначення цифрових значень таких генетичних констант як ступінь гомозиготності (Ca), рівень поліморфності (Na) ми намагалися оцінити перспективність роботи з підвищення частоти бажаного генотипу A2A2 в популяції симентальської породи регіону (табл. 2).

2. Генетична мінливість симентальської породи за локусом бета-казеїну, %

Показники	Значення	
	фактичні	теоретичні
Гетерозиготи, голів	34	35,8
Гомозиготи, голів	34	34,8
Коефіцієнт гетеро/гомозиготи	1	1,03
Тест гетерозиготності	-0,036	–
Ступінь гомозиготності, Ca, %	54,2	–
Рівень поліморфності, Na	1,84	–
Коефіцієнт ексцесу D	-0,02	–
Частка гомозигот, %	55,3	–

Ступінь гомозиготності в досліджуваних популяціях великої рогатої худоби дорівнює 54,2%, що може свідчити про достатній рівень їх консолідації. Підтвердженням цьому є аналіз таких генетичних показників, як рівень поліморфності (число ефективно діючих алелів – Na), який дорівнював 1,84. Тест гетерозиготності (ТГ), який свідчить про рівень генетичного різноманіття популяції, в досліджуваних стадах майже дорівнював нулю, що свідчить про баланс між часткою фактичних гетерозигот відносно частки теоретичних гетерозигот. Що стосується коефіцієнту ексцесу (D), який характеризує співвідношення фактичної гетерозиготності до теоретичної, то відмічаємо незначне відхилення дійсної гетерозиготності від очікуваної з лівостороннім ексцесом, що також свідчить про відсутність дефіциту гетерозигот.

Відповідно до мети наших досліджень, нами було досліджена залежність вмісту складових молока від генотипу за бета-казеїном (табл. 3).

3. Якісний склад молока залежно від генотипу за бета-казеїном (n = 7 за кожним генотипом)

Генотип	Вміст в молоці, %			
	жиру	білка	лактози	СЗМЗ
A1A1	4,43 ± 0,159	3,28 ± 0,060	4,93 ± 0,089	8,97 ± 0,163
A1A2	4,36 ± 0,191	3,25 ± 0,050	4,88 ± 0,074	8,88 ± 0,135
A2A2	4,47 ± 0,166	3,36 ± 0,046	5,13 ± 0,077	9,12 ± 0,161
У середньому	4,42 ± 0,099	3,30 ± 0,030	4,94 ± 0,037	9,01 ± 0,072

Середні показники вмісту складових у молоці корів всіх досліджуваних генотипів відповідали стандарту породи. Тварини симентальської породи з бажаним генотипом A2A2 дещо переважали за всіма досліджуваними показниками тварин інших генотипів, але різниця між ними була статистично незначущою. Тому на нашу думку формування стад з генотипом A2A2 за бета-казеїном не матиме негативного впливу на продуктивні ознаки корів і таким чином забезпечить збереження високих якісних показників молока худоби стад нового типу.

Висновки. Проведене генотипування корів симентальської породи за геном бета-казеїну. Встановлено, що більшою частотою характеризувався алель A2 (0,645). Відповідно частоти генотипів A1A1, A1A2 та A2A2 склали – 13%, 45%, 42%. За даними генетико-статистичного аналізу встановлено рівновагу за фактичним та теоретичним розподілом генотипів.

За вмістом жиру та білка в молоці тварини всіх генотипів відповідали стандарту породи. Між тваринами різних генотипів статистично значущої різниці за якісними характеристиками молока не виявлено. Можна констатувати, що формування стад з генотипом A2A2 за бета-казеїном не матиме негативного достовірного впливу на продуктивні ознаки корів і таким чином забезпечить збереження високих якісних показників молока худоби стад нового типу. Проте подальшого вивчення потребує питання впливу генотипу за бета-казеїном на технологічні властивості молока.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Ладика В. І., Склярєнко Ю. І., Павленко Ю. М. Характеристика генетичної структури за геном β -казеїну плідників, допущених до використання в Україні у 2020 році. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. Б. Церква, 2020. № 1. С. 39–45. <https://doi.org/10.33245/2310-9270-2020-157-1-39-45>
2. Марзанов Н. С., Девришов Д. А., Марзанова С. Н., Абылкасымов Д. А., Коновалова Н. В., Либет И. С. Характеристика российских молочных пород крупного рогатого скота по встречаемости генотипов и аллелей в локусе бета-казеина. *Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология*. 2020. № 1. С. 47–52. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202001007
3. Amalfitano N., Cipolat-Gotet C., Cecchinato A., Malacarne M., Summer A., Bittante G. Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *J. Dairy Sci.* 2018. Vol. 102. P. 2903–2917. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15524>
4. Bentivoglio D., Finco A., Bucci G., Staffolani G. Is There a Promising Market for the A2 Milk? Analysis of Italian Consumer Preferences. *Sustainability*. 2020. Vol. 12 (17). P. 6763. <https://doi.org/10.3390/su12176763>
5. Fuerer C., Jenni R., Cardinaux L., Andetsion F., Wagnière S., Moulin J., Affolter M. Protein fingerprinting and quantification of β -casein variants by ultraperformance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *J. Dairy Sci.* 2019. Vol. 103. P. 1193–1207. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16273>
6. Gigliotia R., Gutmanisa G., Katikia L., Okinob C., Oliveirab M., Filhoa A. New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples. *Food Chemistry*. 2020. Vol. 313. P. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126167>
7. Guantario B., Giribaldi M., Devirgiliis C., Finamore A., Colombino E., Capucchio M., Evangelista R., Motta V., Zinno P., Cirrincione S., Antoniazzi S., Cavallarin L., Roselli M. A Comprehensive Evaluation of the Impact of Bovine Milk Containing Different Beta-Casein Profiles on Gut Health of Ageing Mice. *Nutrients*. 2020. Vol. 12 (7). P. 2–19. <https://doi.org/10.3390/nu12072147>
8. Gustavsson F., Buitenhuis A., Johansson M., Bertelsen H., Glantz M., Poulsen N. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 97. P. 3866–3877. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7312>
9. Henrique do Nascimento Rangel A., Cavalcanti Sales D., Antas Urbano S., Geraldo Bezerra Galvãojúnior J., César de Andrade Neto J., de Souza Macêdo C. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Food Science and Technology*. 2016. Vol. 36 (2). P. 179–187. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.0019>
10. Kaskous S. A1- and A2-Milk and Their Effect on Human Health. *Journal of Food Engineering and Technology*. 2020. Vol. 9 (1). P. 15–21. <https://doi.org/10.32732/jfet.2020.9.1.15>
11. Kyselová J., Ječmínková K., Matějčíková J., Hanuš O., Kott T., Štípková M., Krejčová M. Physiochemical characteristics and fermentation ability of milk from Czech Fleckvieh cows are related to genetic polymorphisms of β -casein, κ -casein, and β -lactoglobulin. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2019. Vol. 32 (1). P. 14–22. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0924>
12. Louise S., Jackeline S. Alves, Marisa S. Bastos, Raphael B., Camargo G. Do non-bovine domestic animals produce A2 milk? : an in silico analysis. *Animal Biotechnology*. 2021. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1935982>
13. Mayer H., Lenz K., Halbauer E. “A2 milk” authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques. *Food Research International*. 2021. Vol. 147. P. 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110523>
14. Miluchová M., Gábor M., Candrák J., Trakovická A., Candráková K. Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle. *Acta Biochimica Polonica*. 2018. Vol. 65, No 3. P. 403–407. DOI: https://doi.org/10.18388/abp.2017_2313
15. O'Callaghan T. An overview of the A1/A2 milk hypothesis. *Dairy Nutrition forum*. 2020. Vol. 12, iss. 2. P. 1–4.

16. Parashar A., Saini R. A1 milk and its controversy-areview. *International Journal of Bioassays*. 2015. Vol. 4 (12). P. 4611–4619.
17. Pimenta S., Mota L., Paraná S., Bermal C., Ferreira C. Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production. *Animal Production Science*. 2020. Vol. 60. P. 893–895. <https://doi.org/10.1071/AN18677>
18. Sae-In S K., Delgado S., Mittal J., Eshraghi R., Mittal R., Eshraghi A. Beneficial Effects of Milk Having A2 β -Casein Protein: Myth or Reality? *Journal of Nutrition*. 2021. Vol. 151 (5), P. 1061–1072. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa454>
19. Sebastiani C., Arcangeli C., Ciullo M., Torricelli M., Cinti G., Fisichella S., Biagetti M. Frequencies Evaluation of β -Casein Gene Polymorphisms in Dairy Cows Reared in Central Italy. *Animals*. 2020. Vol. 10 (2). P. 2–7. <https://doi.org/10.3390/ani10020252>
20. Teixeira D., Costa R., Ferreira de Camargo G. Guzerat indicine cattle and A2 milk production. *Animal Biotechnology*. 2021. <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1962336>

REFERENS

1. Ladyk, V. I., Yu. I. Skliarenko, and Yu. M. Pavlenko. 2020. Kharakterystyka henetychnoi struktury za henom β -kazeinu plidnykiv, dopushchenykh do vykorystannia v Ukraini u 2020 rotsi – Characteristics of the genetic structure according to the gene of β -casein of the fruit, admitted to use in Ukraine in 2020. *Tekhnolohiia vyrobnytstva i pererobky produktsii tvarynnytstva – Technology of production and processing of livestock products*. 1:39–45 (in Ukrainian).
2. Marzanov, N. S., D. A. Devrishov, S. N. Marzanova, D. A. Abylkasymov, and N. V. Konovalova, I. S. Libet. 2020. Characterization of Russian dairy cattle breeds by the occurrence of genotypes and alleles at the beta-casein locus – Characteristics of the rossesky molded porosity of a large horned cattle for the inspection of genotypes and alleles in the beta-casein location. *Veterinary Science Animal Science Biotechnology – Veterinarian zootechnia biotechnology*. 1:47–52 (In Russian).
3. Amalfitano, N., C. Cipolat-Gotet, A. Cecchinato, M. Malacarne, A. Summer, and G. Bittante. 2018. Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *J. Dairy Sci.* 102:2903–2917 (in English).
4. Bentivoglio, D., A. Finco, G. Bucci, G. Staffolani. 2020. Is There a Promising Market for the A2 Milk? Analysis of Italian Consumer Preferences. *Sustainability*. 12(17):6763 (in English).
5. Fuerer, C., R. Jenni, L. Cardinaux, F. Andetsion, S. Wagnière, J. Moulin, and M. Affolter. 2020. Protein fingerprinting and quantification of β -casein variants by ultraperformance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *J. Dairy Sci.* 103:1193–1207 (in English).
6. Gigliotia, R., G. Gutmanisa, L. Katikia, C. Okinob, M. Oliveirab, and A. Filhoa. 2020. New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples. *Food Chemistry*. 313:1–7 (in English).
7. Guantario, B., M. Giribaldi, C. Devirgiliis, A. Finamore, E. Colombino, M. Capucchio, R. Evangelista, V. Motta, P. Zinno, S. Cirrincione, S. Antoniazzi, L. Cavallarin, and M. Roselli. 2020. A Comprehensive Evaluation of the Impact of Bovine Milk Containing Different Beta-Casein Profiles on Gut Health of Ageing Mice. *Nutrients*. 12(7):2–19 (in English).
8. Gustavsson, F., A. Buitenhuis, M. Johansson, H. Bertelsen, M. Glantz, and N. Poulsen. 2013. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 97:3866–3877 (in English).
9. Henrique do Nascimento Rangel, A., D. Cavalcanti Sales, S. Antas Urbano, J. Geraldo Bezerra Galvãojúnior, J. César de Andrade Neto, and C. de Souza Macêdo. 2016. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Food Science and Technology*. 36(2):179-187 (in English).
10. Kaskous, S. 2020. A1- and A2-Milk and Their Effect on Human Health. *Journal of Food Engineering and Technology*. 9(1):15–21 (in English).
11. Kyselová, J., K. Ječmínková, J. Matějčková, O. Hanuš, T. Kott, M. Štípková, and M. Krejčová. 2019. Physiochemical characteristics and fermentation ability of milk from Czech

Fleckvieh cows are related to genetic polymorphisms of β -casein, κ -casein, and β -lactoglobulin. *Asian-Australas J Anim Sci.* 32(1):14–22 (in English).

12. Louise, S., S. Jackeline, S. Marisa, B. Raphael, and G. Camargo. 2021. Do non-bovine domestic animals produce A2 milk? : an in silico analysis. *Animal Biotechnology.* <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1935982> (in English).

13. Mayer, H., K. Lenz, and E. Halbauer. 2021. “A2 milk” authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques. *Food Research International.* 147:2–9 (in English).

14. Miluchová, M., M. Gábor, J. Candrák, A. Trakovická, and K. Candráková. 2018. Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle. *Acta Biochimica Polonica.* 65(3):403–407 (in English).

15. O'Callaghan, T. 2020. An overview of the A1/A2 milk hypothesis. *Dairy Nutrition forum.* 12(2):1–4 (in English).

16. Parashar, A., and R. Saini. 2020. A1 milk and its controversy-areview. *International Journal of Bioassays.* 4(12):4611–4619 (in English).

17. Pimenta, S., L. Mota, S. Paraná, C. Bernal, and C. Ferreira. 2020. Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production. *Animal Production Science.* 60:893–895 (in English).

18. Sae-In S K., S. Delgado, J. Mittal, R. Eshraghi, R. Mittal, and A. Eshraghi. 2021. Beneficial Effects of Milk Having A2 β -Casein Protein: Myth or Reality? *Journal of Nutrition.* 151(5):1061–1072 (in English).

19. Sebastiani, C., C. Arcangeli, M. Ciullo, M. Torricelli, G. Cinti, and S. Fisichella, M. Biagetti. 2020. Frequencies Evaluation of β -Casein Gene Polymorphisms in Dairy Cows Reared in Central Italy. *Animals.* 10(2):2–7 (in English).

20. Teixeira, D., R. Costa, G. Ferreira de Camargo. 2021. Guzerat indicine cattle and A2 milk production. *Animal Biotechnology.* <https://doi.org/10.1080/10495398.2021.1962336> (in English).

Одержано редколегією 26.10.2021 р.

Прийнято до друку 23.11.2021 р.