

УДК 636.082.064

Дослідження поліморфізму гена бета-казеїну та його зв'язок зі складом молока у корів


Ладика В.І.¹ , Павленко Ю.М.¹ , Древицька Т.І.² ,

Досенко В.Є.² , Скляренко Ю.І.³ 

¹ Сумський національний аграрний університет

² Інститут фізіології імені О. Богомольця НАН України

³ Інститут сільського господарства Північного Сходу НААН

 Скляренко Ю.І. E-mail: Sklyrenko9753@ukr.net



Ладика В.І., Павленко Ю.М., Древицька Т.І., Досенко В.Є., Скляренко Ю.І. Дослідження поліморфізму гена бета-казеїну та його зв'язок зі складом молока у корів. Збірник наукових праць «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», 2021. № 2. С. 92–100.

Ladyka V., Pavlenko Y., Drevytska T., Dosenko V., Sklyarenko Y. The Investigation of β -case in gene polymorphism and its relationship with milk composition in cows. «Animal Husbandry Products Production and Processing», 2021. № 2. PP. 92–100.

Рукопис отримано: 04.10.2021 р.

Прийнято: 18.10.2021 р.

Затверджено до друку: 09.12.2021 р.

doi: 10.33245/2310-9289-2021-166-2-92-100

У племінних стадах худоби української чорно-рябої молочної, лебединської та симентальської порід проведено дослідження, метою яких було вивчити поліморфізм гена бета-казеїну та його вплив на якісний склад молока корів. Проведено генотипування 200 голів великої рогатої худоби названих вище порід. Визначення поліморфізму гена бета-казеїну проводили в генетичній лабораторії Інституту фізіології ім. Богомольця. Для проведення аельної дискримінації використовували систему TagMan@Genotyping та набір праймерів і зондів.

Встановлено, що частоти алелів А1 (0,294–0,380) та А2 в локусі гена бета-казеїну у тварин різних порід різнилися. Вищою частотою бажаного алеля А2 вирізнялася популяція корів лебединської породи (0,706), а нижчою – симентальської (0,620). Частота алеля А1 була найменшою у корів лебединської породи (0,294), а вищою – української чорно-рябої молочної породи (0,380). Відповідно частоти генотипів А1А1, А1А2 та А2А2 залежно від походження різнилися. Бажаний генотип частіше зустрічався у тварин української чорно-рябої молочної та лебединської порід (53–52 % відповідно). Гетерозиготний генотип частіше зустрічався у тварин лебединської та симентальської порід (37 %). Вищою частотою генотипу А1А1 характеризувалися тварини української чорно-рябої молочної та симентальської порід (20 %). За даними генетико-статистичного аналізу встановлено надлишок в бета-казеїновому локусі гомозиготних варіантів А1А1 та А2А2 та нестачу гетерозиготного А1А2. Водночас у тварин української чорно-рябої молочної породи різниця між фактичним та очікуваним розподілом генотипів була статистично значущою.

Між тваринами різних генотипів виявлено різницю за якісними характеристиками молока. У тварин різних порід уміст окремих компонентів молока змінювався неоднаково залежно від генотипу за бета-казеїном, однак ця різниця була статистично незначущою.

Корови української чорно-рябої молочної породи з гомозиготним генотипом А1А1 переважали інших за вмістом жиру, з гетерозиготним генотипом А1А2 – мали перевагу за вмістом білка, лактози та сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ). Тварини лебединської породи з генотипом А2А2 переважали за всіма досліджуваними показниками якості молока тварин інших генотипів. У тварин симентальської породи з бажаним генотипом А2А2 спостерігали менший уміст жиру в молоці порівняно з тваринами інших генотипів та середнім значенням у вибірці. За вмістом білка ці тварини разом з гомозиготами А1А1 переважають гетерозиготних тварин та середні значення у вибірці. Невелика кількість дослідних тварин стала однією з причин відсутності достовірної різниці між середніми значеннями вмісту складників молока корів різних генотипів за бета-казеїном.

Ключові слова: порода, вміст жиру, вміст білка, бета-казеїн, генотип, алель, плідник.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Вживання коров'ячого молока людиною може супроводжуватися розладами шлунково-кишкового тракту та болями в животі. Це пов'язано з наявністю в молоці бета-казеїну А1. За вживання молока, яке містить лише бета-казеїн А2, ці ускладнення відсутні [5, 15, 18, 20].

Науковці доводять, що молоко, яке містить бета-казеїн А1, може сприяти розвитку серцево-судинних захворювань, діабету 1-го типу, синдрому раптової дитячої смерті та різних неврологічних розладів, унаслідок вивільнення бета-казоморфіну-7. Водночас не існує жодних доказів для таких несприятливих наслідків за вживання молока, що містить лише бета-казеїн А2 та подібні йому А3 Е, D, Н1, Н2, І [13, 16]. Дослідження на мишах засвідчили, що споживання ними молока від корів з генотипом А2А2 позитивно впливало на шлунково-кишковий тракт [7]. Молочні білки також можуть бути причиною алергії [9]. Отже, генотипування тварин для виробництва так званого А2-молока та продуктів з нього, використовуючи відповідні аналітичні інструменти, є важливою та актуальною проблемою [13, 6].

Науковці зазначають, що тварини інших видів, зокрема кози, вівці, верблюди, коні, віслюки, буйволи, виробляють молоко лише з бета-казеїном А2 [12].

За даними дослідників коров'яче молоко містить кілька варіантів бета-казеїну, однак варіанти А1 та А2 зустрічаються найчастіше. Водночас худоба різних порід різниться за частотами генотипів за бета-казеїном. Так, у тварин голштинської породи, яку розводять у центральній Італії, частота бажаного алеля А2 становить майже 0,61, а А1 – майже 0,31. За таких умов частота генотипу А2А2 дорівнює лише 37 % [19]. Інші дослідники зазначають, що частота алеля А2 у корів голштинської породи становить майже 60 %. Це означає, що приблизно 35 % голштинів виробляють А2-молоко, 48 % – суміш А1- та А2-молока, а 16 % виробляють А1-молоко. Бура швіцька та симентальська худоба мають частку генотипів А2А2 приблизно в межах 65 %. Гернзейська порода має найвищу частоту гомозиготних генотипів А2А2 – більш як 90 %. Усі інші молочні породи мають частоту бажаного генотипу приблизно 50 %. Отже, більшість корів виробляють комбінацію цих двох білків А1- та А2-молока. Однак ген А1 майже відсутній у чистокровній азійської та африканської худоби [10].

У тварин зебу (*Sindhi cattle*) частота алеля А2 становить 0,94, а А1 – 0,06. Частоти генотипів становили, відповідно, 0,90 (А2А2), 0,09 (А1А2)

та 0,01 (А1А1) [17]. У іншого різновиду зебу (*Guzerat indicine cattle*) частота генотипу А2А2 становила 0,80, а частота алеля А2 – 0,90 [20].

Дослідники стверджують, що ця мутація є кодомінантним чинником. Це нове явище в діагностиці аномальних алелів у молочному скотарстві. Раніше виявлені мутантні алелі, що спричиняють спадкові хвороби, зустрічалися лише у вигляді рецесивних чинників [2].

Отже, одним із способів уникнення споживання молока з бета-казеїном А1 є використання молочних продуктів овець, буйволів та кіз. Однак існує можливість споживання молока від молочної худоби європейського типу, який є вільним від алеля А1. Такі стада створюються у багатьох країнах [10].

Проведені дослідження свідчать про те, що споживачі готові платити додаткову ціну за молоко А2, керуючись бажанням покращити своє здоров'я [3].

На думку науковців, недостатньо вивченим залишається питання впливу окремих генів на якісні та технологічні показники молока [3, 14]. Встановлено, що майже всі білкові фракції мають важливе та специфічне значення у різних фазах процесу згортання молока під час технологічних процесів перероблення [18].

Оптимальний склад молока характеризується найвищим умістом основних складників, білкових фракцій і мінералів, переважно фосфору і кальцію. Із цього погляду, найкращими комбінаціями генотипів були А1А1/АА, А1А2/ВВ та А2А2/АВ. Найгірші значення титрованої кислотності і вміст фосфору були, навпаки, характерні для генотипів А1А1/АЕ, А2А2/АВ та А2В/АА [11]. Науковці досліджували вплив генотипів за бета і капа-казеїном на кількість молока, його якісний склад та білковий профіль. Жодних відмінностей за кількістю молока та його якісним складом між породами встановлено не було [8].

Мета дослідження – вивчити поліморфізм гена бета-казеїну у корів різних порід та його зв'язок з якісними показниками молочної продуктивності.

Матеріал і методи дослідження. Проведено генотипування корів лебединської (n=90), симентальської (n=46) та української чорно-рябої молочної порід (n=64), що утримуються в ПЗ «Михайлівка» Лебединського району Сумської області.

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

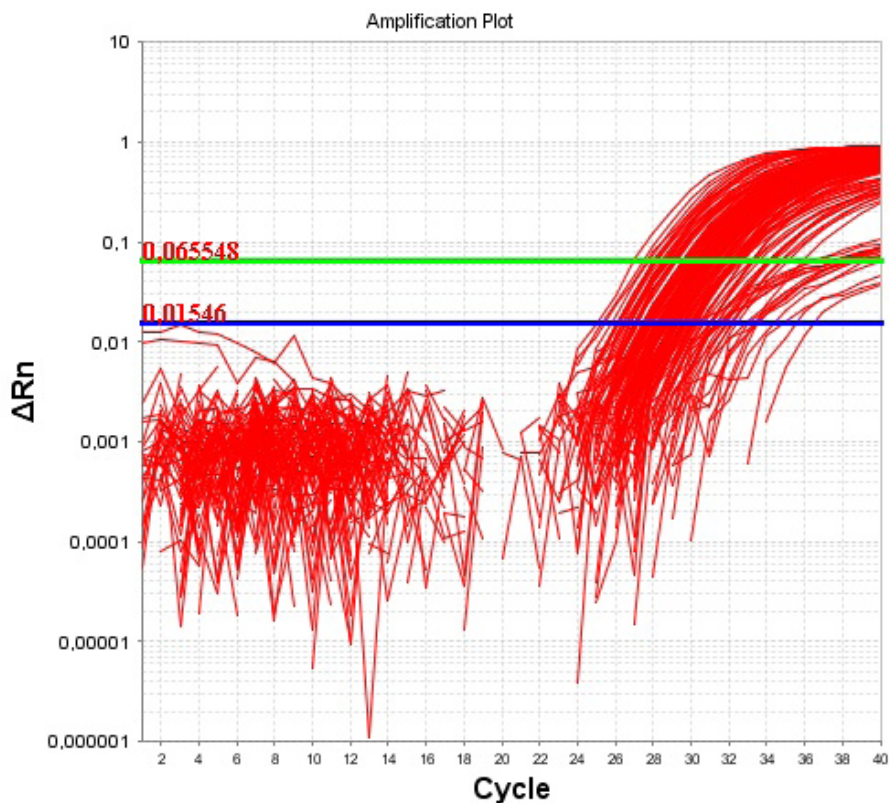


Рис. 1. Ампліфікаційні криві визначення генотипу за поліморфізмом гена бета-казеїну CSN2 (rs43703011).

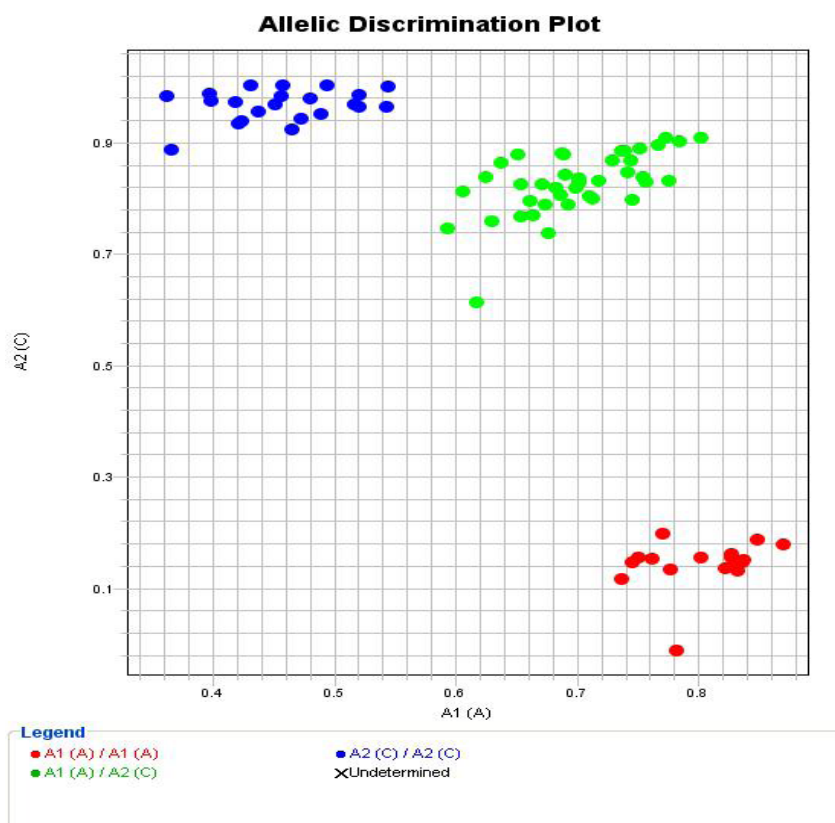


Рис. 2. Алельна дискримінація за генотипами поліморфізмом гена бета-казеїну CSN2 (rs43703011).

Зразки крові відбирали у моновети об'ємом 2,7 мл ("Sarstedt", Німеччина) з наступним заморожуванням зразків та їх зберіганням за -20 °С. ДНК для генотипування отримували із зразків за допомогою набору для очищення геномної ДНК Monarch® New England BioLab (США) згідно з протоколом виробника. Для проведення алельної дискримінації використовували систему TagMan@Genotyping та набір праймерів і зондів.

Підрахунок частот алелів проводили з врахуванням кількості гомозигот і гетерозигот, виявлених 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 оцінювання 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 прямим підрахунком 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 способом співставлення відношень між емпіричними гетерозиготами і емпіричними гомозиготами з аналогічним відношенням, отриманими за теоретичними даними;

коєфіцієнт ексцесу (D) кількісно оцінює нестачу або перебільшення фактичної гетерозиготності у досліджуваних популяцій порівняно з теоретично розрахованим показником.

Для відбору проб молока використовували лічильник – індикатор ІУ-1. Пробу молока зберігали у пластиковій ємності (25 мл) та консервували її розчином хромпіку (концентрація 10 %) у кількості 0,2 мл. Проаналізовано біохімічний склад молока від трьох корів кожного генотипу (A1A1, A1A2, A2A2) кожної досліджуваної породи. Вміст жиру та білка 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 дослідження та обговорення. Аналіз даних генотипування тварин української чорно-рябої молочної, лебединської та симентальської порід виявив міжпорідну різницю за частотами алелів та генотипів бета-казеїну (табл. 1). Встановлено, що генотип A2A2 частіше зустрічався у тварин української чорно-рябої молочної породи та лебединської.

За даними літератури [10], для тварин голштинської породи, які брали участь у створенні та покращенні української чорно-рябої молочної породи, частота бажаного генотипу

Таблиця 1 – Частота алелів та генотипів за локусом гена бета-казеїну

Порода	Розподіл*	Генотипи						Алель, од		χ^2
		A1A1		A1A2		A2A2		A1	A2	
		n	%	n	%	n	%			
Українська чорно-ряба молочно	Ф	13	20	17	27	34	53	0,336	0,664	10,479
	О	7	11	29	45	28	44			
Лебединська	Ф	10	11	33	37	47	52	0,294	0,706	1,242
	О	8	8	37	42	45	50			
Симентальська	Ф	9	20	17	37	20	43	0,380	0,620	2,146
	О	7	15	21	47	18	38			

спостерігається в межах 35 %. Частота алеля A2 у тварин цієї породи становить 60 %, що повністю співпадає з дослідженнями інших науковців. Використання критерію χ^2 дало змогу визначити ступінь відповідності фактичного розподілу генотипів очікуваним значенням. Розрахунок за формулою Харді-Вайнберга довів наявність різниці між фактичними та очікуваними частотами генотипів у тварин першої породи. Необхідно відзначити недостатність частки гетерозигот варіанта A1A2 у цих тварин. Дещо нижчу, порівнюючи з літературними джерелами [10], частоту генотипу A2A2 мають тварини лебединської породи (порівняно зі швіцькою) та симентальської. Останні взагалі мали найнижчу частоту бажаного генотипу з трьох досліджуваних порід. Щодо частоти алеля A2, встановлено беззаперечну перевагу тварин лебединської породи.

Використовуючи генетико-статистичні методи аналізу, за допомогою визначення цифрових значень таких генетичних констант як ступінь гомозиготності (Ca), рівень поліморфності (Na), намагалися оцінити перспективність роботи з підвищення частоти бажаного генотипу A2A2 у стадах трьох вітчизняних порід (табл. 2).

Ступінь гомозиготності в досліджуваних популяціях великої рогатої худоби знаходиться в межах 52–58 %, що може свідчити про достатній рівень їх консолідації. Підтвердженням цьому є аналіз таких генетичних показників як рівень поліморфності (число ефективно діючих алелів – Na). Так, число ефективно діючих алелів у локусі бета-казеїну було вищим у тварин симентальської породи, а меншим – у лебединської, хоча їх значення були високими.

Тест гетерозиготності (ТГ), який визначає про рівень генетичного різноманіття популяції, в досліджуваних стадах був негативним, що свідчить про меншу частку фактичних гетерозигот щодо частки теоретичних гетерозигот. Щодо коефіцієнта ексцесу (D), який характеризує співвідношення фактичної гетерозиготності до теоретичної, відмічено відхилення дійсної гетерозиготності від очікуваної з ліво-остороннім ексцесом, що також означає дефіцит гетерозигот. Особливо це стосується тварин української чорно-рябої молочної породи. Загалом дані генетико-статистичного аналізу свідчать про надлишок у бета-казеїновому локусі гомозиготних варіантів A1A1 та A2A2, і нестачу гетерозиготного A1A2.

Наявна генетична структура у стаді української чорно-рябої молочної породи зумовлена тим, що основою для її створення була німецька чорно-ряба худоба та плідники європейської селекції, які брали участь у її формуванні. Висока частота гомозигот A2A2 у тварин лебединської породи може бути зумовлена впливом швіцької породи як за її створення, так і у процесі покращення. Дещо нижчі частоти як бажаного генотипу A2A2, так і алеля A2 у стаді симентальської породи можна пояснити тим, що генотипи плідників, що використовуються в Україні, мають генотипи A1A2 та A1A1 за бета-казеїном, що підтвердили раніше проведені дослідження [1]. Ці висновки підтверджуються результатами досліджень інших науковців [2]. Вони вважають, що алель A1 поширений там, де в селекційних заходах використовували плідників-носіїв цього алеля. На формування алелотипу стада корів з урахуванням алелів A2 і A1 впливають такі чинники як генетична

Таблиця 2 – Генетична мінливість української бурої молочної породи за локусом бета-казеїну, %

Показники	Породи					
	українська чорно-ряба молочно		лебединська		симентальська	
	фактичні	теоретичні	фактичні	теоретичні	фактичні	теоретичні
Гетерозиготи	17	29	33	37	17	21
Гомозиготи	47	35	57	53	29	25
Коефіцієнт гетеро/гомозиготності	0,36	0,83	0,58	0,70	0,59	0,84
Тест гетерозиготності	-0,444	-	-0,132	-	-0,31	-
Ступінь гомозиготності, Ca, %	55,4	-	58,5	-	52,8	-
Рівень поліморфності, Na	1,80	-	1,71	-	1,89	-
Коефіцієнт ексцесу D	-0,41	-	-0,11	-	-0,22	-
Частка гомозигот, %	0,73	-	0,63	-	0,63	-

генеалогія плідників, ефект засновника лінії, дрейф мутантного або нормального алеля. Водночас дрейф мутантного А1 алеля як усередині однієї держави, так і між країнами зумовлений штучним відбором. Однією з основних причин такого явища є жорстка селекція і широке використання невеликої групи елітних бугаїв-носіїв алеля А1 для штучного осіменіння великого масиву корів. За таких умов як у попередні роки, так і нині майже половина плідників, яких використовують в Україні, негенотиповані за геном бета-казеїну. Особливо це стосується плідників вітчизняної селекції (виняток – лебединська порода), хоча надходження алеля А1 до України відбувається також завдяки використанню неатестованого племінного матеріалу (тварини, сперма, ембріони). Аналогічна ситуація складається і в сусідніх державах [2]. За результатами досліджень, маточне поголів'я є «резервуаром» алеля А1 в стаді, у гомозиготних тварин А1А1 та гетерозиготних тварин А1А2.

Основним питанням щодо перспектив використання поліморфізму гена бета-казеїну є його вплив не лише на здоров'я людини, а й на якісні показники молочної продуктивності корів (табл. 3).

Середні показники вмісту складників у молоці корів усіх досліджуваних порід відповідали стандартам порід. Водночас середні показники за всіма досліджуваними генотипами

також знаходились у межах стандартів. Корови української чорно-рябої молочної породи з гомозиготним генотипом А1А1 переважали інших за вмістом жиру, з гетерозиготним А1А2 – за вмістом білка, лактози та сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ). Водночас різниця показників як між тваринами різних генотипів, так і з середніми у вибірці були статистично незначущою.

Тварини лебединської породи з генотипом А2А2 переважали за всіма досліджуваними показниками якості молока тварин інших генотипів та середні показники у вибірці, хоча ця різниця була статистично незначущою.

У тварин симентальської породи з бажаним генотипом А2А2 спостерігається менший уміст жиру в молоці порівняно з тваринами інших генотипів та середнього значення у вибірці. За вмістом білка ці тварини разом з гомозиготами А1А1 переважають гетерозиготних тварин та середні значення у вибірці. Гомозиготні тварини А1А1 переважають тварин інших генотипів за вмістом СЗМЗ. Слід відмітити, що за всіма досліджуваними показниками різниця була статистично незначуща. Отже, формування стад з генотипом А2А2 за бета-казеїном не матиме негативного впливу на продуктивні ознаки корів і в такий спосіб забезпечить збереження високих якісних показників молока худоби стад нового типу.

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

Генотип	Вміст у молоці, %			
	жиру	білка	лактози	СЗМЗ
Українська чорно-ряба молочна порода				
A1A1	4,37±0,853	3,19±0,095	4,79±0,140	8,72±0,255
A1A2	3,94±0,423	3,34±0,095	5,01±0,142	9,12±0,260
A2A2	4,14±0,294	3,15±0,049	4,73±0,072	8,60±0,133
В середньому	4,15±0,294	3,23±0,051	4,84±0,075	8,81±0,137
Лебединська				
A1A1	4,88±0,393	3,24±0,062	4,87±0,012	8,86±0,172
A1A2	4,85±0,145	3,22±0,105	4,83±0,157	8,79±0,286
A2A2	5,02±0,559	3,38±0,116	5,26±0,155	9,09±0,416
В середньому	4,92±0,203	3,28±0,055	4,99±0,097	8,91±0,160
Симентальська порода				
A1A1	4,28±0,442	3,39±0,026	5,08±0,041	9,22±0,076
A1A2	4,46±0,630	3,27±0,093	4,91±0,144	8,93±0,258
A2A2	3,96±0,126	3,38±0,059	4,92±0,068	9,08±0,039
В середньому	4,23±0,236	3,34±0,038	4,97±0,055	9,08±0,089

Висновки. Проведено генотипування тварин української чорно-рябої молочної, лебединської та симентальської порід за геном бета-казеїну. Встановлено, що частоти алелів A1 (0,294–0,380) та A2 (0,620–0,706) в локусі гена бета-казеїну у тварин різних порід різнилися. Відповідно, частоти генотипів A1A1, A1A2 та A2A2 залежно від походження різнилися: 11–20 %, 27–37 %, 43–53 %. За даними генетико-статистичного аналізу встановлено надлишок у бета-казеїновому локусі гомозиготних варіантів A1A1 та A2A2, та нестачу гетерозиготного A1A2. Водночас у тварин української чорно-рябої молочної породи різниця між фактичним та очікуваним розподілом генотипів була статистично значущою.

Між тваринами різних генотипів виявлено відмінності за якісними характеристиками молока. У тварин різних порід вміст окремих компонентів молока змінювався не однаково залежно від генотипу за бета-казеїном, однак ця різниця була статистично незначущою. За вмістом жиру та білка в молоці тварини всіх генотипів відповідали стандарту порід. Отже, формування стад з генотипом A2A2 за бета-казеїном не матиме негативного достовірного впливу на продуктивні ознаки корів і в такий спосіб забезпечить збереження високих якісних показників молока худоби стад нового типу. Потребує подальшого вивчення питання впливу генотипу за бета-казеїном як на вміст складників молока, так і на його технологічні властивості, з залученням більшої кількості дослідних тварин.

ПЗ «Михайлівка» зі створення мікропопуляцій з генотипом A2A2 за бета-казеїном є перспективним у роботі з українською чорно-рябою молочною та лебединською породами. Популяція симентальської породи в господарстві потребує тривалішої роботи зі створення такої мікропопуляції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

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. 2020. № 1. С. 39–45. DOI:10.33245/2310-9270-2020-157-1-39-45
2. Характеристика российских молочных пород крупного рогатого скота по встречаемости генотипов и аллелей в локусе бета-казеина/ Н. С. Марзанов и др. Ветеринария Зоотехния Биотехнология. 2020. № 1. С. 47–52. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.202001007.
3. Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis/ N. Amalfitano et al. J. Dairy Sci. 2018. Vol. 102. P. 2903–2917. DOI: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). 6763 p. DOI:10.3390/su12176763

5. Protein fingerprinting and quantification of β -casein variants by ultraperformance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry/C. Fuerer et al. J. Dairy Sci. 2019. Vol.103. P. 1193–1207. DOI:10.3168/jds.2019-16273

6. New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples/ R. Gigliotia et al. Food Chemistry. 2020. Vol. 313. P. 1–7. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126167

7. A Comprehensive Evaluation of the Impact of Bovine Milk Containing Different Beta-Casein Profiles on Gut Health of Ageing Mice/B. Guantario et al. Nutrients. 2020. Vol. 12(7). P. 2–19. DOI:10.3390/nu12072147

8. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows/F. Gustavsson et al. J. Dairy Sci. 2013. Vol. 97. P. 3866–3877. DOI:10.3168/jds.2013-7312

9. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy/A. Henrique do Nascimento Rangel et al. Food Science and Technology. 2016. Vol. 36(2). P. 179–187. DOI: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. DOI:10.32732/jfet.2020.9.1.15

11. Physicochemical characteristics and fermentation ability of milk from Czech Fleckvieh cows are related to genetic polymorphisms of β -casein, κ -casein, and β -lactoglobulin/J. Kyselová et al. Asian-Australas J Anim Sci. 2019. Vol. 32(1). P. 14–22. DOI:10.5713/ajas.17.0924

12. Do non-bovine domestic animals produce A2 milk?: an in silico analysis/S. Louise et al. Animal Biotechnology. 2021. DOI: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. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110523

14. Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle/M. Miluchová et al. Acta Biochimica Polonica. 2018. Vol. 65. No. 3. P. 403–407. DOI:10.18388/abp.2017_2313

15. O'Callaghan T. An overview of the A1/A2 milk hypothesis. Dairy Nutrition forum. 2020. Vol. 12. Issue 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. Mota L., Paraná S., Bernal C., Ferreira C. Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production/S. Pimenta et al. Animal Production Science. 2020. Vol. 60. P. 893–895. DOI:10.1071/AN18677

18. Beneficial Effects of Milk Having A2 β -Casein Protein: Myth or Reality?/S.K. Sae-In et al. Journal of Nutrition. 2021. Vol. 151 (5). P. 1061–1072. DOI:10.1093/jn/nxaa454

19. Frequencies Evaluation of β -Casein Gene Polymorphisms in Dairy Cows Reared in Central Italy/ C. Sebastiani et al. Animals. 2020. Vol. 10(2). P. 2–7. DOI:10.3390/ani10020252

20. Teixeira D., Costa R., Ferreira de Camargo G. Guzerat indicine cattle and A2 milk production. Animal Biotechnology. 2021. DOI:10.1080/10495398.2021.1962336

REFERENCES

- Ladyk, V. I., Skliarenko, Yu. I., Pavlenko, Yu. M. (2020). Charakterystyka genetychnoi' struktury za genom β -kazei'nu plidnykiv, dopushhenyh do vykorystannja v Ukraini u 2020 roci [Characteristics of the genetic structure of the β -casein gene of broods approved for use in Ukraine in 2020]. *Tehnologija vyrobnyctva i pererobky produkci' tvarynnyctva [Technology of production and processing of livestock products]*. no. 1, pp. 39–45. DOI:10.33245/2310-9270-2020-157-1-39-45
- Marzanov, N. S., Devrishov, D. A., Marzanova, S. N., Abylkasymov, D. A., Konovalova, N. V., Libet, I. S. (2020). Charakteristika rossijskikh molochnyh porod krupnogo rogatogo skota po vstrechaemosti genotipov i allelej v lokuse beta-kazeina [Characterization of Russian dairy cattle breeds by the occurrence of genotypes and alleles at the beta-casein locus]. *Veterinarija Zootehnija Biotehnologija [Veterinary Science Animal Science Biotechnology]*. no. 1, pp. 47–52. DOI:10.26155/vet.zoo.bio.202001007.
- Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Summer, A., Bittante, G. (2018). Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *J. Dairy Sci.* Vol. 102, pp. 2903–2917. DOI:10.3168/jds.2018-15524
- Bentivoglio, D., Finco, A., Bucci, G., Staffolani, G. (2020). Is There a Promising Market for the A2 Milk? Analysis of Italian Consumer Preferences. *Sustainability*. Vol. 12(17), 6763 p. DOI:10.3390/su12176763
- Fuerer, C., Jenni, R., Cardinaux, L., Andetson, F., Wagnière, S., Moulin, J., Affolter, M. (2020). Protein fingerprinting and quantification of β -casein variants by ultraperformance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *J. Dairy Sci.* Vol. 103, pp. 1193–1207. DOI:10.3168/jds.2019-16273
- Gigliotia, R., Gutmanisa, G., Katikia, L., Okinob, C., Oliveirab, M., Filhoa, A. (2020). New high-sensitive rhAmp method for A1 allele detection in A2 milk samples. *Food Chemistry*. Vol. 313, pp. 1–7. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126167
- 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. (2020). A Comprehensive Evaluation of the Impact of Bovine Milk Containing Different Beta-Casein Profiles on Gut Health of Ageing Mice. *Nutrients*. Vol. 12(7), pp. 2–19. DOI:10.3390/nu12072147
- Gustavsson, F., Buitenhuis, A., Johansson, M., Bertelsen, H., Glantz, M., Poulsen, N. (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.* Vol. 97, pp. 3866–3877. DOI:10.3168/jds.2013-7312
- Henrique do Nascimento Rangel, A., Cavalcanti Sales, D., Antas Urbano, S., Geraldo Bezerra Galvãojunior, J., César de Andrade Neto, J., de Souza Macêdo, C. (2016). Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Food Science and Technology*. Vol. 36(2), pp. 179–187. DOI:10.1590/1678-457X.0019.
- Kaskous, S. (2020). A1- and A2-Milk and Their Effect on Human Health. *Journal of Food Engineering and Technology*. Vol. 9(1), pp. 15–21. DOI:10.32732/jfet.2020.9.1.15
- Kyselová, J., Ječmínková, K., Matějíčková, J., Hanuš, O., Kott, T., Štípková, M., Krejčová, M. (2019). Physicochemical 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.* Vol. 32(1), pp. 14–22. DOI:10.5713/ajas.17.0924
- Louise, S., Jackeline, S., Marisa, S., Raphael, B., Camargo, G. (2021). Do non-bovine domestic animals produce A2 milk?: an in silico analysis. *Animal Biotechnology*. DOI:10.1080/10495398.2021.1935982
- Mayer, H., Lenz, K., Halbauer, E. (2021). “A2 milk” authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques. *Food Research International*. Vol. 147, pp. 2–9. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110523
- Miluchová, M., Gábor, M., Candrák, J., Trakovická, A., Candráková, K. (2018). Association of HindIII-polymorphism in kappa-casein gene with milk, fat and protein yield in holstein cattle. *Acta Biochimica Polonica*. Vol. 65, no. 3, pp. 403–407. DOI:10.18388/abp.2017_2313
- O'Callaghan, T. (2020). An overview of the A1/A2 milk hypothesis. *Dairy Nutrition forum*. Vol. 12, Issue 2, pp. 1–4.
- Parashar, A., Saini, R. (2020). A1 milk and its controversy-areview. *International Journal of Bioassays*. Vol. 4(12), pp. 4611–4619.
- Pimenta, S., Mota, L., Paraná, S., Bermal, C., Ferreira, C. (2020). Genetic potential of Sindhi cattle for A2 milk production. *Animal Production Science*. Vol. 60, pp. 893–895. DOI:10.1071/AN18677
- Sae-In, K., Delgado, S., Mittal, J., Eshraghi, R., Mittal, R., Eshraghi, A. (2021). Beneficial Effects of Milk Having A2 β -Casein Protein: Myth or Reality? *Journal of Nutrition*. Vol. 151 (5), pp. 1061–1072. DOI:10.1093/jn/nxaa454
- Sebastiani, C., Arcangeli, C., Ciullo, M., Torricelli, M., Cinti, G., Fischella, S., Biagetti, M. (2020). Frequencies Evaluation of β -Casein Gene Polymorphisms in Dairy Cows Reared in Central Italy. *Animals*. Vol. 10(2), pp. 2–7. DOI:10.3390/ani10020252
- Teixeira, D., Costa, R., Ferreira de Camargo, G. (2021). Guzerat indicine cattle and A2 milk production. *Animal Biotechnology*. DOI:10.1080/10495398.2021.1962336

Исследование полиморфизма гена бета-казеина и его связь с составом молока у коров

Ладька В.И., Павленко Ю. Н., Древицкая Т.И., Досенко В.Э., Склиаренко Ю.И.

В племенных стадах скота украинской черно-пестрой молочной, лебединской и симментальской пород проведены исследования, целью которых было изучить полиморфизм гена бета-казеина и его влияние на качественный состав молока коров. Проведено генотипирование 200 голов крупного рогатого скота вышеназванных пород. Определение полиморфизма гена бета-казеина проводили в генетической лаборатории Института физиологии им. Богомольца. Для проведения аллельной дискриминации использовали систему TagMan @ Genotyping и набор праймеров и зондов.

Установлено, что частоты аллелей A1 (0,294–0,380) и A2 в локусе гена бета-казеина у животных разных пород отличались. Высокой частотой желаемого аллеля A2 отличалась популяция коров лебединской породы (0,706), а

ниже – симментальской (0,620). Частота аллеля А1 была наименьшей у коров лебединской породы (0,294), а выше – украинской черно-пестрой молочной породы (0,380). Соответственно частоты генотипов А1А1, А1А2 и А2А2 в зависимости от происхождения отличались. Желаемый генотип чаще встречался у животных украинской черно-пестрой молочной и лебединской пород (53–52 % соответственно). Гетерозиготный генотип чаще встречался у животных лебединской и симментальской пород (37 %). Высокой частотой генотипа А1А1 характеризовались животные украинской черно-пестрой молочной и симментальской пород (20 %). По данным генетико-статистического анализа установлено избыток в бета-казеиновом локусе гомозиготных вариантов А1А1 и А2А2, и недостаток гетерозиготного А1А2. При этом у животных украинской черно-пестрой молочной породы разница между фактическим и ожидаемым распределением генотипов была статистически значимой.

Между животными разных генотипов обнаружена разница по качественным характеристикам молока. У животных разных пород содержание отдельных компонентов молока менялось зависимо от генотипа по бета-казеину, но эта разница была статистически незначимой.

Коровы украинской черно-пестрой молочной породы с гомозиготным генотипом А1А1 преобладали над другими по содержанию жира, животные с гетерозиготным генотипом А1А2 – имели преимущество по содержанию белка, лактозы и сухого обезжиренного молочного остатка. Животные лебединской породы с генотипом А2А2 преобладали по всем исследуемым показателям по качеству молока над животными других генотипов. У животных симментальской породы с желаемым генотипом А2А2 наблюдается меньшее содержание жира в молоке в сравнении с животными других генотипов и среднего значения по выборке. По содержанию белка эти животные вместе с гомозиготами А1А1 преобладают над гетерозиготными животными и средними значениями по выборке. Небольшое количество опытных животных стала одной из причин отсутствия достоверной разницы между средними значениями содержания составляющих молока коров разных генотипов по бета-казеину.

Ключевые слова: порода, содержание жира, содержание белка, бета-казеин, генотип, аллель, бык-производитель.

The Investigation of β -case in gene polymorphism and its relationship with milk composition in cows

Ladyka V., Pavlenko Y., Drevytska T., Dosenko V., Sklyarenko Y.

To study the polymorphism of β -casein gene and its effect on the quality of cow's milk the research was conducted in the

breeding herds of Ukrainian Black-and-White Dairy, Lebedyn and Simmental breeds. Genotyping of 200 head of cattle 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 frequencies of alleles А1 (0.294-0.380) and А2 in the locus of β -casein gene differed in animals of different breeds. The highest frequency of the desired allele А2 had the population of Lebedyn breed cows (0.706), while the lowest was in Simmental ones (0.620). The frequency of А1 allele was the lowest in the cows of Lebedyn breed (0.294), and the highest in Ukrainian Black-and-White Dairy breed (0.380). Accordingly, the frequencies of genotypes А1А1, А1А2 and А2А2 differed depending on the origin. The desired genotype was more common in animals of Ukrainian Black-and-White Dairy and Lebedyn breeds (53-52%, respectively). Heterozygous genotype occurred more frequently in animals of Lebedyn and Simmental breeds (37%). The highest frequency of А1А1 genotype was characteristic of animals of Ukrainian Black-and-White Dairy and Simmental breeds (20%). According to the genetic and statistical analysis, there was an excess of homozygous variants of А1А1 and А2А2 in β -casein locus, and a lack of heterozygous А1А2. At the same time in animals of Ukrainian Black-and-White Dairy breed, the difference between the actual and expected distribution of genotypes was statistically significant.

There was a difference in the quality characteristics of milk between animals of different genotypes. In animals of different breeds, the content of certain components of milk did not vary equally depending on the β -casein genotype, but this difference was statistically insignificant.

Cows of Ukrainian Black-and-White Dairy breed with homozygous А1А1 genotype exceeded others in terms of fat content, those with heterozygous А1А2 genotype had an advantage in terms of protein, lactose and dried skimmed milk remainder (DSMR). Animals of Lebedyn breed with the А2А2 genotype predominated animals of other genotypes in all investigated indicators of milk quality. Animals of Simmental breed with the desired А2А2 genotype had a lower fat content in milk compared to animals of other genotypes and the average values in the sample. These animal together with А1А1 homozygotes had higher protein content in milk than heterozygous animals and average values in the sample. In our opinion the small number of experimental animals was one of the reasons for the lack of a definite difference between the average values of the milk components of cows of different β -casein genotypes.

Keywords: breed, fatcontent, proteincontent, kappacasein, genotype, allele, sire.



Copyright: Ладика В.І. та ін. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:
Ладика В.І.
Павленко Ю.М.
Древицька Т.І.
Досенко В.Є.
Скляренко Ю.І.

<https://orcid.org/0000-0001-6748-7616>
<https://orcid.org/0000-0002-4128-122X>
<https://orcid.org/0000-0002-3192-4682>
<https://orcid.org/0000-0002-6919-7724>
<https://orcid.org/0000-0002-6579-2382>