

UNIwersytet
Technologiczno-Przyrodniczy
Im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich
w Bydgoszczy



Wydział Hodowli
i Biologii Zwierząt



ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Milena Kilichowska

ANALIZA WPŁYWU POLIMORFIZMU
WYBRANYCH GENÓW NA WYDAJNOŚĆ MLECZNĄ
ORAZ ZAWARTOŚĆ BIAŁKA W MLEKU KRÓW

PROMOTOR

DR HAB. INŻ. MARIA BOGDZIŃSKA, PROF. NADZW. UTP

PROMOTOR POMOCNICZY

DR INŻ. BOGNA KOWALISZYN

BYDGOSZCZ
2017

Praca powstała przy wsparciu projektu
„Realizacja II etapu Regionalnego Centrum Innowacyjności”
współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego
w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego
Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2007-2013

Spis treści

1. Wstęp.....	7
2. Przegląd literatury	9
2.1. Charakterystyka krów mlecznych	9
2.1.1. Charakterystyka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (HF)	9
2.1.2. Porównanie ras krów mlecznych	11
2.2. Wpływ rasy na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku.....	12
2.2.1. Wpływ udziału rasy HF	13
2.3. Wpływ czynników środowiskowych na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej	13
2.3.1. Wpływ sezonu wycielenia.....	14
2.3.2. Wpływ okresu międzywycieleniowego	14
2.3.3. Wpływ żywienia	15
2.3.4. Wpływ wieku krowy – kolejność laktacji.....	15
2.3.5. Wpływ systemu utrzymania	16
2.4. Wpływ czynników genetycznych.....	17
2.4.1. Polimorfizm genetyczny	17
2.4.2. Kappa – kazeina	18
2.4.3. Betalaktoglobulina	19
2.4.4. Hormon wzrostu	21
2.4.5. Prolaktyna	23
2.5. Zastosowanie selekcji w hodowli	25
2.5.1. Selekcja genomowa	25
2.5.2. Trendy konsumenckie	26
3. Materiał i metody	27
3.1. Materiał zwierzęcy	27

3.2. Badania molekularne i analizowane geny	28
3.2.1. Izolacja genomowego DNA	28
3.2.2. Analiza ilościowa i jakościowa DNA	28
3.3. Reakcja Łańcuchowa Polimerazy	28
3.3.1. Kappa-kazeina.....	29
3.3.2. Betalaktoglobulina	29
3.3.3. Hormon wzrostu	30
3.3.4. Prolaktyna	30
3.4. Reakcja PCR-RFLP.....	31
3.5. Obliczenia statystyczne	31
4. Wyniki i dyskusja.....	32
4.1. Charakterystyka cech użytkowych badanych stad krów	32
4.2. Analiza polimorfizmu genetycznego.....	34
4.2.1. Polimorfizm genu kappa-kazeiny	34
4.2.1.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu kappa-kazeiny na wydajność mleczną.....	35
4.2.1.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu kappa-kazeiny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy	41
4.2.2. Polimorfizm genu betalaktoglobuliny.....	45
4.2.2.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu betalaktoglobuliny na wydajność mleczną krów.....	47
4.2.2.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu betalaktoglobuliny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy.....	50
4.2.3. Polimorfizm genu hormonu wzrostu.....	56
4.2.3.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu hormonu wzrostu na wydajność mleczną krów	58
4.2.3.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu hormonu wzrostu na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy	60

4.2.4. Polimorfizm genu prolaktyny	62
4.2.4.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu prolaktyny na wydajność mleczną krów.	63
4.2.4.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu prolaktyny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy	66
5. Podsumowanie i wnioski.....	69
Bibliografia.....	72
Streszczenia	85

1. Wstęp

W momencie przystąpienia Polski do Unii Europejskiej w 2004 roku, dokonano wielu zmian w sektorze mleczarskim. Najważniejszymi z nich było ustandaryzowanie wielkości produkcji mleka, a także jego jakości [Żmija 2006]. Celem wprowadzenia kwot mlecznych było wyrównanie popytu i podaży oraz ich utrzymanie na rynkach surowca krajów unijnych. System ten był swego rodzaju gwarancją zbytu, a także opłacalności sprzedaży surowca [Kosiak 2013]. Spadek wydajności mlecznej, podatność na choroby, obniżenie cen skupu spowodowały obniżenie jakości pozyskiwanego mleka, a to z kolei niosło za sobą spore straty ekonomiczne [Jurczak 2005].

Po roku 2015 we wszystkich krajach Unii Europejskiej zostały zniesione kwoty mleczne. Przyniosło to za sobą wiele zmian. Polska postulowała o przedłużenie limitowania mleka do roku 2020 z powodu niedostatecznej specjalizacji gospodarstw rolnych [Kosiak 2013]. Obawy, jakie towarzyszyły producentom mleka w nowym systemie związane były ze spadkiem cen za surowiec, a co za tym idzie, niestabilny poziom przychodów, a także chęć wejścia na rynek nowych przedsiębiorców, co z kolei rodzi konkurencję [Sznajder 2015]. Możliwość wyższej produkcji mleka prawdopodobnie spowoduje wolniejsze tempo spadku pogłowia krów mlecznych [Stańko 2015]. Zwiększenie wydajności mlecznej wymaga od hodowców interwencji w jego jakość. Jedną z możliwości jest przekwalifikowanie gospodarstwa na ekstensywne [Kosiak 2013].

W celu uzyskania zadowalającego popytu, hodowcy prowadzą pracę nad jakością mleka, która odpowiadałaby preferencjom konsumentów. Wzrost świadomości konsumentów z czasem powoduje dbałość o dietę. Od 2013 roku odnotowuje się sukcesywny wzrost spożycia mleka i przetworów mlecznych spowodowany zmianą funkcjonowania gospodarstwa domowego, starzeniem się społeczeństwa, a także wzrostem aktywności zawodowej kobiet. Produktami, które cieszą się największym zainteresowaniem są te o jak najniższej zawartości tłuszczu, przy możliwie najwyższym poziomie białka [Grzybowska – Brzezińska 2015].

Jest wiele czynników, które wpływają na jakość mleka oraz wydajność mleczną krów. Za jakość rozumiana jest tu zawartość białka i tłuszczu, które jak wspomniano, decydują o konsumenckiej atrakcyjności produktów mlecznych. Wśród czynników środowiskowych można wyróżnić żywienie, system utrzymania, a także kolejność laktacji [Litwińczuk i wsp. 2006a].

Żywienie najbardziej wpływa na zawartość tłuszczu w mleku [Smith 2003]. Jego poziom spada w przypadku, gdy krowy są niedożywione lub skarmiane zbyt dużą ilością pasz treściwych z niską zawartością włókna, jednocześnie zwiększając tym samym wydajność mleczną [Bogucki 2006].

Warunki utrzymania – system utrzymania – budzą duże zainteresowanie, bowiem intensyfikacja hodowli wymaga dbałości w tym zakresie [Kończak

2006]. Pod wieloma względami wykazano wyższość obór wolnowybiegowych nad alkiejzowymi [Kapela i Guliński 2007]. Nie znajduje to jednak odzwierciedlenia w wydajności mlecznej. Badania pokazują, iż krowy utrzymywane uwięziowo charakteryzowały się wyższą wydajnością mleczną niż te utrzymywane w systemie wolnostanowiskowym [Ziemiński i Ćwikła 2006].

Każda kolejna laktacja, a co za tym idzie – wiek krowy, silnie wpływają na wydajność mleczną oraz zawartość składników mleka. Stwierdzono, że szczyt produkcyjny przypada między III a V laktacją, po czym wydajność mleczna spada [Litwińczuk i Szulc 2005]. Wraz z kolejnymi laktacjami spada również zawartość tłuszczu [Wroński i wsp. 2007]. Analizując zawartość białka zauważono wzrost jego poziomu do trzeciej laktacji, a następnie spadek, gdzie najniższe wartości przypisywane są krowom najstarszym [Bogucki i Sawa 2002].

Znaczny wpływ na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku mają czynniki genetyczne. Jednym z nich jest udział rasy holsztyńsko-fryzyskiej w genotypie. Analizując go, wykazano wyższy udział białka i tłuszczu w mleku u krów o mniejszym udziale rasy, a u krów o większym udziale rasy HF odnotowano niższą zawartość wspomnianych składników mleka [Bogucki i Sawa 2002]. Kolejnym czynnikiem jest zależność między polimorfizmem wybranych genów a produkcją mleka i jego składnikami.

Ukłonem w stronę hodowców są metody selekcji na podstawie polimorfizmu genów. Dzięki analizie markerów genetycznych można wyselekcjonować bydło, które swemu potomstwu przekaże jak najlepszy zestaw genów, umożliwiający produkcję mleka na najbardziej pożądanym poziomie.

W momencie zniesienia limitów w produkcji mleka, coraz bardziej niezbędnym staje się produkcja mleka o jak najwyższej jakości, odpowiadającej upodobaniom konsumentów. Białko jest składnikiem, który niezbędny jest w diecie osób starszych, a także korzystnie wpływa na rozwój dzieci i młodzieży.

W związku z powyższym, celem niniejszej pracy jest określenie wpływu polimorfizmu genów hormonu wzrostu, kappa-kazeiny, betalaktoglobuliny oraz prolaktyny na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej. Ogólny wpływ na mleczność krów i jakość ich mleka wspomnianych genów jest powszechnie znany, jednak istnieje stosunkowo niewiele badań przeprowadzonych na krowach w województwie kujawsko-pomorskim. Potwierdzenie wpływu polimorfizmu umożliwi łatwiejszą selekcję zwierząt do rozrodu. Dodatkowo analizowano, czy zwierzęta o tym samym genotypie charakteryzowały się podobnymi wydajnościami mleka i zawartością składników w różnych systemach utrzymania. W momencie, gdy polskie społeczeństwo się starzeje, a także świadomość konsumentów wzrasta, niezbędne są narzędzia ułatwiające spełnienie wysokich wymagań, co z kolei warunkuje wysoki popyt na dany produkt.

2. Przegląd literatury

2.1. Charakterystyka krów mlecznych

2.1.1. Charakterystyka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej (HF)

Do rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej zalicza się bydło czarno-białe i czerwono-białe pochodzenia krajowego i zagranicznego, a także jego potomstwo pochodzące z kojarzenia pomiędzy tymi odmianami barwnymi bydła polskiego holsztyńsko-fryzyjskiego i zagranicznego bydła fryzyjskiego [PFHBiPM w Warszawie, Krajowy program hodowlany]. Początek rasy holsztyńsko-fryzyjskiej datuje się na rok 1613, gdy holenderscy emigranci przywieźli do Stanów Zjednoczonych bydło. Dla USA największe znaczenie miał import i hodowla bydła czarno-białego zapoczątkowana w 1869 roku [Litwińczuk i Guliński 2000]. Amerykańskie bydło holsztyńsko-fryzyjskie okazało się być najlepszym do doskonalenia innych ras mlecznych na całym świecie. Po II wojnie światowej importowano je do 85 krajów [Jasiorowski i wsp. 1993]. Rasy tej używano do doskonalenia ras miejscowych stosując krzyżowanie wypierające, a także kupowano nasienie w celu utworzenia nowego typu rasy przy pomocy krzyżowania twórczego [Litwińczuk i Szulc 2005]. Zadowalające efekty spowodowały, że również do Polski sprowadzono krowy rasy holsztyńsko fryzyjskiej. Celem była poprawa cech mlecznych krajowego bydła czarno-białego i czerwono-białego. Obecnie, wskutek częstego unasieniania krów nasieniem buhajów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, większość ocenianych czarno-białych pierwiastek to mieszańce, z których połowa charakteryzuje się udziałem rasy holsztyńsko-fryzyjskiej na poziomie 50% [Litwińczuk i Szulc 2005].

Obecnie, rasa polska holsztyńsko-fryzyjska jest w dalszym ciągu doskonalona celem uzyskania postępu genetycznego w zakresie cech mleczności oraz cech typu i budowy. Dąży się do uzyskania bydła udoskonalonego w kierunku jednostronnie mlecznym, co przyczyni się do poprawy opłacalności produkcji.

Program hodowlany opracowany przez PFHBiPM w Warszawie dla krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej ściśle określa wzorce pokrojowe rasy dla samicy i samca, dotyczące wysokości w krzyżu, sylwetki, umięśnienia, budowy głowy, szyi, barków, klatki piersiowej, brzucha, grzbietu, zadu, nóg oraz wymienia (dla samic) oraz ogólnego wyglądu i umaszczenia [PFHBiPM w Warszawie, Krajowy program hodowlany].

Obecnie, średnia wydajność mleczna dla krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej za rok 2015 obu odmian barwnych utrzymywanych w Polsce wynosi 7566 kg mleka. Analizując poszczególne odmiany barwne za rok 2015 wartości

kształtują się następująco dla poszczególnych województw z Regionu Oceny Bydgoszcz (Tab. 1 i 2)

Tab. 1 Przeciętne wydajności ocenianych krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (HO) za rok 2015 [PFHBiPM, RO Bydgoszcz, 2016]

	Mleko (kg)	Tłuszcz (kg)	Tłuszcz (%)	Białko (kg)	Białko (%)	Przeciętna liczba krów
Region Oceny Bydgoszcz	7894	321	4,07	263	3,33	156128,0
Kujawsko-pomorskie	8192	332	4,05	274	3,35	56670,6
Pomorskie	7583	309	4,07	253	3,33	29243,5
Warmińsko-mazurskie	7606	311	4,09	253	3,32	55501,3
Zachodniopomorskie	8495	343	4,04	282	3,32	14712,6
Polska	7950	324	4,07	266	3,35	649406,6

Tab. 2 Przeciętne wydajności ocenianych krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej (RW) za rok 2015 [PFHBiPM, RO Bydgoszcz, 2016]

	Mleko (kg)	Tłuszcz (kg)	Tłuszcz (%)	Białko (kg)	Białko (%)	Przeciętna liczba krów
Region Oceny Bydgoszcz	7073	295	4,17	238	3,37	2936,1
Kujawsko-pomorskie	7676	319	4,15	260	3,39	824,9
Pomorskie	7443	306	4,11	251	3,37	446,1
Warmińsko-mazurskie	6795	284	4,18	230	3,38	474,8
Zachodniopomorskie	6801	288	4,24	223	3,28	190,3
Polska	7183	300	4,17	243	3,28	25586,4

Jak widać, stada odmiany czarno-białej z województwa kujawsko-pomorskiego charakteryzowały się wyższą średnią wydajnością mleka niż wynosi średnia dla całego kraju. Również relacja procentowej zawartości tłuszczu do zawartości białka jest zadowalająca, ponieważ odpowiada trendom konsumenckim dotyczącym niskotłuszczowych produktów – zawartość tłuszczu w mleku pozyskiwanym od krów utrzymywanych w województwie kujawsko-pomorskim jest niższa niż średnia dla kraju, a zawartość białka plasuje się na jednym z wyższych poziomów.

Podobnymi wynikami pod względem wydajności mlecznej mogą poszczycić się stada odmiany czerwono-białej utrzymywane w województwie kujawsko – pomorskim, gdyż ich średnia wydajność również przewyższa średnią dla kraju. Biorąc pod uwagę zawartość białka i tłuszczu, mleko pozyskiwane od krów z tych stad jest także najatrakcyjniejsze dla konsumenta.

Wykazuje stosunkowo wysoki procentowy poziom białka w mleku i relatywnie niski poziom tłuszczu.

Można stwierdzić, że województwo kujawsko-pomorskie znacznie wyróżnia się na tle innych województw północnej Polski. Średnia wydajność mleczna krów utrzymywanych w województwie kujawsko-pomorskim przewyższa średnią dla całego kraju. Także jakość mleka i jego konsumencka atrakcyjność przewyższają wspomnianą średnią krajową.

2.1.2. Porównanie ras krów mlecznych

Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka poddała ocenie rasy mleczne. Uśredniając dane z całego kraju, rasa polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej charakteryzuje się najwyższą wydajnością mleczną. Drugą w kolejności jest Montbeliarde. Biorąc pod uwagę procentową zawartość białka i tłuszczu w mleku, rasa polska holsztyńsko-fryzyjska charakteryzuje się niższymi wartościami niż rasa Jersey. Obecnie, wzrasta zainteresowanie tą rasą, mimo jej stosunkowo niższych wydajności mleka (Tab. 3).

Rasa Jersey pochodzi z angielskiej wyspy, położonej na kanale La Manche. Z powodu hodowli na zamkniętym obszarze, uzyskano duże wyrównanie genetyczne tej rasy. Krowy te mają stosunkowo niewielką masę ciała i kaliber. Rasę tą sprowadzono do Danii, gdzie pod względem użytkowości mlecznej, zaliczana jest do najlepszych na świecie. Historia bydła rasy Jersey w Polsce ma swój początek w 1967 roku. Pierwotnie używano jej do doskonalenia bydła rasy polskiej czerwonej [Litwińczuk i Szulc 2005]. Mleko krów rasy Jersey utrzymywanych w Polsce, mimo stosunkowo niewielkiej wydajności (w porównaniu z rasą polską holsztyńsko-fryzyjską), ma dużą zawartość suchej masy i wysoki udział białka, dodatkowo dzięki dużej frekwencji genu kappa-kazeiny (B) jest szczególnie przydatne w przetwórstwie [Waławski i wsp. 1994].

Kolejną rasą godną uwagi jest rasa simentalska. Krowy te charakteryzują się stosunkowo wysoką wydajnością mleczną, zawartością białka na dość wysokim poziomie i niskiej zawartości tłuszczu (tab.3). Jest to bydło w typie mięsno – mlecznym. Charakteryzuje się ponadto wzrostem wydajności mlecznej i zawartości suchej masy nawet do piątej laktacji. Biorąc pod uwagę zawartość białka i tłuszczu w mleku, ich zawartość utrzymuje się na stałym poziomie [Czubska – Stączek i wsp. 2016]. Rejon hodowli bydła simentalskiego ogranicza się głównie do południowo – wschodniej Polski. Celem hodowlanym tego bydła jest utrzymanie dwukierunkowego typu użytkowania, doskonaląc je bez udziału innych ras, jednocześnie zachowując najbardziej pożądane cechy takie jak: długość użytkowania, płodność i zdrowotność [Choroszy i wsp. 2008]. Coraz częściej używa się tej rasy do doskonalenia rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej ze względu na wysoką zawartość białka typu kazeinowego w mleku, a także cechy funkcjonalne, jak

na przykład krótki okres międzywycieleniowy czy zdrowotność wymienia [Choroszy i wsp. 2013].

Tab. 3. Przeciętne wydajności ocenianych ras krów utrzymywanych w Polsce za rok 2015 [PFHBiPM, RO Bydgoszcz, 2016]

Rasa	Mleko (kg)	Tłuszcz (kg)	Tłuszcz (%)	Białko (kg)	Białko (%)	Przeciętna liczba krów
Polska holsztyńsko-fryzyjska HO	7950	324	4,07	266	3,35	649406,6
Polska holsztyńsko-fryzyjska RW	7183	300	4,17	243	3,38	25586,4
Simentalaska	6075	252	4,15	209	3,44	10570,6
Polska czerwona	3541	151	4,25	119	3,35	2856,1
Jersey	6212	313	5,04	239	3,85	1021,0
Montbeliarde	7529	297	3,95	264	3,51	2839,2
Białogrzbieta	4170	169	4,05	138	3,31	535,0
Polska czerwono-biała	4471	183	4,09	144	3,23	3667,8
Polska czarno-biała	4653	194	4,16	153	3,29	2014,9
Brown swiss	7267	318	4,37	257	3,54	275,4
Szwedzka czerwona	7443	330	4,43	266	3,57	221,0
Norweska czerwona	7377	322	4,37	258	3,49	198,5
Mieszańce międzyrasowe	6859	291	4,24	234	3,41	53844,2
Inne *	7505	321	4,27	260	3,47	710,0

* Należy do tej grupy pozostałe bydło mleczne podlegające ocenie, tj. Ayrshire, Europejskie bydło czerwone, Szwedzka czerwono-biała, Highland cattle

2.2. Wpływ rasy na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku

Wśród ras bydła mlecznego można wyróżnić te, które osiągają rekordowe wydajności i te, których jakość mleka jest na wysokim poziomie. Do tych pierwszych zalicza się rasa polska holsztyńsko-fryzyjska obu odmian

barwnych, która stanowiła ponad 85 % ocenianych krów w Polsce w 2014 roku [PFHBiPM w Warszawie]. Zwierzęta te dobrze wykorzystują paszę, mają odpowiednią budowę ciała, a także są przystosowane do doju mechanicznego, co kwalifikuje je do wybitnie mlecznego typu użytkowania [Czaplicka i wsp. 2002]. Do najczęściej badanych ras krów pod względem mleczności należą dodatkowo rasa simentalaska i jersey. W badaniach przeprowadzonych przez Brodziak i wsp. [2012], zanalizowano cztery rasy, wśród których najwyższą wydajnością charakteryzowały się krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Następną w kolejności jest odmiana czerwono-biała, simentalaska i jersey [Brodziak i wsp. 2012]. Ostatnie dane z PFHBiPM za rok 2015 potwierdzają wyniki dla rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, natomiast dla rasy Jersey odnotowano wyższą wydajność niż w przypadku simentalaskiej. Biorąc pod uwagę zawartość procentową białka ogólnego, najwyższe wartości wykazuje rasa Jersey – 4,21% w sezonie jesienno – zimowym, najniższe zaś polska holsztyńsko-fryzyjska obu odmian barwnych [Brodziak i wsp. 2012]. Wyniki te są tożsame z danymi z PFHBiPM za rok 2015. Jeżeli chodzi o zawartość tłuszczu w mleku, w badaniach Brodziak i wsp. [2012], najwyższą jego wartość zaobserwowano u rasy jersey, a następnie dla polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czerwono-białej, podobnie w wynikach oceny PFHBiPM [2015]. W danych pochodzących z Federacji, najniższą zawartością tłuszczu wykazały się krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, natomiast w badaniach Brodziak i wsp. [2012] była to rasa simentalaska.

2.2.1. Wpływ udziału rasy HF

Czynnikiem, który niewątpliwie wpływa na wydajność oraz zawartość białka i tłuszczu w mleku jest udział rasy HF w genotypie. Wielu autorów podejmowało próbę oceny zależności między procentowym udziałem rasy a składnikami mleka i wydajnością, uzyskując różne wyniki. W części badań obserwuje się spadek zawartości białka i tłuszczu wraz ze wzrostem udziału genów rasy HF, jednak różnice te nie są znaczne. Najwyższy poziom tych składników (odpowiednio 3,31% i 4,25%) odnotowano u mieszańców o udziale genów na poziomie 51 – 75% [Bogucki, Sawa 2002]. Inne badania pokazują, iż najwyższe zawartości białka i tłuszczu zaobserwowano u krów o największym udziale genów HF [Stenzel i wsp. 2003]. W badaniach Gnypa i wsp. zaobserwowano wzrost wydajności mlecznej w miarę wzrostu udziału rasy. Zawartości składników mleka były do siebie zbliżone, jednak najwyższe wartości przyjęły dla grupy mieszańców o udziale rasy HF na poziomie 50 – 75% [Gnyp i wsp. 2006].

2.3. Wpływ czynników środowiskowych na wydajność mleczną i zawartość białka i tłuszczu w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej

2.3.1. Wpływ sezonu wycielenia

Przeprowadzone badania w stadach żywionych tradycyjnie jednoznacznie wykazują, iż produkcyjnie najkorzystniejszym jest jesienno-zimowy sezon wycieleń [Sawa 1998]. Za najniżej wydajne krowy uważa się te, które wycieliły się w letnich miesiącach. Różnice między sezonami osiągały nawet do 1000 kg mleka na laktację [Litwińczuk i Szulc 2005]. W badaniach przeprowadzonych przez Brodziak i wsp. [2012] na podstawie wydajności dobowej można zaobserwować wzrost w wiosenno-letnim sezonie produkcji. Analizując zawartość składników mleka, korzystniejszym okazuje się być jesienno-zimowy sezon produkcji. Również w badaniach Stenzela i wsp. [2001] odnotowano najwyższe wartości białka i tłuszczu w mleku w okresie od września do listopada. Osiągane wyniki są związane z żywieniem w danej porze roku. I tak – w czasie żywienia pastwiskowego uzyskuje się mleko o najniższej zawartości białka i tłuszczu [Pilarska 2014]. Zwierzęta po okresie żywienia letniego mają odpowiednią kondycję do wycielenia, a w sezonie jesienno-zimowym jest wystarczająca ilość pasz do produkcji mleka wysokiej jakości. Kolejnym dobrym momentem na wycielenie jest późna wiosna, gdy wykorzystywane są zielonki i rozpoczyna się żywienie pastwiskowe [Litwińczuk i Szulc 2005].

2.3.2. Wpływ okresu międzywycieleniowego

W celu pozyskania od krów holsztyńsko-fryzyjskich jak największej ilości mleka, zmierzano do skrócenia długości okresu międzywycieleniowego. Dążenia do uzyskania od krowy jednego cielęcia rocznie są słuszne, jednak przy stosunkowo niewysokich poziomach produkcji. Wydłużanie okresu międzywycieleniowego sprzyja zwiększeniu życiowej wydajności mleka oraz obniżeniu czynnika brakowania [Krzyżewski i Reklewski 2003]. Za najbardziej odpowiedni okres międzywycieleniowy uważa się taki, który jest zawarty w przedziale między 360 a 400 dni. Taki wynik jest wyznacznikiem dobrej płodności krów, a jego odchylenia mogą wpływać na poziom produkcji mleka, a także skuteczność zacieleń po porodzie [Czaplicka i wsp. 2003]. W badaniach przeprowadzonych przez Topolskiego i wsp. [2008] stwierdzono statystycznie wysoce istotną zależność między wydajnością krów a okresem międzywycieleniowym. Najkrótszy okres odnotowano w grupie krów nisko wydajnych, natomiast w grupie krów o wysokiej wydajności zaobserwowano najdłuższy czas trwania okresu międzywycieleniowego.

2.3.3. Wpływ żywienia

Pokrycie w pełni potrzeb pokarmowych krów warunkuje osiągnięcie dobrych wyników produkcyjnych. Niedobory składników pokarmowych w krótkim czasie powodują obniżenie produkcji mleka. Hodowcy dążą do obniżenia kosztów wyprodukowania litra mleka do minimum przy zachowaniu najwyższej jego jakości. Stąd, odpowiednio zbilansowana dawka pokarmowa, która w pełni pokryje duże zapotrzebowanie żywieniowe pozwoli obniżyć koszty utrzymania zwierząt [Teter 2011].

Postęp hodowlany spowodował znaczny wzrost znaczenia wpływu genotypu na produkcję mleka. Dzięki doskonaleniu ras uzyskiwane jest mleko charakteryzujące się lepszą jakością. W miarę wzrostu wydajności mleka nie wzrasta jednak pobranie suchej masy paszy. Stąd wynikają problemy z pokryciem w dawce pokarmowej wymaganych potrzeb bytowych i produkcyjnych. Ważnym jest dostarczenie w dawce odpowiedniej ilości składników pokarmowych, które zagwarantują efektywne wykorzystanie paszy w przewodzie pokarmowym [Litwińczuk i Szulc 2005]. Nieodpowiednie zbilansowanie dawki pokarmowej może prowadzić do wystąpienia chorób metabolicznych, obniżenia odporności, płodności, trudności z wycieleniem, zahamowania wzrostu i rozwoju. Wszystkie te czynniki mogą spowodować zmniejszenie opłacalności produkcji, a także nieujawnienie pełnego potencjału genetycznego [Preś i wsp. 2004].

Upodobania konsumentów mobilizują hodowców do poszukiwania coraz to bardziej innowacyjnych systemów żywienia, wprowadzania nowych dawek pokarmowych. Odpowiednie żywienie krów pomaga sterować jakością mleka, głównie obniżać zawartość tłuszczu i zwiększać udział białka w mleku [Szulc i wsp. 1995].

2.3.4. Wpływ wieku krowy – kolejność laktacji

Wśród wielu pozagenetycznych czynników wpływających na wydajność mleczną i zawartość składników mleka, jednym z limitujących jest wiek krowy, a razem z nim ściśle określona ilość przebytych laktacji [Tsioulpas i wsp. 2007]. Szczyt produkcyjny przypisywany jest okresowi między III a V laktacją, po czym wydajność mleczna powoli spada. Przyczyną obniżenia wydajności jest głównie spadek sprawności gruczołu mlekowego – przewyższanie procesów redukcji tkanki gruczołowej nad jej regeneracją [Litwińczuk i Szulc 2005].

Wielu autorów potwierdza fakt wzrostu wydajności mlecznej w miarę starzenia się krowy. Analizując udoje próbne, najniższą wydajnością charakteryzowały się pierwiastki (22,98 kg), najwyższą zaś krowy powyżej V laktacji (29,07 kg). Krowy będące w III laktacji w próbnym doju uzyskały wydajność na poziomie 27,11 kg [Pilarska 2014]. Badania te potwierdzają tendencję zaobserwowaną w badaniach przeprowadzonych przez Gulińskiego i wsp. [2003], którzy odnotowali istotne statystycznie różnice w dziennej

wydajności mleka dla pierwiastek, krów będących w II i III laktacji oraz w IV i V. Jednak krowy wysokowydajne użytkuje się krócej niż wynikałoby to z długości ich życia. W programach hodowlanych, zdolność do wysokiej wydajności jest używana jako cecha selekcyjna [Gnyp i wsp. 2000]. Analizując wydajność mleczną w 305-dniowej laktacji również obserwuje się najniższe wartości u pierwiastek (6875 kg), natomiast najwyższymi wartościami charakteryzowały się krowy będące w III laktacji (7719 kg) [Czerniawska – Piątkowska i wsp. 2015].

W związku z wiekiem krowy zmienia się również zawartość białka i tłuszczu w mleku. Odpowiedni stosunek tych składników warunkuje atrakcyjność konsumencką mleka. Dąży się do osiągnięcia stosunku najbliższego 1:1.

Zawartość białka z reguły wzrasta do II laktacji, by potem sukcesywnie spadać. Taką tendencję potwierdzają wyniki badań przeprowadzonych przez Boguckiego i Sawę [2002], a także później przez Brzozowskiego i Zdziarskiego [2006]. W badaniach przeprowadzonych przez Pilarską [2014] zawartość białka wzrastała aż do IV laktacji i w pierwszej była to wartość 3,29%, a w czwartej – 3,39%. Taka tendencja jest potwierdzeniem badań Grodzkiego i wsp. [1998], gdzie również zaobserwowano wzrost zawartości białka w mleku.

Rozpatrując procentowy udział tłuszczu w mleku obserwuje się różne jego zawartości w kolejnych laktacjach. W badaniach przeprowadzonych przez Boguckiego i Sawę [2002], a także przez Stenzela i wsp. [2003] oraz Ziemińskiego i wsp. [2004] odnotowano znaczny spadek procentowej zawartości tłuszczu z 4,25% w I laktacji do 4,17% w V [Stenzel i wsp. 2003]. W innym doświadczeniu ujawniono natomiast wzrost udziału tłuszczu w mleku aż do IV laktacji. W mleku pierwiastek zawartość tłuszczu kształtowała się na poziomie 4,12%, a w IV – 4,28% [Pilarska 2014]. Taką skłonność również potwierdzają badania przeprowadzone przez Antkowiaka i wsp. [2007] i Litwińczuka i wsp. [2006]. Inni naukowcy, analizując zawartość białka i tłuszczu w mleku krów na przestrzeni sześciu kolejnych laktacji nie stwierdzili istotnych różnic w zawartości wspomnianych składników [Piech i Tarkowski 2000].

2.3.5. Wpływ systemu utrzymania

System wolnostanowiskowy jest zbliżony do naturalnego, co zwiększa pobieranie paszy i sprzyja jej wykorzystaniu. Obecnie generalnie stosowane jest całoroczne alkierzowe utrzymanie krów i żywienie TMRem, a coraz bardziej odchodzi się od pastwiskowego chowu zwierząt [Nałęcz-Tarwacka i wsp. 2009]. W wielu badaniach wykazano wyższość utrzymania wolnostanowiskowego nad uwięziowym [Kapela i Guliński 2007]. Według Ziemińskiego i Ćwikły [2006] bydło utrzymywane w systemie wolnostanowiskowym uzyskało niższą wydajność mleka o niższej zawartości

tłuszczu i wyższej procentowej zawartości białka – 3,4% od stad utrzymywanych w systemie alkierzowym, gdzie zawartość białka kształtowała się na poziomie 3,32%. Stada utrzymywane alkierzowo charakteryzowały się wyższą wydajnością mleczną oraz niższą procentową zawartością białka i tłuszczu w mleku [Radkowska 2012]. W badaniach przeprowadzonych przez Gaworskiego i Wójcika [2013] odnotowano wzrost wydajności mlecznej w stadach utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym (8398 kg) przy żywieniu tradycyjnym, bez zastosowania wozu paszowego. Stada utrzymywane alkierzowo i żywione tradycyjnie charakteryzowały się niższą wydajnością (7287 kg). Odwrotne relacje zaobserwowano w przypadku procentowej zawartości tłuszczu, gdzie dla stada alkierzowego przybrało ono wartość 4,69%, a dla wolnostanowiskowego 4,09%. Poziom białka w obu przypadkach był na tym samym poziomie (3,34%) [Gaworski i Wójcik 2013].

2.4. Wpływ czynników genetycznych

2.4.1. Polimorfizm genetyczny

Polimorfizmem genetycznym określa się występowanie różnorodności w populacji, obejmującej różne odmiany danego genu – alleli z większą częstością niż oczekiwana. Polimorfizm jest efektem zmian sekwencji DNA. W momencie, gdy najrzadziej występujący wariant alleliczny w danym locus występuje z częstością powyżej 1-2%, jest to zmiana polimorficzna [Gruchała i Rynkiewicz 2003]. Polimorfizmy genetyczne mogą wynikać z różnic w sekwencji lub długości fragmentów DNA i występują najczęściej w niekodujących regionach DNA [Słomski 2004]. Innym przykładem polimorfizmu genu jest mutacja, która nie zmienia zapisu genetycznego – syntetyzowany jest ten sam aminokwas (tak jak w niezmutowanym kodonie) lub zmiana w obszarze intronu, wskutek czego nie nastąpi ujawnienie w fenotypie. Jedyną możliwością wykrycia takiej mutacji są bezpośrednie badania DNA [Charon i Świtoński 2004]. Polimorfizm można badać przy użyciu metody reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Metoda ta jest podstawową techniką badawczą i diagnostyczną dzięki zdolności DNA do replikacji. Metoda PCR została opracowana przez Kary Mullisa w 1983 roku, któremu przyznano nagrodę Nobla dziesięć lat później za to osiągnięcie. Katalizatorem tej reakcji jest termostabilna polimeraza DNA, a jej dużą zaletą jest możliwość analizy DNA z bardzo małej jego ilości. Ta enzymatyczna metoda powielania sekwencji DNA jest bardzo czuła i wymaga znajomości sekwencji nukleotydów, która otacza powielany fragment [Węgleński 1996; Charon i Świtoński 2009].

2.4.2. Kappa-kazeina

Kazeiny – białka mleka są wydzielane przez komórki gruczołów sutkowych. Stanowią one około 78-82% białek mleka. Białko odgrywa istotną rolę w przetwórstwie mleka. Wśród wszystkich białek można wyróżnić cztery frakcje kazeinowe (α S1, α S2, β i κ) i dwie serwatkowe (α -laktoalbumina i β -laktoglobulina). U bydła łoci kazeiny są zlokalizowane na chromosomie 6 i razem zajmują fragment DNA o długości 200 kilobaz [Molee i wsp. 2011]. Częsteczka kappa-kazeiny jest jednołańcuchowym polipeptydem o długości 169 aminokwasów i masie cząsteczkowej 19,2 kDa [Threadgill i Womack 1990]. W kappa-kazeinie odkryto dziewięć wariantów allelicznych (*A*, *B*, *C*, *E*, *F*, *G*, *H*, *I* i *A₁*). Najczęściej występują jednak dwa allele – *A* i *B* [Prinzenberg i wsp. 1999]. Różnią się one mutacjami punktowymi, polegającymi na zastąpieniu treoniny izoleucyną w 136 pozycji łańcucha polipeptydowego dla allele *A*, a także kwasu asparaginowego alaniną w pozycji 148 – allele *B* [Alexander i wsp. 1988; Ren i wsp. 2013].

Wśród trzech wariantów genetycznych (*AA*, *BB* i *AB*), mleko pozyskane od zwierząt o genotypie *BB* cechuje się wyższą zawartością białka całkowitego i kazeiny [Barłowska i wsp. 2000]. Dodatkowo, wykazano, iż allele *B* zwiększa zawartość tłuszczu w mleku i stabilizuje micelle kazeinowe, a także zwiększa wydajność sera [Jacob i Puhani 1992; Kamiński 1994]. Wydajność sera z mleka krów o genotypie *BB* jest o 10% wyższa w porównaniu z wydajnością sera z mleka krów o genotypie *AA* [Marziali i NG-Kwai-Hang 1986]. Allele *B* gwarantuje nie tylko wzrost wydajności sera i poprawia jego jakość, ale także wpływa na inne parametry, takie jak wydajność mleka, czy zawartość białka w mleku. Wpływ allele *B* na zawartość białka w mleku jest również opisany w wielu badaniach dotyczących krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej [Mao i wsp. 1992; Freyer i wsp. 1999; Gładyr i wsp. 2000; Tsiaras i wsp. 2005].

Duża liczba badań nad polimorfizmem genu kappa-kazeiny spowodowała, że jest on uważany za marker genetyczny cech ilościowych i stosowany może być jako parametr selekcyjny [Mohammadi i wsp. 2013]. Coraz więcej stacji inseminacyjnych w Europie (również w Polsce), a także w Ameryce Północnej umieszcza w katalogach genotypy każdego buhaja jako marker genetyczny [Ziemiński i wsp. 2005; Litwińczuk i wsp. 2006]. U wielu buhajów ras azjatyckich odnotowuje się monomorfizm genotypu *BB* [Mitra i wsp. 1998; Pipalia i wsp. 2001; Otaviano i wsp. 2005; Riaz i wsp. 2008].

Analizując badania przeprowadzone na krowach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, w większości przypadków frekwencja genotypu *AA* była zdecydowanie wyższa niż *BB* i *AB*. W badaniach przeprowadzonych przez Cioch i wsp. [2012] wykazano najczęstsze występowanie allele *A* na poziomie 0,831 w pierwszej laktacji. Frekwencja allele *B* ukształtowała się na poziomie 0,169. Uzyskane wyniki są potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Litwińczuka i wsp. [2006], Botaro i wsp. [2009] oraz Molee i wsp. [2011]. U zwierząt objętych doświadczeniem, frekwencja genotypu *AA* była najwyższa

i wynosiła 66,83%, natomiast najniższą frekwencją charakteryzował się genotyp *BB* – 1,33% [Botaro i wsp. 2009]. Biorąc pod uwagę krowy o różnym udziale rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w genotypie, również allel *A* występował najczęściej, zarówno w grupie zawierającej poniżej 87,5% udziału genów *hf*, jak i w grupie powyżej 87,5% i wynosił odpowiednio 0,755 i 0,771 [Molee i wsp. 2011]. Podobne wyniki można znaleźć również rozpatrując wcześniejsze badania krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej z regionów zachodniej Jawy, gdzie allel *A* występował częściej (0,64) niż allel *B* (0,36) [Anggraeni i wsp. 2010; Doosti i wsp. 2011]. W badaniach przeprowadzonych przez Sitkowską i wsp. [2008] oraz Botaro i wsp. [2009] odnotowano najwyższą frekwencję genotypu *AA*. Podobny rezultat otrzymała Cioch i wsp. [2012] w testowanej grupie krów, w której frekwencja genotypu *AA* ukształtowała się na poziomie 69%.

Inne wyniki uzyskali Miciński i wsp. [2008] i Anggraeni i wsp. [2010], gdzie najczęściej występującym genotypem były heterozygoty *AB*, natomiast genotyp *BB* miał najniższą frekwencję.

Biorąc pod uwagę wpływ genotypu na wydajność mleczną, najwyższe wydajności osiągały krowy o genotypie *AA* w drugiej laktacji. Najniższą wydajnością charakteryzowały się osobniki o genotypie *BB* we wszystkich laktacjach [Litwińczuk i wsp. 1996; Strzałkowska i wsp. 2002; Miciński i wsp. 2008; Sitkowska i wsp. 2008; Cioch i wsp. 2012]. Odmienne wyniki otrzymali Walawski i wsp. [1994], Tsiaras i wsp. [2005] oraz Ziemiński i wsp. [2005], gdzie najwyższą wydajnością charakteryzowały się zwierzęta o genotypie *AB*.

Mając na uwadze wpływ polimorfizmu genu kappa-kazeiny na zawartość białka i tłuszczu w mleku otrzymano wyniki, w których zwierzęta o genotypie *AA* cechowały się najwyższą wydajnością białka i tłuszczu w pierwszych dwóch laktacjach. W trzeciej laktacji najwyższą wydajność osiągnęły krowy o genotypie *AB* [Litwińczuk i wsp. 2006; Cioch i wsp. 2012]. W badaniach przeprowadzonych przez Strzałkowską i wsp. [2002] najwyższą wydajność tłuszczu wykazały krowy o genotypie *BB*, natomiast w doświadczeniu Ziemińskiego i wsp. [2005] i Tsiaras i wsp. [2005] najwyższe wartości dla białka i tłuszczu osiągnęły krowy heterozygotyczne.

Rozpatrując procentową zawartość białka i tłuszczu w mleku najwyższy ich udział stwierdzono u krów o genotypie *BB* [Barłowska i wsp. 2000; Strzałkowska i wsp. 2002; Ziemiński i wsp. 2005; Feleńczak i wsp. 2006; Miciński i Klupczyński 2006; Cioch i wsp. 2012]. Odmienne wyniki uzyskali Sitkowska i wsp. [2008] oraz Molee i wsp. [2011], gdzie najwyższe procentowe zawartości białka i tłuszczu odnotowano w mleku krów o heterozygotycznym genotypie *AB*.

2.4.3. Betalaktoglobulina

Jedną z frakcji serwatkowych jest β -laktoglobulina. Białko to składa się ze 162 aminokwasów i ma masę 18,4 kDa. Zbudowana jest z 5 reszt siarczkowych, z których 4 są zaangażowane w tworzenie

wewnątrzcząsteczkowych mostków siarczkowych [Górska i wsp. 2011]. Gen betalaktoglobuliny zlokalizowany jest na 11. chromosomie, ma długość ok. 6700 pz i składa się z 7 eksonów. Podobnie jak kappa-kazeina, uważana jest jako marker genetyczny cech ilościowych [Otaviano i wsp. 2005]. β -laktoglobulina jest jednym z najbardziej zróżnicowanych białek pod względem form polimorficznych, a najczęściej identyfikowanymi są allele *A* i *B* [Mohammadi i wsp. 2013]. Różnica między nimi polega na zmianie sekwencji aminokwasowej, gdzie allele *A* w pozycji 64 zawiera kodon warunkujący włączenie kwasu asparaginowego, natomiast allele *B* – triplet kodujący glicynę, a w pozycji 118 dla allele *A* – kodon dla waliny, a dla *B* – dla alaniny [Eigel i wsp. 1984; Kučerova i wsp. 2006].

Liczne badania wykazały obecność trzech genotypów: *AA*, *AB* i *BB* uwarunkowanych dwoma allelami *A* i *B*. W badaniach przeprowadzonych przez Czerniawską – Piątkowską i wsp. [2015] stwierdzono najniższą frekwencję genotypu *AA* (8%), a najwyższą heterozygot *AB* (52%). Frekwencja allele *B* ukształtowała się na poziomie 0,72, natomiast allele *A* – 0,28. Taki rezultat potwierdzają wcześniejsze badania przeprowadzone przez Barłowską [2001] i Ziemińskiego i wsp. [2005]. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Wolanciuk [2015] najczęściej występowały heterozygoty *AB* – na poziomie 44,44% dla rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Najmniej liczną grupę stanowiły homozygoty *AA* – 25,4%. Frekwencja allele *A* i *B* wynosiła odpowiednio 0,48 i 0,52. Badania te są potwierdzeniem wyników uzyskanych przez Tsiraras i wsp. [2005] oraz Heidari i wsp. [2009], gdzie częstość występowania heterozygot była największa. Inne badania wykazały najniższą frekwencję dla genotypu *AA* i wynosiła ona 12%, natomiast genotypy *BB* i *AB* były na tym samym poziomie 44%. Frekwencja allele *A* dla tego doświadczenia wynosiła 0,34, a allele *B* – 0,66 [Badola i wsp. 2003].

Biorąc pod uwagę zależność między genotypem a wydajnością mleczną i zawartością białka i tłuszczu w mleku zaobserwowano, iż obecność allele *A* warunkuje jednocześnie wyższą wydajność mleczną i zawartość białka w mleku [Wolanciuk 2015]. Istnieją jednak również inne badania, gdzie za wyższą wydajność mleka odpowiada genotyp *AB* [Molina i wsp. 2006]. Większość jednak badań przemawia za pierwszą zależnością, która potwierdza pozytywny związek genotypu *AA* z wydajnością mleczną [Miciński i Klupczyński 2006]. Analizując badania Czerniawskiej-Piátkowskiej i wsp. [2007] odnotowano najwyższą wydajność krów z genotypem *AA* zarówno dla pierwszej laktacji (7804 kg), jak i dla drugiej (7824 kg). Najniższe wartości przypisano zwierzętom o genotypie *BB* w obu laktacjach i wynosiły one odpowiednio 7531 kg dla pierwszej i 7624 kg dla drugiej laktacji. W badaniach przeprowadzonych przez Oprządek i wsp. [2006] również zaobserwowano najwyższą wydajność w pierwszej laktacji dla homozygotycznych osobników *AA* i wynosiła ona 6731,3 kg, natomiast w drugiej laktacji na pierwszym miejscu uplasowały się zwierzęta o genotypie *BB* (7900,5 kg). W doświadczeniu przeprowadzonym na krowach holsztyńsko-fryzyjskich importowanych ze Szwecji również wykazano

najwyższą wydajność mleczną krów o genotypie AA dla pierwszych trzech 305-dniowych laktacji i wynosiły kolejno: 6458 kg, 6688,6 kg i 6781,4 kg. Rozpatrując pozostałe dwa genotypy, ich wpływ na wydajność mleczną nie był równoznaczny, gdyż najniższe wartości wydajności mleka zaobserwowano u krów z genotypem AB dla pierwszej i trzeciej laktacji (6416,5 kg i 5072,6 kg), natomiast dla drugiej laktacji najniższym wynikiem charakteryzowały się osobniki homozygotyczne BB (6639,2 kg) [Oprządek i wsp. 2006].

Biorąc pod uwagę zależności między genotypem a zawartością białka i tłuszczu w mleku, odnotowuje się rozbieżne wyniki. Wielu autorów wiąże wysoką zawartość tych składników mleka z allelem B [Caroli i wsp. 2004; Ahmadi i wsp. 2008]. Jednak w innym doświadczeniu, sprawdzając wydajność tłuszczu i białka zaobserwowano wyższą zawartość osobników homozygotycznych AA w pierwszych dwóch laktacjach, a ich wartości dla tłuszczu wynosiły odpowiednio 331,1 kg i 314,7 kg oraz dla białka: 250 kg i 249,9 kg [Czerniawska-Piątkowska i wsp. 2007]. Podobne zależności zaobserwowano w badaniach Oprządek i wsp. [2006]. W badaniach przeprowadzonych na krowach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej importowanej ze Szwecji odnotowano, że najwyższą zawartością tłuszczu charakteryzowały się zwierzęta o genotypie BB dla pierwszych dwóch laktacji (4,07 % i 4,44%), natomiast dla trzeciej, najwyższą zawartość tłuszczu odnotowano w mleku krów o genotypie AB (4,27%). Najniższe wartości uzyskano od osobników o genotypie AA we wszystkich trzech laktacjach. Oprządek i wsp. [2006] otrzymali odmienne wyniki, gdzie w pierwszej laktacji najwyższą procentową zawartość tłuszczu odnotowano w mleku zwierząt o genotypie AA, natomiast najwyższą zawartością białka charakteryzowały się krowy o genotypie BB. Zwierzęta o genotypie BB będące w drugiej laktacji charakteryzowały się najwyższą zawartością obu składników. W badaniach Czerniawskiej-Piątkowskiej i wsp. [2007] podobnie ukształtowała się procentowa zawartość białka, gdzie dla pierwszych trzech laktacji najwyższe wyniki przypisano zwierzętom homozygotycznym AA (3,50 %, 3,74% i 3,46%).

2.4.4. Hormon wzrostu

Gen hormonu wzrostu jest ważnym „genem kandydatem” do identyfikacji markerów genetycznych dla cech użytkowych zwierząt gospodarskich. Bydłęcy hormon wzrostu (GH) jest jednołańcuchowym polipeptydem składającym się z 190 lub 191 aminokwasów o masie cząsteczkowej 22 kDa. Hormon ten jest wydzielany w przednim płacie przysadki mózgowej i kontroluje czynnik uwalniający hormon wzrostu, co zwiększa wydzielanie hormonu wzrostu i czynnik hamujący uwalnianie somatotropiny, który hamuje jej wydzielanie [Nicoll i wsp. 1986]. Gen hormonu wzrostu zlokalizowany jest na 19 chromosomie [Hediger i wsp. 1990],

ma długość około 280 par zasad [Ayuk i Sheppard, 2006], które tworzą 5 eksonów przedzielonych 4 intronami [Fries i wsp. 1993].

Hormon wzrostu ma duży wpływ na rozwój i metabolizm poprzez oddziaływanie ze specyficznym receptorem na powierzchni komórek docelowych. Gen ten jest u bydła odpowiedzialny za galaktopoezę i trwałość laktacji [Svennersten-Sjaunja i Olsson 2005]. Hormon wzrostu ma istotny wpływ na wzrost tkanek, metabolizm tłuszczu oraz homeostazę, a tym samym na reprodukcję, laktację i wzrost ciała [Burton i wsp. 1994].

Wiele badań nad tym genem dowodzi o jego wysokiej polimorficzności. Najczęściej badanym, a co za tym idzie – najlepiej poznanym polimorfizmem jest substytucja w eksonie V (kodon 127 w pozycji 2141) polegająca na zamianie leucyny (GTC) na walinę (GTG) [Lucy i wsp. 1993; Moravčíková i Trakowická 2012]. Badania nad polimorfizmem hormonu wzrostu i jego wpływem na produkcję mleka zaobserwowano u krów węgierskich holsztyńsko-fryzyjskich [Balogh i wsp. 2009], irańskich holsztyńsko-fryzyjskich [Muhammadabadi i wsp. 2010], a także polskich holsztyńsko-fryzyjskich [Oleński i wsp. 2010].

W doświadczeniu przeprowadzonym przez Misrianti i wsp. [2012] na krowach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej stwierdzono tylko dwa genotypy: homozygotę *LL* i heterozygotę *LV*. Te obserwacje były zgodne z wynikami badań przeprowadzonych przez Balogh i wsp. [2008] na tej samej rasie, a także na brazylijskiej rasie Canchim i Zebu [Pereira i wsp. 2005; Curi 2006]. Najwyższą frekwencją charakteryzował się allel *L* (0,94), natomiast genotyp *LL* ukształtował się na poziomie 89%, a *LV* – 11% [Misrianti i wsp. 2012]. Na podobnym poziomie uzyskano wyniki stada duńskich krów holsztyńsko-fryzyjskich, gdzie genotyp *LL* stanowił 85%, a *LV* – 15% [Sorensen i wsp. 2002]. W badaniach przeprowadzonych przez Moravčíková i Trakowická [2012] na słowackich krowach nakrapianych, zaobserwowano największą liczbę krów o genotypie *LV* – 47,3%. Najniższą zaś frekwencję zaobserwowano w przypadku homozygoty *VV* – 12,3%. Analizując krowy rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, wykazano obecność trzech genotypów: *LL*, *LV* i *VV* [Dybus 2002]. Frekwencja genotypu *LL* była najwyższa i osiągnęła 51%; najrzadszym natomiast był genotyp *VV* – 13% [Grochowska i wsp. 2001].

W badaniach przeprowadzonych przez Lucy i wsp. [1993] zaobserwowano różną frekwencję alleli genu *GH/AluI* u różnych ras bydła mlecznego. Stwierdzono, że bydło holsztyńsko-fryzyjskie wykazuje większą wydajność mleka, gdy w genotypie występuje homozygota *LL*, natomiast dla rasy Jersey najwyższą wydajność mleka zaobserwowano dla homozygotycznych krów *VV*. Takie obserwacje potwierdzają badania Lagziel i wsp. [1996] i Dybusa [2002], w których krowy holsztyńsko-fryzyjskie o genotypie *VV* będące w pierwszej laktacji charakteryzowały się najwyższą wydajnością mleka, a także wyższą zawartością białka i tłuszczu w mleku niż krowy o genotypie *LV*. Tą samą zależność potwierdzają również naukowcy Shariflou i wsp. [2006]. Odmienne wyniki uzyskano w doświadczeniu przeprowadzonym przez Khatami i wsp.

[2005], gdzie najatrakcyjniejszymi pod względem wydajności mlecznej okazały się być krowy o genotypie *VV*. Brak zależności wydajności mlecznej od genotypu wykazali badacze Komisarek i wsp. [2011].

Liczne badania nad polimorfizmem genu hormonu wzrostu wskazują na możliwość wykorzystania go do selekcji bydła ukierunkowanej na osiąganie wyższej procentowej zawartości białka w mleku [Vukasinovic i wsp. 1999]. W tym przypadku za najlepsze uważa się krowy o genotypie *LL* [Shariflou i wsp. 2006].

2.4.5. Prolaktyna

Prolaktyna należy do tej samej rodziny hormonów, co hormon wzrostu, jest wydzielana przez przedni płat przysadki mózgowej i odpowiada za wiele czynności biologicznych. Udowodniono działanie prolaktyny w ponad 100 procesach w organizmie. Jej głównym zadaniem jest wpływ na mammogenezę i laktogenezę, a także galaktopoezę. Te cechy powodują, że prolaktyna staje się genem kandydującym do oceny cech ilościowych i jakościowych bydła w odniesieniu do wydajności mlecznej [Li i wsp. 2006]. Bydlęcą prolaktynę zlokalizowano na chromosomie 23 i składa się ona z 5 eksonów poprzedzielanych 4 intronami [Camper i wsp. 1984; Barendse i wsp. 1997]. Gen prolaktyny ma długość 917 nukleotydów [Marc i wsp. 2000]. Na podstawie analizy sekwencji czterech klonów DNA, uzyskano siedem możliwych podstawień [Sasavage i wsp. 1982]. Cicha mutacja w kodonie 103 w 3 eksonie polegająca na zamianie A na G tworzy miejsce polimorficzne dla enzymu restrykcyjnego *RsaI* i jest najczęściej badaną mutacją. Innym odnalezionym miejscem polimorficznym była mutacja A → G w 446 pozycji dla *XbaI*-RFLP [Li i wsp. 2006].

Biorąc pod uwagę badania Dybusa [2002a] przeprowadzone przy użyciu enzymu restrykcyjnego *RsaI* stwierdzono, iż allel A występował zdecydowanie częściej (0,862) niż allel B (0,138). Ta tendencja jest potwierdzeniem wyników badań przeprowadzonych przez Chrenka i wsp. [1998], gdzie frekwencja allelu A ukształtowała się na poziomie 0,95. Inni naukowcy otrzymali nieco niższą frekwencję allelu A, która wynosiła 0,80 [Mitra i wsp. 1995] i 0,73 [Chung i wsp. 1996]. Badania przeprowadzone na krowach rasy czarno-białej również potwierdziły największą frekwencję allelu A (0,8533), natomiast dla rasy Jersey sytuacja jest odwrotna i najczęściej występował allel B (0,6919) [Dybus i wsp. 2005]. Przeglądając wyniki doświadczenia przeprowadzonego na rosyjskim czerwonym bydle srokatym również odnotowano większą częstość allelu A (0,794) niż B (0,206) [Alipanah i wsp. 2007]. W analizowanych badaniach, najczęściej występował genotyp AA (73,2%), a najrzadziej genotyp BB (0,9%) [Dybus 2002a]. Biorąc pod uwagę badania nad prolaktyną przy użyciu enzymu restrykcyjnego *XbaI*, najczęściej występującym był genotyp BB (53,81%), natomiast najrzadziej – AA (0,85%) [Li i wsp. 2006].

Przyglądając się wpływowi genotypu na wydajność mleczną, odnotowano największe wydajności mleka dla krów holsztyńsko-fryzyjskich odmiany czarno-białej o genotypie *AB*, będących w pierwszej i drugiej laktacji (6911 kg i 7472 kg), natomiast dla trzeciej laktacji najwyższe wyniki osiągnęły osobniki o genotypie *AA* (7832 kg). W przypadku rasy Jersey wartości w trzech laktacjach i dla trzech genotypów są zbliżone [Dybus i wsp. 2005]. W badaniach Dybusa [2002a] przeprowadzonych na innej grupie krów czarno-białych z różnym udziałem rasy HF w genotypie zaobserwowano statystycznie istotne różnice dla pierwszej i drugiej laktacji. W pierwszej, najwyższą wydajnością charakteryzowały się zwierzęta o genotypie *AB* (5305 kg), najniższą zaś o genotypie *BB* (4442 kg). W drugiej laktacji najwyższe wartości wykazały krowy o genotypie *BB* (5962 kg), najniższą wydajnością charakteryzowały się homozygotyczne osobniki *AA* (5577 kg). Wyniki te są potwierdzeniem doświadczenia Chunga i wsp. [1996]. Biorąc pod uwagę badania przeprowadzone przez Alipanah i wsp. [2007] na rosyjskich czerwonych krowach, najwyższą wydajnością mleczną charakteryzowały się zwierzęta o genotypie *BB* (7239 kg), najniższą – o genotypie *AB* (6182 kg). Rozpatrując badania z użyciem enzymu restrykcyjnego *XbaI*, można stwierdzić, że najwyższą wydajność mleczną wykazywało chińskie bydło holsztyńskie o genotypie *BB* (8735,11 kg), najniższą o genotypie *AA* (81033 kg) [Li i wsp. 2006].

Biorąc pod uwagę zawartość białka i tłuszczu w mleku, w badaniach Li i wsp. [2007] odnotowano najwyższe zawartości obu składników dla osobników o genotypie *BB*, natomiast najniższe dla *AA*. Dla krów czarno-białych, przy użyciu enzymu restrykcyjnego *RsaI*, najwyższą procentową zawartość białka w mleku w pierwszej laktacji osiągnęły zwierzęta o genotypach *AA* i *AB* (3,25%) [Dybus i wsp. 2005], w innych badaniach tego autora najwyższe wartości odnotowano dla krów o genotypie *BB* (3,187%) [Dybus 2002a]. Dla drugiej i trzeciej laktacji najwyższą zawartość białka osiągnęło mleko osobników o genotypie *AA*. Różnice w tych dwóch laktacjach okazały się być istotne statystycznie [Dybus 2002a]. Dla rosyjskiego bydła czerwonego, największą zawartość białka w mleku stwierdzono u zwierząt o genotypie *AA* (3,27%), najniższą dla heterozygot – 3,18% [Alipanah i wsp. 2007]. Przyglądając się procentowej zawartości tłuszczu w mleku stwierdzono, iż dla pierwszych dwóch laktacji najwyższymi wartościami cechowały się krowy homozygotyczne *AA* (odpowiednio: 4,28% i 4,37%). Taki wynik jest potwierdzeniem badań Chunga i wsp. [1996]. W trzeciej laktacji najwyższą zawartość tłuszczu miało mleko krów o genotypie *BB* (4,51%) [Dybus i wsp. 2005]. W badaniach Alipanah i wsp. [2007] najwyższą zawartością tłuszczu charakteryzowało się mleko pochodzące od heterozygotycznych krów (3,71%), najniższą zawartość procentową tłuszczu miało mleko osobników o genotypie *AA* (3,58%).

2.5. Zastosowanie selekcji w hodowli

2.5.1. Selekcja genomowa

Genom bydła został zsekwencjonowany w 2009 roku przez zespół badaczy z 25 krajów. Wzorcem gatunku w tych badaniach była krowa rasy hereford – Dominante 01449. Z badań wynikało, że genom bydła składa się z 3 miliardów par zasad i zawiera ponad 22 tysiące genów, z których 14 tysięcy jest charakterystycznych dla wszystkich gatunków ssaków. Ponadto stwierdzono, iż w 80% geny bydła są tożsame z genami człowieka. Teoria genetyki populacji zakłada, iż cechy użytkowe zwierzęcia są rezultatem działania wielu genów, których efekty się sumują [Jędraszczyk 2010].

Dotychczasowy system oceny wartości hodowlanej buhajów jest oparty na informacji uzyskanej od jego kilkudziesięciu córek. System ten pozwala na stwierdzenie jakie cechy przekazuje on na potomstwo. Metoda ta jest dobra, lecz kosztowna i długotrwała. Niestety, jeżeli chodzi o funkcjonalne cechy nisko odziedziczalne (zdrowotność wymion, płodność, długowieczność) ta metoda jest mniej dokładna. W celu uzyskania wiarygodnych indeksów, należy uzyskać informacje od co najmniej 100 córek z dłuższego czasu, w odróżnieniu do informacji markerowej, która pozwala na uzyskanie wiarygodnych indeksów już dla młodych zwierząt [Osten-Sacken 2009].

Postęp genetyki umożliwił powszechne stosowanie genomowej selekcji – selekcji przy użyciu markerów genetycznych. Możliwe jest określenie przydatności hodowlanej zwierząt zaraz po ich urodzeniu, a tym samym identyfikację genetycznie najlepszych osobników. Powoduje to zmniejszenie kosztów oceny buhajów oraz skrócenie odstępu pokoleń. Hodowca może w dość łatwy sposób stwierdzić, które jałówki będą najbardziej przydatne w hodowli i wybrać je na matki przyszłych córek lub buhajów, kryjąc je nasieniem wybitnych osobników. Taka selekcja pozwala na ścisłą kontrolę wzrostu inbrodu, ułatwia wybór jałówek do remontu stada, a przede wszystkim umożliwia łatwiejsze doskonalenie pożądanых cech [Osten-Sacken 2009]. Dzięki objęciu genomową oceną dużej liczby osobników, możliwa jest ostrzejsza selekcja. Dokładniejsze szacowanie wartości hodowlanej i zastosowanie ostrej selekcji oraz skrócony odstęp międzypokoleniowy pozwala na prawie dwukrotne zwiększenie postępu hodowlanego [Instytut Zootechniki 2014].

Do głównych zalet zastosowania selekcji genomowej należą:

- możliwość trafniejszego wyboru matek buhajów oraz dawczyń zarodków, a co za tym idzie, wzrost znaczenia jałówek w selekcji,
- możliwość oceny przydatności hodowlanej bardzo młodych zwierząt,
- identyfikacja najlepszych buhajów, od których może być pobierane nasienie,
- stosunkowo niskie koszty genotypowania i krótki okres międzypokoleniowy,

- zwiększenie postępu hodowlanego,
- możliwość dokonywania selekcji bez zależności od wielkości populacji córek,
- możliwość wykorzystania tej metody do wykrycia nosicieli defektów genetycznych oraz oceny spokrewnienia [Jędraszczyk 2010].

2.5.2. Trendy konsumenckie

Mleko i jego przetwory odgrywają bardzo ważną rolę w żywieniu człowieka. Są podstawowym źródłem białka i wapnia [Cichosz i wsp. 2011]. Dostarczają również witamin oraz antyoksydantów. Na przestrzeni czasu spożycie mleka kształtowało się różnie. Pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku było na wysokim poziomie i tak np. przeciętny konsument spożywał około 270-280 litrów mleka w roku [Popyt na żywność 2000]. Wówczas mleko traktowano jako produkt pozwalający zapewnić minimalne ilości białka w zalecanych normach spożycia. Lata dziewięćdziesiąte przyniosły spadek popytu na mleko głównie z powodu spadku realnych dochodów społeczeństwa oraz wzrostu cen mleka i jego przetworów [Kowrygo 2000]. Według badań Grzybowskiej-Brzezińskiej [2015], w przeciętnym gospodarstwie domowym pod koniec lat dziewięćdziesiątych spożywało się miesięcznie około 8 l mleka spożywczego, 0,9 kg serów – głównie twarogowych, 0,3 l jogurtów oraz 0,2 l napojów mlecznych [Rynek mleka 2001]. W 2013 roku odnotowano spadek średniego miesięcznego spożycia mleka o 60% w porównaniu z rokiem 2000. Największe średnie miesięczne spożycie mleka w 2013 roku odnotowano wśród rolników (4,57 l/osobę). Analizując średnie miesięczne spożycie serów i twarogów na osobę, odnotowano niewielki wzrost na przestrzeni 13 lat (o 19%). Najwyższą średnią miesięczną konsumpcją cechowali się emeryci i renciści (0,99 kg/osobę), najniższą zaś zaobserwowano w grupie rolników – 0,66 kg/osobę. W przypadku serów topionych i dojrzewających, najwyższe spożycie odnotowano w robotniczych gospodarstwach domowych (0,4 kg/osobę/miesiąc). W badaniach tych zaobserwowano również, iż wysokie spożycie serów i twarogów charakterystyczne jest dla środowiska osób z wykształceniem wyższym oraz dla mieszkańców miast. Spowodowane jest to relatywnie wyższymi dochodami tej grupy społecznej a wysoką ceną tych produktów.

W 2013 roku (wg GUS) zaobserwowano duży wzrost spożycia jogurtów (o 80% w porównaniu z rokiem 2000). Podobnie jak w przypadku serów i twarogów, najwyższym (0,59 kg/osobę) średnim miesięcznym spożyciem jogurtów charakteryzują się osoby z wyższym wykształceniem pracujące na własny rachunek. Najniższe miesięczne spożycie odnotowano w grupie rolników. Tendencja ograniczenia spożycia tłuszczu spowodowała ograniczenie spożycia masła w wielu sektorach. Największy spadek odnotowano w rodzinach robotniczych – o 26% i w 2013 roku średnie miesięczne spożycie wynosiło 0,17 kg/osobę [Grzybowska-Brzezińska 2015].

Zmiany preferencji żywienia konsumentów powoduje wiele czynników. Między innymi są to: starzenie się społeczeństwa, wysokość dochodów w gospodarstwie domowym, zmiana modelu jego funkcjonowania, wzrost świadomości żywieniowej konsumentów, zainteresowanie dietą o walorach prozdrowotnych itp. Aktualnie rośnie świadomość potrzeby dostarczania organizmowi odpowiednich składników w zależności od indywidualnych upodobań konsumentów. Zmiana tychże upodobań wymusiła konieczność innowacyjności w produkcji mleka i jego przetworów [Piekut 2011]. Obecnie w wyborze produktów mleczarskich konsumenci kierują się przede wszystkim ich jakością, smakiem, świeżością i nade wszystko składem. Te czynniki warunkują wybór produktów mlecznych na poziomie 50-60% [Krajewski 2012]. Jest to więc procentowo znaczący udział. Dlatego też poznanie preferencji konsumenckich jest jedną z najcenniejszych informacji dla producentów. Daje to możliwość produkcji mleka o najbardziej pożądaney zawartości białka i tłuszczu [Grzybowska-Brzezińska 2015], oraz pozwala zapewnić konsumentom wysoki poziom satysfakcji w zakresie jakości produktu.

3. Materiał i metody

3.1. Materiał zwierzęcy

Badaniami objęto 299 krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej objętej oceną przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka. Zwierzęta utrzymywane były w dwóch stadach w województwie kujawsko-pomorskim. Pierwsze stado liczące 149 sztuk utrzymywane było w systemie wolnostanowiskowym z dostępem do wybiegu (stado 1), natomiast drugie – 150 sztuk w systemie alkierzowym (stado 2). Dane dotyczące wydajności oraz składu mleka uzyskano z dokumentacji hodowlanej prowadzonej przez gospodarstwa utrzymujące stada.

Zgromadzone dane zestandaryzowano dla 305-dniowej laktacji.

Analizowane cechy:

- wydajność mleczna
- procentowa zawartość białka w mleku
- procentowa zawartość tłuszczu w mleku
- procentowa zawartość suchej masy w mleku
- wpływ systemu utrzymania
- wpływ kolejnej laktacji
- wpływ genotypu

3.2. Badania molekularne i analizowane geny

3.2.1. Izolacja genomowego DNA

Materiał biologiczny stanowiła krew pobrana z żyły jarzmowej do próbek z antykoagulantem K₂EDTA. Pierwszym etapem pracy laboratoryjnej było wyizolowanie genomowego DNA przy użyciu zestawu odczynników MasterPure™ Genomic DNA Purification Kit for Blood Version II (Epicentre Biotechnologies) z modyfikacjami.

Do próbki z 80 µl krwi dodano 600 µl Red Cell Lysis Solution i wymieszano. Próby inkubowano przez 5 minut w temperaturze pokojowej, a następnie ponownie wymieszano i wirowano przez okres 2 minut w 12000 rpm. Kolejnym etapem było usunięcie supernatantu i dodanie 300 µl Tissue and Cell Lysis Solution i przepipetowanie powstałej zawiesiny. Następnie dodano do każdej próbki po 1 µl RNAzy i inkubowano przez 30 minut w temperaturze 37°C, po czym umieszczono w lodzie w celu schłodzenia prób. Dodano 175 µl MPC Protein Precipitation Reagent i wortexowano przez minimum minutę, a następnie wirowano przez 10 minut w 10000 rpm. Powstały supernatant przelano do nowych próbek i dodano 300 µl izopropanolu i inkubowano w temperaturze pokojowej przez około godzinę do czasu wytrącenia pożądanej ilości DNA, a następnie przemywano dwukrotnie 70% etanolem, po czym go usunięto. Po wyschnięciu próby zalano 50 µl buforu TE.

3.2.2. Analiza ilościowa i jakościowa DNA

Analizy jakościowej DNA dokonano w 2% żelu agarozowym z dodatkiem barwnika Midori Green DNA Stain. Rozdział elektroforetyczny przeprowadzono w jednokrotnym buforze TBE przez 45 minut. Żele wizualizowano w świetle UV. Ocenę ilościową przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru NanoDrop. Po pomiarze próby rozcieńczano do 50 ng/ µl.

3.3. Reakcja Łańcuchowa Polimerazy

Amplifikacja DNA została wykonana w oparciu o metodę PCR przy użyciu odpowiednich starterów dla danego genu. Pierwszym krokiem było stworzenie mieszaniny, w której skład wchodziła woda, bufor, dwa startery, dNTP, polimeraza oraz DNA. Profil termiczny reakcji również był uzależniony od badanego genu. Następnie, produkty PCR zostały rozdzielone na 2% żelu agarozowym z dodatkiem barwnika Midori Green DNA Stain (Nippon) w buforze 1 x TBE pod napięciem 120V przez pół godziny. Po rozdzieleniu żele zostały wizualizowane w świetle UV oraz zarchiwizowane.

Praca powstała z wykorzystaniem aparatury zakupionej w ramach projektu „Realizacja II etapu Regionalnego Centrum Innowacyjności” współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju

Regionalnego w ramach Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2007-2013.

3.3.1. Kappa-kazeina

Do reakcji łańcuchowej polimerazy użyto starterów, według metodyki Riaz i wsp. [2008]:

Forward 5'-TGTGCTGAGTAGGTATCCTAGTTATGG-3',

Reverse 5'-CGTTGTCTTCTTTGATGTCTCCT-3'.

Tab. 4. Skład mieszaniny reakcyjnej PCR

Składnik	Ilość [μl]
Woda	13
Bufor TE	3
Starter F	1
Starter R	1
dNTP	0,5
Polimeraza	0,5
DNA	1

Tab. 5. Profil termiczny reakcji PCR dla genu kappa-kazeiny

Etap	Temperatura [°C]	Czas [min]	Powtórzenie
Wstępna denaturacja	94	5	
Denaturacja	94	1	30x
Annealing	64	1	30x
Elongacja	72	2	30x
Końcowa elongacja	72	5	

3.3.2. Betalaktoglobulina

Do reakcji łańcuchowej polimerazy użyto starterów, według metodyki Badoli i wsp. [2003]:

Forward 5'-CGAGAACAAAGTCCTTGTGCT-3',

Reverse 5'-CCGGTAACAAAGGCTGTTAGA-3'.

Skład mieszaniny reakcyjnej był taki sam jak w tabeli 4.

Tab. 6. Profil termiczny reakcji PCR dla genu betalaktoglobuliny

Etap	Temperatura [°C]	Czas [min]	Powtórzenie
Wstępna denaturacja	94	5	
Denaturacja	94	0:45	34x
Annealing	62	0:40	34x
Elongacja	72	0:45	34x
Końcowa elongacja	72	5	

3.3.3. Hormon wzrostu

Do reakcji łańcuchowej polimerazy użyto starterów, według metodyki Moravčíková i Trakowická [2012]:

Forward 5'-CGGACCGTGTCTATGAGAAGCTGAAG-3',

Reverse 5'-GTTCTTGAGCAGCGCGTCGTCA-3'

Skład mieszaniny reakcyjnej był taki sam jak w tabeli 4.

Tab. 7. Profil termiczny reakcji PCR dla genu hormonu wzrostu

Etap	Temperatura [°C]	Czas [min]	Powtórzenie
Wstępna denaturacja	94	5	
Denaturacja	94	0:30	32x
Annealing	63	0:35	32x
Elongacja	72	1	32x
Końcowa elongacja	72	5	

3.3.4. Prolaktyna

Do reakcji łańcuchowej polimerazy użyto starterów, według metodyki Li i wsp. [2006]:

Forward 5'-AGGTTAGGAGGATAG-3',

Reverse 5'-TTAGTCAAGTTAGATACCG-3'.

Skład mieszaniny reakcyjnej był taki sam jak w tabeli 4.

Tab. 8. Profil termiczny reakcji PCR dla genu prolaktyny

Etap	Temperatura [°C]	Czas [min]	Powtórzenie
Wstępna denaturacja	95	5	
Denaturacja	95	1	30x
Annealing	50,8	1	30x
Elongacja	72	1	30x
Końcowa elongacja	72	7	

3.4. Reakcja PCR-RFLP

Reakcja PCR-RFLP została wykonana w celu otrzymania fragmentów DNA o określonych długościach charakterystycznych dla danego genu oraz określenia genotypów poszczególnych osobników w obrębie danego genu.

Każdy produkt PCR poddano trawieniu w temperaturze 37°C przy użyciu odpowiednich enzymów restrykcyjnych dla poszczególnych genów. Produkty trawienia zostały rozdzielone względem odpowiedniego markera na 2% żelu agarozowym z dodatkiem barwnika Midori Green DNA Stain w buforze 1 x TBE pod napięciem 110 V przez okres 1,5 godziny. Zwizualizowane produkty zostały zapisane w postaci zdjęć.

Tab. 9. Enzymy restrykcyjne użyte do trawienia badanych genów oraz markery długości wykorzystane przy wizualizacji otrzymanych produktów

Gen	Enzym restrykcyjny	Marker długości
Kappa - kazeina	<i>HinfI</i>	50bp DNA Ladder
Betalaktoglobulina	<i>HaeIII</i>	50bp DNA Ladder
Hormon wzrostu	<i>AluI</i>	pUC19/ <i>MspI</i>
Prolaktyna	<i>XbaI</i>	pBR322/Marker, 5

Na podstawie zamplifikowanych fragmentów, określono zakres ich długości. Przeanalizowano wzory prążkowe i na ich podstawie określono genotypy dla każdego osobnika z podziałem według badanych genów.

3.5. Obliczenia statystyczne

Obliczenia statystyczne wykonano w programie Statistica. Do oceny zgodności rozkładów z rozkładem normalnym zastosowano test Kołmogorowa-Smirnowa, wykazano w ten sposób, że rozkłady są zgodne z normalnym. Do oceny jednorodności wariancji zastosowano test Levene'a. Ponieważ spełniono warunki stosowalności, do weryfikacji hipotez zastosowano analizę wariancji. Analizę wykonywano stosując jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA) oraz wieloczynnikową analizę wariancji (MANOVA) w układzie dwuczynnikowym. Dla pomiarów powtarzanych (dla par wiązanych) stosowano analizę wariancji w schemacie z powtarzającymi pomiarami. Gdy w analizie wariancji różnice między grupami były istotne, testowano różnice między kolejnymi grupami (każda z każdą) za pomocą testu post hoc HSD. Wyniki obrazowano graficznie za pomocą wykresów słupków błędów, na których zaznaczano średnią oraz 95% przedział ufności.

Do analizy wybranych cech produkcyjnych przy uwzględnieniu zmiennych niezależnych, jakimi był system utrzymania, kolejność laktacji oraz genotyp, wykorzystano poniższy model:

$$Y = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + f_m + g_n + e_{ijklmno}$$

μ – średnia ogólna

a_i – efekt i-tego systemu utrzymania (1,2)

b_j – efekt j-tej kolejnej laktacji (I,II,III)

c_k – efekt k-tego genotypu *BLG* (1-AA, 2-AB- 3-BB)

d_l – efekt l-tego genotypu *CASK* (1-AA, 2-AB- 3-BB)

f_m – efekt m-tego genotypu *GH* (1-LL, 2-LV- 3-VV)

g_n – efekt n-tego genotypu *PRL* (1-AA, 2-AB- 3-BB)

e_{ijklmn} – błąd losowy

Przy opisywaniu tabel i wykresów użyto oznaczeń:

I – pierwsza laktacja

II – druga laktacja

III – trzecia laktacja

SM – sucha masa

4. Wyniki i dyskusja

4.1. Charakterystyka cech użytkowych badanych stad krów

Najwyższą wydajnością charakteryzowały się krowy utrzymywane alkierzowo będące w trzeciej laktacji (9589 kg), natomiast najniższą wydajność odnotowano u pierwiastek również utrzymywanych alkierzowo (8019,6 kg) (Tab. 10). Analizując średnią z obu stad, obserwuje się wzrost wydajności mlecznej od pierwszej do trzeciej laktacji. Wyniki te są potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Litwińczuka i Szulca [2005] i Piłarską [2014].

Analizując zawartość białka, tłuszczu oraz suchej masy w mleku obserwuje się różnice między osobnikami utrzymywanymi w różnych systemach. Stado wolnowybiegowe cechowało się najwyższą zawartością białka w mleku krów będących w trzeciej laktacji (3,24%), co jest potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Boguckiego i Sawę [2002] oraz Brzozowskiego i Zdziarskiego [2006]. Inną zależność zaobserwowano u zwierząt utrzymywanych alkierzowo, gdzie najwyższy wynik odnotowano dla

drugiej laktacji (3,39%), co z kolei jest potwierdzeniem badań Grodzkiego i wsp. [1998]. Biorąc pod uwagę procentową zawartość tłuszczu w mleku, krowy będące w drugiej laktacji cechowały się najniższą jego zawartością w stadzie alkierzowym, a najwyższą w stadzie utrzymywanym wolnowybiegowo. Zawartość suchej masy w obu systemach utrzymania była najniższa w trzeciej laktacji.

Tab. 10. Wyniki wydajności mlecznej, zawartości suchej masy w mleku dla badanych stad

System utrzymania	Wydajność mleczna [kg]			SM [%]		
	laktacja			laktacja		
	I	II	III	I	II	III
Wolnowybiegowy	8477,7	8754,4	9290,8	12,6	12,7	12,4
Alkierzowy	8019,6	9131,9	9589,0	12,8	12,6	12,5
Średnia	8248,7	8945,2	9439,9	12,7	12,65	12,45

Tab. 11. Wyniki zawartości białka oraz tłuszczu w mleku dla badanych stad

System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]		
	laktacja			laktacja		
	I	II	III	I	II	III
Wolnowybiegowy	3,16	3,22	3,24	3,69	3,73	3,85
Alkierzowy	3,32	3,39	3,29	4,00	3,81	3,94
Średnia	3,24	3,31	3,27	3,85	3,77	3,77

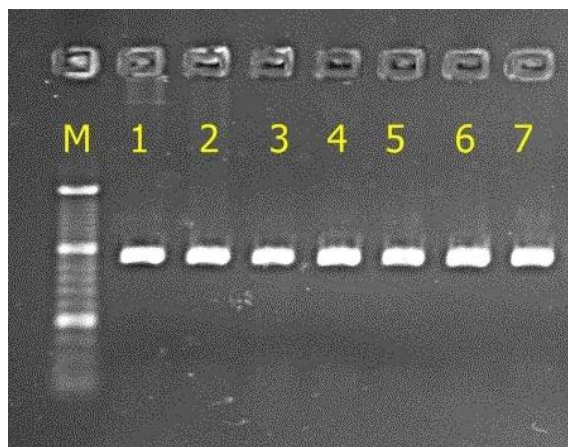
Analizując różnice między systemami utrzymania dla pierwszej laktacji, obserwuje się wyższą wydajność u krów utrzymywanych wolnowybiegowo, lecz o niższej zawartości białka, tłuszczu oraz suchej masy w mleku niż w mleku krów z dostępem do wybiegu. W drugiej i trzeciej laktacji, wyższą wydajnością charakteryzują się krowy utrzymywane alkierzowo, dodatkowo mleko to zawiera więcej białka i tłuszczu w porównaniu z mlekiem krów utrzymywanych wolnowybiegowo (Tab. 10 i 11).

W badaniach przeprowadzonych przez Gnypa i wsp. [2006a] zaobserwowano iż krowy utrzymywane wolnostanowiskowo uzyskały wyższą wydajność mleka w porównaniu do krów utrzymywanych w systemie uwięziowym oraz charakteryzowały się wyższą procentową zawartością białka i tłuszczu w mleku. Odwrotne wyniki co do wydajności mleka otrzymano w badaniach Dorynka i wsp. [2002], gdzie wyższą wydajnością cechowały się zwierzęta utrzymywane alkierzowo, lecz w dalszym ciągu większą zawartość białka i tłuszczu odnotowano u krów wolnostanowiskowych. W toku badań wykazano istotną statystycznie zależność wydajności mlecznej od systemu utrzymania dla każdej z trzech laktacji.

4.2. Analiza polimorfizmu genetycznego

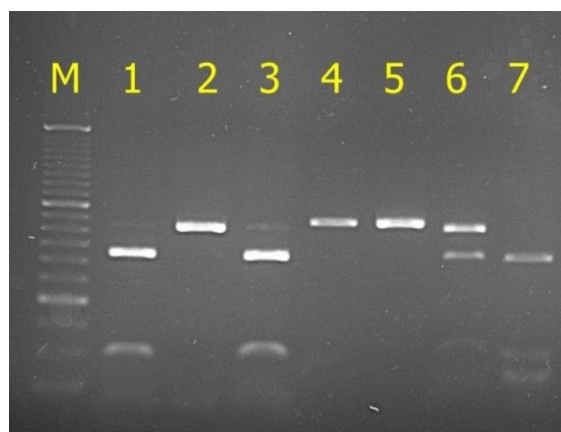
4.2.1. Polimorfizm genu kappa-kazeiny

W badaniach własnych otrzymano produkt PCR o długości 453 pz.



Fot. 1. Rozdział elektroforetyczny produktu PCR dla genu kappa-kazeiny. M – marker długości, prążki 1 – 7 - produkt PCR

Otrzymany produkt PCR (Fot. 1) trawiono enzymem restrykcyjnym *HinfI* i otrzymano trzy wzory prążkowe odpowiadające genotypom AA, BB i AB, o długościach: 326 pz, 100 pz, 27 pz dla genotypu AA; 426 pz, 27 pz dla genotypu BB (Fot. 2).



Fot. 2. Identyfikacja genotypów genu kappa-kazeiny. M – marker długości, 1, 3 i 7 – genotyp AA, 2, 4 i 5 – genotyp BB, 6 – genotyp AB

Tab. 12. Frekwencje genotypów i alleli genu kappa-kazeiny z uwzględnieniem obu systemów utrzymania

		System utrzymania	Frekwencja obserwowana [%]	Frekwencja oczekiwana [%]	Chi ²	P
Genotyp	AA	Wolnowybiegowy	18,79	29,19	17,522	0,000028
	BB		10,74	21,14		
	AB		70,47	49,68		
	AA	Alkierzowy	42,67	38,03	3,853	0,049747
	BB		19,33	14,69		
	AB		38,00	47,28		
Allel	A	Wolnowybiegowy	54,03			
	B		45,97			
	A	Alkierzowy	61,67			
	B		38,33			

Jak pokazuje tabela 12, w obu stadach najwyższą frekwencję odnotowano dla allelu A. W stadzie utrzymywanym alkierzowo najczęściej występował genotyp AA, natomiast w stadzie utrzymywanym wolnowybiegowo, najliczniejszą grupę stanowiły krowy o genotypie AB. W obu stadach najniższą frekwencję odnotowano dla genotypu BB. Dla stada utrzymywanego wolnowybiegowo obserwowana frekwencja charakteryzuje się podobną tendencją, jaką wyliczono dla frekwencji oczekiwanej. Oba badane stada nie są w równowadze genetycznej, mają rozkład niezgodny z prawem Hardy’ego - Weinberga. Podobne wyniki otrzymali Anggraeni i wsp. [2010]. Swoimi badaniami objęli dwa stada krów holsztyńsko-fryzyjskich. Jedno z nich było użytkowane intensywnie, natomiast drugie ekstensywnie. W obu z nich genotyp BB występował najrzadziej (5% i 4%). Najczęściej występującym był genotyp AB o częstości kolejno 85% i 63%. W badaniach przeprowadzonych na holsztyńsko-fryzyjskich krowach pierwiastkach odmiany czarno-białej, najliczniejszą grupę stanowiły krowy o genotypie AA (70,21%), najrzadziej zaś pojawił się genotyp BB (3,95%) [Cioch i wsp. 2013].

4.2.1.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu kappa-kazeiny na wydajność mleczną

Biorąc pod uwagę średnie wydajności mleka, najwyższe wartości odnotowano u krów utrzymywanych wolnowybiegowo, posiadających genotyp AA, najniższe wydajności zaobserwowano u krów o genotypie BB utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym. Analizując alkierzowy system utrzymania odnotowano najwyższą wydajność mleczną dla zwierząt o genotypie AB, natomiast najniższą dla genotypu BB (tab. 13 i 13a). Te

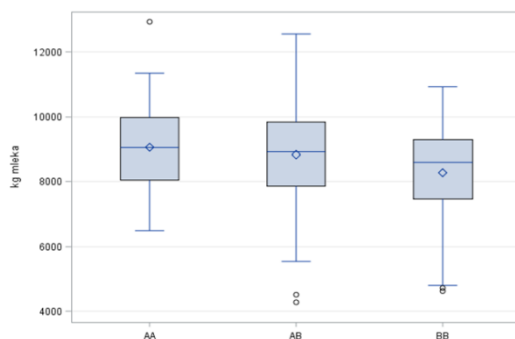
zależności przedstawiono na wykresach 1 i 2, na których widać, iż różnice między osobnikami o genotypie *AA* oraz *AB* są niewielkie. Zwierzęta o genotypie *BB* charakteryzowały się najniższą wydajnością w obu systemach utrzymania. W badaniach własnych, allel *A* warunkował wyższą wydajność mleczną w stosunku do allelu *B*. W badaniach przeprowadzonych przez Rachagani i Gupta [2008] najwyższą wydajność uzyskano od osobników o genotypie *BB*, natomiast najniższą wydajnością cechowały się zwierzęta heterozygotyczne. Podobne wyniki uzyskano w badaniach Lina i wsp. [1986]. Badania własne są natomiast potwierdzeniem badań Wolanciuk [2015] oraz Cioch i wsp. [2013]. Wśród krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej odmiany czarno-białej, najwyższą wydajnością mleczną charakteryzowały się osobniki o genotypie *AA*, najniższą zaś o genotypie *BB*. Podobne zależności zaobserwowano w badaniach przeprowadzonych przez Hecka i wsp. [2009].

Tab. 13. Charakterystyka wydajności mlecznej (kg) i zawartości suchej masy w mleku (%) z uwzględnieniem systemu utrzymania i genotypu kappa-kazeiny

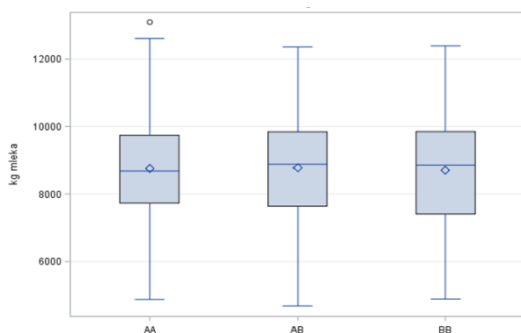
Genotyp	System utrzymania	Wydajność mleczna [kg]		SM [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
<i>AA</i>	Wolnowybiegowy	9071	121	12,24	0,25
	Alkierzowy	8893	113	12,53	0,14
<i>BB</i>	Wolnowybiegowy	8286	121	12,39	0,24
	Alkierzowy	8766	120	12,55	0,19
<i>AB</i>	Wolnowybiegowy	8885	123	12,44	0,11
	Alkierzowy	8950	119	12,63	0,15

Tab. 13a. Charakterystyka zawartości białka (%) i tłuszczu w mleku (%) z uwzględnieniem systemu utrzymania i genotypu kappa-kazeiny

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]		Tłuszcz [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
<i>AA</i>	Wolnowybiegowy	2,79	0,07	3,82	0,06
	Alkierzowy	3,29	0,04	3,80	0,03
<i>BB</i>	Wolnowybiegowy	3,19	0,07	3,69	0,06
	Alkierzowy	3,32	0,04	3,79	0,04
<i>AB</i>	Wolnowybiegowy	3,17	0,03	3,81	0,02
	Alkierzowy	3,31	0,04	3,87	0,03



Wykres 1. Wydajność mleczna dla krów o różnych genotypach kappa-kazeiny, utrzymywanych wolnowybiegowo



Wykres 2. Wydajność mleczna dla krów o różnych genotypach kappa-kazeiny, utrzymywanych alkierzowo

Analizując wpływ genu kappa-kazeiny na wydajność mleczną, nie zaobserwowano istotności. Jednakże, mimo braku istotnego wpływu genu na wydajność mleczną, zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy genotypami AA i BB dla stada utrzymywanego wolnowybiegowo, co zostało przedstawione w tabeli 14.

W badaniach Wolanciuk [2015] i Ahmadi i wsp. [2008] stwierdzono istotne statystycznie zależności pomiędzy polimorfizmem genu kappa-kazeiny a wydajnością mleka, zwierzęta o genotypie AA wykazywały istotnie większą ($p \leq 0,05$) produkcję mleka, lecz o niższej zawartości białka.

Tab. 14. Istotności różnic między genotypami genu kappa-kazeiny dla wydajności mlecznej. Test Tukey'a

Porównanie genotypów	Przedział ufności Jednoczesny 95%		Wolnowybiegowy	Alkierzowy
AA - AB	-263,5	700,5		
AA - BB	72,3	1478,6	***	
AB - AA	-700,5	263,5		
AB - BB	-40,7	1154,6		
BB - AA	-1478,6	-72,3	***	
BB - AB	-1154,6	40,7		

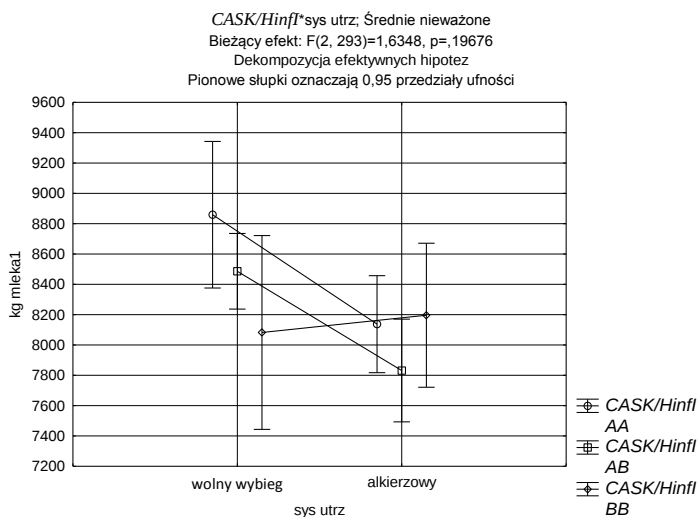
*** - oznaczają różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$).

Tab. 15. Średnie wydajności mleka [kg] dla pierwszych trzech laktacji z podziałem na genotypy genu kappa-kazeiny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	I laktacja	II laktacja	III laktacja
AA	Wolnowybiegowy	8877	9255	9080
	Alkierzowy	8137	8987	9554
BB	Wolnowybiegowy	8082	8628	8149
	Alkierzowy	8196	8749	9353
AB	Wolnowybiegowy	8486	9138	9031
	Alkierzowy	7832	9236	9781

Biorąc pod uwagę średnie wydajności mleka dla poszczególnych laktacji (Tabela 15), wyższą wydajnością mleczną w 305-dniowej laktacji charakteryzowały się pierwiastki o genotypie AA utrzymywane wolnowybiegowo (8877 kg) (Wykres 3). Natomiast, najniżej wydajne okazały się być pierwiastki z tego samego stada, posiadające genotyp BB, od których średnio otrzymano 8082 kg mleka. Nieco inaczej rozkładają się wydajności uzyskane od krów utrzymywanych alkierzowo. W badaniach własnych tej grupy zwierząt, największą ilość mleka uzyskano od krów mających genotyp BB (8196 kg), natomiast najniższą wydajnością cechowały się pierwiastki o genotypie AB (7832 kg). Różnice te jednak nie były istotne statystycznie. Dla krów o wszystkich wariantach genetycznych utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym, najniższą wydajność odnotowano u pierwiastek, najwyższą zaś u krów będących w drugiej laktacji. Analizując zwierzęta utrzymywane alkierzowo, pierwiastki również charakteryzowały się najniższą wydajnością mleczną. W kolejnych laktacjach wydajność ta rosła, uzyskując w trzeciej laktacji najwyższą wartość. Badania własne przeprowadzone na krowach utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym są potwierdzeniem badań

przeprowadzonych przez Cioch i wsp. [2013]. Pierwiastki o genotypie *AA* charakteryzowały się najwyższą wydajnością mleka (6572 kg), najniższą zaś zwierzęta o genotypie *BB* (6299,8 kg). Analizując wydajność mleczną zwierząt będących w drugiej laktacji badania własne są potwierdzeniem badań Strzałkowskiej i wsp. [2002], w których najwyższą wydajnością mleczną cechowały się krowy o genotypie *AA*, najniższą zaś – *BB*.



Wykres 3. Różnice w wydajności mlecznej krow w pierwszej laktacji z uwzględnieniem systemu utrzymania

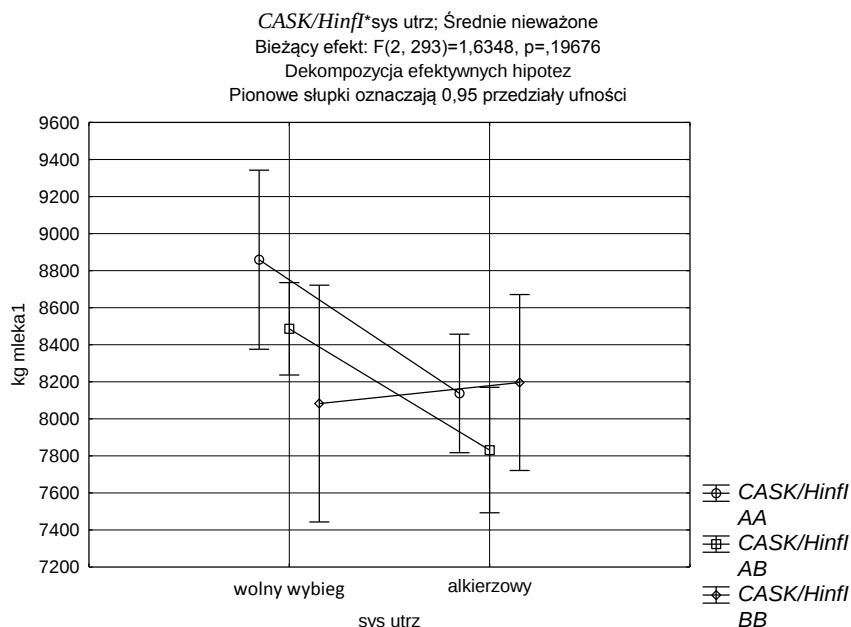
Tab. 16. Test Tukey’a. Przybliżone prawdopodobieństwa dla testów post hoc dla wydajności mlecznej dla genu kappa-kazeiny dla trzech laktacji z podziałem na dwa systemy utrzymania

			System utrzymania						
			Wolnowybiegowy			Alkierzowy			
			Laktacja						
			I	II	III	I	II	III	
System utrzymania	Wolnowybiegowy	Laktacja	I		0,71252	0,209628	0,344149	0,049763	0,000037
			II	0,71252		0,960333	0,017124	0,568374	0,003747
			III	0,209628	0,960333		0,001286	0,937604	0,040072
	Alkierzowy		I	0,344149	0,017124	0,001286		0,00002	0,00002
			II	0,049763	0,568374	0,937604	0,00002		0,075203
			III	0,000037	0,003747	0,040072	0,00002	0,075203	

Analizując powyższą tabelę wykazano różnice istotne statystycznie między grupą krów będących w drugiej laktacji utrzymywanej alkierzowo, utrzymywanej wolnowybiegowo ($p = 0,017$); wyższe wartości w grupie krów wolnowybiegowych. Wykazano również różnice istotne statystycznie między grupą osobników będących w trzeciej laktacji, utrzymywanych w systemie alkierzowym a zwierzętami wolnowybiegowymi ($p = 0,004$); wyższe wartości w drugiej grupie.

Uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie wydajności mlecznej pomiędzy laktacjami ($p < 0,0005$). 99,9% zmienności wydajności mlecznej jest wywołane kolejnością laktacji. Stwierdzono również istotną statystycznie różnicę ze względu na interakcję kolejności laktacji i systemu utrzymania ($p < 0,0005$). 99% zmienności wydajności mlecznej jest spowodowane interakcją laktacji i systemu utrzymania. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między genotypem a wydajnością mleka (Tab. 16).

Poddając analizie jedynie pierwszą laktację uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie wydajności mlecznej pomiędzy różnymi systemami utrzymania ($p = 0,021$). 64% zmienności wydajności mlecznej jest wywołane czynnikiem systemu utrzymania. Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy ze względu na interakcję genu kappa-kazeiny z systemem utrzymania. Istotnie wyższą wydajność mleka odnotowano w przypadku krów utrzymywanych wolnowybiegowo (Wykres 4).



Wykres 4. Różnice w wydajności mlecznej pomiędzy dwoma systemami utrzymania, analizowane dla pierwszej laktacji

4.2.1.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu kappa-kazeiny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy

Biorąc pod uwagę wyniki dla pierwszej laktacji, najwyższą zawartością białka w mleku cechowały się osobniki utrzymywane alkierzowo o genotypach *BB* oraz *AB*. Najniższe wartości odnotowano w mleku krów utrzymywanych wolnowybiegowo, mających genotyp *AA*. Analizując zawartość tłuszczu w mleku, najwyższy wynik zaobserwowano u krów ze stada alkierzowego, mających genotyp *AA*, najniższy zaś u zwierząt wolnowybiegowych o tym samym genotypie. Przyglądając się procentowej zawartości suchej masy w mleku można zaobserwować wyższą jej zawartość w mleku krów utrzymywanych alkierzowo, a najwyższą wartość przybiera ona u heterozygot. Najniższą wartość stwierdzono u osobników o genotypie *AA*, utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym (Tab. 17, 17a). Analizując udział białka w mleku w kolejnych laktacjach, obserwuje się jego wzrost w drugiej laktacji u krów o genotypach *BB* i *AB* utrzymywanych wolnowybiegowo, a także u osobników o genotypach *AA* i *AB* utrzymywanych alkierzowo. Najwyższy procentowy udział białka w mleku odnotowano w trzeciej laktacji zwierząt o genotypie *AB* utrzymywanych w systemie alkierzowym. Biorąc pod uwagę zawartość tłuszczu w mleku, obserwuje się tendencję spadkową w kolejnych laktacjach u krów o genotypach *AA* i *BB* utrzymywanych alkierzowo. U zwierząt o wszystkich wariantach genotypu utrzymywanych wolnowybiegowo odnotowano najniższy udział tłuszczu w drugiej laktacji. Procentowy udział suchej masy był najwyższy w mleku pierwiastek o wszystkich genotypach i spadał w kolejnych laktacjach. Jedynie u krów o genotypie *BB* ze stada utrzymywanego wolnowybiegowo i *AB* utrzymywanych alkierzowo, udział suchej masy w mleku uzyskanym w trzeciej laktacji był wyższy niż w drugiej (Tab. 17 i 17a).

Tab. 17. Procentowe zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu kappa-kazeiny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
<i>AA</i>	Wolnowybiegowy	3,10	3,10	3,17	3,75	3,71	3,99	12,30	12,23	12,19
	Alkierzowy	3,27	3,33	3,29	4,00	3,70	3,69	12,81	12,43	12,35
<i>BB</i>	Wolnowybiegowy	3,18	3,21	3,17	3,76	3,61	3,71	12,46	12,34	12,37
	Alkierzowy	3,31	3,35	3,31	3,84	3,79	3,75	12,77	12,45	12,44
<i>AB</i>	Wolnowybiegowy	3,16	3,18	3,18	3,86	3,71	3,85	12,48	12,44	12,40
	Alkierzowy	3,31	3,31	3,32	3,97	3,69	3,95	12,91	12,41	12,56

Tab. 17a. Odchylenia standardowe procentowej zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu kappa-kazeiny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
AA	Wolnowybiegowy	0,07	0,08	0,07	0,11	0,09	0,13	0,28	0,32	0,30
	Alkierzowy	0,03	0,04	0,03	0,07	0,06	0,09	0,15	0,18	0,16
BB	Wolnowybiegowy	0,07	0,08	0,07	0,14	0,11	0,12	0,26	0,31	0,28
	Alkierzowy	0,04	0,05	0,04	0,11	0,09	0,12	0,21	0,24	0,22
AB	Wolnowybiegowy	0,03	0,03	0,03	0,06	0,08	0,07	0,12	0,14	0,13
	Alkierzowy	0,03	0,04	0,03	0,08	0,08	0,09	0,17	0,20	0,18

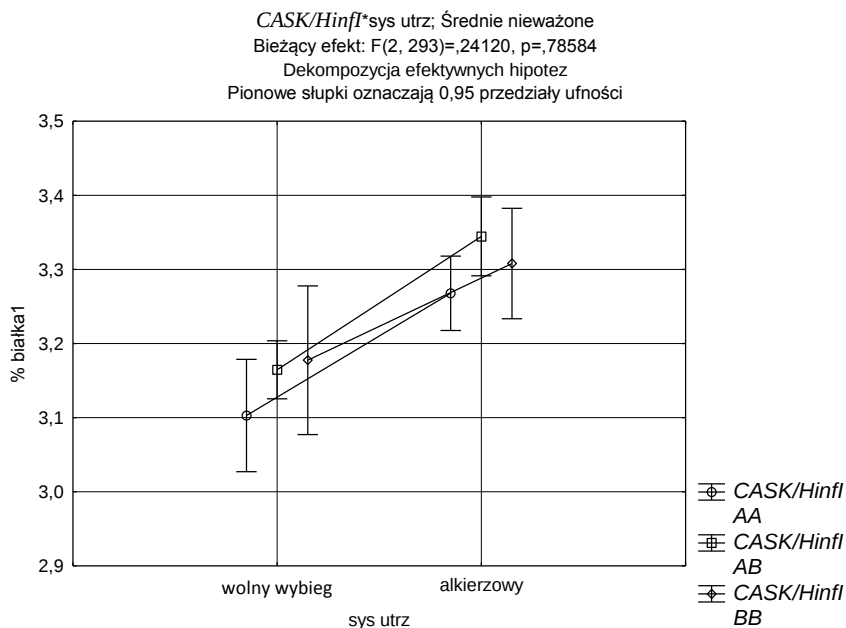
Wielu autorów potwierdza pozytywny wpływ allelu *B* na zawartość białka w mleku. Tym samym, mleko pozyskane od krów o genotypie *BB* lub *AB* czyni je bardziej atrakcyjne z punktu widzenia przemysłu serowarskiego [Barłowska i wsp. 2007; Botaro i wsp. 2009; Tsiaras i wsp. 2005].

W badaniach własnych, analizując zawartość białka i tłuszczu nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic między polimorfizmem genu kappa-kazeiny a składnikami mleka, co jest potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Botaro i wsp. [2009]. Jedyne różnice istotne statystycznie wynikały z różnego systemu utrzymania ($p < 0,005$) w przypadku procentowej zawartości tłuszczu. 99% zmienności była wywołana czynnikiem systemu utrzymania.

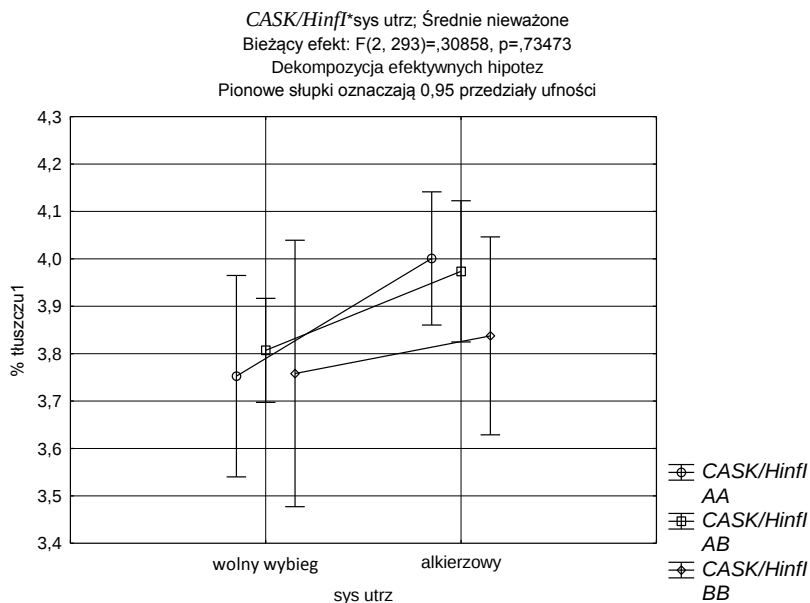
Mimo braku statystycznych istotności różnic, istnieją różnice w średnich zawartościach poszczególnych składników mleka, co potwierdzają badania innych autorów. Wśród nich można wskazać badania Cioch i wsp. [2013], gdzie w grupie badanych pierwiastek, najwyższą zawartością białka charakteryzowały się krowy o genotypie *BB*, najniższą zaś o genotypie *AA*. Analizując zawartość tłuszczu, najwyższy jego udział odnotowano u zwierząt o genotypie *BB*, natomiast najniższy u heterozygot. W badaniach Wolanciuk [2015], najwyższą zawartością białka oraz tłuszczu cechowały się zwierzęta o genotypie *BB*, natomiast najniższą o genotypie *AA*. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku procentowej zawartości suchej masy. Jednak także i w tych badaniach, różnice te okazały się być nieistotne statystycznie. Inni autorzy również nie wykazali istotnych różnic między zawartością składników mleka a formami polimorficznymi genu kappa-kazeiny [Barłowska i wsp. 2007; Botaro i wsp. 2009].

Analizując jedynie pierwszą laktację, uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie procentowej zawartości białka pomiędzy dwoma systemami utrzymania ($p < 0,0005$). 99,9% zmienności zawartości białka jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 5). Podobne zależności

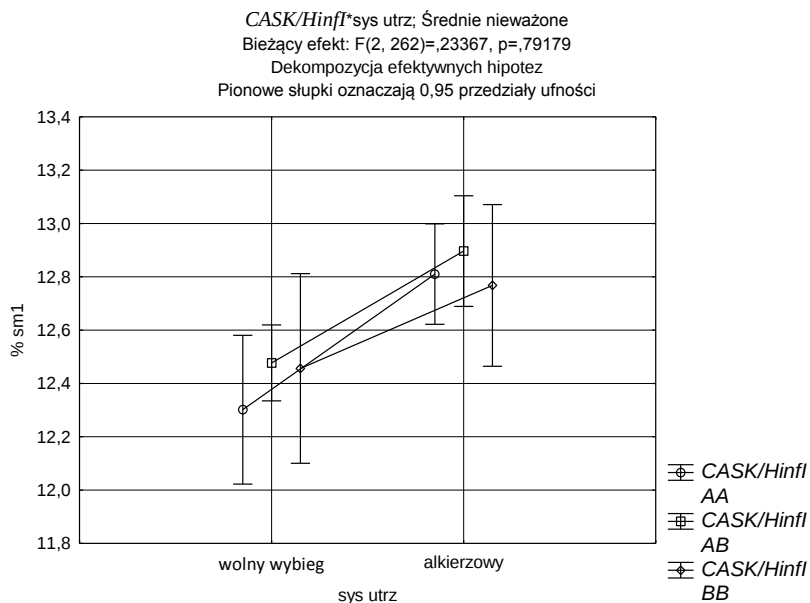
zaobserwowano w przypadku zawartości tłuszczu w mleku. 54% zmienności zawartości tłuszczu jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 6), a także w przypadku zawartości suchej masy, gdzie 97% zmienności zawartości suchej masy jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 7).



Wykres 5. Różnice w procentowej zawartości białka w mleku pomiędzy dwoma systemami utrzymania, analizowane dla pierwszej laktacji

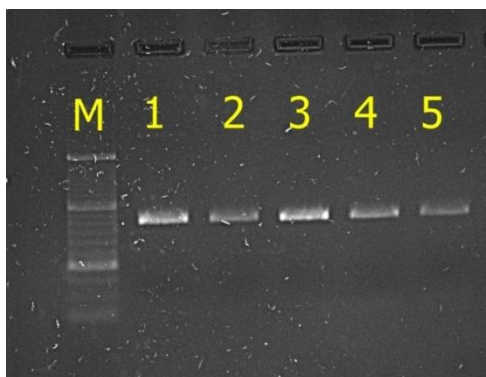


Wykres 6. Różnice w procentowej zawartości tłuszczu w mleku pomiędzy dwoma systemami utrzymania, analizowane dla pierwszej laktacji



Wykres 7. Różnice w procentowej zawartości suchej masy w mleku pomiędzy dwoma systemami utrzymania, analizowane dla pierwszej laktacji

4.2.2. Polimorfizm genu betalaktoglobuliny



Fot. 3. Rozdział elektroforetyczny produktu PCR dla genu betalaktoglobuliny. M – marker, prążki 1 – 5 produkt PCR

Otrzymano produkt PCR (Fot. 3) o długości 398 pz. Otrzymany produkt PCR trawiono enzymem restrykcyjnym *HaeIII* i otrzymano trzy wzory prążkowe odpowiadające genotypom AA, BB i AB, o długościach: 162 pz, 137 pz, 99 pz – dla genotypu AA; 113 pz, 99 pz, 89 pz, 73 pz dla genotypu BB (Fot. 4).



Fot. 4. Identyfikacja genotypów genu kappa-kazeiny. M – marker długości, 3 – produkt PCR, 1 – genotyp BB, 2 – genotyp AA

Tab. 18. Frekwencje genotypów i alleli genu betalaktoglobuliny z podziałem na dwa systemy utrzymania

System utrzymania			Frekwencja obserwowana[%]	Frekwencja oczekiwana [%]	Chi²	P
Genotyp	AA	Wolnowybiegowy	24,16	25,00	0,113	0,736871
	BB		24,16	25,00		
	AB		51,68	50,00		
	AA	Alkierzowy	22,66	17,64	4,251	0,039156
	BB		38,67	33,65		
	AB		38,67	48,72		
Allel	A	Wolnowybiegowy	50,00			
	B		50,00			
	A	Alkierzowy	41,99			
	B		58,01			

Analizując powyższą tabelę widać, iż allele A i B występowały z tą samą częstością w stadzie utrzymywanym wolnowybiegowo. Natomiast w stadzie utrzymywanym systemem alkierzowym, częściej występował allel B. W badaniach własnych odnotowano, iż najczęściej występującym genotypem w stadzie utrzymywanym w systemie wolnowybiegowym były heterozygoty AB. Pozostałe dwa genotypy występowały z tą samą częstością. W przypadku zwierząt utrzymywanych alkierzowo, najmniej liczną grupę stanowiły krowy o genotypie AA. Pozostałe dwa genotypy występowały z tą samą częstością. W przypadku stada utrzymywanego wolnowybiegowo, obserwowana frekwencja genotypów była zbliżona do oczekiwanej (Tab. 18). Stado utrzymywane wolnowybiegowo miało rozkład zgodny z prawem Hardy’ego – Weinberga - było w równowadze genetycznej, natomiast stado utrzymywane alkierzowo nie było w równowadze genetycznej i nie miało zgodnego rozkładu. W badaniach przeprowadzonych przez Czerniawską - Piątkowską i wsp. [2007] najczęściej występowały heterozygoty, najrzadziej zaś homozygoty AA. Tą zależność potwierdzają badania Wolanciuk [2015], w których heterozygoty stanowiły 44,4%, a homozygoty AA 25,4%. Przewaga heterozygot AB została również zaobserwowana przez Onera i Elmaci [2006] oraz Tsiasas i wsp. [2005]. Dodatkowo, Heidari i wsp. [2009] odnotowali w swoich badaniach, iż krowy o genotypie AB występowały najczęściej (54%).

4.2.2.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu betalaktoglobuliny na wydajność mleczną krów

Biorąc pod uwagę wydajność mleczną, najwyższe ilości odnotowano od krów utrzymywanych alkierzowo, posiadających genotyp *AB*. Dla stada wolnowybiegowego, najwyższe wartości osiągnęły zwierzęta homozygotyczne *AA*. W obu stadach, na ostatnim miejscu uplasowały się krowy o genotypie *BB*, cechujące się najniższą wydajnością mleczną (Tab. 19). Badania własne są potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Wolanciuk [2015], gdzie najwyższą wydajnością mleczną charakteryzowały się zwierzęta homozygotyczne *AA*, natomiast najniższą – *BB*. Biorąc pod uwagę jedynie pierwszą laktację, w badaniach własnych najwyższą wydajnością cechowały się zwierzęta o genotypie *AB* utrzymywane wolnowybiegowo oraz o genotypie *AA* utrzymywane w systemie alkierzowym. W stadzie alkierzowym, najniższymi wydajnościami mleka charakteryzowały się krowy mające genotyp *AB*, natomiast w wolnowybiegowym – *BB* (Tab. 19). Wyniki badań własnych są potwierdzeniem badań przeprowadzonych przez Czerniawską – Piątkowską i wsp. [2007]. W badaniach tych wykazano różnice istotne statystycznie w odniesieniu do polimorficznych wariantów genu betalaktoglobuliny. W pierwszej laktacji najwyższą wydajnością mleka cechowały się zwierzęta o genotypie *AA* (7804 kg), natomiast najniższą – *BB* (7531 kg). Pomiędzy tymi dwoma genotypami stwierdzono różnice na poziomie $p \leq 0,05$. Podobne wyniki otrzymali w swoich badaniach Oprządek i wsp. [2006].

Tab. 19. Średnie wyniki oraz odchylenie standardowe dla wydajności mlecznej i procentowej zawartości suchej masy w mleku z podziałem na system utrzymania i genotypy genu betalaktoglobuliny

Genotyp	System utrzymania	Wydajność mleczna [kg]		SM [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
<i>AA</i>	Wolnowybiegowy	8892	262	12,49	0,18
	Alkierzowy	8960	236	12,48	0,20
<i>BB</i>	Wolnowybiegowy	8559	288	12,37	0,19
	Alkierzowy	8827	191	12,51	0,14
<i>AB</i>	Wolnowybiegowy	8766	182	12,48	0,12
	Alkierzowy	8981	185	12,48	0,14

Tab. 19a. Średnie wyniki oraz odchylenie standardowe dla procentowej zawartości białka i tłuszczu w mleku z podziałem na system utrzymania i genotypy genu betalaktoglobuliny

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]		Tłuszcz [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
AA	Wolnowybiegowy	3,24	0,04	3,83	0,13
	Alkierzowy	3,27	0,04	3,79	0,12
BB	Wolnowybiegowy	3,20	0,05	3,77	0,14
	Alkierzowy	3,28	0,03	3,85	0,09
AB	Wolnowybiegowy	3,19	0,03	3,82	0,09
	Alkierzowy	3,26	0,03	3,80	0,09

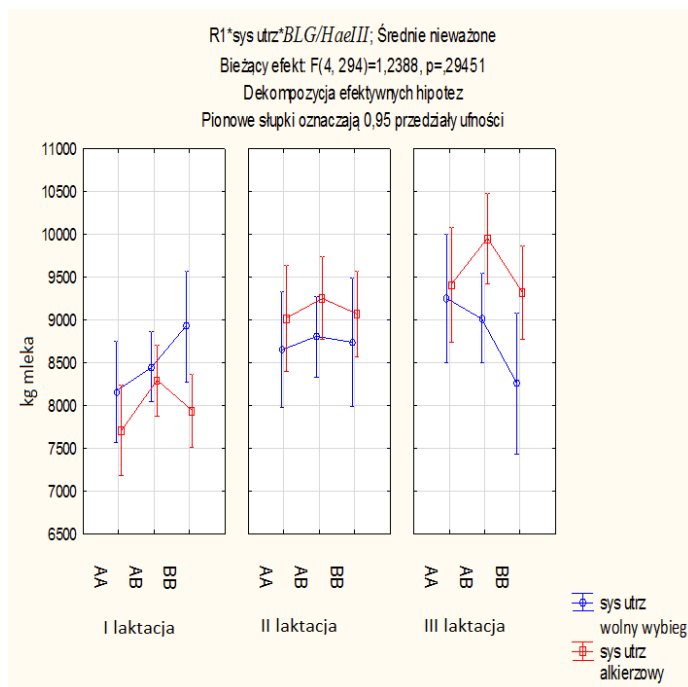
Analizując wydajność mleczną kolejno w trzech pierwszych laktacjach zaobserwowano najwyższą wartość u krów o genotypie AB utrzymywanych alkierzowo. Dla wszystkich osobników utrzymywanych w systemie alkierzowym odnotowano wzrost wydajności mlecznej w kolejnych laktacjach (Tabela 20 i 20a). Krowy utrzymywane wolnowybiegowo, mające genotypy BB i AB uzyskiwały najwyższą wydajność mleczną w drugiej laktacji. Te zależności zostały przedstawione graficznie na wykresie 8.

Tab. 20. Średnie wydajności mleka [kg] z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu betalaktoglobuliny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	I laktacja	II laktacja	III laktacja
AA	Wolnowybiegowy	8298	9126	9253
	Alkierzowy	8270	9077	9534
BB	Wolnowybiegowy	8282	9137	8259
	Alkierzowy	8211	9044	9226
AB	Wolnowybiegowy	8293	9112	8894
	Alkierzowy	8193	9003	9746

Tab. 20a. Odchylenia standardowe dla wydajności mleka [kg] z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu betalaktoglobuliny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	I laktacja	II laktacja	III laktacja
AA	Wolnowybiegowy	297	345	378
	Alkierzowy	267	311	340
BB	Wolnowybiegowy	327	380	416
	Alkierzowy	216	252	275
AB	Wolnowybiegowy	207	241	263
	Alkierzowy	210	244	267



Wykres 8. Wydajność mleczna z podziałem na trzy laktacje, system utrzymania oraz genotypy genu betalaktoglobuliny

W badaniach własnych uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie wydajności mlecznej pomiędzy laktacjami ($p < 0,0005$). 100% zmienności wydajności mleka jest wywołana czynnikiem kolejności laktacji. Stwierdzono również istotną statystycznie różnicę ze względu na interakcję kolejnej laktacji i systemu utrzymania ($p < 0,0005$). 99% zmienności wydajności mleka jest spowodowana interakcją kolejnej laktacji i systemu utrzymania. Występuje istotna statystycznie różnica ze względu na interakcję laktacji i genu betalaktoglobuliny. 70% zmienności jest wyjaśniana tą interakcją (Wykres 8).

Biorąc pod uwagę pierwszą laktację, uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie wydajności mleka pomiędzy dwoma systemami utrzymania ($p < 0,0005$). 92% zmienności wydajności mleka jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 8).

W obrębie alkiegowego systemu utrzymania stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy genotypami (Tab. 21). Największe różnice odnotowano pomiędzy genotypami AA i BB, podobnie jak w badaniach Czerniawskiej – Piątkowskiej [2007].

Tab. 21. Istotności różnic między genotypami genu betalaktoglobuliny dla wydajności mlecznej. Test Tukey’a

Porównanie	Przedział ufności Jednoczesny 95%		Wolnowybiegowy	Alkierzowy
<i>BB - AB</i>	0,08197	0,4409		***
<i>BB - AA</i>	0,09841	0,52171		***
<i>AB - BB</i>	-0,4409	-0,08197		***
<i>AB - AA</i>	-0,16223	0,25948		
<i>AA - BB</i>	-0,52171	-0,09841		***
<i>AA - AB</i>	-0,25948	0,16223		

*** - oznaczają różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$)

Wyniki badań dotyczące zależności między genotypem a wydajnością mleczną, przeprowadzonych przez wielu autorów nie są jednoznaczne. Ahmadi i wsp. [2008] nie stwierdził żadnego związku pomiędzy wydajnością mleczną a genotypem, natomiast Molina i wsp. [2006] odnotowali pozytywny związek genotypu *BB* z wydajnością mleczną, podczas gdy Miciński i Klupczyński [2006] odnotowali taką zależność w stosunku do genotypu *AA*.

4.2.2.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu betalaktoglobuliny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy

Biorąc pod uwagę średni procentowy udział białka, tłuszczu i suchej masy łącznie dla trzech pierwszych laktacji (Tabela 19 i 19a) zaobserwowano, że najwyższą zawartością białka w mleku cechowały się krowy utrzymywane alkierzowo, niezależnie od genotypu. Wśród nich, najwyższy udział białka odnotowano w mleku osobników o genotypie *BB*, najniższy zaś u *AB*. U zwierząt utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym, najniższy wynik również uzyskały krowy o genotypie *AB*, natomiast najwyższy – *AA*. Analizując udział tłuszczu, najwyższy jego udział zaobserwowano w mleku krów o genotypie *BB* utrzymywanych alkierzowo, natomiast najniższy – u *AA*. Odwrotnie wyglądała sytuacja wśród zwierząt utrzymywanych wolnowybiegowo – tu najwyższą zawartością tłuszczu w mleku charakteryzowały się krowy o genotypie *AA*, najniższą zaś – o genotypie *BB*. Biorąc pod uwagę zawartość suchej masy w mleku, najwyższą odnotowano dla krów o genotypie *BB*, utrzymywanych alkierzowo. Dla zwierząt utrzymywanych w systemie wolnowybiegowym, najwyższym udziałem suchej

masy cechowało się mleko krów o genotypie AA, najniższym zaś o genotypie BB. W badaniach przeprowadzonych przez Wolanciuk [2015], najwyższe średnie wartości suchej masy odnotowano w mleku krów o genotypie AA (13,21%), a najniższe dla genotypu BB (13,03%). Różnice te były zależne od genotypu przy $p \leq 0,05$.

Analizując wyniki udziału składników kolejno dla trzech pierwszych laktacji, zaobserwowano tendencję, w której najwyższym udziałem białka w mleku cechowały się pierwiastki o genotypie BB i wynosił on 3,19% dla stada wolnowybiegowego i 3,34% dla alkierzowego (Tab. 22 i 22a). Wyniki te zostały przedstawione graficznie na wykresie 9. Podobne wyniki otrzymali w swoich badaniach Ahmadi i wsp. [2008]. Krowy o genotypie AA, niezależnie od systemu utrzymania, charakteryzowały się wzrostem udziału białka w kolejnych laktacjach. Osobniki o genotypach BB i AB, utrzymywane alkierzowo wykazywały najniższą zawartość białka w mleku w drugiej laktacji.

Powszechnie uważa się, że zwierzęta o genotypie AA cechują się wyższą wydajnością mleczną w stosunku do pozostałych dwóch genotypów, natomiast jeżeli chodzi o zawartość składników mleka, takich jak tłuszcz, białko czy sucha masa, wyższe wartości odnotowuje się u osobników o genotypie BB w odniesieniu do genotypów AA oraz AB [Strzałkowska i wsp. 2000]. W badaniach przeprowadzonych przez Czerniawską – Piątkowską [2007] dla pierwszej laktacji najwyższą zawartość białka odnotowano u zwierząt o genotypie BB (3,24%). Stwierdzono tu różnice istotne statystycznie pomiędzy genotypami AA i BB ($p \leq 0,05$). Również w badaniach Oprządek i wsp. [2006] osobniki o genotypie BB charakteryzowały się najwyższą zawartością białka w mleku. Natomiast, Molina i wsp. [2006] oraz Heck i wsp. [2009] wiążą wyższą zawartość białka w mleku z obecnością allelu A w genotypie.

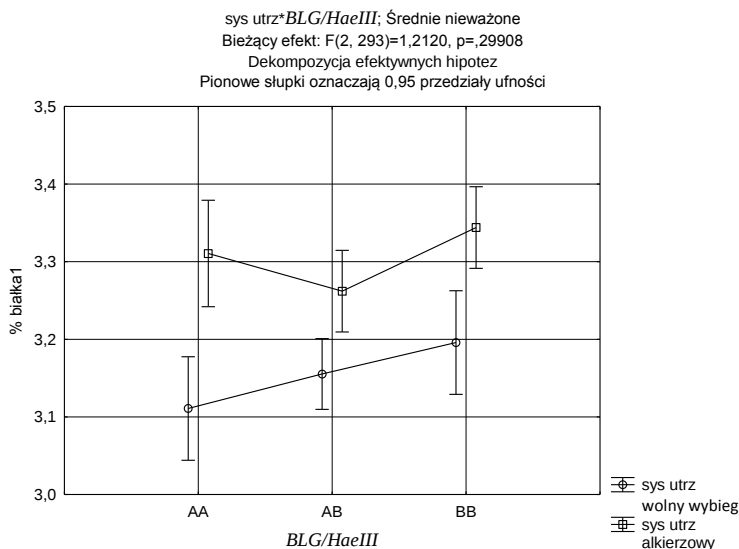
Tab. 22. Średnie procentowe zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu betalaktoglobuliny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
AA	Wolnowybiegowy	3,11	3,24	3,27	3,75	3,70	3,92	12,35	12,37	12,47
	Alkierzowy	3,21	3,24	3,28	3,83	3,67	3,83	12,69	12,38	12,41
BB	Wolnowybiegowy	3,19	3,24	3,14	3,89	3,69	3,73	12,42	12,39	12,11
	Alkierzowy	3,34	3,25	3,33	4,12	3,71	3,93	12,99	12,40	12,48
AB	Wolnowybiegowy	3,15	3,15	3,19	3,83	3,73	3,84	12,49	12,45	12,41
	Alkierzowy	3,26	3,25	3,29	3,87	3,69	3,84	12,74	12,38	12,44

Tab. 22a. Odchylenia standardowe dla procentowej zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu betalaktoglobuliny i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
AA	Wolnowybiegowy	0,05	0,05	0,05	0,14	0,17	0,17	0,20	0,24	0,21
	Alkierzowy	0,04	0,05	0,04	0,13	0,15	0,15	0,22	0,25	0,23
BB	Wolnowybiegowy	0,05	0,06	0,05	0,16	0,19	0,18	0,21	0,24	0,22
	Alkierzowy	0,03	0,04	0,03	0,10	0,12	0,12	0,16	0,18	0,16
AB	Wolnowybiegowy	0,03	0,04	0,03	0,10	0,12	0,12	0,14	0,16	0,14
	Alkierzowy	0,03	0,04	0,03	0,10	0,12	0,12	0,16	0,18	0,16

W badaniach własnych, uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie procentowej zawartości białka pomiędzy systemami utrzymania ($p < 0,0005$). 99% zmienności udziału białka jest wyjaśniana czynnikiem systemu utrzymania. Dodatkowo, stwierdzono również istotną statystycznie różnicę ze względu na kolejność laktacji. 77% zmienności w zawartości białka w mleku jest tłumaczona przez kolejną laktację (Wykres 9).



Wykres 9. Procentowa zawartość białka w mleku pierwiastek, z podziałem na system utrzymania dla genu betalaktoglobuliny

W obrębie krów utrzymywanych w systemie alkierzowym stwierdzono jednak różnice istotne statystycznie w zawartości białka w mleku pomiędzy genotypami *BB* i *AB* (Tab. 23).

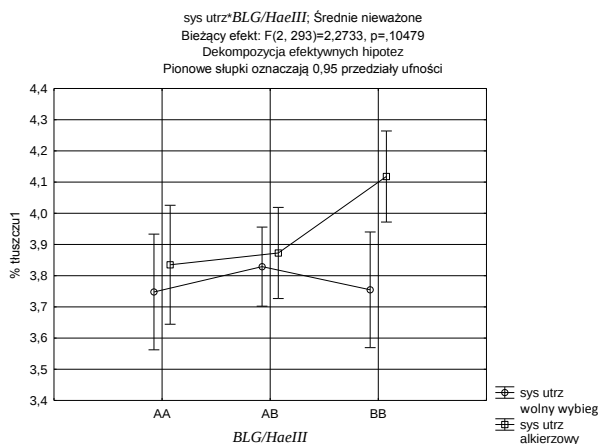
Tab. 23. Istotności różnic między genotypami genu betalaktoglobuliny dla zawartości białka w mleku. Test Tukey'a

Porównanie	Przedział ufności Jednoczesny 95%		Wolnowybiegowy	Alkierzowy
<i>BB</i> - <i>AA</i>	-0,00812	0,13359		
<i>BB</i> - <i>AB</i>	0,0169	0,13706		***
<i>AA</i> - <i>BB</i>	-0,13359	0,00812		
<i>AA</i> - <i>AB</i>	-0,05635	0,08483		
<i>AB</i> - <i>BB</i>	-0,13706	-0,0169		***
<i>AB</i> - <i>AA</i>	-0,08483	0,05635		

*** - oznaczają różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$)

Analizując zawartość tłuszczu w mleku pozyskanym od pierwiastek odnotowano, że najwyższą zawartością tłuszczu cechowały się krowy o genotypie *BB* (3,89% dla stada wolnowybiegowego i 4,12% dla alkierzowego), natomiast najniższe wartości przypisano genotypowi *AA* (Tab. 22 i 22a). Biorąc pod uwagę pierwsze trzy laktacje, zaobserwowano, iż najniższe wartości zawartości tłuszczu w mleku odnotowano dla osobników będących w drugiej laktacji, niezależnie od genotypu i systemu utrzymania. W tejże laktacji najwyższą zawartość tłuszczu odnotowano u krów o genotypie *AB*, utrzymywanych wolnowybiegowo, najniższą u osobników o genotypie *BB*. Wśród zwierząt utrzymywanych alkierzowo, najwyższe wartości zaobserwowano w mleku krów o genotypie *BB*, najniższe – *AA*. W trzeciej laktacji najwyższe wartości zaobserwowano u krów o genotypie *BB*, utrzymywanych alkierzowo, najniższe u osobników o tym samym genotypie, natomiast utrzymywanych wolnowybiegowo.

Uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie procentowej zawartości tłuszczu pomiędzy systemami utrzymania. 66,7% zmienności udziału tłuszczu w mleku jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 10). Analizując zależności w obrębie alkierzowego systemu utrzymania, zaobserwowano różnice istotne statystycznie pomiędzy genotypami *BB-AB* oraz *BB-AA* (Tab. 24).



Wykres 10. Procentowa zawartość tłuszczu w mleku pierwiastek, z podziałem na system utrzymania dla genu betalaktoglobuliny

Analizując zawartość tłuszczu w mleku krów pierwiastek, tu ocenia się pozytywny wpływ genotypu AA [Oprządek i wsp. 2006; Czerniawska – Piątkowska i wsp. 2007], natomiast ci sami autorzy wskazują na pozytywny wpływ genotypu BB w drugiej laktacji na zawartość tłuszczu w mleku. W badaniach przeprowadzonych przez Wolanciuk [2015], najwyższą procentową zawartością tłuszczu w mleku odznaczały się krowy o genotypie AA, najniższe zaś z genotypem BB.

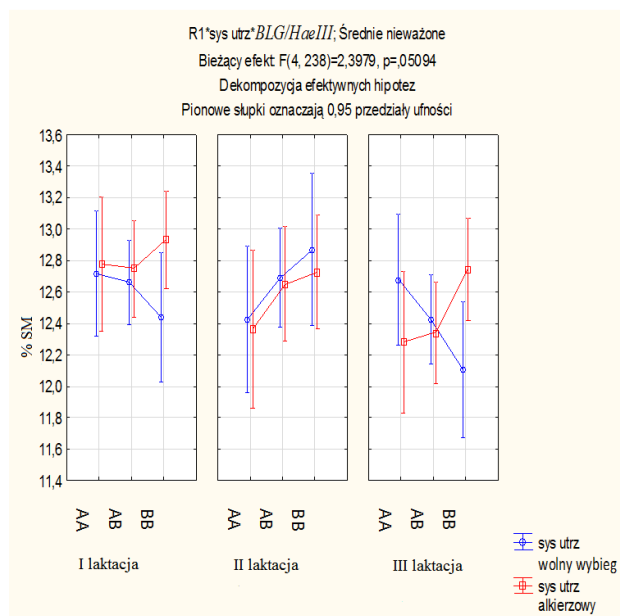
Tab. 24. Istotności różnic między genotypami genu betalaktoglobuliny dla zawartości tłuszczu w mleku. Test Tukey’a

Porównanie	Przedział ufności Jednoczesny 95%		Wolnowybiegowy	Alkerzowy
BB - AB	0,08197	0,4409		***
BB - AA	0,09841	0,52171		***
AB - BB	-0,4409	-0,08197		***
AB - AA	-0,16223	0,25948		
AA - BB	-0,52171	-0,09841		***
AA - AB	-0,25948	0,16223		

*** - oznaczają różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$)

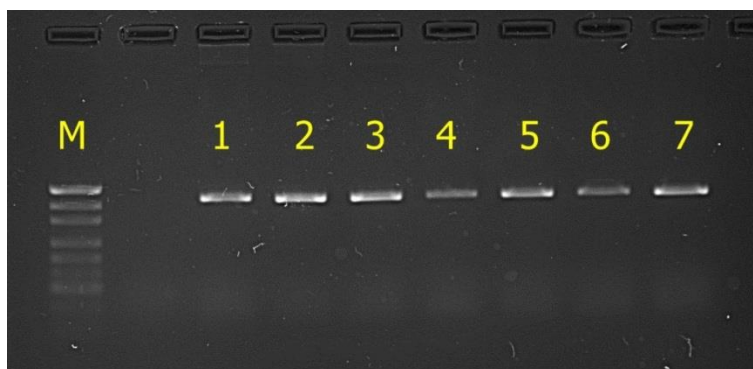
Badając procentowy udział suchej masy w mleku odnotowano największy jej udział w mleku krów o genotypie *BB* dla stada alkierzowego oraz *AB* dla osobników utrzymywanych wolnowybiegowo. W obu stadach, najniższe wartości stwierdzono u zwierząt o genotypie *AA* (Tab. 22 i 22a). Dla wszystkich zwierząt utrzymywanych alkierzowo zaobserwowano, że w drugiej laktacji udział suchej masy w mleku był najniższy. Analizując stado wolnowybiegowe, u krów o genotypach *BB* i *AB* stwierdzono spadek zawartości suchej masy w kolejnych laktacjach, natomiast osobniki o egnotypie *AA* cechowały się wzrostem tego czynnika.

Uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie procentowej zawartości suchej masy pomiędzy kolejnymi laktacjami. 94% zmienności udziału suchej masy jest spowodowana kolejną laktacją. Analizując jedynie pierwszą laktację, zaobserwowano, że uzyskane wyniki wskazują na istotne statystycznie zróżnicowanie procentowej zawartości suchej masy pomiędzy dwoma systemami utrzymania ($p < 0,0005$). 98,7% zmienności udziału suchej masy w mleku pierwiastek jest spowodowana czynnikiem systemu utrzymania (Wykres 11).



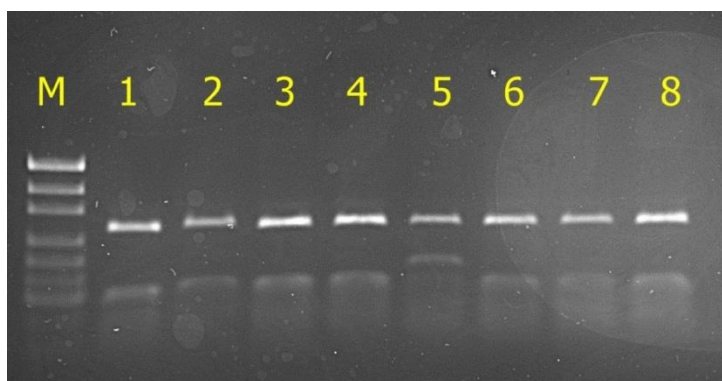
Wykres 11. Procentowa zawartość suchej masy w mleku, z podziałem na system utrzymania dla genu betalaktoglobuliny

4.2.3. Polimorfizm genu hormonu wzrostu



Fot. 5. Rozdział elektroforetyczny produktu PCR dla genu hormonu wzrostu. M – marker długości fragmentów, prążki 1 – 7 produkt PCR

Otrzymany produkt PCR (Fot. 5) o długości 428 pz trawiono enzymem restrykcyjnym *AluI* i otrzymano trzy wzory prążkowe odpowiadające genotypom *LL*, *VV* i *LV*, o długościach: 265 pz, 96 pz, 51 pz, 16 pz dla genotypu *LL*; 265 pz, 147 pz, 16 pz dla genotypu *VV* (Fot. 6).



Fot. 6. Identyfikacja genotypów genu hormonu wzrostu. M – marker długości, 5 – genotyp *LV*, 1 – 4, 6 – 8 – genotyp *LL*

Tab. 25. Frekwencje genotypów i alleli genu hormonu wzrostu z podziałem na dwa systemy utrzymania

System utrzymania			Frekwencja obserwowana [%]	Frekwencja oczekiwana [%]	Chi ²	P
Genotyp	LL	Wolnowybiegowy	83,89	83,92	0,002	0,964798
	VV		0,67	0,70		
	LV		15,44	15,37		
	LL	Alkierzowy	82,67	79,81	9,000	0,002660
	VV		4	1,14		
	LV		13,33	19,06		
Allel	L	Wolnowybiegowy	91,61			
	V		8,39			
	L	Alkierzowy	89,33			
	V		10,67			

Analizując frekwencję alleli, najczęściej występującym w obu stadach był allel *L*. W obu stadach najczęściej występował genotyp *LL* odpowiednio 83,89% w stadzie utrzymywanym wolnowybiegowo i 82,67% w alkierzowym. Genotyp *VV* odnotowano najrzadziej i dla wolnowybiegowego stada występował z częstością 0,67%, w alkierzowym natomiast – 4% (Tab. 25). Stado utrzymywane wolnowybiegowo było w równowadze genetycznej, zgodnie z prawem Hardy’ego – Weinberga, natomiast stado utrzymywane alkierzowo nie było w równowadze genetycznej, nie miało zgodnego rozkładu. Wyniki własnych badań potwierdzają te, przeprowadzone przez Dybusa [2002] i Misriantia i wsp. [2012].

W badaniach przeprowadzonych przez Misriantia i wsp. [2012] najliczniejszą grupę stanowiły krowy o genotypie *LL* (89%), obecność genotypu *LV* odnotowano u 11% populacji, natomiast nie odnotowano osobników o genotypie *VV*. W badaniach Dybusa [2002] również stwierdzono największą liczbę osobników w analizowanej populacji o genotypie *LL* (65,3%), natomiast najmniej liczną grupę stanowiły krowy o genotypie *VV* (2,3%). Podobnie Kovács i wsp. [2006] stwierdzili, że w badanej populacji genotyp *LL* stanowił 87,1% badanych osobników, natomiast genotyp *VV* odnotowano w 12,4% badanego stada. Moravčíková i Trakowická [2012] natomiast zaobserwowali, iż

najliczniejszą grupę stanowiły zwierzęta o genotypie *LV* (47,3%), następnie homozygoty *LL* (40,4%) i najrzadziej występował genotyp *VV* (12,3%).

4.2.3.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu hormonu wzrostu na wydajność mleczną krów

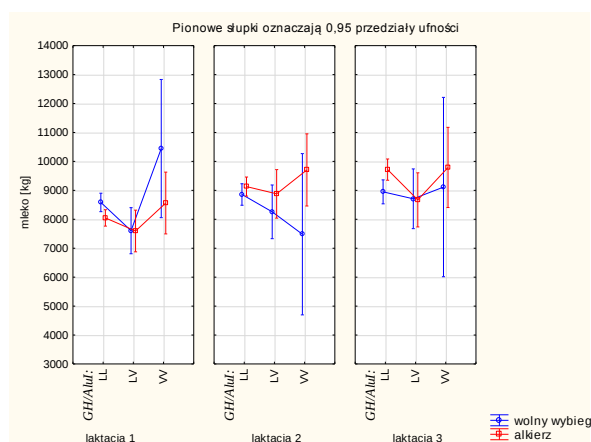
W badanej populacji utrzymywanej w systemie wolnowybiegowym najwyższą wydajnością cechowały się osobniki homozygotyczne *VV*, najniższą zaś – *LL* (Tab. 26 i 26a). Różnice między nimi były jednak niewielkie. W stadzie alkierzowym największe ilości mleka uzyskano od krów o genotypie *LL*, natomiast od zwierząt heterozygotycznych *LV* najmniejsze. Pierwiastki o genotypie *LL* produkowały najwięcej mleka, najmniej zaś uzyskano od heterozygot *LV*. W drugiej i trzeciej laktacji najwyższe wartości wydajności mleka odnotowano u osobników o genotypie *VV*, natomiast najniższe od krów o genotypie *LV*. Jednak w tych dwóch laktacjach różnice okazały się nieistotne statystycznie. Ilość mleka pozyskanego od pierwiastek analizowanych w niniejszej pracy była największa w przypadku osobników o genotypie *VV*, utrzymywanych wolnowybiegowo. Dla większości osobników w obu systemach utrzymania zaobserwowano wzrost wydajności mlecznej w kolejnych laktacjach (Tab. 27). W badaniach stwierdzono istotną statystycznie różnicę ze względu na interakcję laktacji i systemu utrzymania. 77% zmienności wydajności mlecznej jest spowodowana interakcją laktacji z systemem utrzymania (Wykres 12).

Tab. 26. Średnie wyniki i odchylenia standardowe dla wydajności mlecznej oraz procentowej zawartości suchej masy w mleku z podziałem na system utrzymania i genotypy genu hormonu wzrostu

Genotyp	System utrzymania	Wydajność mleczna [kg]		SM [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
<i>LL</i>	Wolnowybiegowy	8896	116	12,48	0,16
	Alkierzowy	8858	117	12,50	0,17
<i>VV</i>	Wolnowybiegowy	9014	1301	11,70	0,97
	Alkierzowy	8848	531	12,50	0,41
<i>LV</i>	Wolnowybiegowy	8902	271	12,48	0,22
	Alkierzowy	8527	291	12,54	0,24

Tab. 26a. Średnie wyniki i odchylenia standardowe dla procentowej zawartości białka i tłuszczu w mleku z podziałem na system utrzymania i genotypy genu hormonu wzrostu

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]		Tłuszcz [%]	
		$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
LL	Wolnowybiegowy	3,23	0,02	3,81	0,07
	Alkierzowy	3,25	0,02	3,81	0,06
VV	Wolnowybiegowy	3,20	0,17	3,03	0,53
	Alkierzowy	3,24	0,08	3,83	0,24
LV	Wolnowybiegowy	3,23	0,06	3,81	0,18
	Alkierzowy	3,30	0,05	3,81	0,16



Wykres 12. Wydajność mleczna z podziałem na trzy laktacje, system utrzymania oraz genotypy genu hormonu wzrostu

Inne badania wskazują, że osobniki o genotypie *LV* cechowały się wyższą wydajnością mleczną niż zwierzęta homozygotyczne *LL* [Misiriantia i wsp. 2012]. Te wyniki badań są potwierdzeniem danych uzyskanych przez Balogh i wsp. [2008]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniach Grochowskiej i wsp. [2001], w których wyższą wydajnością charakteryzowały się krowy posiadające genotyp *LL* od osobników o genotypie *LV*. Podobną tendencję potwierdzili badacze Yan Gukovna i wsp. [2014]. W badanej populacji nie odnotowano zwierząt o genotypie *VV*. Brak zależności stwierdzili wcześniej Yardibi i wsp. [2009]. W badaniach przeprowadzonych przez Dybusa [2002] stwierdzono, że wydajność mleczna jest statystycznie istotnie zróżnicowana genotypem ($p \leq 0,01$).

Tab. 27. Średnie wydajności mleka [kg] z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu hormonu wzrostu i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	I laktacja	II laktacja	III laktacja
LL	Wolnowybiegowy	8280	9108	9299
	Alkierzowy	8205	9054	9313
VV	Wolnowybiegowy	10445	7484	9114
	Alkierzowy	8223	9007	9312
LV	Wolnowybiegowy	8293	9124	9291
	Alkierzowy	8020	8712	8850

4.2.3.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu hormonu wzrostu na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy

Analizując średnią procentową zawartość białka w mleku z trzech laktacji dla krów utrzymywanych wolnowybiegowo, najwyższą wartością cechowały się zwierzęta o genotypach LL i LV. W stadzie utrzymywanym alkierzowo, na pierwszym miejscu uplasowały się osobniki o genotypie LV, natomiast na ostatnim – VV. Średni udział tłuszczu z trzech pierwszych laktacji przyjął najwyższe wartości u zwierząt o genotypie VV utrzymywanych alkierzowo, najniższe zaś u krów o tym samym genotypie natomiast utrzymywanych systemem wolnowybiegowym (Tabela 26a). Biorąc pod uwagę średnią procentową zawartość suchej masy z trzech pierwszych laktacji łącznie, największy jej udział zaobserwowano w mleku krów o genotypie LV utrzymywanych alkierzowo, natomiast najniższy – VV utrzymywanych wolnowybiegowo (Tabela 26).

Rozpatrując wyniki udziału powyższych składników kolejno dla trzech pierwszych laktacji, najwyższą zawartością białka w mleku charakteryzowały się pierwiastki o genotypie LV (3,28%) utrzymywane wolnowybiegowo, podobnie jak w stadzie utrzymywanym alkierzowo (3,43%). Najniższe wartości zaobserwowano u zwierząt o genotypie VV. Również analizując zawartość tłuszczu w obu stadach najwyższe wartości odnotowano w mleku krów o genotypie LV. Podobną tendencję zaobserwowano w przypadku zawartości suchej masy (Tab. 28 i 28a). Krowy o genotypie VV, utrzymywane w obu stadach charakteryzowały się spadkiem zawartości białka w mleku w kolejnych laktacjach. Analizując zawartość suchej masy, większość osobników z obu badanych stad cechowała się najniższym udziałem tego składnika w drugiej laktacji. Biorąc pod uwagę zawartość tłuszczu w mleku, nie zaobserwowano podobnych zależności.

W badaniach przeprowadzonych przez Yardibi i wsp. [2009] stwierdzono zależność między genotypem a procentową zawartością białka i tłuszczu w mleku. Biorąc pod uwagę badania przeprowadzone przez Dybusa [2002], najwyższy procentowy udział białka w mleku pierwiastek odnotowano u osobników o genotypie VV (3,213%). Poziomy białka u pozostałych wariantów genetycznych były podobne. Również udział tłuszczu był najwyższy w mleku pochodzącym od pierwiastek o genotypie VV (4,254%). W kolejnych dwóch laktacjach ta tendencja została zachowana. Badania przeprowadzone przez Kovácsi wsp. [2006] nie potwierdzają wyników otrzymanych przez Dybusa. W badaniach węgierskiego zespołu, mleko zwierząt o genotypie VV było najbogatsze w białko (3,19%), najuboższe zaś pochodziło od krów heterozygotycznych LV (3,14%). Biorąc pod uwagę procentowy udział tłuszczu w mleku, pierwsze miejsce zajęły zwierzęta o genotypie VV (3,47%), z kolei ostatnie – o genotypie LV (3,37%).

Tab. 28. Średnie procentowe zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu hormonu wzrostu i system utrzymania

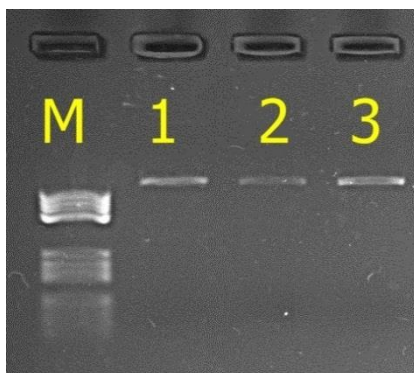
Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
LL	Wolnowyb	3,20	3,22	3,17	3,95	3,92	3,85	12,43	12,39	12,43
	Alkierzowy	3,31	3,36	3,30	3,89	3,74	3,75	12,81	12,40	12,44
VV	Wolnowyb	3,03	3,18	3,38	3,08	3,18	2,82	11,63	11,83	11,63
	Alkierzowy	3,23	3,44	3,21	4,00	3,84	4,02	12,75	12,40	12,45
LV	Wolnowyb	3,28	3,27	3,18	4,04	4,08	4,12	12,54	12,39	12,43
	Alkierzowy	3,43	3,38	3,37	4,12	3,87	4,08	12,98	12,42	12,46

Tab. 28a. Odchylenia standardowe dla procentowych zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji z podziałem na genotypy genu hormonu wzrostu i system utrzymania

Genotyp	System utrzymania	Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
LL	Wolnowyb	0,03	0,03	0,03	0,08	0,09	0,09	0,14	0,13	0,15
	Alkierzowy	0,02	0,03	0,02	0,07	0,08	0,08	0,13	0,13	0,14
VV	Wolnowyb	0,19	0,23	0,19	0,59	0,71	0,68	0,96	0,97	0,97
	Alkierzowy	0,09	0,10	0,09	0,26	0,32	0,30	0,39	0,41	0,40
LV	Wolnowyb	0,06	0,08	0,06	0,20	0,24	0,23	0,21	0,24	0,23
	Alkierzowy	0,06	0,07	0,06	0,18	0,21	0,20	0,24	0,22	0,23

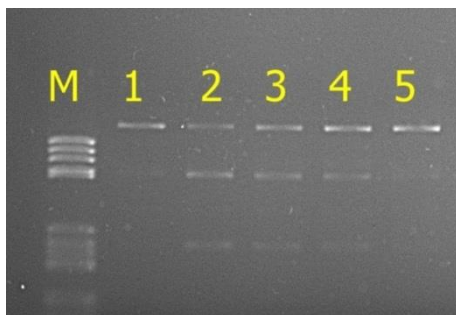
4.2.4. Polimorfizm genu prolaktyny

Dodatkowo zbadano stado utrzymywane alkierzowo pod kątem polimorfizmu genu prolaktyny. Większość publikowanych badań opiera się na enzymie restrykcyjnym *RsaI*. Li i wsp. [2006] badali polimorfizm genetyczny stada utrzymywanego w Beijing Dairy Cattle Center przy użyciu enzymu restrykcyjnego *XbaI*. Stado to było utrzymywane w systemie wolnostanowiskowym. W badaniach własnych dla kontrastu zanalizowano wyniki badań tylko dla stada utrzymywanego alkierzowo.



Fot. 7. Rozdział elektroforetyczny produktu PCR dla genu prolaktyny. M – marker długości, prążki 1 – 3 produkt PCR

Otrzymany produkt PCR (Fot. 7) trawiono enzymem restrykcyjnym *XbaI* i otrzymano trzy wzory prążkowe odpowiadające genotypom AA, BB i AB, o długościach: 678 pz dla genotypu AA; 447 pz, 231 pz dla genotypu BB (Fot. 8).



Fot. 8. Identyfikacja genotypów genu prolaktyny. M – marker długości, 1 i 5 – genotyp AA, 2 – 4 – genotyp AB

Tab. 29. Frekwencje genotypów i alleli genu prolaktyny dla stada utrzymywanego alkierzowo

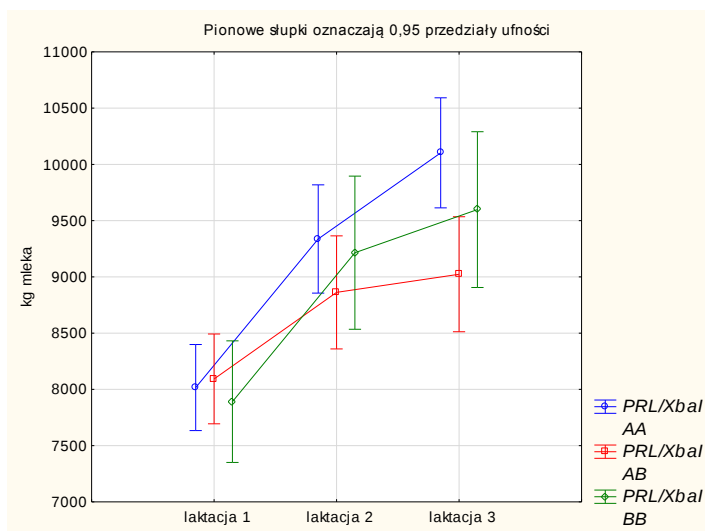
Frekwencja obserwowana [%]			Frekwencja oczekiwana [%]	Chi ²	P
Genotyp	AA	44	27,39	44,336	0,000
	BB	39,33	22,72		
	AB	16,67	49,89		
Allel	A	52,34			
	B	47,66			

Analizując frekwencję alleli zaobserwowano, że najczęstszym był allel A. Najczęściej występującym był genotyp AA, natomiast najrzadziej odnotowano heterozygotę AB. Otrzymane wyniki są odmienne od frekwencji oczekiwanej (Tabela 29). Badane stado nie było w równowadze genetycznej, miało rozkład niezgodny z prawem Hardy’ego Weinberga. Badania własne nie potwierdzają wyników badań przeprowadzonych przez innych naukowców przy użyciu tego samego enzymu restrykcyjnego *XbaI*. Najczęściej występującym genotypem okazały się być homozygoty BB (53,81%), natomiast najrzadziej – AA (0,85%) [Li i wsp. [2006]. W badaniach przeprowadzonych przez Dybusa [2005] przy użyciu enzymu restrykcyjnego *RsaI* stwierdzono, że najczęściej występowały zwierzęta o genotypie AA (73,4%), najrzadziej zaś o genotypie BB (0,9%). W innej publikacji tego autora w badanej populacji zaobserwowano tą samą tendencję – zwierzęta o genotypie AA występowały najczęściej (71,07%), natomiast najrzadziej o genotypie BB (0,42%) [Dybus i wsp. 2005].

4.2.4.1. Analiza wpływu polimorfizmu genu prolaktyny na wydajność mleczną krów

W badaniach własnych, najwyższą średnią wydajnością mleczną z trzech pierwszych laktacji cechowały się krowy o genotypie AA, najniższą zaś o genotypie AB (Tabela 30). Biorąc pod uwagę poszczególne laktacje, najwyższą wydajnością mleczną charakteryzowały się pierwiastki o genotypie AB, jednak różnice nie były istotne statystycznie (Tab. 31, 31a). Wydajność mleczna rosła wraz z kolejną laktacją niezależnie od genotypu osobnika. Badania własne nie potwierdzają wyników badań przeprowadzonych przez zespół Li i wsp. [2006]. Stwierdzono jednak istotne statystycznie zróżnicowanie wydajności mleka pomiędzy kolejnymi laktacjami ($p < 0,0005$). 100% zmienności wydajności mlecznej jest wywołana czynnikiem kolejności

laktacji. Stwierdzono również istotną statystycznie różnicę ze względu na interakcję kolejności laktacji i *PRL/XbaI* ($p=0,049$). 69% zmienności wydajności mleka jest spowodowana właśnie tą interakcją (Wykres 13). W badanach Li i wsp. [2006] stwierdzono, że krowy o genotypie *BB* cechowały się wyższą wydajnością mleka od krów o genotypie *AB* ($p\leq 0,05$). Z powodu małej liczebności osobników o genotypie *BB*, nie stwierdzono istotnych różnic w stosunku do tej grupy zwierząt.



Wykres 13. Średnie wydajności mleka dla krów z podziałem na laktacje i genotypy genu prolaktyny

Tab. 30. Średnie wyniki i odchylenia standardowe dla wydajności mlecznej, oraz procentowej zawartości suchej masy w mleku dla stada alkiezowego z podziałem na genotypy genu prolaktyny.

Genotyp	Wydajność mleczna [kg]		SM [%]	
	$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
AA	9152	171	12,62	0,14
BB	8901	242	12,91	0,20
AB	8660	178	12,55	0,13

Tab. 30a. Średnie wyniki i odchylenia standardowe dla procentowej zawartości białka i tłuszczu w mleku dla stada alkierzowego z podziałem na genotypy genu prolaktyny

Genotyp	Białko [%]		Tłuszcz [%]	
	$\bar{X}$	Sd	$\bar{X}$	Sd
AA	3,30	0,03	3,81	0,09
BB	3,36	0,04	4,06	0,12
AB	3,35	0,03	3,73	0,09

Tab. 31. Średnie wydajności mleka, procentowe zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji dla stada alkierzowego z podziałem na genotypy genu prolaktyny

Genotyp	Wydajność mleczna [kg]			Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
AA	8016	9337	10103	3,30	3,33	3,26	3,95	3,76	3,71	12,89	12,63	12,35
BB	7891	9215	9598	3,38	3,39	3,32	4,11	4,04	4,04	13,08	13,02	12,64
AB	8093	8863	9023	3,31	3,39	3,34	3,80	3,61	3,78	12,66	12,43	12,55

Tab. 31a. Odchylenia standardowe dla wydajności mleka, procentowych zawartości białka, tłuszczu i suchej masy w mleku z uwzględnieniem laktacji dla stada alkierzowego z podziałem na genotypy genu prolaktyny

Genotyp	Wydajność mleczna [kg]			Białko [%]			Tłuszcz [%]			SM [%]		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
AA	192	242	246	0,03	0,04	0,04	0,08	0,11	0,11	0,14	0,19	0,17
BB	272	342	348	0,04	0,06	0,05	0,12	0,16	0,15	0,20	0,27	0,24
AB	201	253	257	0,03	0,04	0,04	0,09	0,12	0,11	0,13	0,18	0,16

W badaniach przeprowadzonych przy użyciu enzymu restrykcyjnego *RsaI*, najwyższą wydajnością w pierwszej laktacji charakteryzowały się krowy o genotypach AA i AB, natomiast w drugiej laktacji, najwyższymi wartościami charakteryzowały się osobniki o genotypie AB. Różnice te były istotne statystycznie ($p \leq 0,01$) [Dybus 2005]. Również już w badaniach Chunga i wsp. [1996] zaobserwowano, że krowy o genotypie AA cechowały się wyższą wydajnością od tych o genotypie BB. W innych badaniach wykonanych przez Dybusa i wsp. [2005] krowy pierwiastki o genotypach AA i AB odznaczały się najwyższą wydajnością mleczną. Podobną tendencję zaobserwowano w kolejnych dwóch laktacjach.

4.2.4.2. Analiza wpływu polimorfizmu genu prolaktyny na zawartość białka i tłuszczu w mleku oraz suchej masy

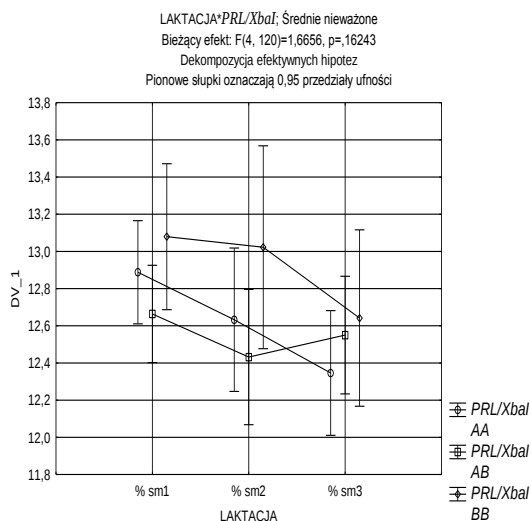
Badania własne pokazały, że najwyższy udział białka i tłuszczu oraz suchej masy był w mleku krów o genotypie *BB* (Tab. 30 i 30a). Najniższe wartości dla zawartości tłuszczu i suchej masy w mleku odnotowano u osobników o genotypie *AB*, natomiast dla zawartości białka – *AA*. Analizując poszczególne laktacje zaobserwowano, że mleko pierwiastek o genotypie *BB* zawiera najwięcej białka, natomiast o genotypie *AA* – najmniej. Krowy o genotypie *AA* charakteryzowały się najniższym udziałem białka w mleku we wszystkich trzech laktacjach. Natomiast, zwierzęta będące w drugiej laktacji dawały mleko o najwyższej zawartości białka, niezależnie od genotypu. Biorąc pod uwagę zawartość tłuszczu, stwierdzono, że pierwiastki o genotypie *BB* cechowały się najwyższym jego udziałem w mleku, natomiast osobniki heterozygotyczne *AB* – najmniejszym. Krowy będące w pierwszej laktacji charakteryzowały się najwyższą zawartością tłuszczu w mleku, niezależnie od genotypu. Analizując procentową zawartość suchej masy w mleku zaobserwowano podobną tendencję jak w przypadku udziału tłuszczu. Pierwiastki charakteryzowały się najwyższą zawartością suchej masy w mleku niezależnie od genotypu. Wśród nich, krowy o genotypie *BB* cechowały się największym udziałem suchej masy, natomiast *AB* – najmniejszym (Tabela 31 i 31a). W badaniach stwierdzono istotne statystycznie zróżnicowanie zawartości suchej masy pomiędzy kolejnymi laktacjami. 89% zmienności udziału suchej masy jest wywołana czynnikiem laktacji (Wykres 14). Również biorąc pod uwagę procentowy udział tłuszczu w mleku zaobserwowano istotne statystycznie zróżnicowanie jego udziału pomiędzy kolejnymi laktacjami. 58% zmienności zawartości tłuszczu jest wywołana czynnikiem laktacji (Wykres 15). Podobne różnice zaobserwowano w przypadku procentowego udziału białka. 67% zmienności jego udziału jest wywołana czynnikiem laktacji (Wykres 16, Tabela 33). Dodatkowo, analizując różnice w obrębie genotypów, stwierdzono różnice istotne statystycznie w obrębie procentowej zawartości tłuszczu (Tabela 34).

W badaniach przeprowadzonych przez Li i wsp. [2006] (*PRL/XbaI*) zaobserwowano, że największą procentową zawartością białka w mleku charakteryzowały się krowy o genotypie *AA*, natomiast biorąc pod uwagę udział tłuszczu, wyższe wartości odnotowano w mleku zwierząt o genotypie *AB* niż u osobników *BB*.

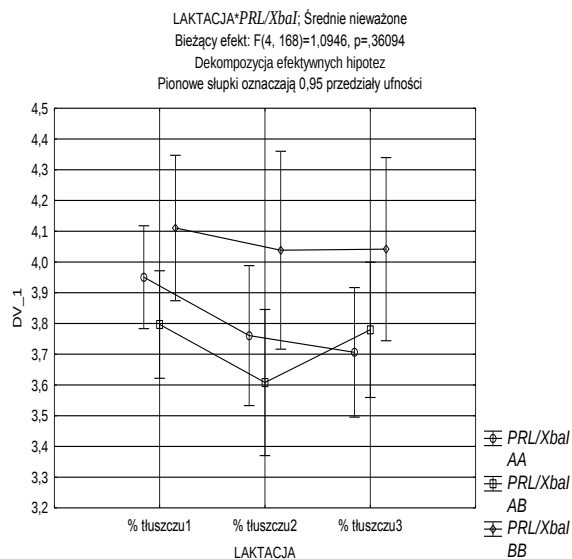
Tab. 34. Istotności różnic między genotypami genu prolaktyny dla procentowej zawartości tłuszczu w mleku. Test Tukey'a

Porównanie	Przedział ufności Jednoczesny 95%		
BB - AA	0,00225	0,45353	***
BB - AB	0,03045	0,48722	***
AA - BB	-0,45353	-0,00225	***
AA - AB	-0,14621	0,2081	
AB - BB	-0,48722	-0,03045	***
AB - AA	-0,2081	0,14621	

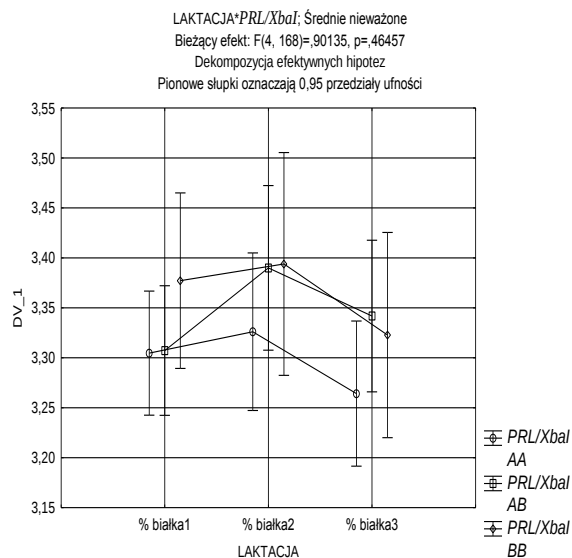
*** - oznaczają różnice istotne statystycznie ($p \leq 0,05$)



Wykres 14. Średnie procentowe zawartości suchej masy dla krów z podziałem na laktację i genotypy genu prolaktyny



Wykres 15. Średnie procentowe zawartości tłuszczu dla krów z podziałem na laktacje i genotypy genu prolaktyny



Wykres 16. Średnie procentowe zawartości białka dla krów z podziałem na laktacje i genotypy genu prolaktyny

W badaniach innych naukowców, analizując procentową zawartość białka i tłuszczu u pierwiastek, można stwierdzić, że najwyższy udział tłuszczu odnotowano u osobników o genotypie AA (4,28%), natomiast udział białka u zwierząt o genotypach AA i AB był na tym samym poziomie (3,25%). W obu

przypadkach najniższe wartości przypisano krowom o genotypie *BB* [Dybus i wsp. 2005]. Te wyniki są potwierdzeniem badań Chunga i wsp. [1996], w których również stwierdzono, że osobniki o genotypie *AA* cechowały się najwyższą zawartością tłuszczu w mleku. We wcześniejszych badaniach Dybusa [2002] zaobserwowano, iż w grupie pierwiastek, najwyższą zawartością białka cechowały się te o genotypie *BB*, natomiast najniższą o genotypie *AB*. Biorąc pod uwagę udział tłuszczu, najwyższe wyniki odnotowano w mleku krów o genotypie *AA*, natomiast najniższe – dla *BB*. Względem zawartości tłuszczu podobna tendencja utrzymywała się w kolejnych laktacjach, natomiast procentowy udział białka w mleku w drugiej i trzeciej laktacji najwyższy był u zwierząt o genotypie *AA*, natomiast najniższy dla genotypu *BB*. Między tymi dwoma laktacjami dla zawartości białka w mleku różnice były istotne statystycznie na poziomie $p \leq 0,05$. Badania przeprowadzone przez Dybusa w pełni potwierdzają te wykonane przez Chunga i wsp. [1996].

5. Podsumowanie i wnioski

Badania nad wpływem polimorfizmu genów na wydajność mleczną krów i zawartość białka, tłuszczu i suchej masy w mleku są cenne dla hodowców bydła mlecznego. Krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej są uznawane jako najbardziej mleczne bydło. Wśród badanych stad krów zaobserwowano, iż pierwiastki utrzymywane w systemie wolnowybiegowym cechowały się wyższą wydajnością mleczną aniżeli osobniki utrzymywane alkierzowo. Krowy utrzymywane alkierzowo, będące w drugiej i trzeciej laktacji osiągały wyższą wydajność mleczną niż krowy utrzymywane wolnowybiegowo.

Zwierzęta utrzymywane w systemie alkierzowym charakteryzowały się wyższą procentową zawartością białka i tłuszczu w mleku. Zastosowanie metody PCR-RFLP pozwoliło na wykrycie polimorfizmu genu kappa-kazeiny, betalaktoglobuliny, hormonu wzrostu i prolaktyny. W każdym z nich zidentyfikowano trzy genotypy.

Wnioski:

- I. Najwyższą wydajnością mleczną cechowały się krowy o genotypie *AA* genu kappa-kazeiny, utrzymywane wolnowybiegowo. Zwierzęta o genotypie *BB* miały najwyższą procentową zawartość białka w mleku w obu badanych stadach. Najatrakcyjniejszym konsumentom mlekiem może być to pozyskane od krów o genotypie *AA* będących w drugiej laktacji, utrzymywanych alkierzowo. Zawiera ono stosunkowo dużą ilość białka przy możliwie najmniejszym udziale tłuszczu. Dodatkowo, zwierzęta te wykazują stosunkowo wysoką wydajność mleczną.

- II. Najwyższą wydajność mleczną odnotowano u krów utrzymywanych alkierzowo, posiadających genotyp *AB* genu betalaktoglobuliny. Najwyższy procentowy udział białka w mleku zaobserwowano u osobników utrzymywanych alkierzowo, niezależnie od genotypu. Najatrakcyjniejszym konsumentem mlekiem może być to pozyskane od krów o genotypie *AB* będących w trzeciej laktacji, utrzymywanych alkierzowo. Zawiera ono stosunkowo dużą ilość białka przy możliwie najmniejszym udziale tłuszczu. Dodatkowo, zwierzęta te charakteryzują się najwyższą wydajnością mleczną w badanej populacji.
- III. Najwyższe wydajności mleczne odnotowano u krów będących w trzeciej laktacji, niezależnie od genotypu genu hormonu wzrostu i systemu utrzymania. Najwyższym procentowym udziałem białka w mleku cechowały się zwierzęta o genotypie *LV*, utrzymywane alkierzowo. Najniższą procentową zawartość tłuszczu odnotowano w mleku krów o genotypie *VV* utrzymywanych wolnowybiegowo. Najatrakcyjniejszym konsumentem mlekiem może być to pozyskane od krów o genotypie *VV* będących w trzeciej laktacji, utrzymywanych systemem wolnowybiegowym. Zawiera ono stosunkowo dużą ilość białka przy możliwie najmniejszym udziale tłuszczu. Dodatkowo, zwierzęta te wykazują stosunkowo wysoką wydajność mleczną w badanej populacji.
- IV. Najwyższą średnią wydajnością mleczną z trzech pierwszych laktacji cechowały się krowy o genotypie *AA* genu prolaktyny. Najwyższy udział białka i tłuszczu oraz suchej masy zaobserwowano w mleku osobników o genotypie *BB*. Najatrakcyjniejszym konsumentem mlekiem może być to pozyskane od krów o genotypie *AB* będących w drugiej laktacji. Zawiera ono najwyższą ilość białka i jednocześnie najmniejszy udział tłuszczu. Dodatkowo, zwierzęta te wykazują stosunkowo wysoką wydajność mleczną w badanej populacji.
- V. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że najbardziej atrakcyjne konsumentem mleko może być pozyskiwane od krów utrzymywanych alkierzowo, będących w drugiej laktacji i posiadających genotyp *AA* genu kappa-kazeiny oraz genotyp *BB* genu betalaktoglobuliny, *LL* genu hormonu wzrostu i *AB* genu prolaktyny. Średnia wydajność tej grupy krów wynosi 898kg mleka w 305-dniowej laktacji.

- VI. Wskazane jest prowadzenie dalszych badań nad polimorfizmem wspomnianych genów. Badania przeprowadzone na większej ilości populacji pozwolą wybrać tzw. „krowę idealną”, której mleko będzie najatrakcyjniejsze konsumentom, a jednocześnie koszt wyprodukowania tego mleka będzie najniższy.

Bibliografia

1. Ahmadi M., Mohammadi Y., darmani kuhi H., Osfoori R., Qanbari S., 2008. Association of milk protein genotypes with production traits and somatic cell count of Holstein cows. *Journal of Biological Sciences* 8, 7, 1231-1235.
2. Alexander LJ, Stewart AF, Mackinlay AG, Kapelinskaya TV, et al. 1988. Isolation and characterization of the bovine kappa-casein gene. *European Journal of Biochemistry* 178: 395-401.
3. Alipanah M., Kalashnikova L., Rodionov G. 2007. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle. *Iranian Journal of Biotechnology*, Vol. 5, No. 3, July 2007
4. Anggraeni A., Sumantri C., Farajallah A., Andreas E. 2010. Kappa-Casein Genotypic Frequencies in Holstein-Friesian Dairy Cattle in West Java Province. *Media Peternakan* 33 (2), 61–67.
5. Antkowiak I., Pytlewski J., Skrzypek R. 2007. Wpływ kolejnej laktacji i jej fazy na użytkowość mleczną krów rasy jersey i polskiej holsztyńsko-fryzyskiej. *Medycyna Weterynaryjna*, 63 (11), 1366-1369.
6. Ayuk, J., Sheppard M.C. 2006. Growth hormone and its disorders. *Postgraduate Medical Journal* 82: 24-30.
7. Badola S., Bhattacharya T. K., Biswas T. K., Kumar P., Sharma A. 2003. Association of Betalactoglobulin Polymorphism with Milk Production Traits in Cattle. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* 2003. Vol 16, No. 11 : 1560-1564
8. Balogh O., Szepes O., Kovacs K., Kulcsar M., Reiczigel J., Alcazar J.A., Keresztes M., Febel H., Bartyik J., Fekete S. Gy., Fesus L., Huszenicza Gy. 2008. Interrelationships of growth hormone *AluI* polymorphism, insulin resistance, milk production and reproductive performance in Holstein-Friesian cows. *Veterinari Medicina*, 53, 2008 (11): 604–616
9. Balogh, O., Kovacs K., Kulcsar M., Gaspard A., Febel H., Zsolnai A., Fesus L., C Delavaud., Chilliard Y., Gilbert R. O., Huszenicza G. 2009. Interrelationship of growth hormone *AluI* polymorphism and hyperketonemia with plasma hormones and metabolites in the beginning of lactation in dairy cows. *Livestock Science* 123:180-186. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2008.11.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2008.11.002)

10. Barendse W., Vaiman D., Kemp S.J., Sugimoto Y., Armitage S.M., Williams J.L., Sun H.S., Eggen A., Agaba M., Aleyasin S.A., Band M., Bishop M.D., Buitkamp J., Byrne K., Collins F., Cooper L., Coppettiers W., Denys B., Drinkwater R.D., Easterday K., Elduque C., Ennis S., Erhardt G., Ferretti L., Flavin N., Gao Q., Georges M., Gurung R., Harlizius B., Hawkins G., Hetzel J., Hirano T., Hulme D., Jorgensen C., Kessler M., Kirkpatrick B.W., Konfortov B., Kostia S., Kuhn C., Lenstra J.A., Leveziel H., Lewin H.A., Leyhe B., Lil L., Martin - Burriel I., McGraw R.A., Miller J.R., Moody D.E., Moore S.S., Nakane S., Nijman I.J., Olsaker I., Pomp D., Rando A., Ron M., Shalom A., Teale A.J., Thieven U., Urquhart B.G.D., Vage D.-I., van de Weghe A., VArvio S., Velmala R., Vilkki J., Weikard R., Woodside C., Womack J.E., Zanotti M., Zaragoza P. 1997. A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mammalian Genome*, 8, 21-28
11. Barłowska J., 2001. Polimorfizm białek mleka w różnych grupach genetycznych krów z regionu środkowo-wschodniej Polski [Milk protein polymorphism in different genetic groups of cows in Central-East Poland. *Annales UMCS XIX* (4), 27–37 [in Polish].
12. Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Kędzierska-Matysek M. 2007. Relationship between β -lactoglobulin and κ -casein genetic variants and the selected indicators of technological usefulness of milk from polish red and whitebacked cows. *Annales of Animal Science* 1, 43-47.
13. Barłowska J., Litwińczuk Z., Król J., Pietras U. 2000. Związek wariantów genetycznych białek mleka z jego cechami fizykochemicznymi i zdrowotnością wymienia krów. *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego* 51, 333–340.
14. Bogucki M. 2006. Żywnienie krów a skład mleka. *Poradnik Gospodarski*, 2006, 4, 38-39.
15. Bogucki M., Sawa A. 2002. Wydajność dobową i jakość mleka jako efekt współdziałania genotypu i wybranych czynników pozagenetycznych. *Acta Scientiarum Polonorum. Zootechnika* 1 (1-2), 5-16.
16. Botaro B.G., De Lima Y.R., Cortinhas C.S., Silva L.P., Renno F.P., Santos M.V. 2009. Effect of kappa casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38, 2447–2454.
17. Brodziak A., Litwińczuk A., Topyła B., Wolanciuk A. 2012. Wpływ interakcji sezonu produkcji z rasą i systemem żywienia krów na wydajność i właściwości fizykochemiczne mleka. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 8 (2012), nr 1, 19-27

18. Brzozowski P., Zdziarski K. 2006. Wpływ genotypu, wieku, stadium laktacji i wydajności mlecznej krów czarno-białych na punkt zamarzania mleka. *Medycyna Weterynaryjna*, 62, (1), 93-95.
19. Burton J.L., McBrid D.E., Block E., Glim D.R. 1994. A review of bovine growth hormone. *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 74, p. 167-201.
20. Camper S.A., Luck D.N., Vao Y., Woychik R.P., Goodwin R.G., Lyons R.H., Rottman F.M. 1984. Characterization of the bovine prolactin gene. *DNA*, 3, 237-249
21. Caroli A., Chessa S., Bolla P., Budelli E., Gandini G.C., 2004. Genetic structure of milk protein polymorphisms and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 121, 119-127.
22. Charon K. M., Świtoński M., 2004. *Genetyka zwierząt*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
23. Charon K.M., Świtoński M., 2009. *Genetyka zwierząt*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa
24. Choroszy B., Beneš E., Brejta W., Choroszy Z. 2013. The Polish Population of Simmental cattle in 2012 year. *Proc. 30th European Simmental Federation Congress*. Ptuj, Slovenia, 2013, ss. 2.
25. Choroszy B., Beneš E., Choroszy Z., Brejta W. 2008. Simmental Breeding in Poland. *Proc. Council Meeting of the European Simmental Federation in Poland*, Kraków, 27–30 August 2008, ss. 79–101.
26. Chrenek P., Vasicek D., Bauerova M., Bulla J. 1998. Simultaneous analysis of bovine growth hormone and prolactin alleles by multiplex PCR and RFLP. *Czech Journal of Animal Science* 43, 53-55
27. Chung E.R., Rhim T.J., Han S.K. 1996. Associations between PCR-RFLP markers of growth hormone and prolactin genes and production traits in dairy cattle. *Korean Journal of Animal Science* 38, 321-336
28. Cichosz G., Ambroziak A., Kowalska M., Aljewicz M. 2011. Produkty mleczarskie jako źródło antyoksydantów w diecie człowieka, *Przegląd Mleczarski*, nr 6, s. 4–8.
29. Cioch B., Czerniawska-Piątkowska E., Chociłowicz E., Szewczuk M. 2012. Związek polimorfizmu kappa-kazeiny (CASK) z wydajnością i składem mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*. 300 (24), 27–32
30. Cioch B., Czerniawska-Piątkowska E., Chociłowicz E., Szewczuk M. 2013. Relations between kappa-casein polymorphism (CASK) and milk performance traits in heifer cows. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis.. Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica*. 307 (28), 11–16

31. Curi, R.A. 2006. Growth and carcass traits associated with GH|Alu1 and POU1F1|HinfI gene polymorphism in Zebu and crossbred beef cattle. *Genetics and Molecular Biology*. 29: 56-61. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572006000100012>
32. Czaplicka M., Czerniewicz M., Puchajda Z., Kruk A., Szalunas T. 2002. Ocena ilości i jakości mleka pozyskanego od krów holsztyńsko-fryzyjskich i czarno-białych. *Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, 62, 183–191.
33. Czaplicka M., Puchajda Z., Szalunas T. 2003. Porównanie długości laktacji, okresu międzywycieleniowego oraz wydajności mleka w czterech laktacjach krów importowanych z Francji i krajowych c.b. *Zeszyty Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Przegląd Hodowlany*, 68: 107–114.
34. Czerniawska – Piątkowska E., Cioch B., Rafińska W., Bartyzel B. J., Koczón P. 2015. Porównanie wydajności i składu mleka krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej w trzech kolejnych laktacjach. *LXXX Zjazd Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*. Bydgoszcz
35. Czerniawska-Piátkowska E., Szewczuk M., Zych S. 2007. Zależność pomiędzy polimorfizmem betalaktoglobuliny a produktywnością mleczną krówrasy hf. *Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica* 6 (1) 2007, 23–28
36. Czubska – Stączek A., Wójcik P., Cwynar M., 2016. Charakterystyka produkcyjna bydła simentalskiego na terenie Pogórza Karpackiego w zależności od wielkości stad i kraju pochodzenia ojca. *Wiadomości Zootechniczne R. LIV* (2016), 1: 11 – 18
37. Doosti A., Arshi A., Vatankhah M., Amjadi P. 2011. Kappa-casein gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *African Journal of Biotechnology*. 10 (25), 4957–4960.
38. Dorynek Z., Pytlewski J., Antkowiak I., Kryszkiewicz Cz. 2002. Zawartość komórek somatycznych w mleku krów holsztyńsko-fryzyjskich oraz jej wpływ na użytkowość mleczną. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica.*, 1 (1–2), 53–62.
39. Dybus A. 2002. Associations between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. *Archiv Tierzucht* 45 (5), 421-428.
40. Dybus A. 2002a. Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports* vol. 20 (2002) no. 4 203-2012

41. Dybus A. 2005. Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) gene polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers Reports* vo. 20. No. 4, 203-212. Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec, Poland
42. Dybus A., Grzesiak W., Kamieniecki H., Szatkowska I., Sobek Z., Błaszczyk P., Czerniawska- Piątkowska E., Zych S., Muszyńska M. 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Archiv Tierzucht, Dummerstorf* 48 (2005) 2, 149-156
43. Eigel W.N., Butler J.E., Ernstrom C.A., Farrell H.M., Harwalkar V.R., Jennes R., Whitney R.McL. 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk. *Journal of Dairy Science.*, 67, 1599–1631.
44. Feleńczak A., Fertig A., Gardzina E., Ormian M., Trela J. 2006. Technological traits of milk of simmental cows as related to κ -casein polymorphism. *Annals of Animal Science*, 6 (1), 37–43.
45. Freyer G., Liu Z., Erhardt G., Panicke L. 1999. Casein polymorphism and between milk production traits. *J. Anim. Breed Genet.* 116: 87-97.
46. Fries R., Eggen A., Wilmach J.E. 1993. The bovine genome map. *Mammalian genome* 4. 405-428.
47. Gladyr E. A., Zinoveva N. A., Marzanov N. S., Brem G. 2000. The use of betalactoglobulin and kappa-casein genes as the genetic markers for cattle. In: *Biotechnology in Crop Production, Livestock Farming, and Veterinary. Proceedings of the II International Scientific Conference, Moscow*, 86-88.
48. Gaworski M., Wójcik M. 2013. Badania powiązań systemów utrzymania i żywienia krów mlecznych ze wskaźnikami oceny ich wartości użytkowej . *Problemy Inżynierii Rolniczej*, (VII–IX): z. 3 (81), s. 89-97. SGGW.
49. Gnyp J., Kowalski P., Tietze M. 2006. Wpływ genotypu oraz kraju pochodzenia krów na ich wydajność dobową mleka, jego skład i jakość cytologiczną. *Annales Universitatis Mariae Curie – Skłodowska. Lublin*, vol. XXIV, 1.
50. Gnyp J., Kowalski P., Tietze M. 2006a. Wydajność mleka krów, jego skład i jakość cytologiczna w zależności od niektórych czynników środowiskowych. *Annales Universitatis Mariae Curie – Skłodowska. Lublin - Polonia*, vol. XXIV, 3.
51. Gnyp J., Małycka T., Kowalski P. 2000. Porównanie parametrów życiowej użyteczności krów czarno-białych w wybranych stadach państwowych i prywatnych województwa lubelskiego. *Annales UMCS*, s. EE, XVIII, 1 – 7
52. Górská A., Ostrowska-Ligęza E., Wirkowska M. 2011. β - laktoglobulina – potencjalny nośnik witaminy D. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2011; 44(3): 535-538

53. Grochowska R., Sorensen P., Zwierzchowski L., Snochowski M., Lovendahl P. J. 2001. Genetic variation in stimulated GH release and in IGF-I of young dairy cattle and their associations with the leucine/valine polymorphism in the GH gene. *Journal of Animal Science* 79: 470-476.
54. Grodzki H., Grabowski R., Kraszewska A., Zdziarski K. 1998. Wpływ sezonu i kolejnych lat oceny mikrobiologicznej mleka na jego jakość. *Zeszyty Naukowe AR Wrocław, Konferencje*, 17, 71-76.
55. Gruchała M., Rynkiewicz A., 2003. Podstawy genetyki w kardiologii, Gdańsk, s. 14 – 16. <http://www.ikamed.pl>
56. Grzybowska-Brzezińska M. 2015. Zmiany preferencji konsumentów na rynku mleka i jego przetworów. Agencja Rynku Rolnego. *Biuletyn Informacyjny* 1/2015.
57. Guliński P, Dobrowolska E., Niedziałek G., Mróz B. 2003. Próba określenia związków pomiędzy liczbą komórek somatycznych a wybranymi cechami użytkowości mlecznej krów. *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, 69, 101-110.
58. Heck J.M.L., Schennink A., Van Valenberg H.J.F., Bovenhuis H., Visker M.H.P.W., Van Arendonk J.A.M., Van Hooijdonk A.C.M., 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science* 92,1192-1202.
59. Hediger R., Johnson S.E., Barendse W., Drinkwater R.D., Moore S.S., Hetzel D.J.S. 1990. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-q2ter in cattle and to 1 1q25-qter in sheep by in situ hybridization. *Genomics* 8, 171-174.
60. Heidari M., Azari M.A., Hasani S., Khanahmadi A., Zerehdaran S., 2009. Association of genetic variants of β -lactoglobulin gene with milk production in a herd and a superior family of Holstein cattle. *Iranian Journal of Biotechnology* 7, 4, 254-257.
61. Instytut Zootechniki. Państwowy Instytut Badawczy. Samodzielna Pracownia Genomiki. Balice. Era genomowa w hodowli bydła mlecznego.2014.http://www.h.krakow.pl/zalaczniki/wazne_informacje/Era_genomowa_2014.pdf (2016-09-10).
62. Jacob E., Puhan Z. 1992. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins- a review. *International Dairy Journal* 2, 157–178.
63. Jasiorowski H., Stolzman M., Reklewski Z. 1993. Międzynarodowe badania nad porównaniem bydła fryzyjskiego. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa.
64. Jędraszczyk J. 2010. Genomowa wartość hodowlana nowym narzędziem w doskonaleniu bydła mlecznego. *Życie Weterynaryjne* 85(2).
65. Jurczak M.E. 2005. Mleko - produkcja, badanie, przerób. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

66. Kamiński S. 1994. Gen kappa-kazeiny – możliwości wykorzystania w selekcji bydła. *Przegląd Hodowlany* 3, 8–10.
67. Kapela K., Guliński P. 2007. Jakość cytologiczna mleka produkowanego w różnych typach obór. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 3, nr 1, 109 – 114.
68. Khatami S. R., Lazebny O. E., Maksymienko V. R., Sulimova G. E. 2005. Association of DNA polymorphism of growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black-and-White cattle. *Russian Journal of Genetics*. 41:167-173, 2005.
69. Kołacz R. 2006. Dobrostan zwierząt a postęp genetyczny. *Przegląd Hodowlany*, 9: 8–11.
70. Komisarek J., Michalak A., Walendowska A. 2011. The effects of polymorphisms in DGAT1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows. *Animal Science Papers and Reports*. 29:29-26, 2011.
71. Kosiak K. 2013. Wpływ kwot mlecznych na sytuację w branży mlecznej w Polsce i w Estonii oraz przewidywany scenariusz po roku 2015. *Roczniki Ekonomiczne Kujawsko-Pomorskiej Szkoły Wyższej w Bydgoszczy*, nr 6, str. 449-462.
72. Kovács K., Völgyi-Csik J., Zsolnai A., Györkös I., Fésüs L. 2006. Associations between the AluI polymorphism of growth hormone gene and production and reproduction traits in a Hungarian Holstein-Friesian bull dam population. *Archiv Tierzucht., Dummerstorf* 49; 3, 236-249.
73. Kowrygo B. 2000. Studium wpływu gospodarki rynkowej na sferę żywności i żywienia w Polsce, „Rozprawy i Monografie”, SGGW.
74. Krajewski K. 2012. Postrzeganie jakości produktów mleczarskich – perspektywa nabywcy i procesów sprzedaży, [w:] Zarządzanie jakością wybranych produktów i procesów, Żuchowski J, Zieliński R. (red), Wyd. Naukowe Instytutu Technologii Eksploatacji PIB, Radom.
75. Krzyżewski J., Reklewski Z. 2003. Wpływ przedłużonych laktacji krów na wydajność, skład chemiczny i jakość mleka oraz wskaźniki reprodukcji. *Zeszyty Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Przegląd Hodowlany*, 67: 7–20.
76. Kučerova J., Matějček A., Jandurova O.M., Sorensen P., Němcova E., Štípková M., Kott T., Bouška J., Frelich J., 2006 – Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech Journal of Animal Science* 51, 6, 241-247.
77. Lagziel A., Lipkin E., Soller M. 1996. Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. *Genetics*. 142:945-951, 1996.

78. Li J. T., Wang A. Chen H., Li H. B., Zhang C. S., Du L. X.. 2006. Relationship between the Polymorphisms of 5' Regulation Region of Prolactin Gene and Milk Traits in Chinese Holstein Dairy Cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2006. Vol 19, No. 4 : 459-462
79. Lin C.Y., McAllister A.J., Ng-Kwai-Hang K.F., Hayes J.F. 1986. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 69: 704-712.
80. Litwińczuk A., Barłowska J., Florek M., Asarabowska A. 1996. Związek między polimorfizmem białek mleka a produkcyjnością krow. *Annales UMCS, Section E, Agriculture*. 14, 59–63.
81. Litwińczuk A., Barłowska J., Krol J., Litwińczuk Z. 2006. Białka polimorficzne mleka jako markery cech użytkowych bydła mlecznego i mięsnego. *Medycyna Weterynaryjna* 62 (1), 6–10.
82. Litwińczuk Z., Guliński P. 2000. Bydło holsztyńsko-fryzyjskie i jego wykorzystanie w doskonaleniu czarno-białego bydła mlecznego w Polsce i na świecie. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*. 2, 71-87.
83. Litwińczuk Z., Szulc T. 2005. Hodowla i użytkowanie bydła. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa
84. Litwińczuk Z., Teter U., Teter W., Sianek P., Chabuz W. 2006a. Ocena wpływu niektórych czynników na wydajność i jakość mleka rów utrzymywanych w gospodarstwach farmerskich. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t.2, 1, 133-140.
85. Lucy M.C., Hauser S.D., Eppard S.D., Krivi P.J., Clark G.G., Baumann D.E., Collier R.J. 1993. Variants of somatotropin in cattle gene frequencies in major daurydreeds and associated milk production. *Domestic Animal Endocrinology* 10, 325-333.
86. Mao I.L., Buttazzoni L.G., Aleandri R. 1992. Effects of polymorphic milk protein genes on milk yield and composition traits in Holstein cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica* 42: 1-7.
87. Marc E. F., K., BeLa L. A., GyoRgy N. 2000. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. *Physiological Reviews* 80(4):1523-1631.
88. Marziali A.S., Ng-Kwai-Hang K.F. 1986. Effects of milk composition and genetic polymorphism on cheese composition. *Journal Dairy Science* 69: 2533-2542.
89. Miciński J., Klupczyński J., 2006. Correlations between polymorphic variants of milk proteins, and milk yield and chemical composition in Black-and-White and Jersey cows. *Polish Journal of Food and Nutrition Science* 15, 56, 137-143.
90. Miciński J., Pogorzelska J., Barański W. 2008. Parametry użytkowe pierwiastek rasy hf w zależności od genetycznych wariantów wybranych białek mleka. *Medycyna Weterynaryjna* 64 (9), 1136–1140.

91. Misrianti R., Anggraenib A., Andreasc E., Sumantric C. 2012 Growth Hormone Gene Polymorphism and Its Association with Partial Cumulative Milk Yields of Holstein Friesian Dairy Cattle. *Media Peternakan*, December 2012, pp. 145-151.
92. Mitra A., Schlee P., Balakrishnan C.R., Pirchner F. 1995. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 112, 71-74.
93. Mitra A., Schlee P., Krause I., Blusch J., Werner T., Bala krishnan C. R., Pirchner F. 1998. Kappa casein polymorphism in the Indian dairy cattle and buffalo: A new genetic variant in buffalo. *Animal Biotechnology*, 9 (2), 81-87.
94. Mohammadi Y., Aslaminejad A.A., Nassiri M.R., Koshkoieh A.E., 2013. Allelic polymorphism of κ -casein, β -lactoglobulin and leptin genes and their association with milk production traits in Iranian Holstein cattle. *Journal of Cell and Molecular Research* 5, 2, 75-80.
95. Molee A., Boonek L., Rungsakinnin N., 2011. The effect of beta and kappa casein genes on milk yield and milk composition in different percentages of Holstein in crossbred dairy cattle. *Animal Science Journal* 82, 512-516.
96. Molina L.H., Kramm J., Brito C., Carrillo B., Pinto M., Ferrando A., 2006. Protein composition of milk from Holstein-Friesian dairy cows and its relationship with the genetic variants A and B of κ -casein and β -lactoglobulin (Part I). *International Journal of Dairy Technology* 56, 3, 183-187.
97. Moravčíková N., Trakowická A. 2012. SNP analyses of the bovine growth hormone and leptin genes by PCR-RFLP method. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 679-88.
98. Muhammadabadi M. R., Torabi M. A., Tahmouresspor M., Baghizadesh A., Esmailzaeh A. K., Mohammadi A. 2010. Analysis of bovine growth hormone gene polymorphism of local and Holstein cattle breeds in Kerman province of Iran using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). *African Journal of Biotechnology* 9: 6848-6852.
99. Nałęcz - Tarwacka T., Grodzki H., Kuczyńska B., Zdziarski K. 2009. Wpływ dawki pokarmowej na zawartość składników frakcji tłuszczowej mleka krów. *Medycyna Weterynaryjna*, 65 (7): 487-491.
100. Nicoll C.S., Mayer G.L., Russell S.M. 1986. Structural features of prolactin and growth hormones that can be related to their biological properties. In *Endocrinology Revue*, vol. 7, p. 169-203.
101. Oleński K., Suchocki T., Kamiński S. 2010. Inconsistency of association between growth hormone receptor gene polymorphism and milk performance traits in polish Holstein- Friesian cows and bulls. *Animal Science Papers and Reports*. 28: 229-234.

102. Oner Y., Elmaci C. 2006. Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *International Journal of Dairy Technology* 59, 3, 180-182.
103. Oprządek J., Dymnicki E., Oprządek A., Zwierzchowski L., 2006. Zależność pomiędzy polimorfizmem wybranych genów a użytkowością mleczną, długością okresu międzyocieleniowego i wskaźnikiem inseminacji krów rasy czarno-białej. *Nauka Gospodarcze*, 28–37.
104. Osten-Sacken A. 2009. Selekcja genomowa – rewolucja w hodowli. *Hoduj z głową*; nr 5-6.
105. Otaviano A.R., Tonhati H., Sena J.A.D., Munoz M.F.C., 2005. Kappa-casein gene study with molecular markers in female buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Genetics and Molecular Biology* 28, 2, 237-241.
106. Pereira A. P., M. M. de Alencar, H. N. de Oliveira, L. C. de Regitano. 2005. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. *Genetics and Molecular Biology*, 28: 23-30. <http://dx.doi.org/10.1590/ S1415-47572005000200009>.
107. Piech M., Tarkowski J. 2000. Produkcyjność krów cb z różnym udziałem genów hf użytkowanych w RZD Akademii Rolniczej w Lublinie. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, XVIII, 6, EE, 35-43.
108. Piekut M. 2011. Produkcja oraz konsumpcja mleka i wyrobów mleczarskich, *Przemysł Spożywczy*, nr 11, s. 26–30
109. Pilarska M. 2014. Wpływ pory roku i kolejnej laktacji na wydajność krów i parametry fizykochemiczne mleka. *Wiadomości Zootechniczne*, R. LII, 2: 3–12
110. Pipalia D.L., Ladani D.D., Brahmkshtri B.P., Rank D.N., Joshi C.G., Vataliva P.H., Solanki J.V. 2001. Kappa-casein genotyping of Indian buffalo breed using PCR-RFLP. *Buffalo Journey*, 2, 195-202.
111. Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka w Warszawie. Krajowy program hodowlany dla bydła rasy Polskiej Holsztyńsko – Fryzyskiej w Polsce Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka w Warszawie.
112. Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka. Region oceny Bydgoszcz. 2016. Wyniki oceny wartości użytkowej bydła mlecznego. Dane za rok 2015.
113. Popyt na żywność. Raporty Rynkowe. 1. (2000) IERiGŻ, Warszawa
114. Preś J., Bodarski R., Kinal S., Szulc T. 2004. Zasady żywienia wysokoprodukcyjnych krów mlecznych. WODR, Łosiów.
115. Prinzenberg E.M., Krause I., Erhardt G. 1999. SSCP analysis at the bovine CSN3 locus discriminates six alleles corresponding to known protein variants (A, B, C, E, F, G) and three new DNA polymorphisms (H, I, A1). *Animal Biotechnology*. 10: 49-62.
116. Rachagani S., Gupta I. D. 2008. Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. *Genetics and Molecular Biology*, 31, 4, 893-897. Brazil.

117. Radkowska I. 2012. Skład chemiczny oraz zawartość komórek somatycznych i mocznika w mleku krów w zależności od systemu utrzymania. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, T. 39, z. 2 (2012) 295–305
118. Ren D., Chen B., Chen Y., Miao S., Liu J., 2013. The effects of κ -casein polymorphism on the texture and functional properties of mozzarella cheese. *International Dairy Journal* 31, 65-69.
119. Riaz M.N., Malik N.A., Nasreen F., Qureshi J.A. 2008. Molecular marker assisted study of kappa-casein gene in Nili-Ravi (buffalo) breed of Pakistan. *Pakistan Veterinary Journal*, 285 (3), 103-106.
120. Rynek Mleka. Raporty Rynkowe. 21. 2001. IERiGŻ, Warszawa.
121. Sasavage, N. L., Nilson J. H., Horowitz S., Rottman F. M.. 1982. Nucleotide sequence of bovine prolactin messenger RNA. *The Journal of Biological Chemistry* 257: 678-681.
122. Sawa A. 1998. Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania użytkowości krów w poszczególnych okresach życia. Rozprawa habilitacyjna, ATR Bydgoszcz.
123. Shariflou M. R., Moran, C., Nicholas F. W. 2006. Association of the Leu (127) variant of the bovine growth hormone (bGH) gene with increased yield of milk, fat and protein in Australian Holstein- Friesian. *Australian Journal of Agricultural Research* 51: 515-522, 2006.
124. Sitkowska B., Neja W., Wiśniewska E. 2008. Relations between kappa-casein polymorphism (CSN3) and milk performance traits in heifer cows. *Journal of Central European Agriculture* 9 (4), 641–644.
125. Słomski R. (red.), 2004. Analiza DNA. Teoria i praktyka, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
126. Smith G. 2003. Dairy processing. Improving quality. Woodhead Publishing Limited. Cambridge.
127. Sorensen, P., Grochowska R., Holm L., Henryon M., Løvendahl P.. 2002. Polymorphism in the Bovine Growth Hormone Gene Affects Endocrine Release in Dairy Calves. *Journal of Dairy Science* 85: 1887–1893.
128. Stańko S. 2015, Skutki zniesienia kwot mlecznych. *Biuletyn Informacyjny*, nr 1/2015. Agencja Rynku Rolnego.
129. Stenzel R., Chabuz W., Ciastek K., Żelazik M. 2003. Wpływ wybranych czynników środowiskowych i genotypu na jakość i skład chemiczny mleka pozyskiwanego w gospodarstwach prywatnych Lubelszczyzny. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, XXI, 8, 55-62.
130. Stenzel R., Chabuz W., Pypeć M., Pietras U. 2001. Wpływ pory roku, przebiegu laktacji i wieku krów na liczbę komórek somatycznych w mleku. *Zeszyty Naukowe PTZ, Przegląd Hodowlany*, 55: 173–178.
131. Strzałkowska N., Krzyżewski J., Ryniewicz Z., 2000. Wpływ genotypu betalaktoglobuliny i kappakazeiny na wydajność, skład chemiczny i podstawowe parametry technologiczne mleka krów cb. *Przegląd Materiałów, Zootechnicznych* 56, 107–119.

132. Strzałkowska N., Krzyżewski J., Ryniewicz Z., Zwierzchowski L. 2002. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cow's age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports* 20 (1), 21–35.
133. Svennersten-Sjaunja K., Olsson K. 2005. Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 29, p. 241-258
134. Sznajder M. 2015, Likwidacja kwot mlecznych. *Biuletyn Informacyjny*, nr 1/2015. Agencja Rynku Rolnego.
135. Szulc T., Preś J., Dobicki A. 1995. Effects of supplemental fat for highyielding dairy cows at first stage of lactation on milk yield and composition. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 4, 83-93.
136. Teter W., 2011. Analiza kosztów produkcji mleka w gospodarstwie rodzinnym utrzymującym bydło mleczne. *Przegląd Hodowlany*, 6:19-20.
137. Threadgill D.W., Womack J.E. 1990. Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Research* 18: 6935-6942.
138. Topolski P., Choroszy B., Choroszy Z. 2008. Wpływ poziomu produkcji krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej na wytrzymałość laktacji i długość okresu międzycieleniowego. *Roczniki Naukowe Zootechniki*, T. 35, z. 2 (2008) 93–99.
139. Tsiaras A.M., Bargouli G.G., Banos G., Boscus C.M. 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta -Lactoglobulin Loci on Milk Production Traits and Reproductive Performance of Holstein Cows. *Journal of Dairy Science* 88, 327–334.
140. Tsioulpas A., Grandison A.S., Lewis M.J. 2007. Changes in Physical Properties of Bovine Milk from the Colostrum Period to Early Lactation. *Journal of Dairy Science*, 90, 5012-5017.
141. Vukasinovic N., Denise S.K., Freman A.E. 1999. Association of growth hormone loci with milk yield traits in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science* 82, 788-794.
142. Walawski K., Sowiński G., Czarnik U., Zabołewicz T. 1994. β -lactoglobulin and κ -casein polymorphism in relation to production traits and technological properties of milk in the herd of Polish Black and White cows. *Genealogia Polska* 35 (1–2), 93–108.
143. Węgleński P. (red.), 1996. *Genetyka molekularna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
144. Wolanciuk A. 2015. Związek wariantów genetycznych β -laktoglobuliny i κ -kazeiny z wydajnością i składem chemicznym mleka krów czterech ras. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 11 (2015), nr 1, 21-32.
145. Wroński M., Jarmuż W., Skrzypek R. 2007. Factors associated with the levels of somatic cells and microorganisms in bulk tank milk. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. Vol. 57,4.

146. Yan Gukovna N. I., Vasilievich Zayakin V., Vladimirovich Drozdov E. 2014. Allelic Polymorphism of the Somatotropin Gene among Holstein-Friesian Breed in the Livesock Farming in the Bryansk Region. *World Applied Sciences Journal* 30 (7): 802-805.
147. Yardibi H., Hosturk G. T., Paya I., Kaygisiz F., Ciftioglu G., Mengi A., Oztabak K.. 2009. Association of growth hormone gene polymorphisms with milk production traits in South Anatolian and East Anatolian Red Cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8:1040–1044. <http://dx.doi.org/10.3923/javaa>.
148. Ziemiński R., Adamski M., Krym J., Czarnik U., Zabolewicz T., Walawski K. 2004. Wydajność i skład mleka krów wysoko wydajnych w zależności od zawartości komórek somatycznych i kolejności laktacji. *Zeszyty Naukowe Przeglądu Hodowlanego*, 74, 209-215.
149. Ziemiński R., Ćwikła A. 2006. Wpływ systemu utrzymania krów na wydajność i jakość higieniczną mleka. LXXI Zjazd PTZ w Bydgoszczy. Sekcja Chovu i Hodowli Bydła. *Komunikaty naukowe*, zesz. I. str. 40.
150. Ziemiński R., Juszczak J., Czarnik U., Ćwikła A., Zabolewicz T., Walawski K. 2005. Związek między polimorfizmem białek mleka i zrośnicowaniem wydajności oraz składu mleka krow utrzymywanych w stadzie bydła rasy czarno-białej kombinatu rolnego Kietrz. *Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica* 4 (1), 163–170.
151. Żmija D. 2006. Sytuacja polskiego sektora mleczarskiego w warunkach integracji z Unią Europejską. *Zeszyty Naukowe Akademii Ekonomicznej w Krakowie*, 709, 125-137.

Analiza wpływu polimorfizmu wybranych genów na wydajność mleczną oraz zawartość białka w mleku krów

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu polimorfizmu wybranych genów na wydajność mleczną oraz procentową zawartość białka, tłuszczu i suchej masy w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej utrzymywanych w dwóch systemach w województwie kujawsko-pomorskim. Analizowanymi genami były: kappa-kazeina, Betalaktoglobulina, hormon wzrostu oraz prolaktyna. Badane cechy były analizowane pod kątem systemu utrzymania oraz kolejnych laktacji.

Badaniami objęto 299 krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, utrzymywanych w dwóch stadach. Pierwsze z nich utrzymywane było alkierzowo, drugie zaś wolnowybiegowo. Dane dotyczące użytkowości mlecznej badanych zwierząt uzyskano z dokumentacji hodowlanej prowadzonej przez hodowców. Do badań wykorzystano pobraną krew, z której wyizolowano DNA, poddano je amplifikacji przy użyciu metody PCR, a następnie określono genotypy przy użyciu metody PCR-RFLP.

Analizując gen kappa-kazeiny odnotowano trzy genotypy w każdym z badanych stad. Najwyższą wydajnością charakteryzowały się osobniki o genotypie AA utrzymywane wolnowybiegowo. W stadzie alkierzowym, najwyższe wartości zaobserwowano u krów heterozygotycznych. Najwyższą zawartością białka w mleku cechowały się zwierzęta o genotypie BB w obu stadach.

W badaniu polimorfizmu genu betalaktoglobuliny również odnotowano trzy warianty genetyczne w obu stadach. Najwyższą wydajność mleczną zaobserwowano u krów heterozygotycznych utrzymywanych alkierzowo, natomiast w stadzie wolnowybiegowym najwyższe wartości odnotowano u krów o genotypie AA. Najwyższym procentowym udziałem białka charakteryzowały się wszystkie krowy utrzymywane alkierzowo, jednocześnie stwierdzono u zwierząt o genotypie AA najwyższy udział tłuszczu w mleku.

Biorąc pod uwagę polimorfizm genu hormonu wzrostu, również odnotowano obecność wszystkich trzech genotypów, jednak genotyp VV występował bardzo rzadko. Najwyższą wydajnością charakteryzowały się zwierzęta o genotypie VV. Najwyższy procentowy udział białka odnotowano w mleku krów o genotypie LV, utrzymywanych alkierzowo.

Stado utrzymywane alkierzowo zanalizowano dodatkowo pod kątem polimorfizmu prolaktyny przy użyciu enzymu restrykcyjnego *XbaI*. Wykryto trzy warianty genetyczne, spośród których krowy o genotypie AA charakteryzowały się najwyższą wydajnością mleczną. Natomiast, u osobników o genotypie BB odnotowano najwyższy procentowy udział białka i tłuszczu w mleku.

W zależności od systemu utrzymania zwierzęta o tym samym genotypie przejawiają inne tendencje badanych cech. Mimo tego, umiejętna selekcja genomowa pozwala na wyhodowanie zwierząt o najbardziej pożądanym zestawie genów, które będą produkowały zadowalające ilości mleka o jak najwyższej jakości.

Analysis of the influence of polymorphism selected genes on milk yield and protein content in cows milk

Summary

The aim of the study was to determine the influence of polymorphism selected genes on milk yield and percentage of protein, fat and dry matter content in Holstein-Friesian cow's milk which were kept in two herds in Kuyavian and Pomeranian province. The kappa-casein gene, the betalactoglobulin gene, the growth hormone gene and the prolactin gene were analysed in the experiment. The examined features were analysed in terms of the housing system and the lactation order.

The study was conducted of 299 Holstein-Friesian cows black-and-white variety. The animals were kept in two herds. First herd was kept indoor while the second one - outdoor. The data about milk utility of studied animals were obtained from breeding documentation of the farms. The blood collected from the animals were used for the study. The DNA was isolated and then was amplified using PCR method. After that the genotypes were described using PCR-RFLP method.

During the analysis of kappa-casein gene were observed three genotypes in each tested herds. The highest milk yield were characterized by the individuals with AA genotype kept outdoor. In the herd kept indoor the highest values were observed in heterozygous cows. The highest protein content in milk was noted in BB cows in both herds.

The polymorphism of betalactoglobulin gene also was noted three variants of genotypes in both herds. The highest milk yield was observed in heterozygous cows kept indoor while in the outdoor herd the highest values were noted in milk cows with AA genotype. The highest percentage of protein content was characterized in all of tested cows kept indoor and simultaneously the animals with AA genotype had the highest fat content in milk.

Taking into account the polymorphism of growth hormone gene also were observed three genotypes but the VV genotype occurred very rare. The highest milk yield was characterized in the animals with VV genotype. The highest percentage of protein content was observed in milk of cows kept indoor with the LV genotype.

Additionally, the indoor herd was analysed in terms of the polymorphism of prolactin gene using xbaI restriction enzyme. There were tree genetic variants of which the cows with AA genotype had the highest milk yield.

Whereas in individuals with *BB* genotype observed the highest protein and fat content in milk.

Depending on the housing system the animals with the same genotype showed different tendency of testing features. Despite this, the competent genomic selection allows to breed animals with the most desirable genes set, which will produce satisfactory milk yield with the highest quality.