

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA
V NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

2124007

**PRODUKCIA, KVALITA A GENOTYP BIELKOVÍN
MLIEKA PRI DIFERENCOVANÝCH ÚŽITKOVÝCH
TYPOCH HOVÄDZIEHO DOBYTKA**

2011

Bc. Zuzana Gálová

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V
NITRE
FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**PRODUKCIA, KVALITA A GENOTYP BIELKOVÍN
MLIEKA PRI DIFERENCOVANÝCH ÚŽITKOVÝCH
TYPOCH HOVÄDZIEHO DOBYTKA**

Diplomová, práca

Študijný program:	Technológia potravín
Študijný odbor:	4170800 Spracovanie poľnohospodárskych produktov
Školiace pracovisko:	Katedra fyziológie živočíchov
Školiteľ:	prof. Ing. Jozef Bulla, DrSc.

Čestné vyhlásenie

Podpísaná Zuzana Gálová vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Produkcia, kvalita a genotyp bielkovín mlieka pri diferencovaných úžitkových typoch hovädzieho dobytká“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 25. marca 2011

Bc. Zuzana Gálová

Pod'akovanie

Touto cestou by som chcela vyjadriť pod'akovanie vedúcemu diplomovej práce prof. Ing. Jozefovi Bullovi, DrSc. za odbornú, metodickú, technickú pomoc a cenné rady, ktoré mi poskytol pri spracovaní diplomovej práce.

Abstrakt

Diplomová práca bola orientovaná na využitie poznatkov o polymorfizme bielkovín mlieka a genetickej štruktúre vybratej časti populácie hlavných plemien hovädzieho dobytku chovaných na Slovensku v rovnakých klimatických a výrobných podmienkach. Cieľom práce bolo charakterizovať mliekovú úžitkovosť stáda slovenského pinzgauského, slovenského strakatého a holštajnského plemena v PD Smrečany ako reprezentatívnu vzorku týchto plemien podľa oficiálnej kontroly úžitkovosti Plemenárskych služieb SR, š. p. V hodnotenej populácii využiť existujúce poznatky metód molekulárnej biológie pri polymorfizme zloženia bielkovín mlieka v systémoch α S1-kazeínu (CSN1S1), β -kazeínu (CSN2), κ -kazeínu (CSN3) a β -laktoglobulínu (LGB) vo vzťahu ku kvalitatívnym a kvantitatívnym vlastnostiam mlieka. Súčasne a hlavne sme sa orientovali na vybrané ukazovatele primárnej technologickej kvality mlieka. V práci je uvedená genotypová a génová štruktúra hodnoteného súboru na základe frekvencií alel a ich kombinácií. Z hľadiska hlavného cieľa práce, kde boli hodnotené primárne technologické parametre kvality mlieka (sušina, beztuková sušina, bielkoviny, nebielkovinové dusíkaté látky, kazeín, srvátkové bielkoviny a kazeínové číslo) boli dosiahnuté výsledky vo vzťahu k doteraz publikovaným záverom rozdielne. Štatisticky významné boli predovšetkým diferencie v obsahu sušiny, BTS, kazeínu či selektívne kazeínového čísla. Je predpoklad, že práve rovnaké chovateľské podmienky a hlavne výživa dojníc má neutralizačný vplyv na existujúce genotypové rozdiely.

Kľúčové slová: mlieko, kvalita, genotyp, polymorfizmus, hovädzí dobytok

Abstract

The thesis was directed to use the knowledge on milk protein polymorphism and the genetic structure of selected parts of populations the main cattle breeds raised in Slovakia in the same climatic and production conditions. The goal of the work was to characterize milk production of animals herd Slovak Pinzgau, Slovak Spotted and Holstein breeds in PD Smrečany as a representative sample of these breeds under official control of breeding performance of a Breeding Service of SR, s. c. The stock assessment methods use existing knowledge of molecular biology in the composition of milk protein polymorphism in systems α S1-casein (CSN1S1), β -casein (CSN2), κ -casein (CSN3) and β -lactoglobulin (LGB) in relation to qualitative and quantitative characteristics of milk. At the same time and in particular we have focused on selected primary characteristics of technological quality of milk. In the work is given genotype and gene structure of evaluated animals on the basis of a set of allele frequencies and their combinations. From the view of the main objective of the work, where they were evaluated primarily technological parameters of milk quality (dry matter, non-fat-solids, protein, non-protein nitrogen, casein, whey protein and casein number) have achieved different results in relation to previously published findings. Statistically significant differences were mainly in the dry matter content, NFS, casein or selectively in the casein number. It is expected that precisely the same environmental conditions and nutrition of dairy cows in particular has a neutralizing effect on the existing genotypic differences.

Key words: milk, quality, genotype, polymorphism, cattle

Obsah

Obsah.....	6
Zoznam skratiek a značiek.....	8
Úvod.....	9
1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky.....	10
1.1 Bielkoviny mlieka ich význam a funkcie v organizme.....	11
1.2 Polymorfizmus a vlastností bielkovín mlieka a technologické vlastnosti.....	12
1.3 Genetický polymorfizmus génov mliečnych proteínov ovplyvňujúci zdravie a produkčné znaky u farmových zvierat.....	14
1.4 Vplyv markerov κ -kazeínu na parametre mliečnej úžitkovosti.....	17
1.5 Využitie genotypov κ -kazeínu a β -laktoglobulínu pri odhade plemennej hodnoty a selekcie podľa genetických markerov.....	18
1.6 Beta kazeín a ľudské zdravie.....	20
1.7 Alergény a nestráviteľnosť mlieka.....	21
2 Cieľ práce.....	24
3 Metodika práce a metódy skúmania.....	25
3.1 Charakteristika hodnotených plemien.....	25
3.1.1 Slovenské strakaté plemeno.....	25
3.1.2 Slovenské pinzgauské plemeno.....	26
3.1.3 Holštajnské plemeno.....	27
3.2 Stručná charakteristika poľnohospodárskeho podniku.....	27
3.3 Biologický materiál.....	28
3.4 Chovateľské podmienky.....	28

3.5 Zdroje primárnych informácií o mliekovej úžitkovosti.....	29
3.6 Odber a spracovanie vzoriek krvi a mlieka.....	29
3.7 Matematicko-štatistické spracovanie a vyhodnotenie výsledkov.....	29
4 Výsledky práce a diskusia.....	31
Záver.....	43
Zoznam použitej literatúry.....	46
Prílohy.....	54

Zoznam skratiek a značiek

IDF	International Dairy Federation (Medzinárodná mliekárska federácia)
FAO	Food and Agriculture Organisation (Svetová organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo)
WHO	World Health Organisation (Svetová zdravotnícka organizácia)
CSN1S1	alfa S1 kazeín
CSN2	beta kazeín
CSN3	kappa kazeín
LGB	beta laktoglobulín
DNA	deoxyribonukleová kyselina
BTS	beztuková sušina
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polymerázová reťazová reakcia)
RFLP	Restriction Fragment Long Polymorphism (Polymorfizmus dĺžky reštrikčných fragmentov)
MAS	Marker Assisted Selection (Markerom podporovaná selekcia)
SP	Slovenské pinzgauské plemeno
SS	Slovenské strakaté plemeno
H	Holštajnské plemeno
AA, AB, BB, BC, BD	genotypy jednotlivých bielkovín mlieka

Úvod

Mlieko ako základná potravinu vo výžive človeka a cicavcov je nakoľpletnejší pokrm aký stvorila príroda – píše už Hipokrates. Mlieko je súčasne významná surovina a obchodný artikel. Denná produkcia kravského mlieka je komoditou, ktorá výrobcovi (farmárovi) poskytuje a zabezpečuje pravidelný zdroj finančných prostriedkov. O význame a dôležitosti produkcie mlieka, ktorá rozhoduje o efektívnosti chovu hovädzieho dobytku by bolo možné uvádzať aj ďalšie aktivity a hodnotenia.

V diplomovej práci sa chceme sústrediť na charakterizovanie niektorých vzťahov medzi genetickými faktormi, ktoré predstavujú plemená hovädzieho dobytku, genotypy jednotlivých hlavných bielkovín mlieka a mlieková úžitkovosť.

Predmetom je tiež hodnotenie kvalitatívnej stránky laktácie podľa množstva a obsahu bielkovín, tuku a tiež analýzy funkčných zložiek bielkovinovej frakcie mlieka. Cieľom je finálna kvalita produkovaného mlieka ako rozhodujúcej nezastupiteľnej zložky výživy človeka i ostatných cicavcov. Práve kvalita musí byť určujúcim faktorom prvovýroby mlieka i spracovateľského priemyslu. Dôvodom sú tiež významné ekonomické zmeny, nestabilita výroby a kolísanie cien mlieka na svetových trhoch. V roku 2009 svetová výroba mlieka klesla, vysoké vstupné náklady a nízke ceny za mlieko boli príčinou zníženia počtu chovaných dojníc v SR napriek rastúcej úžitkovosti o +242 kg (priemer 6850 kg na kravu a rok). V roku 2010 došlo k miernej stabilizácii cien a rastu svetovej výroby mlieka približne o 2 %. Je predpoklad, že podľa IDF a FAO by táto situácia mala byť približne rovnaká aj v roku 2011. Rozhodujúce kritérium pre mlieko a mliečne výrobky je a bude kvalita primárnej suroviny. Diplomová práca chce na niektoré aspekty tohto procesu poukázať.

1 Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky

Poznanie genetických, fyziologických a technologických faktorov produkcie mlieka, premenlivosti jednotlivých zložiek, ich zloženia umožňujú cieľavedomé šľachtenie zvierat pre špecifické využitie v rôznych chovateľských systémoch a podmienkach. Práve z týchto dôvodov boli v šesťdesiatych rokoch minulého storočia (Plesník, 1976) vypracované a realizované rozsiahle plemenárske programy, ktorých cieľom bolo významne zvýšiť kvantitatívnu i kvalitatívnu úroveň mliekovej úžitkovosti pri u nás chovaných plemenách. Boli použité dve hlavné metódy plemenitby – čistokrvná a kríženie. Pri čistokrvnej plemenitbe boli vytvárané stáda slovenského strakatého a slovenského pinzgauského plemena v súlade s chovným cieľom a štandardom, ktoré mali byť východiskovou populáciou pre 2. etapu programu ich zošľacht'ovania krížením s vysokovýkonnými európskymi a svetovými plemenami mliekového úžitkového typu (Ayrshire, Yersey, nížinný čierno a červenostrakatý dobytok z Nemecka, Holandska, Veľkej Británie, dánske červené plemeno a holštajnsko-frízske plemeno z USA a Kanady). Na základe využitia rôznych modelov a postupov kríženia na konci XX. storočia bola na Slovensku chovaná moderná a vysokovýkonná populácia slovenského strakatého a slovenského pinzgauského plemena v kombinovanom mliekovo-mäsovom úžitkovom type a holštajnskeho plemena mliekového typu. Tento významný šľachtiteľský výsledok predstavoval sebestačnosť v množstve vyprodukovaného mlieka pre potreby výživy obyvateľstva SR, kŕmne účely hospodárskych zvierat i export niektorých mliekarských komodít (maslo, sušené mlieko, vybrané druhy syrov) na európske a svetové trhy. Slovenská republika v tomto období v prepočte na obyvateľa a rok mala spotrebu 243 litrov mlieka. V súčasnosti žiaľ tento ukazovateľ ekonomicko-produkčnej výkonnosti živočíšnej výroby i kvalitatívnej hodnoty spotrebného koša predstavuje len 137 litrov mlieka na obyvateľa rok. Je to najnižšia spotreba mlieka v Európe (Bulla et al., 2010).

Ďalším pozitívnym efektom využívania moderných úžitkových typov hovädzieho dobytká je zvýšenie obsahových zložiek mlieka – tuk, bielkoviny, laktóza. Dôraz pri nákupe surového kravského mlieka v súčasnosti mliekárne dávajú na obsah bielkovín.

1.1 Bielkoviny mlieka ich význam a funkcie v organizme

Mlieko je prvým pokrmom, s ktorým sa na začiatku postnatálneho života stretne každý cicavec. Mlieko je výživový produkt komplexne zabezpečujúci všetky potravinové požiadavky mláďat. Živiny mlieka (bielkoviny, tuk, minerálne látky, vitamíny, cukry) sú charakterizované vysokou vybilancovanosťou, využiteľnosťou (80-100%) a biologickou hodnotou. Používanie mlieka pozitívne vplyva na udržiavanie živej hmotnosti, znižuje riziko chorôb srdca, nedokrvenia mozgu, vzniku cukrovky a osteoporózy.

Mliečne bielkoviny majú aminokyselinové zloženie podobné ostatným bielkovinám v organizme človeka. Okrem funkcie základnej živiny sú prekurzormi biologicky aktívnych peptidov, ktoré spolu so zodpovednými receptormi môžu regulovať fyziologické funkcie organizmu. Sú to fragmenty iných bielkovín uvoľňované vplyvom proteolytických enzýmov. Jednoduché i zložité peptidy modifikované v dôsledku glykolyzácie, fosforylácie alebo acylácie aminokyselinových zvyškov môžu vplyvať na znižovanie krvného tlaku, stimulovať aktivitu imunologických odpovedí, viazať a transportovať kovy a mikroelementy.

Tab. 1 Hlavné bielkoviny mlieka a ich funkcie (podľa rôznych autorov)

Bielkovina	Obsah v mlieku g.l ⁻¹	Funkcia
Kazeín	28,0	Prekurzor bioaktívnych peptidov, nosič iónov Ca, P, Fe, Zn, Cu
Imunoglobulíny A, M, G	0,7	Podpora imunitného systému
Albumín	0,4	Inhibitor depeptidylpeptidázy
β -laktoglobulín	3,3	Nosič retinolu, mastných kyselín, antioxidant
α -laktoalbumín	3,2	Imunomodulačný účinok, antirakovinový, nosič Ca, Zn, Mn, Co, účasť na syntéze laktózy
Laktoferín	0,1	Antibakterijný, antioxidant, antirakovinový, imunomodulačný účinok, absorpcia Fe
Laktoperoxidáza	0,03	Antibakterijný účinok

Srvátkové bielkoviny vo vzťahu k bohatému aminokyselinovému zloženiu, hlavne obsahu izoleucínu, leucínu, treonínu a tryptofánu sú charakteristické vysokou výživovou hodnotou, ktorá je vyššia ako pri kazeíne, vaječnom bielku, mäse ošípaných či sóji. Majú tiež antioxidantné vlastnosti. Využitelnosť exogénnych aminokyselín srvátky je na úrovni 93 – 95 %. Glutathion, ktorý vzniká na báze sírnych aminokyselín srvátky inhibuje toxické superoxidy. Významné sú opioidné a agonistické účinky β -laktorfínu a α -laktorfínu, ktoré vznikajú z β -laktoglobulínu a α -laktoglobulínu. Môžu tiež podporovať zníženie krvného tlaku. α -laktoglobulín má schopnosť viazať ióny vápnika, zinku, horčíka, kobaltu a spolupôsobí pri apoptóze rakovinových buniek. β -laktoglobulín viaže dlhoreťazcové mastné kyseliny a stimuluje aktivitu lipáz. Komplex bielkovín získaných z mledziva kráv a oviec nazvaný ako kolostrín má imunoregulačné vlastnosti, spomaľuje odumieranie nervových buniek v mozgu a ukladaniu v nich β -amyloidu čo vytvára nádej na liečenie prípadne spomalenie priebehu Alzheimerovej choroby. Peptidy vznikajúce z bielkovín mlieka majú viaceré formy aktivity napr. imunomodulačné, opioidné, antihypertonické a pod. Spolu s vápnikom a horčíkom prispievajú regulačne na sekréciu inzulínu. Majú tiež regulačné vlastnosti v metabolizme cukrov a tukov čím prispievajú k znižovaniu obezity a vzniku diabetu 2. typu.

1.2 Polymorfizmus a vlastnosti bielkovín mlieka a technologické vlastnosti

Výživová hodnota mlieka je determinovaná predovšetkým celkovým obsahom bielkovín. O kvalite a technologických vlastnostiach mlieka rozhoduje podiel jednotlivých geneticky podmienených frakcií bielkovín. Množstvo, kvalita a funkcia frakcií je dedičná vlastnosť charakterizovaná genetickým polymorfizmom (Szulc, Szarek, Bulla, 2011).

Výsledky mnohých výskumov potvrdzujú existenciu vzťahov medzi polymorfizmom bielkovín mlieka a produkciou, chemickým zložením, fyzikálnochemickými vlastnosťami, vhodnosťou pre technologické spracovanie a produkciou finálnych mliekarenských výrobkov. Výsledky výskumu, pri ktorých boli hodnotené jednoduché korelácie medzi génmi bielkovín mlieka a génmi kvantitatívnych

vlastností sú často rozporné. Je to spojené často s efektmi viacerých génov a tiež so skutočnosťou, že jednotlivé vlastnosti sú kódované génmi na rôznych chromozómoch. Bolo dokázané, že dojnice s B alelami β -laktoglobulínu, κ -kazeínu a β -kazeínu v porovnaní s A alelami v genotype majú vyšší obsah dusíkatých látok a lepšie koagulačné vlastnosti mlieka. Táto genetická predispozícia je využívaná predovšetkým v syrárstve. V týchto súvislostiach je venovaná významná pozornosť κ -kazeínu CSN3 (Litwinczuk et al., 2006).

Genetické varianty spojené s úrovňou úžitkovosti a vhodnosti mlieka pre spracovanie na syry sú v stálej pozornosti výskumu (Bobe et al., 1999; Martin et al., 2002; Lechniak et al., 2002; Chrenek et al., 2003; Michalcová a Krupová, 2007). Uvedení autori konštatujú, že mlieko s typom B κ -kazeínu má vyšší obsah bielkovín, tuku a srvátkových bielkovín. Je charakterizované aj lepšimi parametrami zrážania a procesu koagulácie v porovnaní s mliekom typu A κ -kazeínu. Bolo dokázané, že mlieko získané od kráv s genotypom CSN3 BB a AB v porovnaní s genotypmi AA má o 10-30 % kratší čas koagulácie o 20 až 100 % vyššiu výťažnosť syreniny, vyššiu tepelnú stabilitu a o 5 – 8 % vyššiu produkciu čerstvého i zrelého syra typu parmezán a čedar (Szymańska et al., 2010).

Väčšina autorov zdôrazňuje významný vplyv na obsah zložiek mlieka genetických variantov β -laktoglobulínu (LGB). Pri tejto bielkovine mlieka sú však viaceré výsledky rozdielne (Litwinczuk et al., 2006). Prevláda názor, že vyššia mlieková úžitkovosť je pri zvieratách genotypu β -LG AA, vyššie % tuku a srvátkových bielkovín majú jedince genotypu β -LG BB. Molina et al., (2006) sledovali vplyv polymorfizmu LGB na vlastnosti mlieka vo vzťahu k jeho vhodnosti pre produkciu syrov. Zistili, že mlieko pochádzajúce od kráv s genotypom LGB BB má najnižšie hodnoty času zrážania a vyšší obsah vápnika. Výťažnosť syreniny bola pri variantoch B vyššia o 5 % v porovnaní s variantmi A. Iné poznatky má Czerniawska-Piatkowska a Kamieniecki (2004). Konštatujú, že mlieko od kráv s genotypom LGB AA je surovina s vyšším obsahom srvátkových bielkovín i celkových N-látok a čas koagulácie je kratší.

1.3 Genetický polymorfizmus génov mliečnych proteínov ovplyvňujúci zdravie a produkčné znaky

Množstvo proteínov a zloženie mlieka sú vysokými kritériami pri hodnotení chovnej hodnoty a selekčných programov u dojníc. Okrem pokroku v zvyšovaní hodnoty týchto znakov kvantitatívnou genetikou (zvierací model), bola stále pozorovaná relatívne vysoká vnútrodruhová variácia. Vysvetlenia pre zvyšky takýchto variácií boli subjektom molekulárnej genetiky HD spustenej objavením polymorfizmu génov kódujúcich mliečne proteíny po prvé β -laktoglobulín (LGB) Aschaffenburg a Drewry (1955), a neskôr α S1-kazeín (CSN1S1), α S2-kazeín (CSN1S2), β -kazeín (CSN2), κ -kazeín (CSN3) a α -laktalbumín (LALBA) (Eigel et al., 1984).

Aplikácia škrobovej a polyakrylamidnej elektroforézy na identifikáciu proteínových variant začali prvú vlnu širokej škály vyšetrení rozdielnych plemien HD. Výsledky získané počas viac ako 30 ročného celosvetového výskumu ukázali, že polymorfizmus κ -kazeínu je v korelácii s niektorými technologickými vlastnosťami, menovite čas koagulácie, pevnosť tvarohu a výnos syra (Walawski et al., 1994).

Aplikácia týchto výsledkov v šľachtiteľských programoch dojníc (genotypovanie A1 býkov) sa stala skutočnosťou vďaka výskumu Stewart et al., (1984), ktorí objavili kódujúce sekvencie a neskôr genómové sekvencie pre niektoré mliečne proteíny. Na začiatku 90 rokov niekoľko výskumných skupín objavilo nové metódy umožňujúce genotypizáciu mliečnych proteínov na úrovni DNA: Southern blotting, PCR-RFLP (*HindIII*, *Hinfl*, *HaeIII*), ACRS, SSCP, alelovo špecifická PCR, sekvenovanie DNA a multiplexnested PCR z jedinej spermie (Lien et al., 1993).

Kaminski (1998) určil postup genotypovania κ -kazeínu u býkov, ktorý bol súčasťou trojročného pokusného projektu na zavedenie CSN3 genotypu do šľachtiteľského programu u poľského čierneho-bieleho dobytku. Podobné projekty sa uskutočnili v mnohých komerčných A1 šľachtiteľských staniach po celom svete (ABS, Holland Genetics, Federal Genetics, 21st Century Genetics, CIAG, atď.). Program bol zastavený v roku 1997, kvôli organizačným obmedzeniam a slabému záujmu mliekarní.

Ďalšia vlna výskumu sa sústredila na detekciu polymorfizmu vnútri regulačných sekvencií génov mliečnych proteínov. Tento výskum sa zakladal na predpoklade

variácie vo fyzických a chemických vlastnostiach mliečnych proteínov možno determinovaných kódovaním sekvenčného polymorfizmu. Kvantitatívne variácie boli determinované mutáciami génových fragmentov, ktoré regulujú expresiu génov mliečnych proteínov, hlavne 5' oblastiach. Tento krok viedol k objavu mnohých polymorfizmov v 5' oblastiach mliečnych proteínov (Geldermann et al., 1996).

Kaminski (2000) použil niektoré z týchto polymorfizmov pri genotypovaní stáda čierneho-bieleho dobytká pre 6 polymorfných miest lokalizovaných na exóne 3 β -laktoglobulínového génu, exón 4 pre κ -kazeínový gén a tiež 5' oblasť génov kódujúcich β -laktoglobulín, κ -kazeín, α S₁-kazeín a α -laktalbumín. Objavil štatisticky preukazné rozdiely medzi genotypmi a intragénnymi haplotypmi pri κ -kazeínovom lokuse. Kaminski a Zabolewicz (2000) objavili štatisticky preukazné rozdiely medzi genotypmi a intragénnymi haplotypmi β -laktoglobulínového lokusu a úplnú proteínovú skladbu mlieka.

Kaminski et al., (2002) robili štúdie na býkoch schválených pre šľachtenie a poukazujú, že niektoré kombinácie alel sú korelované so šľachtiteľskou hodnotou pre významné mliečne znaky. Pokračuje sa v hľadaní funkčných polymorfizmov vo vnútri regulačných sekvencií génov mliečnych proteínov.

Prinzenberg et al. (2003) zistili niekoľko polymorfizmov vo vnútri 5' oblasti α S₁-kazeínového génu silne korelujúcich s proteínovým obsahom v mlieku. Tretia vlna výskumu sa zamerala na hľadanie rozdielov u transkripčných faktorov záväzne spôsobených bodovými mutáciami promótorov génov mliečnych proteínov. Obzvlášť práca Lundéna et al., (1997) pre LGB gén a Martina et al., (2002) pre α S₁-kazeín a α S₂-kazeín ukázala, že tieto vplyvy by mohli byť skutočnosťou.

Teoreticky pri interakcii transkripčného faktora a nukleotidovej sekvencie, dva komponenty môžu byť rovnako významné. Zmeny transkripčného faktora s väzbou na promótery môžu mať za následok mutácie týchto promótorov a modifikácie v kvantite, štruktúre a vlastnostiach transkripčných faktorov, ktoré môžu mať striedavo za následok zmenu v štruktúre génov kódujúcich tieto faktory. Počítačovými analýzami záväzných miest transkripčného faktora vo vnútri promótorov génov mliečnych proteínov Malewski (1998) ukázal potenciálne záväzné miesta pre niekoľko transkripčných faktorov,

špecifické pre jeden alebo mnoho promóterov mliečnych proteínov a taktiež špecifické pre odlišné laktačné fázy.

Pri štúdiu komplexu transkripčných aktivít, je potrebné uvedomiť si, že analýza vplyvu jedného transkripčného faktora je zjednodušovaním. Potvrdili to Doppler et al., (2000), ktorí našli oba synergické a antagonistické interakcie pre niekoľko transkripčných faktorov týkajúcich sa promótera β -kazeínového génu.

Mosing et al., (2001) zobrazili úplný genóm HD so 138 dinukleotidovými mikrosatelitmi a objavili 61 markérov indikujúcich potenciálnu QTL pre tento znak. Kvalitné mapovanie genómu sprevádzané porovnateľnými genómami môže urýchliť pozičné klonovanie týchto génov. Dá sa povedať, že ten istý efekt podstatne zvyšujúci proteínový obsah mlieka sa dá dosiahnuť umelým zavedením dodatočných kópií génov kódujúcich CSN2 a CSN3 do fibrioblastov jadrovým transferom (Brophy et al., 2003). Otázkou je ako stabilné sú transgény a či sa budú dediť počas budúcich generácií pre umožnenie prirodzenej reprodukcie transgénneho dobytká.

Koncom 90-tych rokov štvrtá vlna vo výskume génov mliečnych proteínov vychádza zo zvláštnej správy navrhujúcej spotrebu kazeínového variantu ako rizikového faktoru 1. typu (inzulínová závislosť) *diabetes mellitus* a ischemické ochorenie srdca u ľudí (Mc Lachlan, 2001). Objavil sa názor, že β -kazeínový A1 variant a bioaktívny peptid β -kazomorfin-7 môžu zohrávať určitú rolu pri raste ochorení. Taktiež vzťah β -kazomorfinu k syndrómu náhleho úmrtia mláďať (SIDS) (Sun et al., 2003). Hypotézou autorov bolo, že prienik β -kazomorfinu do nevyvinutého centrálného nervového systému mláďaťa môže inhibovať dýchacie centrum v mozgu, vedúce k SIDS, najčastejšej príčine úmrtiu mláďať.

Je nevyhnutný ďalší výskum zvierat a klinických znakov pre porovnanie rizík ochorení z mlieka bez A1 oproti bežnému mlieku. Bolo by žiadúce zvýšiť frekvenciu žiadúcej CSN2 A2 alely, môže to byť však obtiažna úloha kvôli stabilnému nárastu frekvencie nežiadúcej β -kazeínovej A1 alely u dojníc toho istého faktora, ktorý limitoval praktickú aplikáciu κ -kazeínovej B alely.

Ďalším potenciálnym účinkom polymorfizmu mliečnych proteínov na ľudské zdravie je jeho vzťah k mliečnej precitlivenosti. Bolo nájdených mnoho epitopov pre IgE a IgG, tiež vnútri polymorfných miest pre CSN2, CSN3, LGB (Gobbetti et al.,

2002). Množstvo údajov môže byť využitých na vylepšenie proteínového obsahu mlieka a tiež na identifikáciu kráv a býkov dediacich SNPs pre ich potencionálne využitie pri výrobe nových mliečnych produktov.

Niektorí autori predpokladajú, že existujú vzťahy medzi polymorfnými variantmi β -LG a odolnosťou kráv k mastitídám. Prevažne variant BB β -laktoglobulínu je spájaný s nižším výskytom somatických buniek (Litwinczuk et al., 2006). Už v roku 1983 Han et al., (1983) zistili opačnú tendenciu. Kravy holštajnského plemena s alelou A pre β -LG sú odolnejšie proti mastitíde ako dojnice s alelou B. V prípade κ -CSN3 nezistili vplyv genetických variant na citlivosť k mastitíde.

1.4 Vplyv markerov κ -kazeínu na parametre mliečnej úžitkovosti

Markermi podporovaná selekcia (MAS) je vhodným dodatkom k existujúcim selekčným postupom, lebo genetické markery korelujú s úžitkovými vlastnosťami zvierat, odčerpávajú určitý podiel rozptylu a umožňujú presnejší odhad plemennej hodnoty (Flak, 2000). Obzvlášť sa jedná o vzťah polymorfizmu markerov k rozdielom v úžitkovosti zvierat (Knoll; Urban, 2002). Začlenením informácie o genetickom markere je do kvantitatívnej vlastnosti zahrnuté nové selekčné hľadisko, čím dochádza k spresneniu odhadu súhrnej plemennej hodnoty a zvýšeniu účinnosti vykonanej selekcie (Haley, 1995). Pre zistenie podielu markera na premenlivosti daného znaku je vhodné použiť populačnú štruktúru granddaughter desing Weller et al., (1990).

Kazeíny tvoria prevažný podiel mliečnych proteínov (78 – 82 %), z ostávajúcich (18 – 22 %) časť pripadá na srvátkové proteíny (Kräusslich, 1994). Gén pre mliečny proteín κ -kazeín (CSN3) sa nachádza na 6. hovädzom chromozóme a kóduje informáciu pre jeden z najdôležitejších proteínov mlieka, ktorý je súčasťou tzv. kazeinového komplexu a je nevyhnutný pre usporiadanie a stabilitu kazeinovej micely (Alexander et al., 1988). Gén pre κ -kazeín ovplyvňuje množstvo, zloženie a technologické vlastnosti mlieka (Sabour et al., 1996).

Chrenek et al., (1998) zistili v populácii slovenského strakatého plemena najvyššiu mliečnu úžitkovosť u dojníc genotypu CSN3 AA a naopak najnižšiu mliečnu úžitkovosť u dojníc genotypu BB. Dojnice genotypu BB však vykázali najvyššie percento bielkovín a tuku. Naopak najvyššie percento bielkovín a zároveň najvyššiu

mliečnu úžitkovosť zistili u kráv s genotypom BB Eenennaam; Medrano (1991) v populácii holštajnského plemena a Havlíček (1996) v populácii prvoteliok holštajnského a českého strakatého plemena.

Pozitívny vplyv genotypu BB na technologické vlastnosti mlieka, menovite rýchlosť sýrenia, vyššia produkcia sýreniny, nižšie množstvo srvátkového prachu, atď. a naopak negatívny vplyv genotypu AA bol publikovaný mnohými autormi (Panicke et al., 1996). Nepriaznivý vplyv alely E na znaky mliečnej úžitkovosti a na kvalitu mliečnej bielkoviny v porovnaní s alelou B a alelou A zaznamenali Ikonen et al., (1997) a Leone et al., (1998).

1.5 Využitie genotypov κ -kazeínu a β -laktoglobulínu pri odhade plemennej hodnoty a selekcii podľa genetických markerov

Markerovo podporovaná selekcia je významným nástrojom upresnenia odhadu plemennej hodnoty (Flak, 1991; Příbyl, 1995). Pri využití dialelného markeru sa očakáva zvýšenie genetického zisku cca o 2 % pri použití polyalelických markérov o 15 až 20 % a pri využití haplotypov dialelických a polyalelických markérov od 20 až do 30 % (Kashi et al., 1990). Weller et al., (1990) pri hodnotení štatistickej mohutnosti dcérskeho plánu (model I) a plán vnučky (model II) stanovenia väzby markerového lokusu a QTL mliekového dobytku zistili, že pri ukazovateľoch o dedivosti menšej ako 0,2 model II vyžadoval iba polovičný počet potrebných markerových stanovení ako model I. Lande a Thompson (1990) limitovali použiteľnosť markerovo podporovanej selekcie v plemenárskych programoch:

- 1) počtom molekulárnych markerových lokusov potrebných pre detekciu významnej asociácie s QTL (väzbová nerovnováha);
- 2) veľkosťou výberu potrebného pre detekciu QTL pri vlastnostiach o nízkej dedivosti (potrebný rozsah výberu n sa pohybuje radovo od stoviek po tisícky)
- 3) výberovými chybami odhadu relatívnych selekčných váh selekčného indexu kombinujúceho molekulárnu a fenotypovú informáciu.

Vplyvmi odhadov efektov génov na kvantitatívne vlastnosti sa zaoberali Kennedy et al., (1992), asociáciou kandidátnych génových markérov a fenotypom príbuzných

jedincov Trégouët et al., (1997), väzbou génov viacnásobných markérov, metód multimarkérnej regresnej determinácie haplotypov či QTL analýz Spelman et al., (1996). Kennedy et al., (1992) hodnotili pomocou zmiešaného lineárneho modelu a metódou najmenších štvorcov (MNS) jednoduchý genetický model:

$$y_{ij} = g_i + a_{ij} + e_{ij},$$

kde y_{ij} je kvantitatívny ukazovateľ ij -tého zvierat'a, g_i pevný efekt i -tého genotypu v lokuse, a_{ij} aditívny polygénny efekt ij -tého zvierat'a a e_{ij} náhodné chyby prostredia.

Cowan et al., (1992) študovali efekt chromozomálnej substitúcie asociovanej s κ -kazeínom (κ -CN) a β -laktoglobulínom (β -LG) pri holštajnskom dobytku s použitím zovšeobecnenej metódy najmenších štvorcov. Le Roy a Elsen (1992) porovnali metódy analýzy rozptylu a metódu maximálnej vierohodnosti detekcie QTL analýz skupín súrodencov. Bownhuis (1992) animal modelom zistil, že κ -CN gén resp. s ním veľmi úzko viazaný gén ovplyvňujú obsah mliečnych bielkovín a β -LG gén a s ním veľmi úzko viazaný gén ovplyvňujú obsah mliečného tuku. Pomocou metódy maximálnej vierohodnosti zistil, že existujú významné efekty lokusov QTL viazaných s κ -CN a β -LG na obsah mliečného tuku. Ron et al., (1994) hodnotili efekty genotypov κ -CN a β -LG a ich interakciu, efekty plemenníkov a združený efekt stádo-rok-obdobie pomocou zovšeobecnenej lineárneho modelu. Panicke et al., (1996) pri štúdiu vplyvu genotypov bielkovín mlieka použili lineárny model s pevnými efektmi. Ruottinen et al., (1996) pri simultánnom hodnotení 20 kazeínových a 3 β -LG genotypov bez uvažovania ich interakcie použili MNS. Zistili síce významnú asociáciu β -LG genotypov a plemenných hodnôt ukazovateľov mliekovej úžitkovosti BLUP animal modelom pri fínskych ayrshirských dojniciach, pre praktické účely však táto metóda nebola vyhovujúca. B alela κ -CN bola pozitívne asociovaná s obsahom aj produkciou mliečnych bielkovín. Sabour et al., (1996) nezistili signifikantný vplyv κ -CN lokusu na odhadovanú prenosovú schopnosť (ETA) býkov mliekového plemena, avšak pri alele A lokusu β -LG zistili preukazný vplyv, pričom zvýšenie jej frekvencie pri mladých testovaných býkoch zlepšovalo ETA bielkovín mlieka. Ng-Kwai-Hang et al., (1984) uvádzajú, že dojnice holštajnského plemena s genotypom BB κ -CN vyprodukovali o 12 kg mlieka viac dojnice s κ -CN AA alebo AB, zatiaľ čo v roku 1995 si Ng-Kwai-Hang naopak protirečí, že dojnice s genotypom AA κ -CN génu vyprodukovali o 111 kg mlieka viac ako dojnice s genotypom BB. Obsah bielkovín bol o viac ako 0,13% väčší

pri dojniciach s genotypom BB v porovnaní s dojnicami s genotypom AA. Podľa Ng-Kwai-Hanga et al., (1984) dojnice s genotypom AA pre β -laktoglobulínový gén produkujú viac mlieka ako dojnice genotypov AB resp. BB. Alela A β -LG súvisí s vyšším obsahom mliečnych bielkovín, zatiaľ čo alela B s vyšším obsahom tuku v mlieku (Sabour et al., 1996) a s vyššou koncentráciou kazeínu (Lundén et al., 1997). Michalak (1997) pri holštajnsko-frízskom plemene zistil, že mliečne bielkoviny produkované β -LG B/B homozygotmi obsahujú väčší podiel kazeínu ako bielkoviny homozygotov A/A. Heterozygoti A/B mali stredné postavenie. Nezistil významné interakcie genotypu otca a β -LG genotypu dcér. Keďže počet dojníc/dcér heterozygotných býkov bol malý, považoval svoje výsledky za predbežné. Aditívny genetický vplyv B alely κ -CN je asociovaný s celkovou produkciou mliečnych bielkovín (Gonyon et al., 1987; Lin et al., 1992) i s vyšším obsahom kazeínu a preukazne s vyššou tukovosťou mlieka (Michalcová et al., 1996). Panicke et al., (1997) zistili pri 1076 čiernostrakatých dojniciach, že κ -CN BB pozitívne ovplyvnil obsah mliečného tuku a bielkovín. Heterozygotný genotyp κ -CN AB sa vyznačoval heterotickým efektom 4,8 kg tuku a bielkovín. Huba et al., (1998) pri hnedom dobytku zistili najvyššiu produkciu mlieka a tuku pri genotype BB κ -kazeínu, nepotvrdil sa však vyšší obsah bielkovín.

Vzťahy medzi lokusmi mliečnych bielkovín a ukazovateľmi úžitkovosti môžu byť teda spôsobené tak priamym vplyvom lokusov mliečnych bielkovín (pleiotropný vplyv) alebo väzbou medzi lokusmi mliečnych bielkovín a viacerými lokusmi produkčných ukazovateľov (Lin et al., 1992). Vzhľadom na to sa v našej práci zaoberáme analýzou uvedenej problematiky z pohľadu genetickej determinácie ukazovateľov mliekovej úžitkovosti dojníc genotypov κ -kazeínu a β -laktoglobulínu a z pohľadu genetického založenia plemenníkov.

1.6 Beta kazeín a ľudské zdravie

Beta kazeín (CSN2) je významná bielkovina mlieka, pri ktorej je v súčasnosti známych 13 genetických variantov a ich polymorfizmus závisí od plemena hovädzieho dobytku. Varianty A1 a A2 sú spoločné pri mnohých mliekových úžitkových typoch. Molekula β -kazeínu (CSN2) je zložená z 209 aminokyselín. Rozdiel medzi A1 a A2 je

len v jednej aminokyseline na pozícii 67 peptidového reťazca. A1 variant obsahuje histidín a A2 prolín. Podľa Formaggioniho et al., (1999) CSN2 – A2 je pôvodná stará varianta, ktorá bola zistená u zebu a guernskejského dobytká. CSN2 – A1 je spoločná a často sa vyskytuje pri moderných plemenách napr. holštajnskom. Beta kazeín – CSN2 – A2 redukuje sérový cholesterol a znižuje koncentráciu LDL lipidov, ktoré majú významnú úlohu v prevencii mnohých srdcovo-cievnych chorôb. Niektoré populačné štúdie (Birgisdottir et al., 2006) pri dvojročných škandinávskych a islandských deťoch, ktoré pili mlieko CSN2 – A2 bolo nižšie riziko vzniku detského diabetu. Thorsdottir et al. (2000), McLachlan (2001), Laugesen a Elliott (2003) predpokladajú, že pitie CSN2 – A1 mlieka malými deťmi môže byť spojené s cukrovkou.

Podľa týchto autorov (McLachlan, 2001; Laugesen a Eliot, 2003) i Beaglehole a Jacksona (2003), Tailorda et al. (2003) môže byť kravské mlieko β -kazeínového typu A1 jednou z možných príčin ischemických srdcových chorôb.

Výskumy vo Východnej Afrike ukázali, že obyvatelia tohto regiónu, ktorí majú diétu bohatú na mlieko netrpia srdcovými chorobami. Je to zrejme dôsledok skutočnosti, že mlieko pochádza od dobytká Zebu, ktorý má geneticky determinovanú alelu A2 betakazeínu (CSN2 – A2). Krajiny západu, Austrália, Nový Zéland pri vysokej spotrebe mlieka prevažne produkovaného holštajnským plemenom majú vyšší výskyt kardiovaskulárnych ochorení ako v krajinách s nižšou spotrebou mlieka (McLachlan, 2001; Laugesen a Eliot, 2003). Miluchová, Trakovická a Gábor (2009) citujú Panicke et al. (1997), že variant A1 je rizikový nutričný faktor pre *diabetes mellitus* I. typu, asociovaný s výskytom srdcových ochorení a autizmom. Genotyp CSN2 – A1 A1 má pozitívny vplyv na obsah tuku.

1.7 Alergény a nestráviteľnosť mlieka

Približne 90 % spotreby mlieka človekom je dotované kravským mliekom. Ukazuje sa aj vo vzťahu k širokému spektru civilizačných faktorov, že niektoré zložky mlieka (kazeín, β -laktoglobulíny, α -laktoalbumíny, laktóza a iné) môžu vyvolávať alergické reakcie a byť aj príčinou nestráviteľnosti kravského mlieka. Tieto efekty sú však hlavne podmienené geneticky v dôsledku chýbania zodpovedných enzýmov alebo ich nedostatočnej aktivity. Mlieko je podľa údajov WHO príčinou 2 – 5 % všetkých

problémov spojených s horšou stráviteľnosťou a 10 – 40 % potravinových alergií. Alergické reakcie v prípade kŕmenia detí kravským mliekom sa prejavujú hlavne v prvých šiestich mesiacoch ich života (zvracanie, hnačky, bolesti brucha) a pri väčšine detí ustupujú okolo troch rokov. Je zaujímavé, že dlhšia výživa novorodencov materským mliekom znižuje alergie na kravské mlieko. Existuje tiež rôzna úroveň alergicity na jednotlivé mliečne bielkoviny a ich genetické varianty.

Bolo dokázané mnohými prácami, že v procese trávenia bielkovín mlieka vzniká viac ako 100 rôznych nových antigénov, ktoré môžu významne zhoršovať zdravotný stav citlivých jedincov. Podobné chemické zloženie kazeínov mlieka kravského, ovčieho a kozieho (80 – 90 %) je dôvodom, že nemôžu byť alternatívou vo výžive kojencov i dospelých osôb senzitivných na tieto bielkoviny. Protilátky antikazeínové triedy Ig E súvisiace vo väčšine prípadov so všetkými štyrmi kazeínovými frakciami sú v 60 – tich % zodpovedné za vyvolanie alergií. Alergické pôsobenie α S1-kazeínu a β -laktoglobulínu je v dôsledku ich chýbania (nedostatku) v mlieku ženy. Medzi kazeínovými bielkovinami je najsilnejší alergén α -kazeín, ktorý tvorí skoro 50 % všetkých ostatných kazeínov kravského mlieka. Zo srvátkových bielkovín najsilnejšími alergénmi sú β -laktoglobulín a α -laktoalbumín, ktoré pri rôznych cicavcoch vystupujú v rôznych genetických variantoch. Tepelné spracovanie mlieka a tiež procesy kyslej hydrolýzy a proteáz znižujú alergénnosť bielkovín kravského mlieka. β -laktoglobulín nie je prítomný v materskom mlieku žien čoho dôsledkom je jeho nestráviteľnosť v žalúdku dojčiat a nestrávená časť potravy prechádza do čriev kde spôsobuje zažívacie problémy. α -laktoalbumín kravského mlieka okrem veľkej podobnosti so ženským mliekom tiež spôsobuje alergénne reakcie. Je súčasťou enzymatického systému transferázy galaktozidázy zodpovednej za proces tvorby mliečneho cukru – laktózy. Alergénne sú tiež albumíny krvného séra, ktoré môžu byť prítomné v mlieku kráv a tiež niektoré enzymatické bielkoviny.

Imunoreaktivitu bielkovín mlieka aj srvátkových je možné znížiť termickými, chemickými a enzymatickými metódami pri spracovaní surového kravského mlieka. Najväčšia redukcia možnej alergicity sa robí fermentáciou, využitím baktérií mliečneho kysnutia a ďalšími biotechnologickými i fyzikálnymi metódami (filtrácia, ultrafiltrácia, nanofiltrácia, reverzná osmóza a pod.).

V tabuľke 2 uvádzame prehľad bielkovín mlieka a ich alergenicity.

Tab. 2 Bielkoviny mlieka vyvolávajúce alergie u človeka
(Szulc, Szarek, Bulla, 2011)

Bielkoviny	Stupeň alergénosti
Kazeíny	+++
β -laktoglobulíny	+++
α -laktoalbumíny	++
Sérový albumín	++
Imunoglobulíny	+
Laktoferín	+

V súvislosti s alergénnosťou, ktorá má významný populačný efekt, je precitlivosť na laktózu. Približne 25 % ľudí staršieho veku (60 rokov a viac) má zníženú schopnosť alebo nedostatočnosť v tvorbe laktázy, enzýmu, ktorý je zodpovedný za rozklad mliečneho cukru – laktózy, čím je v organizme človeka vytvorená neschopnosť jeho trávenia. Vyskytuje sa to pri konzume čerstvého mlieka. Pri kyslom mlieku resp. kyslomliečnych výrobkoch tento stav sa neprejavuje. Je zaujímavé, že najvyššia intolerancia na laktózu (80 – 90 %) je v Afrike a Ázii, kde sa začalo intenzívne pre konzum využívať kravské mlieko.

V blízkej budúcnosti hlavne v dôsledku nových požiadaviek na kvalitu mliečnej suroviny a tlaku spracovateľských podnikov sa šľachtenie hovädzieho dobytku musí orientovať na výber plemenných býkov a kráv podľa prítomnosti genotypov κ -kazeínu CSN BB alebo CSN AB (Szymańska et al., 2010) a genotyp CSN3 BB má byť ekonomickým kritériom pri zlepšovaní technologickej kvality mlieka pre syrárske účely. V Holandsku, Francúzsku, Nemecku a Rakúsku sa už realizuje predaj semena býkov, ktorí majú vo svojom genotype alelu B CSN3.

Vo vzťahu k možným negatívnym zdravotným efektom už v súčasnosti sa chovatelia holštajnského dobytku na Novom Zélande venujú výberu zvierat a produkcii mlieka s genotypom β -kazeínu (CSN2) – A2. Tento variant na rozdiel od A1 redukuje sérový cholesterol a znižuje možnosť vzniku tzv. detskej cukrovky (Thorsdottir et al., 2000).

2 Cieľ práce

Cieľom tejto práce je:

- charakterizovať mliekovú úžitkovosť pri troch diferencovaných plemenách hovädzieho dobytku vo vybratom poľnohospodárskom podniku podľa výsledkov kontroly úžitkovosti,
- v príslušnej populácii analyzovať existenciu polymorfizmu bielkovín mlieka,
- gény mliečnych bielkovín a kvalita mlieka,

3 Metodika práce a metody skúmania

3.1 Charakteristika hodnotených plemien (podľa Debrecéni, Bulla, Vavrišinová, 1999)

3.1.1 Slovenské strakaté plemeno

Patrí do skupiny plemien simentálskeho dobytká, ktorého pôvod je vo Švajčiarsku a patrí k najstarším na svete. Slovenský strakatý dobytok je plemeno kombinovaného úžitkového typu s vyrovnanou mliekovou aj mäsovou úžitkovosťou. Vzniklo prevodným krížením pôvodného červeného a šedohnedého dobytká brachycerného typu a stepného dobytká primigénneho typu so švajčiarskym bernským a simentálskym plemenom v XIX. storočí. V roku 1958 bolo oficiálne uznané a zaregistrované slovenské strakaté plemeno. V období do roku 1980 bolo šľachtené ako mliekovo-mäsový úžitkový typ. V priebehu 70 – 80-tych rokov pod vedením akademika Plesníka sa realizoval rozsiahly zošľacht'ovací program orientovaný na biologickú predstavbu plemena na kombinovaný úžitkový typ mäsovo-mliekový s výraznejšou mliekovou úžitkovosťou. Pri zošľacht'ovacom krížení boli použité ayrshirské, nížinné červenostrakaté a holštajnsko-frízske červenostrakaté plemená. Súčasne čistokrvnou plemenitbou bol vytváraný mäsovejší typ slovenského strakatého plemena.

Slovenské strakaté plemeno je veľkého telesného rámca s hmotnosťou kráv 600 až 650 kg a dospelých býkov 1100 – 1200 kg. Farba je žemľovohnedá s odtieňmi do červena s rôznym výskytom bielych plôch na koži čím vzniká strakaté sfarbenie. Hlavu, podbrušie a konce nôh má biele. Je pevnej konštitúcie, odolný voči podmienkam prostredia, plodný a kravy sa vyznačujú veľmi dobrými materskými vlastnosťami. Mlieková úžitkovosť v chovnom ciele je určená na 6000 kg/laktáciu a kravu s produkciou bielkovín 210 kg a obsahom bielkovín 3,5 %.

Pre zaujímavosť dojnice slovenského strakatého plemena evidované v kontrole úžitkovosti v roku 2010 nadojili 6154 kg mlieka, 210 kg bielkovín (3,42 % obsah) a 245 kg mliečného tuku (3,99 %). Pri mäsovej úžitkovosi je chovným cieľom

priemerný denný prírastok vo výkrme býčkov 1300 g, jatočná výťažnosť nad 60 %, podiel mäsa v jatočnom tele nad 70 % a výborná kvalita.

3.1.2 Slovenské pinzgauské plemeno

Plemeno vzniklo časovo paralelne so slovenským strakatým dobytkom. Približne už od polovice XIX. storočia sa do hornatých oblastí Rakúsko-Uhorska importoval rakúsky pinzgauský dobytok pre zošľachtovanie pôvodných karpatských plemien. Rakúske pinzgauské býky sa systematicky využívali na prevodné kríženie karpatského červenohnedého a šedého karpatského dobytká. Podobne ako pri slovenskom strakatom bolo v rokoch 1971 až 1989 plemeno zošľachtované ayrshirským, červenostrakatým nížinným a neskôr RED varietou holštajnského plemena s cieľom zvýšiť úroveň mliekovej úžitkovosti a zlepšiť tvarové a funkčné vlastnosti vemena. Súčasne sa realizuje aj čistokrvná plemenitba využitím semena pinzgauských býkov slovenského pôvodu a tiež osvieženie krvi importom plemenných býkov a inseminačných dávok z Rakúska. Je možné konštatovať, že populácia slovenského a rakúskeho pinzgauského plemena je geneticky i fenotypne veľmi blízka.

Slovenské pinzgauské plemeno je stredného telesného rámca s výškou na kohútiku kráv 125 – 132 cm s hmotnosťou 550 – 600 kg. Pri býkoch je kohútiková výška 134 – 142 cm a živá hmotnosť 800 – 950 kg. Charakteristickým znakom je sfarbenie plemena – višňovočervená až hnedočervená farba srsti s typickým bielym pásom od kohútika, cez chrbát, koreň chvosta, lonovú oblasť až na hrud'

Slovenské pinzgauské plemeno je kombinovaného mliekovo-mäsového typu s chovným cieľom v produkcii mlieka 4500 až 5500 kg, bielkovín 153 – 187 kg a obsahu bielkovín 3,40 %. Pre mäsovú úžitkovosť priemerný denný prírastok 1200 – 1300 g a jatočná výťažnosť 58 %. Cieľom je šľachtenie na výkonnejší mäsovo-mliekový typ vhodný pre horské a extrémne podmienky chovu s vyššou produkciou mlieka a mäsa s vysokým obsahom nutričných zložiek a vhodnosťou pre syrárske využitie. Plemeno je veľmi vhodné pre využitie v systéme chovu dojčiacich kráv.

V súčasnosti v kontrole úžitkovosti za rok 2010 kravy slovenského pinzgauského plemena nadojili priemerne 5393 kg mlieka, 181 kg bielkovín (3,35 % obsah) a 221 kg tuku (4,10 % obsah).

3.1.3 Holštajnské plemeno

Predstavuje svetovú špičku v mliekovej úžitkovosti, konverzii živín v adaptabilite na technizované prostredie a tiež na geograficko-klimatické podmienky chovu. Vyznačuje sa veľkým telesným rámcom. Kravy dosahujú hmotnosť 700 kg, býky 1200 kg a viac. Majú silne zvýraznený mliečny charakter. Sú slabo svalené, suché a hranaté. Majú objemné, široko a vysoko upnuté vemeno s dobre utváranými a rozmiestnenými ceckami. Holštajnské plemeno má pôvod v Holandsku a Nemecku (holštajnsko-frízske) a po jeho introdukcii do USA a Kanady v roku 1885 sa v dôsledku rozvoja poznatkov genetiky podarilo vyšľachtiť vysokovýkonné mliekové plemeno, ktoré dominuje v produkcii mlieka na celom svete. Existuje v dvoch farbených a typových genetických varietách. Čierna ako dominantná a recesívne homozygotná červená. Úžitkovosť je pri oboch približne rovnaká a v chovateľsky vyspelých štátoch sa pohybuje na úrovni 8 až 10 000 kg mlieka na dojnica a rok. Priemerný obsah bielkovín je na úrovni 3,05 – 3,07 % a tuku 3,5 – 3,9 %. Špičkové dojnice vyprodukujú ročne 20 000 kg a viac mlieka.

Globálny proces šľachtenia holštajnského plemena využíva všetky nové poznatky a možnosti genetiky a biotechnológií (*in vitro* oplodnenie, prenosy embryí, semeno s určeným pohlavím, genomickú selekciu, markérové gény a pod.). Všetko cielene smeruje k zlepšeniu parametrov vyššej ekonomickej efektívnosti produkcie mlieka, vyššiemu obsahu bielkovín, fitness a efektívnejšiemu využívaniu objemových krmív. Proces šľachtenia na Slovensku smeruje k vytvoreniu čistokrvnej populácie a dosiahnutiu produkčných a ekonomických parametrov porovnateľných so svetom.

V roku 2010 v kontrole úžitkovosti holštajnské dojnice nadojili 8 838 kg mlieka, 287 kg bielkovín (obsah 3,25 %) a 335 kg tuku (obsah 3,79 %).

3.2 Stručná charakteristika poľnohospodárskeho podniku

Biologický materiál (dojnice) pochádzali z PD Smrečany okr. Liptovský Mikuláš. Poľnohospodárske družstvo vzniklo 1. 1. 1972 a hospodári v podhorskej a horskej oblasti na 2 203 ha poľnohospodárskej pôdy, z toho 587 h ornej, zvyšok sú trvalé trávne porasty a pasienky v 8 katastrálnych územiach.

Rastlinná výroba je orientovaná na produkciu obilovín, olejnín, zemiakov a krmovín. PD je významným pestovateľom sadbových a konzumných zemiakov. Jedným z posledných nielen na Liptove, ale aj na Severnom Slovensku.

Živočíšna výroba sa koncentruje na chov hovädzieho dobytká a oviec. Chov HD je sústredený do troch stredísk špecializovaných podľa plemien v podmienkach uzavretého obratu stáda. Smrečany – slovenský strakatý, Žiar – holštajnský a Veterná Poruba – slovenský pinzgauský dobytok.

3.3 Biologický materiál

Pre hodnotenie sme použili nasledovné počty dojníc z jednotlivých plemien s podmienkou, že musia mať uzatvorenú najmenej druhú laktáciu. Boli vybraté a analyzované nasledovné počty (n) zvierat:

Slovenské strakaté n = 150

Slovenské pinzgauské n = 45

Holštajnské n = 103

Všetky zvieratá museli byť zapojené do kontroly mliekovej úžitkovosti.

3.4 Chovateľské podmienky

Pre posúdenie a zhodnotenie vplyvu genotypu a prostredia na mliekovú úžitkovosť, kvalitu surového mlieka, obsah jednotlivých zložiek a zloženie bielkovín pri vyššie uvedených plemenách, sme cielene využili PD Smrečany, kde v rovnakých chovateľských, klimatických i geografických podmienkach sú chované všetky tri úžitkové typy. Ustajnenie dojníc bolo voľné boxové. Dojenie v dojárni. Kŕmenie celoročne d'atelino-trávnou senážou a jadrové krmivá v dojárni podľa úžitkovosti. V letnom období oplôtková prifaremná pastva, ktorá súčasne zabezpečovala aj dostatok pohybu.

3.5 Zdroje primárnych informácií o mliekovej úžitkovosti

Jednotlivé ukazovatele mliekovej produkcie (mlieko kg, laktóza kg/%, tuk kg a %, bielkoviny kg a %) sme prevzali z údajov kontroly úžitkovosti vykonávanej v chove HD PD Smrečany pracovníkmi Plemenárskych služieb SR, š. p. za kontrolný rok 2008/2009. Analýzy obsahu tuku, bielkovín a laktózy boli spracované na prístroji CombiFoss FT+ v Centrálnom laboratóriu rozboru mlieka Žilina.

3.6 Odber a spracovanie vzoriek krvi a mlieka

Krv bola odobratá veterinárnym lekárom z vena cava jugularis do 10 ml ependorfných skúmaviek. Genomická DNA bola izolovaná z bielych krviniek (Chrenek et al., 1998). Pri všetkých dojniciach hodnoteného súboru boli stanovené genotypy variantov alel pre α S1-kazeín (CSN1S1), β -kazeín (CSN2), κ -kazeín (CSN3) a β -laktoglobulín (LGB) metódou PCR-RFLP s následnou elektroforézou na agarózovom géle (Vašíček et al., 1995). Zastúpenie jednotlivých alel ovplyvňuje obsah mliečnych bielkovín, produkciu mlieka a ďalšie vlastnosti, ktoré majú vplyv na kvalitu a technologické spracovanie.

Vzorky mlieka boli odobraté pri večernom dojení v množstve 100 ml od každej hodnotenej dojnice, boli ochladené na 6 až 8 °C a transportované do laboratória a v nich analyzované príslušné technologické ukazovatele: obsah sušiny, obsah beztukovej sušiny, celkových bielkovín, čistých bielkovín, nebielkovinových dusíkatých látok, kazeínu, srvátkových bielkovín, kazeínové číslo na báze celkových bielkovín. Stanovenie technologických parametrov bolo urobené na Katedre chovu hovädzieho dobytku, Poľnohospodárskej univerzity v Krakove ako súčasť spoločného výskumného grantu 5P06E0718.

3.7 Matematicko-štatistické spracovanie a vyhodnotenie výsledkov

1. Na základe výsledkov elektroforetickej analýzy bola stanovená genotypová štruktúra hodnoteného súboru plemien a vypočítaná frekvencia alel podľa Hardy – Weinbergovho zákona.

2. Získané údaje o technologických vlastnostiach sme spracovali použitím programov STASTICA 6.0 (Stat Soft. PL, 2001), STATGRAPHICS Plus 5.1 (2001 a MS OFFICE Excel (2003). Rozdiely medzi genotypmi boli testované analýzou variancie F-test a Studentovým t-testom.

4 Výsledky práce a diskusia

V tabuľke 3 uvádzame základné variačnoštatistické charakteristiky mliekovej úžitkovosti dojníc podľa plemien hodnoteného súboru. Z biologického i chovateľského hľadiska je zrejmé aj v rovnakých podmienkach prostredia, že najvyššiu priemernú produkciu mlieka na dojnicu (8083,41 kg) mali holštajnské zvieratá, nasledovali slovenské strakaté (6283,56 kg) a slovenské pinzgauské (4580,20 kg). Vo vzťahu k týmto oficiálnym výsledkom z kontroly mliekovej úžitkovosti je viditeľný rozdiel v produkcii mlieka na dojnicu a rok bez potreby zdôraznenia štatistickej významnosti rozdielov. Podobne je možné charakterizovať aj produkciu tuku, bielkovín a laktózy v kg, ktorá je závislá na celkovom množstve (objeme) vyprodukovaného mlieka. Vo vzťahu ku primárnym kvalitatívnym ukazovateľom úžitkovosti vyjadreným v % je situácia obrátená. Najvyšší obsah tuku (4,55 %) má slovenský pinzgauský dobytok a najnižší (4,27 %) holštajnské plemeno. Obsah bielkovín a laktózy je pri všetkých približne rovnaký a rozdiely sú nevýznamné. Pravdepodobne významnú úlohu majú rovnaké chovateľské podmienky a predovšetkým výživa hodnotenej populácie z hľadiska celkovej kvalitatívnej a kvantitatívnej produkcie mlieka v PD Smrečany.

V súlade s cieľmi práce sme hodnotili frekvenciu génov a genotypov technologicky významných bielkovín mlieka, ktoré uvádzame v grafoch 1 až 4 a tabuľkách 4 až 6. Pri α S1-kazeíne (graf 1) bol najvyšší počet (frekvencia) dojníc genotypu BB pri všetkých troch plemenách. Genotypová frekvencia sa pohybovala od 0,553 (slovenské strakaté) po 0,660 (holštajnské). Zrejme ide o vzťah k vyššej produkcii mlieka (tab. 1). Druhú početne menšiu skupinu tvoria dojnice genotypu BC (50 zvierat slovenského strakatého plemena) a najmenej je genotypov CC. Frekvencie jednotlivých alel B a C sú pri všetkých plemenách v podstate rovnaké a to B=0,720 až 0,757 a C=0,243 až 0,280 (tab. 4, 5 a 6)

Frekvencia genotypov β -kazeínu (CSN2) je uvedená na grafe 2. Podobne ako v predchádzajúcom prípade najvyššie zastúpenie pri všetkých plemenách bolo v genotype AA (19 slovenské pinzgauské, 76 slovenské strakaté a 54 holštajnské). Vyššie frekvencie na úrovni 0,507 a 0,524 boli pri dojniciach slovenského strakatého a holštajnského plemena kým pri slovenskom pinzgauskom boli hodnoty AA genotypu 0,422 (tab. 4). Genotypy AB boli zastúpené 13 slovenskými pinzgauskými, 43

slovenskými strakatými a 34 holštajnskými dojnícami. Najvyššiu genotypovú frekvenciu (0,330) mali holštajnské jedince a slovenské strakaté i pinzgauské mali približne rovnakú hodnotu (0,286 SS a 0,288 SP). Rovnaký počet homozygotných ($n = 10$) zvierat sme zistili pri všetkých troch plemenách genotypu BB s tým, že najvyššiu frekvenciu (0,222) mali dojnice slovenského pinzgauského plemena. Pri β -kazeíne sme spolu detegovali 29 zvierat genotypu BC. Najviac ($n = 21$) a súčasne s najvyššou frekvenciou (0,140) bolo slovenských strakatých dojníc.

Génová frekvencia CSN2 je charakterizovaná trojalelovým systémom ABC pričom A je reprezentovaný hodnotou 0,556 SP, 0,653 SS a 0,689 H. Pri B alele sú hodnoty 0,400 SP; 0,274 SS a 0,291 H. Zaujímavá je génová frekvencia C, ktorá je najvyššia pri slovenskom strakatom plemene (0,073), nasleduje slovenské pinzgauské (0,044) a najnižšia je pri holštajnskom plemene (0,020). Údaje sú opäť v spoločných tabuľkách 4, 5 a 6.

Z hľadiska syrárskeho využitia je dôležitý κ -kazeín (CSN3), ktorého genotypové rozloženie znázorňuje graf 3. Najviac jedincov z hodnoteného súboru bolo genotypu AA. Pri holštajnskom plemene sme zistili frekvenciu 0,709, pri pinzgauskom 0,622 a najnižšia bola vypočítaná na úrovni 0,333 pri slovenskom strakatom plemene. Opačná tendencia sa ukázala pri genotypoch AB. Najvyššia frekvencia pri 85 zvieratách slovenského strakatého plemena predstavovala hodnotu 0,567. Slovenské pinzgauské a holštajnské dojnice mali prítomnosť tohto genotypu na približne rovnakej úrovni (0,267 resp. 0,203). Genotyp BB je početne zastúpený najmenej. V hodnotenom súbore je to spolu 29 zvierat. Spoločná resp. veľmi blízka je aj frekvencia genotypov (0,111 slovenský pinzgauský, 0,100 slovenský strakatý a 0,088 holštajnský). Génové frekvencie (tabl. 4, 5 a 6) ukazujú, že najvyššia hodnota (0,816) alely A je pri holštajnskom plemene a najnižšia (0,620) pri slovenskom strakatom plemene. Reprezentanti slovenského pinzgauského plemena hodnotou 0,756 sú medzi nimi. Pri alele B je v súlade s pravidlami dedičnosti obrátené poradie. Najvyššia frekvencia (0,380) je pri slovenskom strakatom, stredné postavenie (0,244) má slovenský pinzgauský a najmenší výskyt (0,184) je pri holštajnskom plemene.

Charakteristika frekvencie génov a genotypov β -laktoglobulínu (LGB) je uvedená v tabuľkách 4, 5 a 6 a grafické znázorenie na grafe 4. Pri LGB hodnoteného súboru boli detegované 4 genotypy a prítomnosť 3 alel tohto systému. Najviac zvierat ($n = 137$)

bolo bez ohľadu na konkrétne plemeno pri genotype AB. Frekvencia však pri jednotlivých plemenách bola rozdielna. Najvyššie hodnoty boli pri slovenskom pinzgauskom (0,511), nasledovalo slovenské strakaté (0,480) a najnižšiu frekvenciu sme zaznamenali pri holštajnskom plemene (0,408). Podobná tendencia frekvencie genotypu BB pri 61 zvieratách má hodnoty 0,222 SP, 0,207 SS a 0,194 H. Obrátené poradie je pri genotypoch AA. Najvyššiu frekvenciu medzi 88 dojnícami bola pri holštajnskom plemene (0,340), nasledovalo slovenské strakaté (0,287) a najnižšie hodnoty (0,222) boli zaznamenané pri slovenskom pinzgauskom plemene. Pri genotype BD, ktorý malo 12 zvierat sme vypočítali frekvenciu 0,045 pri slovenskom pinzgauskom, 0,026 pri slovenskom strakatom a 0,058 pri holštajnskom plemene. Vyššie uvedenému rozdeleniu zodpovedajú aj génové frekvencie. Kým pri slovenskom pinzgauskom má alela A frekvenciu 0,467 a alela B 0,511, tak pri slovenskom strakatom 0,527 resp. 0,460 a pri holštajnskom plemene 0,543 resp. 0,439. D alela, ktorá sa vyskytovala pri najmenšom počte zvierat mala frekvenciu 0,020 H, 0,022 SP a 0,013 SS.

Tab. 3 Základné variačnoštatistické charakteristiky mliekovej úžitkovosti dojníc hodnoteného súboru

Ukazovateľ	Plemeno (n)								
	Slovenské pinzgauské (45)			Slovenské strakaté (150)			Holštajnské (103)		
	x	s x	v %	x	s x	v %	x	s x	v %
Mlieko (kg)	4580,20	394,89	8,62	6283,56	831,15	13,23	8083,41	1072,69	13,39
Tuk (%)	4,55	0,09	1,97	4,34	0,07	1,61	4,27	0,36	8,43
Tuk (kg)	208,39	50,64	24,30	272,70	68,16	25,04	345,16	81,57	23,67
Bielkoviny (%)	3,25	0,14	4,31	3,24	0,12	3,70	3,27	0,08	2,47
Bielkoviny (kg)	148,85	21,96	14,75	203,58	51,76	25,42	264,32	52,33	19,78
Laktóza (%)	4,87	0,07	1,43	4,92	0,04	0,81	4,89	0,06	1,23
Laktóza (kg)	223,05	28,42	12,19	309,15	33,12	10,73	395,27	37,87	9,58

Tab. 4 Frekvencia génov a genotypov bielkovín mlieka pri slovenskom pinzgauskom plemene (n = 45)

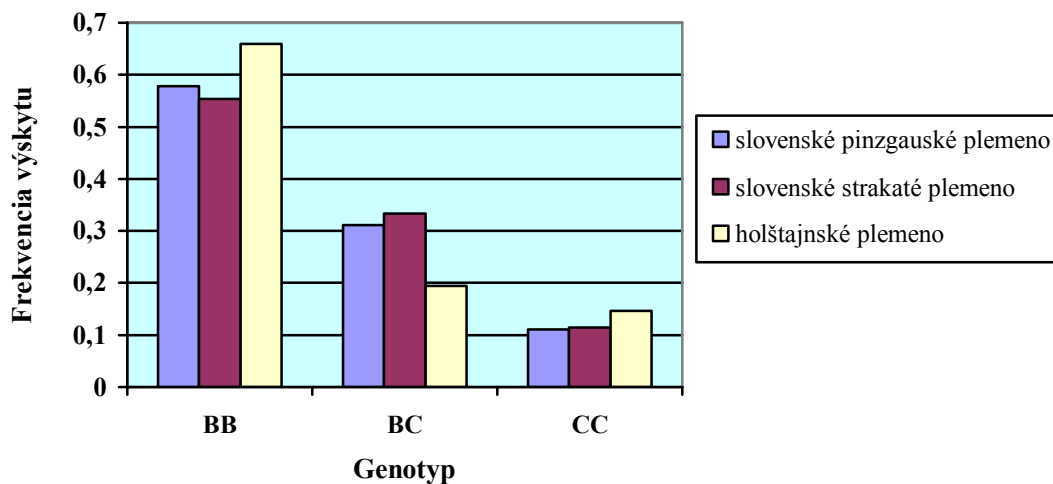
Bielkovina mlieka	Genotyp	n	Genotypová frekvencia	Génová frekvencia
α S1-kazeín (CSN1S1)	BB	26	0,578	B=0,733
	BC	14	0,311	
	CC	2	0,111	C=0,267
β -kazeín (CSN2)	AA	19	0,422	A=0,556
	AB	13	0,288	
	BB	10	0,222	B=0,400
	BC	3	0,068	C=0,044
κ -kazeín (CSN3)	AA	28	0,622	A=0,756
	AB	12	0,267	
	BB	5	0,111	B=0,244
β -laktoglobulín (LGB)	AA	10	0,222	A=0,467
	AB	23	0,511	
	BB	10	0,222	B=0,511
	BD	2	0,045	D=0,022

Tab. 5 Frekvencia génov a genotypov bielkovín mlieka pri slovenskom strakatom plemene (n = 150)

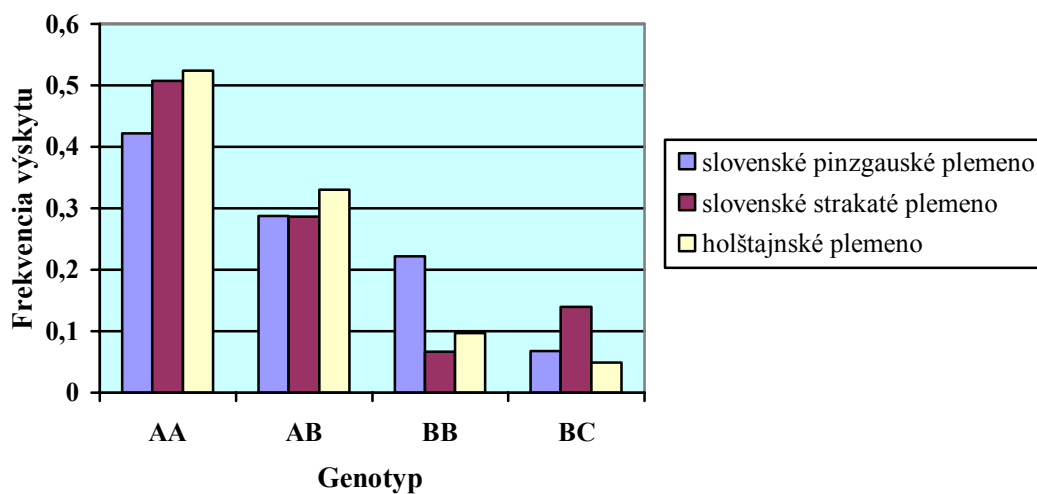
Bielkovina mlieka	Genotyp	n	Genotypová frekvencia	Génová frekvencia
α S1-kazeín (CSN1S1)	BB	83	0,553	B=0,720
	BC	50	0,333	
	CC	17	0,114	C=0,280
β -kazeín (CSN2)	AA	76	0,507	A=0,653
	AB	43	0,286	
	BB	10	0,067	B=0,274
	BC	21	0,140	C=0,073
κ -kazeín (CSN3)	AA	50	0,333	A=0,620
	AB	85	0,567	
	BB	15	0,100	B=0,380
β -laktoglobulín (LGB)	AA	43	0,287	A=0,527
	AB	72	0,480	
	BB	31	0,207	B=0,460
	BD	4	0,026	D=0,013

Tab. 6 Frekvencia génov a genotypov bielkovín mlieka pri holštajnskom plemene (n = 103)

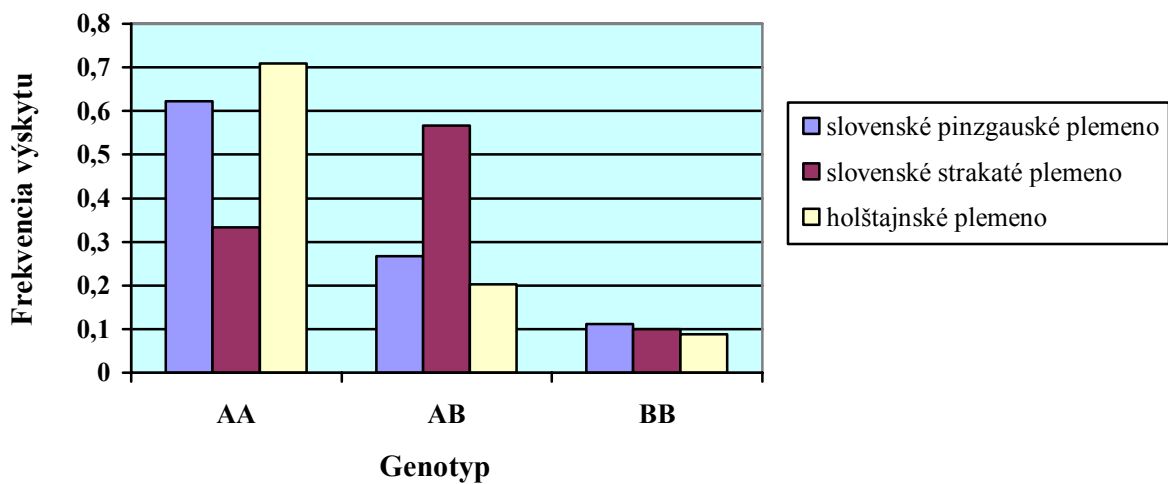
Bielkovina mlieka	Genotyp	n	Genotypová frekvencia	Génová frekvencia
α S1-kazeín (CSN1S1)	BB	68	0,660	B=0,757
	BC	20	0,194	
	CC	15	0,146	C=0,243
β -kazeín (CSN2)	AA	54	0,524	A=0,689
	AB	34	0,330	
	BB	10	0,097	B=0,291
	BC	5	0,049	C=0,020
κ -kazeín (CSN3)	AA	73	0,709	A=0,816
	AB	21	0,203	
	BB	9	0,088	B=0,184
β -laktoglobulín (LGB)	AA	35	0,340	A=0,543
	AB	42	0,408	
	BB	20	0,194	B=0,437
	BD	6	0,058	C=0,020



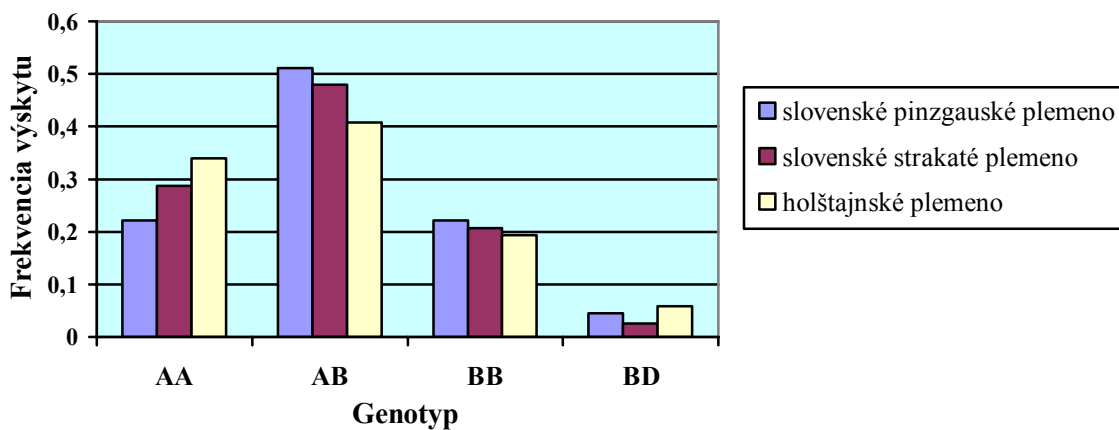
Graf 1 Frekvencia genotypov CSN1S1 pri hodnotenom súbore dojnic (n = 298)



Graf 2 Frekvencia genotypov CSN2 pri hodnotenom súbore dojnic (n = 298)



Graf 3 Frekvencia genotypov CSN3 pri hodnotenom súbore dojníc (n = 298)



Graf 4 Frekvencia genotypov LGB pri hodnotenom súbore dojníc (n = 298)

V tabuľkách 7 – 18 (príloha) uvádzame priemerné parametre kvality mlieka vo vzťahu k jednotlivým genotypom polymorfných bielkovín mlieka a hodnotenému súboru dojníc analyzovaných plemien hovädzieho dobytká. Každý súbor je rozdelený podľa plemena (slovenské pinzgauské, slovenské strakaté a holštajnské) pričom je uvedená genotypová analýza z hľadiska k jednotlivým bielkovinám mlieka (α S1-kazeínu, β -kazeínu, κ -kazeínu a β -laktoglobulínu) a v rámci genotypov k primárnym ukazovateľom kvalitatívneho zloženia a rozdielov medzi jednotlivými detegovanými genotypami.

Pri slovenskom pinzgauskom plemene (tabuľky 7 až 10) bola väčšina rozdielov medzi jednotlivými genotypmi analyzovaných bielkovín štatisticky nevýznamná. Významné rozdiely na úrovni $p < 0,05$ boli pri obsahu sušiny CSN1S1 (tab. 7) v prospech heterozygotov BC (13,28 %) v porovnaní s homozygotmi BB (13,02 %) a CC (12,51 %). Ostatné diferencie v rámci a medzi porovnávanými technologickými vlastnosťami kvality mlieka pri α S1-kazeíne (CSN1S1) neboli štatisticky významné. Pri β -kazeíne (CSN2) je signifikantný rozdiel len v obsahu kazeínu ($p < 0,05$). Hodnoty tohto ukazovateľa sa pohybujú od 2,49 % pri genotype BB po 2,75 % pri genotype AA (tab. 8). Ostatné technologické kvalitatívne charakteristiky sú v súlade s príslušnými normami a neboli štatisticky významné. Podľa hodnotenia analýzy variancie je tiež pri κ -kazeíne. Významné rozdiely (tab. 9) sú pri obsahu kazeínu vo vzorkách analyzovaného mlieka pinzgauských kráv. Najvyšší obsah 2,87 % mali dojnice genotypu BB CSN3.

V tabuľke 10 sú uvedené parametre jednotlivých ukazovateľov kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -laktoglobulínu (LGB) pri slovenskom pinzgauskom plemene. Na rozdiel od predchádzajúcich hodnotení bielkovín mlieka pri tomto ukazovateli boli zistené viaceré významné hodnoty podľa F-testu na úrovni preukaznosti $p < 0,05$. Bol to obsah sušiny ($F=3,61^+$), keď sa priemerné hodnoty pohybovali od 12,81 % pri AA po 13,44 % pri BB genotype. Srvátkové bielkoviny boli najvyššie pri BB genotype (0,63 %) čo má určitú logiku s obsahom bielkovín, sušiny, BTS. Je zaujímavá významnosť hodnôt kazeínového čísla (tab. 10), kde štatisticky významné rozdiely (vyššie hodnoty) sú práve pri heterozygotných jedincoch genotypov AB a BD.

Pri slovenskom strakatom plemene (tab. 11 až 44) sú tiež zachované hodnoty jednotlivých kvalitatívnych ukazovateľov v súlade s požadovanými normami pre

technologickú kvalitu mlieka pri jeho spracovaní. Vo vzťahu ku genotypu α S1-kazeínu (tab. 11) štatisticky významné rozdiely medzi genotypmi na úrovni $p < 0,05^+$ boli pri obsahu sušiny (13,33 % - genotyp BC a 12,89 % - genotyp CC), podobne pri obsahu BTS (9,30 % - genotyp BC a 8,82 % genotyp CC). Významné diferencie sme tiež zistili pri kazeínovom čísle. Najvyššie hodnoty 82,90 % mali reprezentanti BB genotypu CSN1S1 a najnižšie CC genotypu 79,58 %. Ostatné rozdiely medzi genotypmi neboli štatisticky potvrdené.

β -kazeínové (CSN2) genotypy slovenského strakatého plemena boli reprezentované tromi alelovými systémami A, B, C (tab. 12). Ako významné rozdiely s ukázali úrovne obsahu kazeínu ($F=3,39^+$) a kazeínového čísla ($F \% 4,15^{++}$) pri najnižších hodnotách týchto ukazovateľov v súbore (2,53 % kazeínu a 75,78 % kazeínové číslo) pri genotypoch BC.

V tabuľke 13 sú uvedené priemerné hodnoty parametrov kvality mlieka pri genotypoch κ -kazeínu. Najvyššie hodnoty obsahu sušiny a beztukovej sušiny boli zistené pri heterozygotoch AB (13,83 % resp. 9,39 %). Tieto boli štatisticky významné oproti dominantným AA homozygotom (13,23 % resp. 9,17 %) na hladine významnosti $p < 0,05^+$. Podobná situácia bola tiež pri obsahu celkových bielkovín a čistých bielkovín. Kým pri celkových bielkovinách rozdiely medzi genotypmi boli štatisticky významné ($p < 0,05^+$) v prospech AB, tak pri čistých bielkovinách napriek vysokej tabuľkovej hodnote F-testu ($F = 3,48^-$) nebol tento rozdiel potvrdený. Podobne ako pri ostatných bielkovinách boli výsledky genotypovej analýzy štatisticky nevýznamné.

V tabuľke 14 je väčšina hodnôt β -laktoglobulínu (LGB) pri slovenskom strakatom plemene vo vzťahu k technologickým vlastnostiam štatisticky nesignifikantná. Významné medzigenotypové rozdiely boli len pri sušine a BTS (F -test = $2,75^+$ resp. $2,88^+$) v prospech homozygotných BB genotypov (13,24 % a 9,14 %). Najnižšie hodnoty (12,94 % a 9,04 %) boli pri homozygotných genotypoch AA. V prípade analyzovaného súboru sú zaujímavé výsledky pri kazeínovom čísle, ktorého hodnoty sú blízko k významnej štatistickej hranici ($F=2,47^-$) a najvyššie (82,27 %) boli tiež pri genotype BB.

Tabuľky 15 až 18 reprezentujú výsledky parametrov kvality mlieka vo vzťahu k jednotlivým genotypom analyzovaných bielkovín pri holštajnskom plemene. Pri

ukazovateľoch kvality mlieka genotypov CSN1S1 (tab. 15) štatisticky významné rozdiely na hladine významnosti F-testu ($p < 0,05$) sme zistili len pri sušine a BTS. Hodnoty F-testu vypočítané pre jednotlivé genotypy a rozdiely medzi nimi boli $3,69^+$ a $3,38$. Tieto prezentovali predovšetkým vyšší obsah obidvoch zložiek pri heterozygotných jedincoch BC. Ďalšie rozdiely jednotlivých ukazovateľov neboli štatisticky významné. Podobná charakteristika platí aj pre rozdiely medzi genotypmi β -kazeínu (tab. 16). Významné diferencie boli len pri obsahu sušiny ($F = 2,79^+$) a BTS ($F = 3,38^+$). Všetky ukazovatele boli v súlade s platnou štátnou normou. Nevýznamnosť ostatných charakteristík vyplýva z nevyváženosti počtu jednotlivých genotypov.

Pri κ -kazeíne (CSN3) v tabuľke 17 je významnosť rozšírená o obsah kazeínu v mlieku, kde najvyššia hodnota $2,71\%$ je pri genotype BB a najnižšia ($2,62\%$) zase pri homozygotoch AA. Heterozygotné genotypy AB podobne ako pri sušine a BTS zaujali stredné postavenie.

V tabuľke 18 sú uvedené priemerné hodnoty jednotlivých ukazovateľov kvality a technologických vlastností mlieka holštajnských dojníc vo vzťahu ku genotypom β -laktoglobulínu. Jediný štatisticky významný rozdiel ($p < 0,05$) bol pri srvátkových bielkovinách. Najnižšie hodnoty ($0,46\%$) boli zistené pri dominantných homozygotoch BB. Vo vzťahu k tomuto ukazovateľovi je zaujímavé postavenie či funkcia alely B, ktorá sa na manifestácii vlastností prezentuje v pomerne širokom rozpätí (BB – $0,46\%$; AB – $0,65\%$ a BD – $0,75\%$).

Sumárom hodnotenia tejto časti výsledkov je konštatovanie, že medzi jednotlivými plemenami a genotypmi analyzovaných bielkovín nie sú vo väčšine hodnotených ukazovateľov štatisticky významné rozdiely. Existujúce rozdiely sú hlavne v obsahu sušiny, beztukovej sušiny, kazeínu či kazeínového čísla. Tento stav je podmienený podľa nášho názoru predovšetkým rovnakými podmienkami chovateľského prostredia a hlavne faktorom kvalitatívne a kvantitatívne vyrovnanej výživy pri výrazne diferencovaných úžitkových typoch hovädzieho dobytku. Neboli zásadne potvrdené medziplenné rozdiely v kvalite a technologických vlastnostiach mlieka.

Diplomová práca je orientovaná na problematiku, ktorá napriek existencii širokého spektra poznatkov zahraničnej i domácej literatúry je stále aktuálna. Vyplýva to predovšetkým zo základných funkcií mlieka a hlavne jeho bielkovín pre zabezpečenie základnej a prvotnej výživy cicavcov v začiatkoch postnatálneho obdobia vývinu a neskôr ako organickej súčasti potravného reťazca. Bielkoviny mlieka majú zloženie aminokyselín najviac podobné do zloženia bielkovín ľudského organizmu. Okrem základných funkcií ako živiny sú bielkoviny prekurzormi biologicky aktívnych peptidov, ktoré spolu so zodpovedajúcimi receptormi môžu regulovať fyziologické funkcie organizmu. To sú v podstate všeobecné učebnicové poznatky o bielkovinách mlieka, ktoré majú rôzne zloženie, vlastnosti a funkcie. Práve ich spektrum a poznávanie sú predmetom našej diplomovej práce.

Z hľadiska vzťahov úžitkovosti a prítomnosti jednotlivých genotypov mliečnej produkcie naše výsledky nie vždy korešponujú s literárnymi zdrojmi. Napr. pri α S1-kazeíne, β -kazeíne, κ -kazeíne i β -laktoglobulíne je väčšina hodnotených dojníc AA genotypu z holštajnského plemena. Pri ostatných plemenách je rozdielna frekvencia v rámci ďalších genotypov. To je v podstate dosť konformné z viacerými názormi, že okrem κ -kazeínu (CSN3) sú homozygotné jedince AA charakterizované celkovo vyššou dennou, ročnou či celoživotnou produkciou mlieka.

Naše výsledky vzhľadom k zloženiu (plemennej štruktúre) hodnotenej populácie troch diferencovaných plemien sú, vo vzťahu k poznatkom a zdrojom uvádzaných v literatúre, vo všetkých štyroch skupinách polymorfných bielkovín ťažko porovnateľné. Je to možné napr. pri κ -kazeíne (CSN3) kde Vašíček et al. (1995) určili pri využití PCR genotypovania A a B alel u troch plemien chovaných na Slovensku nasledovnú frekvenciu B alely (H – 0,21; SS – 0,56 a SP – 0,24). Tento pomer je v našom prípade zmenený (H – 0,18; SS – 0,24 a SP – 0,38). Je to zrejme aj selekčný tlak v rámci výberu býkov a matiek býkov na Slovensku a import semena z Rakúska na zvýšenie frekvencie alely B pre vyšší obsah bielkovín a srvátkových bielkovín pre lepšie technologické vlastnosti pri výrobe syra u slovenského pinzgauského dobytká. To je naše konštatovanie, ktoré sa zhoduje a rozširuje poznatky predovšetkým našich autorov (Chrenek et al., 2003; Michalcová, Krupová, 2007; Bulla et al., 2007 i Szymańska et al., 2010).

Je tiež významný vplyv genetických variantov β -laktoglobulínu (LGB) na obsah zložiek mlieka. Podobne v súlade s poznatkami Litwinczuka et al., (2006) môžeme konštatovať rozdielnosť názorov i výsledkov, ktoré boli získané pri diferencovane odlišných úžitkových typoch. Je však dôležité z hľadiska našej práce, že pri všetkých troch plemenách bol vyšší obsah srvátkových bielkovín v prospech nožnej časovej frekvencie zrážania syreniny. To sme však v predloženej práci ešte nemohli dokumentovať, lebo riešenie výskumu pokračuje ďalej. Je však možná pravdepodobnosť z poznatkami Czierniawskej – Piatkowskej a Kamienieckiego (2004).

Vzhľadom k odboru štúdia je predovšetkým rozhodujúce poznanie výživovej a zdravotnej i ekonomickej hodnoty mlieka, ktorú v tejto diplomovej práci ako súčasť širšieho výskumu nehodnotíme. Na základe vlastných poznatkov, uvedených názorov a poznatkov bohatého súboru prezentovaných autorov nie je potrebné a hlavne účelné opakovať ich závery a konštatovať súlad či nesúlad so záverečným hodnotením. Dôležité je, že každá potravina má svoj význam, je často nezastupiteľná v ontogenéze, dôležité je aj ekonomicke postavenie a špecifikácia vzťahov genotypu, prostredia a politickej kultúry každého účastníka potravinového reťazca.

Záver

Diplomová práca sa orientovala na kvantatívne a kvalitatívne zhodnotenie produkcie mlieka pri troch plemenách (slovenské pinzgauské, slovenské strakaté, holštajnské), ktoré súčasne reprezentujú dva úžitkové typy – mliekové (holštajnské) a kombinované (slovenské pinzgauské a slovenské strakaté) chované v rovnakých chovateľských podmienkach podhorskej oblasti Liptova v PD Smrečany. Dôvody výberu jednotlivých plemien a chovateľského prostredia i hodnotených ukazovateľov sú uvedené v cieľoch a metodike riešenia diplomovej práce. Dosiahnuté výsledky boli a sú súčasťou komplexného výskumu kvalitatívnej a kvantitatívnej premenlivosti živočíšnej produkcie v podhorských a horských oblastiach Slovenska a Poľska prei riešení možností využitia týchto regiónov pri výrobe funkčných potravín na báze mlieka a mäsa prežúvavcov.

V našej práci sme sa predovšetkým snažili zhodnotiť poznatky domácej a zahraničnej literatúry súvisiacej s problematikou bielkovín mlieka predovšetkým vo vzťahu k využitiu ich polymorfizmu pri poznávaní produkčných a technologických vlastností jednotlivých plemien pri realizácii a manifestácii úžitkových potencií.

Pri hodnotení mliekovej úžitkovosti boli zistené významné medzipliesenné rozdiely v produkcii mlieka na kravu a rok (4580 kg slovenské pinzgauské, 6284 kg slovenské strakaté a 8083 kg holštajnské plemeno). Diferencie sú limitované už ich úžitkovým typom. Od tejto úrovne sa odvíjajú aj celkové prepočítavané množstvá tuku, bielkovín a laktózy v kg. Na druhej strane je významné porovnanie obsahu jednotlivých zložiek. Najvyšší obsah tuku v mlieku (4,55 %) mali dojnice slovenského pinzgauského plemena a najnižší (4,27 %) holštajnské kravy. Táto primárna kvalitatívna i ekonomická charakteristika (v uplynulých obdobiach) boli podľa % tuku v mlieku aj nákupné ceny pri jeho speňažovaní. Obsah tuku v mlieku je z hľadiska úrovne zmien genetická vlastnosť, ktorú významne ovplyvňujú faktory výživy dojníc v interakcii s genotypom. Tu sa ukázal aj vzťah výšky produkcie mlieka a obsahu tuku. Ostatné kvalitatívne zložky (bielkoviny, laktóza) sú konzervatívneho charakteru a ich premenlivosť je predovšetkým genetického charakteru.

Z hľadiska cieľov práce je významné a určitým spôsobom výberu poľnohospodárskeho podniku a jeho chovateľských podmienok prioritné porovnanie analyzovaných vlastností v rovnakom prostredí.

Genotypy, gény a ich frekvencia je špecifická pre každé plemeno a konkrétnu bielkovinu mlieka. Pri CSN1S1 mali najvyšší výskyt holštajnskej dojnice v genotype BB ($n = 68$), pri BC to bolo 50 dojníc slovenského strakatého plemena a pri CC 15 dojníc holštajnskeho plemena. Pri β -kazeíne (CSN2) boli determinované 4 genotypy (AA, AB, BB a BC). Najvyššia frekvencia bola pri holštajnskom plemene v genotypoch AA (0,524) a najmenej pri slovenskom pinzgauskom (0,422). Ostatné genotypy mali zastúpenie podľa početnosti súboru. Z technologického hľadiska je významná frekvencia genotypov κ -kazeínu (CSN3). Genotypy AA sú najviac a najvyššie hodnoty majú pri holštajnských jedincoch, AB pri slovenských strakatých a BB pri slovenských pinzgauských. Bez ohľadu na plemeno či úžitkový typ je pri tomto markerovom géne významná prevaha génu A (od 0,620 do 0,816) v porovnaní s génom B (od 0,184 SP do 0,380 pri SS).

Zo srvátkových bielkovín je β -laktoglobulín (LGB) v hodnotenom súbore prítomný vo variantoch genotypov AA, AB, BB a BD. Zo sledovaného počtu dojníc bez ohľadu na plemeno bolo 137 zvierat genotypu AB a najmenej ($n = 12$) genotypu BD. Táto kombinácia je pri úžitkových typoch kombinovaných pomerne zriedkavá. Je to aj náš prípad. Génové frekvencie sú v rozpätí od 0,13 pri slovenskom strakatom, cez 0,020 pri holštajnskom po 0,022 pri slovenskom pinzgauskom plemene.

Vo vzťahoch kvality mlieka a jednotlivých genotypov polymorfných bielkovín vo hodnotenom súbore dojníc diferencovaných úžitkových typov hovädzieho dobytku sme po viariačno-štatistickom spracovaní výsledkov nezískali jednoznačné resp. smerujúce poznatky o vyhranenom vplyve genotypu, úrovne úžitkovosti či ďalších neregénových faktorov na technologickú kvalitu mlieka. Vo všetkých prípadoch išlo predovšetkým o signifikantné zmeny v obsahu sušiny, beztukovej sušiny (BTS), obsahu kazeínu či analogicky v kazeínovom čísle. V menšom počte prípadov boli rozdiely významné pri obsahu srvátkových bielkovín. To čo je významné podľa nášho názoru, ale aj v konfrontácii s poznatkami literatúry a hlavne praxe spracovateľského priemyslu, že v prípade dodržania príslušnej úrovne chovateľského prostredia a hlavne zodpovedajúcej výžive zvierat, genotyp má svoju úlohu predovšetkým pri manifestácii

genetických potencií. Prostredie určuje ich realizáciu a poradie významnosti. To znamená, že aj v podhorských a horských oblastiach pre produkciu syrov a ďalších špecifických mliečnych výrobkov je možné využiť genotypy aj jednostranne šľachtených mliekových plemien.

Z hľadiska technologických vlastností mlieka je dôležité, že všetky sledované ukazovatele a ich variabilita boli v rámci príslušných noriem (STN 57 05 29; Potravinového kódexu SR a legislatívy EÚ). Pre rozvoj poznania je zaujímavé, že heterozygotné jedince v príslušných genotypoch podmienených tzv. markerovými génmi sa neprejavili na úrovni možného heterózneho efektu týchto vlastností. Ide pravdepodobne o možné inter a intragenetické väzby či korelácie. Ďalším možným faktorom pre nevýznamnosť rozdielov je dlhoročná cieľavedomá selekcia na intenzívnu produkciu mlieka, menší počet hodnotených jedincov a nedefinované faktory interakcií genotyp x prostredie. Práve z vyššie uvedených faktorov a úvah je potrebné pri výskume tejto problematiky pokračovať.

Zoznam použitej literatúry

- ALEXANDER, L. J. et al. 1988. Eur. J. Biochem. In: Isolation and characterization of the bovine kappa-casein gene. 1988, s. 395-401
- ASCHAFFENBURG, R. – DREWRY, J. 1995. Occurrence of different beta-lactoglobulin in cows milk. In: Nature, 1995, č. 176, s. 218-219.
- BEAGLEHOLE, R. – JACKSON, R. 2003. Balancing research for new risk factors and action for the prevention of chronic diseases. NZMJ, 116. In: <http://www.nzma.org.nz/journal/116-1168>
- BIRGISDOTTIR, B. E. – HILL, J. P. – THORSSON, A. V. – THORSDDOTTIR, I. 2006. Lower consumption of cow milk protein A1 beta-casein at 2 years of age, rather than consumption among 11-to 14-years-old adolescents, may explain the lower incidence of type 1 diabetes in Iceland than Scandinavia. Annual Nutrition Metabolism, 2006, vol. 50, s. 177 – 183
- BOBE, G. – BEITZ, D. C. – FREEMAN, A. E. – LINDBERG, G. L. 1999. Effect of milk protein composition and its genetic parameter estimates. J. Dairy Sci., 82, 2797 – 2804
- BOWENHUIS, H. 1992. The relevance of milk protein polymorphisms for dairy cattle breeding. Doctoral Thesis, Department of Animal Breeding, Wageningen Agricultural University, The Netherlands, 1992, 139 s.
- BROPHY, B. – SMOLEŃSKI, G. – WHEELER, T. – WELLS, D. L. – HUILLIER, P. – LAIBLE, G. 2003. Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of beta-casein and kappa-casein. In: Nature Biotechnology, 2003, č. 21, s. 157-162.
- BULLA, J. – CHRENEK, P. – MICHALCOVÁ, A. – KRUPOVÁ, Z. – SZAREK, J. – BULLA, R. – LADYKOVÁ, M. – ADAMCZYK, K. 2007. Influence of κ -casein and β -lactoglobulin genes on milk yield, milk composition and technological properties of the different cattle breeds. In: Biotech. 2007, vol. 54, 2007, 60 s.
- BULLA, J. – MURGAŠ, J. – BULLA, R. – SZAREK, J. – SZULC, T. – FILISTOWICZ, A. 2010. Cattle Breeding in Slovakia – Today and Tomorrow. In: XVIII Szkoła Zimowa Hodowców Bydła. Znaczenie hodowli i produkcji bydla dla

gospodarki narodowej. Zakopane 8 – 12 marca 2010, s. 27 – 33, ISBN 978-83-7607-015-5.

COWAN, C. M. – DENTINE, M. R. – COYLE, T. 1992. Chromosome substitution effects associated with κ -casein and β -lactoglobulin in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 75, 4, 1992, s. 1097-1104

CZERNIAWSKA –PIATKOWSKA, E. – KAMIENIECKI H. 2004. Milk protein polymorphism in cattle. *Med. Weter.*, 60, s. 692 – 694

DEBRECÉNI, O. – BULLA, J. – VAVRIŠÍNOVÁ, K. 1999. *Základy chovu kráv*. Agroservis, UVTIP-NOI, Bratislava, 1999, 110 s., ISBN 80-85330-71-7

DOPPLER, W. – GEYMAYER, S. – WEIRICH, H. G. 2000. Synergistic and antagonistic interactions of transcription factors in the regulation of milk protein gene expression. Mechanisms of crosstalk between signalling pathways. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2000, č. 480, s. 139-146.

EENENNAM, A. – MEDRANO, J. F. 1991. Milk Protein Polymorphisms in California Dairy Cattle. *J. Dairy. Sci.: University of California*, 1991, s. 1730 – 1742

EIGEL, W. N. – BUTLER, J. E. – ERNSTROM, C. A. – FARRELL, H. M. – HARWALKAR, V. R. – JENNESS, R. – WHITNEY, R. MCL. 1984. Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision. In: *Journal of Dairy Science*, 1984, č. 67, s. 1599-1631.

FLAK, P. 1991. Základné princípy markérovo-podporovanej selekcie (MAS) v plemenitbe zvierat. Rozšírený rukopis prednášky autorov Flak, P. – Nový, J. – Bukarov, N. Zborník XV. Genetické dny, České Budějovice, 16. – 18. 9. 1991, s. 167, 1991

FLAK, P. 2000. Význam MPS/MAS v chove HD: Biometricko-genetická problematika – jej súčasný stav. Aktuální problémy šlechtění, chovu, zdraví a produkcie skotu. In: *Sb. 8. mezinárodní konference*, 8. – 9. 2. 2000, s. 32-34.

FORMAGGIONI, P. – SUMMER, A. – MALACARNE, M. – MARIANI, P. 1999. Milk protein polymorphism: Detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria, Parma*, vol. XIV, s. 127 – 165

-
- GELDERMANN, H. – GOGOL, J. – KOCK, M. – TACEA, G. 1996. DNA variants within the 5. flanking region of bovine milk protein encoding genes. In: Journal of Animal Breeding and Genetics, 1996, č. 113, s. 261-267.
- GOBBETTI, M. – STEPANIAK, L. – DE ANGELIS, M. – CORSETTI, A. – DI CAGNO, R. 2002. Latent bioactive peptides in milk proteins proteolytic activation and significance in dairy processing. In: Critical Reviews of Food Science and Nutrition, 2002, č. 42, s. 223-239.
- GONYON, D. S. – MATHER, R. E. – HINES, H. C. – HAENLEIN, C. F. W. – ARONE, W. – GAUNT, S. N. 1987. Association of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits Holsteins. J. Dairy Sci., 70, 1987, s. 2875
- HALEY, C. S. 1995. Livestock QTLs-bringing home the bacon? In: Trends in Genetics, 1995, č. 11, s. 488 – 492
- HAN, S. K. – CHUNG, E. Y. – LEE K. M. 1983. Studies on the genetic polymorphism of milk proteins in Korean Cattle. In: Proceedings 5th World Conference of Animal Production, Tokyo, Japan, August 14-19, 1983, s. 51-52.
- HAVLÍČEK, Z. 1996. Polymorfismus mléčných proteinů ve vztahu k jejich produkci a kvalitě. MZLU Brno. 1996, 179 s.
- HUBA, J. – CHRENEK, P. – PEŠKOVIČOVÁ, D. – VAŠÍČEK, D. – FLAK, P. 1998. Genotyp κ -kazeínu vo vzťahu k mliekovej úžitkovosti dobytka (Braunvieh), XVIII. Genetické dny, České Budějovice, 1998, s. 77, separátny výtlačok, 3 s.
- CHRENEK, P. – HUBA, J. – VAŠÍČEK, D. – PEŠKOVIČOVÁ, D. – BULLA, J. 2003. The relation between genetic polymorphism markers and milk yield in Brown Swiss cattle imported to Slovakia. Asian-Austral. J. Anim. Sci., 16, s. 1397 – 1401
- CHRENEK, P. et al., 1998. Charakteristika mliekovej úžitkovosti dojníc slovenského strakatého plemena vo vzťahu ku genotypom κ -kazeínového génu. J. Farm. Anim. Sci. Nitra: VÚŽV. 1998, s 9-12.
- IKONEN, T. – OJALA, M. – SYVAOJA, E. L. 1997 Effects of composite casein and beta-lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. In: Agricultural and Food Science in Finland. 1997, č. 6, s. 283-294.

-
- KAMIŃSKI, S. – RYMKIEWICZ-SCHYMCZYK, J. – WÓJCIK, E. 2002. Association between bovine milk protein genotypes and haplotypes and the breeding value of Polish Black and White bulls. In: Journal of Animal and Feed Sciences. 2002, č. 11, s. 205-221.
- KAMIŃSKI, S. – ZABOLEWICZ, T. 2000. Association between bovine beta-lactoglobulin polymorphism within coding and regulatory sequences and milk performance traits. In: Journal of Applied Genetics, 2000, č. 41, s. 91-99.
- KAMIŃSKI, S. 1998. Identification of bovine kappa-casein genotypes by PCR-SSCP method. In: Animal Science Papers and Reports. 1998, č. 16, s. 13-17.
- KAMIŃSKI, S. 2000. Association between polymorphism within regulatory and coding fragments of bovine kappa-casein gene and milk performance traits. In: Journal of Animal and Feed Sciences. 2000, č. 9, s. 435-466.
- KASHI, Y. – HALLERMAN, E. – SOLLER, M. 1990. Marker-assisted selection of candidate bulls for progeny testing programmes. Anim. Prod., 51, 1990, s. 63-74
- KENNEDY, B. W. – QUINTON, M. – VAN ARENDONK, J. A. M. 1992. Estimation of effects of single genes on quantitative traits. J. Anim. Sci., 70, 1992, s. 2000 - 2012
- KNOLL, A. – URBAN, T. 2002. Current methods used in molecular genetics of animals (Aktuální metody používané v molekulární genetice zvířat). In: XXth Genetics Days, Brno, 2002, s. 31-36.
- KRÄUSSLICH, H. 1994. Tierzuchtungslehre. 4. vyd. Stuttgart, Ulmer Verlag, 1994, 464 s.
- LANDE, R. – THOMPSON, R. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of qualitative traits. Genetics, 124, 1990, s. 743 – 756
- LAUGESSEN, M. – ELLIOTT, R. 2003. Ischaemic heart disease type 1 diabetes, and cow milk A1 beta –casein. New Zealand Medicine Journal, 2003, vol 166, s. 1 – 19
- LE ROY, P. – ELSEN, J. M. 1992. Numerical comparison between analysis of variance and maximum likelihood methods for QTL detection in progeny test design. 43 nd Ann. Meeting of E.A.A.P., Madrid, Spain, September 14-18, 1992, Commission on animal genetics, Session 2: Advances in molecular genetics, 1992, s. 1 – 14

-
- LECHNIAK, D. – STRABEL, T. – PRZYBYLA, D. – MACHNIK, G. – SWITOŃSKI, M. 2002. GH and CSN3 gene polymorphisms and their impact on milk traits in cattle. *J. Anim. Feed Sci.*, 11, s. 39 – 45
- LEONE, P. et al., 1998. Effects of the CASK E variant on Milk yield indexes in Italian Holstein Friesian Bulls. In: 26th Conference of ISAG, Animal Genetics, roč. I, 1998, č. 29, 63 s.
- LIEN, S. – KAMIŃSKI, S. – ALESTROM, P. – ROGNE, S. 1993. A simple and powerful method for linkage analysis by amplification of DNA from single sperm cells. In: *Genomics*, 1993, č. 16, s. 41-44.
- LIN, C. Y. – SABOUR, M. P. – LEE, A. J. 1992. Direct typing of milk proteins as an for genetic improvement of dairy bulls and cows: a Review. *Animal Breeding Abstract*, 60, January, 1992
- LITWIŃCZUK, Z. – BARLOWSKA, J. – KROL, J. – LITWIŃCZUK, A. 2006. Milk protein polymorphism as markers of production traits in dairy and meat cattle. *Met. Weter.*, 62, s. 6 – 10
- LUNDÉN, A. – NILSSON, M. – JANSON, L. 1997. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. In: *Journal of Dairy Science*, 1997, č. 80, s. 2996 – 3005
- MALEWSKI, T. 1998. Computer analysis of distribution of putative cis- and trans regulatory elements in milk protein gene promoters. In: *Biosystems*, 1998, č. 45, s. 29-44.
- MARTIN, P. – SZYMANOWSKA, M. – ZWIERZCHOWSKI, L. – LEROUX, C. 2002. The impact of genetic polymorphisms of the protein composition of remnant mikls. in: *Reproduction, Nutrition, Development*, 2002, č. 42, s. 433-459.
- MCLACHLAN, C. N. S. 2001. Beta casein A1, ischsemic heart disease mortality, and other illnesses. In: *Medical Hypopheses*, 2001, č. 56, s. 262-272.
- MICHALAK, B. V. 1997. Polymorfizm białek mleka w stadzie bydła o wysokim udziale genów rasy Holsztynsko-fryzyjskiej i jego związek z niektórymi cechami produkcyjnymi. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 24, 2, 1997, s. 7 – 21
- MICHALCOVÁ, A. – BENCZOVÁ, E. – ČANIGOVÁ, M. 1996. Vzťah medzi genetickým polymorfizmom κ -kazeínu a produkciou, zložením a technologickými
-

vlastnosťami mlieka. Zborník z medzinárodnej konferencie AF – VŠP, Nitra, apríl 1996, s. 27 – 29

MICHALCOVÁ, A. – KRUPOVÁ, Z. – BULLA, J. 2009. β -lactoglobulin genetic variants in Simental breed and its association with compositional properties and rennetability of milk. *Prace i Materialy Zootechniczne* 67, 2009, s. 13 – 18

MICHALCOVÁ, A. – KRUPOVÁ, Z. 2007. Influence of composite κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed. *Czech J. Anim. Sci.*, 52, 2007 (9): s. 292 - 298

MILUCHOVÁ, M. – TRAKOVICKÁ A. – GÁBOR, M. 2009. Genetické markéry kvality mlieka a zdravia hovädzieho dobytku. Vedecká monografia. SPU Nitra, 2009, 71 s., ISBN 978-80-552-0281-5

MOSING, M. O. – LIPKIN, E. – KHOUTORESKAYA, G. – TCHOURZYNA, E. – SOLELR, M. – FRIEDMANN, A. 2001. Whole genome scan for quantitative trait loci affecting milk protein percentage in Israeli-Holstein cattle, by means of selective milk DNA pooling in daughter design, using an adjusted false discovery rate correction. In: *Genetics*, 2001, č. 157, s. 1683-1698.

NG-KWAI-HANG, K. F. – HAYES, J. F. – MOXLEY, J. E. – MONARDES, H. G. 1984. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1984, s. 835 – 834

PANICKE, L. – FREYER, G. – ERHARDT, G. – SCHLETTWEIN, K. 1996. Milchprotein-genotypen und ihr Einfluss auf die Milchleistungsmerkmale, *Arch. Tierz., Dummerstorf* 39, 1, 1996, s. 3 -6

PANICKE, L. – FREYER, G. – ERHARDT, G. 1996. Effekte der Milchproteinpolymorphismen auf die Leistung. In: *Kolloquium Milchprotein und Proteinansatz*, Graal-Müritz, FBN Dummerstorf, Universität Rostock, 1996.

PANICKE, L. – FREYER, G. – ERHARDT, G. 1997. Effects of milk protein genotypes on production and fertility. 48. Jahrestagung der Euroäischen Vereinigung für Tierzucht. Wien, Österreich, 25-28 August, 1997, Sitzung G1.14, separátny výtlačok, 4 s.

PLESNÍK, J. 1976. Zlepšovanie úžitkových vlastností a produkcie hovädzieho dobytku. Výskumná správa, Nitra, VÚŽV, 1976, 63 s.

-
- PRINZENBERG, E. M. – WEIMANN, C. – BRANDT, H. – BENNEWITZ, J. – KALM, E. – SCHWERIN, M. – ERHARDT, G. 2003. Polymorphism in the bovine CSN1S1 promoter: linkage mapping, intragenic haplotypes, and effect on milk production traits. In: *Journal of Dairy Science*. 2003, č. 86, s. 2696-2705.
- PŘIBYL, J. 1995. Využití markeru při selekci hospodářských zvířat. *Živočišna Výroba*, 40, 8, 1995, s. 375 – 382
- RON, M. – YOFFE, O. – EZRA, E. – MEDRANO, J. F. – WELLER, J. I. 1994. Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Israeli Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 77, 4, 1994, s. 1106 – 1113
- RUOTTINEN, O. – IKONEN, T. – OJALA, M. 1996. Associations of composite casein genotypes and β -lactoglobulin genotypes with breeding values for milk production traits in the Finnish Ayrshire cows. 47 th Ann. Meeting of E. A. A. P., 25-29 August 1996, Lillehammer, Norway, Poster G 3.9, separátny výtlačok, 6 s.
- SABOUR, M. O. – LIN, C. Y. A. – LEE, A. J. – MCALLISTER, A. J. 1996. Association between milk protein genetic variants and genetic values of Canadian Holstein bulls for milk yield traits. *J. Dairy Sci.*, 79, 1996, s. 1050 – 1056
- SPELMAN, R. J. – COPPIETERS, W. – KARIM, L. - VAN ARENDONK, J. A. M. – BOVENHUIS, H. 1996. Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome Six in the Dutch Holstein-Friesian population. *Genetics*, 144, 1996, s. 1799 – 1808
- STEWART, A. F. – WILLIS, I. M. – MACKINLAY, A. G. 1984. Nucleotide sequences of bovine alpha s1 and kappa-casein cDNAs. In: *Nucleic Acids Research*, 1984, č. 112, s. 3895 – 3907
- SUN, Z. – ZHANG, Z. – WANG, X. – CADE, R. – ELMIR, Z. – FREGLY, M. 2003. Relation of betacasomorphin to apnoea in sudden infant death syndrome. In: *Peptides*, 2003, č. 24, s. 937 – 943
- SZULC, T. – SZAREK, J. – BULLA, J. 2011. Tajemnice mleka. In: XIX Szkoła Zimowa Hodowców Bydla. Praktyka naucenauka praktyce. Warsztuty w Zakopanem. Zakopane 4 – 8 kwietnia 2011, s. 17 – 28, ISBN 978-83-7607-148-0

-
- SZYMANSKA, J. – MISZKIEWICZ, J. – ROGOŹNICKI, D. – SMALEC, E. 2010. Polimorfizm bialek zwierzęcych – krwi, mleka, nasienia, tręsci jaja. *Przeład Hodowlany*, vol. 12/2010, ISSN 0137-4214, s. 3 – 7
- TAILORD, K. A. – BERRY, C. L. – THOMAS, A. C. – CAMPBL, J. H. 2003. A casein variant in cow's milk is atherogenic. *Atherosclerosis*, 2003, 170, vol. 1, s. 13 – 19
- THORSDOTTIR, I. – BIRGISDOTTIR, B. E. – JOHANSDOTTIR, I. M. – HARRIS, P. 2000. Different (beta-casein) fraction in Icelandic versus Scandinavian cow's milk may influence diabetogenicity of cow's milk in infancy and explain incidence of insulin-dependent diabetes mellitus in Iceland. *Pediatrics*, 2000, vol. 106, s. 719 – 724
- TRÉGOUËT, D. A. – DUCIMETIÈRE, P. – TIRET, L. 1997. Testing association between candidate gene-markers and phenotype in related individuals, by use of estimating equations. *Am. J. Human Genet.*, 61, 1997, s. 189 – 199
- VAŠÍČEK, D. – UHRÍN, P. – CHRENEK, P. – BAUEROVÁ, M. – OBERFRANC, M. – BULLA, J. 1995. Genotyping of kappa-casein in different cattle of Slovakia. *Živočišna výroby*, 40, 6, 1995, s. 241 – 244
- WALAWSKI, K. – SOWIŃSKI, G. – CZARNIK, U. – ZABOLEWICZ, T. 1994. Beta-lactoglobulin and kappa-casein polymorphism in relation to production traits and technological properties of milk in the herd of Polish Black-and-cows. In: *Genetica Polonica*, 1994, č. 35, s. 93 – 108
- WELLER, J. I. – KASHI, Y. – SOLLER, M. 1990. Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *J. Dairy. Sci.*, 73, 1990, s. 2525 – 2537

Prílohy

Tab. 7 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom α S1-kazeínu (CSN1S1) pri slovenskom pinzgauskom plemene (n = 45)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusikaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
BB	25	13,02	9,01	3,38	3,28	0,10	2,72	0,50	79,91
BC	12	13,28	9,04	3,39	3,26	0,13	2,70	0,48	79,43
CC	8	12,51	8,57	3,36	3,17	0,19	2,67	0,54	77,69
F-test		3,28 ⁺	2,79 ⁻	0,30 ⁻	0,23 ⁻	1,24 ⁻	0,38 ⁻	0,39 ⁻	0,96 ⁻

$$F_{(2,43)} = 3,23 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(2,43)} = 5,18 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 8 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -kazeínu (CSN2) pri slovenskom pinzgauskom plemene (n = 45)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusikaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	19	13,21	9,17	3,37	3,24	0,13	2,75	0,46	81,60
AB	13	13,36	9,24	3,41	3,30	0,11	2,68	0,51	78,59
BB	10	13,16	9,08	3,26	3,17	0,09	2,49	0,44	76,38
BC	3	13,25	9,31	3,29	3,20	0,09	2,57	0,50	78,12
F-test		1,58 ⁻	1,64 ⁻	0,86 ⁻	0,23 ⁻	1,43 ⁻	0,59 ⁻	4,12 ⁺	2,59 ⁻

$$F_{(3,43)} = 2,84 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(3,43)} = 4,31 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 9 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom κ -kazeínu (CSN3) pri slovenskom pinzgauskom plemene (n = 45)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	28	13,04	9,02	3,41	3,23	0,18	2,74	0,49	80,35
AB	12	13,16	9,13	3,48	3,25	0,23	2,81	0,44	80,75
BB	5	13,20	9,18	3,54	3,33	0,21	2,87	0,46	81,07
F-test		0,84 ⁻	1,12 ⁻	0,46 ⁻	0,77 ⁻	1,18 ⁻	3,59 ⁺	0,57 ⁻	0,66 ⁻

$$F_{(2,43)} = 3,23 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(2,43)} = 5,18 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 10 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -laktoglobulínu (LGB) pri slovenskom pinzgauskom plemene (n = 45)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	10	12,81	9,07	3,38	3,19	0,19	2,62	0,57	77,51
AB	23	13,16	9,15	3,43	3,28	0,18	2,81	0,44	81,91
BB	10	13,44	9,11	3,47	3,27	0,20	2,64	0,63	76,08
BC	2	13,23	9,12	3,40	3,21	0,19	2,85	0,36	81,82
F-test		3,61 ⁺	1,12 ⁻	0,52 ⁻	0,34 ⁻	0,21 ⁻	2,49 ⁻	3,72 ⁺	3,12 ⁺

$$F_{(3,43)} = 2,84 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(3,43)} = 4,31 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 11 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom α S1-kazeínu (CSN1S1) pri slovenskom strakatom plemene (n = 150)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
BB	83	13,14	9,11	3,41	3,36	0,05	2,83	0,53	82,90
BC	50	13,33	9,30	3,40	3,31	0,09	2,70	0,61	81,57
CC	17	12,89	8,82	3,38	3,29	0,09	2,69	0,60	79,58
F-test		3,96 ⁺	4,14 ⁺	0,37 ⁻	0,52 ⁻	1,37 ⁻	2,71 ⁻	0,75 ⁻	4,42 ⁺

$$F_{(2,148)} = 3,84 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(2,148)} = 4,61 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 12 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -kazeínu (CSN2) pri slovenskom strakatom plemene (n = 150)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	76	13,03	9,08	3,37	3,18	0,19	2,75	0,43	81,60
AB	43	13,22	9,20	3,42	3,24	0,18	2,86	0,38	83,62
BB	10	13,13	9,07	3,36	3,18	0,18	2,67	0,51	79,47
BC	21	13,06	9,01	3,34	3,17	0,17	2,53	0,56	75,78
F-test		2,35 ⁻	1,22 ⁻	0,34 ⁻	0,29 ⁻	0,48 ⁻	3,39 ⁺	2,28 ⁻	4,15 ⁺⁺

$$F_{(3,148)} = 2,60 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(3,148)} = 3,78 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 13 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom κ -kazeínu (CSN3) pri slovenskom strakatom plemene (n = 150)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	50	13,23	9,17	3,45	3,25	0,20	2,68	0,57	77,62
AB	85	13,83	9,39	3,56	3,34	0,22	2,83	0,51	79,49
BB	15	13,49	9,26	3,38	3,19	0,19	2,72	0,47	80,43
F-test		4,16 ⁺	4,12 ⁺	3,96 ⁺	3,48 ⁻	0,38 ⁻	3,03 ⁻	0,95 ⁻	2,67 ⁻

$$F_{(2,148)} = 3,84 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(2,148)} = 4,61 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 14 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -laktoglobulínu (LGB) pri slovenskom strakatom plemene (n = 150)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	43	12,94	9,04	3,35	3,18	0,17	2,64	0,54	78,81
AB	72	13,19	9,13	3,41	3,20	0,21	2,68	0,52	78,63
BB	31	13,24	9,14	3,44	3,25	0,19	2,83	0,42	82,27
BC	4	13,18	9,08	3,36	3,18	0,18	2,70	0,48	80,38
F-test		2,75 ⁺	2,88 ⁺	0,89 ⁻	0,43 ⁻	0,38 ⁻	0,96 ⁻	1,78 ⁻	2,47 ⁻

$$F_{(3,148)} = 2,60 \text{ (} p < 0,05 \text{)}^+$$

$$F_{(3,148)} = 3,78 \text{ (} p < 0,01 \text{)}^{++}$$

Tab. 15 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom α S1-kazeínu (CSN1S1) pri holštajnskom plemene (n = 103)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
BB	68	12,63	8,96	3,27	3,18	0,09	2,61	0,57	77,43
BC	20	13,10	9,08	3,30	3,20	0,10	2,73	0,47	80,27
CC	15	13,04	9,03	3,28	3,18	0,10	2,68	0,50	79,29
F-test		3,96 ⁺	3,38 ⁺	0,64 ⁻	0,78 ⁻	0,26 ⁻	1,59 ⁻	2,12 ⁻	1,44 ⁻

$$F_{(2,101)} = 3,07 \text{ (p < 0,05)}^+$$

$$F_{(2,101)} = 4,79 \text{ (p < 0,01)}^{++}$$

Tab. 16 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -kazeínu (CSN2) pri holštajnskom plemene (n = 103)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	54	12,48	8,73	3,24	3,09	0,15	2,63	0,46	81,16
AB	34	13,06	9,06	3,25	3,11	0,14	2,71	0,40	83,39
BB	10	12,77	8,93	3,24	3,11	0,13	2,65	0,46	81,80
BC	5	13,19	9,17	3,26	3,12	0,14	2,70	0,32	82,82
F-test		2,79 ⁺	3,38 ⁺	0,57 ⁻	0,82 ⁻	0,64 ⁻	2,11 ⁻	1,58 ⁻	0,94 ⁻

$$F_{(3,101)} = 2,68 \text{ (p < 0,05)}^+$$

$$F_{(3,101)} = 3,95 \text{ (p < 0,01)}^{++}$$

Tab. 17 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom κ -kazeínu (CSN3) pri holštajnskom plemene (n = 103)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	73	12,76	8,74	3,26	3,12	0,14	2,62	0,50	80,37
AB	21	12,98	8,93	3,26	3,14	0,12	2,70	0,44	82,06
BB	9	13,24	9,12	3,29	3,16	0,13	2,71	0,45	82,36
F-test		3,13 ⁺	3,26 ⁺	0,69 ⁻	0,54 ⁻	0,36 ⁻	3,17 ⁺	0,88 ⁻	0,92 ⁻

$$F_{(2,101)} = 3,07 (p < 0,05)^{+}$$

$$F_{(2,101)} = 4,79 (p < 0,01)^{++}$$

Tab. 18 Parametre kvality mlieka vo vzťahu ku genotypom β -laktoglobulínu (LGB) pri holštajnskom plemene (n = 103)

Genotyp	n	Ukazovateľ (%)							
		Sušina	Beztuková sušina	Celkové bielkoviny	Čisté bielkoviny	Nebielk. dusíkaté látky	Kazeín	Srvátkové bielkoviny	Kazeínové číslo
AA	35	13,06	9,09	3,20	3,13	0,07	2,41	0,72	75,33
AB	42	13,17	9,05	3,28	3,17	0,11	2,52	0,65	79,47
BB	20	13,28	9,17	3,16	3,09	0,07	2,37	0,46	75,04
BC	6	13,21	9,09	3,23	3,11	0,12	2,36	0,75	75,84
F-test		2,04 ⁻	1,51 ⁻	1,09 ⁻	1,53 ⁻	0,79 ⁻	2,42 ⁻	2,84 ⁺	1,29 ⁻

$$F_{(3,101)} = 2,68 (p < 0,05)^{+}$$

$$F_{(3,1101)} = 3,95 (p < 0,01)^{++}$$