



METODIKA

Využití genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvality mléka u českého strakatého skotu

Autoři

Ing. Jitka Matějčková, Ph.D.

Ing. Miloslava Štípková

Ing. Jitka Kyseřová, Ph.D.

Ing. Jana Rychtářová

Ing. Mgr. Jana Bolečková

Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.
Praha – Uhřetěves

Oponenti

Prof. Ing. Jan Frelich, CSc.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Ing. Juraj Saksún

Ministerstvo zemědělství České republiky
Odbor živočišných komodit

Metodika vznikla jako součást výzkumného záměru MZe ČR
(MZE0002701404).

ISBN 978-80-7403-034-5

Ministerstvo zemědělství České republiky
Těšnov 17
117 05 Praha 1

v y d á v á

OSVĚDČENÍ

17210/2009-10

o uznání uplatněné certifikované metodiky
v souladu s podmínkami „Metodiky hodnocení výsledků výzkumu a vývoje“

**Využití genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvality mléka
u českého strakatého skotu**

*Ing. Matějčková, Ph.D., Ing. Štípková, Ing. Kyselová, Ph.D.,
Ing. Rychtářová, Ing. Mgr. Bolečková*


*Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha Uhřetěves
ISBN 978-80-7403-034-5*

Vypracované v rámci výzkumného záměru
MZE 0002701404

V Praze dne 30. října 2009



Ing. Jiří Machek
ředitel odboru
živočišných komodit 17 210

.....




MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Výzkumný ústav živočišné výroby Praha 10, Uhřetěves (1)	
Doručeno:	18.12.09
Referent:	
Č.:	R/1081/09
Dat:	

ÚTVAR: ODBOR VĚDY A VÝZKUMU
ČÍSLO ÚTVARU: 18020

VÁŠ DOPIS
ZE DNE:

NAŠE ČJ.: 40980/2009-18020

VYŘIZUJE: Milan Podsedníček,
TELEFON: 221 812 133
FAX: 221 812 962
E-MAIL: milan.posednicek@mze.cz

ADRESA: TĚŠNOV 17, 117 05 PRAHA 1

DATUM: 15.12.2009

Vážená paní
Doc. Ing. Věra Skřivanová, CSc.
ředitelka
Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.
Přátelství 815
104 00 Praha - Uhřetěves

Schválení a zařazení certifikovaných metodik do RIV

Vážená paní ředitelko,

v návaznosti na Vámi předložené metodiky, které jsou výsledkem řešení výzkumných záměrů č. MZE 0002701403 a MZE0002701404:

- „Složení jatečně upraveného těla prasat“ autorů Pulkrábek a kol.;
- „Stanovení parametrů degradovatelnosti a stravitelnosti sušiny a vlákniny trav na základě chemického složení“ autorů Jančík a kol.;

dále metodiky, které jsou výsledkem řešení výzkumného záměru č. MZE0002701404:

- „Využití genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvality mléka u českého strakatého skotu“ autorů Matějčková a kol.;
- „Predikce střevní stravitelnosti dusíkatých látek uniklých degradací v bachoru in vitro metodou“ autorů Tománková a Homolka;
- „Rutinní postupy při zacházení s dojnici“ autorů Staněk a Kosová;

Vám sdělujeme následující:

Uvedené certifikované metodiky byly **schváleny**. Souhlasíme s doporučením metodik pro jejich využití v zemědělské praxi.

Žádáme Vás, aby řešitel připravil dodávku dat do systému RIV informačního systému Rady pro výzkum a vývoj.

S pozdravem

Ing. František Chaloupka

ředitel odboru 18020

MINISTERSTVO

ZEMĚDĚLSTVÍ

České republiky

117 05 Praha 1, Těšnov 17

OBSAH

I. CÍL METODIKY A DEDIKACE	3
II. VLASTNÍ POPIS METODIKY	4
1. Úvod	4
2. Literární přehled	4
2.1. Geny mléčných bílkovin	4
2.1.1 Alfa _{S1} kasein (CSN1S1, α_{S1} -CN)	6
2.1.2 Beta kasein (CSN2, β -CN)	6
2.1.3 Kapa kasein (CSN3, κ -CN)	7
2.1.4 Beta laktoglobulin (LGB, β -LG)	8
3. Experimentální část metodiky	9
3.1. Materiál a metodika	9
3.1.1 Český strakatý skot	9
3.1.2 Sledované parametry	9
3.1.3 Detekce polymorfismů sledovaných genů	10
3.1.4 Stanovení parametrů kvality mléka	11
3.1.5 Statistické vyhodnocení	12
3.2 Výsledky a diskuze	14
3.2.1 Četnosti alel a genotypů genů pro alfa _{S1} kasein, beta kasein, kapa kasein a beta laktoglobulin ve sledované populaci českého strakatého skotu	14
3.2.2 Vztah genotypů sledovaných genů k úrovni plemenných hodnot (PH) pro parametry mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu	15
3.2.3 Vztah genotypů sledovaných genů k parametrům mléčné užitkovosti a technologické kvality mléka u českého strakatého skotu	17
3.3 Závěr a doporučení pro praxi	22
III. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“	24
IV. POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY	25
V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	26
VI. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	29

I. CÍL METODIKY A DEDIKACE

Hypotéza metodiky

Kvalita mléka z hlediska obsahu složek, zejména bílkovin a jejich složení, je geneticky podmíněná. Zvláště zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí je významné pro kvalitu mléčných produktů, nejvíce pro výrobu sýrů. Výzkum genů mléčných bílkovin napomáhá bližšímu porozumění genetického pozadí kvality mléka u českého strakatého skotu a umožňuje tomuto našemu původnímu plemeni zvýšení konkurenceschopnosti na trhu s mlékem.

Cíle metodiky

1. Stanovit četnosti alel a genotypů genů pro alfa_{S1} kasein, beta kasein, kapa kasein a beta laktoglobulin ve sledované populaci českého strakatého skotu.
2. Zjistit vztah genotypů k parametrům produkce (množství mléka, bílkovin a tuku, obsah bílkovin a tuku, plemenné hodnoty pro produkci mléka, bílkovin a tuku a pro obsah bílkovin a tuku) a technologické kvality a syřitelnosti mléka (obsah celkové sušiny, tukuprosté sušiny, hrubých bílkovin, čistých bílkovin, nebílkovinných dusíkatých látek, kaseinu, syrovátkových bílkovin, dále kaseinové číslo na bázi hrubé bílkoviny, čas enzymatické koagulace mléka = doba sýření, kvalita sýřeniny, pevnost sýřeniny a objem vyloučené syrovátky).
3. Uvést poznatky této práce do praxe.

Dedikace metodiky

Metodika vznikla jako součást řešení výzkumného záměru MZe ČR (MZE0002701404).

II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

1. Úvod

V současné době je v zemích Evropské unie kladen důraz mimo jiné na zvyšování kvality potravin. S tím souvisí i zvyšování kvality živočišných produktů. V chovu dojeného skotu to představuje především zlepšování kvality mléka z hlediska jeho složení a technologických vlastností. Dalším podnětem je nadprodukce mléka spojená s neustále se zvyšující mléčnou užitkovostí dojnic a následným překračováním mléčných kvót.

Za efektivní je v problematice zvyšování kvality mléka považováno využití genetických markerů. Lokusy s přímým vztahem k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka je možno použít pro rychlejší a účinnější změny těchto parametrů. Významné lokusy mohou být využity ve šlechtění jako doplňkové selekční kritérium. Za vhodné z hlediska vztahu ke kvalitě a množství mléčné produkce jsou považovány geny mléčných bílkovin.

2. Literární přehled

V rámci šlechtění na kvantitativní užitkové vlastnosti skotu, které jsou ovlivňovány množstvím genů malého účinku (tzv. minor genů), mohou mít některé geny větší vliv. Jedná se buď o kandidátní geny (s přímým vlivem na tyto vlastnosti), které mohou být identifikovány laboratorními metodami, nebo o QTL, které jsou určovány pomocí markerů (zejména mikrosatelitních), s nimiž jsou ve vazbě (Bouška et al, 2006). Cílem je identifikovat takové geny a QTL, které podstatně ovlivňují významné parametry výkonnosti skotu a mohou částečně či úplně nahradit tradiční postupy ve šlechtění.

2.1 Geny mléčných bílkovin

Nejvýznamnější geny se vztahem k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka jsou tzv. geny mléčných bílkovin, mezi které patří geny pro kaseiny: alfa_{S1} kasein (*CSN1S1*, α_{S1} -CN), beta kasein (*CSN2*, β -CN), alfa_{S2} kasein (*CSN1S2*, α_{S2} -CN) a kapa kasein (*CSN3*, κ -CN) a geny pro syrovátkové bílkoviny: alfa laktalbumin (*LALBA*, α -LA)

a beta laktoglobulin (*LGB*, β -*LG*). Základní přehled o genech mléčných bílkovin včetně jejich hlavních alel je uveden v tabulce.

Přehled mléčných bílkovin a hlavních alel jejich genů u skotu

Bílkovina (gen)	Obsah bílkoviny v odstředěném mléce (g/l)	Hlavní alely	Specifikace alel
α_{S1} - <i>CN</i>	12 - 15	<i>B</i> <i>C</i>	na pozici 192 Glu na pozici 192 Gly
β - <i>CN</i>	9 - 11	<i>A</i> ¹ <i>A</i> ² <i>B</i>	na pozici 67 His na pozici 67 Pro na pozici 67 His, na pozici 122 Arg místo Ser
α_{S2} - <i>CN</i>	3 - 4	<i>A</i>	na pozicích 33, 47 a 130 Glu, Ala a Thr
κ - <i>CN</i>	2 - 4	<i>A</i> <i>B</i> <i>E</i>	na pozicích 136 a 148 Thr a Asp na pozicích 136 a 148 Ile a Ala na pozici 155 Gly místo Ser
α - <i>LA</i>	0,6 - 1,7	<i>B</i>	na pozici 10 Arg
β - <i>LG</i>	2 - 4	<i>A</i> <i>B</i>	na pozicích 64 a 118 Asp a Val na pozicích 64 a 118 Gly a Ala

(Zdroje: Eigel et al., 1984; Erhardt, 1989; Lien et al., 1992; Farrell et al., 2004)

Kaseinové geny se nachází na bovinním chromozomu 6 za sebou v pořadí α_{S1} -kasein, β -kasein, α_{S2} -kasein, a κ -kasein. Gen pro α -laktalbumin je situován na chromozomu 5 a gen pro β -laktoglobulin na chromozomu 11 (Farrell et al., 2004). Kaseiny tvoří 78 až 82 % z bílkovin mléka krav, zbývající část (18 až 22 %) připadá na syrovátkové bílkoviny (Kräusslich, 1994).

Mášová a Šustová (2006) porovnávali variabilitu průměrného obsahu kaseinů v mléce u českého strakatého a holštýnského skotu a zjistili vyšší obsah kaseinů v mléce českého strakatého skotu (2,64 - 3,19 %) oproti skotu holštýnskému (2,56 - 3,09 %). Zároveň uvádějí, že pokles obsahu kaseinů o 0,1 % představuje zvýšení spotřeby mléka na výrobu 1 kg sýra o 0,3 až 0,5 litru. Proto hraje obsah kaseinů důležitou roli ve výtěžnosti při výrobě sýrů (výtěžnost = množství sýra získaného ze 100 l, nebo 100 kg

mléka). Obdobně Čejna et al. (2006) porovnávali dojnice českého strakatého a holštýnského skotu z hlediska průměrného obsahu kaseinů v mléce a zjistili podstatně vyšší obsah kaseinů u dojnic českého strakatého skotu oproti dojnicím holštýnského skotu. Zjištěné hodnoty jsou uvedeny v tabulce .

Rozdíly v obsahu kaseinů mezi skupinami dojnic českého strakatého (C) a holštýnského skotu (H) na první a čtvrté a vyšší laktaci (Čejna et al., 2006)

Laktace	Plemeno	n	Kaseiny (%)		
			\bar{x}	min.	max.
1.	C	64	2,81	2,29	3,67
	H	79	2,59	2,04	2,90
4. a vyšší	C	64	2,83	2,22	3,69
	H	75	2,67	2,05	3,31

V této práci byly pro vyhodnocení vztahů ke sledovaným parametrům použity pouze geny pro alfa_{S1} kasein, beta kasein, kapa kasein a beta laktoglobulin, protože variabilita alel zbývajících genů je v populaci příliš nízká.

2.1.1 Alfa_{S1} kasein (CSN1S1, α_{S1}-CN)

Alfa_{S1} kasein tvoří až 40 % kaseinů v mléce krav a dosud bylo objeveno 8 alel jeho genu - A, B, C, D, E, F, G, H (Farrell et al., 2004). Nejvíce se u evropských plemen skotu vyskytují alely B a C, z nichž převažuje alela B (Jann et al., 2002; Boettcher et al., 2004). Z genotypů jsou pak nejvíce zastoupeny genotypy BB a BC, méně genotyp CC.

U sledované populace českého strakatého skotu uvádějí Kučerová et al. (2006) jako nejpříznivější genotyp CC, který zvyšoval všechny sledované parametry. Hanuš et al. (2000b) nezjistili u dojnic českého strakatého plemene genotyp CC. Vztah k vyššímu obsahu bílkovin a tuku uvádějí u genotypu BC oproti genotypu BB. Graml a Pirchner (2003) zjistili u plemene Fleckvieh vztah lokusu CSN1S1 k obsahu kaseinu v mléce.

2.1.2 Beta kasein (CSN2, β-CN)

Beta kasein zaujímá až 45% podíl kaseinů v kravském mléce a zatím bylo detekováno 15 alel jeho genu - A¹, A², A³, A⁴, A⁵, B¹, B², C, D, E, F, G, H¹, H² a I (Farrell et al., 2004; Zwierzchowski 2005). Nejčastěji se u evropských plemen skotu

vyskytují alely A^1 , A^2 , A^3 a B . Četnosti genotypů *CSN2* u sledované populace českého strakatého skotu uvádějí Kučerová et al. (2006) - A^2A^2 (64,7 %), A^1A^2 (29,7 %). S nízkou četností se vyskytovaly genotypy A^1A^1 (2,8 %), A^2B (1,6 %) a A^2A^3 (1,2 %).

Podle autorů Beaglehole a Jackson (2003) a Laugesen a Elliott (2003) je vysoký obsah genotypu A^2A^2 přínosný z hlediska dopadu na zdraví lidí konzumujících takové mléko. Autoři prováděli rozsáhlé studie na lidské populaci a zjistili, že alela A^1 zvyšuje u konzumentů náchylnost k některým civilizačním chorobám jako je srdeční infarkt, ischemická choroba srdeční a cukrovka. Naopak v případě alely A^2 žádný negativní dopad nezjistili. Dále uvádějí, že strakatá plemena simentálského původu mají četnost alely A^1 nižší oproti plemenům holštýn a ayrshire. Na základě zjištění doporučují chovatelům výskyt alely A^1 v populacích skotu snížit. Tento trend byl zaveden na Novém Zélandu vznikem společnosti „A2 Corporation“.

Ng-Kwai-Hang (1998) zjistil u plemenic s genotypem A^1B vyšší obsah kaseinu v mléce. Comin et al. (2006) uvádějí jako hlavní efekt lokusu *CSN2* jeho vliv na výši mléčné produkce. Vztah lokusu *CSN2* k výši mléčné produkce zaznamenali také Hanuš et al. (2000b) u sledované populace českého strakatého skotu. V jiné práci zjistili Hanuš et al. (2000a) i vztah lokusu *CSN2* k technologickým vlastnostem mléka. Graml a Pirchner (2003) zjistili u plemene Fleckvieh vliv lokusu *CSN2* na syntézu kaseinu v mléce.

2.1.3 Kapa kasein (*CSN3*, κ -CN)

Kapa kasein tvoří asi 13 % z celkového podílu kaseinů v mléce krav a představuje výjimečnou složku mezi kaseiny. Je totiž jedinou frakcí kaseinu, která obsahuje sirné aminokyseliny - cystein a methionin. Dosud bylo objeveno 11 alel genu pro kapa kasein - A , B , C , E , F^1 , F^2 , G^1 , G^2 , H , I a J (Farrell et al., 2004).

U evropských plemen skotu se nejvíce vyskytují alely A , B a E . Nejvyšší četnost výskytu má alela A , zejména u jednostranně mléčných plemen, jako je holštýnský skot. Tento jev je spojen se šlechtěním na vysokou mléčnou užitkovost, protože alela A je spojena s výši mléčné produkce (Neubauerová, 2001). Nižší četnost vykazuje alela B , která zpravidla zvyšuje obsah mléčných složek, zejména bílkovin, a zlepšuje technologickou kvalitu mléka (Boettcher et al., 2004; Caroli et al., 2004; Comin et al., 2006). Četnost této alely je vyšší u kombinovaného českého strakatého skotu (i přes

příliv krve plemen red holštýn a ayrshire) oproti mléčnému plemeni holštýnskému (Neubauerová, 2001). Alela *E* se vyskytuje nejméně a negativně ovlivňuje technologické vlastnosti mléka (Ikonen et al., 1997; Jandurová et al., 2002). Jandurová et al. (2002) uvádějí, že alela *E* byla do populace českého strakatého skotu zanesena plemenem ayrshire a že homozygotní genotyp *EE* dokonce způsobuje neschopnost mléka se tepelně srážet. Dále uvádějí, že zastoupení alely *E* je zpravidla nižší u českého strakatého skotu v porovnání se skotem holštýnským.

Boettcher et al. (2004) a Caroli et al. (2004) uvádějí, že genotyp *BB* zvyšuje obsah a kvalitu bílkovin v mléce, ale snižuje mléčnou produkci. Opačný trend uvádí Neubauerová (2001) u genotypu *AA*. Také Hanuš et al. (2000b) uvádějí vztah genotypu *BB* k vyššímu obsahu bílkovin v mléce a navíc k vyšší produkci tuku.

Amigo et al. (2001) zjistili u plemene Fleckvieh rovněž vztah lokusu *CSN3* k vyššímu obsahu bílkovin v mléce a zároveň zaznamenali kratší dobu sýření a vyšší pevnost sýřeniny u krav s genotypem *BB* oproti genotypům ostatním. Hanuš et al. (2000a) potvrdili u českého strakatého skotu pozitivní vliv genotypu *BB* na technologické vlastnosti mléka, zejména na vyšší obsah kaseinů, kratší dobu sýření, vyšší pevnost sýřeniny a vyšší objem vyloučené syrovátky. Graml a Pirchner (2003) uvádějí u plemene Fleckvieh pozitivní vliv *CSN3* na obsah kaseinu v mléce.

2.1.4 Beta laktoglobulin (*LGB*, β -*LG*)

Beta laktoglobulin je hlavní bílkovinou syrovátky a zatím bylo identifikováno 11 alel jeho genu - *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, *G*, *H*, *I*, *J* a *W* (Farrell et al., 2004). Oproti výše zmiňovaným genům, které se nachází na chromozomu 6, je gen pro beta-laktoglobulin situován na bovinním chromozomu 11. Nejčastěji se vyskytují alely *A* a *B*, přičemž alela *B* je zastoupena s vyšší četností (Panicke et al., 1996). Řídce se u evropských plemen vyskytují alely *C* a *D*.

Kaminski et al. (2002) zjistili statisticky významný vztah lokusu *LGB* k plemenné hodnotě pro produkci bílkovin. U sledovaného souboru českých strakatých krav zjistili Hanuš et al. (2000b) vztah genotypu *BB* k vyššímu obsahu bílkovin a tuku v mléce oproti genotypům *AA* a *AB*.

Graml a Pirchner (2003) zjistili vliv lokusu *LGB* na obsah syrovátkových bílkovin v mléce u plemene Fleckvieh. Choi a Ng-Kwai-Hang (2002) zaznamenali vztah

alely *B* k vyššímu obsahu bílkovin a tuku v sýru a vyšší produkci sýřeniny. Hanuš et al. (2000a) ve své práci rovněž zjistili, že genotyp *BB* pozitivně ovlivňuje sýrařské vlastnosti mléka u sledovaných plemenic českého strakatého skotu. Buchberger a Dovic (2000) také považují pro výrobu sýrů za výhodnější alelu *B* oproti alele *A*.

3. Experimentální část metodiky

3.1 Materiál a metodika

3.1.1 Český strakatý skot

Celkem bylo sledováno 730 jedinců českého strakatého skotu. Celý soubor byl použit pro stanovení četností alel a genotypů sledovaných genů. Pro zjištění vztahů mezi genotypy genů a úrovní plemenných hodnot bylo do výpočtu zahrnuto 431 jedinců českého strakatého skotu, do analýz vztahů mezi genotypy genů a sledovanými parametry produkce a technologické kvality mléka bylo zahrnuto 331 prvotetek. Plemenice pocházely ze čtyř vysokoprodukčních stád s vysokou úrovní managementu a výživy.

3.1.2 Sledované parametry

U všech jedinců byly stanoveny genotypy genů pro alfa_{s1} kasein (*CSN1S1*), beta kasein (*CSN2*), kapa kasein (*CSN3*) a beta laktoglobulin (*LGB*), u krav byl zjišťován věk při prvním otelení, genetický podíl českého strakatého plemene, plemenná hodnota otce, rok a období otelení, stádo (podnik). Plemenné hodnoty (PH pro produkci mléka, bílkovin a tuku a pro obsah bílkovin a tuku) a údaje o parametrech mléčné užitkovosti (produkce mléka, bílkovin a tuku, obsah bílkovin a tuku) byly převzaty z databází kontroly užitkovosti a plemenných hodnot Českomoravské společnosti chovatelů, a.s., Hradištko pod Medníkem.

U prvotetek byly sledovány parametry mléčné užitkovosti, dále byly stanoveny parametry technologické kvality mléka a syřitelnosti (obsah celkové sušiny, tukuprosté sušiny, hrubých bílkovin, čistých bílkovin, nebílkovinných dusíkatých látek, kaseinu, syrovátkových bílkovin, dále kaseinové číslo na bázi hrubé bílkoviny, čas enzymatické koagulace mléka = doba sýření, kvalita sýřeniny, pevnost sýřeniny a objem vyloučené syrovátky). Rozbory mléka byly provedeny ve spolupráci s laboratořemi Výzkumného ústavu pro chov skotu, s.r.o. v Rapotíně.

3.1.3 Detekce polymorfismů sledovaných genů

DNA pro detekci genotypů genů mléčných bílkovin byla získána z krve plemenic a inseminačních dávek plemeníků. Krev byla u plemenic odebírána v období před prvním otelením, a to z ocasní žíly (*vena caudalis*) pomocí odběrky Hemos. Ihned po odběru byla krev přelita do plastové sběrné zkumavky s roztokem EDTA, který zabránil jejímu sražení. Poté byla uložena do chladicího boxu, následně dopravena do mrazicího kontejneru laboratoře molekulární genetiky VÚŽV, v.v.i. a uchována. Izolace DNA byla prováděna podle Kawasaki (1990).

Genotypy *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3* a *LGB* byly stanoveny metodou PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism; polymerázová řetězová reakce a polymorfismus délky restrikčních fragmentů) a následnou elektroforézou na agarózovém gelu.

Detekce alel pro kaseinové geny *CSN1S1* (alely *B* a *C*) a *CSN3* (alely *A*, *B* a *E*) byla provedena podle metodiky Lien a Rogne (1993). Alely pro *CSN2* (*A*¹, *A*², *A*³ a *B*) byly stanoveny podle metodiky Lien et al. (1992). Varianty *LGB* (alely *A* a *B*) byly detekovány podle metodiky publikované autory Agrawala et al. (1992). Podmínky PCR se v některých hodnotách lišily oproti výše uvedeným citacím:

- *CSN1S1* – 3 min. při 94°C, dále 40 cyklů: 30 s při 94°C, 45 s při 63°C a 60 s při 72°C;
- *CSN2* – 1 min. při 95°C, dále 35 cyklů: 30 s při 95°C, 25 s při 66°C a 30 s při 72°C;
- *CSN3* - 1 min. při 95°C, dále 35 cyklů: 30 s při 95°C, 25 s při 62°C a 30 s při 72°C;
- *LGB* - 3 min. při 95°C, dále 40 cyklů: 60 s při 95°C, 30 s při 60°C a 30 s při 72°C.

Pomocí PCR byl namnožen požadovaný úsek DNA označený primery. Syntéza úseku byla zajištěna termostabilní DNA polymerázou (tzv. *Taq DNA polymeráza*). Dále následovalo rozštěpení jedné ze dvou přítomných variant PCR produktu specifickou restrikční endonukleázou (metoda RFLP), která štěpí řetězec DNA uvnitř specifické sekvence nukleotidů. Výsledek štěpení byl zjištěn pomocí elektroforézy na agarozovém gelu.

3.1.4 Stanovení parametrů kvality mléka

Odběry vzorků mléka od sledovaných prvotetek českého strakatého skotu pro rozboru technologické kvality byly prováděny mezi 50. a 140. dnem po otelení. Odběry probíhaly v dojárnách do plastových vzorkovnic o objemu 500 ml pomocí poměrného vzorkovače používaného k odběru vzorků mléka při kontrole užitkovosti. Úhel posazení vzorkovače byl pozměněn tak, aby se zvýšila průtoková rychlost a tudíž byl za jedno dojení odebrán vzorek o minimálním objemu 300 ml.

Odebrané vzorky byly převezeny do laboratoře VÚCHS, s.r.o. v Rapotíně a analyzovány na parametry technologické kvality mléka. Souhrnný přehled stanovovaných ukazatelů, jejich udávaná jednotka a stručná metodika jejich stanovení byly následující:

<i>Parametr (zkratka)</i>	<i>Jednotka</i>	<i>Stanovení</i>
<u>Mléko</u>		
• Celkový obsah sušiny (S)	(%)	Parametry S a TPS měřeny přístrojem MilkoScan 133B (Foss Electric, Denmark), dle standardu ČSN 57 0536, kalibrace podle Kjeldahla pro HB a polymerické a gravimetrické metody pro TPS podle standardu ČSN 57 0530. HB = celkový N × 6,38.
• Obsah tukuprosté suš. (TPS)	(%)	
• Obsah hrubých bílkovin (HB)	(%)	
• Obsah čistých bílkovin (CB)	(%)	Stanovení metodou Kjeldahl na přístrojích Tecator a Kjeltex Auto Distillation unit 2 200 (Foss-Tecator AB, Sweden) podle ČSN 57 0530. Výsledky získány: bílkovinný N × 6,38 a kaseinový N × 6,38.
• Obsah kaseinu (KAS)	(%)	
• Obsah nebílkovinných dusíkatých látek (NNL)	(%)	Obsah HB – obsah CB
• Obsah syrovátkových bílkovin (SB)	(%)	Obsah CB – obsah KAS

• Kaseinové číslo na bázi HB (KC)	(%)	Procentický podíl kaseinu z hrubých bílkovin.
<u>Sýry</u>		
• Doba enzymatické koagulace mléka	(s)	Zjištění doby enzymatické koagulace mléka (od přidání enzymu do sražení mléka).
• Kvalita sýřeniny (KvS)	stupeň	Subjektivní odhad, aspekci a palpací, 1 = výborná až 4 = špatná.
• Pevnost sýřeniny (PevS)	(mm)	Po enzymatickém sýření - mm propadu tělíska koláčem sýřeniny za konstantních podmínek, čím méně mm, tím pevnější sýřenina.
• Objem vyloučené syrovátky (Syr)	(ml)	Objem syrovátky vypuzené koláčem sýřeniny získané z 50 ml mléka.

3.1.5 Statistické vyhodnocení

Četnosti alel a genotypů byly vypočteny jako procentické zastoupení z celkového počtu genotypovaných jedinců.

Analýza vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům mléčné užitkovosti byla provedena v programu SAS analýzou rozptylu pomocí následujícího lineárního modelu s pevnými efekty:

$$y_{ijklmn} = \mu + SRO_i + G_j + P_k + B_l + bV_m + e_{ijklmn} \quad (1)$$

kde y je sledovaný parametr mléčné užitkovosti; μ je průměr sledovaného parametru; SRO je sdružený efekt stáda (podniku), roku a období otelení; G je vliv genotypu sledovaného genu; P je vliv genetického podílu českého strakatého plemene; B je efekt plemenné hodnoty otce, bV je regrese na věk při prvním otelení plemenice; e je soubor reziduálních efektů.

Analýza vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům kvality mléka byla provedena v programu SAS analýzou rozptylu pomocí následujícího lineárního modelu s pevnými efekty:

$$y_{ijkl} = \mu + SRO_i + G_j + b_1V_k + e_{ijkl} \quad (2)$$

kde y je sledovaný parametr kvality mléka; μ je průměr sledovaného parametru; G je vliv genotypu sledovaného genu; bV je regrese na věk při prvním otelení plemence; e je soubor reziduálních efektů.

V modelu (2) byl nejprve zahrnut i efekt dne laktace od otelení, kdy byl odebrán vzorek mléka na rozbor kvality (tzn. efekt fáze laktace). Ten se však neprojevil jako významný, proto byl z modelu vypuštěn. Výsledky analýz byly i po jeho vyřazení shodné.

Sdružený efekt stáda, roku a období zahrnoval čtyři skupiny podle podniku (chov 1 až 4), dvě skupiny podle roku otelení (rok 2005 – skupina 1, rok 2006 – skupina 2) a čtyři skupiny podle období otelení (jaro až zima – skupiny 1 až 4).

Dle genetického podílu českého strakatého plemene byly sledované prvotelky rozděleny do třech skupin: 100 % (skupina 1), 76 až 99 % (skupina 2) a 50 až 75 % (skupina 3).

Efekt plemenné hodnoty (PH) otce obsahoval 3 skupiny: $PH < -55$ kg mléka (skupina 1), $PH -55$ až $+450$ kg mléka (skupina 2) a $PH > +450$ kg mléka (skupina 3).

Věk při prvním otelení se u sledovaných prvotetek pohyboval od 683 do 1094 dní.

Analýza vztahů mezi genotypy genů a úrovní plemenných hodnot byla provedena metodou REML v programu SAS podle následujícího smíšeného modelu:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\mu} + \sum_{i=1}^4 \mathbf{W}\mathbf{g}_i + \mathbf{Z}\mathbf{o} + \mathbf{e} \quad (3)$$

kde \mathbf{y} je vektor sledovaného znaku (množství mléka, bílkovin a tuku, obsah bílkovin a tuku) vyjádřený jako plemenná hodnota jedince,

\mathbf{X} je matice fixního efektu celkového průměru (μ),

\mathbf{W} je matice spojující záznam každého jedince s jeho odhadovanými aditivními efekty markerů *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3* a *LGB* vyjádřenými vektorem \mathbf{g} .

\mathbf{Z} je matice spojující pozorování jedince s náhodným efektem otce,

\mathbf{o} je vektor náhodného efektu otce,

\mathbf{e} je vektor náhodných reziduálních efektů.

3.2 Výsledky a diskuze

3.2.1 Četnosti alel a genotypů genů pro alfa_{S1} kasein, beta kasein, kapa kasein a beta laktoglobulin ve sledované populaci českého strakatého skotu

U sledovaného souboru českého strakatého skotu byly detekovány dvě alely (*B* a *C*) genu *CSN1S1*, čtyři alely (*A*¹, *A*², *A*³ a *B*) genu *CSN2*, tři alely (*A*, *B* a *E*) genu *CSN3* a dvě alely (*A* a *B*) genu *LGB* (tabulka 1).

V případě genu *CSN1S1* byl zaznamenán převažující výskyt alely *B* (89,7 %) oproti alele *C* (10,3 %). Obdobná zjištění uvádějí i Kučerová et al. (2006) u českého strakatého skotu, ze zahraničních prací pak Jann et al. (2002) a Boettcher et al. (2004). Ze třech detekovaných genotypů (*BB*, *BC* a *CC*) genu *CSN1S1* byl nejvíce zastoupen genotyp *BB* (80,5 %), nejméně genotyp *CC* (1,1 %).

Četnosti alel a genotypů genů mléčných bílkovin ve sledované populaci českého strakatého skotu

Tabulka 1

Alfa _{S1} kasein - <i>CSN1S1</i> (n = 730)					
Genotyp	n	%	Alela	n	%
<i>BB</i>	588	80,5	<i>B</i>	655	89,7
<i>BC</i>	134	18,4	<i>C</i>	75	10,3
<i>CC</i>	8	1,1			
Beta kasein - <i>CSN2</i> (n = 730)					
<i>A</i> ¹ <i>A</i> ¹	52	7,1	<i>A</i> ¹	185	25,3
<i>A</i> ¹ <i>A</i> ²	258	35,3	<i>A</i> ²	525,5	72
<i>A</i> ¹ <i>A</i> ³	1	0,2	<i>A</i> ³	2,5	0,4
<i>A</i> ¹ <i>B</i>	7	1	<i>B</i>	17	2,3
<i>A</i> ² <i>A</i> ²	382	52,3			
<i>A</i> ² <i>A</i> ³	4	0,5			
<i>A</i> ² <i>B</i>	25	3,4			
<i>BB</i>	1	0,2			
Kapa kasein - <i>CSN3</i> (n = 730)					
<i>AA</i>	288	39,4	<i>A</i>	458,5	62,8
<i>AB</i>	317	43,4	<i>B</i>	248	34
<i>AE</i>	24	3,3	<i>E</i>	23,5	3,2
<i>BB</i>	78	10,7			
<i>BE</i>	23	3,2			
Beta laktoglobulin - <i>LGB</i> (n = 730)					
<i>AA</i>	192	26,3	<i>A</i>	365,5	50,1
<i>AB</i>	347	47,5	<i>B</i>	364,5	49,9
<i>BB</i>	191	26,2			

Nejvyšší četnost byla u genu *CSN2* zjištěna pro alelu *A*² (72 %), zatímco řídce se vyskytovala alela *B* (0,4 %). Vysoké zastoupení alely *A*² má podle prací autorů

Beaglehole a Jackson (2003) a Laugesen a Elliott (2003) vliv na snížení výskytu civilizačních chorob (zejména srdečního infarktu, cukrovky a ischemické choroby srdeční) u lidí konzumujících takové mléko. Celkem bylo detekováno osm genotypů, z nichž A^2A^2 a A^1A^2 byly zastoupeny nejvíce (52,3 a 35,3 %). Velmi řídké se vyskytovaly genotypy A^1A^3 a BB (shodně 0,2 %).

Alela A (62,8 %) byla nejvíce zastoupena v případě genu $CSN3$. Velmi pozitivním zjištěním byla četnost alely B 34 %. Alela B je považována za klíčovou z hlediska technologické kvality mléka (Choi a Ng-Kwai-Hang, 2002; Boettcher et al., 2004; Caroli et al., 2004; Comin et al., 2006). Naproti tomu četnost alely E , která dle Ikonena et al. (1997) a Jandurové et al. (2002) negativně ovlivňuje technologické vlastnosti mléka, byla zjištěna velmi nízká (3,2 %). Z pěti zjištěných genotypů se s nejvyšší četností vyskytoval genotyp AB (43,4 %). Genotyp BB byl zastoupen 10,7 %. Nejnižší výskyt byl zaznamenán u genotypů AE a BE (3,3 a 3,2 %).

Vyrovnaný výskyt alel A (50,1 %) a B (49,9 %) genu LGB byl zjištěn nejen v této práci, ale i v pracích jiných autorů (Čítek et al, 2001; Caroli et al, 2004; Kučerová et al., 2006). Celkem byly zaznamenány tři genotypy (AA , AB a BB), s nejvyšším zastoupením genotypu AB (47,5 %).

3.2.2 Vztah genotypů sledovaných genů k úrovni plemenných hodnot (PH) pro parametry mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu

Nejvyšší průměrné plemenné hodnoty parametrů mléčné užitkovosti byly v případě genu $CSN1S1$ zjištěny u genotypu CC (tabulka 2). Tento genotyp se však vyskytoval pouze u sedmi jedinců. Statisticky významný rozdíl mezi genotypy byl zjištěn u PH pro produkci mléka.

Statisticky významné rozdíly mezi genotypy $CSN2$ byly zjištěny u parametrů PH pro produkci mléka, bílkovin a tuku. Nejvyšší PH pro produkci mléka byla zjištěna u genotypu A^1A^1 . Nejnižší plemenné hodnoty pro produkci mléka, bílkovin a tuku a také pro obsah tuku v mléce byly zaznamenány u genotypu A^2B . Výsledky korespondují se zjištěním Comin et al., (2006) a Hanuš et al., (2000b), kteří uvádějí vliv $CSN2$ na výši mléčné produkce.

V případě genu $CSN3$ byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi genotypy u PH pro produkci a obsah bílkovin. Nejvyšší průměrná plemenná hodnota pro obsah bílkovin v mléce byla zaznamenána u jedinců s genotypem BB . Vztah genotypu BB

k vyššímu obsahu bílkovin uvádějí rovněž Boettcher et al. (2004), Caroli et al. (2004) a Hanuš et al. (2000b).

Vztah genotypů sledovaných genů k úrovni plemenných hodnot pro parametry mléčné užitkovosti

Tabulka 2

Genotyp	n	Průměrné plemenné hodnoty pro:				
		Mléko (kg)	Bílkoviny (kg)	Bílkoviny (%)	Tuk (kg)	Tuk (%)
Alfa_{s1} kasein - CSN1 (n = 431)						
<i>BB</i>	345	-66,8	-1,65	+0,012	-3,69	-0,019
<i>BC</i>	79	-140,3	-3,14	+0,025	-5,02	+0,005
<i>CC</i>	7	-14,3	+0,89	+0,027	+1,33	+0,021
F - test		2,97*	1,57	1,67	1,38	1,24
Beta kasein - CSN2 (n = 431)						
<i>A¹A¹</i>	12	+27,4	+1,45	+0,010	+0,04	-0,025
<i>A¹A²</i>	128	-80,7	-0,64	+0,028	-1,46	+0,028
<i>A²A²</i>	279	-52,7	-0,81	+0,018	-0,73	+0,021
<i>A²A³</i>	5	+8,2	+1,66	+0,039	+1,24	-0,002
<i>A²B</i>	7	-271,3	-8,15	+0,013	-11,40	-0,011
F - test		2,17*	1,94*	1,19	1,90*	1,29
Kapa kasein - CSN3 (n = 431)						
<i>AA</i>	153	-113,3	-2,31	+0,022	-3,15	+0,020
<i>AB</i>	201	-62,6	-0,45	+0,019	-1,84	+0,003
<i>AE</i>	10	-92,0	-1,62	+0,010	-3,56	-0,008
<i>BB</i>	56	-102,1	-2,22	+0,038	-3,67	+0,007
<i>BE</i>	11	+0,9	+0,11	+0,018	-0,07	-0,011
F - test		1,28	1,81*	1,89*	1,28	0,79
Beta laktoglobulin - LGB (n = 431)						
<i>AA</i>	113	-54,4	-0,69	+0,019	-2,37	-0,010
<i>AB</i>	215	-76,6	-1,06	+0,025	-2,36	+0,006
<i>BB</i>	103	-90,4	-2,13	+0,021	-2,64	+0,011
F - test		0,56	0,90	0,66	0,59	1,43

* značí statisticky významný rozdíl mezi skupinami $P < 0,05$.

I přes patrné rozdíly v úrovních plemenných hodnot mezi jednotlivými genotypy *LGB* nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi skupinami u žádného ze sledovaných parametrů. Také Neubauerové (2001) se nepodařilo prokázat vztah genotypů *LGB* k úrovni plemenných hodnot pro parametry mléčné užitkovosti. Nejvyšší PH pro produkci mléka a bílkovin byly zaznamenány u genotypu *AA*, nejvyšší hodnota pro obsah bílkovin byla zjištěna u genotypu *AB*.

3.2.3 Vztah genotypů sledovaných genů k parametrům mléčné užitkovosti a technologické kvality mléka u českého strakatého skotu

Statisticky významný vztah k parametrům mléčné užitkovosti byl prokázán u genu *CSN3* k obsahu bílkovin v mléce za 100 a 200 denní úsek laktace (tabulka 3), i za laktaci normovanou. V případě genu *LGB* byl zjištěn statisticky významný vztah k obsahu tuku v mléce, ale pouze za 100 denní úsek laktace (tabulka 3).

Nejvyšší produkce mléka, bílkovin a tuku byla u genu *CSN1S1* spojena s genotypem *CC*. Genotyp *CC* byl však zastoupen s nízkou četností (pouze u třech prvotek). Obsah bílkovin byl u sledovaných genotypů vyrovnán. Nejnižší obsah tuku byl zjištěn u genotypu *BB*. Obdobně Kučerová et al. (2006) uvádějí u českého strakatého skotu nejvyšší parametry mléčné užitkovosti spojené s genotypem *CC*, který rovněž detekovali u malého počtu jedinců.

Analýza vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům mléčné užitkovosti u sledovaných prvotek za prvních 100 a 200 dnů laktace

Tabulka 3

Genotyp	n	Parametr mléčné užitkovosti za 100 a 200 dnů laktace									
		Mléko(kg)		Bílk. (kg)		Bílk. (%)		Tuk (kg)		Tuk (%)	
		100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200	100 / 200
Alfa_{s1} kasein - CSN1S1 (n = 331)											
<i>BB</i>	269	2510	4872	83	164	3,32	3,39	99	189	3,96	3,89
<i>BC</i>	59	2524	4944	83	167	3,31	3,39	102	197	4,04	4,01
<i>CC</i>	3	2628	5155	86	171	3,30	3,34	106	200	4,08	3,94
F - test		0,91	0,79	0,93	0,81	0,97	0,92	0,43	1,15	0,80	2,14
Beta kasein - CSN2 (n = 330)											
<i>A¹A¹</i>	40	2471	4786	82	162	3,32	3,39	94	183	3,81	3,83
<i>A¹A²</i>	145	2471	4820	82	163	3,33	3,40	97	186	3,95	3,88
<i>A¹B</i>	6	2725	5220	92	181	3,38	3,45	104	207	3,78	3,94
<i>A²A²</i>	119	2534	4932	83	165	3,28	3,35	98	191	3,89	3,88
<i>A²B</i>	20	2644	5158	86	174	3,30	3,39	103	202	3,92	3,94
F - test		1,08	0,95	1,06	1,19	1,15	1,54	0,64	1,21	1,02	0,84
Kapa kasein - CSN3 (n = 331)											
<i>AA</i>	139	2527	4911	83	165	3,29	3,36	100	191	3,95	3,90
<i>AB</i>	135	2484	4845	83	165	3,37	3,42	100	189	4,02	3,92
<i>AE</i>	13	2675	5223	87	173	3,25	3,31	106	205	3,95	3,91
<i>BB</i>	32	2483	4797	83	165	3,34	3,44	97	183	3,93	3,82
<i>BE</i>	12	2311	4478	74	149	3,24	3,34	87	171	3,85	3,85
F - test		1,42	1,46	1,72	1,51	3,97*	3,30*	1,61	1,81	0,83	0,59
Beta laktoglobulin - LGB (n = 331)											
<i>AA</i>	85	2491	4845	82	164	3,32	3,37	98	189	3,95	3,89
<i>AB</i>	156	2524	4926	83	166	3,31	3,38	99	191	3,93	3,89
<i>BB</i>	90	2542	4865	84	165	3,33	3,41	103	191	4,07	3,95
F - test		0,34	0,66	0,58	0,84	0,73	1,55	1,63	0,90	2,98*	2,10

* značí statistickou významnost $P < 0,05$;

V případě genu *CSN2* vynikal nejvyšší produkcí mléka, bílkovin a tuku a zároveň nejvyšším obsahem bílkovin genotyp A^1B , dále pak genotypy A^2B a A^2A^2 . Nižší parametry produkce, ale vysoké parametry obsahu mléčných složek byly zjištěny u genotypů A^1A^2 a A^1A^1 . Nejnižší hodnoty parametrů mléčné užitkovosti byly zjištěny u genotypu *BB*, který však nesla pouze jedna prvotelka, proto byl z analýz vypuštěn. Výsledky naznačují, že alela A^2 spíše zvyšuje produkci mléka oproti alelé A^1 , která spíše zvyšuje obsah bílkovin. Alela *B* pozitivně ovlivnila projev alel A^1 i A^2 , v homozygotním stavu se však její vliv zdá být negativní. Z důvodu výskytu genotypu *BB* jen u jedné plemenice však nelze usuzovat na jeho efekt. V souladu s naším zjištěním považují Comin et al. (2006) za nejvýznamnější z hlediska parametrů mléčné užitkovosti rovněž alelu A^2 , pak následuje alela A^1 a nakonec alela *B*. Alela A^2 je rovněž upřednostňována autory Beaglehole a Jackson (2003) a Laugesen a Elliott (2003) z důvodu zdravotního dopadu na lidský organismus.

Gen *CSN3* vykázal statisticky významný vztah k obsahu bílkovin v mléce, přičemž nejvyšší obsah bílkovin byl zaznamenán u genotypů *BB* a *AB*. Oba genotypy však vykázaly nižší produkci mléka a tuku. Naopak genotypy *AA* a *AE* byly spojeny s vyšší mléčnou užitkovostí, ale nízkým obsahem bílkovin. Nepříznivý vliv na všechny sledované parametry byl zjištěn u genotypu *BE*. Výsledky naznačují, že alela *E* má obdobný efekt jako alela *A*, to znamená pozitivně ovlivňuje výši mléčné produkce, ve spojení s alelou *B* však vykazuje horší výsledky než genotyp *AB*. Také Amigo et al. (2001) a Hanuš et al. (2000b) uvádějí vztah genotypu *BB* k vyššímu obsahu bílkovin v mléce.

V případě genu *LGB* byly za 100 denní úsek laktace zjištěny nejvyšší hodnoty všech sledovaných parametrů u genotypu *BB*. Za 200 denní úsek laktace byly nejvyšší hodnoty potvrzeny pouze v případě obsahu bílkovin a tuku a produkce tuku. Stejně tak Hanuš et al. (2000b) zjistili vztah genotypu *BB* k vyššímu obsahu bílkovin v mléce.

Tři ze čtyř analyzovaných genů (*CSN2*, *CSN3* a *LGB*) vykázaly statisticky významný vztah k některým z parametrů kvality mléka (tabulka 4).

Rozdíly mezi genotypy genu *CSN1S1* nebyly výrazné, navíc genotyp *CC* nesly pouze 3 plemenice, takže jeho vliv nelze zcela objektivně posoudit. Hodnoty sledovaných parametrů byly mezi jednotlivými genotypy vyrovnané, o něco nižší byly některé hodnoty v případě genotypu *CC*. Graml a Pirchner (2003) zjistili u plemene Fleckvieh vztah lokusu *CSN1S1* k obsahu kaseinu v mléce.

Efekt genu *CSN2* byl prokázán na obsah kaseinu v mléce a na podíl kaseinu z hrubých bílkovin (kaseinové číslo). Nejpriznivější hodnoty parametrů kvality mléka byly obdobně jako v případě parametrů mléčné užitkovosti spojeny s genotypem A^1B - nejvyšší obsah sušiny (S), tukuprosté sušiny (TPS), hrubých i čistých bílkovin (HB, CB), kaseinu (KAS), nejvyšší podíl kaseinu z hrubých bílkovin (KC) a zároveň nejnižší obsah nebílkovinných dusíkatých látek (NNL) a nízký obsah syrovátkových bílkovin (SB). Příznivé hodnoty uváděných parametrů byly zjištěny i u genotypů A^1A^2 , A^2A^2 a A^1A^1 , naopak nejméně příznivé hodnoty byly spojeny s genotypem A^2B . Vliv genotypu *BB* nelze posoudit, neboť byl nesen pouze jednou plemenicí a do vyhodnocení nebyl zařazen. Efekty jednotlivých alel byly v souladu s jejich zjištěnými vlivy na výše uváděné parametry mléčné užitkovosti. Rovněž Ng-Kwai-Hang (1998) uvádí u plemenic s genotypem A^1B nejvyšší obsah kaseinu v mléce.

Analýza vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům kvality mléka u sledovaných prvotetek

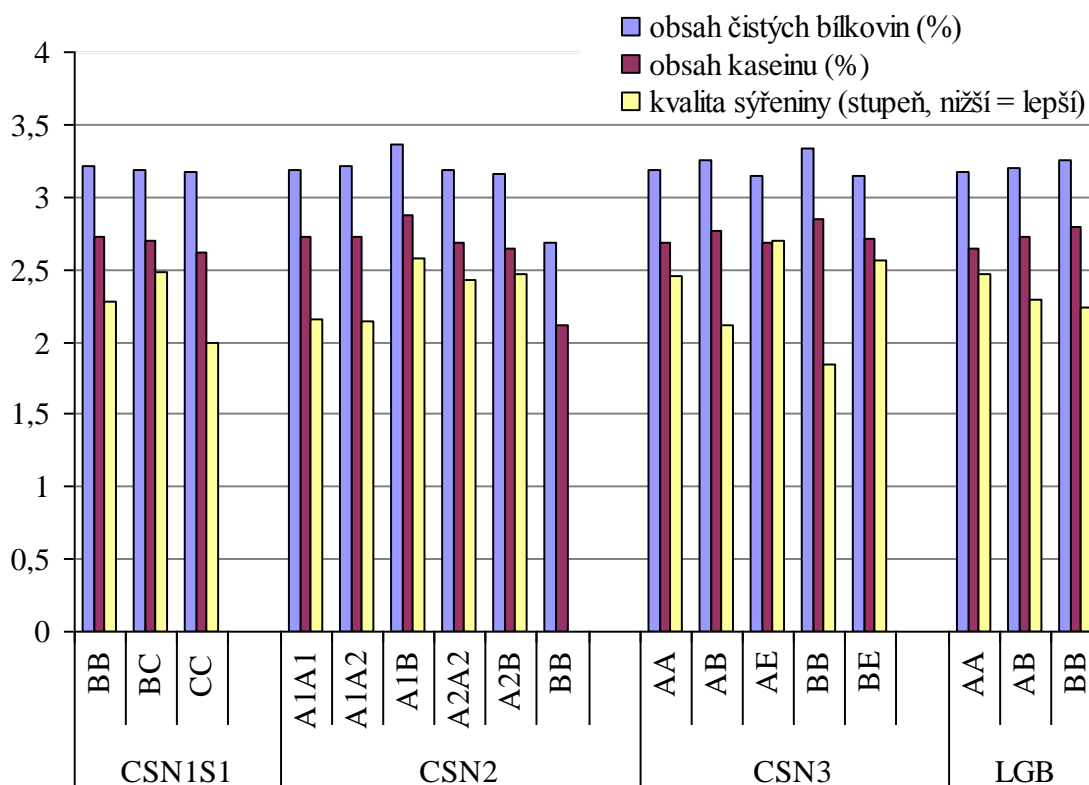
Tabulka 4

Genotyp	n	Parametr kvality mléka							
		S (%)	TPS (%)	HB (%)	CB (%)	NNL (%)	KAS (%)	SB (%)	KC (%)
Alfa_{s1} kasein - CSN1 (n = 331)									
<i>BB</i>	269	13,05	9,08	3,40	3,21	0,19	2,72	0,50	79,96
<i>BC</i>	59	13,26	9,09	3,40	3,19	0,21	2,70	0,49	79,48
<i>CC</i>	3	12,77	8,96	3,37	3,17	0,20	2,62	0,54	77,78
F - test		2,13	0,81	0,30	0,27	1,15	0,35	0,39	0,98
Beta kasein - CSN2 (n = 330)									
A^1A^1	40	13,02	9,08	3,37	3,19	0,19	2,73	0,46	80,78
A^1A^2	145	12,98	9,09	3,40	3,21	0,20	2,73	0,48	79,94
A^1B	6	13,34	9,34	3,54	3,36	0,19	2,87	0,49	80,97
A^2A^2	119	13,05	9,04	3,37	3,18	0,20	2,68	0,49	79,53
A^2B	20	13,06	9,01	3,38	3,16	0,21	2,65	0,51	78,57
F - test		1,43	1,78	1,49	1,64	0,40	2,52*	1,28	3,08*
Kapa kasein - CSN3 (n = 331)									
<i>AA</i>	139	13,04	9,06	3,38	3,18	0,20	2,68	0,50	79,37
<i>AB</i>	135	13,14	9,11	3,45	3,25	0,20	2,76	0,49	80,06
<i>AE</i>	13	12,90	9,05	3,32	3,14	0,19	2,69	0,44	81,06
<i>BB</i>	32	13,18	9,17	3,52	3,33	0,19	2,85	0,48	80,91
<i>BE</i>	12	13,14	9,09	3,38	3,15	0,24	2,71	0,44	79,88
F - test		0,88	1,16	3,07*	3,49**	1,68	3,90**	2,15	2,59*
Beta laktoglobulin - LGB (n = 331)									
<i>AA</i>	85	12,99	9,05	3,37	3,17	0,20	2,64	0,54	78,09
<i>AB</i>	156	13,07	9,08	3,40	3,20	0,19	2,72	0,49	79,97
<i>BB</i>	90	13,15	9,12	3,44	3,25	0,20	2,80	0,45	81,29
F - test		1,08	1,28	1,84	2,12	0,53	10,92***	23,95***	30,89***

*, ** a *** značí statistickou významnost $P < 0,05$; $P < 0,01$ a $P < 0,001$;

Vliv genu *CSN3* byl prokázán na čtyři z osmi sledovaných parametrů (na obsah hrubých a čistých bílkovin, obsah kaseinu a kaseinové číslo). Nejvýznamnějším genotypem byl genotyp *BB*, který byl spojen s nejvyššími hodnotami obsahu sušiny, tukuprosté sušiny, hrubých a čistých bílkovin, kaseinu a zároveň s nejnižším obsahem nebílkovinných dusíkatých látek. Naproti tomu genotypy obsahující alelu *E* (*AE* a *BE*) a také genotyp *AA* vykázaly nižší obsah a méně příznivou skladbu bílkovin v mléce, což opět naznačuje na negativní vliv alely *E* na sledované parametry. Rozdíly mezi genotypy jsou znázorněny v grafu. Významný vliv genotypu *BB*, zejména na vyšší obsah kaseinu, uvádějí ve svých pracích také Hanuš et al. (2000a) u českého strakatého skotu a Graml a Pirchner (2003) u plemene Fleckvieh.

Vztah genotypů genů mléčných bílkovin k obsahu čistých bílkovin, kaseinu a kvalitě sýřeniny



Statisticky vysoce významný vztah genu *LGB* byl zaznamenán k obsahu syrovátkových bílkovin, obsahu kaseinu a kaseinovému číslu. Nejpříznivější hodnoty sledovaných parametrů byly zjištěny u genotypu *BB* (nejvyšší obsah sušiny, tukuprosté sušiny, hrubých a čistých bílkovin, kaseinu, nejvyšší kaseinové číslo, nejnižší obsah syrovátkových bílkovin). Nejméně příznivé hodnoty parametrů byly zaznamenány u

genotypu *AA*. Obdobné poznatky uvádějí rovněž Ikonen et al. (1997) a Hanuš et al. (2000a), kteří zjistili vztah genotypu *BB* k vyššímu obsahu kaseinu a Graml a Pirchner (2003), kteří zaznamenali podstatný vliv genu *LGB* na obsah syrovátkových bílkovin.

V případě genu *CSN1S1* byla v analýzách k parametrům syřitelnosti (tabulka 5) zjištěna nejvyšší pevnost a kvalita sýřeniny u genotypu *CC*, který však byl spojen s nejdelší dobou koagulace.

Nejlepší hodnoty parametrů byly u genu *CSN2* zjištěny v případě genotypů A^1A^2 , A^1A^1 a A^2A^2 . Vysoká pevnost, ale nejhorší kvalita sýřeniny a zároveň nejdelší doba koagulace byly zaznamenány u genotypu A^1B . Nepříznivá kvalita a pevnost sýřeniny byly zaznamenány u genotypu A^2B .

Analýza vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům syřitelnosti u sledovaných prvotetek

Tabulka 5

Genotyp	n	Parametr syřitelnosti			
		Doba koagulace (s)	Kvalita sýřeniny (stupeň, nižší=lepší)	Pevnost sýřeniny (mm)	Objem vyloučené syrovátky (ml)
Alfa_{S1} kasein - CSN1S1 (n = 331)					
<i>BB</i>	269	121	2,28	1,79	33
<i>BC</i>	59	122	2,48	1,81	34
<i>CC</i>	3	144	2,00	1,76	33
F - test		0,17	0,92	0,53	0,37
Beta kasein - CSN2 (n = 330)					
A^1A^1	40	105	2,16	1,75	34
A^1A^2	145	118	2,14	1,79	33
A^1B	6	132	2,57	1,78	33
A^2A^2	119	123	2,43	1,81	33
A^2B	20	115	2,47	1,82	34
F - test		0,80	1,75	1,01	1,58
Kapa kasein - CSN3 (n = 331)					
<i>AA</i>	139	127	2,45	1,80	33
<i>AB</i>	135	113	2,12	1,80	33
<i>AE</i>	13	152	2,70	1,79	33
<i>BB</i>	32	116	1,84	1,71	33
<i>BE</i>	12	107	2,56	1,85	33
F - test		2,39*	4,14**	2,34*	1,29
Beta laktoglobulin - LGB (n = 331)					
<i>AA</i>	85	118	2,47	1,82	33
<i>AB</i>	156	120	2,29	1,79	33
<i>BB</i>	90	125	2,24	1,79	33
F - test		0,52	1,25	1,18	0,60

* a ** značí statistickou významnost $P < 0,05$ a $P < 0,01$;

Pouze u genu *CSN3* byly zjištěny statisticky významné vztahy k parametrům syřitelnosti. Nejvyšší kvalitou a pevností sýřeniny vynikal genotyp *BB*, nepříznivé hodnoty obou parametrů byly zaznamenány u genotypu *BE*. Genotyp *BE* však vykázal nejkratší dobu koagulace. Naopak nejdéle se sráželo mléko genotypu *AE*. Objem vyloučené syrovátky byl u všech genotypů vyrovnán. Méně příznivé hodnoty parametrů byly zaznamenány také v případě genotypu *AA*. Pozitivní vliv genotypu *BB* na technologické vlastnosti mléka, zejména na vyšší pevnost a kvalitu sýřeniny, kratší dobu sýření, vyšší objem vyloučené syrovátky a naopak negativní vliv genotypu *AA* na tyto vlastnosti potvrdili u českého strakatého skotu také Hanuš et al. (2000a). Amigo et al. (2001) zjistili u plemene Fleckvieh rovněž vztah genotypu *BB* k vyšší pevnosti sýřeniny a kratší době sýření oproti genotypům ostatním. Ikonen et al. (1997) a Jandurová et al. (2002) uvádějí ve svých pracích také negativní efekt alely *E* na parametry technologické kvality mléka.

Nejvyšší kvalita a pevnost sýřeniny, ale nejdelší doba koagulace byly zjištěny u genotypu *BB* genu *LGB*. Opačný výsledek byl zaznamenán u genotypu *AA*. Buchberger a Dovc (2000) rovněž považují alelu *B* za výhodnější pro výrobu sýrů oproti alele *A*.

3.3 Závěr a doporučení pro praxi

Zjišťováním vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům mléčné užitkovosti, technologické kvality a syřitelnosti mléka a dále k úrovni plemenných hodnot (PH) pro parametry mléčné užitkovosti byl prokázán nejvýznamnější vliv genu *CSN3*, zejména na parametry kvality mléka a syřitelnosti. Statistická významnost byla prokázána k většině sledovaných ukazatelů. Výsledky naznačují hlavní vliv tohoto genu na obsah čistých a hrubých bílkovin v mléce, obsah kaseinu, a zejména na kvalitu a pevnost sýřeniny a dobu koagulace. Rovněž byl prokázán vztah k PH pro obsah a produkci bílkovin. Z hlediska technologické kvality mléka a obsahu bílkovin v mléce vykázal nejpříznivější hodnoty genotyp *BB*, naopak genotypy obsahující alelu *E* byly nejméně příznivé. V případě genu *LGB* byl prokázán vliv na obsah syrovátkových bílkovin, ale také na obsah kaseinu. Genotyp vykazující nejpříznivější hodnoty parametrů byl rovněž *BB*. Významnost efektu genu *CSN2* byla prokázána na obsah kaseinu v mléce a na PH pro produkci mléka, bílkovin a tuku. Nejpříznivější hodnoty parametrů byly zjištěny u genotypů A^1A^2 a A^1A^1 , dále pak A^2A^2 a A^1B . U genu *CSN1S1* byl prokázán vztah k PH

pro produkci mléka s nejvyšší hodnotou zjištěnou u genotypu *CC*. U tohoto genotypu byla zjištěna i nejvyšší kvalita sýřeniny a nejkratší doba koagulace.

Výsledky četností alel a genotypů sledovaných genů poukazují na zjištěné příznivé zastoupení alely *B* a genotypu *BB* genu *CSN3* z hlediska obsahu bílkovin, technologické kvality a syřitelnosti mléka a zároveň na pozitivní vysoké zastoupení alely *A*² genu *CSN2*, která dle uváděných zahraničních pramenů nezpůsobuje u lidí konzumujících takové mléko náchylnost k některým civilizačním chorobám jako je tomu u alely *A*¹.

Na základě zjištěných výsledků lze pro účely šlechtění zejména matek a otců býků, plemeníků, ale i plemenic českého strakatého skotu doporučit jako doplňkové kritérium ve vztahu k obsahu bílkovin, technologické kvalitě a syřitelnosti mléka preferenci alely *B* a genotypu *BB* u genu *CSN3* a rovněž u genu *LGB* a naopak eliminaci alely *E* genu *CSN3*. V případě genu *CSN1S1* lze jako vhodnou doporučit preferenci alely *C* z hlediska produkce mléka a kvality sýřeniny. U genu *CSN2* lze ve vztahu ke sledovaným parametrům doporučit alely *A*¹ i *A*² s tím, že pozitivní vysoké zastoupení alely *A*² je velmi žádoucí v populaci českého strakatého skotu zachovat z důvodu vlivu na zdraví lidí konzumujících takové mléko.

Zkratky:

CSN1S1 - alfa_{S1} kasein (α_{S1} -*CN*)

CSN2 - beta kasein (β -*CN*)

CSN3 - kapa kasein (κ -*CN*)

LGB - beta laktoglobulin (β -*LG*)

III. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“

Lokusy s přímým vztahem k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka je možné použít pro rychlejší a účinnější změny těchto parametrů. Mohou být využity ve šlechtění, zejména jako doplňkové kritérium. Předkládaná metodika se zabývá výzkumem vztahů genů mléčných bílkovin jak k parametrům mléčné užitkovosti, technologické kvality a syřitelnosti mléka u krav, tak k úrovním plemenných hodnot pro parametry mléčné užitkovosti u býků českého strakatého skotu. V tomto směru je ojedinělou prací na daném plemeni. Nově je rovněž zpracováno vyhodnocení vztahů k úrovním plemenných hodnot, kde je použit smíšený model s více generacemi zvířat. Výsledky přinášejí informace o možnosti využití sledovaných genů ve šlechtění českého strakatého skotu, zejména v oblasti selekce za účelem zlepšení kvality mléka.

IV. POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

Metodika je určena organizacím zabývajícím se šlechtěním českého strakatého skotu a chovatelům českého strakatého plemene. Záměrem metodiky je snaha o umožnění chovatelům a šlechtitelům rychleji a efektivněji zvyšovat kvalitu mléka a zvýšit tak konkurenceschopnost plemene na trhu s mlékem. Vyšší četnosti alel a genotypů klíčových genů s pozitivním vlivem na sledované vlastnosti naznačují v tomto směru výhodu domácího českého strakatého plemene oproti plemenům jiným, a tudíž i možnost využití poznatků pro další selekci.

V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Agrawala P.L., Wagner V.A., Geldermann H. (1992): Sex determination and milk protein genotyping of preimplantation stage bovine embryos using multiplex PCR. *Theriogenology*, 38:969-978.
- Amigo L., Martin-Alvarez P.J., Garcia-Muro E., Zarazaga I. (2001): Effect of milk protein haplotypes on the composition and technological properties of Fleckvieh bovine milk. *Milchwissenschaft*, 56:488-491.
- 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/>
- Boettcher P.J., Caroli A., Stella A., Chessa S., Budelli E., Canavesi F., Ghiroldi S., Pagnacco G. (2004): Effects of Kasein Haplotypes on Milk Production Traits in Italián Holstein and Brown Swiss Cattle. *J. Dairy Sci.*, 87:4311-4317.
- Bouška J., Doležal O., Jílek F., Kudrna V., Kvapilík J., Přibyl J., Rajmon R., Sedmíková M., Skřivanová V., Šlosárková S., Tyrolová Y., Vacek M., Žižlavský J. (2006): Chov dojeného skotu. Profí Press, s.r.o., Praha, 1. vyd., 186 s.
- Buchberger J., Dovc P. (2000): Lactoprotein genetic variants in cattle and cheese making ability. *Food Technology and Biotechnology*, 38:91-98.
- Caroli A., Chessa S., Bolla P., Budelli E., Gandini G. C. (2004): Genetic structure of milk protein polymorphism and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.*, 121:119-127.
- Comin A., Cassandro M., Ojala M., Bittante G. (2006): Effect of β - and κ -casein genotypes on milk coagulation properties, milk production and content, and milk quality traits in Italian Holstein cows. 57th Annual Meeting of the EAAP, 17. - 20.9.2006, Antalya, Turkey.
- Čejna V., Mlček J., Chládek G. (2006): Vliv plemene a pořadí laktace na obsah kaseinu v kravském mléce. In: Sborník z konference s mezinárodní účastí „Den mléka“, 22.5.2006, ČZU Praha, 98-99.
- Čítek J., Řehout V., Neubauerová V. (2001): Allele frequency at PRL (prolactin) and LGB (lactoglobulin beta) genes in Red cattle breeds from Central Europe and in other breeds. *Czech J. Anim. Sci.*, 46:433-438.
- Eigel W.N., Butler J.E., Ernstrom C.A., Farrell H.M., Harwalkar V.R., Jennes R., Whitney R.McL. (1984): Nomenclature of proteins of cow's milk. *J. Dairy Sci.*, 67:1599-1631.
- Erhardt G. (1989): κ -caseins in bovine milk. Evidence of a further allele (κ -Cn *E*) in different breeds. *J. Anim. Breed. Genet.*, 106:225-231.

- Farrell H. M., Jimenez-Flores R., Bleck G. T., Brown E. M., Butler J. E., Creamer L. K., Hicks C. L., Hollar C. M., Ng-Kwai-Hang K. F., Swaisgood H. E. (2004): Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk - Sixth Revision. *J. Dairy Sci.*, 87:1641-1674.
- Graml R., Pirchner F. (2003): Effects of milk protein loci on content of their proteins. *Archiv für Tierzucht*, 46:331-340.
- Hanuš O., Gajdůšek S., Gabriel B., Kopecký J., Jedelská R. (1995): Sýrařsky významné vlastnosti syrového a pasterovaného mléka ve vztahu k polymorfismu mléčných bílkovin. (Cheesemaking properties of raw and pasteurized milk with respect to milk protein polymorphism). *Czech J. Anim. Sci.*, 40:523-528.
- Hanuš O., Beber K., Kopecký J. (2000a): Varianty mléčných bílkovin a vlastnosti mléka a krav. In: Sborník příspěvků z mezinárodní konference „Šlechtitelské, výživářské a technologické aspekty produkce a kvality mléka“ („Breeding, nutritional and technological aspects of milk production and duality“). Rapotín, 47-49.
- Hanuš O., Beber K., Čermák V., Kopecký J., Jedelská R. (2000b): Typy mléčných bílkovin ovlivňují užitek, dlouhověkost i zdraví krav. In: Sborník příspěvků z mezinárodní konference „Šlechtitelské, výživářské a technologické aspekty produkce a kvality mléka“ („Breeding, nutritional and technological aspects of milk production and duality“). Rapotín, 53-57.
- Choi J. W., Hg-Kwai-Hang K. F. (2002): Effects of genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin and Heat Treatment of Milk on Cheese and Whey Compositions. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 5:732-739.
- Ikonen T., Ojala M., Syvaioja E.L. (1997): Effects of composite casein and beta-lactoglobulin genotypes on renneting properties and composition of bovine milk by assuming an animal model. *Agricultural and Food Science in Finland*, 6:283-294.
- Jandurová O., Štípková M., Kottová B. (2002): Polymorfismus alel mléčných bílkovin u skotu a šlechtění na kvalitu mléčné bílkoviny. *Náš chov*, 8:27-30.
- Jann O., Prinzenberg E. M., Brandt H., Williams J. L., Ajmone-Marsan P., Zaragoza P., Ozbeyaz C., Erhardt G. (2002): Intragenic haplotypes at the bovine CSN1S1 locus. *Arch. Anim. Breed.*, 41:13-21.
- Kaminski S., Rymkiewicz-Schymczyk J., Wojcik E., Rusc A. (2002): Associations between bovine milk protein genotypes and haplotypes and the breeding value of Polish Black-and-White bulls. *J. Anim. Feed Sci.*, 11:205-221.
- Kawasaki E.S. (1990): Sample preparation from blood, cells and another fluids. In: PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press, New York, 146-152.

- Kräusslich H. (1994): Tierzuchtungslehre., 4. vyd., Stuttgart, Ulmer Verlag: 464 s.
- Kučerová J., Matějček A., Jandurová O. M., Sorensen P., Němcová E., Štípková M., Kott T., Bouška J., Frelich J. (2006): Milk protein genes *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *LGB* and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. Czech J. Anim. Sci., 51:241-247.
- Laugesen M., Elliott R. (2003): Ischaemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 β -casein. NZMJ, 116. In: <http://www.nzma.org.nz/journal/116-1168/>
- Lien S., Alestrom P., Klungland H., Rogne S. (1992): Detection of multiple β -casein (*CASB*) alleles by amplification created restriction sites (ACRS). Anim. Genet., 23:333-338.
- Lien S., Rogne S. (1993): Bovine casein haplotypes: number, frequencies and applicability as genetic markers. Anim. Genet., 24:373-376.
- Mášová H., Šustová K. (2006): Obsah kaseinu u plemen české strakaté a holštýnské. In: Sborník z konference s mezinárodní účastí „Den mléka“, 22.5.2006, ČZU Praha, 95-97.
- Neubauerová V. (2001): Detekce genetických markerů a možnosti jejich využití u skotu a dalších kopytníků. Disertační práce. JU v Českých Budějovicích, 211.
- Ng-Kwai-Hang K.F. (1998): Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties. Can. J. Anim. Sci., 78:131-147.
- Panicke L., Freyer G., Erhardt G. (1996): Effekte der Milchproteinpolymorphismen auf die Leistung. In: Kolloquium Milchprotein und Proteinansatz, Graal-Müritz, FBN Dummerstorf, Universität Rostock, 20.
- Zwierzchowski L. (2005): Cattle genomics – functional polymorphism in milk protein genes and other genes related to milk and meat production. Workshop on genomics and bioinformatics in animal biotechnology, Jastrzebiec 31.1. – 4.2. 2005, Poland.

VI. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

Vědecké impaktované publikace:

Matějčíček A., Matějčíčková J., Němcová E., Jandurová O. M., Štípková M., Bouška J., Frelich J. (2007): Joint effects of *CSN3* and *LGB* genotypes and their relation to breeding values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech J. Anim. Sci.*, 52:83-87.

Kučerová J., Matějčíček A., Jandurová O. M., Sorensen P., Němcová E., Štípková M., Kott T., Bouška J., Frelich J. (2006): Milk protein genes *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *LGB* and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech J. Anim. Sci.*, 51:241-247.

Vědecké recenzované publikace:

Kučerová J., Matějčíček A., Jandurová O. M., Němcová E., Štípková M., Bouška J., Frelich J. (2005): The association between genotypes of candidate gene *CSN3* and milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Coll. of Sci. Papers, Ser. for Anim. Sci., ZF JU v Českých Budějovicích*, 22(2):159-162.

Matějčíček A., Kučerová J., Jandurová O. M., Němcová E., Štípková M., Frelich J., Bouška J. (2005): The association between candidate gene *LGB* and milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Coll. of Sci. Papers, Ser. for Anim. Sci., ZF JU v Českých Budějovicích*, 22(2):155-158.

Sborníky z konferencí:

Kučerová J., Matějčíček A., Němcová E., Jandurová O., Štípková M., Bouška J. (2006): The effect of *CSN1S1* and *CSN2* loci on milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Proceedings from 41st Croatian & 1st International Symposium on Agriculture*, 13. – 17.2.2006, Opatija, Croatia, 613-614.

Kučerová J., Matějčíček A., Němcová E., Jandurová O., Štípková M., Bouška J. (2006): Polymorfismus lokusů *CSN3* a *LGB* a jejich vztah k parametrům mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. *Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí „Den mléka“*, 22.5.2006, ČZU Praha, 87-89.

Matějčíček A., Kučerová J., Němcová E., Jandurová O., Štípková M., Frelich J., Bouška J. (2006): *CSN2* locus in relation to milk production parameters of Czech Fleckvieh. *Biotechnology 2006, České Budějovice, Czech Republic*, 294-296.

Matějčíček A., Kučerová J., Němcová E., Jandurová O., Štípková M., Frelich J., Bouška J. (2006): Polymorphism of *LGB* locus and its effect on milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Proceedings from 41st Croatian & 1st International Symposium on Agriculture*, 13. – 17.2.2006, Opatija, Croatia, 625-626.

Matějčíček A., Kučerová J., Němcová E., Štípková M., Frelich J., Bouška J. (2006): Vliv lokusů *CSN2* a *CSN3* na úroveň plemenných hodnot parametrů mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. *Sborník z mezinárodní konference Agroregion, ZF JU*, 24.-25.8. 2006, České Budějovice, 45-48.

Matějčíček A., Kučerová J., Němcová E., Jandurová O., Štípková M., Frelich J., Bouška J. (2006): Vliv genotypů *CSN3* a *LGB* na úroveň plemenných hodnot parametrů mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. *Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí „Den mléka“*, 22.5.2006, ČZU Praha, 90-92.

Vydal: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.
Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

Název: **Využití genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvality mléka u českého strakatého skotu**

Autoři: Ing. Jitka Matějčíková, Ph.D.
Ing. Miloslava Štípková
Ing. Jitka Kyseřová, Ph.D.
Ing. Jana Rychtářová
Ing. Mgr. Jana Bolečková

ISBN: 978-80-7403-034-5

Dedikace: Metodika vznikla v rámci řešení výzkumného záměru MZE0002701404.