

LATVIJAS BIOZINĀTŅU UN TEHNOLOĢIJU UNIVERSITĀTE

LAUKSAIMNIECĪBAS FAKULTĀTE
DZĪVNIĒKU ZINĀTŅU INSTITŪTS

**Nacionālajā gēnu bankā uzkrātā Latvijas vietējo apdraudēto
dzīvnieku šķirņu bioloģiskā materiāla gēnu bankas
papildināšana un izpēte**

Līgumprojekta Nr. S425

LAD Lēmuma Nr. 10.9.1-11/22/1121-e
Iesnieguma reģ. Nr. LAD sistēmā: 22-00-S0INV05-000012

PĀRSKATS

Projekta vadītāja, Dr. agr., profesore D. Jonkus

SATURS

IEVADS.....	3
1. PROJEKTA MĒRĶIS UN UZDEVUMI	5
2. PROJEKTA IZPILDĒ IESAISTĪTIE DARBINIEKI UN IZPILDES LAIKA GRAFIKS	5
3. PROJEKTA REZULTĀTI	7
3.1. Literatūras apskats	7
3.2. Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes vaislas buļļu bioloģiskā materiāla izpēte	10
3.3. Ieteikumu sagatavošana vietējo apdraudēto šķirņu liellopu pāru atlasei	12
3.4. Bioloģiskā materiāla ieguve no vietējo apdraudēto šķirņu dzīvniekiem.....	13
SECINĀJUMI.....	16
PROJEKTA IETVAROS VEIKTĀ PUBLICITĀTE	16
LITERATŪRAS AVOTI.....	18

IEVADS

Bioloģiskās daudzveidības saglabāšanai un ilglaicīgai izmantošanai ir liela nozīme. 2021. gada novembrī tika publicēts dokuments, kas iepazīstina ar pirmo Eiropas stratēģiju dzīvnieku ģenētisko resursu (AnGR) saglabāšanai un ilgtspējīgā izmantošanā. Stratēģiju izstrādāja Eiropas reģionālais AnGR kontaktpunkts (ERFP), un tās mērķis ir racionalizēt darbības, kas jāveic Eiropas valstīm, lai nodrošinātu AnGR pieejamību un izmantošanu ilgtermiņā. Attiecībā uz ES valstīm ES ir izdevusi vairākus ar AnGR saistītus tiesību aktus un politikas, taču līdz šim trūkst integrētas stratēģijas AnGR pārvaldībai Eiropas reģionā. Tagad šo vajadzību apmierina H2020 projekts GenResBridge, kura mērķis ir stiprināt augu, meža un dzīvnieku ģenētisko resursu saglabāšanu un ilgtspējīgu izmantošanu Eiropas reģionā. Viens no projekta galvenajiem mērķiem ir formulēt Eiropas ģenētisko Resursu stratēģiju (EGRS) trīs Eiropas ģenētisko resursu tīklu jomās: ECPGR (augi), EUFORGEN (meži) un ERFP (dzīvnieki).

Pēc EGRS projekta konsorcijs priekšlikuma ERFP nolēma izstrādāt uz jomu orientētu stratēģiju, lai papildus risinātu specifiskās problēmas, kas saistītas ar AnGR saglabāšanu un ilgtspējīgu izmantošanu, un nepieciešamību iesaistīt ieinteresētās personas, līdz ar to var cerēt, ka šī stratēģija palīdzēs samazināt mājlopu ģenētiskās daudzveidības zudumu un tādējādi nodrošinās Eiropas lopkopības nozares ilgtspējību un noturību. (*Animal Genetic Resources Strategy for Europe, 2021*).

Latvijā lauksaimniecības dzīvnieku ģenētisko resursu apzināta saglabāšana aizsākās 2004. gadā, kad Dzīvnieku audzētāju organizācijas izstrādāja ģenētisko resursu dzīvnieku saglabāšanas un selekcijas programmas, uz kuru pamata dzīvnieku audzētāji uzsāka vietējo šķirņu saglabāšanu. Pateicoties tam, ka 2006. gadā ar Zemkopības ministrijas atbalstu Latvijas Lauksaimniecības universitātes (LLU) Lauksaimniecības fakultātē (LF) tika izveidota Molekulārās ģenētikas pētījumu laboratorija, bija iespējams sākt saglabāt arī ģenētisko resursu programmās iekļauto dzīvnieku bioloģisko materiālu. Bioloģiskā materiāla vākšana un tā ģenētiskā izpēte sākās 2007. un 2008. gadā, kad Zemkopības ministrijā tika atbalstīts projekts "Lauksaimniecībā izmantojamo dzīvnieku ģenētisko resursu izvērtēšana un to raksturojošo gēnu izpēte ar molekulārām metodēm". Šī projekta ietvaros tika apgūtas metodes dzīvnieku izcelšanās noteikšanai pēc katrā sugā noteiktiem mikrosatelītu praimeriem. No 2009. līdz 2012. gadam ar Latvijas Zinātnes padomes finansiālu atbalstu tika realizēts projekts „Biotehnoloģijas metodes Latvijā audzējamo šķirņu govju piena proteīna gēnu polimorfisma novērtēšanā un proteīna gēnu ietekme uz govju produktivitāti”, kura ietvaros tika papildināts Molekulārās ģenētikas laboratorijā esošais ģenētisko resursu govju bioloģiskais materiāls (asins paraugi un DNS) un uzsākti pētījumi par piena proteīna gēnu polimorfismu Latvijas vietējās govju šķirnēs (Latvijas brūnā un Latvijas zilā šķirne). Latvijas vietējo govju un cūku (Latvijas baltā šķirne) bioloģiskais materiāls laboratorijā (tagad LLU Biotehnoloģiju zinātniskā laboratorijā (LLU BZL)) tika papildināts no 2015. - 2017. gadam, kad tika īstenots Valsts pētījumu programmas "Lauksaimniecības resursi ilgtspējīgai kvalitatīvas un veselīgas pārtikas ražošanai Latvijā" 3. aktivitātes projekts "Vietējās izcelsmes slaucamo govju un cūku saimnieciski nozīmīgo pazīmju ģenētiskā izpēte kvalitatīvu pārtikas produktu ražošanai un dabīgas izcelsmes barības sastāvdaļu izstrāde un pārbaude" (LOPKOPĪBA).

Ģenētiskās daudzveidības saglabāšana joprojām ir aktuāla, jo 2015. gadā ANO Ģenerālā asamblejā pieņēma rezolūciju, definējot ilgtspējīgas attīstības programmu līdz 2030. gadam, saskaņā ar kuru paredzēts saglabāt sēklu, kultivētu augu un lauksaimniecības dzīvnieku un mājdzīvnieku un ar tiem saistītu savvaļas sugu ģenētisko daudzveidību.

Dzīvnieku audzēšanas un ciltsdarba likumā (stājās spēkā 2018. gadā) noteikts, ka LLU uztur lauksaimniecības dzīvnieku vietējo saglabājamo šķirņu gēnu banku. LLU šo darbu veic Lauksaimniecības fakultātes Dzīvnieku Zinātņu institūta un Biotehnoloģiju zinātniskās laboratorijas Molekulāras bioloģijas un mikrobioloģijas nodaļas speciālisti, balstoties uz MK Noteikumiem Nr. 295 "Lauksaimniecības dzīvnieku un vietējo šķirņu mājas (istabas) dzīvnieku gēnu bankas uzturēšanas kārtība" (stājās spēkā 02.07. 2019. <https://www.ldc.gov.lv/lv/nacionala>).

Eiropā Lauksaimniecības dzīvnieku ģenētisko resursu saglabāšanu koordinē Eiropas reģionālais dzīvnieku ģenētisko resursu koordinācijas centrs (turpmāk – ERF), kurā darbojas lauksaimniecības dzīvnieku ģenētisko resursu koordinatori no visām Eiropas valstīm, tanī skaitā arī no Latvijas. ERF ir izveidojis Eiropas lauksaimniecības dzīvnieku gēnu banku tīklu (EUGENA), kura galvenais mērķis - Eiropai svarīgu lauksaimniecības dzīvnieku ģenētisko resursu saglabāšana un to pieejamība audzēšanai un pētniecībai. Starp Zemkopības ministriju un ERF 2021. gada sākumā ir parakstīts un stājies spēkā saprašanās memorands ar kuru Latvijas lauksaimniecības dzīvnieku gēnu banka tiek iekļauta Eiropas gēnu banku tīklā. Memorandā ietverta Latvijas un ERF dalībvalstu politiskā apņemšanās izveidot koordinētu pieeju informācijas apmaiņai.

Katru gadu ģenētisko resursu jeb vietējo apdraudēto šķirņu populācijās piedzimst pēcnācēji, kurus audzē vaislai, tādēļ ir svarīgi bioloģiskā materiāla paraugus ievākt nepārtraukti.

1. PROJEKTA MĒRĶIS UN UZDEVUMI

Turpinot īstenot Gēnu bankas uzturēšanu un papildināšanu, projekta "Nacionālajā gēnu bankā uzkrātā Latvijas vietējo apdraudēto dzīvnieku šķirņu bioloģiskā materiāla gēnu bankas papildināšana un izpēte" **mērķis 2022. gadā bija:** turpināt Gēnu bankas papildināšanu ar vietējo apdraudēto lauksaimniecības dzīvnieku šķirņu jauno vaislas dzīvnieku bioloģisko materiālu, veikt bioloģiskā materiāla molekulāro izpēti un turpināt informācijas sniegšanu Eiropas Dzīvnieku ģenētisko resursu gēnu banku tīklam (EUGENA).

Pētījuma mērķa sasniegšanai izvirzīti sekojoši uzdevumi:

1. No Latvijas ciltslietu un mākslīgās apsēklošanas stacijām iegādātā Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes vaislas bulļu bioloģiskā materiāla izpēte (nosakot jaunāko bulļu genotipus pēc piena proteīna un leptīna gēniem).
2. Ieteikumu sagatavošana vietējo apdraudēto šķirņu liellopu pāru atlasei, lai populācijās palielinātu vēlamo alēļu un genotipu biežumu pēc piena proteīna un leptīna gēniem.
3. Bioloģiskā materiāla iegūšana un nodošana gēnu bankai no vietējo apdraudēto sugu un šķirņu jaunajiem lauksaimniecības dzīvniekiem, sadarbojoties ar šķirnes lauksaimniecības dzīvnieku audzētāju biedrībām, kā arī informācijas ievade Eiropas Dzīvnieku ģenētisko resursu gēnu banku tīklā EUGENA

2. PROJEKTA IZPILDĒ IESAISTĪTIE DARBINIEKI UN IZPILDES LAIKA GRAFIKS

Projekta izpildē iesaistīti Latvijas Lauksaimniecības universitātes Lauksaimniecības fakultātes Dzīvnieku zinātņu institūta, Biotehnoloģiju zinātniskā laboratorijas pētnieki, Siguldas CMAS Ražošanas un tirdzniecības daļas vadītāja, kā arī asins paraugu noņemšanai no vietējo apdraudēto šķirņu dzīvniekiem sertificēts veterinārārsts. Kopā projekta izpildē piedalījās septiņi speciālisti (1.tabula).

1. tabula

Projektā iesaistītie darbinieki

Nr. p.k.	Vārds, uzvārds	Amats, zinātniskais grāds	Zinātniskā institūcija
1.	Daina Jonkus	Prof., vadošā pētniece, Dr. agr.	LLU Dzīvnieku zinātņu inst.
2.	Anda Valdovska	Prof., vad. pētniece, Dr. med vet.	LLU Biotehnoloģiju zinātniskās laboratorijas vadītāja
3.	Diāna Ruska	Doc., vad. pētniece, Dr. agr.	LLU Dzīvnieku zinātņu inst.
4.	Andris Bāliņš	Inženieris molekulārās bioloģijas jomā, Mg. agr.	LLU Biotehnoloģiju zinātniskā laboratorija
5.	Dainis Ruņģis	Inženieris molekulārajā bioloģijā, Dr. biol.	LLU Biotehnoloģiju zinātniskā laboratorija

6.	Lāsma Cielava	Pētniece, Mg. agr.	LLU Dzīvnieku zinātņu inst.
7.	Lāsma Zelča	LF maģistrantūras 1. kursa stud., Bc. lauks.	LLU Dzīvnieku zinātņu inst.
8.	Ivars Lūsis	Veterinārārsts	LLU, Veterinārmedicīnas fak.

Projekta izpildei 2022. gadā tika piešķirti 17000.00 EUR.

Projekta izpildes laika grafiks un veicamie darba uzdevumi redzami 2. tabulā.

2. tabula

Projekta izpildes laika grafiks 2022. gadā

Darba uzdevumi	Darba uzdevumu īstenošanas laiks (gada mēneši)							
	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
No Latvijas ciltslietu un mākslīgās apsēklošanas stacijām iegādātā Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes vaislas bulļļu bioloģiskā materiāla izpēte (nosakot jaunāko bulļļu genotipus pēc piena proteīna un leptīna gēniem).	x	x	x	x	x			
Bioloģiskā materiāla ievākšana no vietējo apdraudēto šķirņu lauksaimniecības dzīvniekiem, sadarbojoties ar šķirnes lauksaimniecības dzīvnieku audzētāju biedrībām.	x	x	x	x	x	x		
Ieteikumu sagatavošana vietējo apdraudēto šķirņu liellopu pāru atlasei, lai populācijās palielinātu vēlamo alēļu un genotipu biežumu pēc piena proteīna un leptīna gēniem.					x	x		
Informācijas ievade Eiropas Dzīvnieku ģenētisko resursu gēnu banku tīklā EUGENA.						x	x	
Projekta atskaites gatavošana un iesniegšana.					x	x	x	
Pētījuma rezultātu prezentēšana ZM zinātniski praktiskajā un citā zinātniskajā konferencē.								x

Informācijas ievade Eiropas Dzīvnieku ģenētisko resursu gēnu banku tīklā EUGENA tika pieprasīta 2022. gada martā, līdz ar to projekta izpildes laikā informācija par 2022. gadā ievāktu biomateriālu notiks 2023. gadā.

3. PROJEKTA REZULTĀTI

Projekta izstrādes laikā tika studēta literatūra par slaucamo govju piena proteīna vēlamo genotipu un leptīna gēna ietekmi uz piena sastāvu un piena pārstrādes īpašībām.

3.1. Literatūras apskats

Galvenā uzmanība Latvijas vietējo šķirņu govju ģenētiskā izpētē pēdējos gados tiek veltīta **piena olbaltumvielu frakcija, īpaši κ -kazeīna (CSN3) un β laktoglobulīna (LGB) gēnu polimorfisma izpētei**, jo šie gēni ir noteicošie piena pārstrādes kvalitātes rādītāji. Pēdējos gadu desmitos kazeīna un laktoglobulīna allēļu un genotipu biežums tiek pētīts ne tikai dažādām slaucamo govju šķirnēm (*Bos taurus*), bet arī dažādām vietējām sugām, piemēram, *Bos indicus* un to krustojumiem ar slaucamajām govīm.

Kopumā κ -kazeīnam ir aprakstītas 11 allēles – A, B, C, E, F1, F2, G1, G2, H, I un J, bet visbiežāk pētītās ir A, B, C un E allēles (Farrell, Jimenez-Flores, Bleck, et al., 2004). Zinātnieki ir novērojuši, ka Holšteinas šķirnei A allēle sastopama gandrīz divas reizes biežāk, salīdzinot ar Džersijas šķirni un Bufalo. Ir arī pētījumi, kuros novērota pretēja tendence, ka Holšteinas šķirnei B allēle ir sastopama biežāk (Oner, Elmac, 20006; Ren, Miao, Chen et al., 2011). Vienas šķirnes ietvaros dažādos reģionos noteiktas alēles frekvences var atšķirties. Valstīs, kur primārais piena lopkopības mērķis ir augsti izslaukumi, biežāk sastopama A alēle un govīs ar κ - kazeīna AA genotipu. Holšteinas šķirnes govīm BB genotips vidēji sastopams 0 - 6% gadījumā. Līdz ar to jāsecina, ka Holšteinas šķirnes govju piens nav vispiemērotākais biezpiena, siera un citu piena pārstrādes produktu ražošanai. B alēle varētu būt izzudusi laika gaitā, kad tika atklāts šīs šķirnes augsto izslaukumu potenciāls, bet netika pievērsta uzmanība piena ķīmiskajam sastāvam. Tā kā lokāla reģiona šķirnes netika bieži vien selekcionētas augstiem izslaukumiem, tad šīm govīm biežāk sastopama B alēle un κ -kazeīna BB genotips.

Baltijas valstu zinātnieki veikuši pētījumus savu govju populācijās, lai noslaidrotu κ -kazeīna gēna polimorfismu. Tā Igaunijas Holšteinas šķirnes govīm κ -kazeīna gēna A allēles frekvence ir 0.69 līdz 0.96, bet B allēles frekvence 0.04 līdz 0.31 (Kübarssepp, Henno, Viinalass, et al., 2005).

Arī Lietuvas zinātnieki veikuši pētījumus par dažādu genotipu sastopamību savā govju populācijā. Analizējot κ -kazeīna genotipus, noskaidrots, ka, Lietuvas pelēkai šķirnei AA, AB, AE, BB un BE genotipu frekvences attiecīgi bija 0.49, 0.43; 0.03; 0.03 un 0.02. Savukārt Lietuvas sarkanās šķirnes govīm šo genotipu frekvence attiecīgi bija 0.55, 0.37, 0.03, 0.04 un 0.01. To, ka E allēle ir sastopama retāk, apliecina arī Turcijas zinātnieku pētījums, kur šīs allēles frekvence bija 0.05 jeb 5%. Visbiežāk sastopamā allēle dažādām šķirnēm bija A, turklāt Holšteinas šķirnei biežāk nekā vietējām šķirnēm (Dinc, Ozkan, Koban, et al., 2013).

Otrs piena pārstrādi būtiski ietekmējošais **β -laktoglobulīna gēns** atrodas liellopu 11 hromosomā un atbild par sūkalu olbaltumvielu veidošanos. Šī gēna polimorfisms tika atklāts jau 1955. gadā. Kopumā šim gēnam ir zināmas 15 allēles. Visvairāk pētītās ir A, B, C un D allēles. Vēlamākā piena koagulāciju ietekmējošā ir B alēle.

Senākos pētījumos zinātnieki analizēja katru gēnu atsevišķi un tā ietekmi uz piena produktivitāti, taču nesenāki pētījumu rezultāti analizē gan κ -kazeīna, gan β -laktoglobulīna

ietekmi uz piena produktivitāti un tā pārstrādes īpašībām jeb haplotipu ietekmi (Braunschweig et al., 2000; Wedholm et al., 2006). Slovākijā tika analizēts vietējo govju kazeīna gēnu haplotipu ietekme uz piena sastāvu (3.tabula).

3.tabula

Piena sastāvs govīm ar dažādu κ -kazeīna un β -laktoglobulīna haplotipu (Michalcová, Krupová, 2007)

Piena sastāvs	Haplotipa variants		
	AAAA	ABAB	BBBB
Koptauki, g kg ⁻¹	40.5	38.6	42.8
Kopproteīna, g kg ⁻¹	32.0	32.1	33.5
Kazeīns, g kg ⁻¹	22.5	23.3	24.5
Sūkalu olbaltumvielas, g kg ⁻¹	7.3	6.7	6.8
Kalcijs, mg 100 g ⁻¹	130.9	126.7	126.5

Zinātnieces secina, ka govīm ar BBBB haplotipu bija augstākais koptauku, kopproteīna un kazeīna daudzums pienā.

Šī gadsimta sākumā aktuāli kļuva pētījumi par piena olbaltumvielu saistību ar cilvēka alerģijām. Tiek lēsts, ka govju piena olbaltumvielu (īpaši β -laktoglobulīna un β -kazeīna) alerģijas sastopamība pasaulē ir aptuveni 10%.

Beta-kazeīns (CSN2) veido aptuveni 30 līdz 33% no proteīna satura, bet CSN3 vidēji ir 10-12%. Ir noskaidrotas, ka beta kazeīnam ir 12 alēles A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 un I. Biežāk sastopamās β -kazeīna alēles ir A1 un A2 (Sodhi et al., 2018). β -kazeīna A1 alēles sadalīšanās izraisa opioīda peptīda, ko sauc par β -kazomorfīnu-7 (BCM-7), veidošanos, kas galvenokārt ir atbildīgs par kuņģa-zarnu trakta traucējumiem, kā arī var būt saistīts ar dažādu hronisku slimību etioloģiju, tostarp 1. tipa diabētu, išēmisko sirds slimību u.c. (Matějčíková, Němcová et al., 2007; Woodford, 2007; Vuong, et al., 2010). Tādēļ 21. gadsimtā notika Holšteinas govju selekcija ar mērķi palielināt dzīvnieku skaitu ar A2A2 genotipu.

Pētījumos tiek minēts, ka nekoagulētais piens (nav piemērots pārstrādei) sastāda vidēji 13% no analizētajiem piena paraugiem. Šāds piens negatīvi ietekmē gan piena pārstrādes uzņēmumu efektivitāti, gan saražotā produkta kvalitāti. Iepriekšējie pētījumi pierāda, ka iedzimstamības koeficients (h^2) nekoagulētam pienam variē no 0.26 līdz 0.45. Šāda koeficienta vērtība liecina, ka šo pazīmi vidēji labi līdz labi pārmanto pēcnācēji no saviem vecākiem (Gustavsson, Glantz, Poulsen, et al., 2014). Tādēļ, ir svarīgi veikt vietējo saglabājamo govju populāciju ģenētisko izpēti, lai šo populāciju dzīvniekus ne tikai saglabātu, bet iespēju robežās veiktu arī selekcijas darbu.

Šajā gadā bez piena proteīna gēnu izpētes bija plānots skaidrot literatūrā bieži aprakstīto un citās populācijās pētīto **leptīna (LEP) gēna polimorfismu** mūsu vietējo apdraudēto govju populācijās.

Lai veiktu pētījumu vispirms, tika studēta literatūra. Apkopojot citu autoru pētījuma rezultātus, uzzinājām, ka LEP gēnam ir izšķiroša nozīme barības un enerģijas metabolisma regulēšanā organismā. LEP gēns kodē hormonu leptīnu, kas regulē ķermeņa svaru, saglabājot līdzsvaru starp pārtikas uzņemšanu un enerģijas patēriņu, sniedzot signālus smadzenēm, lai mainītu uzkrātās enerģijas līmeni. To galvenokārt ražo taukaudi, un tas ietekmē barības uzņemšanu (Henry, Clarke, 2008). Leptīns darbojas kā ķermeņa barometrs, kas nodrošina kritisku saikni starp enerģijas homeostāzi, apetīti un reproduktīvo funkciju (Zieba, Szczesna, Klocek-Gorkaetal., 2008; Bluher, Mantzoros, 2007). Agrīnās laktācijas periodā slaucamās govīs atrodas negatīvā enerģijas bilances stāvoklī, kur tauku krājumi un barības uzņemšana tiek virzīta uz enerģētiski dārgu laktoģenēzes procesu. Tāpēc reprodukcijai tiek piešķirta zema prioritāte (Chagas, Bass, Blache, 2007). Tā kā mūsdienīgu slaucamo govju auglība ievērojami samazinās, ko izraisa intensīva selekcija tikai piena ražošanai (Dobson, Smith, Royal, 2007), zināšanas par liellopu leptīna gēna vai tā receptoru kombinētām alēliskajām variācijām var nodrošināt mehānismu, lai uzlabotu auglību, negatīvi neietekmējot apetīti vai piena ražošanu.

Liellopu leptīna gēns (LEP) atrodas 4. hromosomā (4q32), ir 16,735 kilobāzes (kb) garš, aptver 3 eksonus un kodē proteīnu ar 167 aminoskābēm. (Pomp, Zou, Clutter, et al. 1997; Taniguchi, Itoh, Yamada, 2002). Līdz šim polimorfismi liellopu LEP gēna lokusā ir saistīti ar leptīna koncentrāciju serumā, saunas uzņemšanu, barības uzņemšanu, piena ražošanu un enerģijas uzkrāšana (Liefers, Pas, Veerkamp, et al., 2003; Madeja, Adamowicz, Chmurzynska et al., 2004; Liefers, Veerkamp, Pas et al., 2005; Nkrumah, Li, Yu, Hansen et al., 2005;; Banos, Woolliams, Woodward et al., 2008).

LEP gēnam identificēti un biežāk aprakstīti 7 atsevišķi nukleotīdu polimorfismi (SNP), ko pieņemts apzīmēt: LEP-2470, LEP-1457, LEP-1238, LEP-963, Y7F, R25C un A80V.

Zinātnieki, veicot pētījumu, analizēja 848 Holšteinas–Frīzijas bulļus un noteica genotipus pēc leptīna gēna atsevišķo nukleotīdu polimorfisma (Giblin, Butler, Kearney, et al. 2010). Pētījumā noskaidrotie SNP polimorfismi doti 4. tabulā.

4. tabula

Holšteinas šķirnes govju sastopamie genotipi pēc leptīna gēna (Giblin, Butler, Kearney, et al. 2010)

Gēna reģions	SNP	Hromosoma	Pozīcija	Genotips
Promoters	LEP-2470	4	95675400	CC; CT; TT
Promoters	LEP-1457	4	95676411	AA; AG; GG
Promoters	LEP-1238	4	95676628	CC; CG; GG
Promoters	LEP-963	4	95676903	CC; CT; TT
Kodēšana	Y7F (dsSNP rs29004487)	4	95689996	AA; AT; TT
Kodēšana	R25C (dsSNP rs29004488)	4	95690050	CC; CT; TT

Kodēšana	A80V (dsSNP rs29004508)	4	95691973	CC;CT;TT
----------	----------------------------	---	----------	----------

Autori secina, ka leptīnu lokāli ražo piena dziedzeri un šķiet, ka tam ir liela loma piena dziedzeru attīstībā un laktoģenēzē.

Analizējot atsevišķu SPN polimorfismu ietekmi uz piena ražošanu, šajā pētījumā noskaidrots, ka LEP-2470 T alēle raksturojas ar samazinātu olbaltumvielu saturu un palielinātu izslaukumu. SNP LEP-1238, LEP-963 un R25C ir būtiski saistīti ar piena tauku un piena olbaltumvielu koncentrāciju. Tā LEP-1238 G alēle saistīta ar samazinātu piena tauku un piena proteīnu koncentrāciju. Turklāt LEP-1238 G alēle bija saistīta ar somatisko šūnu skaita (SCS) pieaugumu pienā, bet LEP-963 T alēlei bija tendence asociēties ar samazinātu izslaukumu. Ir pretrunīgi pierādījumi par R25C saistību ar piena ražošanu. Šajā pētījumā T alēle pie R25C bija saistīta ar palielinātu piena daudzumu, piena proteīna iznākumu un samazināta piena tauku koncentrāciju.

Šajā pētījumā tika noskaidrots, ka dzīvniekiem ar C-2470, G-1457, G-1238, C-963, A-Y7F, C-R25C, C-A80V LEP gēna haplotipu bija lielāks tauku un olbaltumvielu daudzums un olbaltumvielu koncentrācija, kā arī šim haplotipam nav negatīvu asociāciju ar izslaukumu. Interesanti, ka šis haplotips satur G alēli pie LEP-1238, C alēli pie LEP-963 un C alēli pie R25C, kas visas saistītas ar olbaltumvielu koncentrācijas samazināšanos, analizējot katru SNP atsevišķi. Tomēr C alēle pie LEP-2470, bija saistīta ar proteīna koncentrācijas pieaugumu, tāpēc šķiet, ka tā pārspēj citu alēļu ietekmi šajā haplotipā (Giblin, Butler, Kearney, et al. 2010).

Ir zināms, ka ģenētiskie un vides faktori ietekmē piena liellopu piena ražošanas pazīmes un reproduktīvos rādītājus. Audzētājiem svarīgi izvēlēties audzēšanai dzīvniekus, kuru genotips piemērots vēlamās produktivitātes ieguvei. Mūsdienās selekcija pēc fenotipiskajām pazīmēm nav efektīga, to aizstāj selekcija, kas balstīta uz ģenētiskajiem marķieriem, tādēļ ļoti noderīgi ir izziņāt atsevišķo nukleotīdu polimorfismu un identificēt gēnu marķierus, kas saistīti ar interesējošām pazīmēm.

3.2. Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes vaislas buļļu bioloģiskā materiāla izpēte

Projekta uzdevums 2022. gadā bija no Latvijas ciltslietu un mākslīgās apsēklošanas stacijām iegādātā Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes vaislas buļļu bioloģiskā materiāla izpēte (nosakot buļļu genotipus pēc piena proteīna un leptīna gēniem).

Buļļu genotipi tika noteikti beta kazeīna (CSN2), kapa kazeīna (CSN3) un beta laktoģlobulīna (LGB) gēniem (5.tabula).

5.tabula

Latvijas zilās un Latvijas brūnās šķirnes buļļu genotipi pēc kazeīna un beta laktoģlobulīna gēna

Nr.p.k.	Buļļa VCG Nr.	Buļļa ID Nr.	Buļļa vārds	Šķirne	Genotipi		
					CSN2	CSN3	LGB

1	32134	LV022010914154	Rolviks	LZ	A2A2	AA	AB
2	32221	LV016235810004	Lord fon Aizups	LZ	A1A1	AB	BB
3	32182	LV022389810320	Kripatiņš	LZ	A1A2	BB	BB
4	32174	LV024722210097	Džiburs	LZ	A1A1	AA	BB
5	32175	LV024722210100	Dzintars	LZ	A1A2	AA	AB
6	80060	LT2528520	Šemis	LZ	A1A2	x	x
7	85016	LV060211010015	Vīnets-Lietuvietis	LZ	A1A2	AB	AB
8	32030	LV006675519328	S. Klaus	LZ	A1A1	AE	BB
9	32105	LV006752210104	Samts	LZ	A1A2	AA	BB
10	32146	LV061277110002	Pipars	LZ	A1A2	AB	AB
11	32116	LV024722210069	Darbonis	LZ	A1A2	AA	AB
12	85015	LV060211010016	Rinaldo-Tirolietis	LZ	A1A2	AB	AB
13	85253	000000085253	Aizups Lietuvietis	LZ	A1A2	AB	BB
14	32159	LV030650010120	Zemgus	LB	A1A2	AB	BB
15	32147	LV040241311807	Vilsons	LB	A1A2	AB	BB
16	32168	LV012460218968	Rojs	LB	A2A2	AB	BB
17	32169	LV012460218967	Rembo	LB	A1A1	AA	BB
18	32178	LV012460219010	Namejs	LB	A1A2	AA	AB
19	32197		Gaiziņš	LB	x	AB	BB
20	30337	000000030337	Estēts Ullors	LB	A2A2	AB	BB
21	30802	000000030802	Lepnums Ullors	LB	A1A2	AA	BB
22	30413	000000030413	Finišs Ullors	LB	A1A2	AB	BB
23	30755	000000030755	Disnejs Ullors	LB	A1A2	AA	BB
24	30077	000000030077	Dradzis Ullors	LB	A1A1	AA	BB
25	30315	000000030315	Dekors Potrimps	LB	A1A2	AB	BB
26	30404	000000030404	Dimors Potrimps	LB	A1A2	AA	AB
27	31726	LV030795316101	Riksis Potrimps	LB	x	AA	BB
28	30736	000000030736	Celms Rudme	LB	A2A2	AB	BB
29	31726	LV030795316101	Riksis Potrimps	LB	A1A2?	AA	BB
30	30992	000000030992	Tallo Ullors	LB	A1A2?	AA	BB
31	30883	000000030883	Lofs Potrimps	LB	A1A2?	AB	AB

Kopā analizēts 31 bulļa genotips, tajā skaitā 13 LZ un 18 LB bulļiem. Kopā 5 bulļiem nav skaidri identificēts beta kazeīna genotips un vienam bullim nav izdevies noteikt k-kazeīna un beta laktoglobulīna genotipus.

Analizējot katru gēnu atsevišķi noskaidrojām, ka LZ šķirnē pēc CSN2 gēna vēlamais A2A2 genotips bija vienam bullim (Rolviks), heterozigotais genotips A1A2 bija 9 bulļiem, bet A1A1 genotips 3 bulļiem. A1 alēles biežums LZ šķirnes bulļiem bija 58%, A2 alēles biežums 42%.

Otra analizētā CSN3 gēna vēlamais BB genotips arī bija vienam bullim (Kripatiņš). Vēlamā B alēle (genotips AB) bija sastopama 5 bulļiem un 5 bulļu genotips bija AA. LZ šķirnē vienam bullim bija AE genotips, tātad tika novērota arī E alēle, kas nav īsti piemērota siera

ražošanai. LZ buļļiem alēles A biežums bija 67%, alēlēs B biežums – 29% un alēles E biežums bija 4%.

LZ šķirnes buļļiem pēc LGB gēna bija tikai divu veidu genotipi: pusei buļļu bija AB genotips un otrai pusei jeb 6 buļļiem BB genotips.

LB šķirnes buļļiem CSN2 gēna vēlmais A2A2 genotips novērots 3 (Rojs, Estēts Ullors un Celms Rudme) buļļiem no kopā 18 analizētajiem. Genotipus pēc šī gēna precīzi nebija iespējams noteikt 5 buļļiem. Heterozigotais A1A2 genotips, kurā ir arī A2, alēle bija 8 buļļiem, bet A1A1 genotips 3 vaislas buļļiem. Starp analizētajiem 13 LB buļļiem A2 alēles biežums bija 54% un A1 alēles biežums 46%.

LB šķirnē no analizētajiem 18 vaislas buļļiem nevienam nebija CSN3 gēna homozigotais genotips BB. Heterozigotu AB genotipu novērojām 9 buļļiem un 9 buļļu genotips bija AA. Tātad starp analizētajiem vaisliniekiem A alēles biežums bija 75%, bet B alēles biežums 25%.

Beta laktoglobulīna gēnam LB šķirnes 15 vaislas buļļiem bija BB genotips un tikai 3 buļļiem AB genotips. Līdz ar to B alēles biežums bija 92% un A alēles biežums tikai 8%.

Gan LZ, gan LB šķirnes buļļiem analizētajos gēnos vērojams polimorfisms, izņemot LB šķirnes buļļu genotipu pēc beta laktoglobulīna gēna, kur dominē vēlmais BB genotips.

Leptīna gēna noteikšana vaislas buļļiem ir uzsākta, tā turpinās, jo lai noteiktu jaunu gēnu, kurš vēl nav bijis identificēts laboratorijā vajadzīgs laiks metodikas izstrādei un pārbaudei.

3.3. Ieteikumu sagatavošana vietējo apdraudēto šķirņu liellopu pāru atlasei

Lai populācijās palielinātu vēlamo alēļu un genotipu biežumu pēc piena proteīna gēniem pārošanai būtu jāizvēlas govīs un buļļus ar homozigotiem A2A2, BB un BB genotipiem. Tādā gadījumā visiem iegūtajiem pēcnācējiem arī būs homozigots genotips. Kā pierāda LZ un LB buļļu genotipu analīze, tad nevienam no vaisliniekiem visi trīs gēni homozigotā stāvoklī netika novēroti.

LZ šķirnē divi gēni (CSN3 un LBG) homozigotā stāvoklī bija Kripatīnam, taču viņam bija heterozigots genotips pēc CSN2 gēna – A1A2. Tomēr arī tas ir pozitīvi, jo ja apsēklojamai govij arī ir A1A2 genotips pēc šī gēna, tad ar 25% varbūtību pēcnācējs var piedzimt ar A2A2 genotipu.

LB šķirnē vērojama līdzīga situācija, jo arī te nevienam vaisliniekam homozigots genotips pēc trijiem analizētajiem gēniem netika novērots. Kā jau minēts homozigots genotips pēc CSN2 gēna bija trijiem buļļiem (Rojs, Estēts Ullors un Celms Rudme). Šiem buļļiem bija arī vēlmais BB genotips pēc LBG gēna.

Veicot pāru atlasī ar mērķi iegūt vēlāmā genotipa pēcnācējus, jāatceras, ka homozigotiem (genotipā abas alēles vienādas) vecākiem arī pēcnācēji būs homozigoti pēc noteikta gēna. Tomēr ņemot vērā to, ka lielākā daļa īpatņu ir heterozigoti pēc vēlāmā genotipa, tad pārojot heterozigotus vecākus, pēcnācēju ieguves varbūtība ar vēlamo homozigoto genotipu ir 25%, ar heterozigoto genotipu varbūtība ir 50%, bet ar homozigotu genotipu, kurš nav vēlams, pēcnācēju ieguves varbūtība arī būs 25%.

Tomēr, veicot izlasi un atlasi ar mērķi palielināt piena pārstrādei piemērotu dzīvnieku ieguvi, vienmēr jāatceras, ka mazās populācijās var būt radniecīgi dzīvnieki. Tādēļ selekcionāram jāseko līdzi pārojamo dzīvnieku izcelsmei, lai populācijā nepalielinātos inbrīdings.

3.4. Bioloģiskā materiāla ieguve no vietējo apdraudēto šķirņu dzīvniekiem

Projekta izpildes laikā (2022. gadā) iegādāti bioloģiskā materiāla paraugi no 2 jaunajiem vaislas buļļiem (6. tabula).

6. tabula

Latvijas brūnas saglabājamās dzīvnieku šķirnes buļļu bioprodukta devas

N.p.k.	Vaislas buļļa		Bioprodukta devas Gēnu bankā
	VCG, ID Nr.	vārds	
1	LVS32293	Hensis	25
2	LV055556014560	Napoleons	25

Spermas devas glabājas Siguldas CMAS. Šajā gadā tika ievākti kopā 56 govju asins paraugi (7. tabula).

7. tabula

Ievākto asins paraugu donora dzīvnieku saraksts

Kātas nr.	Šķirne	Dz_ID_NR	VĀRDS	Ganāmpulka Nr.	ADRESE	Projekts
1	LZ	LV048872510188	KARLĪNE	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
2	LZ	LV048872510190	KAIJA	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
3	LZ	LV048872510207	PRINCESE	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
4	LZ	LV048872510237	KULDĪGA	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
5	LZ	LV048872510241	PUPA	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
6	LZ	LV048872510248	KRĪZE	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
7	LZ	LV048872510285	KREIMENE	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
8	LZ	LV048872510288	PĒRLE	LV0488725	Kocēnu pag Valmieras nov.	S425
9	LZ	LV022000614144	BELINDA	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
10	LZ	LV055556012790	VIKTORIJA	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425

11	LZ	LV060354310001	GREISA	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
12	LZ	LV060354310002	ALITA	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
13	LZ	LV060354310003	AMAZONE	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
14	LZ	LV060354310004	OLĪVIJA	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
15	LZ	LV062648310001	RU-RŪ	LV0603543	Vaidavas pag Valmieras nov	S425
16	LZ	LV000565410050	SUSURE	LV0481583	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
17	LB	LV008048813656	SAMTENE	LV0481584	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
18	LZ	LV008130610076	SAIRA	LV0481585	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
19	LZ	LV008130610114	SĒNA	LV0481586	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
20	LZ	LV048158310664	SALNA	LV0481587	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
21	LZ	LV061786310005	DONAVIŅA	LV0481588	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
22	LZ	LV048158310649	PEDEDZE	LV0481589	Rencēnu pag Valmieras nov	S425
23	LZ	V008130610080	SVĒTE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
24	LZ	LV008130610093	LUBĀNA	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
25	LZ	LV008130610275	SĒJA	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
26	LZ	LV008130610276	LUBE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
27	LZ	LV008130619717	LAIDZE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
28	LZ	LV008130619889	LIELUPE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
29	LZ	LV008130619926	SALNA	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
30	LZ	LV008130619958	SALNA	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
31	LZ	LV008131011638	PRIEDE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
32	(LZ)	LV008130619863	SELGA	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
33	(LZ)	LV008130619963	LORUPE	LV0081306	Priekuļu pag Cēsu nov	S425
34	LZ	LV008061310747	VISKOZE	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
35	LZ	LV008061310762	VIANDOTTE	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
36	LZ	LV008061310848	VIZBULE	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
37	LZ	LV008061310866	STRAVOLTA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
38	LZ	LV008061310900	VAKANCE	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425

39	LZ	LV008061310919	VAKCĪNA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
40	LZ	LV008061310920	VISBIJA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
41	LZ	LV008061310945	LAMBADA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
42	LZ	LV008061310950	VEKARA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
43	LZ	LV046055318366	LĀSTEKA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
44	LZ	LV046055318386	LOZE	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
45	LZ	LV046055318424	LADOGA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
46	LZ	LV046055318425	LAROKA	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
47	(LZ)	LV008048813594	STRAUME	LV0080613	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
48	LZ	LV000291118199	SAULE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
49	LZ	LV000560310082	SALACA	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
50	LZ	LV008048813676	SULAMĪTE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
51	LZ	LV008048813679	SISENĪTE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
52	LB	LV008048813682	ROŽUPE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
53	LZ	LV008048813686	SOMIJA	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
54	LZ	LV008048813688	LIZETE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
55	LZ	LV008048813689	SULLA	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425
56	LZ	LV046055318400	LOVE	LV0080488	Drustu pag. Smiltenes nov	S425

Starp ievāktajiem 56 asins paraugiem 54 bija LZ govju un 2 LB govju asins paraugi. Šogad paraugu vākšana notika 6 saimniecībās Valmieras, Cēsu un Smiltenes novados. Ievāktie asins paraugi nodoti LBTU Biotehnoloģiju zinātniskās laboratorijai ievietošanai Ģēnu bankā.

Par ievākto bioloģisko materiālu un Ģēnu bankas papildināšanu ziņas Eiropas Dzīvnieku ģenētisko resursu ģēnu banku tīklam EUGENA jāsniiedz vienreiz gadā. Iepriekšējos gados šo informāciju sniedzām gada pirmajā ceturksnī. Arī šogad informācija par 2022. gadā papildināto bioloģisko materiālu tiks sniegta 2023. gada sākumā.

SECINĀJUNI

1. Veikta literatūras analīze par pētāmajiem vaislas buļļu genotipiem pēc beta kazeīna (CSN2), k-kazeīna (CSN3) un beta laktoglobulīna (LBG) un leptīna (LEP) gēniem.
2. Genotipi pēc piena kazeīna un beta laktoglobulīna gēna noteikti 31 vaislas bullim, tajā skaitā 13 Latvijas zilās un 18 Latvijas brūnās šķirnes buļļiem.
3. Veikts ieteikums, kā izvēlēties pārojamos dzīvniekus ņemot vērā to genotipus un dota sagaidāmo pēcnācēju genotipu varbūtība pie dažādiem atlasē variantiem.
4. Veikta bioloģiskā materiāla (asins paraugu) ievākšana no 54 Latvijas zilās šķirnes un 2 Latvijas brūnās šķirnes govīm, kā arī Siguldā esošā vaislas buļļu gēnu banka papildināta ar 2 jauno buļļu bioprodukta 50 devām.

PROJEKTA IETVAROS VEIKTĀ PUBLICITĀTE

Par vietējo apdraudēto šķirņu dzīvnieku produktivitātes pazīmēm ziņots Latvijas Lauksaimniecības universitātes Lauksaimniecības fakultātes, Latvijas Agronomu biedrības Latvijas Lauksaimniecības un meža Zinātņu akadēmijas zinātniski praktiskajā konferencē “Līdzsvarota lauksaimniecība” 2022. gada 24.-25. februārī:

Mutisks ziņojums sekcijā: Jonkus D. Vietējās izcelsmes Latvijas brūnās šķirnes govju piena produktivitātes pazīmju analīze 21. gadsimtā.

Stenda ziņojums: Jonkus D., Cielava L., Ruska D. Latvijas zilās šķirnes vaislas buļļu meitu piena produktivitātes pazīmju vērtējums.

Šķirnes dzīvnieku audzētāju organizētajā pasākumā “Latvijas brūbai 100”, 2022. gada 22. jūlijā, Vecaucē.: **Mutisks ziņojums** par Latvijas Brūnās šķirnes govju piena sastāva kvalitāti.

Stenda ziņojums: Ražas svētki Vecaucē – 2022. Ņikonova V., Jonkus D., Orbidāne L. Zirgu labturības vērtējums atšķirīga lieluma saimniecībās.

Publicētas tēzes:

Jonkus D., Cielava L., Ruska D. (2022). Vietējās izcelsmes Latvijas brūnās šķirnes govju piena produktivitātes pazīmju analīze 21. gadsimtā. Zinātniski praktiskās konferences “Līdzsvarota lauksaimniecība 2022” tēzes, 54 lpp.

Jonkus D., Cielava L., Ruska D. (2022) Latvijas zilās šķirnes vaislas buļļu meitu piena produktivitātes pazīmju vērtējums. Zinātniski praktiskās konferences “Līdzsvarota lauksaimniecība 2022” tēzes, 57 lpp.

Ņikonova V., Jonkus D., Orbidāne L. Zirgu labturības vērtējums atšķirīga lieluma saimniecībās. Ražas svētki Vecaucē – 2022., 68.-71. lpp.

Tiek gatavotas tēzes par Latvijas brūnās un Latvijas zilās šķirnes dzīvnieku piena proteīna polimorfismu, inbrīdingu, kā arī par Latvijas braucamā tipa zirgu inbrīdingu, par ko tiks ziņots

Baltijas valstu dzīvnieku audzētāju zinātniski praktiskajā konferencē Tartu, Igaunijā, kas notiks 2022. gada 14. un 15. decembrī.

LITERATŪRAS AVOTI

1. Banos G., Woolliams, J. A., Woodward, B.W., Forbes, A. B. and M. P. Coffey (2008). Impact of Single Nucleotide Polymorphisms in Leptin, Leptin Receptor, Growth Hormone Receptor, and Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT1) Gene Loci on Milk Production, Feed, and Body Energy Traits of UK Dairy Cows. *Journal Dairy Sci.* Vol. 91, p. 3190-3200.
2. Bluher S, Mantzoros CS. (2007). Leptin in reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* Vol. 14, p. 458–464.
3. Braunschweig, M., C. Hagger, G. Stranzinger, and Z. Puhan. 2000. Associations between casein haplotypes and milk production traits of Swiss Brown cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1387–1395
4. Chagas LM, Bass JJ, Blache D, Burke CR, Kay JK, Lindsay DR, Lucy MC, Martin GB, Meier S, Rhodes FM. (2007). Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *Journal Dairy Sci.* Vol.90: p. 4022–32.
5. Dinc H., Ozkan E., Koban E., Togan I. (2013) Beta-casein A1/A2, kappa-casein and beta-lactoglobulin polymorphisms in Turkish cattle breeds. *Archiv Tierzucht* 56 (2013) 65, 650-657
6. Dobson H, Smith R, Royal M, Knight C, Sheldon I. (2007). The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Journal Reprod Domest Anim.* 2007; Vol. 42(Suppl 2), p.17–23.
7. Farrell H. M., Jimenez-Flores R., Bleck G. T., Brown E. M., Butler J. E., Creamer L. K. et al. 2004 Nomenclature of the proteins of cows' milk - sixth revision. *J. Dairy Sci.* 87, 1641–1674
8. Giblin L., Butler S., B. Kearney, S. Waters, M. Callnan, D. Berry (2010). Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires. *Open Access BMC Genetics*, Volume 11, Article number: 73, p 1-10.
9. Gustavsson F., Glantz M., Poulsen N.A., L. Wadsö, H. Stålhammar, A. Andrén H. Lindmark Månsson I], L.B. Larsen, M. Paulsson W.F. Fikse (2014). Genetic parameters for rennet- and acid-induced coagulation properties in milk from Swedish Red dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Volume 97, Issue 8, August 2014, Pages 5219–5229.
10. Henry BA, Clarke IJ. (2008). Adipose tissue hormones and the regulation of food intake. *Journal of Neuroendocrinol.* Vol. 20:842–9. doi: 10.1111/j.1365-2826.2008.1730.
11. Kübarsepp I., Henno M., Viinalass H., Sabre D. (2005) Effect of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk rennet coagulation properties. *Agronomy Research* 3(1), 55–64
12. Liefers SC, Pas MF, Veerkamp RF, Chilliard Y, Delavaud C, Gerritsen R, van der Lende T. (2003). Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. *Jornal of Mamm Genome* Vol. 14, p. 657–663.
13. Madeja Z, Adamowicz T, Chmurzynska A, Jankowski T, Melonek J, Switonski M, Strabel T. (2004). Short communication: effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. *Jornal Dairy Sci.* Vol. 87, p. 3925–3937.
14. Matějčíček A., Matějčíčková ., 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, 2007 (4): 83–87.
15. 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): 292–298
 16. Nkrumah JD, Li C, Basarab JA, Guercio S, Meng Y, Murdoch B, Hansen C, Moore SS. (2004). Association of a single nucleotide polymorphism in the bovine leptin gene with feed intake, feed efficiency, growth, feeding behaviour, carcass quality and body composition. *Canadian Journal of Animal Science*. Vol. 84p. 211–219.
 17. Oner Y. and Elmaci C. 2006 Milk protein polymorphisms in Holstein cattle. *Int. J. Dairy Technol.* 59, 180–182.
 18. Pomp D, Zou T, Clutter AC, Barendse W. (1997). Rapid communication: mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. *Journal of Animal Sci.* Vol. 75 p.1427.
 19. Ren D. X., Miao S.Y., Chen Y.-L., Zou C.-X., Liang X.-W. and Liu J.X. (2011). Genotyping of the κ -casein and β -lactoglobulin genes in Chinese Holstein, Jersey and water buffalo by PCR-RFLP. *J. Genet.* 90, p. e1–e5.
 20. Taniguchi Y, Itoh T, Yamada T, Sasaki Y. (2002). Genomic structure and promoter analysis of the bovine leptin gene. *IUBMB Life*. Vol. 53, p.131–135.
 21. Wedholm, A., L. B. Larsen, H. Lindmark-Månsson, A. H. Karlsson, and A. Andrén. 2006. Effect of protein composition on the cheesemaking properties of milk from individual dairy cows. *Journal Dairy Sci.* 89:3296–3305
 22. Zieba DA, Szczesna M, Klocek-Gorka B, Williams GL. (2008). Leptin as a nutritional signal regulating appetite and reproductive processes in seasonally-breeding ruminants. *Journal of Physiol Pharmacol.* Vol. 59 p. 7–18.