

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, BIOLOGY AND BIOECONOMY

wcześniej – formerly
Annales UMCS sectio EE Zootechnica

VOL. XXXV (4)

2017

CC BY–NC–ND

DOI: 10.24326/jasbbx.2017.4.7

¹Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych
²Pracownia Ekologicznej Produkcji Żywności Pochodzenia Zwierzęcego
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
e-mail: anna.wolanciuk@up.lublin.pl

ANNA WOLANCIUK¹, JOANNA BARŁOWSKA¹, ANETA BRODZIAK²,
JOLANTA KRÓL¹, MONIKA KĘDZIERSKA-MATYSEK¹

Związek wariantów genetycznych β -laktoglobuliny i κ -kazeiny z zawartością wybranych białek serwatkowych w mleku krów różnych ras

Relationship of β -lactoglobulin and κ -casein genetic variants with the content
of selected whey proteins in milk of cows of different breeds

Streszczenie. Celem badań było określenie związku wariantów genetycznych β -laktoglobuliny (BLG) i κ -kazeiny (CSN3) z zawartością wybranych białek serwatkowych w mleku krów czterech ras. Materiał do badań stanowiły próby krwi i mleka pobrane od 213 krów 4 ras, w tym dwóch wysokoprodukcyjnych: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (PHF HO, n = 63) i jersey (JE, n = 50) oraz dwóch ras rodzimych: polskiej czerwonej (RP, n = 50) i białogrzbietej (BG, n = 50). Genotypy β -laktoglobuliny i κ -kazeiny oznaczono metodą PCR-RFLP. Oceniono 558 próbek mleka, w których oznaczono zawartość białek serwatkowych (α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny, albuminy serum (BSA) i laktoferyny) przy zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (RP-HPLC). Wykazano, że krowy RP produkowały mleko o większej zawartości β -laktoglobuliny (o 0,47 g/l) i α -laktoalbuminy (o 0,18 g/l) w porównaniu z PHF HO. W przypadku mleka krów rasy BG różnice te wynosiły odpowiednio: 0,49 i 0,16 g/l. W odniesieniu do laktoferyny również stwierdzono zdecydowanie większą zawartość tego białka w mleku krów ras RP i BG. Wykazano, że obecność allelu A BLG była zawiązana z większą zawartością β -laktoglobuliny w mleku i jednocześnie niższą laktoferyny. Obecność allelu A CSN3 łączyła się natomiast z wyższą koncentracją β -laktoglobuliny oraz α -laktoalbuminy. Nie wykazano zależności między formami polimorficznymi BLG i CSN3 a zawartością BSA.

Słowa kluczowe: warianty genetyczne, CSN3, BLG, białka serwatkowe

WSTĘP

Białka są składnikami diety niezbędnymi do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Są podstawowym elementem budowy wszystkich tkanek organizmu człowieka, biorą udział w regulacji metabolizmu komórkowego oraz funkcji narządów, co zapewnia jego prawidłowy wzrost i rozwój [Cichosz i Czeczot 2013]. Doskonałym źródłem białka o wysokiej wartości biologicznej jest mleko krowie.

Białka mleka stanowią niejednorodną grupę związków różniących się składem i właściwościami. Kazeiny stanowią ok. 80% białek mleka. Są to fosfoproteiny bogate w prolinę, przez co pozbawione są struktury drugorzędowej, tzn. reszty fosforanowe estryfikowane są seryną. Białka te są ubogie w siarkę, zdolne do wiązania metali, dzięki czemu tworzą połączenia z kationami wapnia [Thompson i in. 2009]. W aspekcie prozdrowotnym szczególnie istotnymi składnikami mleka są białka serwatkowe. Należą do nich m.in. α -laktoalbumina, β -laktoglobulina, laktoferyna i bydlęca albumina serum. Składniki te odznaczają się licznymi właściwościami korzystnie wpływającymi na zdrowie człowieka. Wykazują one działanie m.in. przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwpasożytnicze, przeciwzapalne, antykancerogenne i immunomodulacyjne. Dzięki wykazywanym właściwościom mogą wpływać na ograniczenie występowania wielu chorób cywilizacyjnych [Król i in. 2011]. Mieszanina kazein i białek serwatkowych ma większą wartość biologiczną niż te same białka rozpatrywane osobno. Kazeina jest bogata w tyrozynę i fenyloalaninę, zaś białka serwatkowe zawierają egzogenne aminokwasy siarkowe (cysteinę i metioninę). Białka mleka uzupełniają się i stanowią cenne źródło niezbędnych aminokwasów [Walstra i in. 2006].

Skład chemiczny i jakość mleka krowiego ulegają znacznym zmianom pod wpływem różnych czynników. Wśród tych czynników należy wymienić genetyczne (gatunek, rasa, cechy osobnicze), środowiskowe (żywienie, pora roku, warunki klimatyczne) i fizjologiczne (faza laktacji, stan zdrowia, wiek krowy) [Walstra i in. 2006, Vaclavik i Christian 2008]. Wyniki badań prowadzonych w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat wskazują, że skład chemiczny mleka i jego przydatność do przetwórstwa związane są również z wariantami genetycznymi białek mleka [Barłowska i in. 2012]. Spośród wszystkich frakcji białek mleka jedynie formy polimorficzne dwóch z nich, tzn. κ -kazeiny (CSN3) i β -laktoglobuliny (BLG), uważane są za markery genetyczne cech ilościowych [Värv i in. 2009, Mohammadi i in. 2013]. Zależności między obecnością różnych form genu BLG i CSN3 a zawartością białek serwatkowych są jednak mniej poznane.

Celem badań było określenie związku wariantów genetycznych β -laktoglobuliny i κ -kazeiny z zawartością wybranych białek serwatkowych w mleku krów ras wysoko produkcyjnych i rodzimych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły próby krwi i mleka pobrane od 213 krów 4 ras, w tym dwóch wysokoprodukcyjnych: polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (PHF HO, $n = 63$) i jersey (JE, $n = 50$) oraz dwóch ras rodzimych: polskiej czerwonej (RP, $n = 50$) i białogrzbietej (BG, $n = 50$). Krowy rasy jersey i polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej utrzymywano w oborach wolnostanowiskowych i żywiono w systemie TMR (Total Mix Ration), a w skład głównych komponentów dawki wchodziła kiszonka

z kukurydzy i sianokiszonka oraz słoma, a także śruty poekstrakcyjne (sojowa, rzepakowa) i zbożowe. Krowy rasy białogrzbieta i polskiej czerwonej utrzymywane były w oborach uwięziowych, a podstawą ich żywienia były pasze własne, tzn. w sezonie jesienno-zimowym (listopad–marzec) sianokiszonka i siano, a w wiosenno-letnim (maj–lipiec) – zielonka pastwiskowa i siano. Uzupełnieniem dawki pokarmowej krów w obu sezonach była śruta zbożowa (pszenica i jęczmień – 1 : 1).

Próbki krwi od krów pobrano jednorazowo z obwodowej żyły szyjnej zewnętrznej do próbek próżniowych zawierających jako antykoagulant K3EDTA w trakcie rutynowych badań epidemiologicznych, wykonywanych przez lekarzy weterynarii sprawujących opiekę nad zwierzętami w stadach objętych badaniami. Z pobranych próbek krwi wyizolowano DNA z wykorzystaniem zestawu QIAamp DNA Blood Mini Kit firmy Qiagen. Genotypy β -laktoglobuliny (BLG) i κ -kazeiny (CSN3) oznaczono metodą PCR-RFLP wg Medrano i Aquilar-Cordova [1990a, b]. W skład mieszaniny reakcyjnej na 25 μ l wchodziło: 50 ng matrycy DNA, 1 U termostabilnej polimerazy Taq (Fermentas), 2,5 pmol każdej z sekwencji starterowych, 200 μ M każdego z dNTP, 2,5 mM jonów magnezu ($MgCl_2$), 1 \times PCR bufor oraz woda dejonizowana, wolna od nukleaz (Fermentas). Reakcje wykonano w termocyklerze TProfessional firmy Biometra. Uzyskane fragmenty DNA trawiono za pomocą enzymu restrykcyjnego Hinf I (CSN3) i Hae III (BLG) firmy Fermentas. Fragmenty restrykcyjne rozdzielono elektroforetycznie w 3,5% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny i zwizualizowano w transiluminatorze firmy Vilber Lourmat.

Próbki mleka o objętości ok. 300 ml pobierano jednorazowo z całego doju w okresie jesienno-zimowym i wiosenno-letnim przez 2 lata indywidualnie od każdej krowy w czasie próbnego udoju (metoda AT4). Pobierano je nie wcześniej niż w 90. dniu po wycieleniu i nie później niż w 210. Próbki mleka przewożono w warunkach chłodniczych bez stosowania konserwantów do laboratorium w celu wykonania analiz. Aby wyeliminować próbki mleka od krów z chorym gruczołem mlekowym (powyżej 400 tys. LKS w 1 ml) oznaczano liczbę komórek somatycznych (LKS) aparatem Somacount 150 firmy Bentley.

Łącznie oceniono 558 próbek mleka, w tym 144 pobrane od krów rasy PHF HO, 132 od JE, 158 od PC i 124 od BG, w których oznaczono zawartość białek serwatkowych: alfa-laktoalbuminy (α -LA), beta-laktoglobuliny (β -LG), albuminy serum (BSA) i laktoferyny z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz – RP-HPLC [Brodziak i in. 2012]. Rozdzielenia białek dokonano za pomocą chromatografu cieczowego ProStar 210 i detektora UV-VIS ProStar 325 (Varian, USA). Pomiar odbywał się z wykorzystaniem fazy ruchomej woda-acetonitryl w gradiencie przepływowym i kolumny NUCLEOSIL 300-5 C18 (Varian) o długości 250 mm i średnicy 4,6 mm. Fazę ruchomą stanowił rozpuszczalnik A (90% woda, 10% acetonitryl) i rozpuszczalnik B (90% acetonitryl, 10% woda) – Sigma (Niemcy). Na podstawie uzyskanych chromatogramów, z zastosowaniem programu Star 6.2 Chromatography Workstation (Varian), dokonano identyfikacji jakościowej poszczególnych substancji, a następnie określono ich stężenie.

Do obliczeń statystycznych wykorzystano program Statistica 13 [Dell Inc. 2016]. Zastosowano jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji z interakcją, określając wpływ rasy i genotypu na zawartość białek serwatkowych w mleku. Istotność różnic pomiędzy średnimi wyznaczono testem Tukeya dla różnych liczebności, przy poziomie $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Wyniki zawarte w tabeli 1 wskazują na istotny ($p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$) wpływ rasy krów na zawartość białek serwatkowych w mleku. Mleko pozyskiwane od krów ras rodzimych było cenniejszym źródłem wszystkich ocenianych białek serwatkowych (z wyjątkiem BSA). Surowiec pozyskiwany od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej charakteryzował się natomiast najniższą zawartością głównych albumin mleka. Krowy rasy polskiej czerwonej produkowały mleko o wyższej zawartości β -laktoglobuliny (o 0,47 g/l) i α -laktoalbuminy (o 0,18 g/l) w porównaniu z krowami holsztyńsko-fryzyjskimi. W przypadku mleka krów rasy białogrzbiętej różnice te wynosiły odpowiednio: 0,49 i 0,16 g/l. W odniesieniu do laktoferyny również stwierdzono zdecydowanie wyższą zawartość tego białka w mleku krów rasy polskiej czerwonej i białogrzbiętej. W mleku krów ras rodzimych zawartość tego białka przekroczyła poziom 120 mg/l, natomiast u krów ras wysoko produkcyjnych oscylowała w granicach 100 mg/l. Zawartość bydłowej albuminy serum wahała się w zakresie od 0,42 g/l w mleku krów polskich czerwonych do 0,51 g/l u krów rasy jersey.

Tabela 1. Zawartość wybranych białek serwatkowych w mleku krów analizowanych ras
Table 1. Content of selected whey proteins in milk of cows of analyzed breeds

Wyszczególnienie Item		Polska holsztyńsko-fryzyjska odmiany czarno-białej Polish Holstein-Friesian Black and White variety	Jersey	Polska czerwona Polish Red	Białogrzbieta White-backed
Nr No.		144	132	158	124
β -laktoglobulina β -lactoglobulin (g/l)	\bar{x}	2,95 ^A	3,22 ^B	3,42 ^C	3,44 ^C
	SD	0,28	0,48	0,50	0,54
α -laktoalbumina α -lactalbumin (g/l)	\bar{x}	0,93 ^A	1,05 ^B	1,11 ^C	1,09 ^{BC}
	SD	0,13	0,14	0,19	0,22
Laktoferyna Lactoferrin (mg/l)	\bar{x}	97,17 ^A	103,48 ^B	123,25 ^C	129,55 ^C
	SD	17,04	18,16	21,83	18,66
Albumina serum – BSA Serum albumin – BSA (g/l)	\bar{x}	0,43 ^a	0,51 ^b	0,42 ^a	0,44 ^{ab}
	SD	0,13	0,13	0,15	0,17

Średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie: a, b – przy $p \leq 0,05$, A, B – przy $p \leq 0,01$
Means in rows marked different letters differ significantly: a, b – at $p \leq 0,05$, A, B – at $p \leq 0,01$

Wyniki prezentowane przez wielu autorów wskazują na dużą zmienność zawartości białek serwatkowych w mleku w zależności od rasy krów. Według Król i in. [2010] zawartość β -laktoglobuliny w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej wynosiła 2,93 g/l i była niższa o 0,02 g/l niż w badaniach własnych. W odniesieniu do pozostałych białek serwatkowych uzyskali nieco większe wartości dla α -laktoalbuminy (0,98 g/l) i mniejsze dla laktoferyny (91,4 mg/l). Autorzy potwierdzają również większą koncentrację białek serwatkowych w mleku krów ras białogrzbiętej i polskiej czerwonej w porównaniu z mlekiem krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej.

Mleko krów polskich czerwonych zawierało bowiem o 0,67 g/l β -laktoglobuliny, o 37,3 mg/l laktoferyny i o 0,17 g/l α -laktoalbuminy więcej w porównaniu do rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Mleko krów białogrzbiętych było natomiast bogatsze w β -laktoglobulinę (o 0,64 g/l), laktoferynę (o 23,8 mg/l) i α -laktoalbuminę (o 0,11 g/l) od mleka krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Większą zawartość analizowanych białek serwatkowych w mleku krów ras rodzimych w porównaniu z holsztyńsko-fryzyjskimi wykazali również Litwińczuk i in. [2012]. Auld i in. [2004], porównując mleko krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej i jersey, odnotowali większą niż w badaniach własnych zawartość ocenianych białek serwatkowych. Mleko krów rasy jersey zawierało średnio 5,3 g/kg β -laktoglobuliny i 1,5 g/kg α -laktoalbuminy, a holsztyńsko-fryzyjskiej, odpowiednio 4,9 i 1,3 g/kg. Zawartość BSA była jednak większa w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej (183 vs. 151 mg/kg). Hallen i in. [2008], oceniając zawartość poszczególnych składników w mleku krów duńskich, stwierdzili większą zawartość analizowanych białek serwatkowych w surowcu pozyskanym od krów duńskich czerwonych w porównaniu z holsztyńsko-fryzyjskimi. Z kolei Wedholm i in. [2006], porównując mleko krów dwóch szwedzkich ras, tj. holsztyńsko-fryzyjskich i czerwono-białych, nie wykazali wpływu rasy na zawartość białek serwatkowych.

W tabeli 2 przedstawiono dane dotyczące zawartości wybranych białek serwatkowych z uwzględnieniem wariantu genetycznego β -laktoglobuliny dla analizowanej populacji krów. Wykazano, że obecność allelu A BLG (zarówno w układzie homo-, jak i heterozygotycznym) była związana z istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartością β -laktoglobuliny w mleku i jednocześnie mniejszą laktoferyny ($p \leq 0,01$ lub $p \leq 0,05$). Mleko pozyskane od homozygot AA BLG zawierało średnio o 0,16 g/l więcej β -laktoglobuliny i średnio o 13,55 mg/l mniej laktoferyny w porównaniu z homozygotami BB BLG. Nie wykazano natomiast zależności między formami polimorficznymi BLG a zawartością α -laktoalbuminy i bydlęcej albuminy serum.

Szczegółowa analiza, uwzględniająca rasę krów, wykazała różnice w zawartości α -laktoalbuminy między genotypami BLG. W przypadku wszystkich ras (z wyjątkiem polskiej czerwonej) większą zawartość tego białka stwierdzono w mleku krów o genotypie zawierającym allel B BLG. W przypadku krów rasy polskiej czerwonej najwięcej α -laktoalbuminy zawierało mleko osobników homozygotycznych AA BLG. U wszystkich ras (z wyjątkiem holsztyńsko-fryzyjskiej) wykazane różnice były potwierdzone statystycznie ($p \leq 0,01$ lub $p \leq 0,5$). Oceniając równoczesny wpływ rasy i wariantu genetycznego BLG na zawartość białek serwatkowych w mleku, wykazano istotne interakcje dla zawartości β -laktoglobuliny ($p \leq 0,01$) i α -laktoalbuminy ($p \leq 0,05$).

Tabela 2. Związek wariantów genetycznych β -laktoglobuliny z zawartością wybranych białek serwatkowych w mleku krów analizowanych rasTable 2. Relationship of β -lactoglobulin genetic variants with the content of selected whey proteins in milk of cows of analyzed breeds

Rasa Breed	Wariant genetyczny Genetic variant	Nr No.	β -laktoglobulina β -lactoglobulin (g/l)		α -laktoalbumina α -lactalbumin (g/l)		Laktoferyna Lactoferrin (mg/l)		Albumina serum – BSA Serum albumin – BSA (g/l)	
			\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Polska holsztyńsko- fryzyska odmiana czarno-białej Polish Holstein- Friesian Black and White variety	AA	44	3,03	0,24	0,89	0,14	92,40	10,86	0,42	0,09
	AB	50	2,87	0,28	0,93	0,13	98,97	19,32	0,45	0,15
	BB	50	2,94	0,29	0,96	0,10	99,56	18,48	0,43	0,15
Jersey	AA	45	3,25	0,45	1,02 ^a	0,13	98,40 ^A	15,18	0,51	0,13
	AB	64	3,21	0,51	1,05 ^a	0,14	101,91 ^A	18,92	0,50	0,15
	BB	23	3,13	0,44	1,07 ^b	0,14	115,74 ^B	21,44	0,50	0,16
Polska czerwona Polish Red	AA	7	3,79 ^B	0,32	1,22 ^b	0,11	111,00 ^a	6,71	0,35	0,08
	AB	60	3,42 ^A	0,50	1,09 ^a	0,20	119,53 ^{ab}	20,70	0,41	0,13
	BB	91	3,33 ^A	0,53	1,08 ^a	0,19	126,07 ^b	26,25	0,43	0,12
Białogrzbietą White- backed	AA	40	3,65 ^B	0,34	0,99 ^A	0,32	127,70	8,67	0,40	0,02
	AB	52	3,53 ^B	0,30	1,13 ^{AB}	0,11	130,00	20,00	0,44	0,12
	BB	32	3,08 ^A	0,36	1,19 ^B	0,12	132,09	14,62	0,46	0,10
Łącznie genotyp Total genotype	AA	136	3,32 ^B	0,43	0,98	0,18	105,61 ^{Aa}	18,90	0,45	0,11
	AB	226	3,25 ^B	0,49	1,03	0,18	111,62 ^{Ab}	21,47	0,45	0,14
	BB	196	3,16 ^A	0,52	1,05	0,18	119,16 ^B	28,85	0,44	0,14
Wpływ czynnika Influence of factor	rasa breed		***		***		***		***	
	genotyp genotype		**		n.s.		**		n.s.	
	rasa \times genotyp breed \times genotype		**		*		n.s.		n.s.	

Średnie oznaczone różnymi literami w obrębie wariantu genetycznego różnią się istotnie: a, b – przy $p \leq 0,05$, A, B – przy $p \leq 0,01$

Means marked different letters within genetic variant differ significantly: a, b – at $p \leq 0,05$, A, B – at $p \leq 0,01$

Wpływ czynnika: * przy $p \leq 0,05$; ** przy $p \leq 0,01$, *** przy $p \leq 0,001$; n.s. – nieistotny

Influence of factor: * at $p \leq 0,05$; ** at $p \leq 0,01$, *** at $p \leq 0,001$; n.s. – not significant

Wyniki własne znajdują potwierdzenie w wynikach Hecka i in. [2009], wskazujących na związek między polimorfizmem w obrębie genów BLG i CSN3 a koncentracją głównych białek serwatkowych. Autorzy podają, że polimorfizm genu BLG wyjaśnia w 90% zmienność zawartości β -laktoglobuliny w mleku. Wykazali oni istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartość β -laktoglobuliny w mleku homozygot AA. Zawartość tego białka dla skrajnych genotypów BLG wynosiła odpowiednio: 8,35 g/l i 5,51 g/l. Wcześniejsze badania Hecka i in. [2008] również łączą allel A BLG z większą koncentracją β -laktoglobuliny w mleku. Autorzy wykazali, że w przypadku mleka pozyskiwanego od homozygot AA koncentracja β -laktoglobuliny kształtowała się na poziomie 9,52%, natomiast w przypadku obecności genotypów BB i AB była niższa i wynosiła odpowiednio 6,58 i 8,15%. Do podobnych wniosków doszli również Hallen i in. [2008], którzy łączą wyższą zawartość β -laktoglobuliny z obecnością allelu A.

Folch i in. [1999] tłumaczą wpływ wariantów BLG na koncentrację tego białka serwatkowego w mleku różnicami w ekspresji genu BLG, wynikającymi z obecności form polimorficznych w obrębie genu promotorowego. Innym wytłumaczeniem może być kontrola potranslacyjna i różnice w stabilności mRNA pomiędzy wariantami A i B. Wielu autorów [Bobe i in. 1999, Prosser i in. 2000, Hallen i in. 2008], podobnie jak w badaniach własnych, łączy obecność allelu A BLG z mniejszą koncentracją α -laktoalbuminy w mleku. W badaniach Hecka i in. [2009] zawartość α -laktoalbuminy w mleku krów o genotypie AA BLG była istotnie ($p \leq 0,01$) mniejsza w porównaniu do BB (odpowiednio: 2,44 g/l i 2,53 g/l).

W odniesieniu do genu CSN3 wykazano związek jego polimorfizmu z zawartością β -laktoglobuliny oraz α -laktoalbuminy w mleku analizowanej populacji krów (tab. 3). Istotnie ($p \leq 0,01$) większą zawartość tych białek serwatkowych zaobserwowano w mleku pozyskanym od osobników o genotypie AA i AB CSN3. Nie wykazano zależności między formami polimorficznymi tego genu a koncentracją laktoferyny i BSA w mleku.

W przypadku krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej istotnie ($p \leq 0,05$) więcej BSA zawierało mleko heterozygot AB CSN3 (0,46 g/l), natomiast u krów polskich czerwonych – mleko homozygot AA CSN3 (0,45 g/l). Więcej α -laktoalbuminy, w porównaniu z BB, zawierało mleko zwierząt o genotypach AA i AB CSN3 (niezależnie od rasy), jednak różnice nie zostały potwierdzone statystycznie. Oceniając równoczesny wpływ rasy i wariantu genetycznego CSN3 na zawartość białek serwatkowych w mleku, wykazano istotne interakcje ($p \leq 0,05$) zawartości β -laktoglobuliny i α -laktoalbuminy.

Liczne badania łączą z reguły obecność allelu B CSN3 z zawartością frakcji κ -kazeiny w mleku. Zależności między obecnością różnych form genu CSN3 a zawartością białek serwatkowych są jednak mniej poznane. Wyniki badań własnych wskazują na większą zawartość głównych białek serwatkowych w mleku zwierząt o genotypach AA lub AB CSN3. Heck i in. [2009] również łączą obecność allelu A CSN3 z większą koncentracją w mleku α -laktoalbuminy i β -laktoglobuliny. Podają, że mleko krów holsztyńsko-fryzyskich o genotypie BB CSN3 zawierało istotnie ($p \leq 0,01$) mniej α -laktoalbuminy (o 0,19 g/l) i β -laktoglobuliny (o 0,27 g/l) w porównaniu z mlekiem od zwierząt o genotypie AA CSN3. Z kolei Bobe i in. [1999] nie wykazali związku pomiędzy polimorfizmem w obrębie genu CSN3 a zawartością α -laktoalbuminy w mleku.

Tabela 3. Związek wariantów genetycznych κ -kazeiny z zawartością wybranych białek serwatkowych w mleku krów analizowanych ras
 Table 3. Relationship of κ -casein genetic variants with the content of selected whey proteins in milk of cows of analyzed breeds

Rasa Breed	Wariant genetyczny Genetic variant	Nr No.	β -laktoglobulina β -lactoglobulin (g/l)		α -laktoalbumina α -lactalbumin (g/l)		Laktoferyna Lactoferrin (mg/l)		Albumina serum – BSA Serum albumin – BSA (g/l)	
			\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD	\bar{x}	SD
Polska holsztyńsko- fryzyjska odmiany czarno-białej Polish Holstein- Friesian Black and White variety	AA	74	3,00	0,27	0,95	0,14	98,43	17,98	0,41 ^a	0,13
	AB	56	2,92	0,27	0,94	0,09	96,22	16,20	0,46 ^{ab}	0,14
	BB	14	2,87	0,31	0,90	0,11	95,02	12,38	0,43 ^b	0,10
Jersey	AA	16	3,35 ^b	0,55	1,06	0,11	105,63	19,48	0,50	0,17
	AB	80	3,19 ^{ab}	0,44	1,05	0,14	103,64	17,99	0,51	0,13
	BB	36	3,12 ^a	0,52	0,97	0,16	101,89	18,21	0,49	0,17
Polska czerwona Polish Red	AA	37	3,44	0,49	1,11	0,20	125,61	25,42	0,45 ^b	0,14
	AB	77	3,39	0,56	1,09	0,19	121,78	21,78	0,40 ^a	0,12
	BB	44	3,35	0,54	1,06	0,16	123,62	26,61	0,42 ^{ab}	0,12
Białogrzbieta White- backed	AA	33	3,61 ^b	0,37	1,16	0,07	132,30	15,84	0,45	0,11
	AB	48	3,41 ^{ab}	0,55	1,11	0,26	126,61	14,86	0,42	0,07
	BB	15	3,31 ^a	0,51	1,05	0,17	129,97	9,45	0,45	0,15
Łącznie genotyp Total genotype	AA	160	3,27 ^B	0,50	1,06 ^B	0,16	113,46	24,78	0,44	0,14
	AB	261	3,23 ^B	0,47	1,04 ^B	0,20	111,61	22,09	0,46	0,13
	BB	109	3,20 ^A	0,46	0,98 ^A	0,15	113,55	24,18	0,45	0,14
Wpływ czynnika Influence of factor	rasa breed		***		***		***		***	
	genotyp genotype		**		**		n.s.		n.s.	
	rasa × genotyp breed × genotype		*		*		n.s.		n.s.	

Średnie oznaczone różnymi literami w obrębie wariantu genetycznego różnią się istotnie: a, b – przy $p \leq 0,05$, A, B – przy $p \leq 0,01$

Means marked different letters within genetic variant differ significantly: a, b – at $p \leq 0,05$, A, B – at $p \leq 0,01$

Wpływ czynnika: * przy $p \leq 0,05$; ** przy $p \leq 0,01$, *** przy $p \leq 0,001$; n.s. – nieistotny

Influence of factor: * at $p \leq 0,05$; ** at $p \leq 0,01$, *** at $p \leq 0,001$; n.s. – not significant

WNIOSKI

Wykazano, że zarówno rasa krów, jak i polimorfizm w obrębie genów BLG i CSN3 mają istotny wpływ na zawartość białek serwatkowych w mleku. Surowiec pozyskiwany od krów ras rodzimych był cenniejszym źródłem wszystkich ocenianych białek serwatkowych (z wyjątkiem BSA). Stwierdzono, że obecność allelu A β -laktoglobuliny była związana z większą zawartością β -laktoglobuliny w mleku i jednocześnie mniejszą laktoferyny. Obecność allelu A CSN3 łączyła się natomiast z większą koncentracją β -laktoglobuliny i α -laktoalbuminy w mleku. Nie wykazano zależności między formami polimorficznymi BLG i CSN3 a zawartością bydlęcej albuminy serum.

PIŚMIENNICTWO

- Auldust M.J., Johnston K.A., White N.J., Fitzsimons W.P., Boland M.J., 2004. A comparison of the composition, coagulation characteristics and cheesemaking capacity of milk from Friesian and Jersey dairy cows. *J. Dairy Res.* 71, 51–57.
- Barłowska J., Wolanciuk A., Litwińczuk Z., Król J., 2012. Milk proteins' polymorphism in various species of animals associated with milk production utility. W: W.L. Hurley (red.), *Milk protein*, rozdz. 9. InTech – Open Access Publisher, 235–264.
- Bobe G., Beitz D.C., Freeman A.E., Lindberg G.L., 1999. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parameter estimates. *J. Dairy Sci.* 82, 2797–2804.
- Brodziak A., Barłowska J., Król J., Litwińczuk Z., 2012. Effect of breed and feeding system on content of selected whey proteins in cows' milk in spring-summer and autumn-winter seasons. *Ann. Anim. Sci.* 12, 261–269.
- Cichosz G., Czczot H., 2013. Kontrowersje wokół białek diety. *Pol. Merk. Lek.* 35(210), 397–401.
- Dell Inc., 2016. Dell Statistica (data analysis software system), version 13. software.dell.com.
- Folch J.M., Dovic P., Medrano J.F., 1999. Differential expression of bovine beta-lactoglobulin A and B promoter variants in transiently transfected HC11 cells. *J. Dairy Res.* 66, 537–544.
- Hallen E., Wedholm A., Andren A., Lunden A., 2008. Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *J. Anim. Breed. Genet.* 125, 119–129.
- Heck J.M.L., Schennink A., van Valenberg H.J.F., Bovenhuis H., Visker M.H.P.W., van Arendonk J.A.M., van Hooijdonk A.C.M., 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 92, 1192–1202.
- Heck J.M.L., Olieman C., Schennink A., van Valenberg H.J.F., Visker M.H.P.W., Meuldijk R.C.R., van Hooijdonk A.C.M., 2008. Estimation of variation in concentration, phosphorylation and genetic polymorphism of milk proteins using capillary zone electrophoresis. *Int. Dairy J.* 18, 548–555.
- Król J., Brodziak A., Litwińczuk Z., Szwajkowska M., 2011. Wykorzystanie białek serwatkowych w promocji zdrowia. *Żyw. Człow. Metab.* 38(1), 36–45.
- Król J., Litwińczuk Z., Brodziak A., Sawicka-Zugaj W., 2010. Bioactive protein content in milk from local breeds of cows included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.* 10(3), 213–221.
- Litwińczuk Z., Barłowska J., Chabuz W., Brodziak A., 2012. Nutritional value and technological suitability of milk from cows of three Polish breeds included in the genetic resources conservation programme. *Ann. Anim. Sci.* 12(3), 423–432.
- Medrano J.F., Aguilar-Cordova E., 1990a. Genotyping of bovine kappa-casein loci following DNA sequence amplification. *BioTechnology* 8, 144–146.

- Medrano J.F., Aguilar-Cordova E., 1990b. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *Anim. Biotechnol.* 59, 180–182.
- Mohammadi Y., Aslaminejad A.A., Nassiri M.R., Koshkoieh A.E., 2013. Allelic polymorphism of κ -casein, β -lactoglobulin and leptin genes and their association with milk production traits in Iranian Holstein cattle. *J. Cell Mol. Res.* 5(2), 75–80.
- Prosser C.G., Turner S.A., McLaren R.D., Langley B., L’huillier P.J., Molan P., Auldust M.J., 2000. Milk whey protein concentration and mRNA associated with β -lactoglobulin phenotype. *J. Dairy Res.* 67, 287–293.
- Romero C., Perez-Andujar O., Jimenes S., 1996. Detection of cow’s milk in ewe’s or goat’s milk by HPLC. *Chromatographia* 42, 181–184.
- Thompson A., Boland M., Singh H., 2009. Milk proteins: from expression to food. Academic Press, Elsevier Inc.
- Vaclavik V.A., Christian E.W., 2008. Essentials on food science. Wyd. 3. Springer, New York.
- Värv S., Belousova A., Sild E., Viinalass H., 2009. Genetic diversity in milk proteins among Estonian dairy cattle. *Vet. Med. Zootech.* 48(70), 93–98.
- Walstra P., Wouters J.T.M., Geurts T.J., 2006. Dairy science and technology. Wyd. 2. CRC Press, Boca Raton.
- Wedholm A., Hallen E., Larsen L.B., Lindmark-Mansson H., Karlsson A.H., Allmere T., 2006. Comparison of milk protein composition in a Swedish and a Danish dairy herd using reversed phase HPLC. *Acta Agric. Scand. A* 56, 8–15.

Summary. The aim of the study was to determine the relationship of β -lactoglobulin (BLG) and κ -casein (CSN3) genetic variants with the content of selected whey proteins in milk of cows of two breeds. The research included blood and milk samples taken from 213 cows of four breeds, in that two of high-productivity: Polish Holstein-Friesian Black and White variety (PHF HO, $n = 63$) and Jersey (JE, $n = 50$), and two native breeds: Polish Red (RP, $n = 50$) and White-backed (BG, $n = 50$). The β -lactoglobulin and κ -casein genotypes were determined by PCR-RFLP. The RP-HPLC method was used for whey protein content (α -lactalbumin, β -lactoglobulin, bovine serum albumin (BSA) and lactoferrin) determination in 558 milk samples. It was shown that RP cows produced milk with a higher content of β -lactoglobulin (0.47 g/l) and α -lactalbumin (0.18 g/l) compared to PHF HO. In the case of milk obtained from BG cows, the differences were 0.49 and 0.16 g/l, respectively. Lactoferrin content was also definitely higher in the milk of RP and BG cows. It was proved that the presence of A BLG allele was associated with a higher β -lactoglobulin content in milk and lower lactoferrin at the same time. However, the presence of A allele CSN3 was connected with a higher concentration of β -lactoglobulin and α -lactalbumin. No correlation was found between BLG and CSN3 polymorphic forms and BSA content.

Key words: genetic variants, CSN3, BLG, whey proteins

Otrzymano/ Received: 1.12.2017
Zaakceptowano/ Accepted: 30.12.2017