

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA

Kristina Morkūnienė

**GENOMINIS GALVIJŲ
PIENINIŲ IR SVEIKATINGUMO
SAVYBIŲ GERINIMAS**

Daktaro disertacija
Žemės ūkio mokslai,
zootechnika (03A)

Kaunas, 2018

Disertacija rengta 2012–2018 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijoje.

Mokslinės vadovės:

2012–2016 m. doc. dr. Lina Baltrėnaitė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03A);

2017 m. doc. dr. Sigita Kerzienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03A).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos zootechnikos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkė

prof. dr. Elena Bartkienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03A).

Nariai:

prof. dr. Asta Racevičiūtė-Stupelienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03A);

prof. dr. Gintarė Zaborskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, zootechnika – 03A);

dr. Petras Prakas (Gamtos tyrimų centras, biomedicinos mokslai, biologija – 01B);

dr. Asta Tvarijonavičiūtė (Mursijos universitetas (Ispanija), žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

Disertacija bus ginama viešame zootechnikos mokslo krypties tarybos posėdyje 2018 m. rugpjūčio 31 d. 12 valandą Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos S. Jankausko auditorijoje.

Disertacijos gynimo vietos adresas: Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES
VETERINARY ACADEMY

Kristina Morkūnienė

**GENOMIC IMPROVEMENT
OF CATTLE DAIRY
AND HEALTH TRAITS**

Doctoral Dissertation
Agricultural Sciences,
Zootechnics (03A)

Kaunas, 2018

Dissertation has been prepared at the Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2012–2018.

Scientific Supervisors:

2012–2016 Assoc. Prof. Dr. Lina Baltrėnaitė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Zootechnics – 03A);

2017 Assoc. Prof. Dr. Sigita Kerzienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Zootechnics – 03A).

Dissertation is defended at the Zootechnics Research Council of Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences:

Chairperson

Prof. Dr. Elena Bartkienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Zootechnics – 03A).

Members:

Prof. Dr. Asta Racevičiūtė-Stupelienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Zootechnics – 03A);

Prof. Dr. Gintarė Zaborskienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Zootechnics – 03A);

Dr. Petras Prakas (Nature Research Center, Biomedical Sciences, Biology – 01B);

Dr. Asta TvariJonavičiūtė (University of Murcia, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A).

Dissertation will be defended at the open session of the Zootechnics Research Council of Lithuanian University of Health Sciences on the 31st of August, 2018 at noon in S. Jankauskas Auditorium of the Veterinary Academy.

Address: Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SANTRUMPOS	7
IVADAS	8
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1. Galvijų genomas	11
1.2. Galvijų kiekybinių požymių genomine selekcija	12
1.2.1. Tradiciniai gyvulių genetinio gerinimo metodai	12
1.2.2. Molekulinės informacijos panaudojimas gyvulių vertinimui gerinti	13
1.2.3. Genominės selekcijos metodologija	14
1.2.4. Pieninių galvijų genominis vertinimas ir selekcija	17
1.3. Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genetinius žymenis	18
1.3.1. Pieno baltymo kapa kazeino genetinis žymuo	19
1.3.2. Pieno baltymo beta kazeino genetinis žymuo	22
1.3.3. Pieno baltymo beta laktoglobulino genetinis žymuo	24
1.4. Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genetinius žymenis	27
1.4.1. Galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumas	28
1.4.2. Fermento uridino monofosfato sintazės trūkumas	29
1.4.3. Sunkus stuburo išsigimimas	30
2. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI	32
2.1. Tyrimų medžiaga	32
2.1.1. Tiriamosios grupės sudarymas	32
2.1.2. Biologinių mėginių paėmimas	34
2.2. Tyrimų metodai	35
2.2.1. DNR išskyrimas iš plauko svogūnėlio ląstelių	35
2.2.2. DNR išskyrimas iš kraujo leukocitų druskiniu metodu	35
2.2.3. DNR švarumo ir koncentracijos nustatymas	36
2.2.4. Kiekybinių požymių genomine selekcija	37
2.2.4.1. Pieninių galvijų genominio profilio nustatymas	37
2.2.4.2. Galvijų genetinio potencialo įvertinimas	38
2.2.4.3. Genominės selekcijos ekonominio efekto įvertinimas	39
2.2.5. Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genetinius žymenis	40
2.2.5.1. Kapa kazeino geno tyrimo metodika	40
2.2.5.2. Beta kazeino geno tyrimo metodika	41
2.2.5.3. Beta laktoglobulino geno tyrimo metodika	42
2.2.6. Pieno sudėties ir kokybės tyrimai	43
2.2.7. Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genetinius žymenis	43
2.2.7.1. Galvijų BLAD ligą lemiančios mutacijos c.383 A→G CD18 gene tyrimo metodika	43
2.2.7.2. Galvijų DUMPS ligą lemiančios mutacijos c.405 C→T UMPS gene tyrimo metodika	44
2.2.7.3. Galvijų CVM ligą lemiančios mutacijos c.559 G→T SLC35A3 gene tyrimo metodika	44
2.3. Statistinė duomenų analizė	45

3.	TYRIMŲ REZULTATAI	46
3.1.	Pieninių galvijų kiekybinių požymių genomine selekcija.....	46
3.1.1.	Pieninių galvijų genominių profilių analizė.....	46
3.1.2.	Lietuvos pieninių galvijų genetinio potencialo palyginimas su „Igenity“ populiacijos galvijų genominėmis vertėmis.....	49
3.1.3.	Pieninių galvijų selekcionuojamų požymių pridėtinių verčių analizė pagal genominio profilio rezultatus.....	53
3.1.4.	Selekcinis modelis pagal genominio profilio rezultatus, kai selekcijos prioritetu parenkamas pieno kiekio didinimas.....	57
3.1.5.	Selekcinis modelis pagal genominio profilio rezultatus, kai atrankos prioritetas paskirstomas lygiai visiems svarbiems pieninių galvijų požymiams.....	60
3.1.6.	Selekcinis modelis, kai tirtosios atrankinės karvių populiacijos genominio profilio tyrimų duomenys perkeliama visai Lietuvos pieninių karvių populiacijai.....	63
3.2.	Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genominius žymenis	67
3.2.1.	Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genetinės analizės rezultatai	67
3.2.2.	Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino polimorfizmų sąsajos su produkcijos genominiiais balais.....	71
3.2.2.1.	Pieno baltymo kapa kazeino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genominiiais balais.....	72
3.2.2.2.	Pieno baltymo beta kazeino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genominiiais balais.....	75
3.2.2.3.	Pieno baltymo beta laktoglobulino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genominiiais balais	77
3.2.2.4.	Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino polimorfizmų sąsajos su pieno kokybės rodikliais	79
3.3.	Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genominius žymenis.....	81
4.	TYRIMŲ REZULTATŲ APTARIMAS.....	83
	IŠVADOS.....	92
	REKOMENDACIJOS	94
	LITERATŪROS ŠALTINIAI	95
	PASKELBTOS PUBLIKACIJOS	109
	SUMMARY	130
	CURRICULUM VITAE.....	180
	PADĖKA.....	181

SANTRUMPOS

Ala	–	alaninas
AS-PCR	–	aleliams specifinė PGR
Asp	–	aspartatas
BC	–	galvių citrulinemija
BCM7	–	beta kazomorfinas 7
BLAD	–	galvių leukocitų sukibimo nepakankamumas
BLUP	–	(<i>Best linear unbiased prediction</i>) geriausio linijinio objektyvaus prognozavimo metodas
bp	–	bazių pora
CLAD	–	šunų leukocitų sukibimo nepakankamumas
cM	–	genolapio vienetas (centimorganidė)
CVM	–	sunkus stuburo išsigimimas
DA	–	dirbtinis apvaisinimas
DNR	–	dezoksiribonukleininė rūgštis
DOEP	–	daugybinis ovuliacijos embrionų perkėlimas
DUMPS	–	uridino monofosfato sintazės trūkumas
FXID	–	XI faktoriaus trūkumas
ID	–	identifikacinis numeris
Igenity	–	genominių profilių nustatymo sistema
Ile	–	izoleucinas
Kb	–	kilobazė
kDa	–	kilodaltonas
KPL	–	kiekybinių požymių sritis (lokusas)
MAS	–	(<i>Marker Assisted Selection</i>) selekcija pagal genetinius žymenis
RFIP	–	restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmas
PGR	–	polimerazinė grandinės reakcija
RNR	–	ribonukleininė rūgštis
Thr	–	treoninas
UMP	–	uridino monofosfato sintazė
VNP	–	vieno nukleotido polimorfizmas
VVV	–	veislinių verčių vertinimas

IVADAS

XX amžiuje genetinis gyvulių rūšių tobulėjimas buvo grindžiamas gyvulių požymių ir kilmės registravimu. Pastaraisiais dešimtmečiais veislinėms vertėms vertinti (VVV) buvo naudojama geriausio linijinio objektyvaus prognozavimo (BLUP) metodas [1]. VVV buvo naudojamas atrinkti geriausios genetinės vertės gyvulius. Pieninių galvijų veisimo programos įprastai buvo paremtos palikuonių vertinimo schemomis, kai buliams apytiksliai tekdavo 100 dukterų, kurių produktyvumo duomenys buvo gaunami, kai buliams būdavo apie 5 metus. Geriausi buliai vėliau buvo plačiai naudojami populiacijoje. Šios tradicinės veislininkystės programos buvo labai efektyvios, nes genetinė pažanga pagerino daug selekcinį požymių. Taip pat gerai žinomos ir šių tradicinių selekcinį programų ribos, kurios pirmiausia atsiranda norint nuolat fiksuoti fenotipus, tai gali būti sudėtinga dėl įvairių priežasčių. Pavyzdžiui, pieninių galvijų kartos intervalas yra ilgas, nes galima vertinti tik patelių produktyvumo požymius. DNR žymenys gali praplėsti šias ribas, nes DNR galima surinkti iš visų bet kokio amžiaus individų ir naudoti prognozuojant kiekvieno individo genetinę naudą. Individo genetinę naudą lemia aleliai, kuriuos jie turi dėl priešastinių mutacijų, jų pagrindas yra požymis. Pastaruosius du dešimtmečius DNR žymenys naudojami tiriant kiekybinių genomo požymių lokusus (KPL) [2], o naudojant žymenų genotipus kiekybinių požymių lokusuose siekiama numatyti individų genetinę vertę [3]. DNR žymenų naudojimas selekcijos schemose yra naudingas, nes gali padidinti veislinių verčių vertinimo patikimumą, ypač jaunų gyvulių ir tų požymių, kuriuos yra sunku užfiksuoti [4, 13]. Patikimumo padidėjimas galiausiai gali lemti didesnę genetinių tobulėjimą. Nepaisant didelių pastangų atlikti tyrimus ir selekciją pagal žymenis, poveikis nebuvo toks didelis, kaip buvo tikėtasi [5]. Theo H. E. Meuwissen su mokslininkais [6] pristatė metodologiją, skirtą veislinėms vertėms įvertinti, naudojant viso genomo tankius žymenis. Selekcija, pagrįsta šiomis veislinių verčių genominiomis prognozėmis, buvo pavadinta genomine selekcija [7].

Praktiškai genomine selekcija pradėta naudoti neseniai, nes daugelyje galvijų rūšių nustatytų genetinių žymenų nepakako, o genotipavimas dar buvo pakankamai brangus. Pastaruoju metu patobulėjusios DNR technologijos ir genomo sekų sudarymas lėmė tūkstančių atskirų nukleotido polimorfizmų (VNP) atradimą ir didelį VNP genotipavimo išlaidų sumažėjimą. Tai suteikė galimybę praktiškai pritaikyti genomine selekciją ir pradėti įvairius mokslinius tyrimus. Daugelis pirmųjų genominės selekcijos tyrimų dėmesį skyrė genominio prognozavimo modeliams [8, 9], vertino populia-

cijos parametrų poveikį genomio prognozavimo patikimumui [10, 11] arba lygino tradicinės ir genominės selekcijos schemas [5, 12]. Vėliau, kai buvo gauti genominiai duomenys, genominės prognozės buvo patvirtintos realiais duomenimis, dažniausiai palyginus genomines prognozes, atsižvelgiant į palikuonių charakteristikas [14, 66]. Turint šių patvirtinamųjų tyrimų rezultatus, genominės selekcijos nauda tapo labai aiški. Tai lėmė, kad pastaraisiais metais į pieninių galvijų veisimo schemas buvo įtraukta genominė selekcija [15].

Darbo tikslas:

Ištirti genominės selekcijos poveikį galvijų pieninėms ir sveikatingumo savybėms.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti pieninių galvijų genominių profilį pieningumo, baltymingumo, baltymų kiekio, riebumo, riebalų kiekio, produktyvaus amžiaus, somatinių ląstelių skaičiaus ir pieninės formos ūkiniams požymiams.
2. Palyginti Lietuvos pieninių galvijų genominius profilius su tarptautiniais pieninių galvijų populiacijos genomo tyrimo duomenimis.
3. Įvertinti pieninių galvijų genominių potencialą ir ekonominį efektą, taikant įvairius genominės selekcijos modelius.
4. Įvertinti pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta lakto-globulino genų polimorfizmų sąsajas su pieninių savybių genominėmis vertėmis ir pieno kokybės rodikliais.
5. Atlikti galvijų letalių genetinių ligų BLAD, DUMPS ir CVM paplitimo pieninių galvijų populiacijoje įvertinimą.

Darbo naujumas ir praktinė reikšmė

Nustatytas Lietuvos pieninių galvijų genominis profilis ir įvertintas genominis potencialas pieningumo, baltymingumo, baltymų kiekio, riebumo, riebalų kiekio, produktyvaus amžiaus, somatinių ląstelių skaičiaus ir pieninės formos ūkiniams požymiams papildo pasaulinės pieninių galvijų populiacijos genominės įvairovės duomenis. Pritaikę genominės selekcijos metodą pieniniams galvijams teigiame, kad šis metodas leidžia įvertinti pieninių galvijų genetinį potencialą, didina selekcijos tikslumą ir intensyvumą. Nustačius kiekvienam galvijui genominių profilį, reitingavus galvijus bandose pagal genominio profilio rezultatus atskiriems požymiams bei įvairioms požymių kombinacijoms, atrinkus aukščiausios genominės vertės galvijus pagal genominius profilius ir numačius pagal gautus rezultatus atskiros

bandos ar veislės gerinimo kryptis, galima prognozuoti bandos ar veislės genetinės pažangos, taikant genominę selekciją, ekonominį efektą. Nustatytos sąsajos tarp pieno baltymų genų polimorfizmų ir ūkinių savybių genominių verčių, sudaro prielaidas, vykdant genominę selekciją pieno baltymingumo didinimo kryptimi, kartu padidinti kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino B alelio dažnį ir BB genotipo karvių skaičių populiacijoje. Pieninių galvijų genominių profilių įvedimas į tarptautinę pieninių galvijų genominių profilių duomenų bazę leidžia identifikuoti, kokią vietą atskiras galvijas bei visa galvijų banda pagal genetinį potencialą užima tarptautinėje erdvėje. Genominės selekcijos duomenis galima naudoti kartu su tradiciniais veislinio vertinimo duomenimis. Galimybė atlikti genomo tyrimą ankstyvajame amžiuje suteikia genetinę duomenų bazę daugeliui veisimo, selekcijos ir rinkodaros sprendimų priimti.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Galvijų genomas

Galvijai priklauso senajai žinduolių grupei, *Cetartiodactyla*, kuri pirmą kartą, manoma, atsirado maždaug prieš 60 milijonų metų. Prijaukinti galvijai (*Bos taurus* ir *Bos taurus indicus*) atsiskyrė nuo bendro protėvio prieš 250 000 metų ir turėjo ilgą bendro vystymosi kelią kartu su žmonių civilizacija nuo Neolito laikų prieš 8 000–10 000 metų. Visos moderniosios galvijų veislės kilo iš didelės senųjų aurokų (*Bos taurus primigenius*) populiacijos per tūkstančius domestikacijos metų. Per tą laikotarpį buvo sukurta daugiau nei 800 galvijų veislių. Pasaulyje kasmet užauginama daugiau nei milijardas galvijų mėsos bei pieno pramonei. Todėl galvijai reprezentuoja svarbias mokslines galimybes, taip pat yra svarbus ekonominis šaltinis [16].

Dezoksiribonukleino rūgštis (DNR) arba organizmo genetinė medžiaga yra paveldima iš kartos į kartą. Technologijų tobulėjimas leidžia geriau suprasti ir išanalizuoti paveldimąją medžiagą. Manipuliavimui su DNR biologine medžiaga buvo sukurtas laboratorinis tyrimo metodas, vadinamas PGR (polimerazinė grandininė reakcija). PGR simbolizuoja vieną reikšmingiausių atradimų DNR technologijoje, už kurį JAV gimusiam mokslininkui Kari Mullis [17] buvo įteikta Nobelio premija. Pastarųjų metų DNR technologijų pažanga, įskaitant klonavimą, polimerazės grandinės reakciją (PGR), rekombinantinę DNR technologiją, DNR pirštų antspaudų tyrimą, genų terapiją, DNR mikrogardelių technologiją ir DNR profiliavimą, turėjo įtakos medicinos, veterinarijos, gyvulininkystės ir kitiems mokslams [18–22].

Galvijų genomo žemėlapis pirmausia buvo plėtojamas mikrosatelitų analizės metodu, *in situ* hibridizacijos chromosomų preparatuose metodu. Galvijų genetinio žemėlapio tankumas yra pakankamai didelis ir išmatuotas vidutinis atstumas tarp dviejų kaimyninių sričių yra 2,5 cM [23]. Kai plataus žemėlapio sudarymo ėmėsi kelios mokslininkų grupės, buvo labai svarbu formuoti vienodus ir išsamius žemėlapius, būdingus galvijų chromosomoms.

Žemėlapiai buvo sudaromi hibridizacijos metodu, po to patikslinami palyginus su skirtingų gyvūnų rūšių žemėlapiais, naudojant chromosomoms specifinius zondus. Tyrimai parodė, kad apie 4 milijonai bazių porų yra konservatyvios. Nustatytos homologinės sritys tarp žmogaus, galvijo, avių, kiaulių chromosomų [24–26].

Galvijų genomo sekos nuskaitymas pradėtas 2003 m. JAV mokslininkų Richard Gibbs and George Weinstock [27]. Pirmoji galvijų genomo seka buvo nuskaityta iš DNR išskirtos iš mėšinių galvijų Herefordų veislės karvės. Paraleliai, iš dalies nuskaityta Holšteinų, Angusų, Džersių, Norvegijos

žalųjų ir Brahamų veislių galvijų genomus, buvo atrasta 37 470 vieno nukleotido polimorfizmų, kurių informacija buvo panaudota 50 VNP mikrogardelei sukurti [28]. Sujungus šiuos duomenis kartu su visiškai nuskaitytu Herefordų veislės karvės genomu, jie sudaro komercinėse veisimo programose vertingą genetinių požymių šaltinį selekcijai pagal genetinius žymenis bei genominei selekcijai.

Christine G. Elsik su kolegomis [27] išaiškino galvijų genomą struktūrine, genų ir baltymų prasmėmis. Buvo išaiškinta, kad galvijų genomas koduoja 22 000 genų, kurių skaičius koreliuoja su genų, rastų kitų žinduolių genomuose, kiekiu. Papildomai buvo rasta 496 mikroRNR, apimančios 135 naujas sekas.

Daugybiniai sekų tarp galvijų ir kitų žinduolių rūšių palyginimai išaiškino 14 345 ortologinius genus, iš kurių 1217 yra specifiniai placentiniams žinduoliams. Palyginamasis su kitų žinduolių genomais žemėlapis parodė 124 evoliucinio lūžio taškus, daugiausia susijusius su pasikartojančiomis sekomis ir duplikacijomis. Įdomu, kad genai, susiję su pieno produkcija, tai pat susiję su šiais evoliuciniais taškais [16, 29].

Galvijų genoמו tyrimai toliau plėtojami siekiant atrasti naujas asociacijas tarp sekų ir fenotipo požymių bei sąsajas tarp skirtingų veislių genomų. Vykdomo 1000 bulių genoמו projekto tikslas – gauti genetinę informaciją, kuri leistų dar labiau pagreitinti genetinį galvijų produkcijos savybių gerinimą, nebloginant galvijų sveikatingumo. Identifikuotas recesyvinis galvijų embrioninio mirtingumo genas ir dominantinis letalinis chondrodisplazijos genas. Toliau vykdamas projektą tikimasi rasti asociacijas su kitais monogeniniais bei kompleksiniais požymiais [30]. Gautomis žiniomis nuolat tobulinamos galvijų mikrogardelės, naudojamos galvijų genominėje selekcijoje [31].

1.2. Galvijų kiekybinių požymių genominė selekcija

1.2.1. Tradiciniai gyvulių genetinio gerinimo metodai

Išsami sistema, skirta įvertinti patikimoms veislinėms vertėms, yra vienas pagrindinių veiksmingos veisimo programos ir naudingo selekcijos proceso elementų. Geriausio linijinio objektyvaus prognozavimo (BLUP) [1] sistema tapo gyvulių veisimo standartu. Remiantis BLUP sistema, individualios veislinės vertės kartu su didžiausiu pasiekiamu patikimumu gali būti gautos atsižvelgiant į daugelio kartų veislės informaciją ir fenotipinę informaciją, gautą iš pačių individų ar bet kurių jų artimų giminių.

Be tradicinio gyvulių modelio, buvo sukurti skirtingi modeliai, kuriuos galima taikyti skirtingoms veisimo programoms ir (arba) duomenų struktū-

roms, pvz., tėvų modeliai, skirti sumažinti skaičiavimus, kai reikia apskaičiuoti tik tėvų veislines vertes, atsižvelgiant į duomenis apie bulius, arba įvairių požymių modeliai, skirti į vieną modelį sujungti tarpusavyje susijusius požymius [32], kuriuose trūkstamos vertės nėra tokios svarbios, arba atsitiktinės regresijos modeliai, skirti apdoroti vienos dienos modelius [33]. Bent jau produktyvumo požymiams šiuo metu visos pieninių galvijų tradicinės vertinimo sistemos yra grindžiamos šiais tradiciniais BLUP metodais. Dėl tokių procedūrų, kaip daugybiniai požymių visos šalies mastu įvertinimai [34], tapo įmanoma tarptautiniu lygmeniu palyginti sutartines veislines vertes.

Nepaisant gyvulių genetinio gerinimo pasiekimų BLUP metodu, yra šio metodo naudojimo trūkumų. BLUP metodu yra neįmanoma tiksliai įvertinti individo veislinę vertę, kai yra nežinoma fenotipinė pačio gyvulio ar artimų giminių informacija ir dėl to gali padidėti giminingo veisimo laipsnis [35].

1.2.2. Molekulinės informacijos panaudojimas gyvulių vertinimui gerinti

Kai XX a. 8-ojo dešimtmečio pabaigoje ir 9-ąjį dešimtmetį tapo prieinami pirmieji genetiniai žymenys, prasidėjo diskusijos, kaip panaudoti naują informaciją, siekiant pagerinti selekcijos schemas. Buvo pristatytas naujas selekcijos metodas, selekcija pagal genetinius žymenis (MAS).

Daugumai gyvulininkystėje tirtųjų požymių būdingas kiekybinis genetinis pagrindas. Tai reiškia, kad stebimi fenotipai yra kintantys, o stebimą genetinę įvairovę lemia daugiau nei vienas genas. Visos genų sritys, kurios prisideda prie konkretaus požymio kitimo, vadinamos kiekybinių požymių sritimis (KPS). Dažnai nežinoma, kurioje genomo vietoje jos yra ir kokią įtaką turi genetinei įvairovei. Ankstyvuose tyrimuose buvo siūloma, kad sričių, turinčių įtakos konkrečiam požymiui, skaičius vyrauja nuo mažo iki vidutinio [36], tačiau šiuo metu bendroji nuomonė – daugumą požymių greičiausiai veikia šimtai sričių, iš kurių dauguma turi labai mažą poveikį požymiui [37].

Kadangi galimų KPS vietos dažniausiai iš anksto nežinomos, genetinius žymenis su žinomomis vietomis galima naudoti kaip prognostinius. Jei KPS ir žymuo yra vienas šalia kito, jiems dažnai būdinga stipri sąsaja. Tai sudaro sąlygas žymeniu užfiksuoti didelę dalį genetinės įvairovės, kurią sukėlė KPS. Genetiniai žymenys yra mikrosatelitų arba restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmų, kurie, manoma, yra tinkamas pagrindas surasti susijusių KPS vietas, dalis. Siekiant sužymėti KPS vietas ir atsižvelgiant į žymenų poveikį fenotipams, buvo sukurti skirtingi statistiniai metodai [38]. Tačiau KPS

įtaka dažnai buvo pervertinama [39] ir jos nebuvo galima patvirtinti naudojant referentinę duomenų bazę, tai sudarytų sąlygas įtraukti MAS į reguliarias veisimo schemas.

MAS, taikoma įvairioms gyvulių rūšims, niekada nepateikė stulbinamų rezultatų, išskyrus vieną išimtį – pieniniuose galvijuose padėjo atrasti Diacilglicerolio O-aciltransferazės 1 (DGAT 1) geną, turintį įtakos medžiagų metabolizmui [40], ir Prancūzija buvo vienintelė valstybė, kuri tikrai MAS į veisimo programą įtraukė ilgesniam laikui [41].

1.2.3. Genominės selekcijos metodologija

Mokslininkai Haley and Visscher [7] išreiškė mintį, kad selekcijos pagal genetinius žymenis technika gali būti pritaikyta viso genomo tyrimo lymeniu, ir 2001 m. Meuwissen aprašė metodologiją kaip naudoti tankius žymenų rinkinius siekiant numatyti bendras genetines vertes [6]. Ši idėja gyvulių veisimo srityje sukėlė revoliuciją tokiu būdu ir greičiu, kurių nepasiekė ankstesnės naujovės. Tokio metodo idėja teigia, kad naudojant tankius žymenų žemėlapius (tūkstančiai ar dešimtys tūkstančių žymenų), visoms KPS, veikiančioms konkrečius požymius, bus būdinga stipri sąsaja su bent vienu žymeniu ar chromosomos segmentu. Todėl naudojant tankių žymenų žemėlapių turėtų būti įmanoma užfiksuoti visus arba didžiąją dalį genetinių variacijų. Nepaisant to, kad didelį poveikį turinčių KPS buvo ieškoma taikant MAS metodą anksčiau, Meuwissen *et al.* [6] aprašė statistinius metodus, kai daugelio genome išsibarsčiusių žymenų poveikiai arba atitinkamų haplotipų poveikiai vertinami vienu metu. Netaikant jokių reikšmingų ribų, visų žymenų ar haplotipų poveikiai yra sumuojami ir po to gaunama bendra individo genetinė vertė (kuri vėliau bus vadinama genomine veislė verte). Selekcijos, atsižvelgiant į genomines veislinės vertes, pranašumas prieš tradicines schemas yra aiškus, nes dėl genominės informacijos naudojimo įmanoma tiesiogiai užfiksuoti požymių paveldėjimą pagal Mendelio dėsningumus, tai būtų neįmanoma naudojant palikuonių vertinimu pagrįstą metodą. Tai gali turėti teigiamą poveikį giminingo veisimo laipsniui [35, 42, 43] ir veislinių verčių tikslumui. Atsižvelgiant į tai, kad yra pakankamas kiekis fenotipuotų individų, kuriuos galima naudoti siekiant įvertinti požymių poveikius, genomines veislinės vertes galima gauti ir individams, kurie nėra fenotipiškai įvertinti, bet tik genetiškai. Taigi galima nustatyti jaunų individų ar net embrionų tikslias veislinės vertes, todėl ir selekciją (genominę selekciją) galima atlikti remiantis šiomis genominėmis veislinėmis vertėmis. Po šios idėjos pasiūlymo daugelyje tyrimų pradėti naudoti sumodeliuoti duomenų rinkiniai [44, 45, 66], skirti, pavyzdžiui, ekonominiu požiūriu vertinti skirtingus prognostinius metodus, įgyvendinimo scenarijus ir idėjas,

kaip integruoti genominę selekciją į esamas veisimo programas [12], nes duomenys, skirti įvertinti genominių veislinių verčių ir genominės selekcijos poveikį, dar nebuvo prieinami.

Nebuvo aišku, kada bus galima gauti tokius duomenis, kurie tinka prognozuoti genomines veislines vertes tokiu patikimumu, kuris būtinas, norint šias vertes praktiškai taikyti kasdiniuose vertinimuose. Tokiam metodui buvo paranku, kad 2009 m. tapo prieinama visa galvijų genomo seka [29, 46] ir kad genotipavimo technologija pirmaisiais XXI a. metais taip pažengė į priekį, kad iki šiol galima gauti didelius kiekius duomenų apie genominius žymenis. Žinduolių genomuose egzistuoja skirtingų rūšių sekų variantai, kuriuos galima naudoti kaip žymenis, pavyzdžiui, mikrosatelitai, kopijų skaičiaus variacijos, insercijos, delecijos, vieno nuleotido polimorfizmai (VNP) ir t. t. Siekiant praktiškai prognozuoti genominę veislinę vertę, genomo žymenys yra maždaug vienodai pasiskirstę po visą genomą ir, jei reikia, prieinami dideliais kiekiais.

VNP atitinka šiuos kriterijus, todėl tai yra žymens tipas, kurį optimalu naudoti genominio prognozavimo metoduose. VNP yra polimorfizmas, kuris atsiranda vienoje bazėje ir paprastai yra bialelinis. Milijonai šių VNP yra prieinama žinduolių genomuose [47, 48]. Naudojant naujas technologijas, tapo įmanoma protingomis sąnaudomis didelio našumo genotipavimo platformose naudojant VNP gardelę gauti individo genotipus su tūkstančiais VNP [49, 50].

Tokios pasaulinės bendrovės kaip „Illumina Inc.“ (<http://www.illumina.com>) ir „Affymetrix Inc.“ (<http://www.affymetrix.com>) gali pasiūlyti komercines ir pagal individualius poreikius sukurtas VNP gardeles. „Illumina“ gardeles sudaro apie 6000 VNP („Illumina BovineLD BeadChip“), 54000 VNP („Illumina Bovine50 BeadChip“ toliau nurodomas kaip „50K Chip“), kurios labiausiai būdingos galvijų tyrimuose. Iki šiol oficialiuose genominiuose vertinimuose su „50K Chip“ gauti VNP sudaro genominių veislinių verčių pagrindą, nes dauguma elitinių bulių buvo genotipuojami naudojant šią VNP gardelę.

Prieš keletą metų buvo pasiūlyta nauja VNP gardelė „Illumina BovineHD BeadChip“ (toliau – „HD Chip“ (didelio dažnio lustas)), kurią sudarė apie 777000 VNP. Mokslininkai nekantriai laukė šio produkto, nes buvo tikimasi, kad 10 kartų didesnis žymenų tankumas, palyginti su „50K Chip“, labai padidins genominės prognozės patikimumą ir turės daug privalumų naudojant nedidelėse veislėse, nes tokiu būdu būtų sėkmingas daugelio veislių prognozavimas.

Dauguma individų, ypač buliai, įvertinti pagal palikuonis, iki atsirandant didelio dažnio gardelėms, buvo genotipuoti naudojant „50K Chip“ gardelę ar mažesnio tankumo gardelę, taigi nuo pat pradžių buvo aišku, kad

ne visi šie individai bus iš naujo genotipuojami naudojant didelio dažnio gardelę. Todėl buvo būtina pradėti naudoti naują strategiją, vadinama įterpimu. Įterpimo tikslas – rekonstruoti negenotipuoto žymens lokusų *in silico* genotipus.

Pagrindinės imputacijos proceso pakopos yra šios. Jei turime individų, genotipuotų su žymenų rinkiniu A, mėginį, ir šie individai turėtų būti įterpti į didesnį žymenų rinkinį B. Pirmiausia reikėtų gauti kitą individų, genotipuotų su žymenų rinkiniu B, mėginį (referencinį). Antra, naudojant atitinkamą programinės įrangos įrankį, rekonstruojami (išdėstomi etapais) haplotipai, atsižvelgiant į šeiminiais ryšiais pagrįstas sąsajas ir (arba) tarppopuliacines sąsajas individams, genotipuotiems su žymenų rinkiniu B, ir individams, genotipuotiems su žymenų rinkiniu A. Remiantis šiais haplotipais, žymenų srityse esantys aleliai, kurie neįtraukti į žymenų rinkinį A, bet įtraukti į žymenų rinkinį B, gali būti rekonstruoti tiems individams, kurie ką tik buvo genotipuoti su žymenų rinkiniu A. Haplotipų rekonstrukcijai ir trūkstamiems duomenims įkelti buvo sukurta įvairių programinių įrangų, ypač žmogaus genetikos srityje – „fastPHASE“ [51], „MaCH“ [52], „ShapeIt“ [53]. Tačiau dauguma šių programų turi ribotas galimybes per duotą laiką apdoroti šimtus ar tūkstančius mėginių, kuriuos sudaro dešimtys tūkstančių VNP, arba šios programos negali apdoroti duomenų be referencinių duomenų su iš anksto apibrėžtais haplotipais. Viena išimtis yra BEAGLE [54], kuri plačiai naudojama ne tik žmogaus, bet ir gyvulių genetikoje. Joje įdiegtos visos būtinos funkcijos. Siekiant įveikti anksčiau aprašytas problemas, per pastaruosius metus gyvulių genetikos sektoriuje taip pat buvo sukurtos kitos programinės įrangos – „Findhap“ [55], „FImpute“ [56], „AlphaImpute“ [57]. Be programos pasirinkimo, kiti du veiksniai – referencinio žymenų rinkinio dydis ir sudėtis – turi didžiausią įtaką įterpimo tikslumui [58]. Pasirodo, didesni referenciniai rinkiniai ir didesnis artimų giminaičių skaičius padidina tikslumą. Tačiau kuo daugiau gyvulių reikia genotipuoti naudojant didesnį žymenų tankumą, tuo didesnės išlaidos. Todėl viena dažniausiai naudojamų strategijų yra atrinkti pagrindinius protėvius tokiu būdu, kad būtų maksimizuotos genų, kuriuos jie perdavė faktinėms populiacijoms, proporcijos [59], ir genotipuoti šiuos protėvius didelio dažnio mikrogardelė. Pastaruoju metu atlikta tyrimų, kuriuose pateikti realūs duomenys, kurie buvo naudojami vertinant informacijos įterpimą, praplečiant iki didelio dažnio mikrogardelės informacijos, tikslumą [60].

1.2.4. Pieninių galvijų genominis vertinimas ir selekcija

Didėjanti genominės selekcijos sėkmė, kuri pastebima kaip didesnis kiekis ir geresnė pieninių ir mėsinių galvijų produkcijos kokybė, sudarė poreikį genominių priemonių pritaikymui ir šio selekcijos metodo integravimui į veisimo programas visame pasaulyje [61]. Genominės informacijos panaudojimas genetiniam įvertinimui lėmė esminius pieninių galvijų selekcijos pokyčius [62–64]. Veisimo schemas genetinę naudą apibrėžia keturi parametrai: genetinis standartinis nuokrypis, selekcijos intensyvumas, veislinės vertės vertinimo tikslumas ir kartos intervalas [65]. Pieniniams galvijams naudojant klasikines palikuonių vertinimo schemas, vertinamųjų bulių palikuonių veislinių verčių tikslumas yra labai didelis, tačiau didelį tikslumą galima pasiekti, tik jei turimi dukrų produktyvumo duomenys [63], pvz., kai bulius yra bent penkerių metų amžiaus. Vertinant jaunus bulius, galima apskaičiuoti tėvų produktyvumo požymių vidurkį, tačiau gauti duomenys yra per daug netikslūs, kad būtų galima formuoti konkrečios selekcijos sprendimų pagrindą. Šiuo pagrindu galima priimti tik ikiselekcinis sprendimus, tai yra, kuris bulius taps vertinamuoju buliumi. Todėl bulių kartų intervalai yra pakankamai ilgi ir riboja klasikines veisimo schemas. Vertinamųjų bulių laikymas tiek metų, kai jau galima atlikti selekciją, remiantis duomenimis apie palikuonis, yra gana brangus. Genetinę naudą galima padidinti ir išlaidas sumažinti, jei tikslesnes veislines vertes būtų galima gauti ankstyvajame bulių amžiuje. Jaunų individų genominės veislės nustatymas nėra toks tikslus kaip palikuonių, bet pakankamai tikslus. Tai suteikia sąlygas naudoti dvi strategijas: galimas tikslesnis vertinamųjų bulių ikiselekcinis procesas ir (arba) jauni buliai gali būti tiesiogiai naudojami nelaukiant duomenų apie palikuonis. Genominę selekciją taip pat galima taikyti bulių motinoms, taip sudarant sąlygas anksčiau ir tiksliau atrinkti elitines karves. Mokslininkas Schaeffer [12], remdamasis prognostiniais svarstymais, atskleidė, kad buliaus genetinę naudą galima padvigubinti, o išlaidas labai sumažinti, jei buliams ir bulių motinoms nuolat taikoma genominė selekcija. Faktiniuose tyrimuose su genominiu veisimo schemų modeliavimu vertės taikant nuo maždaug 20 proc. [42] iki 100 proc. [67], atskleidžiama, kad genetinės naudos didėjimas priklauso nuo selekcijos intensyvumo ir tyrimuose numanomo kartos intervalo. Reguliarus ir oficialus genominis vertinimas, kuris yra genominės selekcijos pagrindas, pirmą kartą buvo pritaikytas 2009 m. Holšteinų veislei JAV ir Kanadoje. Nuo to laiko šį vertinimą naudoja daug šalių – Vokietija nuo 2010 m., Australija nuo 2011 metų. Tačiau genomines veislines vertes taip pat siekiama naudoti ir kitose galvijų veislėse – JAV Džersių ir Šveicarijos žaliųjų veislėms nuo 2009 m., Vokietijoje Simentalų ir Šveicarijos žaliųjų veislėms nuo 2011 metų [68–71].

Dauguma šalių genominės selekcijos metodą pradėjo taikyti nedidelėse bandomųjų gyvulių grupėse, kurias sudarė keli šimtai ar keli tūkstančiai individų, genotipuotų naudojant 50K VNP. Kadangi bandomojoje grupėje individų skaičius yra svarbiausias veiksnys, buvo įkurta įvairių bendradarbiavimo konsorcių „EuroGenomics in Holstein Friesian“ [72], „Interge-nomics in Brown Swiss“ [73] ir t. t., kurie padeda gerinti genominio prognozavimo tikslumą. Beveik visos genominio vertinimo sistemos pagrįstos geriausio linijinio objektyvaus prognozavimo sistema, skirta prognozuoti genomines veislines vertes. Norint tiksliai prognozuoti selekcijai parinktų kandidatų, kurie neturi savo fenotipų, veislines vertes, būtina turėti labai didelę genotipuotų ir fenotipuotų individų referencinę populiaciją, kad būtų galima išvesti prognostinę lygtį [14, 59]. Nors šis tikslas pasiektas tokioms veislėms kaip Holšteinų pieniniai galvijai [69], su mažesnėmis veislėmis sudaryti tokią referencinę populiaciją yra neįmanoma. Siūloma alternatyva – naudoti įvairių veislių referencinę populiaciją, kurioje bendras individų skaičius referenciniame rinkinyje būtų didelis. Kai individų skaičius referentinėje populiacijoje yra ribotas, genominės veislinės vertės yra netiksliai apskaičiuojamos, ir prognozės nustatytos vienai veislei negali būti pritaikytos ir kitomis veislėmis [15, 74]. Pryce su mokslininkais 2011 m. palygino vienos ir kelių veislių referentines populiacijas Flekvichų, Holšteinų ir Džersių veislių galvijams, ir padarė išvadą, kad genominės selekcijos nauda yra minimali, kai naudojama kelių veislių referentinė populiacija. Tačiau iš kelių veislių referencinės populiacijos gaunami geresni rezultatai nei iš vienos veislės referencinės populiacijos, kai numatomos veislinės vertės, nesant genotipuotų individų referencinėje populiacijoje [75].

1.3. Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genetinius žymenis

Pieno baltymai yra svarbiausi pieno komponentai žmogaus mityboje. Šiandien pieno pramonė turi technologines galimybes gaminti daug skirtingų rūšių pieno produktų. Pieno perdirbimo savybės yra susijusios su pieno baltymų sudėtimi [76]. Pieno baltymai yra skirstomi į dvi grupes. Pirmajai grupei priklauso keturi pagrindiniai kazeinai: α_{s1} -kazeinas, α_{s2} -kazeinas, kapakazeinas, beta kazeinas. Galvijams jie yra randami 6 chromosomoje (6q31), kur klasterio ilgis siekia nuo 200 iki 250 kb [77–79]. Antrajai grupei priklauso keletas skirtingų išrūgų baltymų, o svarbiausi iš jų yra β -lakto-globulinas ir α -laktoalbuminas. Visi kazeino baltymai sudaro pagrindinę galvijų pieno baltymų dalį (80 proc.) [80].

Ryšys tarp pieno baltymų polimorfizmo, produkcijos požymių, pieno sudėties ir pieno technologinių savybių buvo ištirtas ir aprašytas daugybėje

tyrimų [81–83]. Tyrimai atskleidė, kad skirtingi pieno baltymų variantai veikia pieno fizines ir chemines savybes [84]. Išsiaiškinta, kad beta kazeino B alelis [85–87], kapa kazeino B alelis [85, 88–90] ir beta laktoglobulino B alelis [89, 91] koreliuoja su didesne varškės ir sūrių išeiga bei geresnėmis skoninėmis savybėmis, o kapa kazeino E alelis [81, 89] lemia mažesnę piene esančio kazeino kiekį bei prastesnę sūrių kokybę daugelyje galvijų veislių. Dėl šių sąsajų pieno baltymų polimorfizmas gali būti naudojamas kaip pieno kokybės atrankos kriterijus galvijų selekcijos programose.

1.3.1. Pieno baltymo kapa kazeino genetinis žymuo

Kapa kazeinas sudaro maždaug 12 proc. visų kazeinų. Kapa kazeino baltymą koduojantis genas yra 6 chromosomos 6q31 pozicijoje [92]. Bendras geno ilgis yra 13 kb. Jis sudarytas iš penkių egzonų [93], tačiau daugiausia baltymą koduojančių sekų yra rasta ketvirtajame egzone [78]. Kapa kazeino baltymas yra viengrandis polipeptidas, sudarytas iš 169 amino rūgščių, kurio molekulinis svoris yra 19,2 kDa. Galvijams rasta net 14 kapa kazeino alelių (A, A1, B, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I, J) [88]. Pieno savybėms didžiausią įtaką turi A ir B aleliai, kurie skiriasi 136 ir 148 grandinės vietose esančiomis amino rūgštimis – 136 vietoje Thr (ACC) yra pakeistas į Ile (ATC), o 148 vietoje Asp (GTA) – į Ala (GCT). Šių dviejų taškinių mutacijų vieta yra šalia glikozilinimo vietų ir tai paveikia tiek baltymo struktūrą, tiek ir patį glikozilinimą [94]. Taigi šie genetiniai variantai yra susiję pieno nestabilumu perdirbimo metu bei tinkamumu sūrių produkcijai. Pastaraisiais metais mokslininkai susidomėjo kazeino geno pokyčiais, rasta promotoriaus srityje, bei jų įtaka pieno baltymų raiškai [88, 93, 95, 96].

Kapa kazeino B alelio svarba pieno technologinėms savybėms yra aprašyta daugybėje tyrimų [97–100]. Pieninių galvijų B kapa kazeino variantas yra susijęs geresne varškės kokybe ir padidėjusia sūrio išeiga [88, 101]. Manoma, kad kapa kazeino geno B alelis didina baltymų kiekį, reguliuoja micelių dydį, apsaugo kitus kazeinus nuo nusodinimo, turi stipresnes koaguliacines savybes ir taip padaro pieną tinkamesnį sūrių gamybai [102], gerina jogurto kokybę [103]. Kapa kazeino alelio poveikis pieno sudėčiai buvo patvirtintas ir kitų mokslininkų tyrimais [83, 85, 104, 105]. Apskaičiuota, kad iš BB genotipą turinčių karvių pieno yra pagaminama 10 proc. daugiau tam tikros rūšies sūrio nei iš AA genotipą turinčių galvijų pieno [78]. Kietieji sūriai, pagaminti iš tokio pieno, pasižymi geresne konsistencija ir kompozicija. Karvės, turinčios AA genotipą, pasižymi didesniu pieningumu [106, 107].

Mokslininkų buvo pasiūlyta, kad kapa kazeino genotipų identifikavimas galėtų būti ekonomiškai svarbus atrankos kriterijus formuojant pieninių galvijų bandas, skirtas pramoninei pieno gamybai [108, 109].

Skirtingi kapa kazeino genetiniai variantai yra randami nevienodu dažniu įvairiose pieninių galvijų populiacijose. Daugumoje Europos galvijų veislių yra nustatomas didelis kapa kazeino A alelio dažnis (1.3.1.1 lentelė).

1.3.1.1 lentelė. Kapa kazeino alelių dažniai skirtingose pieninių galvijų veislėse

Galvijų veislė	Kapa kazeino alelių dažniai	Šaltiniai
Holšteinai	A = 0,690 B = 0,310	[110]
	A = 0,940 B = 0,060	[111]
	A = 0,760 B = 0,240	[112]
	A = 0,642 B = 0,288	[86]
	A = 0,830 B = 0,170	[113]
	A = 0,790	[114]
	B = 0,138	
	E = 0,072	
	A = 0,752 B = 0,161 E = 0,087	[115]
Džersiai	A = 0,290 B = 0,710	[113]
	A = 0,110 B = 0,880	[110]
	A = 0,512 B = 0,488	[114]
Rumunų margieji	A = 0,650 B = 0,350	[116]
Maramures žalieji	A = 0,375 B = 0,625	
Turkijos pilkieji	A = 0,806 B = 0,193	[86]
Lietuvos baltnugariai	A = 0,731 B = 0,238 E = 0,010	[115]

1.3.1.1 lentelės tęsinys

Galvijų veislė	Kapa kazeino alelių dažniai	Šaltiniai
Lietuvos šėmieji	A = 0,735 B = 0,228 E = 0,037	
Lietuvos žalieji	A = 0,714 B = 0,265 E = 0,021	
Lenkijos žalieji	A = 0,690 B = 0,310	
Danijos žalieji	A = 0,810 B = 0,190	[119]
Vokietijos žalieji	A = 0,642	
	B = 0,288 E = 0,070	
Lenkijos žalieji	A = 0,600 B = 0,330 C = 0,020 H = 0,030	[113]
Estijos žalieji	A = 0,642 B = 0,324 E = 0,034	[114]
Simentalai	A = 0,681	[117]
	A = 0,600 B = 0,380 E = 0,020	[83]
	A = 0,531 B = 0,469	[118]
Airšyrai	A = 0,550 B = 0,130	[113]
Estijos vietiniai	A = 0,695 B = 0,305	[114]
Vakarų Suomijos galvijai	A = 0,671 B = 0,305 E = 0,024	
Indijos pieniniai galvijai	A = 0,66 B = 0,34	[120]
Holšteinai-Fryzai	A = 0,81 B = 0,19	[121]

1.3.2. Pieno baltymo beta kazeino genetinis žymuo

Beta kazeinas sudaro iki 45 proc. kazeinų kiekio galvijų piene. Ši baltymą koduojantis genas yra aptinkamas galvijų šeštojoje chromosomoje [122]. Beta kazeino geno pirminė seka buvo nustatyta Bruno Ribadeau-Dumas *et al.* [123].

Beta kazeinas yra polimorfiškas pieno baltymų genas, turintis 12 žinomų genetinių variantų: A1, A2, A3, B, C, D, E, F, H1, H2, I, G. Pieninių galvijų veislėse dažniausiai pasitaikantys beta kazeino aleliai yra A1 ir A2, B alelis yra rečiau aptinkamas, o A3 ir C yra ypač reti (1.3.1.2 lentelė). Šio baltymo polipeptidinė grandinė sudaryta iš 209 aminorūgščių [80, 124, 125, 127], o polimorfizmo priežastis yra natūralios vieno nukleotido mutacijos koduojančiame gene [128]. B alelis nuo A2 alelio skiriasi dviem mutacijomis – A → C nukleotidų pakaita, dėl kurios įvyksta aminorūgščių pasikeitimas iš prolino į histidiną (67 pozicijoje), ir C → G pakaita, dėl kurios įvyksta pasikeitimas iš serino į argininą (122 pozicijoje). Šie aminorūgščių sekos skirtumai lemia konformacinius skirtumus tarp baltymo antrinės struktūros [128–130]. Pirminiame beta kazeino baltymo variante galvijų piene buvo tik A2 alelis. A1 beta kazeino variantas yra mutacijos padarinys [126, 127].

Tyrimų metu nustatyta, kad beta kazeino B alelis [85, 98] yra susijęs su kazeino kiekio padidėjimu piene ir sūrių išeiga bei kokybe įvairiose galvijų veislėse. Kazeinai yra baltymai, kurie yra sutraukinami sūrio gamybos procese, todėl kuo didesnis kazeino kiekis, tuo geresnė gaunama sūrio išeiga iš to paties kiekio pieno [85, 86, 98].

Pieno baltymai, įskaitant kazeinus, taip pat yra bioaktyvių peptidų šaltinis. Vienas iš šių peptidų yra beta kazamorfinas (BCM), kuris priklauso opioidinių peptidų grupei, susiformuojančiai iš beta kazeino variantų. Buvo ištirta, kad beta kazamorfinas 7 (BCM-7), veikiant fermentams, yra suformuojamas iš A1 arba B beta kazeino variantų.

Įvykęs struktūrinis pokytis tarp A1 ir A2 variantų nulėmė, kad šie du beta kazeino variantai yra skirtingai hidrolizuojami žmogaus virškinamajame trakte. Peptidinė jungtis tarp prolino ir izoleucino A2 variante yra labiau atspari fermentų poveikiui nei kad jungtis tarp histidino ir izoleucino A1 variante. Tai reiškia, kad A1 variantą turintis pienas yra daug lengviau hidrolizuojamas virškinamajame trakte esančių fermentų ir išskiriamas didesnis BCM-7 kiekis, kuris gali neigiamai paveikti žmogaus sveikatą [131–136].

Didelis BCM-7 kiekis išskiriamas ne tik vartojant A1, bet ir B variantą turintį pieną [131, 133, 137]. Beta kazamorfinas per daugybę receptorių gali paveikti endokrininę, imuninę, nervų ir kitas sistemas. Dėl to pieno, turinčio

A1 ar B variantus, vartojimas gali padidinti žmonių riziką susirgti kai kuriomis ligomis: išemine širdies liga, diabetu, ateroskleroze, staigos kūdikių mirties sindromu, autizmu, šizofrenija [131, 133, 136, 138].

1.3.2.1 lentelė. Beta kazeino alelių dažniai skirtingose pieninių galvijų veislėse

Galvijų veislė	Beta kazeino alelių dažniai	Šaltiniai
Holšteinai	A1 = 0,472 A2 = 0,496 B = 0,026	[139]
	A1 = 0,371 A2 = 0,546 B = 0,050	[140]
	A1 = 0,485 A2 = 0,456 A3 = 0,029 B = 0,029	[86]
	A1 = 0,177 A2 = 0,809 A3 = 0,006 B = 0,008	[83]
	A1 = 0,169 A2 = 0,831	[141]
	A1 = 0,402 A2 = 0,598	[80]
	A1 = 0,418 A2 = 0,470 B = 0,107	[142]
	A1 = 0,429 A2 = 0,548 B = 0,024	[138]
Džersiai	A1 = 0,093 A2 = 0,721 B = 0,186	[139]
	A1 = 0,123 A2 = 0,591	[143]
	A1 = 0,077 A2 = 0,923	[141]
	A1 = 0,094 A2 = 0,688 B = 0,219	[114]

1.3.2.1 lentelės tęsinys

Galvijų veislė	Beta kazeino alelių dažniai	Šaltiniai
Turkijos pilkieji	A1 = 0,426 A2 = 0,544 B = 0,029	[86]
Airšyrai	A1 = 0,432 A2 = 0,527	[143]
Gir (Turkijos vietiniai)	A1 = 0,020 A2 = 0,980	[144]
Guzerá (Turkijos vietiniai)	A1 = 0,030 A2 = 0,970	
Lenkijos žalieji	A1 = 0,617 A2 = 0,321 B = 0,062	[119]
Danijos žalieji	A1 = 0,710	
	A2 = 0,230	
	B = 0,060	
Vokietijos žalieji	A1 = 0,628	
	A2 = 0,302	
	B = 0,057	
Estijos vietiniai	A1 = 0,318 A2 = 0,644 B = 0,038	[114]
Šiaurės Suomijos galvijai	A1 = 0,292 A2 = 0,671 B = 0,037	

1.3.3. Pieno baltymo beta laktoglobulino genetinis žymuo

Beta laktoglobulinas yra vienas pagrindinių išrūgų baltymų. Galvijų beta laktoglobulinas yra mažas tirpus baltymas, kuris yra stabilus esant pH = 2. Paprastai vyrauja kaip dimeras, sudarytas iš dviejų subvienetų, kurių kiekvieno molekulinė masė yra apie 18,4 kDa. Kiekvienas monomeras susideda iš 162 aminorūgščių liekanų su viena laisva cisteino liekana tarp dviejų disulfidinių jungčių [145, 146].

Galvijų beta laktoglobulino genas yra randamas vienuoliktojoje chromosomoje ir sudaro 4,7 kb transkripcijos vienetą, įskaitant septynis egzonus ir šešis intronus. Yra žinoma mažiausiai vienuolika šio geno genetinių variantų (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, W), bet A ir B aleliai yra dominuojantys tarp įvairių galvijų veislių (1.3.3.1 lentelė). Cheminiai skirtumai tarp šių dviejų baltymų variantų yra nulemti dviejų taškinių mutacijų koduo-

jančiame gene – pakaitos iš aspartato į gliciną 64 pozicijoje ir iš valino į alaniną 118 pozicijoje. Tyrimai atskleidė, kad beta laktoglobulino srityje esantys genetiniai variantai (A ir B) gali būti susiję su laktacijos procesu ir turi didelę įtaką pieno sudėčiai. Šie variantai taip pat turi įtakos pieno technologinėms savybėms. AA genotipas yra susijęs su didesniu pieno kiekiu.

Manoma, kad B alelis padidina kazeino baltymų kiekį. Tyrimai parodė, kad laktoglobulino BB genotipas nulemia 3 procentais daugiau kazeino kiekio nei AA genotipas, todėl iš BB genotipo karvių, iš tokio pačio pieno kiekio, galima pagaminti apie 2 proc. didesnę sūrio kiekį. Dėl šių priežasčių sūrių gamyboje yra pageidautinas BB genotipo karvių pienas [83, 146–151, 153].

1.3.3.1 lentelė. Beta laktoglobulino alelių dažniai skirtingose pieninių galvijų veislėse

Galvijų veislė	Beta laktoglobulino alelių dažniai	Šaltiniai
Holšteina	A = 0,53 B = 0,47	[154]
	A = 0,320 B = 0,680	[110]
	A = 0,480 B = 0,520	[111]
	A = 0,421 B = 0,579	[114]
	A = 0,173 B = 0,827	[155]
	A = 0,143 B = 0,857	[156]
	A = 0,51 B = 0,49	[157]
	A = 0,469 B = 0,53	[86]
	A = 0,431 B = 0,569	[158]
	A = 0,463 B = 0,537	[114]
Džersiai	A = 0,260 B = 0,720 C = 0,020	[159]
	A = 0,320 B = 0,680	[110]

1.3.3.1 lentelės tęsinys

Galvijų veislė	Beta laktoglobulino alelių dažniai	Šaltiniai
Čekijos Flekvišo	A = 0,511 B = 0,489	[83]
Urugvajaus Kreole	A = 0,494 B = 0,506	[160]
Lietuvos baltnugariai	A = 0,378 B = 0,622	[158]
Lietuvos šemieji	A = 0,551 B = 0,449	
Lietuvos žalieji	A = 0,068 B = 0,923 C = 0,009	
Lenkijos žalieji	A = 0,188 B = 0,740 C = 0,058 I = 0,014	[119]
Danijos žalieji	A = 0,110 B = 0,890	
Vokietijos žalieji	A = 0,157 B = 0,775 C = 0,068	
Estijos žalieji	A = 0,254 B = 0,746	[114]
Indijos vietiniai galvijai	A = 0,255 B = 0,745	[161]
Simentalai	A = 0,379 B = 0,621	[117]
Sahiwal (Indijos vietiniai)	A = 0,170 B = 0,830	[162]
Tharparkar (Indijos vietiniai)	A = 0,390 B = 0,610	
Estijos vietiniai	A = 0,314 B = 0,686	[114]
Vakarų Suomijos galvijai	A = 0,098 B = 0,902	
Najdi (Irano vietiniai)	A = 0,087 B = 0,912	[163]

1.4. Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genetinius žymenis

Šiuolaikinis pieninių galvijų veisimas pagrįstas tarptautinių elitinių bulių spermos panaudojimu. Kartu su plačiai naudojamomis pažangiosios reprodukcijos technologijomis, įskaitant dirbtinį apvaisinimą (DA) ir daugybinės ovuliacijos embrionų perkėlimą (DOEP), atskiri buliai visame pasaulyje naudojami kaip reprodatoriai tūkstančiams telyčių [164]. Intensyviai vystant gyvulininkystę, atskiroje gyvulių rūšyje ima vyrėti viena veislė, pavyzdžiui, tarp pieninių galvijų – Holšteinų veislė, o taikant sėklinimą toje veislėje yra naudojamas nedidelis kiekis reprodatorių. Dėl šios priežasties labai sumažėjo genetinė bioįvairovė, daugelis genų perėjo į homozigotinę būseną ir pasireiškė įvairios paveldimos genetinės ligos. Gyvuliai, nešiojantys įvairius genetinius defektus, turi būti pašalinti iš populiacijų, kad nepageidaujamo geno dažnis nepadidėtų iki kritinės ribos, kai jis pereina į homozigotinę būklę ir pradeda reikštis fenotipiškai. Jei gyvulys yra tik nepageidaujamo geno nešiotas, šis genas fenotipiškai nepasireiškia ir tyrimą galima atlikti tik genetiniais tyrimo metodais, todėl labai svarbu norint neišplakti nepageidaujamo geno, jo atžvilgiu ištirti veislinius galvijus.

Žinomi paveldimi galvijų sutrikimai dažniausiai atsiranda dėl autosominiu recesyviniu būdu paveldimų genų [165]. Autosominių recesyvinių genų būdingas bruožas yra tai, kad jie pasireiškia fenotipiškai tik tuo atveju, jei yra du pakitę aleliai. Todėl galima nepastebima mutacijas turinčių genų sklaida, o autosominiu recesyviniu būdu paveldimos ligos, kurios dažnai yra letalios, kelia didesnių rūpesčių galvijų augintojams nei sutrikimai, turintys dominuojantį paveldėjimą ar su X chromosoma susijusį recesyvinį paveldėjimą, nes jie yra lengviau atpažįstami [166].

Heterozigotiniai individai gali būti identifikuojami, kai kuriais atvejais, biocheminiais metodais, analizuojant fermentų aktyvumą kraujyje ir (arba) atliekant gyvūnų genealoginę analizę, kuri gali užtrukti gana ilgai. Molekulinės genetikos pasiekimai leidžia efektyviai ir greitai identifikuoti heterozigotinius gyvūnus atliekant genominę analizę. Žinant molekulinių ligos pagrindą, genetiniu lygmeniu tiesiogiai galima nustatyti pakitusių genų, kurie lemia genetinio sutrikimo pasireiškimą, nešiotojus, tokiu būdu užkertant kelią nepageidaujamam tolimesniam gyvūno veisimui [166].

Tarp pieninių juodmargių galvijų karvių sėklinimui visame pasaulyje plačiai naudojant tuos pačius bulius reprodaktorius, kurie pasirodė esantys recesyvinių, ligas lemiančių genų nešiotojai, išplito daugiau nei dešimt genetinių ligų, kurių dalis lemia letalią baigtį ir atneša didelius ekonominius nuostolius. Tai galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumas (BLAD), uridino monofosfato sintetazės (DUMPS) trūkumas, sunkus stuburo išsigimimas

(CVM), citrulinemija (BC), XI faktoriaus trūkumas (FXID) ir kiti [156, 166–172].

1.4.1. Galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumas

Įgimtas veršelių imunodeficitas BLAD (angl. *Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency* – galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumas) yra letalinė autosominė recesyvinė paveldima liga, pasireiškianti Holšteinų veislės veršeliams [173]. Pirmą kartą ligą diagnozavo JAV mokslininkas Marcu E. Kehrli 1990 m. [174]. Dale E. Shuster ir kiti mokslininkai nustatė sveiko galvijo geno CD18 nukleotidų seką ir mutuotą CD18 geno alelį [175]. To pačio geno mutacija nustatyta žmonėms [176] ir šunims [177]. Heterozigotiniai nešiotojai kliniškai yra sveiki, bet heterozigotiniai buliai ir karvės turi 25 proc. tikimybę atvesti homozigotinius veršelius, sergančius šia liga.

BLAD ligą lemiantis genas yra BTA1 galvijų chromosomoje. Mutacijos metu pakito genas, atsakingas už glikoproteino – beta integrino sintezę: šio geno 383-iaje nukleotide adeninas yra pakeistas guaninu. Dėl to sintetuojamas nevisavertis beta integrinas, kurio molekulės 128-oje padėtyje asparto amino rūgštis pakeista glicinu.

Šunų ir galvijų liga pradžioje buvo pavadinta chronišku granulocitopatijos sindromu. [178]. Tik vėliau buvo nustatyta ir susieta su β_2 -integrinų deficitu [174, 177]. Analogiškai žmonių ligos pavadinimo santrumpa yra LAD, šunų liga buvo pavadinta CLAD [179], o galvijų – BLAD [174]. BLAD sutrikimas lemia galvijų leukocitų sukibimo nebuvimą, dėl to sutrinka ląstelinis ir humoralinis imunitetas. Ligai būdingas leukocitų membranos paviršiuje esančio baltymo glikoproteino – heterodimerinio β_2 -integrino aktyvumo sumažėjimas. Tam, kad neutrofilai emigruotų iš kraujagyslių, būtina β_2 -integrinų sąveika su endotelio ląstelių sukibimą užtikrinančiomis ir tarp-ląstelinėje tarpe esančiomis kitų baltymų molekulėmis. Įvykus CD18 geno mutacijai, β_2 -integrinai tampa nevisaverčiais ir praranda veiklumą, nesugeba prilipti prie kraujagyslių endotelio ir nenukeliauja iš kraujagyslių į uždegiminį židinį bei nevyksta fagocitozė [175].

Tik homozigotiniai BLAD geno atžvilgiu galvijai turi klinikinius ligos požymius. Heterozigotiniai galvijai, patys nesirgdami, yra potencialūs BLAD geno platintojai populiacijoje ir didina riziką BLAD geno perėjimui į homozigotinę (letalinę) formą. Homozigotiniai mutavusio geno atžvilgiu veršeliai dažnai serga virškinamojo trakto ir kvėpavimo takų infekcinėmis ligomis. BLAD liga sergantys veršeliai gimsta mažos kūno masės, prastai auga, blogai ėda ir pasisavina pašarus, jų plaukai neblizga, lūžinėja, veršeliai būna neatsparūs infekcijoms – periodiškai serga bakterinėmis infekcijomis, enteritu, pakartotinai serga pneumonija, diarėja, opomis, laringitu,

granuliaciniu stomatitu, gingivitu, alveoliniu, periostitu, dermatomikozėmis ir odos abscesais, krūtinkaulio srities dermatitu ir edema, periferine limfadenopatija, išekimu (užauga tik 60 proc. reikiamos kūno masės), anemija, ir jei uždelsiama gydyti, dažniausiai miršta 2–3 mėnesių amžiaus [173]. Veterinarijos gydytojai gali įtarti šią ligą, nustatę neutrofiliją (40×10^3 ląst./ μ l) ir monocitozę. Tačiau jei veršelis yra tik mutavusio geno nešiotojas, jis normaliai auga ir gali turėti palikuonių. Atvesti jie gali atrodyti sveiki, kol nepasireiškia po 1–2 savaičių klinikiniai požymiai. Hematologiškai šie gyvūnai turi neutrofiliją, limfocitozę ir monocitozę. Jie taip pat turi hypoalbuminemiją, hyperglobulinemiją, žemą kreatinimą. Dalis gyvulių gali išgyventi daugiau nei dvejus metus, bet jų yra sulėtėjęs augimas ir jie kenčia nuo pasikartojančių odos, skrandžio, žarnų ir kvėpavimo takų infekcijų. Skrandžio, žarnų ir kvėpavimo takų didžioji dalis apimta nekrozės, tai mato ma atlikus lavono skrodimą.

Daugeliu atvejų buliai heterozigotiniai BLAD geno atžvilgiu buvo apibūdinami kaip turintys labai didelę veislinę vertę, atsižvelgiant į pieno kiekybinius bei kokybinius požymius, daugiausia pieno baltymų kiekį. Išsamūs tyrimai parodė sąryšį tarp geno ir kitų genomo sričių, kurios apsprendžia pageidaujamus produkcijos rezultatus [203].

1.4.2. Fermento uridino monofosfato sintazės trūkumas

Fermento uridino monofosfato sintazės trūkumas (angl. *DUMPS – deficiency of uridine monophosphate synthase*) – tai autosominė recesyvinė letalinė Holšteinų veislės galvijų liga, pasireiškianti ankstyvuojau embrionų mirtingumu [173, 180–182].

UMPS (uridino monofosfato sintazė) yra fermentas, kuris yra labai svarbus pirimidino nukleotidų sintezės metu. Jis yra būtinas norint, kad vyktų normalus atrajotojų ir kitų gyvūnų rūšių augimas ir vystymasis. Šio fermento inaktyvaciją sukelia taškinė mutacija UMPS gene (C $\rightarrow$ T), 5 egzono 405 kodone. Šis Holšteinų galvijų sutrikimas pasižymi sumažėjusiu fermento UMPS aktyvumu kraujyje [183]. DUMPS liga sukelia embrioninę mirtį ankstyvojoje veršingumo stadijoje [170] ir tai pieninių galvijų bandose sukelia daug reprodukcinių problemų [184].

Fermento uridino monofosfato trūkumą lemiantis genas yra galvijų 1 chromosomoje [180–182]. Žinduolių ląstelėse pirimidino nukleotidų sintezės paskutinė pakopa apima orotato konvertavimą į uridino monofosfato sintazę (UMP) ir yra katalizuojama UMP sintazės fermento. UMP sintazė yra būtina naujų pirimidino nukleotidų sintezei, kurie yra DNR ir RNR sudedamosios dalys. Kadangi pirimidinai yra labai reikalingi nukleorūgščių sintezei embrioninio vystymosi periodu, embrionai, kurie yra homozigoti-

niai pagal recesyvinį alelį, miršta iki 40 nėštumo dienos [185]. Embrionai dažnai yra rezorbuojami per pirmus du nėštumo mėnesius, o tokia karvė vėl rujoja. Tai lemia kur kas didesnius intervalus tarp apsiveršiavimų [181, 182, 186].

Heterozigotai galvijai yra fenotipiškai normalūs, bet pasireiškia tik pusė normalaus UMPS fermento aktyvumo, kuris savo ruožtu sukelia padidėjusį orto rūgšties kiekį jų piene ir šlapime [187]. Iki šiol nėra rasta gyvų gyvūnų, kurie būtų homozigotiniai pagal mutavusį alelį [180]. Tačiau aiškus fermento aktyvumo skirtumas tarp heterozigotinių ir homozigotinių sveikų embrionų nebuvo pastebėtas. Akivaizdu, kad fermento aktyvumą gali paveikti ir kiti veiksniai nei taškinė mutacija, kuri sukelia DUMPS [185].

DUMPS atradimas buvo netikėtas, tai įvyko, kai buvo atliekami moksliniai tyrimai analizuojant orto rūgšties kiekį karvės piene. Orto rūgštis (6-karboksiuracilas) yra tarpinis junginys pirimidino nukleotidų biosintezės metu ir yra normali karvių bei kitų atrajotojų pieno sudedamoji dalis. Iliojaus universitete (JAV) nagrinėjant šėrimo įtaką bei laktacijos stadijas buvo pastebėta, kad keletas pieninių karvių duoda pieną su nuo penkių iki dešimties kartų aukštesne orto rūgšties koncentracija nei įprastai. Šis orto rūgšties kiekio padidėjimas buvo nustatytas visose laktacijos stadijose ir taip pat keliose laktacijose iš eilės. Tolesni tyrimai parodė, kad orto rūgšties kiekis taip pat buvo pakilęs tiek kraujyje, tiek gyvūnų šlapime, kai jie laktavo. Buvo iškelta hipotezė, kad šiems gyvūnams trūko uridino monofosfato (UMP) sintazės, fermento, kuris metabolizuoja orto rūgštį. Jei yra fermento deficitas, tuomet kaupiasi orto rūgštis. Ištyrus keturias karves su aukščiausiu piene orto rūgšties kiekiu, nustatyta pusė įprasto jų eritrocituose UMP sintazės aktyvumo. Šie gyvūnai turėjo bendrą protėvį, ir atrodo, jog jis perdavė šią būklę daliai savo palikuonių. Atlikti tyrimai patvirtino, kad šie gyvūnai buvo heterozigotiniai letalaus susirgimo atžvilgiu [188].

1.4.3. Sunkus stuburo išsigimimas

Sunkus stuburo išsigimimas (angl. *CVM – Complex Vertebral Malformation*) – tai autosominė recesyvinė Holšteinų veislės galvijų paveldima liga, pasireiškianti sunkiais stuburo išsigimimais. Sindromas pirmą kartą identifikuotas 2000 m. Danijos Holšteinų veislės populiacijoje [167, 168, 186]. Liga taip pat nustatyta galvijų Wagyu veislėje [190]. Pagrindinis galvijų protėvis, turėjęs šią mutaciją, buvo Carlin-M Ivanhoe Bell [191].

Sunkus stuburo išsigimimas (CVM) yra nustatytas tiek abortuotiems vaisiams, tiek ir per anksti gimusiems, negyviems veršeliams. Paveikti veršeliai turi nugarkaulių stuburo anomalijas, tokias kaip nevysiškai išsivystęs, susisukęs ar neįprastos formos stuburas ir šonkauliai, skoliozė ir nugarkau-

lio sinostožę. Taip pat pastebėtas mažas kūno svoris ir širdies anomalijos [192]. Tokie veršeliai turi sutrumpėjusias stuburo ir krūtinės sritis, abiejų pusių simetriškas metatarsofalango jungčių susitraukimą ir simetrišką artrogripozę [167].

Sunkų stuburo išsigimimą (CVM) sukelia taškinė mutacija iš guanino į timino nukleotidą galvijų trečiosios chromosomos 559 pozicijoje, SLC35A3 gene. Ši mutacija pakeičia aminorūgščių seką – vietoj valino susidaro fenilalaninas, 180 baltymo uridino 5'-difosfato-N-acetilgliukozamino vietoje [189]. Šis genas yra atsakingas už UDP-N-acetilgliukozamino transportavimą į Goldžio aparato membraną [193].

80 proc. embrionų, paveldėjusių CVM ligą lemiantį mutavusį geną iš abiejų tėvų, bus prarandami per pirmuosius tris veršingumo mėnesius. Abortuotas CVM sergantis veršelis dėl stuburo pažeidimo turės sutrumpėjusį kaklą, taip pat pakitusius šonkaulius, galūnes ir tarpšonkaulines jungtis [173]. Papildomai gali pasireikšti tokie požymiai kaip dalinė plaučių hipoplazija, per didelė kepenų segmentacija, dviguba tulžies pūslė, tiesiosios žarnos ir gimdos atreziją [194]. Heterozigotiniai galvijai yra geno nešiotojai.

Jei karvės ir buliai, turintys CVM ligą lemiantį geną, nebus naudojami veisimui, šis genas gali būti sėkmingai pašalintas iš galvijų populiacijos tokiu pačiu būdu, kaip ir galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumo genas. Tačiau jei ligą lemiantis genas yra susijęs su tokiais požymiais kaip, pvz., didelis pieno kiekis Holšteinų veislės galvijams, pašalinus mutavusį geną, gali būti pašalinti ir su juo susiję išskirtiniai požymiai [195].

2. TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI

2.1. Tyrimų medžiaga

2.1.1. Tiriamosios grupės sudarymas

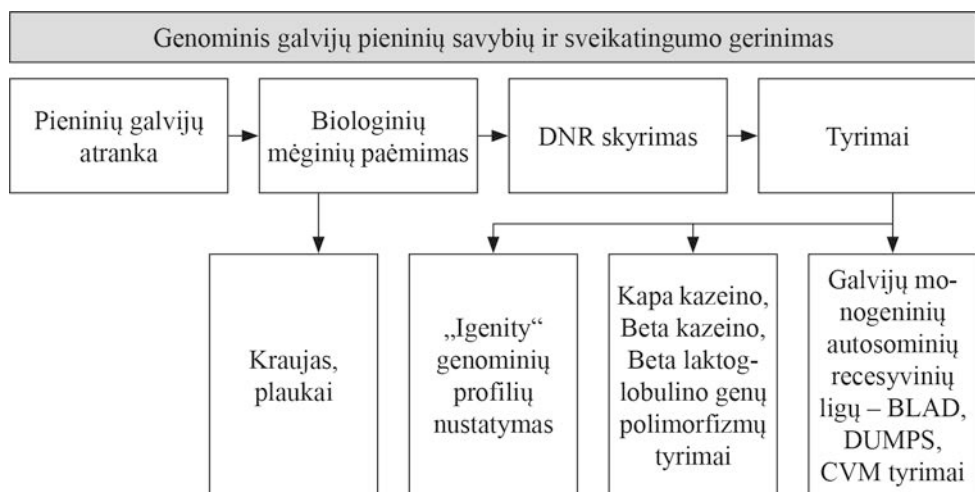
Galvijai tyrimams buvo atrinkti pieninių galvijų bandose, kuriose vykdoma veislininkystės apskaita ir galvijų produktyvumo kontrolė. Ūkiai yra keturiuose skirtinguose Lietuvos regionuose. Kiekvienoje pieninių galvijų bandoje atrinkta po 50 negiminingų (įvertinus kilmės dokumentus) galvijų – karvių ir telyčių. Taip pat beta kazeino A1 ir A2 alelių polimorfizmui įvertinti papildomai buvo atrinkti galvijai iš genofondinių pieninių galvijų veislių: Lietuvos šėmųjų – 32 ir Lietuvos baltnugarių – 34 galvijai. Galvijai buvo sveiki, laikomi ir šeriami pagal higienos normas, laikymo ir šėrimo sąlygos atitiko veterinarinius reikalavimus.

Tyrimai atlikti laikantis Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymo bei poįstatyminių aktų (1997 m. lapkričio 6 d. Nr. VIII-500).

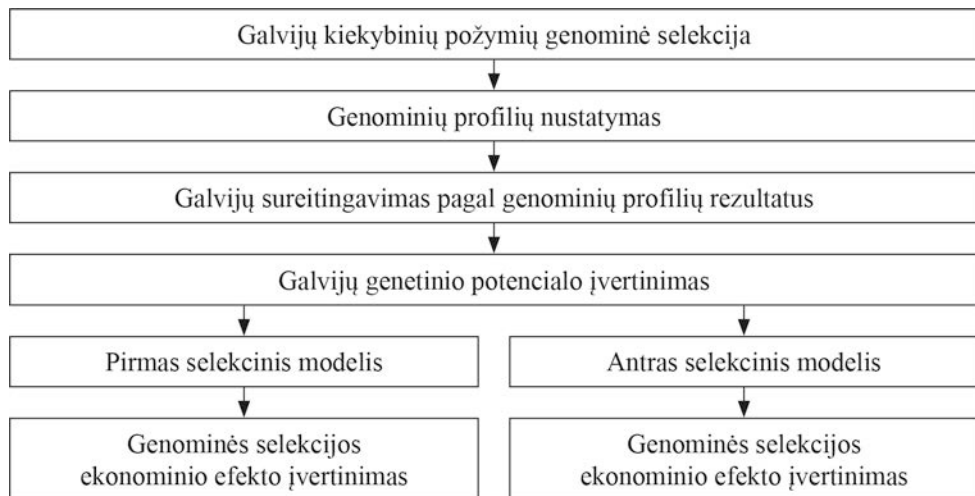
Kiekvienam tiriamajam galvijui suteiktas individualus numeris, sudarytas iš skaičiaus ir raidės, nurodančios bandą. Individualus numeris buvo naudojamas visose sudarytose duomenų bazėse. Sudarytos šios duomenų bazės:

1. Galvijų duomenų suvestinė, kurioje yra duomenys apie tiriamojo galvijo individualų numerį, ID, veislę, lytį, gimimo datą, laikytoją, kūno dangos spalvą. Informacija surinkta iš galvijų laikytojų.
2. Galvijų kilmės duomenų suvestinė, kurioje yra duomenys apie tiriamojo galvijo individualų numerį, ID, motinos ID, produktyvumo duomenys, tėvo ID, produktyvumo duomenys. Informacija surinkta iš galvijų laikytojų.
3. „Igenity“ pieninių galvijų genominių profilių suvestinė, kurioje yra duomenys apie tirtųjų produktyviųjų požymių genominius balus – pieno kiekio, baltymų kiekio, kg ir proc., riebalų kiekio, kg ir proc., somatinių ląstelių skaičiaus, produktyvaus amžiaus, pieninės formos.
4. Galvijų pieno baltymų polimorfizmų suvestinė, kurioje yra kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genų tyrimų rezultatai.
5. Galvijų paveldimų ligų suvestinė – kurioje yra BLAD, DUMPS ir CVM genetinių ligų tyrimų rezultatai.

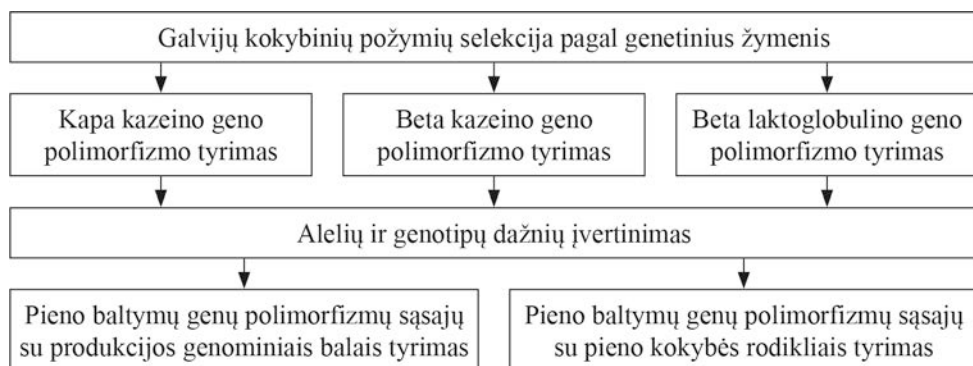
Tyrimai buvo atliekami pagal pateiktą schemą (2.1.1.1– 2.1.1.4 pav.).



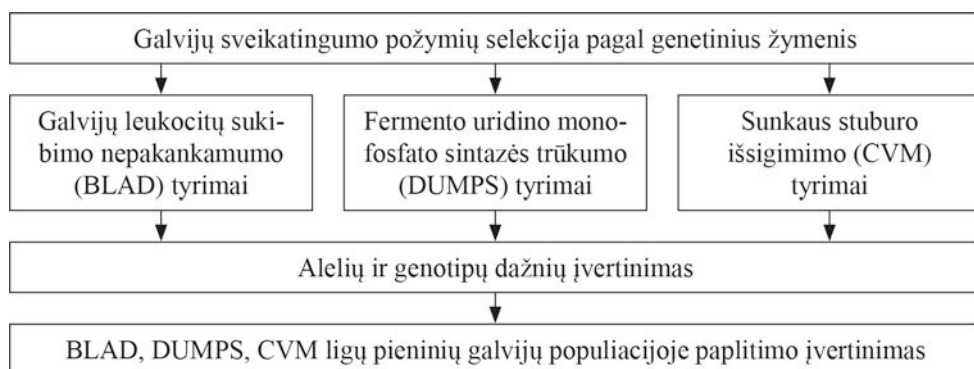
2.1.1.1 pav. Tyrimų atlikimo schema



2.1.1.2 pav. Tyrimų pirmasis etapas



2.1.1.3 pav. Tyrimų antrasis etapas



2.1.1.4 pav. Tyrimų trečiasis etapas

2.1.2. Biologinių mėginių paėmimas

Kraujas genetiniams tyrimams buvo imtas aseptinėmis sąlygomis iš *v. cephalica* į vakuuminius mėgintuvėlius (Vacutainer) su K₂EDTA (etilendiamino tetraacetatu) antikoaguliantu apdorotą mėgintuvėlį. Mėgintuvėliai sužymėti. Užpildytas duomenų lydraštis. Kraujas iki tyrimo buvo laikomas +4 °C temperatūroje.

Plaukai genetiniams tyrimams (su svogūnėliais) buvo pešami gyvuliui iš uodegos, 10–20 vnt., dedami į specialius maišelius ir sužymimi. Užpildomas duomenų lydraštis.

2.2. Tyrimų metodai

2.2.1. DNR išskyrimas iš plauko svogūnėlio ląstelių

Įranga. Maišyklė „Vortex-gene2“ (Scientific industries, JAV), centrifuga „Microcentaur“ (Sanyo, Jungtinė Karalystė), automatinės pipetės „Eppendorf Research“ 100–1000 μ l, 10–100 μ l, 0,5–10 μ l (Eppendorf AG, Vokietija), atgaliai automatinėms pipetėms 100–1000 μ l, 10–100 μ l, 0,5–10 μ l, 2 ml mėgintuvėliai, termostatas „Binder“ (WTC Binder, Vokietija).

Reagentai. Chelex (Sigma, JAV), proteinazė K 600 U/mL („Thermo Fisher Scientific“, Lietuva), Dithiotreitolis (DTT) (Invitrogen, JAV).

Metodika. Pagal N. Pečiulaitienę [196]. Nukerpami 4–5 plaukų svogūnėliai ir įdedami į 2 ml mėgintuvėlius. Paruošiamas lizavimo mišinys (DTT – 7,5 μ l, Chelex – 200 μ l, Proteinazės K (20 mg/ml) – 10,7 μ l). Mėgintuvėlio turinys užpilamas lizavimo mišiniu (vienam pavyzdžiui imama 218,2 μ l paruošto mišinio). Mėgintuvėliai 30 s maišomi maišyklės „Vortex“ pagalba. Centrifuguojami 10 s 13 500 aps./min. greičiu. Mėginiai 45 min. inkubuojami 56 °C temperatūroje. Po inkubacijos mėginiai 10 min. kaitinami 94 °C temperatūroje ir atšaldomi iki kambario temperatūros.

2.2.2. DNR išskyrimas iš kraujo leukocitų druskiniu metodu

Įranga. Maišytuvas su reguliuojama temperatūra „Eppendorf Thermomixer Comfort“ (Eppendorf AG, Vokietija), Centrifuga „Microcentaur“ (Sanyo, Jungtinė Karalystė), reguliuojamos temperatūros centrifuga „Universal 32 R“ (Hettich, Vokietija), magnetinė maišyklė (IKA labortechnik, Vokietija), automatinės pipetės „Eppendorf Research“ 100–1000 μ l, 10–100 μ l, 0,5–10 μ l (Eppendorf AG, Vokietija), atgaliai automatinėms pipetėms 100–1000 μ l, 10–100 μ l, 0,5–10 μ l, 50 ml kūginiai centrifugavimo mėgintuvėliai, 2 ml mėgintuvėliai, termostatas „Binder“ (WTC Binder, Vokietija), šaldytuvas (Snaigė, Lietuva), svarstyklės (KERN and Sohn GMBH, Vokietija), pH metras (Proline plus, Kinija).

Reagentai. TE (Tris – EDTA) buferis (ThermoScientific, Lietuva), proteinazė K 600 U/mL („Thermo Fisher Scientific“, Lietuva), 6 M Natrio chloridas (NaCl) M = 58,44 g/mol (Carl Roth GmbH + Co, Vokietija). Lysis I buferis (sudėtis – 155 mM M = 53,49 g/mol NH_4Cl (Carl Roth GmbH + Co, Vokietija), 10 mM KHCO_3 (Sigma Chemical CO, JAV), 1 mM EDTA (Sigma Chemical CO, JAV), pH 7,4). Lysis II buferis (sudėtis – 10 mM M = 157,6 Tris HCl (Carl Roth GmbH + Co, Vokietija), 400 mM NaCl M = 58,44 g/mol (Carl Roth GmbH + Co, Vokietija), 2 mM EDTA (Sigma Chemical CO, JAV)). Laurilsulfatas (SDS) ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$) M = 288,38 g/mol

(Carl Roth GmbH + Co, Vokietija), 96 proc. etilo alkoholis (AB „Stumbras“, Lietuva), chloroformas 99,9 proc.

Metodika. Pagal Miller *et al.* [197]. Į 50 ml mėgintuvėlius įpilama po 10 ml periferinio kraujo ir užpilama šalto Lysis I buferio iki 35 ml, mėgintuvėlių turinys sumaišomas vartant. Įdedama į šaldytuvą 30 min. Centrifuguojama 15 min. 4 °C temperatūroje 3000 aps./min. greičiu. Atsargiai nupilamas skystis ir paliekamos tik nuosėdos. Plovimas kartojamas 2–3 kartus. Ant nuosėdų užpilama 6 ml Lysis II, 400 µl 10 proc. SDS ir 30 µl proteinizės K, gerai išmaišoma. Inkubuojama termostate 16 valandų, 37 °C. 1 valandai mėginiai inkubuojami prie 55 °C. Pridedama 2 ml NaCl, išmaišoma. Traukos spintoje įpilama 2 ml chloroformo, išmaišoma. Centrifuguojama 20 min. 16 °C temperatūroje 3200 aps./min. greičiu. Į 2 ml mėgintuvėlius įpilama po 1 ml 70° etanolio ir dedama į šaldytuvą. Po centrifugavimo viršutinis sluoksnis atsargiai nusiurbiamas į 50 ml mėgintuvėlius. Pilama 1:1 96° etanolio, atsargiai pavartoma, ir matomi susirišantys DNR siūlus. Su steriliu antgaliu nusiurbiami DNR siūlai į 2 ml mėgintuvėlius su 70° etanolio. 1–2 min. dedama į mažąją centrifugą. 14 680 aps. Atsargiai nupilamas etanolis, paliekama tik DNR, nusausinama, dedama į maišytuvą su reguliuojama temperatūra, įkaitinta iki 37 °C, kad išgaruotų likęs etanolis. Įpilama 300 µl 1×TE buferio ir paliekama kambario temperatūroje, kad ištirptų DNR. Po 24 val. matuojama DNR koncentracija.

2.2.3. DNR švarumo ir koncentracijos nustatymas

Įranga. Spektrofotometras (DNA/RNA Reader, Pharmacia). Automatinės pipetės „Eppendorf Research“ 10–100 µl, (Eppendorf AG, Vokietija). Antgaliai automatinėms pipetėms 10–100 µl.

Metodika. Genominės DNR kiekis ir grynumas nustatomas spektrofotometrinio metodo pagalba. Tam tikslui paruošiamas 100 µl skiestos DNR tirpalas: imama 10 µl koncentruotos DNR ir skiedžiama su 90 µl distiliuoto vandens. DNR kiekis nustatomas išmatuojant skiesto tirpalo optinį tankį (OD) prie 260 nm bangų ilgio. DNR kokybė įvertinama išmatavus skiesto tirpalo optinius tankius prie 260 ir 280 nm bangos ilgių. Švarumą rodo santykis OD260/OD280. Švorių DNR tirpalų santykis yra 1,8–2,0. Jei tirpale yra baltymų ar fenolio priemaišų, šis santykis bus mažesnis nei nurodyta. Baltymų koncentracija neturi viršyti 0,5 mg/ml ribos.

2.2.4. Kiekybinių požymių genominė selekcija

2.2.4.1. Pieninių galvijų genominio profilio nustatymas

Pieninių galvijų ūkinių požymių genetinio potencialo įvertinimui buvo atlikta genominė analizė naudojant patentuotą galvijų VNP mikrogardelę „Igenity SNP panel“. Tyrimas atliktas Neogen Genomics korporacijos laboratorijoje (JAV). Iš viso ištirta 72 000 VNP. Referentinių pieninių galvijų populiaciją, kurios yra ištirti genotipai ir susieti su ūkinių požymių fenotipais, sudaro 5 000–6 000 galvijų (www.igenity.com) [198].

1. Kiekvienam galvijui ištirta 360 vieno nuleotido polimorfizmų (VNP), apimančių visą galvijų genomą, siejamų su pieningumo, pieno baltymingumo, pieno baltymų kiekio, riebumo, pieno riebalų kiekio, somatinių ląstelių kiekio, pieninės formos ir produktyvaus amžiaus fenotipais.
2. Galvijo VNP informacija (genotipas) buvo palyginta su referentinių galvijų VNP duomenų baze.
3. Nustatytos koreliacijos tarp tiriamojo galvijo VNP ir referentinių galvijų VNP duomenų.
4. Kadangi yra žinomos sąsajos tarp referentinės populiacijos galvijų VNP ir fenotipų, buvo identifikuotos sąsajos tarp tiriamojo galvijo VNP ir referentinės populiacijos fenotipų.
5. Kiekvieno tirtojo galvijo VNP informacija išreikšta genominais balais, rodančiais galvijo genetinį potencialą atskiriems požymiams pasireikšti.
6. Kiekvienam tirtajam galvijui sudarytas „Igenity“ pieninio galvijo genominis profilis. „Igenity“ pieninio galvijo genominis profilis parodo genetiškai numatomas požymių vertes, naudojantis genominais balais nuo 1 iki 10. Galvijo aukščiausias balas parodo geriausią genominę vertę ir didžiausią genetinį potencialą tam tikram požymiui pasireikšti.

Pieninių galvijų genominių profilių sudaro:

Produktyvumo savybių genominiai žymenys. DNR profilis skaičiuoja pieningumo, pieno riebumo ir baltymingumo balus, panaudojant daugybinius DNR žymenis. Žymenys atpažįsta tuos pieningumo, pieno riebumo ir baltymingumo genetinius variantus, kurie nemažina vaisingumo. Šie kombinuoti rezultatai duoda geresnę informaciją apie gyvulio produktyvumo genetinį potencialą. Genominių žymenų ribos yra 10 balų – aukščiausia genominė vertė, palyginti su referentiniu juodmargių galvijų veislės vidurkiu, 1 balas – žemiausia genominė vertė.

Produktyvaus amžiaus genominis žymuo. Yra daug genetinių ir aplinkos veiksnių, kurie veikia karvių amžių. Du geri ilgaamžiškumo indikato-

riai yra produktyvus amžius ir pieninė forma. Šių veiksmų įtaka gerai dokumentuota, bet selekcijos efektas pagerinti ilgaamžiškumą buvo mažas dėl daugelio priežasčių, pirmiausia todėl, kad ši požymių gyvulio gyvenime galima įvertinti tik vėlai. Produktyvaus amžiaus analizė genominiame profilyje naudoja daugybę genetinių žymenų, kad būtų galima įvertinti gyvulio produktyvaus amžiaus genetinį potencialą, todėl ši požymių, naudojant genominę selekciją, galima įvertinti ankstyvajame galvijo amžiuje.

Somatinių ląstelių kiekio (SLK) piene genominis žymuo. Somatinių ląstelių kiekis piene yra potencialus mastito indikatorius. Kadangi genominis profilis gali būti ištirtas bet kuriame gyvulio amžiuje, genomio profilio informacija apie somatinių ląstelių žymenį gali būti panaudota identifikuojant telyčias ir veršelius, kurie yra jautrūs mastitams, dar prieš naudojant juos produkcijos gavimui ar veisimui. Galvijai, gaunantis 10 balų už SLK, potencialiai turės didesnę somatinių ląstelių kiekį ir bus jautresnis mastitams nei galvijai, turintis vertinimą 1.

Pieninės formos genominis žymuo. Pieninė forma apibūdina sveikatingumo rodiklius. Tyrimai rodo, kad karvės, kurios turi aukštą pieninės formos vertinimą, yra jautresnės metabolinėms, reprodukcinėms ir sąnarių bei nagų problemoms. Pieninė forma yra glaudžiai susijusi su produktyviuoju amžiumi, ypač per reprodukcijos savybes. Galvijai, kurie gauna 10 balų iš pieninės formos, kaip dalies pieninio galvijo genomio profilio, turi žemą pieninės formos vertinimą.

2.2.4.2. Galvijų genetinio potencialo įvertinimas

1. Galvijų pasiskirstymo pagal genominius balus analizė.
2. Galvijų genetinio potencialo palyginimas su „Igenity“ duomenų bazėje esančių galvijų genetiniu potencialu „Benchmark „Igenity““ programine įranga (www.igenity.com). Ši programinė įranga leidžia įvertinti galvijų grupės, bandos, veislės vietą tarp daugiau nei pusės milijono „Igenity“ duomenų bazėje esančių galvijų pagal genominę informaciją.
3. Galvijų reitingavimas ir atrinkimas pagal genominę informaciją „Igenity“ Custom programine įranga (www.igenity.com). Ši programinė įranga leidžia pritaikyti prioritetų filtrą, parodantį selekcijos kryptingumą ir intensyvumą, požymiams, išreikštiems genominais balais. Selekcijos kryptingumas buvo išreikštas parenkant selekcionuojamuosius požymius, o intensyvumas – pritaikant skirtingas reikšmes procentais selekcionuojamiesiems požymiams.

Kiekvienam individui buvo apskaičiuotas vidutinis genominiis balas, varijuojantis skalėje nuo 1 iki 10. Šis procesas leido įvertinti galvijas pagal požymius, kurie buvo pasirinkti kaip svarbiausi selekcijos tikslui pasiekti.

Pirmas selekcijos modelis – skaičiavimai atlikti visai galvijų grupei, atskirai karvėms ir telyčioms. Suteiktas 100 proc. reikšmingumas pieno kiekio požymiui, 0 proc. riebalų kiekiui, 0 proc. pieno riebumui, 0 proc. baltymų kiekiui, 0 proc. pieno baltymingumui, 0 proc. produktyvaus amžiaus ilgumui, 0 proc. somatinių ląstelių skaičiui ir 0 proc. pieninei formai. 30 proc. žemo genetinio potencialo pagal pieninių galvijų požymius karvių pakeista 30 proc. telyčių, gavusių aukštus genominius balus, t. y. turinčių didelį genetinį potencialą požymiui pasireikšti. Buvo pritaikyti pirmo selekcijos modelio reikšmingumai procentais selekcionuojamiems požymiams.

Antras selekcijos modelis – skaičiavimai atlikti visai galvijų grupei, atskirai karvėms ir telyčioms. Suteiktas 25 proc. reikšmingumas pieno kiekiui, kg, 15 proc. pieno riebumui, 15 proc. pieno baltymingumui, 15 proc. produktyviam gyvenimui, 15 proc. somatinių ląstelių skaičiui ir 15 proc. pieninei formai. 30 proc. žemo genetinio potencialo pagal pieninių galvijų požymius karvių pakeitė 30 proc. telyčių, gavusių aukštus genominius balus, t. y. turinčių didelį genetinį potencialą požymio pasireiškimui. Buvo pritaikyti antro selekcijos modelio reikšmingumai procentais selekcionuojamiems požymiams.

2.2.4.3. Genominės selekcijos ekonominio efekto įvertinimas

Genominiai balai „Igenity Custom“ programine įranga (www.igenity.com) buvo paversti kiekvienam požymiui į tikruosius fenotipinių požymių rodiklius – pieno kiekio genominiai balai į kilogramus, pieno baltymingumo į procentus, pieno baltymų kiekio į kilogramus, pieno riebumo į procentus, pieno riebalų kiekio į kilogramus, somatinių ląstelių kiekis į tūkst./ml, produktyvus amžius į mėnesius. Fenotipinių požymių rodikliai parodė kiek pridėtinės vertės gali duoti kiekvienas galvijas. Gyvulių genominiis potencialas ir pridėtinė genominė vertė išreikšta fenotipinių požymių rodiklių vertėmis buvo perskaiciuota į eurus ir įvertintas genominės selekcijos ekonominis efektas.

2.2.5. Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genetinius žymenis

2.2.5.1. Kapa kazeino geno tyrimo metodika

Kapa kazeino genotipavimas atliekamas PGR-RFIP metodu [199].

PGR reakcija atliekama termocikleriu (G-storm, Jungtinė Karalystė). PGR mišinys sudarytas iš 12 µl ddH₂O, 5 µl 10×PGR buferio, 2,5 µl dNTP (2 mM), 3 µl MgCl₂ (50 mM), 2,5 µl CSN3 1 (20 pmol), 2,5 µl CSN3 2 (20 pmol), 0,5 µl BSA, 2 µl *Taq* (1U/ml) polimerazės (Thermo Scientific, Lietuva) (2.2.5.1.1 lentelė).

2.2.5.1.1 lentelė. Pieno baltymo kapa kazeino geno polimorfizmo identifikavimo pradmenys, PGR sąlygos, PGR produkto dydis ir restrikcijos fermentai

Pieno baltymas	Pradmuo	PGR sąlygos			PGR produkto dydis	Karpy-mo fermentas
Kapa kazeinas	CSN3 1 -5' - AGCGCTGTGAGAAAGATG – 3' CSN3 2- 5' - GTGCAACAACACTGGTAT – 3'	94 °C	3 min.		935 bp	<i>HindIII</i>
		94 °C	30 s	30 ciklų		<i>HaeIII</i>
		58 °C	30 s			
		72 °C	30 s			
		72 °C	5 min.			

PGR produktas karpomas panaudojant *HaeIII*/*HindIII* (Thermo Scientific, Lietuva) endonukleazes. 20 µl PGR produkto karpoma su 10,5 µl mišiniu (8 µl ddH₂O, 2 µl 10×Mbuf., 0,5 µl. *HaeIII*/*HindIII* (aleliams A, B, E išskirti). Paliekama termostate nakčiai (15 val.) 37 °C temperatūroje (2.2.5.1.2 lentelė).

2.2.5.1.2 lentelė. Kapa kazeino geno PGR fragmentų dydžiai po karpymo restrikcijos endonukleazėmis, bp.

Genotipas	Karpymo endonukleazės, fragmentų dydis, bp	
	<i>HindIII</i>	<i>HaeIII</i>
A/A	935	641 + 294
A/B	935 + 520 + 415	641 + 294
A/E	935	641 + 496 + 294 + 145
B/B	520 + 415	641 + 294
B/E	935 + 520 + 415	641 + 496 + 294 + 145
E/E	935	496 + 294 + 145

Kapa kazeino genotipai nustatomi panaudojant karpytą PGR produktą elektroforezės būdu, jį frakcionuojant 3 proc. agarozės gelyje, 100 V 50 min. ir analizuojant UV šviesoje (bangos ilgis 300 nm) Mini Bis Pro vaizdo dokumentavimo prietaisu (Herolab).

2.2.5.2. Beta kazeino geno tyrimo metodika

Galvijų beta kazeino geno A1 ir A2 variantai nustatomi aleliams specifinių oligonukleotidų polimerazės grandininė reakcija (ASO-PGR) [138].

PGR reakcija atliekama termocikleriu (G-storm, Jungtinė Karalystė). PGR mišinys sudaromas iš 2,5 µl tiesioginio ir atvirkštinio pradmenų (biomers.net), 2,5 µl buferio (10X DreamTaq Green Buffer (su 20 mM MgCl₂) 1,25 ml; Thermo Scientific), 2,5 µl dNTP (dNTP Mix, Thermo Scientific), 4,75 µl vandens be RNazių (be nukleazių, Thermo Scientific), 0,25 µl *Taq* polimerazės (DreamTaq DNA Polymerase 5 U/µl; Thermo Scientific) ir tiriamosios DNR (2.2.5.2.1 lentelė). Kiekvienam aleliui nustatyti vykdoma atskira reakcija. Į mėgintuvėlį pilama 10 µl DNR ir 15 µl PGR mišinio. Reakcija atlikama pagal šias sąlygas (2.2.5.2.2 lentelė).

2.2.5.2.1 lentelė. *Pieno baltymo beta kazeino A1 ir A2 alelių polimorfizmo identifikavimo pradmenys*

Variantas	Kryptis	Pradmuo
A1	Tiesioginis	5'-TCCCTTCCCTGGGCCCATCCA-3'
	Atvirkštinis	5'-TCAGTGAGAGTCAGGCTCTGG-3'
A2	Tiesioginis	5'-TCCCTTCCCTGGGCCCATCCC-3'
	Atvirkštinis	5'-TCAGTGAGAGTCAGGCTCTGG-3'

2.2.5.2.2 lentelė. *Pieno baltymo beta kazeino polimorfizmui nustatyti PGR sąlygos, PGR produkto dydis*

Pieno baltymas	PGR profilis			PGR produkto dydis
Beta kazeinas	95 °C	2 min.		208 bp
	95 °C	30 s	35 ciklai	
	64 °C	30 s		
	72 °C	30 s		
	72 °C	7 min.		

PGR produktas frakcionuojamas elektroforezės (CS-300V Cleaver; Scientific Ltd) būdu 2 proc. agarozės 1X TAE gelyje, dažomas etidžio bromidu, 100 V 45 min. Atsiskyrę fragmentai analizuojami UV šviesoje „MiniBIS Pro“ (Herolab) vaizdo dokumentavimo prietaisu.

2.2.5.3. Beta laktoglobulino geno tyrimo metodika

Beta laktoglobulino genetinių variantų nustatymas atliekamas PGR-RFIP metodu [200].

PGR reakcija atliekama termocikleriu (G-storm, Jungtinė Karalystė). PGR mišinys sudarytas iš 4,95 µl ddH₂O, 2,5 µl 10xPGR buferio, 2 µl dNTP (2 mM), 2 µl MgCl₂ (50 mM), 1,5 µl BLg 2, 1,5 µl BLg 3, 0,25 µl BSA, 0,3 µl *Taq* (1U/ml) polimerazės (MBI Fermentas, Lietuva). PGR produkto karpymas atliktamas su *HaeIII* (MBI fermentas, Lietuva) endonukleaze. 10 µl PGR produkto karpoma su 10,5 µl mišiniu (8 µl ddH₂O, 2 µl 10xMbuf., 0,5 µl *HaeIII* (MBI fermentas, Lietuva) (aleliams A ir B išskirti). Paliekama termostate nakčiai (15 val.) 37 °C temperatūroje (2.2.5.3.1 lentelė).

2.2.5.3.1 lentelė. *Pieno baltymo beta laktoglobulino polimorfizmo identifikavimo pradmenys, PGR sąlygos, PGR produkto dydis ir karpymo fermentas*

Pieno baltymas	Pradmenys	PGR profilis			PGR produkto dydis	Karpymo fermentas
Beta laktoglobulinas	JBLG 2: 5'- TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G-3' JBLG 3: 5'- GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT-3'	94 °C	3 min.		247 bp	<i>HaeIII</i>
		94 °C	40 s	35 ciklai		
		58 °C	50 s			
		72 °C	50 s			
		73 °C	5 min.			

Karpytas PGR produktas frakcionuojamas elektroforezės metodu 4 proc. agarozės (ThermoFisher Scientific Baltics) gelyje, 100 V 50 min. ir analizuojamas panaudojant UV spinduliuotę (bangos ilgis 300 nm), su „MiniBisPro“ videodokumentavimo sistema (Herolab) (2.2.5.3.2 lentelė).

2.2.5.3.2 lentelė. *Beta laktoglobulina, koduojančio geno PGR fragmentų dydis po karpymo endonukleaze*

Genotipas	Karpymo fermentas, fragmento dydis, bp
	<i>HaeIII</i>
A/A	148 + 99
A/B	74 + 74 + 99 + 99 + 148
B/B	74 + 74 + 99

2.2.6. Pieno sudėties ir kokybės tyrimai

Mėginių ėmimas

Žalio pieno mėginiai tyrimams buvo imti vakarinio melžimo metu po 50 ml pagal pieno mėginių ėmimo taisykles (LST EN ISO 707:1999+P:2003 Pienas ir pieno produktai. Mėginių ėmimo taisyklės). Pieno sudėties ir kokybės tyrimai atlikti VĮ „Pieno tyrimai“.

Pieno sudėčiai ir kokybei įvertinti mėginiai buvo surenkami iš specialios taros, kurioje surenkamas maišytas viso melžimo nustatytas pieno kiekis iš individualios karvės. Žalio pieno mėginiai konservuojami „Sedupolo“ tabletėmis (kiekvienoje tabletėje yra 8 mg bronopolo ir 0,3 mg natamicino). Įdėjus konservanto, pienas gerai išmaišytas. Konservuoti pieno mėginiai specialiuose konteineriuose, esant ne aukštesnei kaip 6–8 °C temperatūrai, per dvi valandas pristatyti tyrimams į laboratoriją.

Pieno baltymingumo, kazeino kiekio piene ir somatinių ląstelių kiekio piene tyrimai

Pieno baltymingumas nustatytas matuokliu Lactoscope, remiantis tiriamojo komponento specifinio vidutinių infraraudonųjų spindulių bangų ilgio absorbcijos matavimu (tarptautinis standartas LST ISO 9622:2000). Pieno baltymingumas išreiškiamas procentais.

Somatinių ląstelių skaičius nustatytas tėkmės citometrijos metodu matuokliu Somascope (tarptautinis standartas LST EN ISO 13366-2:2006+AC:2007). Somatinių ląstelių skaičius piene išreiškiamas tūkst.ląst./ml.

Kazeino kiekis nustatytas pamatiniu metodu (tarptautinis standartas LST EN ISO 8968-2:2002), skirtu azoto kiekiui piene nustatyti. Kazeino kiekis piene išreiškiamas g /100 g pieno.

2.2.7. Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genetinius žymenis

Galvijų BLAD, DUMPS ir CVM ligas lemiančių genų polimorfizmo tyrimai atlikti „Neogen Genomics“ korporacijos laboratorijoje (JAV).

2.2.7.1. Galvijų BLAD ligą lemiančios mutacijos c.383 A→G CD18 gene tyrimo metodika

BLAD liga nulemta taškinės mutacijos, kuri įvyko CD18 gene. Galvijų pirmojoje chromosomoje CD18 gene pakitusiame alelyje yra nustatyta vienos bazės pakaita 383 pozicijoje iš adenino į guaniną. Galvijų BLAD ligą

lemiančių alelių nustatymas buvo atliktas PGR-RFIP metodu [201]. Mutuoto alelio identifikavimui naudoti pradmenys:

pirminis 5' GAATAGGCATCCTGCATCATATCCACCA 3'

atvirkštinis 5' CTTGGGGTTTCAGGGGAAGATGGAGTAG 3'.

Jeigu galvijas turi du mutuotus alelius, jo genotipas žymimas BL/BL.

Toks galvijas yra sergantis.

Jeigu galvijas turi vieną mutuotą alelį, jo genotipas žymimas BL/TL.

Toks galvijas yra nesergantis, o mutuoto alelio nešiotojas ir platintojas.

Jeigu galvijas neturi mutuotų alelių, jo genotipas žymimas TL/TL. Toks galvijas yra sveikas.

2.2.7.2. Galvijų DUMPS ligą lemiančios mutacijos c.405 C→T UMPS gene tyrimo metodika

DUMPS liga nulemta taškinės mutacijos, kuri įvyko UMPS gene. Galvijų pirmojoje chromosomoje UMPS gene pakitusiame alelyje yra nustatyta vienos bazės pakaita 405 pozicijoje iš citozino į timiną. Galvijų DUMPS ligą lemiančių alelių nustatymas buvo atliktas PGR-RFIP metodu [202]. Mutuoto alelio identifikavimui naudoti pradmenys:

pirminis 5' GCAAATGGCTGAAGAACATTCTG 3'

atvirkštinis 5' GCTTCTAACTGAACCTCGAGT 3'.

Jeigu galvijas turi du mutuotus alelius, jo genotipas žymimas DP/DP.

Toks galvijas yra sergantis.

Jeigu galvijas turi vieną mutuotą alelį, jo genotipas žymimas DP/TD.

Toks galvijas nesergantis, o yra mutuoto alelio nešiotojas ir platintojas.

Jeigu galvijas neturi mutuotų alelių, jo genotipas žymimas TD/TD.

Toks galvijas yra sveikas.

2.2.7.3. Galvijų CVM ligą lemiančios mutacijos c.559 G→T SLC35A3 gene tyrimo metodika

CVM liga yra nulemta missens mutacijos, kuri yra SLC35A3 gene. Galvijų trečioje chromosomoje SLC35A3 gene pakitusiame alelyje yra nusatyta vienos bazės transversija 559 pozicijoje iš guanino į timiną. Tyrimas atliktas sekoskaitos metodu.

Jeigu galvijas turi du mutuotus alelius, jo genotipas žymimas CV/CV.

Toks galvijas yra sergantis.

Jeigu galvijas turi vieną mutuotą alelį, jo genotipas žymimas CV/TV.

Toks galvijas nesergantis, o yra mutuoto alelio nešiotojas ir platintojas.

Jeigu galvijas neturi mutuotų alelių, jo genotipas žymimas TV/TV.

Toks galvijas yra sveikas.

2.3. Statistinė duomenų analizė

Statistinė duomenų analizė atlikta, naudojant duomenų kaupimo ir analizės programų paketą *SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Science 22 for Windows)*. Naudojant Kolmogorovo-Smirnov testą, tikrinta tolydžių kintamųjų normalumo prielaida. Tiriamiesiems požymiams buvo taikomos šios aprašomosios statistikos charakteristikos: aritmetinis vidurkis ir jo paklaida, mediana (minimali ir maksimali reikšmė), kokybiniams kintamiesiems skaičiuoti dažnių skirstiniai. Genominio balo, kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genotipų įtaka pieniniams požymiams standartinėje laktacijos trukmėje pieno kiekiui, baltymų kiekiui ir baltymingumui nustatyta taikant vienfaktorinės dispersinės analizės ANOVA metodą (post-hoc Fisher LSD kriterijus ($\alpha = 0,05$)). Kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genotipų įtaka genominiam balui buvo vertinta analizuojant skirstinius ir vertinant jų skirtumus neparametriniais metodais (χ^2 testas; Kruskal-Wallis testas). Kapa, beta kazeino ir beta laktoglobulino polimorfizmo alelių ir genotipų dažniai buvo ištirti, įvertinant nuokrypį nuo Hardy-Veinbergo pusiausvyros, naudojant χ^2 testą.

3. TYRIMŲ REZULTATAI

3.1. Pieninių galvijų kiekybinių požymių genominė selekcija

3.1.1. Pieninių galvijų genominių profilių analizė

Produktyvaus amžiaus aukštus genominius balus, kintančius nuo 8 iki 10 balų, gavo 23 proc. tirtųjų galvijų, pieno kiekio – 13,0 proc. galvijų, pieno riebalų kiekio – 25,5 proc. galvijų, pieno riebumo – 17,0 proc. galvijų, baltymų kiekio – 27,0 proc. galvijų, baltymingumo – 41,5 proc. galvijų, pieninės formos – 8,5 proc. galvijų. Somatinių ląstelių skaičiui pageidaujami žemi genominiai balai, kintantys nuo 1 iki 3, juos turėjo 16,0 proc. ištirtų galvijų. Produktyvaus amžiaus vidutinius genominius balus, varijuojančius tarp 5–6, gavo 41,0 proc. tirtųjų galvijų, pieno kiekio – 44,5 proc. galvijų, pieno riebalų kiekio – 34,0 proc. galvijų, pieno riebumo – 29,0 proc. galvijų, baltymų kiekio – 36,0 proc. galvijų, baltymingumo – 23,0 proc. galvijų, pieninės formos – 42,5 proc. galvijų, somatinių ląstelių skaičiaus 24,0 proc. tirtųjų galvijų. Žemus genominius balus nuo 1 iki 3 gavo 5,0 proc. tirtųjų galvijų pagal produktyvaus amžiaus požymį, pieno kiekio – 6,0 proc. galvijų, pieno riebalų kiekio – 12,5 proc. galvijų, pieno riebumo – 18,0 proc. galvijų, baltymų kiekio – 7,5 proc. galvijų, baltymingumo – 0,0 proc. galvijų, pieninės formos – 19,0 proc. galvijų. Somatinių ląstelių skaičiaus požymiui nepageidaujamus aukštus genominius balus nuo 8 iki 10, rodančius jautrumą mastitams, gavo 13,5 proc. tirtųjų galvijų (3.1.1.1 lentelė).

3.1.1.1 lentelė. Pieninių galvijų (karvių ir telyčių) „Igenity“ genomio profilio tyrimų rezultatai

Genominiai balai	Produktyvus amžius, mėn.	Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Riebumas, proc.	Baltymų kiekis, kg	Baltymingumas, proc.	Pieninė forma
Tirtosios populiacijos galvijų, kurie turi tam tikrą genominių balų pagal atskirą požymį, kiekis procentais								
10	2,5*	1,5	0	8,0*	6,0*	2,0*	3,5*	0
9	4,5	3,0	3,0*	3,5	5,5	7,0	14,0	4,0*
8	16,0	9,0	10,0	14,0	5,5	18,0	24,0	4,5
7	22,5	17,0	22,0	17,5	16,5	17,0	30,5	12,0
6	24,0	18,0	27,0	19,5	18,5	22,0	22,5	21,5
5	17,0	16,0	17,5	14,5	10,5	14,0	5,0	21,0
4	8,5	19,0	14,5	10,5	19,5	12,5	0,5	18,0
3	4,5	9,0	4,5	9,0	10,0	3,0	0	11,5
2	0,5	3,0	1,5	3,5	5,0	4,0	0	5,5
1	0	4,0*	0	0	3,0	0,5	0	2,0

* Nurodo procentą gyvūnų, kurie turi geriausią genominių balų pagal nustatytą požymį.

Produktyvaus amžiaus aukštus genominius balus, kintančius nuo 8 iki 10, gavo 20 proc. tirtųjų karvių, pieno kiekio – 8,4 proc. karvių, pieno riebalų kiekio – 28,3 proc. karvių, pieno riebumo – 22,1 proc. karvių, pieno baltymų kiekio – 21,7 proc. karvių, baltymingumo – 46,7 proc. karvių, pieninės formos – 13,4 proc. Somatinių ląstelių skaičiui pageidaujami žemi genominiai balai, svyruojantys nuo 1 iki 3, juos turėjo 28,4 proc. tirtųjų karvių. Produktyvaus amžiaus vidutinius genominius balus, varijuojančius tarp 6 balų, gavo 45,0 proc. tirtųjų karvių, pieno kiekio – 55,0 proc. karvių, pieno riebalų kiekio – 26,7 proc. karvių, pieno riebumo – 30,5 proc. karvių, baltymų kiekio – 41,7 proc. karvių, baltymingumo – 20,1 proc. karvių, pieninės formos – 38,3 proc. karvių, somatinių ląstelių skaičiaus – 26,7 proc. tirtųjų karvių. Žemus genominius balus nuo 1 iki 3 gavo 5,0 proc. tirtųjų karvių pagal produktyvaus amžiaus požymį, pieno kiekio – 8,3 proc. karvių, pieno riebalų kiekio – 16,7 proc. karvių, pieno riebumo – 8,5 proc. karvių, baltymų kiekio – 10 proc. karvių, baltymingumo – 0,0 proc. karvių, pieninės formos – 16,7 proc. karvių. Somatinių ląstelių skaičiaus požymiu nepageidaujamus aukštus genominius balus nuo 8 iki 10, rodančius jautrumą mastitams, gavo 15,1 proc. ištirtųjų karvių (3.1.1.2 lentelė).

3.1.1.2 lentelė. Karvių „Igenity“ genominių profilio tyrimų rezultatai

Genominiai balai	Produktyvus amžius, mėn.	Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Riebumas, proc.	Baltymų kiekis, kg	Baltymingumas, proc.	Pieninė forma
Karvių, kurios turi tam tikrą genominių balą pagal atskirą požymį, kiekis procentais								
10	0	1,7	0	15,0*	8,5*	1,7*	5,0*	0
9	8,3*	1,7	1,7*	1,7	6,8	10,0	11,7	6,7*
8	11,7	11,7	6,7	11,6	6,8	10,0	30,0	6,7
7	20,0	6,7	15,0	20,0	16,9	18,3	33,3	13,3
6	25,0	15,0	36,7	20,0	18,6	25,0	13,3	20,0
5	20,0	11,7	18,3	6,7	11,9	16,7	6,8	18,3
4	10,0	23,3	13,3	8,3	22,0	8,3	0	18,3
3	5,0	21,7	3,3	11,7	8,5	5,0	0	6,7
2	0	1,7	5,0	5,0	0	3,3	0	8,3
1	0	5,0*	0	0	0	1,7	0	1,7

* Nurodo procentą gyvūnų, kurie turi geriausią genominių balą pagal nustatytą požymį.

Produktyvaus amžiaus aukštus genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 10 balų, gavo 20 proc. tirtųjų telyčių, pieno kiekio – 15,5 proc. telyčių, pieno riebalų kiekio – 25,5 proc. telyčių, pieno riebumo – 13,4 proc. telyčių, pieno baltymų kiekio – 29,1 proc. telyčių, baltymingumo – 39,2 proc. telyčių, pieninės formos – 5,7 proc. Somatinių ląstelių skaičiui pageidaujami žemi genominiai balai, svyruojantys nuo 1 iki 3, juos turėjo 8,6 proc. tirtųjų telyčių. Produktyvaus amžiaus vidutinius genominius balus, svyruojančius tarp 5–6 balų, gavo 43,0 proc. tirtųjų telyčių, pieno kiekio – 42,9 proc. telyčių, pieno riebalų kiekio – 36,8 proc. telyčių, pieno riebumo – 35,0 proc. telyčių, baltymų kiekio – 33,7 proc. telyčių, baltymingumo – 31,6 proc. telyčių, pieninės formos – 35,7 proc. telyčių, somatinių ląstelių skaičiaus 40,7 proc. tirtųjų telyčių. Žemus genominius balus tarp 1 ir 3 gavo 2,2 proc. tirtųjų telyčių pagal produktyvaus amžiaus požymį, pieno kiekio – 3,9 proc. telyčių, pieno riebalų kiekio – 8,1 proc. telyčių, pieno riebumo – 10,5 proc. telyčių, baltymų kiekio – 7 proc. telyčių, baltymingumo – 0,0 proc. telyčių, pieninės formos – 16,7 proc. telyčių. Somatinių ląstelių skaičiaus požymiui nepageidaujamus aukštus genominius balus nuo 8 iki 10, parodančius jautrumą mastitams, gavo 17,4 proc. tirtųjų telyčių (3.1.1.3 lentelė).

3.1.1.3 lentelė. Telyčių „Igenity“ genomino profilio tyrimų rezultatai

Genominiai balai	Produktyvus amžius, mėn.	Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Riebumas, proc.	Baltymų kiekis, kg	Baltymingumas, proc.	Pieninė forma
Telyčių, kurios turi tam tikrą genominių balų pagal atskirą požymį, kiekis procentais								
10	2,2*	2,9	0	5,2*	4,2*	2,5*	0,9*	0
9	2,2	5,1	3,9*	5,2	4,2	4,5	14,2	1,4*
8	15,6	9,4	11,6	15,1	5,0	22,1	24,1	4,3
7	25,2	21,8	26,1	15,8	17,5	16,2	29,2	13,6
6	23,0	27,3	28,3	18,7	22,5	20,5	27,3	15,0
5	20,0	13,4	14,6	18,1	12,5	13,2	4,3	20,7
4	9,6	11,5	11,6	11,8	23,3	14,0	0	22,2
3	1,5	4,3	3,9	7,2	10,0	2,5	0	14,6
2	0,7	2,9	0	2,9	0,8	4,5	0	5,0
1	0	1,4*	0	0	0	0	0	2,9

* Nurodo procentą galvijų, kurie turi geriausią genominių balų pagal nustatytą požymį.

Palyginus karvių ir telyčių pasiskirstymą pagal genominius balus nustatyta, kad aukštus pieno kiekio požymio genominius balus (8–10), rodančius potencialą aukštam primilžiui turėjo 7,1 proc. daugiau telyčių nei karvių ($P < 0,05$). 14 proc. daugiau telyčių nei karvių turėjo vidutinius somatinių ląstelių skaičiaus požymio genominius balus (5–6), rodančius atsparumą mastitams. 11,6 proc. ir 4,5 proc. daugiau telyčių nei karvių turėjo vidutinius pieno baltymingumo ir pieno riebumo požymių genominius balus (5–6) ($P < 0,05$). Žymiai mažiau telyčių nei karvių gavo žemus genominius balus ($P < 0,05$) požymiams, tokiems kaip produktyvus amžius, pieno kiekis, pieno riebalų ir baltymų kiekis, rodančius telyčių geresnį genetinį potencialą produktyvumui.

3.1.2. Lietuvos pieninių galvijų genetinio potencialo palyginimas su „Igenity“ populiacijos galvijų genominėmis vertėmis

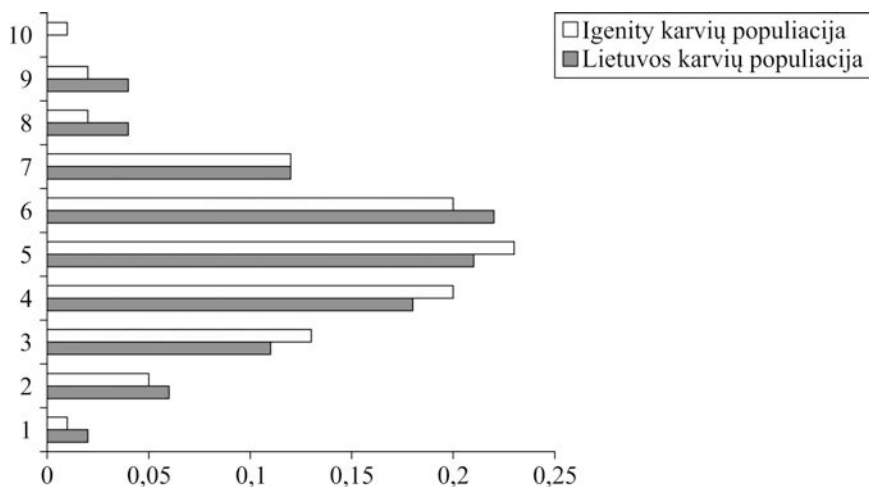
„Benchmark Igenity“ duomenų analizės programa, palyginti Lietuvos pieninių galvijų genominius profilius su pieninių galvijų populiacijos, kurią sudaro daugiau nei pusė milijono karvių, esančių „Igenity“ duomenų bazėje, genominais profiliais, nustatyta, kad Lietuvos pieninių galvijų vidutinė genominė vertė buvo didesnė pieno riebalų kiekio požymiu 0,09 balo, pieno kiekiui – 1,49 balo, pieno baltymų kiekiui – 0,78 balo, pieninei formai – 0,11 balo. Mažesnė nei vidutinė „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos ge-

nominė vertė pieno riebumui 1 balu, pieno baltymingumui – 0,94 balo, produktyviam amžiui – 0,54 genomini balo. Somatinių ląstelių skaičiaus požymiui mažesnis balas rodo teigiamą požymio pasireiškimą ir yra pageidautinas, tačiau tirtųjų Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje somatinių ląstelių skaičiaus genomini balas yra didesnis nei vidutinis „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos genomini balas 0,18 balo (3.1.2.1 lentelė). Nustačius, kad Lietuvos pieninių galvijų vidutinė genominė vertė buvo didesnė pieno riebalų kiekio požymiui, pieno kiekiui, pieno baltymų kiekiui ir pieninei formai, išanalizuotas ir palygintas galvijų pasiskirstymas populiacijose pagal šiuos požymius.

3.1.2.1 lentelė. Lietuvos pieninių galvijų vidutinių genominių verčių palyginimas su „Igenity“ populiacijos genominėmis vertėmis

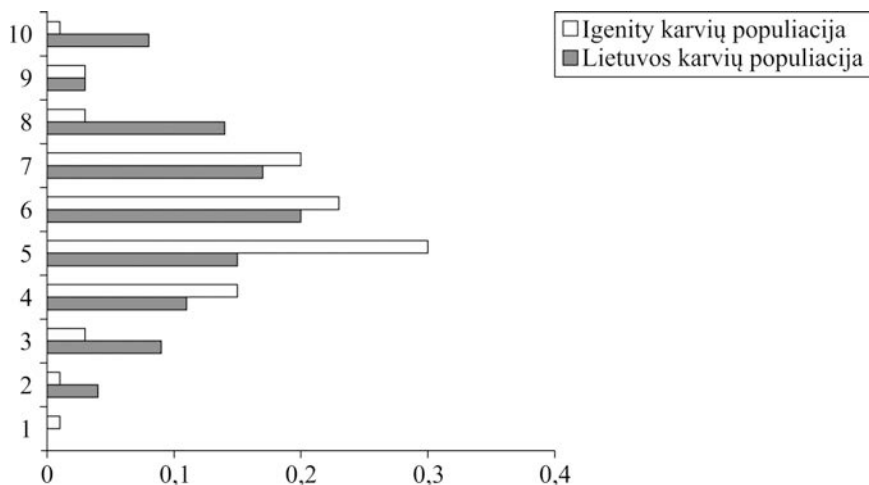
Požymiai	Lietuvos pieninių galvijų vidutinės genominės vertės	„Igenity“ populiacijos galvijų vidutinės genominės vertės
Pieno riebalų kiekis, kg	6,19	6,10
Pieno riebumas, proc.	5,80	6,80
Pieno kiekis, kg	6,01	4,50
Produktyvus amžius, mėn.	6,26	6,80
Pieno baltymų kiekis, kg	6,18	5,40
Pieninė forma	5,18	5,07
Pieno baltymingumas, proc.	7,26	8,20
Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	5,38	5,10

„Benchmark Igenity“ duomenų analizės programa, palyginti Lietuvos pieninių galvijų pasiskirstymą pagal pieninės formos požymio genominius balus su pieninių galvijų, esančių „Igenity“ duomenų bazėje, pasiskirstymu, nustatyta, kad genominius balus, kintančius nuo 8 iki 10, turėjo 8,5 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 5 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, vidutinius genominius balus, svyruojančius tarp 4–7, gavo 73,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 75,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, žemus genominius balus nuo 1 iki 3 gavo 19,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 19,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos (3.1.2.1 pav.).



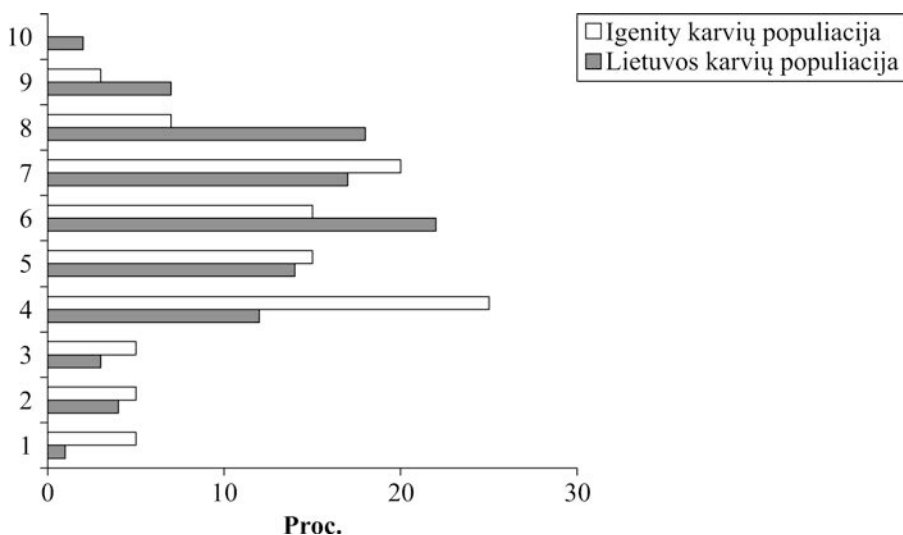
3.1.2.1 pav. Karvių pasiskirstymas pagal pieninės formos požymio genominius balus

„Benchmark Igenity“ duomenų analizės programa, palyginti Lietuvos pieninių galvių pasiskirstymą pagal pieno riebalų kiekio požymio genominius balus su pieninių galvių, esančių „Igenity“ duomenų bazėje, pasiskirstymu, nustatyta, kad genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 10 balų, turėjo 25,5 proc. Lietuvos pieninių galvių ir 7 proc. „Igenity“ pieninių galvių populiacijos, vidutinius genominius balus, kintančius nuo 4 iki 7 balų, gavo 63,0 proc. Lietuvos pieninių galvių ir 88,0 proc. „Igenity“ pieninių galvių populiacijos, žemus genominius balus tarp 1 ir 3 gavo 13,0 proc. Lietuvos pieninių galvių ir 5,0 proc. „Igenity“ pieninių galvių populiacijos (3.1.2.2 pav.).



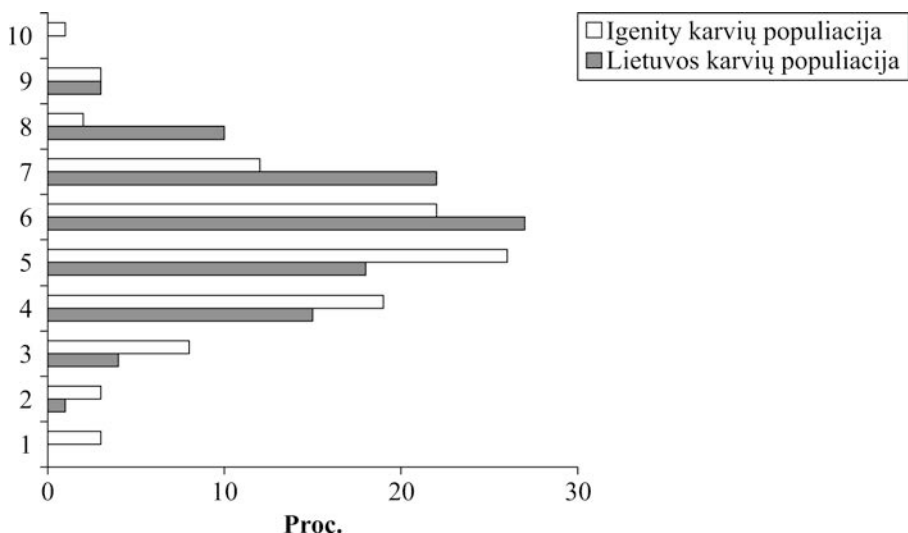
3.1.2.2 pav. Karvių pasiskirstymas pagal pieno riebalų kiekio požymio genominius balus

„Benchmark Igenity“ duomenų analizės programa, palyginti Lietuvos pieninių galvijų pasiskirstymą pagal pieno baltymų kiekio požymio genominius balus su pieninių galvijų, esančių „Igenity“ duomenų bazėje, pasiskirstymu, nustatyta, kad genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 10 balų, turėjo 27,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 10 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, vidutinius genominius balus, svyruojančius nuo 4 iki 7 balų, gavo 65,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 75,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, žemus genominius balus nuo 1 iki 3 gavo 8 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 15,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos (3.1.2.3 pav.).



3.1.2.3 pav. Karvių pasiskirstymas pagal pieno baltymų kiekio požymio genominius balus

„Benchmark Igenity“ duomenų analizės programa, palyginti Lietuvos pieninių galvijų pasiskirstymą pagal pieno kiekio požymio genominius balus su pieninių galvijų, esančių „Igenity“ duomenų bazėje, pasiskirstymu, nustatyta, kad genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 10 balų, turėjo 13,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 6,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, vidutinius genominius balus, svyruojančius nuo 4 iki 7 balų, gavo 82,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 79,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos, žemus genominius balus tarp 1 ir 3 gavo 5,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų ir 12,0 proc. „Igenity“ pieninių galvijų populiacijos (3.1.2.4 pav.).



3.1.2.4 pav. *Karvių pasiskirstymas pagal pieno kiekio požymio genominius balus*

3.1.3. Pieninių galvijų selekcionuojamų požymių pridėtinų verčių analizė pagal genomio profilio rezultatus

„Igenity“ referentinės grupės galvijai pagal genominę informaciją ir koreliacijas su fenotipiniais požymiais yra reitinguojami pagal genominius balus. Genominiai balai yra susiję su pridėtine fenotipinių požymių išraiška. Palyginus kiekvieno ištirtojo galvijo VNP genotipavimo duomenis su VNP duomenimis, gautais iš referentinės grupės galvijų, kiekvienam tirtajam galvijui yra priskiriami genominiai balai. Geriausios karvės, turinčios genominių balą 10 pieno kiekio požymiui, turi genetinį potencialą duoti 1175 kg daugiau pieno per laktaciją nei karvės, gavusios genominių balą 1. Karvės, turinčios genominių balą 10 produktyvaus amžiaus požymiui, turi genetinį potencialą duoti produkciją 5,5 mėnesio ilgiau nei karvės, gavusios genominių balą 1. Karvės, turinčios genominių balą 10 pieno riebalų kiekio požymiui, turi genetinį potencialą duoti 33 kg daugiau pieno riebalų per laktaciją nei karvės, gavusios genominių balą 1. Karvės, turinčios genominių balą 10 pieno baltymų kiekio požymiui, turi genetinį potencialą duoti 18 kg daugiau pieno baltymų per laktaciją nei karvės, gavusios genominių balą 1 (3.1.3.1 lentelė).

3.1.3.1 lentelė. *Pieninių galvijų selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus*

Genominiai balai	Selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus			
	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Baltymų kiekis, kg	Produktyvus amžius, mėn.
10	1 175	33	18	5,5
9	970	28	16	4,6
8	853	24	14	4,1
7	731	21	12	3,5
6	617	18	10	3,0
5	504	14	8	2,4
4	387	11	6	1,9
3	263	7	4	1,7
2	150	4	3	1,3
1	0	0	0	0

Tyrimų rezultatai parodė, kad 3 proc. galvijų, gavusių genominių balą 9 už pieno kiekį, gali papildomai duoti 5 820 kg pieno per vieną laktaciją, palyginti su galvijais, kuriems suteiktas genominis balas 1. Taigi, jei populiacijoje mes turime 13 proc. karvių, kurios gavo aukštus pieno kiekio genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 9, galime gauti 22 880 kg papildomai pieno per laktaciją. Jei tirtąjoje populiacijoje mes turime 25,5 proc. galvijų, kurių riebalų kiekio požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 10 ir 27,0 proc. galvijų pagal baltymų kiekio požymį, gavusių nuo 8 iki 10 genominių balų, galime gauti papildomai 1 396 kg pieno riebalų ir 800 kg baltymų per laktaciją. Jei tirtąjoje populiacijoje mes turime 20,0 proc. galvijų, kurių produktyvaus amžiaus požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 10, papildomai galime turėti 200,1 produktyviausių karvių melžimo mėnesių ir gauti 450 121 kg pieno, 27 464 kg pieno riebalų, 15 738 kg pieno baltymų (3.1.3.2 lentelė).

3.1.3.2 lentelė. Lietuvos pieninių galvijų (visos tirtosios populiacijos) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus

Genominiai balai	Pieninių galvijų (visos tirtosios populiacijos) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus			
	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Baltymų kiekis, kg	Produktyvus amžius, mėn.
10	0	528,0	72,0	27,5
9	5 820,0	196,0	224,0	41,4
8	17 060,0	672,0	504,0	131,2
7	32 164,0	735,0	408,0	157,5
6	33 318,0	702,0	440,0	144,0
5	17 640,0	406,0	224,0	81,6
4	11 223,0	231,0	150,0	32,3
3	2 367,0	126,0	24,0	11,7
2	450,0	28,0	32,0	1,7
1	0	0	0	0

3.1.3.3 lentelė. Lietuvos pieninių galvijų (karvių) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus

Genominiai balai	Pieninių galvijų (karvių) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus			
	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Baltymų kiekis, kg	Produktyvus amžius, mėn.
10	0	495,0	61,2	0
9	1 649,0	47,6	320,0	76,3
8	5 715,1	162,4	280,0	95,9
7	10 965,0	420,0	432,0	140,0
6	22 643,9	360,0	400,0	150,0
5	9 223,2	93,8	200,4	96,0
4	5 147,1	91,3	99,6	38,0
3	867,9	81,9	40,0	13,0
2	750	20,0	19,8	0
1	0	0	3,34	0

Tyrimų rezultatai parodė, kad 1,7 proc. karvių, už pieno kiekį gavusių genominį balą 9, gali papildomai duoti 1 649 kg pieno per laktaciją, palyginti su karvėmis, kurioms suteiktas genominis balas 1. Jei populiacijoje mes turime 8,4 proc. karvių, kurios gavo aukštus pieno kiekio genominis balus, svyruojančius nuo 8 iki 9, mes galime gauti 7 364,1 kg papildomai pie-

no per laktaciją. Jei tirtuojoje populiacijoje mes turime 28,3 proc. karvių, kurių riebalų kiekio požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 10 ir 21,7 proc. baltymų kiekio požymio nuo 8 iki 10 genominio balo, galime gauti papildomai 705 kg pieno riebalų ir 661,2 kg baltymų per laktaciją. Jei tirtuojoje populiacijoje mes turime 20,0 proc. karvių, kurių produktyvaus amžiaus požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 9, papildomai galime turėti 172,3 produktyviausių karvių melžimo mėnesių ir gauti 124 803 kg pieno, 11 948 kg pieno riebalų, 11206 kg pieno baltymų (3.1.3.3 lentelė).

3.1.3.4 lentelė. Lietuvos pieninių galvijų (telyčių) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus

Genominiai balai	Pieninių galvijų (telyčių) selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus			
	Pieno kiekis, kg	Riebalų kiekis, kg	Baltymų kiekis, kg	Produktyvus amžius, mėn.
10	0	171,6	45,0	12,1
9	3 783,0	145,6	72,0	10,1
8	9 894,8	362,4	309,4	64,0
7	19 079,1	331,8	194,4	88,2
6	17 461,1	336,6	205,0	69,0
5	7 358,4	253,4	105,6	48,0
4	4 489,2	129,8	84,0	18,2
3	1 025,7	50,4	10,0	2,0
2	0	11,6	13,5	1,2
1	0	0	0	0

Nustatyta, kad 15,5 proc. telyčių gavo aukštus pieno kiekio genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 9, kurios gali duoti 13 681,8 kg papildomai pieno per laktaciją. Jei tirtuojoje populiacijoje mes turime 25,5 proc. ir 29,1 proc. telyčių, kurių riebalų ir baltymų kiekio požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 10, galime gauti papildomai 679,6 kg pieno riebalų ir 426,4 kg baltymų per laktaciją. Jei tirtuojoje populiacijoje mes turime 20,0 proc. telyčių, kurių produktyvaus amžiaus požymio genominiai balai svyruoja nuo 8 iki 10, papildomai galime turėti 86,2 produktyviausių telyčių melžimo mėnesių ir gauti 116 004 kg pieno, 5 762 kg pieno riebalų, 3 615 kg pieno baltymų (3.1.3.4 lentelė).

3.1.4. Selekcinis modelis pagal genomino profilio rezultatus, kai selekcijos prioritetu parenkamas pieno kiekio didinimas

Pirmajame selekcijos modelyje atrinkome ir paskirstėme galvijas „Custom Igenity“ galvijų reitingavimo programa, taikydami 100 proc. prioritetą pieno kiekiui didinti, nekreipiant dėmesio į kitus požymius. Palikome bandoje 70 proc. karvių su didžiausiais pieno kiekio požymio genomiais balais ir papildėme 30 proc. telyčių su geriausiais pieno kiekio požymio genomiais balais. Vidutinis pridėtinis pieno kiekis pagal genominius balus vienai karvei per laktaciją yra 548 kg. Atrinkus 70 proc. geriausių karvių (genomo potencialas papildomai 641 kg pieno iš karvės per laktaciją), bandoje su 30 proc. karvių, pakeistų 30 proc. geriausių telyčių (genomo potencialas papildomai 696 kg pieno per laktaciją), pieno kiekio genomis potencialas gali būti padidintas iki 148 kg papildomai pieno vienai karvei per vieną laktaciją arba 14 800 kg per vieną laktaciją 100 karvių bandoje. Vidutinis bandos genomis balas po karvių pakeitimo genomiškai įvertintomis geriausiomis telyčiomis pakilo nuo 5,50 iki 6,41. Tačiau vykdant selekciją tik pieno kiekio didinimo kryptimi, pablogėjo kiti svarbūs pieninių galvijų požymiai – sumažėjo pieno riebumo bei baltymingumo genomis potencialas, padidėjo somatinių ląstelių genomis balas (3.1.4.1 lentelė).

3.1.4.1 lentelė. Pridėtinė genominė vertė, kai selekcijos prioritetu parenkamas pieno kiekio didinimas (100 proc. skirta pieno kiekiui, kg)

Visų požymių vidutinis genominis balas	Pieninių galvijų selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus							
	Pieno kiekis, kg	Riebalai, kg	Riebumas, proc.	Baltymai, kg	Baltymingumas, proc.	Produktyvus amžius, mėn.	Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	Pieninė forma
Karvės								
5,5	548±189 ^{1*}	24±11	0,29±0,12 ^{1****}	10±4 ^{1****}	0,13±0,02 ^{1****}	2,95±0,91	0,19±0,08 ^{1****, 2**}	1,7±0,7 ^{1****}
Karvės – 70 proc. atrinktų geriausių pagal pieno kiekio genominį balą								
6,01	641±128	17±8	0,24±0,09	11±3	0,12±0,02	2,96±0,84	0,19±0,09	1,7±0,7
Telyčios								
6,06	527±130 ^{1*}	21±7	0,26±0,08	9±4	0,13±0,02	3,41±0,96	0,24±0,08 ^{1****}	1,2±0,5 ^{1****}
Telyčios – 30 proc. atrinktų geriausių pagal pieno kiekio genominį balą								
8,28	876±58	19±5	0,17±0,06	14±2	0,10± 0.01	3,18± 0,68	0,27± 0,08	1,6±0,8
Banda su 30 proc. karvių pakeistų 30 proc. telyčių								
6,41	696±163	17±8	0,22±0,09 ^{1****}	12±3 ^{1****}	0,11±0,02 ^{1****}	3,02±0,82	0,21±0,09 ^{2**}	1,61±0,69

1, 2, 3 – skirtumas yra statistiškai reikšmingas. * – reikšmingumo vertė (*P<0,05, ** P<0,01, ***P<0,001).

Pirmajame selekcijos modelyje, konvertuojant pridėtinę požymių genominę vertę požymio rodikliais, o produkcijos rodiklius – eurai, vykdant atranką tik pieno kiekio didinimo kryptimi, gavome 148 Eur už papildomą pieno kiekį iš vienos karvės (0,27 Eur už vieną kilogramą pieno) visoje bandoje, 173 Eur iš vienos karvės, kai iš bandos atrinkta 70 proc. geriausių karvių, 237 Eur iš vienos karvės kai iš bandos atrinkta 30 proc. geriausių telyčių ir 188 Eur iš vienos karvės bandoje, kurioje 30 proc. karvių pakeista 30 proc. geriausių genominį vertinimą turinčiomis telyčiomis. Pelno augimas eurai per laktaciją, naudojant pirmąjį genomines atrankos modelį, būtų iš 100 karvių bandos 4 000 Eur per metus už pieno kiekį ir 1 100 Eur už pieno kiekį, gautą per ilgesnį produktyvų amžių. Atrinktos geriausios pagal genominius pieno kiekio balus telyčios suteikia 237 Eur pelno iš vieno gyvulio, jei visos karvės būtų pakeistos geriausiomis telyčiomis, pelno augimas galėtų pasiekti 8 900 Eur už pieno kiekį ir 7000 Eur už pieno kiekį, gautą per ilgesnį produktyvų amžių (3.1.4.2 lentelė).

3.1.4.2 lentelė. Pridėtinės genominės vertės ekonominis įvertinimas, kai selekcija vykdoma siekiant padidinti pieno kiekį (100 proc. pieno kiekiui, kg)

Pieniniai galvijai	Papildomai už pieno kiekį per laktaciją vienai karvei, Eur / 100 karvių bandai, Eur	Papildomai už pailgėjusį produktyvų amžių mėnesiais, jei vidutinis pieno kiekis per laktaciją vienai karvei yra 5 600 kg, Eur / 100 karvių bandai, Eur
Karvės	148/14 800	446/44 600
Karvės – 70 proc. atrinktų geriausių pagal pieno kiekio genominį balą	173/17 300	448/44 800
Telyčios	142/14 200	516/51 600
Telyčios – 30 proc. atrinktų geriausių pagal pieno kiekio genominį balą	237/23 700	481/48 100
Banda su 30 proc. karvių pakeistų 30 proc. telyčių	188/18 800	457/45 700

3.1.5. Selekcinis modelis pagal genomino profilio rezultatus, kai atrankos prioritetas paskirstomas lygiai visiems svarbiems pieninių galvijų požymiams

Antrajame selekcijos modelyje atrinkome ir paskirstėme galvijus „Custom Igenity“ galvijų reitingavimo programa, taikydami vienodą svarbą visiems selekcionuojamiems požymiams: 25 proc. pieno kiekiui, 15 proc. riebumui, 15 proc. baltymingumui, 15 proc. produktyviam amžiui, 15 proc. somatinių ląstelių kiekiui ir 15 proc. pieninei formai. Palikome bandoje 70 proc. karvių su didžiausiais genominiiais balais ir kitą dalį pakeitėme 30 proc. telyčių su geriausiais genominiiais balais. Vidutinis pridėtinis pieno kiekis vienai karvei per laktaciją 100 karvių bandoje yra 548 kg, atrinkus 70 proc. geriausių karvių – 553 kg vienai karvei per laktaciją, bandoje su 30 proc. karvių pakeistų 30 proc. geriausių telyčių – 524 kg vienai karvei per laktaciją. Taigi pieno kiekis sumažėja 24 kg vienai karvei per laktaciją arba 2400 kg per vieną laktaciją 100 karvių bandoje. Kitų selekcionuojamų požymių pridėtinė vertė padidėja – pieno riebumo nuo 0,28 iki 0,32 proc., produktyvus amžius pailgėja nuo 2,95 mėnesių iki 3,45 mėnesių, sumažėjęs somatinių ląstelių skaičius, parodo, kad karves yra mažiau jautrios mastitui (3.1.5.1 lentelė).

3.1.5.1 lentelė. Pridėtinė genominė vertė, kai selekcija vykdoma suteikiant vienodą svarbą visiems selekcionuojamiems pieninių galvijų požymiams (25 proc. pieno kiekiui, 15 proc. riebumui, 15 proc. baltymingumui, 15 proc. produktyviam gyvenimui, 15 proc. somatinių ląstelių skaičiui ir 15 proc. pieninei formai)

Vidutiniai genominiai balai	Pieninių galvijų selekcionuojamų požymių pridėtinės vertės pagal genominius balus					
	Pieno kiekis, kg	Riebumas, proc.	Baltymingumas, proc.	Produktyvus amžius, mėn.	Somatinių ląstelių skaičius, tūkst./ml	Pieninė forma
Karvės						
6,08	548±190 ^{1*}	0,28±0,13 ^{1**}	0,13±0,02 ^{1*}	2,95±0,91 ^{1**}	0,20±0,09 ^{1***}	1,71±0,65 ^{1***}
Karvės – 70 proc. atrinktų geriausių pagal genominius balus						
6,31	553±167	0,29±0,12	0,13±0,02	3,32 ±0,76	0,16± 0,05	1,64±0,71
Telyčios						
7,21	611±172 ^{1*}	0,26±0,11	0,13±0,02	3,13±0,91	0,24±0,08 ^{1***}	1,38 ±0,60 ^{1***}
Telyčios – 30 proc. atrinktų geriausių pagal genominius balus						
6,85	665±158	0,38±0,10 ^{1**}	0,15±0,02 ^{1*}	4,24±0,66	0,21±0,08	1,52±0,48
Banda su 30 proc. karvių pakeistų 30 proc. telyčių						
6,45	5,4±174	0,32±0,12	0,13±0,02	3,45±0,92 ^{1**}	0,17±0,06	1,61±0,66

^{1, 2, 3} – skirtumas yra statistiškai reikšmingas. * – reikšmingumo vertė (*P<0,05, ** P<0,01, ***P<0,001).

Antrajame modelyje konvertuojant pridėtinę požymių genominę vertę eurai, kai atranka buvo vykdoma pagal visus svarbius pieno požymius, apskaičiavome 148 Eur papildomą pelną iš vienos karvės (0,27 Eur už vieną kilogramą pieno) visoje bandoje, 149 Eur iš vieno karvės kai iš bandos atrinkta 70 proc. geriausių karvių, 126 Eur kai iš bandos atrinkta 30 proc. geriausių telyčių ir 141 Eur iš bandos kurioje 30 proc. karvių pakeista 30 proc. geriausiomis telyčiomis. Pelno sumažėjimas eurai iš vienos karvės per laktaciją, naudojant antrąjį genominės atrankos modelį, buvo 7 Eur, o iš 100 karvių bandos – 700 Eur per metus. Tačiau pailgėjęs produktyvus amžius atneša 7 500 Eur pelno, taip pat pieno riebumo padidėjimas bei somatinių ląstelių skaičiaus sumažėjimas, parodantis geresnę tešmens būklę (3.1.5.2 lentelė).

3.1.5.2 lentelė. Pridėtinės genominės vertės ekonominis įvertinimas, kai selekcija vykdoma suteikiant vienodą svarbą visiems selekcionuojamiems pieninių galvijų požymiams (25 proc. pieno kiekiui, 15 proc. riebumui, 15 proc. baltymingumui, 15 proc. produktyviam gyvenimui, 15 proc. somatinių ląstelių skaičiui ir 15 proc. pieninei formai)

Pieniniai galvijai	Papildomai už pieno kiekį per laktaciją vienai karvei, Eur / 100 karvių bandai, Eur	Papildomai už pailgėjusį produktyvų amžių mėnesiais, jei vidutinis pieno kiekis per laktaciją vienai karvei yra 5 600 kg, Eur / 100 karvių bandai, Eur
Karvės	148/14 800	446/44 600
Karvės – 70 proc. atrinktų geriausių pagal genominius balus	149/14 900	502/50 200
Telyčios	128/12 800	473/47 300
Telyčios – 30 proc. atrinktų geriausių pagal genominius balus	126/12 600	641/64 100
Banda su 30 proc. karvių pakeistų 30 proc. telyčių	141/14 100	521/52 100

3.1.6. Selekcinis modelis, kai tirtosios atrankinės karvių populiacijos genominių profilio tyrimų duomenys perkeliama visai Lietuvos pieninių karvių populiacijai

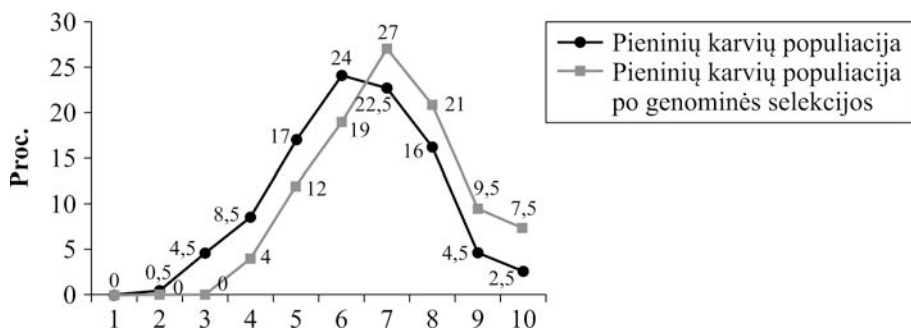
Pagal tirtosios atrankinės karvių populiacijos pieno galvijų genominių profilio tyrimų rezultatus sudaryta populiacijos genominė struktūra, išreikšta procentais karvių, turinčių tam tikrus genominius balus nuo 1 iki 10. Gautus atrankinės populiacijos tyrimų rezultatus perkėlėme visai Lietuvos pieninių karvių populiacijai, kurią 2018 m. sausio 1 d. sudarė 272 100 pieninių karvių (3.1.6.1 lentelė).

3.1.6.1 lentelė. Prognozuojama Lietuvos pieninių galvijų populiacijos struktūra pagal genominius balus

Genominiai balai	Karvių pasiskirstymas pagal:			
	pieno kiekio genominius balus, proc./vnt.	riebalų kiekio genominius balus, proc./vnt.	baltymų kiekio genominius balus, proc./vnt.	produktyvaus amžiaus genominius balus, proc./vnt.
10	0	8,0/21 768	2,0/5 442	2,5/6 803
9	3,0/8 163	3,5/9 524	7,0/19 047	4,5/12 245
8	10,0/27 210	14,0/38 094	18,0/48 978	16,0/43 536
7	22,0/59 862	17,5/47 618	17,0/46 257	22,5/61 223
6	27,0/73 467	19,5/53 060	22,0/59 862	24,0/65 304
5	17,5/47 617	14,5/39 455	14,0/38 094	17,0/46 257
4	14,5/39 455	10,5/28 571	12,5/34 013	8,5/23 129
3	4,5/12 245	9,0/24 489	3,5/9 524	4,5/12 245
2	1,5/4 082	3,5/9 524	4,0/10 884	0,5/1 361
1	0	0	0	0

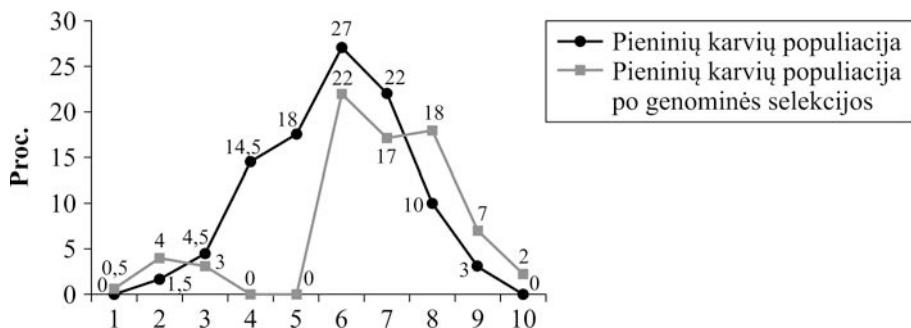
Įvertinę Lietuvos pieninių galvijų populiacijos struktūrą pagal genominius balus, atlikome genominę selekciją, atrinkdami ir išbrokuodami populiacijoje po 5 proc. žemiausius genominius balus 1–6 turinčių karvių ir papildydami populiaciją po 5 proc. aukštus genominius balus turinčiomis karvėmis 7–10 pagal pieno, pieno riebalų, pieno baltymų ir produktyvaus amžiaus požymių genomines vertes.

Panaudojus genominės selekcijos metodą Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje galvijų, gavusių aukštus genominius balus nuo 7 iki 10 produktyvaus amžiaus požymiui, padidėjo nuo 41 proc. iki 65 proc., tai rodo didelį potencialą papildomam produkcijos kiekiui gauti (3.1.6.1 pav.).



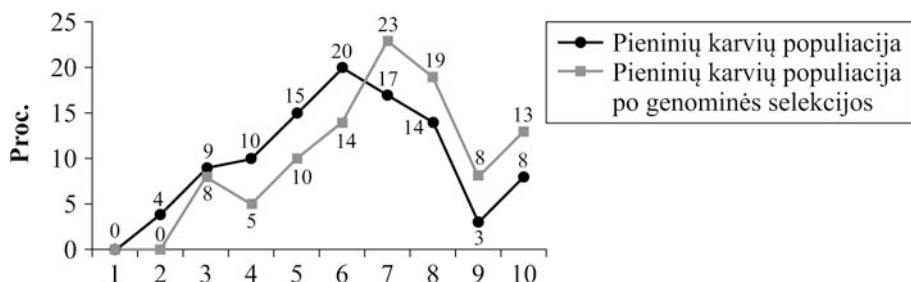
3.1.6.1 pav. Prognozuojama Lietuvos pieninių karvių populiacijos struktūra pagal produktyvaus amžiaus požymio genominius balus

Panaudojus genominės selekcijos metodą Lietuvos pieninių galvių populiacijoje galvių, gavusių aukštus genominius balus nuo 7 iki 10 pieno kiekio požymiui, padidėjo nuo 35 proc. iki 44 proc. (3.1.6.2 pav.).



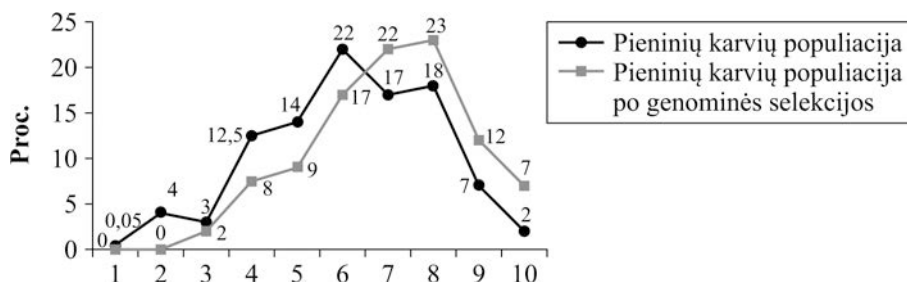
3.1.6.2 pav. Prognozuojama Lietuvos pieninių karvių populiacijos struktūra pagal pieno kiekio požymio genominius balus

Panaudojus genominės selekcijos metodą Lietuvos pieninių galvių populiacijoje galvių, gavusių aukštus genominius balus nuo 7 iki 10 pieno riebalų kiekio požymiui, padidėjo nuo 42 proc. iki 63 proc. (3.1.6.3 pav.).



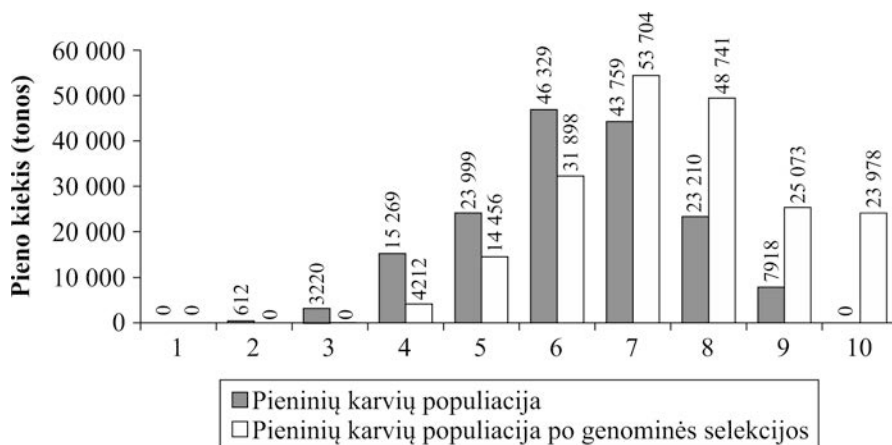
3.1.6.3 pav. Prognozuojama Lietuvos pieninių karvių populiacijos struktūra pagal pieno riebalų kiekio požymio genominius balus

Panaudojus genomines selekcijos metoda Lietuvos pieniniu galviu populiacijoje galviu, gavusiu aukstu genominius balus nuo 7 iki 10 pieno baltymu kiekio pozymiui, padidejo nuo 44 proc. iki 64 proc. (3.1.6.4 pav.).



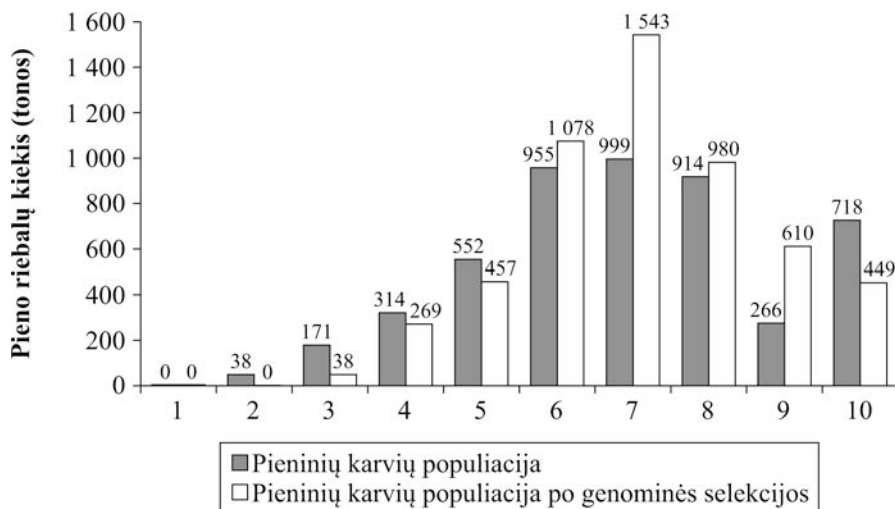
3.1.6.4 pav. Prognozuojama Lietuvos pieninių karvių populiacijos struktūra pagal pieno baltymų kiekio požymio genominius balus

Lietuvos pieninių galvių populiacijoje po karvių atrankos ir parankos pagal genominius balus prognozuojamas karvių pieno kiekio padidėjimas per laktaciją 37 746 tonų (3.1.6.5 pav.).



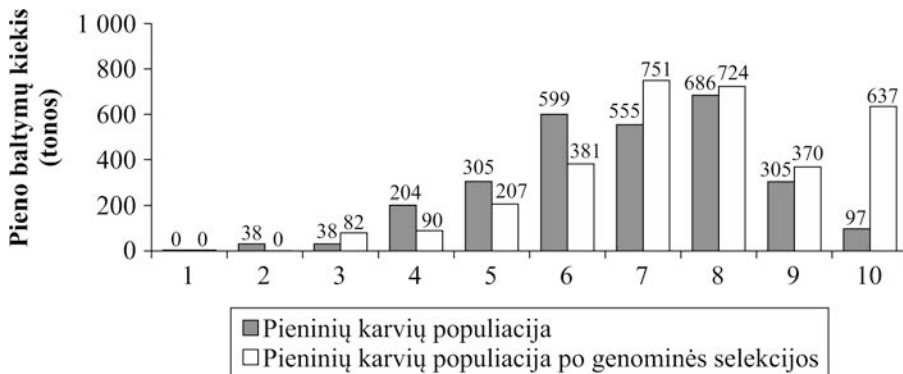
3.1.6.5 pav. Prognozuojamas pieno kiekio padidėjimas Lietuvos pieninių karvių populiacijoje vykdant genominę selekciją

Lietuvos pieninių galvių populiacijoje po karvių atrankos ir parankos pagal genominius balus prognozuojamas karvių pieno riebalų padidėjimas per laktaciją 497 tonų (3.1.6.6 pav.).



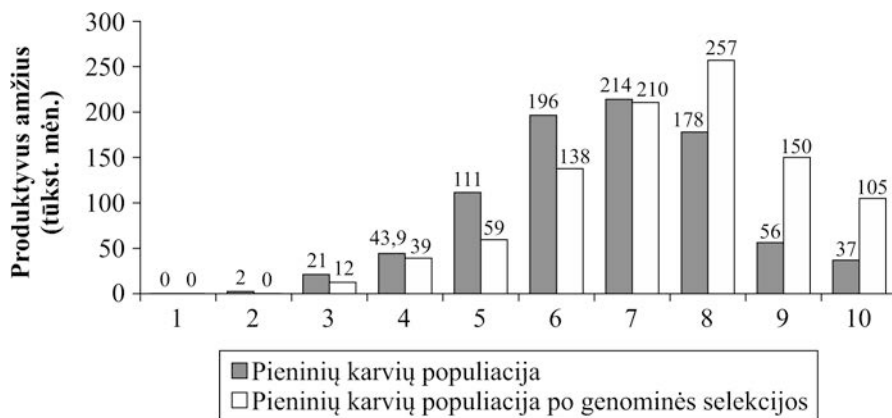
3.1.6.6 pav. *Prognozuojamas pieno riebalų kiekio padidėjimas Lietuvos pieninių karvių populiacijoje vykdant genominę selekciją*

Lietuvos pieninių galvių populiacijoje po karvių atrankos ir parankos pagal genominius balus prognozuojamas karvių pieno baltymų kiekio padidėjimas per laktaciją 425 tonų (3.1.6.7 pav.).



3.1.6.7 pav. *Prognozuojamas pieno baltymų kiekio padidėjimas Lietuvos pieninių karvių populiacijoje vykdant genominę selekciją*

Lietuvos pieninių galvių populiacijoje po karvių atrankos ir parankos pagal genominius balus prognozuojamas karvių produktyvaus amžiaus padidėjimas atneštų papildomai 412 110 828 tonų pieno, 5 426 246 tonų pieno riebalų, 4 640 150 tonų pieno baltymų (3.1.6.8 pav.).



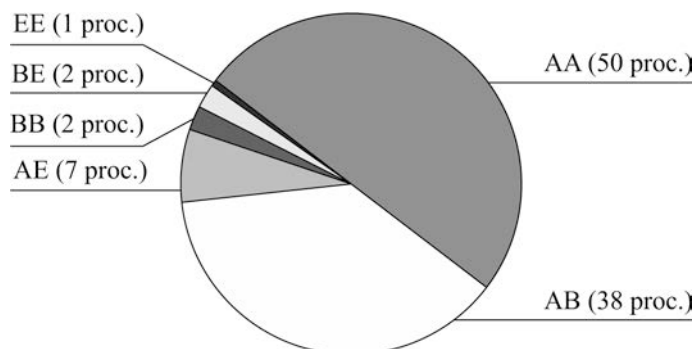
3.1.6.8 pav. *Prognozuojamas produktyvaus amžiaus padidėjimas Lietuvos pieninių karvių populiacijoje vykdant genominę selekciją*

3.2. Galvijų kokybinių požymių selekcija pagal genominius žymenis

3.2.1. Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genetinės analizės rezultatai

Tirtojoje Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje buvo identifikuoti trys kapa kazeino aleliai – didžiausiu dažniu rastas A alelis – 0,724, mažiausiu dažniu E alelis – 0,052. B alelį, turintį didelę įtaką pieno technologinėms savybėms, turėjo 90 proc. tirtųjų karvių.

Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje rasti 6 kapa kazeino genotipai: AA (0,5), AB (0,379), AE (0,069), BB (0,023), BE (0,023), EE (0,006). Tikrieji ir tikėtini genotipų dažniai statistškai reikšmingai nesiskyrė ($P = 0,185$). Dažniausiai pasitaikantis buvo AA genotipas. Jį turėjo 50 proc. tirtųjų galvijų. Rečiausiai pasitaikantis buvo EE genotipas. Jį turėjo tik 0,6 proc. tirtųjų galvijų. Didžiausią įtaką pieno, kaip žaliavos sūrių ir varškės gamybai, technologinėms savybėms turintis BB genotipas rastas pas 2,3 proc. karvių (3.2.1.1 pav.).

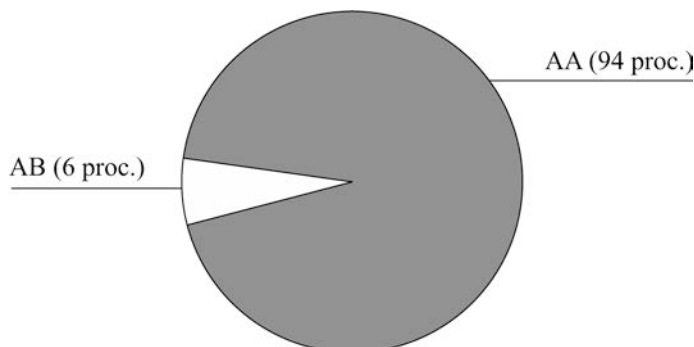


3.2.1.1 pav. Kapa kazeino genotipų pasiskirstymas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje

Ivertinus kapa kazeino geno tikrąjį ir tikėtiną heterozigotiškumą Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje tikėtinas heterozigotiškumas buvo mažesnis nei tikrasis, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas, tirtoji galvijų grupė pagal Hardžio-Veinbergo dėsnį tirtuojoje kapa kazeino geno srityje išlaiko genetinę pusiausvyrą ($\chi^2 = 0,028$; $P \geq 0,05$). Rastas mažesnis tikrasis heterozigotiškumas rodo, kad galbūt populiacijoje vyko selekcija atrenkant ir paliekant homozigotinius individus dėl geresnių produkcijos savybių.

Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje buvo identifikuoti du beta kazeino aleliai. A alelis rastas 0,968 dažniu, B alelis rastas 0,032 dažniu.

Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje buvo nustatyti du beta kazeino genotipai: AA (0,937), AB (0,063). AA genotipą turėjo 93,7 proc. tirtųjų karvių. BB genotipas nebuvo nustatytas nė vienam galvijui. Tikrieji ir tikėtini genotipų dažniai nesiskyrė statistiškai reikšmingai ($P = 0,999$) (3.2.1.2 pav.).

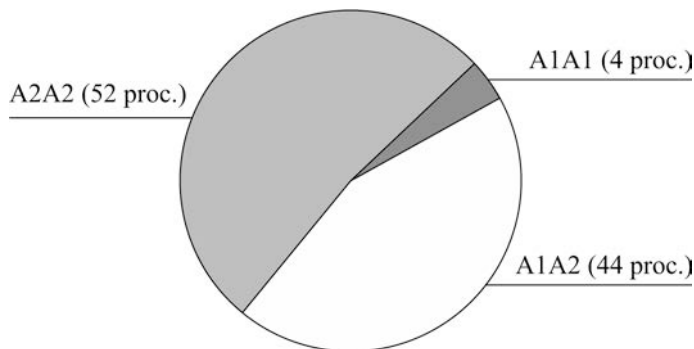


3.2.1.2 pav. Beta kazeino genotipų pasiskirstymas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje

Įvertinus tikrąjį ir tikėtiną heterozigotiškumą Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje tikrasis heterozigotiškumas buvo mažesnis nei tikėtinas, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas, taigi tirtoji galvijų populiacija pagal Hardžio-Veinbergo dėsnį tirtajame beta kazeino geno lokuse išlaiko genetinę pusiausvyrą ($P \geq 0,05$).

Išanalizavus mokslinę literatūrą ir įvertinus beta kazeino geno polimorfizmo svarbą žmonių sveikatingumui, buvo atlikti papildomi tyrimai identifikuojant beta kazeino A1 ir A2 alelius Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje. A1 alelis rastas 0,261 dažniu, A2 alelis rastas 0,739 dažniu. Beta kazeino A1 ir A2 archajiškose genofondinėse Lietuvos šėmųjų ir Lietuvos baltnugarių galvijų veislėse. Lietuvos šėmųjų veislėje A1 alelį turėjo 52 proc. karvių, A2 – alelį 48 proc. karvių. Lietuvos baltnugarių galvijų veislėje A1 alelį turėjo 38 proc. karvių, A2 alelį – 62 proc. karvių.

Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje buvo nustatyti trys beta kazeino genotipai pagal A1 ir A2 alelius: A1A1 (0,04), A1A2 (0,44) ir A2A2 (0,52). A2A2 genotipą, neturintį neigiamo poveikio žmonių sveikatai, turėjo 52 proc. tirtųjų karvių. Tikrieji ir tikėtini genotipų dažniai nesiskyrė statistiškai reikšmingai ($P = 0,99$) (3.2.1.3 pav.).

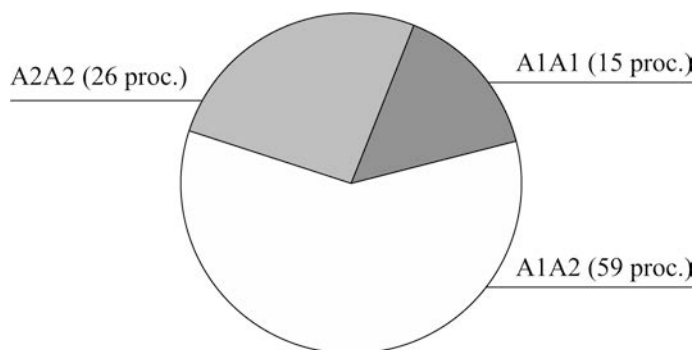


3.2.1.3 pav. Beta kazeino genotipų pasiskirstymas pieninių galvijų populiacijoje

Įvertinus tikrąjį ir tikėtiną heterozigotiškumą Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje tikrasis heterozigotiškumas buvo didesnis nei tikėtinas, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas, taigi tirtoji galvijų populiacija pagal Hardžio-Veinbergo dėsnį tirtajame beta kazeino geno lokuse išlaiko genetinę pusiausvyrą ($P \geq 0,05$). Rastas didesnis tikrasis heterozigotiškumas nei tikėtinas, rodo aukštą genetinės įvairovės lygį, kas sudaro palankias sąlygas gyvulių selekcijai.

Archajiškose genofondinėse Lietuvos šėmųjų ir Lietuvos baltnugarių galvijų veislėse populiacijoje rasti 3 beta kazeino genotipai: A1A1 (0,15),

A1A2 (0,59), A2A2 (0,26). Tikėtini ir prognozuojami genotipų dažniai statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($P = 1$). Dažniausiai pasitaikantis buvo A1A2 genotipas. Jį turėjo 59 proc. tirtųjų galvijų. Rečiausiai pasitaikantis buvo mažiausiai pageidaujamas A1A1 genotipas. Jį turėjo 15 proc. tirtųjų galvijų. Labiausiai pageidaujamas neigiamos įtakos žmonių sveikatai neturintis A2A2 genotipas aptiktas 26 proc. karvių (3.2.1.4 pav.).

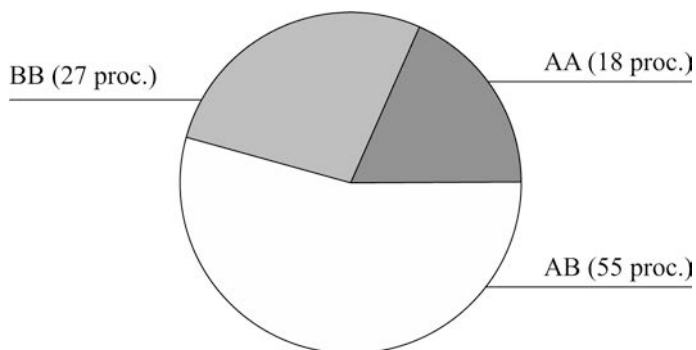


3.2.1.4 pav. Beta kazeino genotipų pasiskirstymas genofondinėse pieninių galvijų veislėse

Įvertinus beta kazeino geno tikrąjį ir tikėtiną heterozigotiškumą Lietuvos pieninių genofondinių galvijų populiacijoje, tikėtinas heterozigotiškumas buvo mažesnis nei tikrasis, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas, tirtoji galvijų grupė pagal Hardžio-Veinbergo dėsnį tirtuojuose beta kazeino geno srityje išlaiko genetinę pusiausvyrą ($P \geq 0,05$).

Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje buvo identifikuoti du beta laktoglobulino aleliai. A alelis rastas 0,456 dažniu, B alelis rastas 0,544 dažniu. B alelį turėjo 54,4 proc. tirtųjų karvių.

Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje rasti 3 skirtingi genotipai: AA (0,183), AB (0,544), BB (0,273). Dažniausiai pasitaikantis buvo beta laktoglobulino AB genotipas, kurį turėjo 54,4 proc. tirtųjų karvių. BB genotipas, turintis didelę įtaką pieno tinkamumui sūrių ir varškės gamybai, nustatytas pas 27,3 proc. karvių. Tikrieji ir tikėtini genotipų dažniai statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($P = 0,998$) (3.2.1.5 pav.).

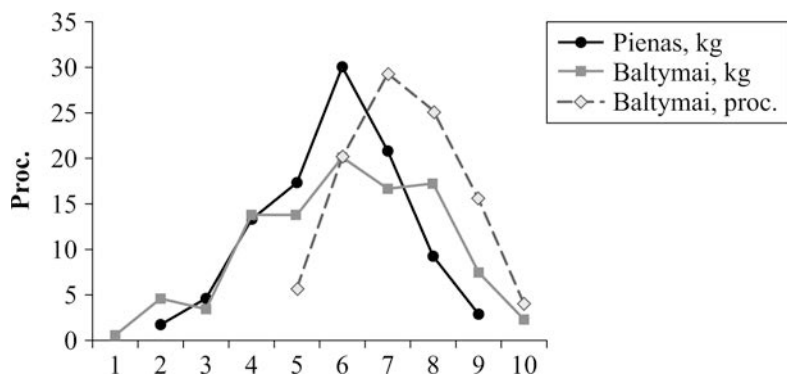


3.2.1.5 pav. *Beta laktoglobulino genotipų pasiskirstymas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje*

Įvertinus tikrąjį ir tikėtiną heterozigotiškumą tirtuojoje Lietuvos pieninių juodmargių galvijų populiacijoje tikrasis heterozigotiškumas buvo didesnis nei tikėtinas, tačiau skirtumas nebuvo statistiškai reikšmingas, tirtoji galvijų grupė pagal Hardžio-Veinbergo dėsnį tirtaame beta laktoglobulino geno lokuse išlaiko genetinę pusiausvyrą ($P \geq 0,05$). Rastas didesnis tikrasis heterozigotiškumas, nei tikėtinas, rodo aukštą genetinės įvairovės lygį, tai sudaro palankias sąlygas gyvulių selekcijai.

3.2.2. Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino polimorfizmų sąsajos su produkcijos genomiais balais

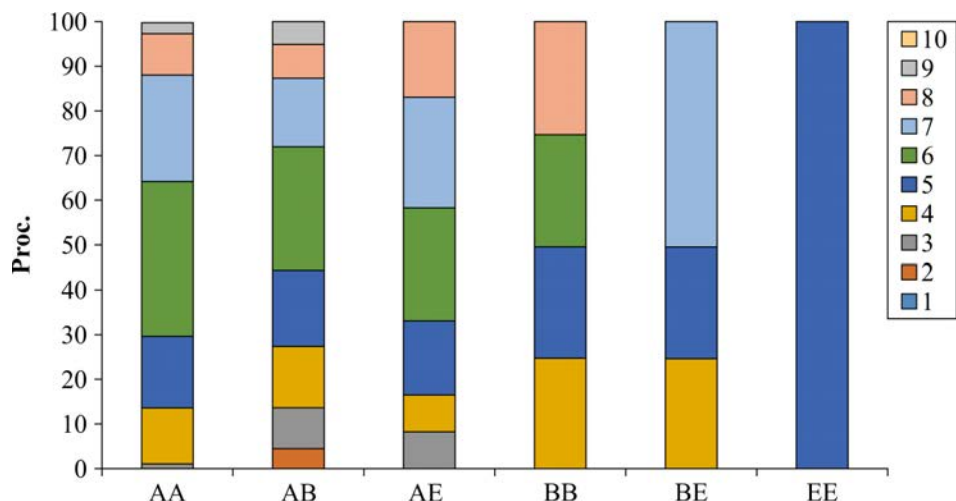
Pieno kiekio genominiai balai svyravo nuo 2 iki 9. Pieno baltymų kiekio požymio genominiai balai įvairavo nuo 1 iki 10. Daugiausia karvių (27 proc. ir 19,5 proc.) turėjo vidutinį pieno kiekio genominių balą 6 ir vidutinį pieno baltymų kiekio genominių balą 7. Pieno baltymingumo požymio genominiai balai įvairavo nuo 1 iki 10. Karvių pasiskirstymas pagal pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genominius balus parodė, kad karvės pagal pieno baltymingumo požymį gavo aukštesnius genominius balus nei pagal pieno kiekį ir baltymų kiekį ($P < 0,001$) (3.2.2.1 pav.)



3.2.2.1 pav. Lietuvos pieninių galvių pasiskirstymas pagal genominius balus

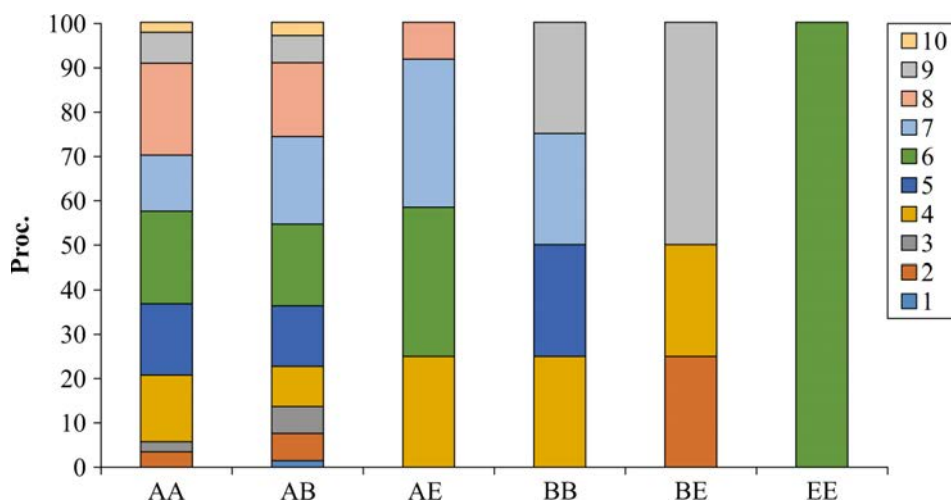
3.2.2.1. Pieno baltymo kapa kazeino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genomiais balais

Palyginus skirtingus kapa kazeino genotipus pagal pieno kiekio genominių balų pasiskirstymą, aukščiausias genomines vertes pagal pieno išėigą turėjo kapa kazeino AE ir BE genotipo karvės – 41,7 proc. ir 50,0 proc. karvių turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus. AA genotipo 35,6 proc. karvių, AB genotipo 27,7 proc., BB genotipo 25,0 proc. karvių turėjo genominius balus, aukštesnius nei 6. Aukščiausią genominių balų 9 gavo 2,3 proc. AA genotipo ir 4,6 proc. AB genotipo karvių. Buvo nustatyta, kad skirtingų kapa kazeino genotipų įtaką pieno kiekiui yra statistiškai reikšminga, kapa kazeino E ir A aleliai didino pieno kiekį ($P < 0,05$) (3.2.2.1.1 pav.).



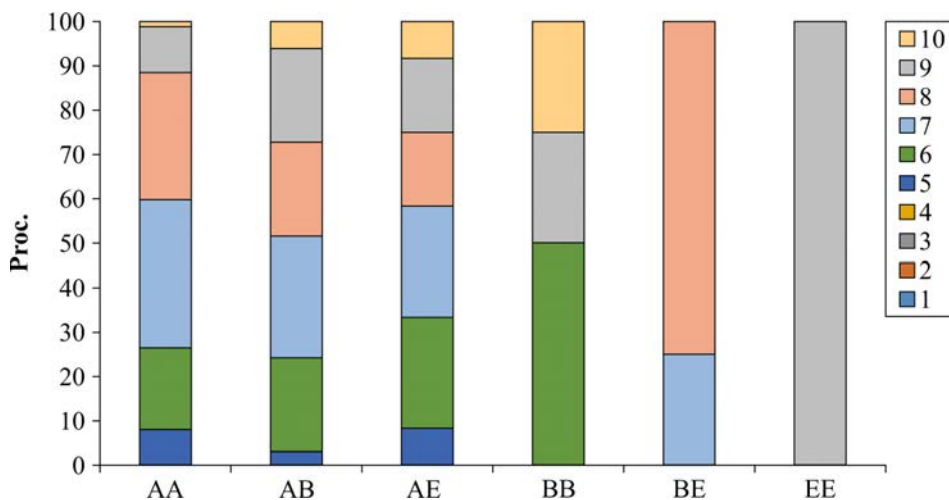
3.2.2.1.1 pav. Kapa kazeino genotipų pasiskirstymas pagal pieno kiekio (kg) genomines vertes

Aukščiausias genomines vertes pagal pieno baltymų kiekį turėjo kapa kazeino BB ir BE genotipo karvės. 50,0 proc. abiejų genotipų karvių turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus. AA genotipo 40,6 proc. karvių, AB genotipo 43,2 proc., AE genotipo 41,6 proc. karvių turėjo genominius balus, aukštesnius nei 6. Aukščiausias genominius balus 9–10 gavo 25,0 proc. BB genotipo, 50,0 proc. BE genotipo, 6,8 proc. AB genotipo ir 7,3 proc. AA genotipo kapa kazeino karvių. Ištirta skirtingų kapa kazeino genotipų įtaką pieno baltymų kiekiui rodo, tendencijas, kad B alelis didina pieno baltymų kiekį, bet rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi ($P = 0,636$) (3.2.2.1.2 pav.).



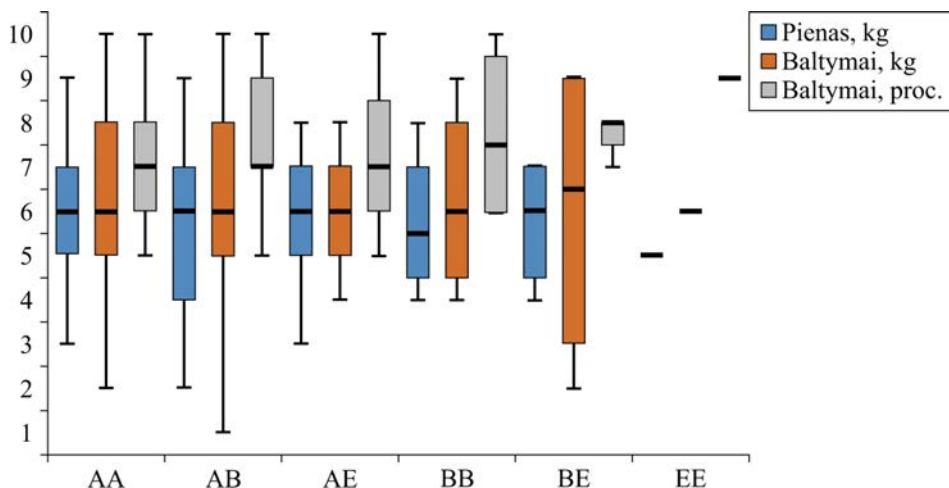
3.2.2.1.2 pav. Kapa kazeino genotipų pasiskirstymas pagal baltymų kiekio (kg) genomines vertes

50 proc. kapa kazeino BB genotipo karvių, 11,4 proc. AA genotipo, 27,3 proc. AB genotipo, 25,0 proc. AE genotipo karvių gavo genominius balus 9–10. Ištirta skirtingų kapa kazeino genotipų įtaką pieno baltymų kiekiui rodo tendencijas, kad B alelis didina pieno baltymų kiekį, bet rezultatai nebuvo statistiškai reikšmingi ($P = 0,230$) (3.2.2.1.3 pav.).



3.2.2.1.3 pav. Kapa kazeino genotipų pasiskirstymas pagal pieno baltymingumo (proc.) genomines vertes

Vidutiniai pieno kiekio genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje varijavo nuo 6,05 balo (AA kapa kazeino genotipui) iki 5,00 (EE kapa kazeino genotipui), pieno baltymų kiekio genominiai balai Lietuvos pieninių juodmargių galvijų svyravo nuo 6,25 vidutinio balo (BB kapa kazeino genotipui) iki 6,00 (AE, BE ir EE kapa kazeino genotipams), pieno baltymingumo genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų įvairavo nuo 9,00 (EE kapa kazeino genotipui) iki 7,18 (AA kapa kazeino genotipui). Statistiškai reikšmingai skyrėsi pieno kiekio genominiai balai tarp AA ir BB genotipų ($P < 0,05$) (3.2.2.1.4 pav.)



3.2.2.1.4 pav. Kapa kazeino genotipų pasiskirstymas pagal vidutines pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genomines vertes

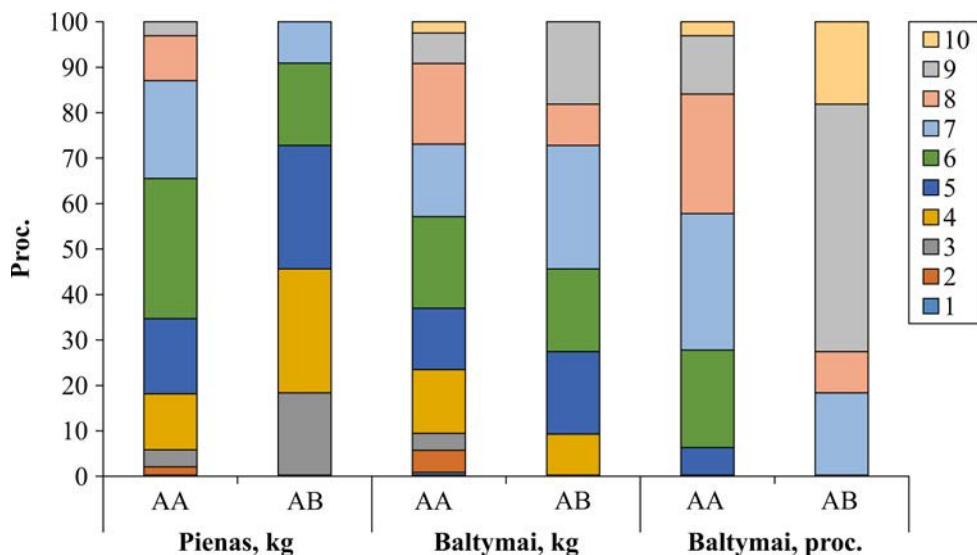
Dispersinė analizė parodė, kad 2,8 proc. pieno kiekio genetinės įvairovės ($P < 0,05$), 0,2 proc. pieno baltymų kiekio genetinės įvairovės ($P < 0,05$) ir 3,3 proc. pieno procentinio baltymų kiekio genetinio įvairovės ($P < 0,05$) priklauso nuo kapa kazeino genotipo.

3.2.2.2. Pieno baltymo beta kazeino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genomiais balais

Palyginus skirtingus beta kazeino genotipus pagal pieno kiekio genominių balų pasiskirstymą, 34,6 proc. AA genotipo Lietuvos pieninių karvių ir 9,1 proc. AB genotipo Lietuvos pieninių karvių turėjo pagal pieno kiekį turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus. Aukščiausią genominių balų 9 gavo 3,1 proc. AA genotipo karvių, kurios turi aukštą genetinį potencialą ir geras galimybes selekcijai pagal genomines vertes pieno išėigai didinti. Skirtingų beta kazeino genotipų įtaką pieno kiekiui yra statistiškai reikšminga ($P < 0,05$).

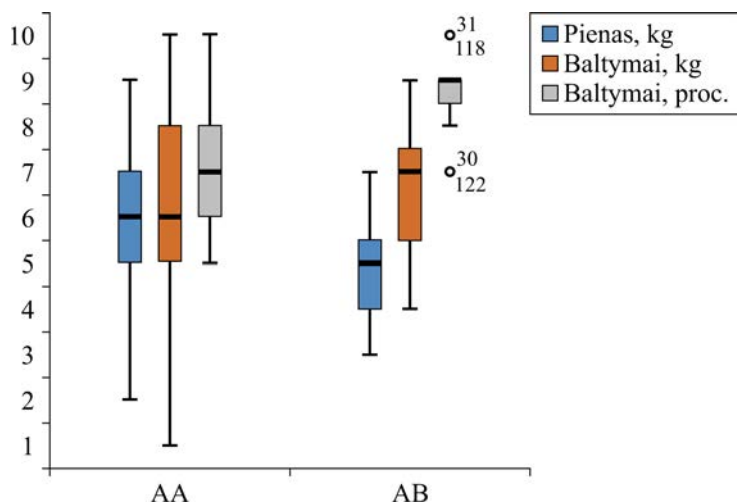
Aukščiausias genomines vertes pagal baltymų kiekį turėjo beta kazeino AB genotipo karvės. 54,6 proc. Lietuvos pieninių karvių AB genotipo ir 42,0 proc. AA genotipo Lietuvos pieninių karvių turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus. Aukščiausią genominių balų 10 pagal pieno baltymų kiekio požymį Lietuvos pieninių karvių populiacijoje turėjo 2,5 proc. beta kazeino AA genotipo karvių. Skirtingų beta kazeino genotipų įtaka pieno baltymų kiekiui nebuvo statistiškai reikšminga ($P = 0,859$).

Beta kazeino genotipai AA ir AB pagal pieno baltymingumo požymį gavo aukštus genominius balus nuo 5 iki 10. 100 proc. Lietuvos pieninių karvių AB genotipo ir 72,5 proc. AA genotipo turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus, 18,2 proc. beta kazeino AB genotipo karvių turėjo aukščiausią pieno baltymingumo balą 10. Skirtingų beta kazeino genotipų įtaka pieno baltymingumui pagal genominius balus buvo statistiškai reikšminga ($P < 0,001$). Beta kazeino B alelis didina pieno baltymingumą, aukščiausius balus gavo AB genotipo karvės (3.2.2.2.1 pav.).



3.2.2.2.1 pav. Beta kazeino genotipų pasiskirstymas pagal pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genomines vertes

Vidutiniai pieno kiekio genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje įvairavo nuo 5,91 balo (AA beta kazeino genotipui) iki 4,73 (AB beta kazeino genotipui), pieno baltymų kiekio genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų įvairavo nuo 6,64 vidutinio balo (AB beta kazeino genotipui) iki 6,06 (AA beta kazeino genotipui), pieno baltymingumo genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų įvairavo nuo 8,73 (AB beta kazeino genotipui) iki 7,28 (AA beta kazeino genotipui). Statistiškai reikšmingai skyrėsi pieno kiekio genominiai balai tarp beta kazeino AA-AB genotipų ($P < 0,05$) ir pieno baltymingumo genominiai balai tarp beta kazeino AA-AB genotipų ($P < 0,001$) (3.2.2.2.2 pav.).



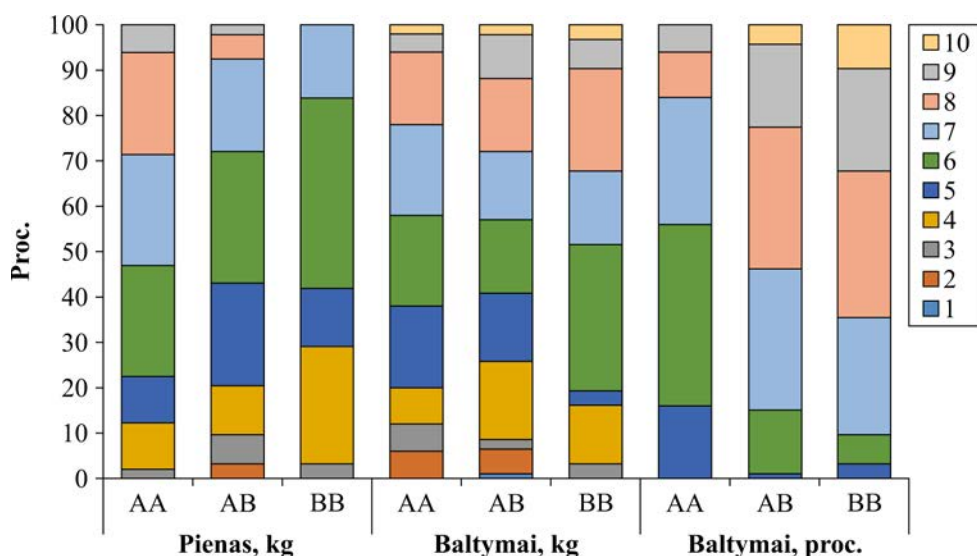
3.2.2.2.2 pav. Beta kazeino genotipų pasiskirstymas pagal vidutines pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genomines vertes

Faktorinė dispersinė analizė parodė, kad beta kazeino genotipas turi įtakos 3,8 proc. pieno kiekio genetinės variacijos ($P < 0,05$), 0,5 proc. pieno baltymų kiekio genetinės variacijos ir 8,1 proc. pieno baltymingumo variacijos ($P < 0,001$).

3.2.2.3. Pieno baltymo beta laktoglobulino polimorfizmo sąsajos su produkcijos genomiais balais

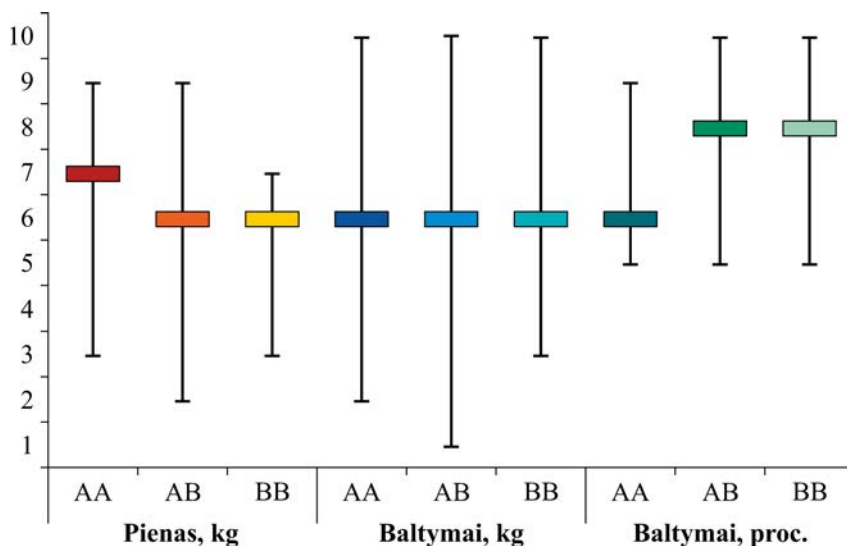
Palyginus laktoglobulino genotipus pagal pieno kiekio genominių baltymų pasiskirstymą, nustatyta, kad 53,0 proc. AA genotipo Lietuvos pieninių karvių, 28,0 proc. AB genotipo Lietuvos pieninių juodmargių karvių 16,1 proc. BB genotipo Lietuvos pieninių karvių pagal pieno kiekio požymį turėjo aukštesnius nei 6 genominius balus. Aukščiausią genominių baltymų pagal pieno kiekį 9 gavo 6,1 proc. AA genotipo karvių ir 2,2 AB genotipo karvių, kurios turi aukštą genetinį potencialą ir geras galimybes selekcijai pagal genomines vertes pieno išėigai didinti. Skirtingų beta laktoglobulino genotipų įtaka pieno kiekiui yra statistiškai reikšminga ($P < 0,01$), beta laktoglobulino A alelis didina pieno primilžį 42 proc. beta laktoglobulino AA genotipo Lietuvos pieninių karvių, 43,1 AB genotipo karvių ir 48,4 proc. BB genotipo karvių turėjo pieno baltymų kiekio genominius balus, didesnius nei 6. Genominį baltymą 10 turėjo 3,2 proc. beta laktoglobulino BB genotipo karvių. Skirtingų beta laktoglobulino genotipų įtaka pieno baltymų kiekiui nebuvo statistiškai reikšminga ($P = 0,66$).

Beta laktoglobulino AA, AB ir BB genotipų Lietuvos pieninės karvės pagal pieno baltymingumo požymį gavo genominius balus nuo 5 iki 10. Aukščiausias genomines vertes pagal pieno baltymingumą turėjo beta laktoglobulino BB genotipo karvės. 44,0 proc. beta laktoglobulino AA genotipo karvių, 85,0 proc. AB genotipo ir 90,4 proc. BB genotipo turėjo pieno baltymingumo genominius balus, aukštesnius nei 6. 9,7 proc. beta laktoglobulino BB genotipo karvių turėjo aukščiausią pieno baltymingumo požymio genominę vertę – 10 balų. Tai rodo geras šių galvijų galimybes selekcijai pagal pageidaujamą požymį. Skirtingų beta laktoglobulino genotipų įtaka pieno baltymingumui pagal genominius balus buvo statistiškai reikšminga ($P < 0,001$), beta laktoglobulino B alelis didina pieno baltymingumą (3.2.2.3.1 pav.).



3.2.2.3.1 pav. Beta laktoglobulino genotipų pasiskirstymas pagal pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genomines vertes

Vidutiniai pieno kiekio genominiai balai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje įvairavo nuo 6,51 balo (AA beta laktoglobulino genotipui) iki 5,42 (BB beta laktoglobulino genotipui), pieno baltymų kiekio genominiai balai įvairavo nuo 6,55 vidutinio balo (BB beta laktoglobulino genotipui) iki 5,96 (AA beta laktoglobulino genotipui), pieno baltymingumo genominiai balai įvairavo nuo 7,94 (BB beta laktoglobulino genotipui) iki 6,50 (AA beta laktoglobulino genotipui). Statistiškai reikšmingai skyrėsi pieno kiekio genominiai balai tarp beta laktoglobulino AA-BB ir AB-BB genotipų ($P < 0,01$) ir pieno baltymingumo genominiai balai tarp beta laktoglobulino AA-BB ir AB-BB genotipų ($P < 0,001$). Beta laktoglobulino A alelis didina pieno kiekį, o B alelis didina pieno baltymingumą (3.2.2.3.2 pav.).

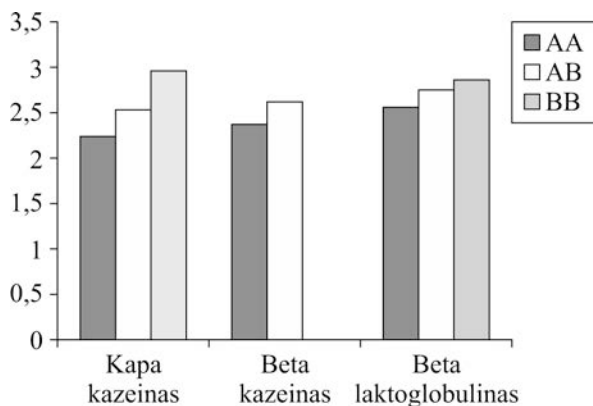


3.2.2.3.2 pav. Beta laktoglobulino genotipų pasiskirstymas pagal vidutines pieno kiekio, baltymų kiekio ir pieno baltymingumo genomines vertes

Faktorinė dispersinė analizė parodė, kad beta laktoglobulino genotipas turi įtakos 8,4 proc. pieno kiekio genetinės variacijos ($P < 0,01$), 1,2 proc. pieno baltymų kiekio genetinės variacijos ir 20,6 proc. pieno procentinio baltymų kiekio genetinio svyravimo ($P < 0,001$).

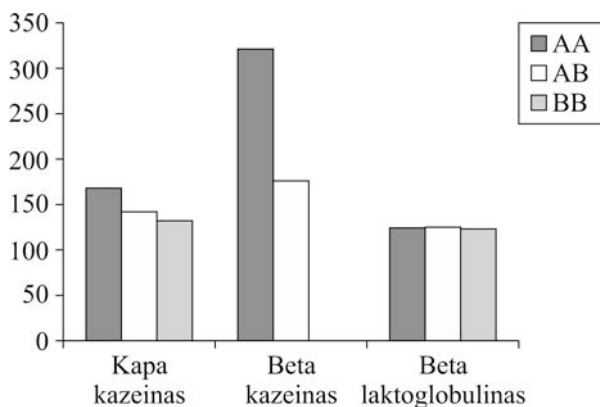
3.2.2.4. Pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino polimorfizmų sąsajos su pieno kokybės rodikliais

Ištyrę kazeino kiekio piene priklausomybę nuo kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genotipų nustatėme, kad kazeino kiekis kito nuo 2,24 g/100 g, kurį turėjo AA kapa kazeino genotipo karvės iki 2,96 g/100 g ir kurį turėjo BB kapa kazeino genotipo karvės. Galimybių santykis, kad BB kapa kazeino genotipo karvės turės didesnę kazeino kiekį piene 1,3. Galimybių santykis, kad BB beta laktoglobulino genotipo ir AB beta kazeino genotipo karvės turės didesnę kazeino kiekį piene 1,1 (3.2.2.4.1 pav.).



3.2.2.4.1 pav. Kazeino kiekio priklausomybė nuo pieno baltymų genotipų

Ištyrę somatinių ląstelių kiekio priklausomybę nuo kapa kazeino, beta kazeino ir betalaktoglobulino genotipo nustatėme, kad somatinių ląstelių kiekis kito nuo 123 tūkst. ląst./100 ml, kurį turėjo BB beta laktoglobulino karvės, iki 321 tūkst. ląst./100 ml, kurį turėjo AB beta kazeino genotipo karvės. Galimybių santykis, kad BB kapa kazeino genotipo karvės turės mažesnę somatinių ląstelių kiekį piene nei BB genotipo 1,27. Galimybių santykis, kad AB beta kazeino genotipo karvės turės mažesnę somatinių ląstelių kiekį piene nei AA genotipo 1,82 (3.2.2.4.2 pav.).



3.2.2.4.2 pav. Somatinių ląstelių kiekio priklausomybė nuo pieno baltymų genotipų

3.3. Galvijų sveikatingumo požymių selekcija pagal genominius žymenis

Duomenys apie genų, lemiančių letalias autosomines recesyvines juodmargių galvijų ligas BLAD, DUMPS ir CVM, Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje pateikti 3.3.1 lentelėje.

BLAD ligą lemiantis alelis su taškine mutacija A→G (383), pasireiškiantis neutrofilų funkcijos pokyčiais, kurie lemia nuolatinius veršelių infekcijų protrūkius, rastas 0,0025 dažniu, heterozigotų individų nustatyta 0,5 proc. tirtojoje populiacijoje.

DUMPS ligą sukeliančio alelio su taškine mutacija C→T (405), pasireiškiančio ankstyvu embrionų mirtingumu dėl uridino monofosfato sintazės trūkumo, tarp tirtųjų galvijų neradome. CVM ligą sukelia mutacija gene SLC35A3 G→T (559), kuri pasireiškia stuburo išsigimimais, karvės abortuoja arba veršeliai gimsta negyvi. Tarp tirtųjų karvių CVM mutuo to alelio dažnis buvo 0,005, heterozigotų individų nustatyta 1 proc. tirtojoje populiacijoje (3.3.1 lentelė).

3.3.1 lentelė. BLAD, DUMPS ir CVM ligų paplitimas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje

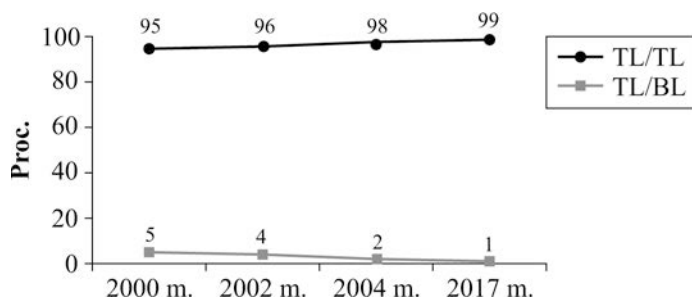
Genetinė liga	Genotipų dažniai			Alelių dažniai	
BLAD/CD18 genas	TL/TL	TL/BL	BL/BL	TL	BL
	0,995	0,005	0	0,9975	0,0025
CVM/SLC35A3 genas	TV/TV	TV/CV	CV/CV	G	T
	0,99	0,01	0	0,995	0,005
DUMPS/UMPS genas	TP/TP	TP/DP	DP/DP	TP	DP
	1	0	0	1	0

CD18 geno genotipai: TL/TL – homozigotas, sveikas, neturintis BLAD sutrikimo; TL/BL – heterozigotas, mutuo to alelio platintojas, bet sveikas, BL/BL – abiejų mutavusių alelių nešiotojas, sergantis.

UMPS geno genotipai: TP/TP – homozigotas, sveikas, neturintis DUMPS sutrikimo; TP/DP – heterozigotas, mutuo to alelio platintojas, bet sveikas, DP/DP – abiejų mutavusių alelių nešiotojas, sergantis.

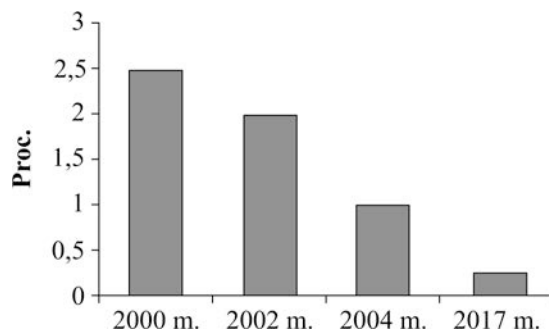
SLC35A3 geno genotipai: TV/TV – homozigotas, sveikas, neturintis CVM sutrikimo; TV/CV – heterozigotas, mutuo to alelio platintojas, bet sveikas, CV/CV – abiejų mutavusių alelių nešiotojas, sergantis.

2000 m. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje buvo rasti 5 proc. heterozigotinių galvijų BLAD geno nešiotojų ir nepageidajamo geno platintojų populiacijoje, 2002 m. – 4 proc., 2004 m. – 2 proc., mes 2017 m. nustatėme 0,5 proc. BLAD geno nešiotojų (3.3.1 pav.).



3.3.1 pav. *BLAD geno paplitimo monitoringas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje 2000–2017 metais*

Pakitusio alelio dažnis, kuriam esant homozigotinės būklės pasireiškia liga, nuo 2000 iki 2017 m. tendencingai mažėjo. Tarp Lietuvoje auginamų pieninių galvijų 2000 m. šio alelio dažnis buvo 0,025, o 2017 m. – tik 0,005 (3.3.2 pav.).



3.3.2 pav. *BL alelio paplitimo monitoringas Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje 2000–2017 metais*

4. TYRIMŲ REZULTATŲ APTARIMAS

Genominės informacijos panaudojimas galvijų genetiniame vertinime atnešė revoliucinių pokyčių pieninių galvijų selekcijoje [12, 62, 64, 204]. Genominėje selekcijoje veislinės vertės nustatymas paremtas šimtų ar tūkstančių molekulinį žymenų, o ne paties gyvulio ar jo tėvų bei protėvių informacija. Naudojant molekulinius žymenis, tikslios veislinės vertės gali būti nustatytos abiejų lyčių galvijams ankstyvajame amžiuje, o tai yra naudinga mažinant kartų intervalą, praleidžiant vertinimo pagal palikuonis etapą [12, 205]. Genominė selekcija suteikia daug privalumų gerinant genetinį pieninių galvijų produkcijos ypatybių potencialą. Svarbiausi veiksniai, skatinantys greitesnį genetinio potencialo didinimą, yra didesnis jaunų gyvulių prognozuojamos genetinės vertės tikslumas, trumpesnis intervalas tarp kartų, nes intensyviau naudojami jauni, aukštos genetinės vertės patelės ir patinai; padidėjęs selekcijos intensyvumas, nes veisėjai gali atlikti genominius tyrimus, kad būtų galima patikrinti didesnę potencialiai elitinių gyvulių, esančių jauno amžiaus, grupę. Padidinus selekcijos tikslumą ir intensyvumą ir sumažinus intervalus tarp kartų, ekonomiškai svarbių pieno produkcijos požymių genetinės pažangos greitis gali būti maždaug dukart padidintas. Pieninių galvijų genominė selekcija pritaikyta daugelyje valstybių, garsėjančių dideliu pieno produkcijos kiekiu [68–71].

Pieninių galvijų genomei selekcijai naudojamos įvairaus tankio DNR mikrogardelių technologijos. Mes genomei selekcijai naudojome pieninio galvio genominio vertinimo sistemą „Igenity“ [206]. Sistema „Igenity“ leidžia vykdyti genomine selekcija ir atskiroje galvijų bandoje, veislėje ir visoje populiacijoje. Genominė selekcijos sistema „Igenity“ naudoja DNR informaciją, ji padeda suprasti ir valdyti gyvulių potencialą turėti ir perduoti ekonomiškai svarbius požymius. „Igenity“ pieninių galvijų profilis parodo gyvulių genetinį potencialą, ištirtą naudojant DNR esančius vieno nukleotido polimorfizmus kaip daugybę žymenų, ir paverčiamas į pieninės formos, pieno kiekio, riebalų kiekio, riebalų procento, baltymų kiekio ir baltymų procento, somatinių ląstelių kiekio, pieninės formos genominius balus. Genominio profilio koreliacija su fenotipiais požymiais buvo ištirta keturiose galvijų populiacijose skirtingoms galvijų veislėms, laikomoms skirtingomis sąlygomis, individų skaičius populiacijoje svyravo nuo 4 000 iki 6 000 galvijų panaudojant daugialypį statistinį modelį [206].

Mūsų tyrimai parodė, kad Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje nustatyti vidutiniai genominiai balai pieno kiekiui – 6,01, baltymingumui – 7,26, baltymų kiekiui – 6,18, riebumui – 5,80, riebalų kiekiui – 6,19, produktyvaus amžiaus požymiui – 6,26, somatinių ląstelių skaičiui – 5,38 ir

pieninei formai – 5,18 koreliuoja su tarptautinės pieninių galvijų populiacijos, genominiiais profiliais. Nustatėme, kad Lietuvos pieninių galvijų vidutinė genominė vertė kai kuriems požymiams buvo didesnė nei vidutiniai genominiai balai tarptautinėje pieninių galvijų populiacijoje, pavydžiui, pieno riebalų kiekio požymiui – 0,09 genomio balo, pieno kiekiui – 1,49 balo, pieno baltymų kiekiui – 0,78 balo, pieninei formai – 0,11 balo.

Pieno, riebalų ir baltymų kiekiai rutiniškai yra matuojami jau šimtmetį. Kiekybiniai požymiai turėjo skirtingą ekonominę reikšmę skaičiuojant bendrąjį pelną [207], tačiau pageidaujamas šių požymių progresas priklauso nuo jų vidutinio paveldimumo [208]. Ankščiau buvo naudojami skirtingi selekcijos metodai, nuo paprasto fenotipinio įvertinimo iki geriausio linijinio objektyvaus prognozavimo (BLUP). Selekcijos perversmas įvyko, kai buvo pradėtas taikyti genominės selekcijos metodas. Vieno nukleotido polimorfizmo žymenys, naudojami „Igenity“, identifikuoja genetines variacijas, kurios padeda reguliuoti pieno kiekį, baltymų ir riebalų kiekį, nemažinant vaisingumo ir nedidinant inbrydingo [209, 210].

Pieninės formos analizė parodė, kad karvės, turinčios aukštus pieninės formos balus, yra labiau linkusios į medžiagų apykaitos, reprodukcijos ir kanopų bei kojų ligas. Tirtuojoje Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje žemą pieninę formą, turėjo 8,5 proc. galvijų. Pieninė forma yra glaudžiai susijusi su produktyviuoju amžiumi, ypač dėl jo poveikio reprodukcinėms ypatybėms. Gyvuliai, „Igenity“ profilyje gavę 10 balų pieninei formai, turės žemą pieninę formą – gerą ilgaamžiškumo rodiklį. Kiekvienas papildomas produktyvaus amžiaus mėnuo gali būti paverčimas į pridėtinę vertę karvei per papildomą produkciją.

Produktyvus amžius [211] – tai gyvulio ilgaamžiškumo rodiklis, pagrįstas tuo, kiek laiko karvė laktuoja pieną per savo gyvenimą. Ilgiau gyvenantys gyvuliai paprastai yra pelningesni nei trumpiau gyvenantys, ypač kai auginimo kaina nuo gimimo iki laktacijos laikotarpio yra didelė. Produktyvaus amžiaus paveldimumas yra palyginti žemas ($h^2 = 0,08$), ir selekcijos tikslumas jaunų gyvulių, kurie turi mažai palikuonių su tiesioginiais skerdimo duomenimis, paprastai yra žemas [212]. Nepaisant šių iššūkių, požymis turi didelę ekonominę vertę ir šiuo metu 22 proc. dėmesio skiriama šiam požymiui kombinuotame ekonominiame indekse. Tirtuoje Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje aukštus produktyvaus amžiaus genominius balus, svyruojančius nuo 8 iki 10, nustatėme 23 proc. tirtųjų galvijų. Produktyvus amžius turi stiprią koreliaciją su vaisingumu ir kitais geros fizinės būklės požymiais.

Somatinių ląstelių kiekis (SLK) yra daugelio gamintojų pelno varomoji jėga ir potencialus mastito rodiklis. Tai yra tešmens sveikatos matas, apskaičiuojamas pagal somatinių ląstelių skaičių, kuris yra susijęs su pieno liaukų

infekcija, mastitu. SLK yra svarbus rodiklis, nes jis stipriai susijęs su klinikiu ir subklinikiu mastitu ir jį daug lengviau įvertinti nei pieninių galvijų mastitą [213, 214]. Jautrumas mastitui pieno pramonėje turi didelę ekonominę reikšmę dėl nuostolių, susijusių su sumažėjusia pieno gamyba, netinkamu vartoti pienu, ankstyvu brokavimu, padidėjusiomis veterinarinės priežiūros ir gydymo išlaidomis ir pakaitinių gyvulių kaina [215]. Kadangi „Igenity“ profiliai gali būti nustatomi bet kuriame galvijo amžiuje, SLK „Igenity“ analizė gali būti naudojama norint identifikuoti veršelius ir telyčias, kurios potencialiai gali turėti didelį SLK ir taip pat jautrumą mastitui, iki patenkant į bandą. Gyvulys, kurio balas yra 10, gali būti labiau jautrus mastitui nei gyvulys su genominiu balu 1.

Somatinių ląstelių skaičiui pageidaujamus žemus genominius balus, svyruojančius nuo 1 iki 3, nustatėme 16,0 proc. Lietuvos pieninių galvijų populiacijos.

Genominės selekcijos efektyvumas priklauso nuo telyčių, kurias pasirenkame pakeitimui, genominės vertės. Vertindamas telyčių bandą, jei genominė telyčių vertė yra per žema, ūkininkas gali nuspręsti įsigyti telyčių, turinčių tam tikrą genominę vertę atskiriems požymiams, priklausomai nuo pasirinktos selekcijos krypties [216]. Įvertinę Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje karvių ir telyčių pasiskirstymą pagal genominius balus, nustatėme, kad aukštus pieno kiekio požymio genominius balus (8–10), rodančius potencialą aukštam primilžiui, turėjo 7,1 proc. daugiau telyčių nei karvių ($P < 0,05$). 14,0 proc. daugiau telyčių nei karvių turėjo vidutinius somatinių ląstelių skaičiaus požymio genominius balus (5–6), rodančius atsparumą mastitui. 11,6 proc. ir 4,5 proc. daugiau telyčių nei karvių turėjo vidutinius pieno baltymingumo ir pieno riebumo požymių genominius balus (5–6) ($P < 0,05$). Aukštesni telyčių nei karvių genominiai balai rodo, kad Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje yra genetinis potencialas genominei selekcijai vykdyti.

Genominės selekcijos, kaip naujos priemonės, naudojimas veisiant galvijus duoda didelę ekonominę naudą [217]. Genominės selekcijos pritaikymas JAV sumažino intervalą tarp kartų šešeriais metais. Šis laimėjimas prisidėjo prie visų kitų pokyčių raidos. Analizė parodė, kad genetinis galvijų pagerinimas padidino pieno, riebalų ir baltymų kiekį, kai buvo pradėta taikyti genominė selekcija. Pasiektas pieno, riebalų ir baltymų kiekių padidėjimas atitinkamai 71, 111 ir 81 proc. [205]. Tyrimuose su genomio veisimo schemų modeliavimu taikant vertes nuo maždaug 20 [42] iki 100 proc. [67], atskleidžiama, kad genetinės naudos didėjimas priklauso nuo selekcijos intensyvumo ir tyrimuose numanomo kartos intervalo. Palyginę du genominės selekcijos modelius Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje, nustatėme, kad vykdant genominę selekciją tik pieno kiekio didinimo krypti-

mi, prognozuojamas pieno kiekis padidėjo 21 proc., tačiau pablogėjo kiti svarbūs pieninių galvijų požymiai – sumažėjo pieno riebumo bei pieno baltymingumo genominis potencialas, padidėjo somatinių ląstelių genominis balas.

Vykdamt genominę selekciją visų pieninių požymių gerinimo kryptimi, suteikiant jiems vienodą svarbą, pieno kiekis sumažėjo 4proc., tačiau kitų selekcionuojamų požymių pridėtinė vertė padidėja: pieno riebumo padidėjo 12 proc., produktyvaus amžiaus 14 proc., somatinių ląstelių kiekio sumažėjo 15 proc. Tai parodo, kad karvės mažiau jautrios mastitui.

Genominiai pieninių galvijų profiliai gali būti įtraukti į tarptautinę pieninių galvijų genominių profilių duomenų bazę. Tada ūkininkas gali nustatyti savo atskiroy gyvulio ar net visos bandos vietą pagal jos genetinį potencialą, palyginti su beveik 500 000 individų tarptautinėje duomenų bazėje genominiiais profiliais.

„Igenity“ profilio išsamumas leidžia stebėti požymius, kurie svarbiausi rentabilumui. Naudojant patologią balų sistemą kartu su pateiktas genominiiais įvertinimais galima palyginti ir stebėti genetinį progresą bandoje. Gyvulių ištyrimas ankstyvajame amžiuje yra stiprus genetinis pagrindas daugybei veisimo, atrankos ir valdymo sprendimų. Galvijų įvertinimas pagal genominius profilius leidžia atrinkti galvijus su geriausiais genomio profilio variantais pagal visus pieninių galvijų požymius, t.y. gyvulius su aukščiausiomis genominėmis vertėmis [218].

Vykdamt galvijų selekciją svarbūs ne tik kiekybiniai požymiai, kurių genetinis potencialas didinamas taikant genominės selekcijos metodą, bet ir kokybiniai požymiai, kurių fenotipiniai pokyčiai priklauso nuo vieno geno polimorfizmo. Vieni iš tokių svarbių galvijų kokybinių požymių yra pieno baltymai kapa kazeinas, beta kazeinas, beta laktoglobulinas, kurių skirtingi variantai skirtingai veikia pieno technologines ypatybes, tinkamumą sūrių ir varškės gamybai. Vienas iš modernių būdų pagerinti pieno kokybę yra genetinis arba biotechnologinis metodas, MAS (selekcija pagal genetinius žymenis) [79, 219].

Norint turėti tikrai aukštos veislinės vertės gyvulį nustatant genominį pieninio galvijo profilį ištiriami ir pieno kokybę lemiantys genetiniai pieno baltymų žymenys [220].

Pieno baltymų polimorfizmo tyrimai vystėsi įvairiomis kryptimis siekiant ištirti cheminę pieno baltymų evoliuciją ir rasti įmanomų panašumų su kitais baltymais, patvirtinti ryšius tarp skirtingų rūšių ar veislių, fiksuoti pakitimus, vykstančius laike ar erdvėje tam tikroje gyvulių populiacijoje, suprasti genetinių variantų biologinę svarbą. Naujų šiuolaikinių biomolekulinių metodų naudojimas atvėrė naujų galimybių pieno baltymų polimorfizmo tyrimuose.

Sąsajos tarp pieno baltymų polimorfizmo, produkcijos ypatybių, pieno sudėties ir pieno perdirbimo ypatybių bei skirtingų baltymų lokusų poveikio kiekybiniais požymiais buvo ištirtos ir aprašytos keliuose tyrimuose [83, 90, 111, 221]. Kapa kazeino ir beta kazeino A alelis yra susijęs su didesne pieno išeiga [78], daugiausiai pieno pagamina AA genotipą ir AB genotipą turintys galvijai. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje nustatėme, kad kapa kazeino ($P<0,05$), beta kazeino ($P<0,05$) ir beta laktoglobulino ($P<0,01$) A alelis didina pieno kiekį ($P<0,05$). Pieno kiekio aukščiausius genominius balus Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje turėjo beta laktoglobulino AA genotipo karvės – 6,51 genominio balo. Per tyrimus pastebėta, kapa kazeino ir beta kazeino B alelio ir BB genotipo svarba pieno technologinėms ypatybėms [86, 88, 93, 95, 96]. Pieniniams galvijams kapa kazeino ir beta kazeino B variantas yra susijęs su didesniu baltymų kiekiu, geresne varškės kokybe ir padidėjusia sūrio išeiga. Lietuvos pieninių galvijų produkcijos požymių genominių verčių koreliacija su pieno baltymų genotipais parodė, kad kapa kazeino, beta kazeino ($P<0,001$), beta laktoglobulino ($P<0,001$) B alelis didina pieno baltymingumą. Aukščiausiu pieno baltymų kiekio ir baltymingumo genominius balus Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje turėjo beta kazeino AB genotipo karvės – 6,64 genominio balo ir 8,73 genominio balo atitinkamai. B alelis yra susijęs su pieno atsparumu temperatūrai, trumpesniu koaguliacijos laiku. Dėl trumpesnio mažų micelių formavimosi laiko varškė būna pakankamai tvirta [78, 222]. O AA genotipą turinčių galvijų piene yra mažesnė kapa kazeino ir beta kazeino koncentracija ir formuojasi didelės micelės, dėl to sumažėja varškės išeiga [223]. Nors pats beta laktoglobulinas nedalyvauja nekaitinto pieno fermentiniame koaguliacijos procese, buvo įrodyta, kad beta laktoglobulino genetiniai variantai gali turėti įtakos žalio pieno koaguliacijos ypatybėms [147]. Nustatyta, kad beta laktoglobulino B alelis yra susijęs su didesne sūrių išeiga, nei beta laktoglobulino A alelis. Per kelis tyrimus buvo pastebėtas reikšmingas beta laktoglobulino A ir B alelių poveikis baltymų kiekiui, baltymų sudėčiai ir kazeino kiekiui piene [85, 148]. Keli tyrimai patvirtino, kad beta laktoglobulino polimorfizmas turi įtakos ne tik pieno perdirbimo ypatybėms, bet ir produkcijos ypatybėms, tokioms kaip pieno kiekis, baltymų procentinis kiekis piene ir pieno baltymų kiekis kilogramais [153]. Lietuvos pieninių galvijų populiacijos tyrimai parodė, kad beta laktoglobulino genotipas turėjo 8,4 proc. įtakos pieno kiekio genetinei variacijai ($P<0,01$), 1,2 proc. pieno baltymų kiekio genetiniams pokyčiams ir 20,6 proc. pieno baltymingumo genetiniam svyravimui ($P<0,001$).

Manoma, kad kapa, beta kazeino ir beta laktoglobulino genotipų identifikavimas gali būti ekonomiškai svarbus selekcinis kriterijus formuojant pienines bandas, skirtas pramoninei pieno produktų gamybai [224].

Tarp galvijų labiausiai paplitę yra kapa kazeino A ir B aleliai, nors iš viso identifikuota net 11 alelių [86, 88, 110, 112, 113, 118]. Daugelyje pieninių galvijų veislių kapa kazeino A alelis randamas dideliu dažniu, kaip ir mūsų tyrimuose. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje kapa kazeino A alelį radome 0,724 dažniu, panašiu dažniu jis rastas Kinijos holšteinų, simentalių [102, 117], holšteinų, veisiamų Indijoje, Rusijos juodmargių ir Rusijos žалуjų, Kolumbijos holšteinų galvijų [223], Turkijos pilkųjų veislėse [86]. B aleliui skiriamas didelis dėmesys, nes jis yra susijęs su pieno technologinių ypatybių gerinimu. Intensyviai vykdoma selekcija atrenkant BB genotipą turinčias karves ir formuojant specifines galvijų bandas, kurių pienas tinkamas sūrių pramonei [90, 147]. Kapa kazeino B alelis dideliu dažniu rastas Italijos, Prancūzijos, Vokietijos, Jungtinės Karalystės (0,400–0,840) galvijams, Rumunijos vietinių, džersių, simentalių veislėse [110, 116, 118], mažesniu dažniu Turkijos (0,2979–0,3452), Kroatijos (0,130–0,460), Lenkijos (0,33) ir Belgijos (0,190–0,280) galvijams [113], kaip ir mūsų gautais tyrimų rezultatais Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje (0,224), mažu dažniu – Turkijos pilkiesiems ir aišyrams [86, 113]. Lietuvoje kapa kazeino geno polimorfizmas ankstesniais metais buvo tirtas keturiose galvijų veislėse. Pageidaujamo sūrių pramonėje kapa kazeino baltymo B alelio aukščiausias dažnis buvo nustatytas Lietuvos žалуjų galvijų veislėje [158].

Pieno baltymo beta kazeino pieno pramonėje pageidaujamas B alelis ir BB genotipas dažniausiai randamas galvijams žemu dažniu. Tarp Estijos pieninių holšteinų B alelis aptiktas 0,024 dažniu [138], Vokietijos holšteinų – 0,026 dažniu [139], Čekijos pieninių galvijų 0,008 – dažniu [83]. Kaip ir kiti tyrėjai, Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje radome B alelį žemu dažniu 0,032. Beta kazeino B alelio žemas dažnis nustatytas JAV gersio veislei (0,010–0,020) [225], herefordų veislei (0,010–0,060) [226], Turkijos pilkiesiems (0,029) [86]. Džersio veislėje Vokietijoje beta kazeino B alelis rastas šiek tiek aukštesniu 0,186 dažniu [139], taip pat Danijoje rastas 0,219 dažniu [114]. Beta kazeino A alelis ir AA genotipas, lemiantis didesnę pieno primilžį, kitų tyrėjų ir mūsų tyrimų rezultatais, rastas vyraujantis Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje.

Kaip ir kapa bei beta kazeinai, beta laktoglobulinas yra vienas iš pieno baltymų, svarbių pieno pramonei dėl poveikio pieno technologinėms ypatybėms. Nustatyta 15 skirtingų beta laktoglobulino alelių, bet A ir B aleliai yra labiausiai paplitę [161, 227]. BB genotipą turėjo 29 proc. Šveicarijos žalujų galvijų, 49 proc. Siršyrų veislės galvijų, 45 proc. Džersio veislės galvijų, 74 proc. Egipto vietinių pieninių galvijų [155]. Irano vietiniams galvijams beta laktoglobulino B alelis nustatytas 0,77 dažniu [154], Čekijos Fleckvicho galvijams – 0,489 dažniu [83]. Aukštas beta laktoglobulino B alelio dažnis

buvo nustatytas Holšteinų veislės galvijams Turkijoje (0,49–0,66) [86, 153, 157], Irane (0,47) [154], Serbijoje (0,48) [150, 153], Estijoje (0,68) [138], Egipte (0,87) [155], Kinijoje [110, 152]. Argentinos holšteinams [112], kaip ir mūsų tyrimuose tarp Lietuvos pieninių galvijų, B alelis randamas panašiu dažniu (0,57), BB genotipą turėjo 27,3 proc. galvijų. Šiek tiek žemesnis dažnis – Lenkijos (0,34) ir Tailando (0,29) holšteinams.

Pienas turi antikancerogeninį, imunomoduliacinį, antimikrobinį, antikariogeninį, antihipertenzinį ir hidrocholesteroleminį poveikį [228]. Tačiau, be teigiamų kokybinių pieno ypatybių, pieno baltymų sudėtis gali turėti neigiamos įtakos žmonių sveikatai. Du pagrindiniai aspektai yra galvijų pieno hipoalerginės ypatybės ir peptidų išsiskyrimas per biologines funkcijas, dėl pieno baltymų fermentinės proteolizės maisto skaldymo metu virškinamajame trakte [88, 140]. Virškinamajame trakte iš baltymo beta kazeino A1 ir B variantų veikiant fermentams suformuojamas beta kazeomorfinas (BCM), kuris priklauso opioidinių peptidų grupei ir gali padidinti žmonių riziką susirgti kai kuriomis ligomis: išemine širdies liga, diabetu, ateroskleroze, staigios kūdikių mirties sindromu, autizmu, šizofrenija [131–136]. Todėl aktualu identifikuoti beta kazeino A1 ir A2 alelius, kad būtų galimybė atrinkti karves, turinčias tik A2A2 genotipą, ir iš tokių galvijų gaminti funkcinį pieną. Toks specifinis pienas ir jo produktai gaminami Naujojoje Zelandijoje ir Australijoje. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje A1 alelį radome 0,261 dažniu, A2 alelį – 0,739 dažniu. Archajiškoje Lietuvos šėmųjų veislėje A1 alelį turėjo 52 proc. karvių, A2 alelį – 48 proc. karvių. Archajiškoje Lietuvos baltnugarių galvijų veislėje A1 alelį turėjo 38 proc. karvių, A2 alelį – 62 proc. karvių. Rastas dideliu dažniu Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje beta laktoglobulino A2 alelis sudaro labai palankias sąlygas vykdyti teigiamą selekciją šio alelio atžvilgiu ir formuoti galvijų bandas, kurios gamins A2A2 pieną, kuris turi didelę pasaulio rinkos nišą.

Genominė selekcija vykdoma ne tik gerinant galvijų produktyvumo, reprodukcijos, pieno kokybės požymių genetinį potencialą, bet ir vertinant galvijų sveikatingumo požymius. Pieninių galvijų populiacijoje dėl tarptautinio nedidelio aukštos genetinės vertės reproduktorių naudojimo, kurie buvo ir recesyvinių, genetinių ligų alelių nešiotojai, žymiai sumažėjo genetinė įvairovė, daugelis genų perėjo į homozigotinę būseną ir dėl to pieninių galvijų populiacijoje pradėjo intensyviai reikštis genetinės ligos, nešančios didelius ekonominius nuostolius, nes daugelis jų yra letalios. Atlikus galvijų letalių genetinių ligų BLAD, DUMPS ir CVM paplitimo pieninių galvijų populiacijoje retrospektyvinį įvertinimą nustatyta, kad, CVM ir BLAD yra vieni dažniausiai pasitaikančių paveldimų genetinių defektų, atsiradusių Holšteinų veislės galvijams per pastaruosius dešimtmečius. Tyrėjai nustatė, kad BLAD alelio dažnis 2000 m. pasiekė 24 proc., o CVM alelių dažnis

Vokietijos holšteinų populiacijoje nuo 2001 iki 2007 m. svyravo nuo 9 iki 16 proc. [169].

Galvijų BLAD ligą lemiantis alelis BL (A→G, 383), pasireiškiantis neutrofilų funkcijos pokyčiais, kurie lemia nuolatinis veršelių infekcijų protrūkių, Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje rastas 0,025 dažniu, heterozigotinių galvijų BL/TL ligą lemiančio alelio nešiotojų ir platintojų nustatyta 0,5 proc., homozigotinių galvijų BL/BL, sergančių BLAD, nerasta. Lietuvoje 2000 m. rasta 6,7 proc. BLAD ligą lemiančio pakitusio geno nešiotojų tarp rinktinių karvių. Iš 146 tirtųjų bulių rasti 4 nešiotojai. 2002 m. nešiotojų rasta 3 proc. tarp rinktinių karvių, o 2004 m. – 2 proc. tarp rinktinių karvių ir 1 buliukas. Visi veisliniai buliai, buliukai ir rinktinės karvės, kurie naujai patenka tarp veislinių gyvulių, yra privalomai tiriami dėl BLAD sutrikimo [30]. Panašus BL alelio dažnis rastas ir tarp Čekijos galvijų – 0,82 proc. [187], Turkijos holšteinų – 0,84 proc. [229], Kinijos holšteinų – 0,69 proc. [230]. Tačiau BL alelis daug didesniu dažniu nustatytas Indijos holšteinų-fryzų galvijams – 2,99 proc. [231], Irano holšteinams – 03,3 proc. [232], Amerikos holšteinams – 8,2 proc. [233], Lenkijos holšteinams-fryzams – 7,9 proc. [203], Turkijos holšteinų karvėms – 4,0 proc. [234].

Galvijų DUMPS ligą sukeliantis alelio DP (C→T, 405), pasireiškiantis ankstyvu galvijų embrionų mirtingumu dėl uridino monofosfato sintazės trūkumo, Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje nenustatytas. Turkijoje taip pat nebuvo nustatyta DUMPS genetinio sutrikimo nešiotojų [184, 229, 234]. Panašūs rezultatai gauti ir kitų pasaulio mokslininkų Lenkijoje [182], Čekijoje [187], Vokietijoje [235], Indijoje [231], Irane [236] ir Rumunijoje [237]. Tačiau mutantinis DUMPS ligos alelis 1–2 proc. dažniu buvo nustatytas JAV holšteinų veislės galvijams 0,96 proc. Argentinos holšteinų buliams [234], Kinijos holšteinų galvijams – 0,06 proc. [186].

Galvijų CVM ligą sukeliantis alelis CV (G→T, 559), pasireiškiantis embriono stuburo išsigimimais, Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje rastas 0,005 dažniu, heterozigotinių galvijų CV/TV, ligą lemiančio alelio nešiotojų ir platintojų nustatyta 1 proc., homozigotinių galvijų CV/CV, sergančių CVM, nerasta. Turkijoje auginamų holšteinų veislės galvijų CVM mutavusio alelio nešiotojų dažnis yra 3,4 proc., Kinijos pieno galvijų populiacijoje buvo 3,86 [188]. Dideliu dažniu CV alelis rastas Danijoje 31,0 proc. [189], Lenkijoje – 24,8 proc. [238], Japonijoje – 32,5 proc. [239], Švedijoje – 23,0 proc. [240] ir Vokietijoje – 13,2 proc. [241], Kinijoje – 15 proc. [191]. Nuo 2000 m. daugelyje šalių buvo vykdomos veisimo programos siekiant sumažinti CVM nešiotojų paplitimą. Taigi kai kuriose holšteinų populiacijose CVM sutrikimo nešiotojų dažnis vis dar yra didelis. Ištyrus Irano holšteinus, nebuvo identifikuota heterozigotinių galvijų [242]. Tai gali būti siejama su

mažu bulių, CV alelio nešiotų, naudojimu veislei formuojantis ir vykdant tolesnę selekciją.

Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje galvijų paveldimų letalių ligų, kurias lemia recesyviniai genai, nešiotų ir platintų kiekis sumažėjo dėl intensyvios selekcinės programos, pašalinant karves BLAD geno nešiotas ir nenaudojant sėklinimui BLAD, DUMPS ir CVM heterozigotinių bulių. BL alelio galvijų nešiotų sumažėjo nuo 6 proc. 2000 m. iki 0,5 proc. 2017 metais.

Genominės selekcijos taikymas pasauliniu mastu iš esmės pakeičia galvijų veisimo programas. Ši nauja selekcijos priemonė yra ypač naudinga pieninių galvijų veisimo programose, nes nebėra poreikio turėti visų galimų selekcijos kandidatų artimų giminaičių fenotipinių rodiklių. Pieninių galvijų veisimo programose genominė selekcija leidžia veisėjams nustatyti genetiškai geriausius galvijus ankstyvajame amžiuje. Galvijai, kuriems buvo iširta DNR, gali gauti tikslią genomiškai įvertintą veislinę vertę, kol jie pasieks lytinę brandą. Taip mažėja kartų intervalai ir didėja genetinė pažanga visiems tiksliniams požymiams [12, 63, 65, 243].

IŠVADOS

1. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje ištirus pieninių galvijų genominius profilius nustatyti vidutiniai genominiai balai pieno kiekiui 6,01, baltymingumui – 7,26, baltymų kiekiui – 6,18, riebumui – 5,80, riebalų kiekiui – 6,19, produktyvaus amžiaus požymiui – 6,26, somatinių ląstelių skaičiui – 5,38 ir pieninei formai – 5,18. Telyčių aukštesni genominiai balai nei karvių rodo, kad Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje yra genetinis potencialas vykdyti genominę selekciją ($P < 0,05$).
2. Palyginus Lietuvos pieninių galvijų genominius profilius su tarptautinės pieninių galvijų populiacijos genoמו tyrimo duomenimis, nustatyta, kad Lietuvos pieninių galvijų vidutinis genominis potencialas yra didesnis pieno riebalų ir baltymų kiekio požymiui, pieno primilžiui ir pieninei formai. Lietuvos pieniniai galvijai gavo vidutinį aukštesnį genominių balų somatinių ląstelių skaičiui, rodantį, kad karvės turi didesnę genetiškai nulemtą jautrumą mastitui.
3. Įvertintas pieninių galvijų genominis potencialas, taikant įvairius genominės selekcijos modelius, parodė, kad vykdant genominę selekciją tik pieno kiekio didinimo kryptimi, karves pakeitus genomiškai įvertintomis geriausiomis telyčiomis, vidutinis bandos genominis balas pakilo nuo 5,50 iki 6,41, bet, išskyrus pieno kiekio padidėjimą, genetinis kitų svarbių pieninių galvijų požymių potencialas sumažėjo. Vykdamas genominę selekciją visų pieninių požymių gerinimo kryptimi, suteikiant jiems vienodą svarbą, vidutinis bandos genominis balas padidėjo nuo 6,08 iki 6,45 su geresniu visų požymių genominiu potencialu.
4. Įvertintas ekonominis efektas, taikant įvairius genominės selekcijos modelius, parodė, kad vykdant genominę selekciją tik pieno kiekio didinimo kryptimi už pieno kiekio padidėjimą gautume 27 proc. daugiau pajamų, bet nuostolius neša pieno riebumo ir pieno baltymingumo sumažėjimas bei somatinių ląstelių skaičiaus padidėjimas. Vykdamas genominę selekciją visų pieninių požymių gerinimo kryptimi pieno kiekio sumažėjimas neša 5 proc. nuostolių, bet produktyvaus amžiaus pailgėjimas atneša 14 proc. pelno, taip kaip ir visų kitų požymių genominio potencialo padidėjimas.
5. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje pieno baltymo kapa kazeino BB genotipą, gerinantį pieno technologines savybes, turėjo 22,4 proc. tirtųjų karvių, beta laktoglobulino BB genotipą – 54,4 proc. karvių, karvių su beta kazeino BB genotipu nerasta. Lietuvos pieninių galvijų popu-

liacijoje identifikuoti du pieno baltymo beta kazeino A alelio variantai – A1 ir A2 aleliai. A1 alelis, rastas 0,261 dažniu, A2 alelis rastas 0,739 dažniu. A2A2 genotipą, tinkamą funkcinio pieno bei jo produktų gamybai, turėjo 52 proc. karvių, turinčių puikias selekcijos ir specifinių galvijų bandų formavimo galimybes.

6. Įvertinus pieno baltymų kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino genų polimorfizmų sąsajas su produkcijos savybių genominėmis vertėmis nustatyta, kad kad kapa kazeino, beta kazeino ir beta laktoglobulino ($P < 0,05$) A alelis didina pieno kiekio genominį potencialą, o B alelis didina pieno baltymingumą ($P < 0,001$).
7. Ištyrę kazeino ir somatinių ląstelių kiekio piene priklausomybę nuo kapa kazeino, beta kazeino ir betalaktoglobulino genotipų nustatėme, kad BB genotipas didina kazeino kiekį. Nustatėme, kad kapa kazeino BB genotipo karvės turi 1,3 karto didesnę galimybę produkuoti daugiau kazeino piene ir 1,27 karto didesnę galimybę turėti mažesnę somatinių ląstelių kiekį piene bei pagerinti tešmens sveikatingumą nei AA genotipo ir AB karvės.
8. Atlikus galvijų letalių genetinių ligų BLAD, DUMPS ir CVM paplitimo pieninių galvijų populiacijoje įvertinimą rasta Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje BLAD geno nešiotojų 0,5 proc., CVM geno nešiotojų – 1 proc., DUMPS geno nešiotojų nerasta. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje paveldimų letalių ligų, kurias lemia recesyviniai genai, nešiotojų ir platintojų populiacijoje kiekis sumažėjo dėl intensyvios selekcinės programos, pašalinant karves mutuoto geno nešiotojas ir nenaudojant sėklinimui BLAD, DUMPS ir CVM heterozigotinių bulių.

REKOMENDACIJOS

Rekomenduojame taikyti genominės selekcijos metodą kaip naują įrankį galvijų veisime, nešantį didelę ekonominę naudą tiek atskiroje galvijų bandoje, tiek atskiroje veislėje ar populiacijoje. Galvijų įvertinimas pagal genominius profilius sudaro galimybes atrinkti galvijus, turinčius geriausius genominio profilio variantus pagal visus pieninius galvijų požymius, t. y. aukščiausios veislinės genominės vertės gyvulius. Genominio profilio rezultatus rekomenduojame naudoti nustatant veislinę genominę gyvulių vertę; reitinguojant gyvulius bandose, veislėse, populiacijose, priimant sprendimus dėl gyvulių brokavimo; vykdant ankstyvą telyčių ir buliukų atranką; vykdant bulių motinų, atranką; įvertinant esamą bandos, veislės, populiacijos genetinį potencialą ir numatant genetinės pažangos kryptis.

LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Henderson CR. Best Linear Unbiased Estimation and Prediction under a Selection Model. *Biometrics*. 1975; 31:423-447.
2. Georges M, Nielsen D, Mackinnon M, Mishra A, Okimoto R. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*. 1995; 139:907-920
3. Lande R, Thompson R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*. 1990; 124:743-756.
4. Meuwissen THE, Goddard ME. Mapping multiple QTL using linkage disequilibrium and linkage analysis information and multitrait data. *Genetics Selection Evolution*. 2004; 36:261-279.
5. Dekkers JCM. Prediction of response to marker-assisted and genomic selection using selection index theory. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2007; 124:331-341.
6. Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics*. 2001; 157:1819-1829.
7. Haley CS, Visscher PM. Strategies to utilize marker-quantitative trait loci associations. *Journal of Dairy Science*. 1998; 81(Suppl 2):85-97.
8. Gianola D, de los Campos G, Hill WG, Manfredi E, Fernando R. Additive Genetic Variability and the Bayesian Alphabet. *Genetics*. 2009; 183:347-363.
9. Calus MPL, Meuwissen THE, De Roos APW, Veerkamp RF. Accuracy of genomic selection using different methods to define haplotypes. *Genetics*. 2008; 178:553–561.
10. Daetwyler D, Villanueva B, Woolliams JA. Accuracy of Predicting the Genetic Risk of Disease Using a Genome-Wide Approach. *Plos one*. 2008; 3(10):1-8.
11. Goddard ME. Genomic selection: prediction of accuracy and maximisation of long term response. *Genetica*. 2009; 136:245-257.
12. Schaeffer LR. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2006; 123:218-223.
13. Dekkers JCM. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*. 2004; 82(Suppl E):313-328.
14. VanRaden PM, Van Tassell CP, Wiggans GR, Sonstegard TS, Schnabel RD, Taylor JF, Schenkel FS. Invited review: Reliability of genomic predictions for North American Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92:16-24.
15. Hayes BJ, Visscher PM, Goddard ME. Increased accuracy of artificial selection by using the realized relationship matrix. *Genetic Research*. 2009; 91:47-60.
16. David WB. The cattle genome reveals its secrets. *Journal of Biology*. 2009; 8(36):1-5.
17. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase – catalyzed reaction. *Methods in Enzymology*. 1987; 155:335–350.
18. Beckmann JS, Soller M.. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs. *Theoretical and Applied Genetics*. 1983; 67(1):35–43.
19. Kirby LT. DNR Fingerprinting. W. H. Freeman and Company. New York. 1992; p. 365.
20. Miceikienė I, Paulauskas A, Grigaliūnaitė I, Malevičiūtė J, Tubelytė – Kirdienė V. Genetikos praktikumas. DNR polimorfizmo tyrimo metodai. 2002. p. 18–46.

21. Seidel GE. Brief introduction to whole-genome selection in cattle using single nucleotide polymorphisms. *Reproduction, Fertility, and Development*. 2010; 22(1):138-44.
22. Stothard P, Choi J, Basu U, Sumner-Thomson JM, Meng Y, Liao X, Moore SS. Whole genome resequencing of Black Angus and Holstein cattle for SNP and CNV discovery. *BMC Genomics*. 2011; 12:559
23. Kappes SM, Keele JW, Stone RT, McGraw RA, Sonstegard TS, Smith TPL, Lopez-Corrales NL, Beattie CW. A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Research*. 1997; 7(3):235–249.
24. Rexroad CE, Owens EK, Johnson JS, Womack JEA 12000 rad whole genome radiation hybrid panel for high resolution mapping in cattle: characterization of the centromeric end of chromosome 1. *Animal Genetics*. 2000; 31:262–265.
25. Solfnas-Toldo S, Lengauer C, Fries R. Comparative genome map of human and cattle. *Genomics*. 1995; 31:306–309.
26. Fronicke L, Wienberg J. Comparative chromosome painting defines the high rate of karyotype changes between pigs and bovids. *Mammalian Genome*. 2001;12(6):442–449.
27. Elsik CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs RA, Muzny DM, Weinstock GM, Andelson D, the Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium . The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science*. 2006; 324(5926):522-528.
28. Gibbs RA, Taylor RF. The Bovine HapMap Consortium: Genome wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*. 2009; 324(5926):528-532.
29. Liu Y, Qin X, Song X-ZH, Jiang H, Shen Y, Durbin KJ, Lien S, Kent MP, Sodeland M, Ren Y, Zhang L, Sodergren E, Havlak P, Worley KC, Weinstock GM, Gibbs RA: Bos taurus genome assembly. *BMC Genomics*. 2009; 10:180.
30. Daetwyler HD, Capitan A, Pausch H, Stothard P, van Binsbergen R, Brøndum RF, et al. Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nature Genetics*. 2014; 46:858–865.
31. Zimin AV, Kelley DR, Roberts M, Marçais G, Salzberg SL, Yorke JA. Mis-assembled "segmental duplications" in two versions of the Bos taurus genome. *PLoS One*. 2012; 7(8):e42680.
32. Henderson CR, Quaas RL. Multiple Trait Evaluation Using Relatives' Records. *Jornal of Animal Science*. 1976; 43:1188-1197.
33. Schaeffer LR. Application of random regression models in animal breeding. *Livestock Production Science*. 2004; 86: 35-45.
34. Schaeffer LR. Multiple-Country Comparison of Dairy Sires. *Journal of Dairy Science*. 1994; 77(9):2671-2678.
35. Calus MPL. Genomic breeding value prediction: methods and procedures. *Animal*. 2010; 4:157–164.
36. Hayes BJ, Goddard ME. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genetics Selection Evolution*. 2001 ;33:209-229.
37. Reed DR, Lawler MP, Tordoff MG. Reduced body weight is a common effect of gene knockout in mice. *BMC Genetics*. 2008 ;9:4.
38. Sillanpää MJ, Corander J. Model choice in gene mapping: what and why. *Trends Genetics*. 2002; 18:301-307.
39. Utz HF, Melchinger AE, Schön CC. Bias and Sampling Error of the Estimated Proportion of Genotypic Variance Explained by Quantitative Trait Loci Determined

- From Experimental Data in Maize Using Cross Validation and Validation With Independent Samples. *Genetics*. 2000; 154:1839-1849.
40. Grisart B, Farnir F, Karim L, Cambisano N, Kim JJ, Kvasz A, et al. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004; 101:2398-2403.
 41. Guillaume F, Fritz S, Boichard D, Druet T. Short Communication: Correlations of Marker-Assisted Breeding Values with Progeny-Test Breeding Values for Eight Hundred Ninety-Nine French Holstein Bulls. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91:2520-2522.
 42. Lillehammer M, Meuwissen THE, Sonesson AK. A comparison of dairy cattle breeding designs that use genomic selection. *J. Dairy Sci*. 2011; 94:493–500.
 43. Daetwyler HD, Pong-Wong R, Villanueva B, Woolliams JA. The Impact of Genetic Architecture on Genome-Wide Evaluation Methods. *Genetics*. 2010; 185:1021-1031
 44. Habier D, Fernando RL, Dekkers JCM. The Impact of Genetic Relationship Information on Genome-Assisted Breeding Values. *Genetics*. 2007; 177:2389-2397.
 45. Solberg TR, Sonesson AK, Woolliams JA, Meuwissen THE. Genomic selection using different marker types and densities. *Journal of Animal Science*. 2008; 86:2447-2454.
 46. Zimin AV, Delcher AL, Florea L, Kelley DR, Schatz MC, Puiu D, et al. A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biology*. 2009; 10:42.
 47. Eck SH, Benet-Pagès A, Flisikowski K, Meitinger T, Fries R, Strom TM. Whole genome sequencing of a single *Bos taurus* animal for single nucleotide polymorphism discovery. *Genome Biology*. 2009; 10:82.
 48. Hayes B, Anderson C, Daetwyler H, Fries R, Guldbrandtsen B, Lund M et al. The 1000 Bull Genomes Consortium. Towards genomic prediction from genome sequence data and the 1000 bull genomes project. *Book of Abstracts of ICQG*. Edinburgh; 2012 p. 55.
 49. Pryce JE, Hayes BJ, Goddard ME. Novel strategies to minimize progeny inbreeding while maximizing genetic gain using genomic information. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95:377-388.
 50. Meuwissen T. Accuracy of breeding values of ‘unrelated’ individuals predicted by dense SNP genotyping. *Genetics Selection Evolution*. 2009; 41:35.
 51. Scheet P, Stephens M. A Fast and Flexible Statistical Model for Large-Scale Population Genotype Data: Applications to Inferring Missing Genotypes and Haplotypic Phase. *American Journal of Human Genetics*. 2006; 78:629-644.
 52. Li Y, Willer CJ, Ding J, Scheet P, Abecasis GR. MaCH: Using Sequence and Genotype Data to Estimate Haplotypes and Unobserved Genotypes. *Genet. Epidemiol*. 2010; 34:816-834.
 53. Delaneau O, Marchini J, Zagury JF. A linear complexity phasing method for thousands of genomes. *Nature Methods*. 2012; 9:179–181.
 54. Browning SR, Browning BL. Rapid and Accurate Haplotype Phasing and Missing-Data Inference for Whole-Genome Association Studies By Use of Localized Haplotype Clustering. *American Journal of Human Genetics*. 2007; 81:1084-1097.
 55. VanRaden PM, O’Connell JR, Wiggans GR, Weigel KA. Genomic evaluations with many more genotypes. *Genetics Selection evolution*. 2011; 43:10.
 56. Sargolzaei M, Chesnais JP, Schenkel FS. FImpute – An efficient imputation algorithm for dairy cattle populations. *Journal of Dairy Science*. 2011; 94:421.

57. Hickey JM, Cleveland M, Gorjanc G, Tier B, van der Werf JHJ, Kinghorn B. An Imputation Strategy which Results in an Alternative Parameterization of the Single Step Genomic Evaluation. *Interbull Bulletin*. 2011; 44:38-41.
58. Pausch H, Aigner B, Emmerling R, Edel C, Götz KU, Fries R. Imputation of high-density genotypes in the Fleckvieh cattle population. *Genetics Selection evolution*. 2013; 45:3.
59. Goddard ME, Hayes BJ. Genomic selection based on dense genotypes inferred from sparse genotypes. *Browsing Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics*. 2009; 18:26-29.
60. Erbe M, Hayes BJ, Matukumalli LK, Goswami S, Bowman PJ, Reich CM, et al. Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density SNP panels. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95:4114-4129.
61. Luštrek B, Potočnik K. Reflection of Genomic Selection in Practice – use of Genomic Brown Swiss Bulls in Slovenia. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2017; 82(2):79-82.
62. Mackay TF, Stone EA, Ayroles JF. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*. 2009; 10:565–577
63. Pryce JE, Daetwyler HD. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research. *Animal Production Science*. 2012; 52:107-114.
64. Buch LH, Sorensen MK, Berg P, Pedersen LD, Sorensen AC. Genomic selection strategies in dairy cattle: strong positive interaction between use of genotypic information and intensive use of young bulls on genetic gain. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2012; 129:138–151.
65. Schefers JM, Weigel KA. Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs. *Animal Frontiers*. 2012; 2(1):4-9.
66. de Roos APW, Hayes BJ, Goddard ME. Reliability of Genomic Predictions Across Multiple Populations. *Genetics*. 2009; 183:1545-1553.
67. de Roos APW, Schrooten C, Veerkamp RF, van Arendonk JAM. Effects of genomic selection on genetic improvement, inbreeding, and merit of young versus proven bulls. *Journal of Dairy Science*. 2011; 94:1559–1567.
68. Harris BL, Johnson DL. The Impact of High Density SNP chips on Genomic Evaluation in Dairy Cattle. *Interbull bulletin*. 2010; 42:40-43.
69. Brøndum RF, Ma P, Lund MS, Su G. Short communication: Genotype imputation within and across Nordic cattle breeds. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95:6795-6800.
70. Boichard D, Guillaume F, Baur A, Croiseau P, Rossignol MN, Boscher MY, et al. Genomic selection in French dairy cattle. *Animal Production Science* 2012; 52:115–120.
71. Taylor JF, Taylor KH, Decker JE. Holsteins are the genomic selection poster cows. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016; 113(28):7690-7692.
72. David X, de Vries A, Feddersen E, Borchersen S. International Genomic Cooperation. EuroGenomics significantly improves reliability of Genomic evaluations. *Interbull Bull*. 2010; 41:77-78.
73. Zumbach B, Jorjani H, Dürr J. Brown Swiss Genomic Evaluation. *Interbull bulletin*. 2010; 42:44-51.

74. Olson KM, VanRaden PM, Tooker ME. Multibreed genomic evaluations using purebred Holsteins, Jerseys, and Brown Swiss. *Journal of Dairy Science*. 2012; 95:5378-5383.
75. Cole JB, da Silva MVGB. Genomic selection in multi-breed dairy cattle populations. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2016; 45(4):195-202.
76. Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. Handbook of dairy foods and nutrition. 3rd ed. CRC press, Taylor & Francis group, Boca Raton, FL, USA; 2007. Chapter 1. p. 18.
77. Sulimova GE, Abani Azari M, Rostamzadeh J, Mohammad Abani MR, Lazebnyĭ OE. Allelic polymorphism of kappa-casein gene (CSN3) in Russian cattle breeds and its informative value as a genetic marker. *Genetika*. 2007 Jan; 43(1):88-95.
78. Azevedo ALS, Nascimento CS, Steinberg RS, Carvalho MRS, Peixoto MGCD, Teodoro RL, et al. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genetics and Molecular Research*. 2008; 7(3):623-630.
79. Rachagani S, Gupta ID. Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. *Genetics and Molecular Biology*. 2008; 31(4):893-897.
80. Kamiński S, Cieślińska A, Kostyra E. Polymorphism of bovine beta casein and its potential effect on human health. *Journal of Applied Genetics*. 2007; 48:189-98.
81. Petrovska S, Jonkus D, Zagorska J, Ciprovica I. The influence of kappa-casein and beta-lactoglobulin genotypes on milk coagulation properties in Latvia dairy breed. *Research for rural development*. 2017; 2:74.
82. Petrini J, Lung LHS, Rodriguez MAP, Salvian M, Pertille F, Rovadoscki GA, et al. Genetic parameters for milk fatty acids, milk yield and quality traits of a Holstein cattle population reared under tropical conditions. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2016; 133:384–395.
83. Kučerová J, Matějček A, Jandurova OM, Sorensen P, Němcová E, Štípková M, et al. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. *Czech Journal of Animal science*. 2006; 51(6):241–247.
84. Holt C. Casein and casein micelle structures, functions and diversity in 20 species. *International Dairy Journal*. 2016; 60:213.
85. Heck JML, Schennink A, van Valenberg HJF, Bovenhuis H, Visker MHPW, van Arendonk JAM, et al. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92:1192–1202.
86. Dinc H, Ozkan E, Koban E, Inci T. Beta-casein A1/A2, kappa-casein and beta-lactoglobulin polymorphisms in Turkish cattle breeds. *Archiv Tierzucht*. 2013; 56(65):650-657.
87. Ketto IA, Knutsen TM, Øyaas J, Heringstad B, Ådnøy T, Devold TG, et al. Effects of milk protein polymorphism and composition, casein micelle size and salt distribution on the milk coagulation properties in Norwegian Red cattle. *International Dairy Journal*. 2017; 70:55-64.
88. Caroli AM, Chessa S, Erhardt GJ. Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. 2009; 92(11):5335-5352.
89. Hallén E, Wedholm A, Andrén A, Lundén A. Effect of β -casein, κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2008; 125:119-12
90. Strzalkowska N, Krzyzewski J, Zwierzchowski L, Ryniewicz Z. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell

- count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science Papers and Reports*. 2002; 20(1):21-35.
91. Daniela I, Vintila I. Analysis of gene polymorphism at locus of κ -casein and β -lactoglobulin genes using multiplex PCR technique. *Zootehnie și Biotehnologi*. 2005; 38:769-773.
 92. Threadgill DW, Womack JE. Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Res*. 1990; 18:6935-6942.
 93. Martin P, Szymanowska M, Zwiercowski L, Leroux C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reproduction Nutrition Development*. 2002; 42(5):433-459.
 94. Fox PF. *Advanced Dairy Chemistry Proteins*. London: Elsevier Science Publishing. 1992.
 95. Hoogendoorn B, Coleman S., Guy CA, Smith K, Bowen T, Buckland PR, O'Donovan MC. Functional analysis of human of promoter polymorphisms. *Human Molecular Genetics*. 2003; 12(18):2249-2254.
 96. Pauciullo A, Shuiep ES, Cosenza G, Ramunno L, Erhardt G. Molecular characterization and genetic variability at κ -casein gene (CSN3) in camels. *Gene*. 2013; 513(1):22-30.
 97. Schaar J. Effects of κ -casein genetic variants and lactation number on the renneting properties of individual milk. *Journal of Dairy Research*. 1984; 51:397.
 98. Marziali AS, Ng-Kwai-Hang KF. Effects of milk composition and genetic polymorphism on coagulating properties of milk. *Journal of Dairy Science*. 1986; 69:1793
 99. Aaltonen ML, Antila V. Milk renneting properties and the genetic variants of proteins. *Milchwissenschaft*. 1987; 42:490-492.
 100. van den Berg G, Escher JTM, de Koning PJ, Bovenhuis H. Genetic polymorphism of κ -casein and β -lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 1992; 46:145.
 101. Comin A, Cassandro M, Chessa S, Ojala M, Dal Zotto R, De Marchi M, et al. Effects of Composite β - and κ -Casein Genotypes on Milk Coagulation, Quality, and Yield Traits in Italian Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91(10):4022-4027.
 102. Trakovická A, Moravčíková N, Navrátilová A. Kappa-casein gene polymorphism (CSN3) and its effect on milk production traits. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 2012; 15(3):61-64.
 103. Hallén E, Allmere T, Lundén A, Andrén A. Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of acid-induced milk gels. *International Dairy Journal*. 2009; 19:399-404.
 104. Kaminski S. Polymorphism of milk protein genes in coding and regulatory regions and their effects on gene expression and performance traits. *Animal Science Papers and Reports*. 2004; 22:109–113.
 105. Bartoňová P, Vrtková I, Kaplanová K, Urban T. Association between CSN3 and BCO2 gene polymorphisms and milk performance traits in the Czech Fleckvieh cattle breed. *Genetics and Molecular Research*. 2012;11: 1058–1063.
 106. Baltrėnaitė L. Pieno baltymų polimorfizmas: Genetinių variantų aptikimas ir išplitimas Lietuvos galvijų veislėse. Magistrantūros baigiamasis darbas. 2003.
 107. Malevičiūtė J, Baltrėnaitė L, Pečiulaitienė N, Miceikienė I. Genetinių žymeklių panaudojimas gyvulių selekcijoje. *Ūkininko patarėjas*. 200; 131(1425).

108. Susmiati T, Prabowo PP, Claude MA, Satria PB Polymorphisms in Genes Encoding Kappa Casein Milk Protein in Dairy Cattle. *International Journal of Dairy Science*. 2017; 12:282-288.
109. Bugeac T, Balteanu V, Creanga T. Kappa-Casein Genetic Variants and their Relationships with Milk Production and Quality in Montbéliarde Dairy Cows. *Animal Science and Biotechnologies*. 2013; 70(1):193-194.
110. Ren DX, Miao SY, Chen YL, Zou CX, Liang XW, Liu JX. Genotyping of the k-casein and A-lactoglobulin genes in Chinese Holstein, Jersey and water buffalo by PCR-RFLP. *Journal of Genetics*. 2011; 90(1):1-5.
111. Tsiaras AM, Bargouli GG, Banos G, Boscós CM. Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *Journal of Dairy science*. 2005;88(1): 327-324.
112. Bonvillani AG, Di Renzo MA, Tiranti IN. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. *Genetics and Molecular Biology*. 2010; 23(4):819-823.
113. Jann OC, Ibeagha-Awemu EM, Ozbeyaz C, Zaragoza P, Williams JL, Ajmone-Marsan P, et al. Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genetics Selection Evolution*. 2004; 36(2):243-257.
114. Jõuru I, Henno M, Värvi S, Kaart T, Kärt O. Milk protein genotypes and milk coagulation properties of Estonian Native cattle. *Agricultural and Food Science*. 2007; 16(3):222-231.
115. Pečiulaitienė N, Mišeikienė R, Baltrėnaitė L, Miceikienė I. Genetic differences among native and modern cattle breeds in Lithuania based on milk protein loci polymorphism. *Polish Journal of Veterinary Science*. 2007; 10(1):35-41.
116. Ilie D, Sălăjeanu A, Magdin A, Stanca C, Vintilă C, Vintilă I, et al. Genetic polymorphism at the κ -casein locus in a dairy herd of Romanian Spotted and Brown of Maramures breeds. *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*. 2007; 40(1):101-106.
117. Litwińczuk Z, Król J. Polymorphism of main milk proteins in beef cattle maintained in East-Central Poland. *Animal Science Papers and Reports*. 2002; 20(1):33-40.
118. Feleńczak A, Gil Z, Adamczyk K, Zapletal P, Frelich J. Polymorphism of milk κ -casein with regard to milk yield and reproductive traits of Simmental cows. *Journal of Agrobiology*. 2008; 25(2):201-207.
119. Erhardt G, Juszczak J, Panicke L, Krick-Saleck H. Genetic polymorphism of milk proteins in Polish Red Cattle: a new genetic variant of β -lactoglobulin. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1998; 115(1-6):63-71
120. Patel RJ, Chayhan JB, Singh KM, Soni KJ. Allelic Frequency of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin in Indian Crossbred (*Bos taurus* $\times$ *Bos indicus*) Dairy Bulls Turk. *J. Vet. Anim. Sci*. 2007; 31(6): 99-402.
121. Volkandari SD, Indriawati E, Margawati T. Genetic polymorphism of kappa-casein gene in Friesian Holstein: a basic selection of dairy cattle superiority. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric*. 2017; 42(4):213-219.
122. Ferretti L, Leone P, Sgaramella V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nucleic Acids Research*. 1990;18:6829-6833.
123. Ribadeau-Dumas B, Brignon G, Grosclaude F, Mercier JC. Structure primaire de la casein β bovine. *European Journal of Biochemistry*. 1972; 25:505-514.
124. Farrell HM, Jimenez-Florez R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, et al. Nomenclature of the proteins of cows' milk — sixth revision. *Journal of Dairy Science*. 2004; 87:1641-1674.

125. Keating AF, Smith TJ, Ross RP, Cairns MT. A note on the evaluation of a beta-casein variant in bovine breeds by allele-specific PCR and relevance to β -casomorphin. *Irish J Agr Food Research*. 2008; 47:99–104.
126. Ng-Kwai-Hang KF, Grosclaude F. Genetic polymorphism of milk proteins. In *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1: Proteins Parts*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2002. P. 739–816.
127. Miluchová M, Gábor M, Trakovická A. Analysis of Slovak Spotted breed for bovine beta casein A1 variant as risk factor for human health. *Acta Biochimica Polonica*. 2013; 60(4):799–801.
128. Fang Y, Zhao W, Liu S, Ding J, Xu K, Yang L, et al. Identification of alleles and genotypes of beta-casein with DNA sequencing analysis in Chinese Holstein cow. *Journal of Dairy Research*. 2016; 83(3):312–316.
129. Elliott RB, Reddy SN, Bibby NJ, Kida K. Dietary prevention of diabetes in the non-obese diabetic mouse. *Diabetologia*. 1998; 31:62–64.
130. McLachlan CN. Breeding and milking cows for milk free of β -casein A1. United States Patent 7094949 2006.
131. Nguyen DD, Johnson SK, Busetti F, Solah VA. Formation and degradation of beta-casomorphins in dairy processing. *Crit Rev Food Sci*. 2015; 55(14):1955–67.
132. Miluchova M, Gabor M, Trakovicka A. Analysis of beta-casein gene (CSN2) polymorphism in different breeds of cattle. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 2014; 47(2):56–9.
133. Ganguly I, Gaur GK, Singh U, Kumar S, Kumar S, Mann S. Beta-casein (CSN2) polymorphism in Ongole (Indian zebu) and Frieswal (HF x Sahiwal crossbred) cattle. *Indian J Biotechnol*. 2013; 12(2):195–8.
134. Pal S, Woodford K, Kukuljan S, Ho S. Milk intolerance, beta-casein and lactose. *Nutrients*. 2015; 7(9):7285–97.
135. Caroli AM, Savino S, Bulgari O, Monti E. Detecting β -casein variation in bovine milk. *Molecules*. 2016; 21(2):141–7.
136. De Noni I, Cattaneo S. Occurrence of β -casomorphins 5 and 7 in commercial dairy products and in their digests following in vitro simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chem*. 2010; 119(2):560–6.
137. Jianqin S, Leiming X, Lu X, Yelland GW, Ni J, Clarke AJ. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutr J*. 2016; 15(35):45–60.
138. Värvi S, Belousova A, Sild E, Viinalass H. Genetic diversity in milk proteins among Estonian dairy cattle. *Vet Med Zoot*. 2009; 48(70):93–8.
139. Ehrmann S, Bartenschlager H, Geldermann H. Quantification of gene effects on single milk proteins in selected groups of dairy cows. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1997; 114:121–132.
140. Massella E, Piva S, Giacometti F, Liuzzo G, Zambrini AV, Serraino A. Evaluation of bovine beta casein polymorphism in two dairy farms located in northern Italy. *Italian Journal of Food Safety*. 2017; 6(3):6904.
141. Ramesha KP, Rao A, Basavaraju M, Rani A, Katakataware MA, Jeyakumar, Varalakshmi S. Genetic variants of β -casein in cattle and buffalo breeding bulls in Karnataka state of India. *Indian Journal of Biotechnology*. 2016; 15(2):178–181.
142. Baranyi M, Bosze Z, Buchberger J, Krause I. Genetic polymorphism of milk proteins in Hungarian cattle breeds and PCR amplification of betalactoglobulin exon 5 to

- identify genetic variant J by RFLP. In: Milk protein polymorphism. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North, New Zealand. International Dairy Federation. 1997; 87–92.
143. Winkelman AM, Wickham BW. Associations between milk protein genetic variants and production traits in New Zealand dairy cattle. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North, New Zealand. Livestock Improvement Corporation; 1997. p.38-46.
 144. Rangel AHN, Zaros LG, Lima TC, Borba LHF, Novaes LP, Mota LFM, Silva MS. Polymorphism in the Beta Casein Gene and analysis of milk characteristics in Gir and Guzera dairy cattle. *Genetics and Molecular Research*. 2017; 16(2):1-9.
 145. Ballester M. Polymorphisms in the goat beta-lactoglobulin gene. *Journal of Dairy Research*. 2005; 72(3):379-384.
 146. Bedere N, Bovenhuis H. Characterizing a region on BTA11 affecting β -lactoglobulin content of milk using high-density genotyping and haplotype grouping. *BMC Genetics*. 2017;18(1):1-9.
 147. Kubarsepp I, Henno M, Viinalass H, Sabre D. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk renneting coagulation properties. *Agronomical Research*. 2005; 3(1):55-64.
 148. Bonfatti V, Martino G, Di Cecchinato A, Degano L, Carnier P. Effects of β - κ -casein (CSV2-CSV3) haplotype, β -lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of Simmental cows. *Journal of Dairy Science*. 2010; 93(8):3809-3817.
 149. Ganai NA, Bovenhuis H, Van Arendonk JAM, Visker MHP. Novel polymorphisms in the bovine β -lactoglobulin gene and their effects on β -lactoglobulin protein concentration in milk. *Animal genetics*. 2009; 40(2):127-133.
 150. Vidovic V, Lukac D, Nemes Z, Trivunovic S. β -lactoglobulin genetic variants in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle and their association with yield and quality of milk. *Animal Science Papers & Reports*. 2014; 32(2):179-182.
 151. Singh U, Deb R, Alyethodi RR, Alex R, Kumar S, Chakraborty S, Dhama K, Sharma A. Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review, *Biomarkers and Genomic Medicine*. 2014; 6(2):49-58.
 152. Alim MA, Sun D, Zhang Y, Zhang Q, Liu L. DNA polymorphism in the β -lactoglobulin and κ -casein Genes Associated with Milk Production Traits in Dairy Cattle. *Bioresearch Communications*. 2015; 1(02):82-86.
 153. Zagloul AW, El I, Awad A, El-Bayomi K M. Association of β -Lactoglobulin Gene Polymorphism with Milk Yield, Fat and Protein in Holstein-Friesian Cattle. *World*. 2016; 6(3): 117-122.
 154. Doostl A, Arshi A, Yaraghi M., Dayani-Nia M. Comparative study of β -lactoglobulin gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle. *Journal of Cell and Animal Biology*. 2011; 5(3):53-55.
 155. Gouda EM, Galal MK, Wasfy MA, Abdelaziz SA. Phenotypes, Genotypes and Allele Frequencies of β -lactoglobulin in Egyptian Cattle and Buffalo. *Journal of Agricultural Science*. 2011; 3(4):203-210.
 156. Lukac D, Vidovic V, Nemes Z, Stupar M, Popovic-Vranjes A. Genotypic frequencies of the β -lactoglobulin, κ -casein and transferrin in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle. *Mljekarstvo*. 2013; 63(4):203-210.
 157. Gedik Y, Kavuncu O. Beta-Lactoglobulin and Kappa-Casein Gene Polymorphisms in Two Turkish Hostein Cattle Populations in Turkey. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*. 2016; 3(3):229-233.

158. Pečiulaitienė N, Mišeikienė R, Baltrėnaitė L, Miceikienė I. Genetic differences among native and modern cattle breeds in Lithuania based on milk protein loci polymorphism. *Polish Journal of Veterinary Science*. 2007; 10(1):35-41.
159. Zepeda-Batista JL, Alarcón-Zúñiga B, Ruíz-Flores A, Núñez-Domínguez R, Ramírez-Valverde R. Polymorphism of three milk protein genes in Mexican Jersey cattle. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2015; 18(1):1-4.
160. Rincón G, Armstrong E, Postiglioni A. Analysis of the population structure of Uruguayan Creole cattle as inferred from milk major gene polymorphisms. *Genetics and Molecular Biology*. 2006; 29(3):491-495.
161. Jebin I, Das B, Borah P, Kalita DJ, Roy TC, Zaman GU, Hussain I. Genotyping of β -Lactoglobulin (β -Lg) gene by PCR-RFLP in indigenous cattle of Assam, India. *Indian Journal of Animal Research*. 2016; 50(2):160-163.
162. Rachagani S., Gupta I. and Gupta N. Genotyping of β -Lactoglobulin gene by PCR-RFLP in Sahiwal and Tharparkar cattle breeds. *BMC genetics*. 2006; 7(1):31.
163. Karimi K, Nassiri MTB, Mirzadeh K, Ashayerizadeh A, Roushanfekr H, Fayyazi J. Polymorphism of the β -lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. *Iranian journal of biotechnology*. 2008; 7(2):82-85.
164. Safronova OS, Babich EA, Ovchinnikova LY, Ovchinnikov AA. Polymorphism of Kappa-Casein, Somatotropin, BetaLactoglobulin, Prolactin, and Thyreoglobulin Genes of Black and White Cattle of North Kazakhstan. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017; 9(5):568-573.
164. Windsor P, Agerholm J. Inherited diseases of Australian Holstein-Friesian cattle. *Aust Vet J*. 2009; 87(5):193-9.
165. Ciepluch A, Rutkowska K, Oprządek J, Poławska E. Genetic disorders in beef cattle: a review. *Genes Genomes*. 2017;39(5):461-471.
166. Agerholm JS. Inherited disorders in Danish cattle. *APMIS*; 2007. p. 122.
167. Agerholm JS, Bendixen C, Andersen Oarnbjerg J. Complex vertebral malformation in Holstein Calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2001; 13:283–289.
168. Agerholm J S, Andersen O, Almskou MB, Bendixen C, Arnbjerg J, Aamand GP, Nielsen US, Panitz F, Petersen AH. Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding study. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2004; 45:133–137
169. Schütz E, Scharfenstein M, Brenig B: Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based testing on disease frequency in the Holstein population. *Journal of Dairy Science*. 2008; 91:4854–4859.
170. Ghanem ME, Akita M, Suzuki T, et al.: 2008, Complex vertebral malformation in Holstein cows in Japan and its inheritance to crossbred F1 generation. *Anim Reprod Sci*. 2008; 103(3-4):348–354.
171. Wang C, Tong Q, Hu XZ, Yang LG, Xiong XQ. Identification of complex vertebral malformation carriers in Holstein cattle in south China. *Genetics and Molecular Research*. 2011; 10:2443-2448.
172. Rusc A, Hering D, Puckowska P, Barcewicz M, Kaminski S. Screening of Polish Holstein-Friesian bulls towards eradication of Complex Vertebral Malformation (CVM) carriers. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2013; 16(3):579-581.
173. Weigel KA, Rekaya R. Genetic parameters for reproductive traits of Holstein cattle in California and Minnesota. *Journal of Dairy Science*. 2000; 83:1072-1080.
174. Kehrli M, Schmalstieg FC, Anderson DC, Whetstone CA. Molecular definition of the bovine granulocytopenia syndrome: Identification of deficiency of the Mac-1

- (CD11b/CD18) glycoprotein. *American Journal of Veterinary Research*. 1990; 51(11):1826-36.
175. Shuster, D.E., Kehrli Jr., M.E., Ackermann, M.R. and Gilbert, R.O. (1992). Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 9225-9229.
 176. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990; 346: 425–434.
 177. Giger U, Boxer LA, Simpson PJ, Lucchesi BR, Todd RF. Deficiency of leukocyte surface glycoproteins Mo1, LFA-1, and Leu M5 in a dog with recurrent bacterial infections: an animal model. *Blood*. 1987; 69:1622-1630.
 178. Takahashi K, Miyagawa K, Abe S, Kurosawa T, Sonoda M, Nakade T, Nagahata H, Noda H, Chihaya Y, Isogai E. Bovine Granulocytopeny Syndrome of Holstein-Friesian Calves and Heifers. *The Japanese Journal of Veterinary science*. 1987; 49(4); 733-736.
 179. Trowald-Wigh G, Johannisson A, Håkansson L. Canine neutrophil adhesion proteins and Fc-receptors in healthy dogs and dogs with adhesion protein deficiency, as studied by flow cytometry. *Vet Immunol Immunopathol*. 1993; 38(3-4):297-310.
 180. Shanks RD, Greiner MM. Relationship between genetic merit of Holstein bulls and deficiency of uridine-5'- monophosphate synthase. *J Dairy Sci*. 1992; 75:2023-2029.
 181. Kuhn MT, Shanks RD. Association of deficiency of uridine monophosphate synthase with production and reproduction. *J Dairy Sci*. 1994; 77:589-597.
 182. Kaminski S, Grzybowski G, Prusak B, Rusc A. No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle. *Appl Genet*. 2005; 46:395-397.
 183. Healy MH, Shanks R.D. Performance of females heterozygous for deficiency of uridine monophosphate synthase. *Journal of Dairy Science*. 1987; 70:915-298.
 184. Öner Y, Keskin A, Elmaci C: Identification of BLAD, DUMPS, citrullinaemia and factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Asian J Anim Vet Adv*. 2010; 5:60-65.
 185. Schwenger B, Tammen I, Aurich C. Detection of homozygous recessive genotype for deficiency of uridine monophosphate synthase by DNA typing among bovine embryos produced in vitro. *J Reprod Fertil*. 1994; 100:511-514.
 186. Shanks RD, Robinson J: Deficiency of uridine monophosphate synthase among Holstein cattle. *Cornell Vet*. 1990; 80:119-122;
 187. Citek J, Rehout V, Hajkova J, Pavkova J. Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*. 2006; 51(6):333-339.
 188. Eck SH, Benet-Pagès A, Flisikowski K, Meitinger T, Fries R, Strom TM. Whole genome sequencing of a single *Bos taurus* animal for single nucleotide polymorphism discovery. *Genome Biology*. 2009; 10:82.
 189. Thomsen B, Horn P, Panitz F, Bendixen E, Petersen AH, Holm LE, et al. A missense mutation in the bovine *SLC35A3* gene, encoding a UDP-N- acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome. Res*. 2006; 16: 97-105.
 190. Ohba Y, Takasu M, Nishii N, Hosoda I, Kitoh K, Matsumoto I, et al. Japanese black cattle with orotic aciduria detected by gas-chromatography/mass-spectrometry. *J Vet Med Sci*. 2007; 69(3):313-6.
 191. Chu Q, Sun D, Yu Y, Zhang Y, Zhang Y. Identification of complex vertebral malformation carriers in Chinese Holstein. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2008; 20(2):228-230.
 192. Duncan RB, Carrig CB, Agerholm JS, Bendixen C. Complex Vertebral Malformation in a Holstein Calf: Report of a Case in the USA. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2001; 13(4):333-336.

193. Prieiga per internetą: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23443>
194. Buck BC, Ulrich R, Wöhlke A, Kuiper H, Baumgärtner W, Distl O. Vertebral and multiple organ malformations in a black and white German Holstein calf. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2010; 123(5-6):251-255
195. Kanae Y, Endoh D, Nagahata H, Hayashi M. A method for detecting complex vertebral malformation in Holstein calves using polymerase chain reaction-primer introduced restriction analysis. *J Vet Diagn Invest.* 2005; 17:258–262.
196. Pečiulaitienė N. Lietuvos pieninių galvijų pieno baltymų genetiniai tipai ir jų ryšys su produktyvumu. *Daktaro disertacija*; 2005. p. 43.
197. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res.* 1988; 16(3):1215
198. Prieiga per internetą: <http://genomics.neogen.com/en/>
199. Soria L, Iglesias G, Huguet MJ, Mirande S. A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. *Animal biotechnology* 2003; 14(5)1-5.
200. Medrano JF, Aguilar-Cordova E. Polymerase chain reaction amplification of bovine β lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis. *Animal Biotechnology.* 1990; 59:180-182.
201. Shuster DE, Kehrli ME, Ackermann MR, Gilbert RO. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1992; 89:9225-9229.
202. Schwenger B, Schoeber S, Simon D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. *Genomics.* 1993; 16:241-244.
203. Czarnik U, Grzybowski G, Kamiński S, Prusak B, Zabolewicz T. Effectiveness of a program aimed at the elimination of BLAD-carrier bulls from Polish Holstein-Friesian cattle. *Journal of Applied Genetics.* 2007; 48(4):375–377.
204. Pryce JE, Goddard ME, Raadsma HW, Hayes BJ. Deterministic models of breeding scheme designs that incorporate genomic selection. *Journal of Dairy Science.* 2010; 93:5455–5466.
205. Garcia-Ruiz A, Cole JB, VanRaden PM, Wiggans GR, Ruiz-Lopez FJ, et al. Changes in genetic selection differentials and generation intervals in US Holstein dairy cattle as a result of genomic selection. *Proc Natl Acad Sci.* 2016; 113:3995-4004.
206. “Benchmark software” pieninių galvijų reitingavimo programa. Prieiga per internetą: www.igenity.com
207. Miglior F, Muir BL, Van Doormaal BJ. Selection indices in Holstein cattle of various countries. *J Dairy Sci.* 2005; 88(3):1255–1263.
208. Van Tassell CP, Wiggans GR, Norman HD. Method R estimates of heritability for milk, fat, and protein yields of United States dairy cattle. *J Dairy Sci.* 1999; 82(10):2231–2237.
209. Daetwyler HD, Villanueva B, Bijma P, Woolliams JA. Inbreeding in genome-wide selection. *J. Anim. Breed. Genet.* 2009; 124:369–376.
210. Calus MPL, de Haas Y, Pszczola M, Veerkamp RF. Predicted accuracy of and response to genomic selection for new traits in dairy cattle. *Animal.* 2013; 7(2):183–191.
211. VanRaden PM, Wiggans GR. Productive life evaluations: Calculation, accuracy and economic value. *J Dairy Sci.* 1995; 78(3):631–638.
212. Weigel KA, Lawlor TJ, Vanraden PM, Wiggans GR. Use of linear type and production data to supplement early predicted transmitting abilities for productive life. *J Dairy Sci.* 1998; 81(7):2040–2044.

213. Shook GE, Schutz MM. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. *J Dairy Sci.* 1994; 77(2):648–658.
214. Miller RH, Norman HD, Wright JR, Cole JB. Impact of genetic merit for milk somatic cell score of sires and maternal grandsires on herd life of their daughters. *J Dairy Sci.* 2009; 92(5):2224–2228.
215. Hogeveen H, Huijps K, Lam TJ. Economic aspects of mastitis: New developments. *N Z Vet J.* 2011; 59(1):16–23.
216. Fleming A, Abdalla EA, Maltecca C, Baes CF. Invited review: Reproductive and genomic technologies to optimize breeding strategies for genetic progress in dairy cattle. *Arch. Anim. Breed.* 2018; 61(1):43–57.
217. König S, Simianer H, Willam A. Economic evaluation of genomic breeding programs. *J. Dairy Sci.* 2009; 92:382–391.
218. Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges, *Dairy Sci.* 2009; 92(3):1313.
219. Dogru U, Ozdemir M. Genotyping of Kappa-casein locus by PCR-RFLP in brown Swiss cattle breed. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 2009; 8(4):779-781.
220. Miceikienė I, Pečiulaitienė N, Baltėnaitė L, Skinkytė R, Indriulytė R. Association of cattle genetic markers with performance traits. *Biologija.* 2006; 1:24–29.
221. Michalcova A., Krupova Z. Influence and composite κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed. *Czech Journal of Animal Science.* 2007; 52(9):292-298.
222. Day L, Williams RPW, Otter D, Augustin MA. Casein polymorphism heterogeneity influences casein micelle size in milk of individual cows. *Journal of Dairy Science.* 2015; 98(6):3633 – 3644.
223. Zambrano-Burbano G, Eraso-Cabrera Y, Solarte-Portilla C, Rosero-Galindo C. Relationship between Kappa Casein Genes (CSN3) and Industrial Yield in Holstein Cows in Nariño-Colombia. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology;* 2012. Chapter 10. p. 266-282.
224. Pedersen J. Selection to increase frequency of kappa-casein variant B in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics.* 1991; 108(1-6):434-445.
225. Eenennam A, Medrano JF. Milk protein poly-morphism in California dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 1991; 74:1730–1742.
226. Swaisgood HE. Chemistry of the caseins. *Advanced dairy chemistry-1: proteins.* Fox PF, Elsevier, London; 1992. p.63–77.
227. Tetens JL, Qanbari S, Drogemuller C, Pimentel EC, Bennewitz J, Thaller G. Bos indicus introgression into (peri-) alpine cattle breeds—evidence from the analysis of bovine whey protein variants. *Animal genetics.* 2014; 45(4):585-588.
228. Davoodi SH, Shahbazi R, Esmaeili S, Sohrabvandi S, Mortazavian A, Jazayerie S, Taslimi A. Health-Related Aspects of Milk Proteins. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 2016; 15(3):573-591.
229. Akyüz B, Ertuğrul O. Detection of deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Holstein and native cattle in Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2008; 55:57-60.
230. Sun DX, Fan XH, Xie Y, Chu Q, Sun Y, Zhang Y, Zhang SL, Gong WJ, Chen SH, Li YH, Shi WH, Zhang Y. Short communication: Distribution of recessive genetic defect carriers in Chinese Holstein. *Journal of Dairy Science.* 2011; 94:5695–5698.
231. Patel RK, Krishna MS, Kalpesh JS, Jenabhai BC, Krothapalli RS, Sambasiva R. Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian Holstein cattle. *Journal of Applied Genetics.* 2006; 47:239-242.

232. Norouzy A, Nassiry MR, Eftekhari SF, Javadmanesh A. Identification of bovine leucocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Holstein and Brown Swiss AI bulls in Iran. *Genetika*. 2005; 41:1697-1701.
233. Powell RL, Norman HD, Cowan CM. Relationship of bovine leukocyte adhesion deficiency with genetic merit for performance traits. *Journal of Dairy Science*. 1996; 79:895–899.
234. Meydan H, Yildiz MA, Agerholm JS. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2010; 52(1):56.
235. Grupe S, Diet G, Schwerin M. Population survey of citrullinemia on German Holsteins. *Livestock Production Science*. 1996; 45:35-38.
236. Rahimi G, Nejati-Javaremi A, Olek K. Genotyping BLAD, DUMPS and –CSN loci in Holstein young bulls of the National Animal Breeding Center of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2006; 7:1389-1392.
237. Vatasescu R, Georgescu SE, Kevorkian S, Manea MA, Rebedea M, Dinischiotu A, Tesio CD, Costache M: Citrullinemia diagnostics on cattle breed. *Zooth Biotech*. 2006; 39:127-130.
238. Rusc A, Kaminski S. Prevalence of complex vertebral malformation carriers among Polish Holstein-Friesian bulls. *Journal of Applied Genetics*. 2007; 48:247-252.
239. Nagahata H, Oota H, Nitani A, Oikawa S, Higushi H, Nakade T, Kurosawa T, Morita M, Ogawa H: Complex vertebral malformation in a stillborn Holstein calf in Japan. *Veterinary Medicine and Science*. 2002; 64:1107-1112.
240. Berglund B, Persson A, Stalhammar H. Effects of complex vertebral malformation on fertility in Swedish Holstein cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2004; 45:161-165.
241. Konersmann Y, Wemheuer W, Brenig B. Herkunft, verbreitung und bedeutung des CVM gendefekts in der Holstein Friesian population. *Züchtungskd*. 2003; 75:9-15.
242. Rezaee AR, Nassiry MR, Sadeghi B, Motlagh AS, et al. Implication of complex vertebral malformation and deficiency of uridine monophosphate synthase on molecular-based testing in the Iranian Holstein bulls population. *African Journal of Biotechnology*. 2009; 8:6077-6081.
243. Wiggans GR, Cole JB, Hubbard SM, Sonstegard TS. Genomic Selection in Dairy Cattle: The USDA Experience Annual Review of Animal Biosciences. 2017; 5(1):309-327.

PASKELBTOS PUBLIKACIJOS

Mokslo straipsniai, kuriuose skelbti disertacijos tyrimų rezultatai:

1. Morkūnienė, Kristina; Kerzienė, Sigita; Miceikienė, Astrida. Economic evaluation of genomic selection in Lithuanian dairy cattle. Transformations in business & economics (TIBE). 2018, t. 17(2), p. 21-37.
2. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Puišytė, Aušrinė; Bižienė, Renata; Pečiulaitienė, Nijolė; Makštutienė, Natalja; Mišeikienė, Ramutė; Miceikienė, Ilona Teodora; Kerzienė, Sigita. Association of kappa casein polymorphism with milk yield and milk protein genomic values in cows reared in Lithuania. Veterinarija ir zootechnika. 2016, t. 74(96), p. 27-32.
3. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Genomic selection in dairy cattle – application of innovation in dairy farm. Compilation of a series of presentations delivered at the IDF World Dairy Summit 2015, Vilnius, Lithuania. P. 151-156.

Kitos publikacijos:

1. Pečiulaitienė Nijolė, Miceikienė Ilona, Makštutienė Natalja, Mišeikienė Ramutė, Morkūnienė Kristina, Indriulytė-Bižienė Renata, Eglė Žalionytė. Lipe gene polymorphism c.442 G>A influence on carcass traits in pigs. Biotechnology in Animal Husbandry ISSN 1450-9156. 2018, t. 34 (1), p. 33-40.
2. Mišeikienė R, Pakašiūtė I, Bižienė R, Pečiulaitienė R, Miceikienė I, Makštutienė I, Morkūnienė K. Association between FTO gene polymorphism and productivity traits in Lithuanian pigs population. Indian Journal of Animal Sciences ISSN 2017;88(1): 91–95.
3. Pečiulaitienė, Nijolė; Makštutienė, Natalja; Bižienė, Renata; Morkūnienė, Kristina; Ramanauskienė, Alina; Mišeikienė, Ramutė; Baltrėnaitė, Lina; Kerzienė, Sigita; Miceikienė, Ilona Teodora. Polymorphism of insulin-like growth factor (IGF-1) gene and its influence on cattle growth rate. Gyvulininkystė. Baisogala (Radviliškio raj.): LSMU Gyvulininkystės institutas. ISSN 1392-6144. 2014, t. 62, p. 35-44.
4. Miceikienė, Ilona Teodora; Pečiulaitienė, Nijolė; Makštutienė, Natalja; Baltrėnaitė, Lina; Morkūnienė, Kristina; Liucvaikienė, Kristina; Mišeikienė, Ramutė. Cattle growth hormone and leptin genes influence on fattening traits. Cuban journal of agricultural science. Havana : Institute of animal science. ISSN 0864-0408. 2013, t. 47 (3), p. 261-265.

5. Makštutienė, Natalja; Liucvaikienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Morkūnienė, Kristina; Morkūnas, Paulius; Ramanauskienė, Alina; Miceikienė, Ilona Teodora. Lietuvoje veisiamų pieninių galvijų veislių mikrosatelitų įvairovės tyrimas. Žemės ūkio mokslai, Vilnius : Lietuvos mokslų akademijos leidykla. (Zootechnika). ISSN 1392-0200. 2013, t. 20 (1), p. 57-63.
6. Baltrėnaitė, Lina; Liucvaikienė, Kristina; Makštutienė, Natalja; Morkūnienė, Kristina; Šalomskienė, Loreta; Miceikienė, Ilona Teodora; Stankevičius, Rolandas; Kerzienė, Sigita. Ožkų pieno baltymų genų įvairovės poveikis pieninėms savybėms. Veterinarija ir zootechnika. Kaunas: Lietuvos veterinarijos akademija. ISSN 1392-2130. 2013, t. 62(84), p. 8-13.

Tarptautinės konferencijos:

1. Morkūnienė, Kristina; Pranešimas tema: Naujos veislininkystės tendencijos – karvės su A2A2 genu. Karvių pieno, turinčio A2 baltymą, supirkimo tendencijos pasaulyje ir Lietuvoje. Tarptautinis seminaras „Pažangios veisimo technologijos pieno ūkio pelningumui didinti“ 2018 kovo 13 d. Kaunas.
2. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona; Kerzienė, Sigita. Application of genomic selection in dairy cattle in Lithuania. VIII International Scientific Agriculture Symposium “AGROSYM 2017”: book of abstracts: Jahorina, October 05-08, 2017, Bosnia and Herzegovina.
3. Pečiulaitienė, Nijolė, Mišeikienė, Ramutė, Miceikienė, Ilona, Makštutienė, Natalja, Morkūnienė, Kristina, Bižienė, Renata. SNPS of the pigs FTO (g.400C>G) and LIPE (c.442A<G) genes and their association with productivity traits. Tarptautinė mokslinė konferencija. Gyvūnų fiziologijos ir patologijos aktualijos. Kaunas. 2017m. Rugsėjo 28-29 d. Stendinis pranešimas.
4. Pečiulaitienė, Nijolė, Mišeikienė, Ramutė, Miceikienė, Ilona, Makštutienė, Natalja, Morkūnienė, Kristina, Bižienė, Renata. Influence of gene polymorphism to productivity traits in Lithuanian pig population. Tarptautinė mokslinė konferencija. Baisogala. 2017. Stendinis pranešimas.
5. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Genomic selection in dairy cattle – application of innovations in dairy farms. IDF Pasaulinis pienininkystės kongresas "Tvarios pienininkystės svarba tenkinant mitybos poreikius" : Vilnius, Lietuva, 2015 m. rugsėjo

20–24 d. http://idfwds2015.com/wp-content/uploads/2015-03-26_poster_Kristina-Mork-nien-.pdf

6. Liucvaikienė, Kristina; Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Smalinskienė, Alina; Miceikienė, Ilona Teodora. Selection for milkability traits by genetic markers. IDF Pasaulinis pienininkystės kongresas „Tvarios pienininkystės svarba tenkinant mitybos poreikius“: Vilnius, Lietuva, 2015 m. rugsėjo 20–24 d. p. 1-1.
7. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Genomic selection in dairy cattle - application of innovations in dairy farms. VI Baltic Genetics Congress : book of abstracts : September 30-October 3, 2015, Tartu, Estonia. p. 71-71.
8. Morkūnienė, Kristina; Liucvaikienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Genomic selection in dairy cattle. 12th International Symposium of Animal Biology and Nutrition : Book of abstracts : Balotești, Romania, November 14, 2014. p. 5-5.

Nacionalinės konferencijos:

1. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Biomarkers for milk quality. Vita Scientia Conference : conference book : 2016 01/04 Vilnius. p. 42-43, no. 36.
2. Morkūnienė, Kristina. Geninių ligų, galvijų leukocitų sukibimo nepakankamumo (BLAD), uridino monofosfato sintezės (DUMPS) ir argininosucinato sintezės (CVM) nepakankamumo tyrimai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje. VIII nacionalinė doktorantų mokslinė konferencija „Mokslas – sveikatai“: konferencijos pranešimų tezės. 2015 m. balandžio 10 d, p. 119-120. Skirta pirma vieta Veterinarinės medicinos, mikrobiologijos, maisto saugos ir kokybės sekcijoje ir premija.
3. Liucvaikienė, Kristina; Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Galvijų melžimo savybių gerinimas vykdant selekciją pagal genetinius žymenis. IV Jaunųjų mokslininkų konferencijos „Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai“ pranešimų tezės, 2015 m. lapkričio 5 d, Vilnius, p. 38-38.
4. Morkūnienė, Kristina; Baltrėnaitė, Lina; Miceikienė, Ilona Teodora. Pieninių galvijų bandų veislinės vertės gerinimas taikant genominę selekciją. III Jaunųjų mokslininkų konferencijos „Jaunieji mokslininkai – žemės ūkio pažangai“, pranešimų tezės : 2014 m. lapkričio 6 d, Vilnius, p. 57.

Morkuniene, K., Kerziene, S., Miceikiene, A. (2018), „Economic Evaluation of Genomic Selection in Lithuanian Dairy Cattle”, *Transformations in Business & Economics*, Vol. 17, No 2 (44), pp.21-32.

-----TRANSFORMATIONS IN -----
BUSINESS & ECONOMICS

© Vilnius University, 2002-2018
© Brno University of Technology, 2002-2018
© University of Latvia, 2002-2018

ECONOMIC EVALUATION OF GENOMIC SELECTION IN LITHUANIAN DAIRY CATTLE

¹Kristina Morkuniene

*Institute of Biology Systems and Genetics
Lithuanian University of Health Sciences
Tilzes 18, Kaunas, LT -47181
Lithuania
Tel.: +37065633177
E-mail: kristina.morkuniene@lsmuni.lt*

²Sigita Kerziene

*Department of Physics, Mathematics and Biophysics
Lithuanian University of Health Sciences
Tilzes 18, Kaunas, LT -47181
Lithuania
Tel.: 837363722
E-mail: sigita.kerziene@lsmuni.lt*

³Astrida Miceikiene

*Institute of Economics, Accounting and Finance
Aleksandras Stulginskis university
Universiteto str. 10, LT-53361
Akademija, Kaunas distr.
Lithuania
Tel. +370 37 752257
E-mail: astrida.miceikiene@asu.lt*

¹Kristina Morkuniene, Lecturer in the University of Health Sciences, Institute of Biology Systems and Genetics, Lithuania. Research interests include genomic selection in dairy and beef cattle, genetic analysis of the milk proteins that are responsible for the quantity and quality of production, identification of cattle genetic diseases, which could determine economic losses.

²Sigita Kerziene is Assoc. Professor of Lithuanian University of Health Sciences Department of Physics, Mathematics and Biophysics, where she delivers courses on Informatics, Mathematics and Statistics. Her current research includes projects in Biomedical data analysis and modeling by statistical methods. Articles have been published in various international journals, such as “Journal of Food Safety”, “Medycyna Weterynaryjna”, “Acta veterinaria Scandinavica”, “Health Sciences in Eastern Europe” and others.

³Astrida Miceikiene is a professor of Aleksandras Stulginskis University Institute of Economics, Accounting and Finance. Research interests include: public finance, optimal taxation, insurance.

*Received: January, 2017
1st Revision: May, 2017
2nd Revision: July, 2017
Accepted: October, 2017*

ABSTRACT. *The pilot study was conducted to evaluate economic benefit of application of genomic selection in Lithuanian dairy cattle. Igenity dairy cattle genomic profile was determined for each cow, including traits of productive life, somatic cell count, milk yield, fat amount, fat %, protein amount, protein %, dairy form.*

Application of genomic selection in dairy cattle has enabled the authors to evaluate dairy cattle genomic potential, increase accuracy of selection, choose different selection models and increase selection intensity, all together resulting in the new selection tool taking into account economic benefit of usage. Genomic selection method is recommended to be applied not only to separate cattle herds, but also whole dairy breed (Lithuanian Black and White, Lithuanian Red, Holstein) selection programs, as the genomic information of each animal is ranked on the basis of international data enabling international breeding value evaluation and participation in cross-country international dairy cattle breeding programs.

KEYWORDS: economic benefit, genomic selection, cattle, progeny dairy profile, Lithuania.

JEL classification: Q1, Q12, Q14.

Introduction

The use of genomic information in genetic evaluation has brought about revolutionary change in dairy cattle selection (Schaeffer, 2006; Mackay *et al.*, 2009; Pryce *et al.*, 2010; Buch *et al.*, 2012). In genomic selection, breeding values are estimated based on thousands of molecular markers, instead of own performance and family information. Application of molecular markers enables generation of accurate breeding values for animals of both sexes early in life, which can be used to shorten the generation interval for dairy cattle by omitting the progeny test (Schaeffer, 2006; Garcia-Ruiz *et al.*, 2016). Thus, selection decisions in dairy cattle breeding can now be made on young animals with higher accuracy than using a parent average breeding value. This has substantial implications on the design of breeding schemes, because, instead waiting until a bull has daughters with phenotypic records, the process that typically takes 5–6 years, young bulls with no progeny can rather be used as sires. The use of genomic selection gives tremendous economic effect. Costs for genotyping are negligible when focusing on a population wide perspective and considering additional costs for herd book registration, milk recording, keeping of bulls and heifers till mature age (König *et al.*, 2009). In practice, genomic selection refers to selection decisions based on genomic estimated breeding values (GEBV). GEBVs are calculated by estimating SNP effects from prediction equations, which are derived from a subset of animals in the population (i.e. reference population) with SNP genotypes and phenotypes for traits of interest. The accuracy of GEBV depends on the size of reference population used to derive prediction equations, heritability of the trait, and the extent of relationships between selection candidates and reference population (Scheffers *et al.*, 2012).

Genomic testing helps to make the best decisions for future by providing estimates of true genetic potential of animals as soon as they are born. Genomic testing increases herd profitability through increased genetic gain, parentage verification, management of inbreeding, confident mating decisions. Expected gains in net merit add tremendous economic value to dairy herds. With production and type traits identified early on, a breeder can match genomic profiles of heifers with those of bulls to improve the herd. Breeding with the use of heifers, which are genetically inferior to bulls, provides value for the heifers and keeps

inferior genetics from entering the herd gene pool, also enabling identification of the best replacement females by using genomics and breeding them to sexed semen sires. The use of genomic tested heifers allows to identify, cull or reprioritize, poor performing animals. Tested calf genomic data are compared to the information of thousands of other cattle known production traits. Genomic profiles can provide from 15 up to 45 key traits important for dairy production. Profiles include content for coat colour, milk components and genetic conditions. The cost of the development of high-throughput genotyping methods and reduced genotyping has made the application of genomic selection feasible (Pryce *et al.*, 2012; Meuwissen, 2009). Genomic selection could contribute to higher genetic gain without increased inbreeding, and particularly important for traits with low heritability, such as fertility and productive age. (Daetwyler *et al.*, 2009; Calus *et al.*, 2013). Genome wide selection in dairy cattle is used in many countries with highly developed animal husbandry, such as New Zealand, USA, Netherlands, Germany, France (Harris, Johnson, 2010; Wiggans *et al.*, 2011; Boichard *et al.*, 2012; Taylor *et al.*, 2016).

Aim of the study: The pilot study was conducted with the aim to apply genomic selection in Lithuanian dairy cattle and to evaluate economic benefit of the application.

1. Material and Methods

The study involved the collection of blood samples from 200 dairy cows and heifers. DNA was extracted by chloroform salt method (Sambrook *et al.*, 1989). Genotyping was performed by Igenity SNP panel identifying the genetic potential for dairy cattle traits - productive life, somatic cell count, milk yield, fat amount, fat %, protein amount, protein, dairy form. For each animal 360 single nucleotide polymorphisms (SNPs) covering the entire genome and related to dairy cattle phenotypic traits were tested by DNA technology. 72 000 SNP were investigated in total. Dairy cattle Igenity DNA profile was determined for every tested animal. DNA information was transformed into genomic scores showing genetic potential of each cow or heifer. The Igenity dairy cattle profile calculates genomic scores for traits using multiple DNA markers. The largest score indicates the best genomic value for productive life, milk yield, fat amount, fat %, protein amount, protein %, the lowest score indicates the best genomic value for somatic cell count. Combined results provide more complete picture of an animal's production potential. Genotypes were rated under the Igenity dairy cattle reference group (www.igenity.com).

Igenity custom sort software (www.igenity.com) was used to sort and rank animals according to DNA information based on the traits that are most important to dairy cattle breeders. This software allows to apply the priority filter for traits expressed by genomic scores. Weights or percentages of importance were applied to the traits. In the first model, we have applied 100 percent priority to milk yield, without any account of other traits. In the second model, 25% importance was applied for milk kg, 15% for fat %, 15% for protein %, 15% for productive life, 15% for somatic cell score and 15% for dairy form. The cattle were ranked on the basis of all entered criteria by means of the custom sort software. The result was customized, overall genomic index score on the familiar 1-to-10 scale from Igenity was generated. This allowed evaluating cattle based on the traits that are the most important in view of the selection goals. All rankings and calculation had been made separately for cows and heifers. As part of the model of application of genomic selection, 30% of poor performing cows that received the lowest genomic scores were replaced with 30% of best heifers that received the highest genomic scores.

Genomic scores were translated to actual figures for each trait using Igenity custom sort software allowing to evaluate genomic potential of the animal and additive genomic value effect. Genomic potential of the animal and additive genomic value effect expressed in net merit was recalculated to economic effect expressed in euros for extra milk, expressed in kilograms, and extra prolonged productive life, expressed in months. Productive life expressed in months was recalculated into production values – i.e. the kilograms of extra milk that can be produced by the cow with longer productive life and the potential economic benefit.

Prognostic economical effect of replacing 30% of poor performing cows with well performing heifers in 100 cow herd was evaluated.

2. Results and Discussion

Powerful DNA technology provides a wealth of valuable breeding, management and marketing information. Genomic selection offers many advantages in terms of improvement of the rate of genetic gain in dairy cattle breeding programs. The most important factors that contribute to faster genetic gain include: greater accuracy of predicted genetic merit for young animals; shorter generation interval as a result of heavier use of young, genetically superior males and females; increased intensity of selection, as breeders can use genomic testing to screen a larger group of potentially elite animals. By increasing the accuracy and intensity of selection and shortening the generation interval, the rate of genetic progress for economically important dairy traits can be approximately doubled. The introduction of genomic selection in the U.S. in 2008 reduced the generation intervals by six years. This change contributed significantly to the growth of all other developments. When the genomic selection was introduced the analysis showed that genetic enhancements contributed to increase in milk, fat and protein yield. When data was directly compared between 2008 and 2014, the improvement was 71%, 111% and 81%, of milk, fat and protein, respectively (Garcia-Ruiz *et al.*, 2016).

Igenity uses the power of DNA to help understand and manage the potential of animals to perform and transmit traits that are economically important. The Igenity dairy cattle profile shows animal genetic potential tested by DNA SNP multiple markers and transformed into genetic scores for dairy form, milk yield, fat amount, fat percent, protein amount and protein percent, somatic cell score, dairy form. The correlation between the genomic profile and phenotypic features was tested in four cattle populations for different breeds of cattle kept under different conditions, diversifying the population from 4000 to 6000 cattle, using the multivariate statistical model. The genomic profile was confirmed in 250,000 animals' population. Milk, fat and protein yields have routinely been collected for as long as a century. The yield traits have had varying economic weights in total merit indices (Miglior *et al.* (2005), but progress would be anticipated based on their moderate heritability (~0.30) (Van Tassell *et al.*, 1999). Different selection methods have been used starting from simple phenotypic evaluation up to the best linear unbiased prediction (BLUP). The revolution in selection occurred with the application of genomic selection method. SNP markers used by Igenity identify genetic variations that help to regulate milk yield, protein and fat content, without decreasing fertility. Dairy form research has shown that cows, high in dairy form, are more susceptible to metabolic, reproductive and foot and legs problems. Dairy form is closely related to productive life, especially through its effect on reproductive traits. Animals received 10 score for dairy form as a part of the Igenity profile, will have low dairy form – a good

indicator of longevity. The value of each extra month of productive life translates into additional profit per cow. Productive life (PL) (VanRaden, Wiggins, 1995) is a measure of animal longevity based on the amount of time a cow spends producing milk in its life. Longer lived animals typically are more profitable than shorter lived animals, particularly when the cost of raising an animal from birth to the start of lactation is high. The heritability of PL is relatively low ($h^2 = 0.08$), and selection accuracy is typically low for young animals that have few offspring with direct culling information (Weigel *et al.*, 1998). Despite these challenges, the trait has substantial economic value and currently receives 22% of the total emphasis in the combined economic index. PL has strong correlations with fertility and other fitness traits. Somatic Cell Score (SCS) is a profit driver for many producers as well as an indicator of potential for mastitis. It is a measure of udder health derived from somatic cell count that is associated with intramammary infection, mastitis. The SCS trait is important because it has strong relationship with the presence of clinical and subclinical mastitis and is much easier to measure than mastitis in dairy cattle (Shook, Schutz, 1994; Miller *et al.*, 2009). Sensitiveness to mastitis has great economic importance in the dairy industry because of losses associated with reduced milk production; discarded milk; premature culling; and increased costs for therapeutics, veterinary care and replacement animals (Hogeveen *et al.*, 2011). As Igenity profiles can be used at any age, the Igenity analysis for SCS can be used to identify calves and heifers with potential for high SCS and susceptibility to mastitis before they enter the parlour. An animal which scores a 10 for SCS has the potential for higher Somatic Cell Scores and may be more susceptible to mastitis than an animal with a 1 genomic score.

Table 1. Summarized results of Igenity profile genomic scores for Lithuanian dairy cattle

Genomic scores	Percent of animals in tested population, which have certain genomic score by traits							
	Productive Life, months	Somatic Cell Score	Milk, kg	Fat, kg	Fat, %	Protein, kg	Protein, %	Dairy form
10	2.5*	1.5	0	8.0*	6.0*	2.0*	3.5*	0
9	4.5	3.0	3.0*	3.5	5.5	7.0	14.0	4.0*
8	16.0	9.0	10.0	14.0	5.5	18.0	24.0	4.5
7	22.5	17.0	22.0	17.5	16.5	17.0	30.5	12.0
6	24.0	18.0	27.0	19.5	18.5	22.0	22.5	21.5
5	17.0	16.0	17.5	14.5	10.5	14.0	5.0	21.0
4	8.5	19.0	14.5	10.5	19.5	12.5	0.5	18.0
3	4.5	9.0	4.5	9.0	10.0	3.0	0	11.5
2	0.5	3.0	1.5	3.5	5.0	4.0	0	5.5
1	0	4.0*	0	0	3.0	0.5	0	2

Notes: *indicates percent of animals that have the best genomic score by the respective trait.

Source: calculated by the authors.

High genomic scores varying from 8 to 10 points in productive life were received by 23% of tested cows, in milk yield 13%, in fat kg 25.5%, in fat percent 17%, in protein kg 27%, in protein percent 41.5%. Low genomic scores ranging from 1 to 3 which are desirable in somatic cell count were demonstrated by 13% of tested animals. 35% of all tested dairy cattle had middle genomic scores: 5 or 6. (Table 1)

Table 2. Comparison of average genomic values between the Lithuanian dairy cattle with Igenity reference group animals

Traits	Average genomic values of tested dairy animals	Average genomic values of Igenity reference animal group
Fat kg	6.19	5.02
Fat %	5.80	4.96
Milk kg	6.01	5.93
Productive Life	6.26	5.99
Protein kg	6.18	6.36
Protein %	7.26	6.67
Somatic Cell Score	5.38	5.55

Source: calculated by the authors.

Average genomic values of tested dairy animals were higher than average genomic values of Igenity reference animal group especially for fat kg and fat %, approximately 1 genomic point, for milk kg - nearly the same, for protein kg - less than in the Igenity reference animal group. Somatic Cell Score genomic value was better in our tested dairy animals than in reference animal group (Table 2).

Table 3. Additive genomic value effect to dairy cattle phenotypic traits

Genomic scores	Additive genomic value effect					
	Milk, kg	Fat, kg	Protein, kg	Productive Life months	Somatic Cell Score (0-9)	Dairy form
10	-	33	18	5.5	0.35	-3.4
9	970	28	16	4.6	0.31	-2.9
8	853	24	14	4.1	0.27	-2.6
7	731	21	12	3.5	0.23	-2.2
6	617	18	10	3.0	0.20	-1.9
5	504	14	8	2.4	0.16	-1.5
4	387	11	6	1.9	0.12	-1.2
3	263	7	4	1.7	0.09	-0.8
2	150	4	3	1.3	0.05	-0.5
1	0	0	0	0	0	0.0

Source: calculated by the authors.

In the Igenity animal reference group, animals are rated by genomic scores according to the SNP information and correlations with phenotypic traits. The genomic scores are related to the expression of additive phenotype traits. Following the comparison between the SNP data of each tested animal and the SNP data of animal reference group, genomic scores were input for tested animals. The best cows that got genomic score 9, had the genetic potential to give 970 kg more milk per lactation than cows that had genomic score 1. There were 3 percent of such animals in the tested group of 200 animals (Table 3) and they could give extra 5,820 kg per lactation in comparison to animals with genomic score 1. Consequently, if there are 13% of cows in the herd that got high genomic scores ranging from 8 to 9 in milk yield, 22,880 extra milk kg per lactation can be drawn. If there are 25.5% of cows in the herd that got genomic scores ranging from 8 to 10 in fat kg and 27% in protein kg, extra 1,396 kg of milk fat and 800 kg of protein per lactation in tested herd can be drawn. Prolonged productive life can give extra 200.1 months of milking the best cows that can be

converted in 96,656 kg of extra milk kg in 200 cow herd, while the average milk yield per cow is 5,600 kg.

Table 4. Additive genomic value effect, where the increase in milk yield is the priority (100 % for milk kg)

Average genomic score for all traits	Additive genomic value effect								
	Milk, kg	Fat, kg	Fat, %	Protein, kg	Protein, %	Productive Life Months	Somatic Cell Score (0-9)	Dairy form	Dairy cattle
5.5	548 ±189 1*	24 ±11	0.29± 0.12 1***	10 ±4 1***	0.13± 0.02 1***	2.95± 0.91	0.19± 0.08 1***, 2**	1.7± 0.7 1***	Cows the entire herd
6.01	641 ±128	17±8	0.24± 0.09	11±3	0.12± 0.02	2.96± 0.84	0.19± 0.09	1.7± 0.7	Cows - 70 % of the best selected according to the genomic scores
6.06	527± 130 1*	21±7	0.26± 0.08	9±4	0.13±0. 02	3.41±0.96	0.24±0. 08 1***	1.2±0.5 1***	Heifers – the entire herd
8.28	876± 58	19±5	0.17± 0.06	14±2	0.10± 0.01	3.18± 0.68	0.27± 0.08	1.6± 0.8	Heifers - 30 % of the best selected according to the genomic scores
6.41	696±1 63	17±8	0.22± 0.09 1***	12±3 1***	0.11±0. 02 1***	3.02± 0.82	0.21±0. 09 2**	1.61±0. 69	Herd with 30% of cows replaced with 30% of heifers

Notes: 1, 2, 3 – the difference is statistically significant. * - indicates value of significance (*P<0.05 ** P<0.01 ***P<0.001).

Source: calculated by the authors.

In the first selection model, cows and heifers were sorted and ranked with the Igenity custom sort software by applying 100 % priority to milk yield, without any account of other traits. 70 % of cows with the highest genomic scores were selected to remain in the herd and 30 % of heifers with the best genomic scores for milk yield were selected for replacement. Average additive effect to milk yield per cow per lactation in 100 cows herd was 548 kg, following selection of 70 % of the best cows - 641 kg per cow per lactation, in herd with 30% of cows replaced with 30% of the best heifers - 696 kg per cow per lactation. Consequently, the increase can amount to 148 kg per cow per lactation or 14,800 kg per lactation per 100 cows herd. The average genomic score of the herd after replacement of cows with the genomically evaluated best heifers increased from 5.50 to 6.41. Nonetheless, where only milk yield is accounted for, other important dairy cattle traits became worse – lower genomic potential of the milk fat percent, milk protein percent, increased somatic cell score (Table 4).

In the second selection model, cows and heifers were sorted and ranked with Igenity custom sort software by balanced accounting of all traits - 25% for milk kg, 15% for fat %, 15% for protein %, 15% for productive life, 15% for somatic cell score, 15% for dairy form. 70 percent of cows with the highest genomic scores were selected to remain in the herd and 30 percent of heifers with the best genomic scores were selected for replacement. Average additive effect to milk yield per cow per lactation in 100 cows herd was 548 kg, while following selection of 70 % of best cows - 553 kg per cow per lactation, in herd with 30% of

cows replaced with 30% of the best heifers - 524 kg per cow per lactation, meaning the decrease of 24 kg per cow per lactation or 2400 kg per lactation per 100 cow herd. But the additive effect of all other traits increases considerably: milk fat percent - from 0.28 to 0.32, resulting in 4 kg of fat per cow or 400 kg per 100 herd, productive life increased from 2.95 month to 3.45 month, resulting in 0.5 month extra productive life per cow, 50 extra milking month per herd, decreased somatic cell score and dairy form showing cows being less susceptible to mastitis, metabolic, reproductive and foot and leg problems (Table 5).

Table 5. Additive genomic value effect with equal priority to all important dairy traits in selection (25 % for milk kg, 15 % for fat %, 15 % for protein %, 15 % for productive life, 15 % for somatic cell score, 15 % for dairy form)

Average genomic scores	Additive genomic value effect when attention in selection is 25 % for milk kg, 15 % for fat %, 15 % for protein %, 15 % for productive life, 15 % for somatic cell score, 15 % for dairy form								
	Milk, kg	Fat, kg	Fat, %	Protein, kg	Protein, %	Productive Life, months	Somatic Cell Score (0-9)	Dairy form	Dairy cattle
6.08	548±190 ^{1*}	16±6 ^{1*}	0.28±0.13 ^{1**}	10±4 ^{2**}	0.13±0.02 ^{1*}	2.95±0.91 ^{1**}	0.20±0.09 ^{1***}	1.71±0.65 ^{1***}	Cows – the entire herd
6.31	553±167	20±9	0.29±0.12	9±3	0.13±0.02	3.32±0.76	0.16±0.05	1.64±0.71	Cows - 70 % of the best selected according to the genomic scores
7.21	611±172 ^{1*}	18±7	0.26±0.11	10±4 ^{1**}	0.13±0.02	3.13±0.91	0.24±0.08 ^{1***}	1.38±0.60 ^{1***}	Heifers – the entire herd
6.85	665±158	24±7 ^{1*}	0.38±0.10 ^{1**}	6±4 ^{2**}	0.15±0.02 ^{1*}	4.24±0.66	0.21±0.08	1.52±0.48	Heifers – 30 % of the best selected according to the genomic scores
6.45	524±174	21.00±9	0.32±0.12	8±2 ^{1**}	0.13±0.02	3.45±0.92 ^{1**}	0.17±0.06	1.61±0.66	Herd with 30 % of cows replaced with 30 % of heifers

Notes: 1, 2 – the difference is statistically significant. * - indicates value of significance (*P<0.05 ** P<0.01 ***P<0.001).

Source: calculated by the authors.

Table 6. Economical evaluation of additive genomic value effect with the increase of milk as the selection priority (100 % for milk kg)

Dairy cattle	For milk per lactation per cow, EUR/ per 100 cow herd, EUR	For prolonged productive life, where average milk yield per cow is 5600 kg per cow, EUR/ per 100 cow herd, EUR
Cows – 100 %	148/14,800	446/4,460
Cows - 70 % of the best selected according to the genomic points.	173/17,300	448/4,480
Heifers - 100 %	142/14,200	516/5,160
Heifers - 30 % of the best selected according to the genomic points.	237/23,700	481/4,810
Herd with 30% of the cows replaced with 30% of the best heifers.	188/18,800	457/4,570

Source: calculated by the authors.

Converting additive genomic value of traits into Euro in the first model, when milk yield was the only selection priority, extra milk yield resulted in 148 EUR (0.27 EUR per milk kg) per cow in the preselected herd, 173 EUR per cow in 70% of the best selected cow herd, 237 EUR in 30% of the best selected heifers herd and 188 EUR in herd with 30% of the cows replaced with 30% of the best heifers. Consequently, increase in EUR per cow per lactation using first genomic selection model was 40 EUR or 4,000 EUR for 100 cow herd annually. Given that the best selected heifers provide 237 EUR per animal, replacement of all cows with the best heifers leads to potential increase in money to 9,800 EUR per herd (*Table 6*).

Table 7. Economical evaluation of additive genomic value effect in EUR with all important dairy traits characterised by equal selection priority (25 % for milk kg, 15 % for fat %, 15 % for protein %, 15 % for productive life, 15 % for somatic cell score, 15 % for dairy form)

Dairy cattle	For milk during lactation per cow, EUR/ per 100 cow herd, EUR	For prolonged productive life, where average milk yield per cow is 5600 kg per cow, EUR/ per 100 cow herd, EUR
Cows – 100 %	148/14,800	446/4,460
Cows - 70 % of the best selected according to the genomic points	149/14,900	448/4,480
Heifers - 100 %	128/12,800	516/5,160
Heifers - 30 % of the best selected according to the genomic points	126/12,600	481/4,810
Herd with replaced 30 % of cows replaced by 30 % of best heifers	141/14,100	457/4,570

Source: calculated by the authors.

Converting additive genomic value of traits into Euro in the second selection model with all important dairy traits having equal selection priority resulted in 148 EUR (0.27 EUR per milk kg) per cow in the preselected herd, 149 EUR per cow in 70 % of the best selected cow herd, 126 EUR in 30 % of the best selected heifer herd and 141 EUR in the herd with 30% of the cows replaced with 30% of the best heifers. Consequently, under the second genomic selection model, the decrease in EUR per cow per lactation using was only 4 EUR, or 400 EUR per 100 cow herd 400 EUR annually (*Table 7*). Nonetheless, the increase in other important production and health traits, such as milk fat, milk proteins, decrease in somatic cell count showing better udder condition as well as better dairy form gives more value than insignificant decrease in milk yield.

The genomic selection effect depends on genomic value of heifers chosen by the authors for replacement. Following the evaluation of heifers' herd, if the genomic value of heifers is too low, the farmer may make the decision to purchase heifers with certain genomic value for separate traits from outside, in view of the selection trend chosen by a farmer. The one-to-ten scoring system provides a more definitive and focused profile. The results can be used to make more accurate breeding decisions, assist in heifer selection, whether buying, selling or keeping replacements, improve voluntary culling decisions, select superior dams or donor animals, adjust management practices, take inventory of herd and establish a baseline for improvement, calculate the economic effect of genetic progress of the herd, by using genomic selection.

Comprehensiveness of the Igenity profile allows to monitor the traits that are the most important for future profitability. This convenient scoring system used in combination with

published genetic evaluations enables benchmarking and monitoring of the genetic progress in herd. Testing animals early in their lives provides a powerful genetic basis for the many breeding, selection and management decisions. Bovine cattle rating according to genomic profiles makes it possible to select cattle with the best variants of the genomic profile in all dairy cattle characteristics, i.e. animals with the highest breeding genomic values (Hayes *et al.*, 2009).

Directions in herd improvement can be taken and economic effect can be calculated by determining the genomic profile for each bovine, ranking animals in herds according to the genomic profile results for individual traits, genomic profile results for various combinations of traits and upon selection of the highest genomic value cattle according to the genomic profiles and based on the obtained results.

Genomic profiles of dairy cattle can be input into the international database of dairy cattle genomic profiles and a farmer can then identify location of the herd by genetic potential in comparison to other herds in a separate breed, place of the herd or individual animal in the international database of almost 500,000 individuals in accordance with genomic profiles. Genomic selection already plays an important role in dairy cattle breeding programs, and this will be the case for the foreseeable future. Genomic selection is attractive for dairy cattle breeding, because it relaxes the need to perform phenotypic measurements of close relatives of all selection candidates. In dairy cattle breeding programs, genomic selection allows breeders to identify genetically superior animals at a much earlier age. In fact, animals that have been DNA tested can receive an accurate genomic estimated breeding value (GEBV) before they reach sexual maturity. This leads to decrease in generation intervals and increases genetic gain per year for all breeding goal traits. Introduction genomic selection is revolutionising breeding programs worldwide. This new selection tool is particularly beneficial for dairy cattle breeding programs because it allows to significantly reduce generation intervals and increase selection intensity at low cost, and the accuracy of selection is only marginally lower compared with progeny testing schemes. Genomic selection employs reference population to estimate effects for genome-wide single nucleotide polymorphism (SNP) that are used subsequently to predict breeding values for selection candidates. (Scheffers *et al.*, 2012; Wiggans *et al.*, 2016)

Conclusions

Following the pilot study of application of genomic selection in dairy cattle, it can be concluded that it provides the possibility to evaluate dairy cattle genomic potential, increases accuracy of selection when choosing different selection models and increases selection intensity, all of this resulting into economic benefit of application of the new selection tool. The genomic selection method is recommended for application not only to separate cattle herds but in the overall dairy breeds (Lithuanian Black and White, Lithuanian Red, Holstein) selection programs, as the genomic information of each animal is ranked in the international database, enabling international breeding value evaluation and participation in cross-country international dairy cattle breeding programs.

References

- Boichard, D., Guillaume, F., Baur, A., Croiseau, P., Rossignol, M.N., Boscher, M.Y., Druet, T., Genestout, L., Colleau, J.J., Journaux, L., Ducrocq, V.A., Fritz, S. (2012), "Genomic selection in French dairy cattle", *Animal Production Science*, Vol. 52, No 3, pp.115-120.

- Buch, L.H., Sorensen, M.K., Berg, P., Pedersen, L.D., Sorensen, A.C. (2012.), „Genomic selection strategies in dairy cattle: strong positive interaction between use of genotypic information and intensive use of young bulls on genetic gain“, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, Vol. 129, No 2, pp.138-151.
- Calus, M.P.L., de Haas, Y., Pszczola, M., Veerkamp, R.F. (2013), „Predicted accuracy of and response to genomic selection for new traits in dairy cattle“, *Animal*, Vol. 7, No 2, pp.183-191.
- Daetwyler, H.D., Villanueva B., Bijma P., Woolliams, J.A. (2009), "Inbreeding in genome-wide selection", *J. Anim. Breed. Genet.*, Vol. 124, No 6, pp.369-376.
- Garcia-Ruiz, A., Cole, J.B., VanRaden, P.M., Wiggans, G.R., Ruiz-Lopez, F.J., Van Tassell, C.P. (2016), "Changes in genetic selection differentials and generation intervals in US Holstein dairy cattle as a result of genomic selection", *Proc Natl Acad Sci.*, Vol. 113, No 28, pp.3995-4004.
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.J., Goddard, M.E. (2009), „Invited review: Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges“, *Dairy Sci.*, Vol. 92, No 3, pp.1313.
- Harris, B.L., Johnson, D.L. (2010), „The Impact of High Density SNP chips on Genomic Evaluation in Dairy Cattle“, *Interbull Bulletin*, No 42, pp.40-43.
- Hogevveen, H., Huijps, K., Lam, T.J. (2011), "Economic aspects of mastitis: New developments", *N Z Vet J.*, Vol. 59, No 1, pp.16-23.
- König, S., Simianer, H., Willam, A. (2009), "Economic evaluation of genomic breeding programs", *J. Dairy Sci.*, Vol. 92, No 1, pp.382-391.
- Mackay, T.F., Stone, E.A., Ayroles, J.F. (2009), "The genetics of quantitative traits: Challenges and prospects", *Nat. Rev. Genet.* Vol. 10, No 8, pp.565-577.
- Meuwissen, T. (2009), „Accuracy of breeding values of 'unrelated' individuals predicted by dense SNP genotyping“, *Genetics Selection Evolution*, Vol. 41, No 1, pp.1-9.
- Miglior, F., Muir, B.L., Van Doormaal, B.J. (2005), "Selection indices in Holstein cattle of various countries", *J Dairy Sci.*, Vol. 88, No 3, pp.1255-1263.
- Miller, R.H., Norman, H.D., Wright, J.R., Cole, J.B. (2009), "Impact of genetic merit for milk somatic cell score of sires and maternal grandsires on herd life of their daughters", *J Dairy Sci.*, Vol. 92, No 5, pp.2224-2228.
- Pryce, J.E., Daetwyler, H.D. (2012), "Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research", *Animal Production Science*, Vol. 52, No 3, pp.107-114.
- Pryce, J.E., Goddard, M.E., Raadsma, H.W., Hayes, B.J. (2010), „Deterministic models of breeding scheme designs that incorporate genomic selection“, *Journal of Dairy Science*, Vol. 93, No 11, pp.5455-5466.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989), *Molecular Cloning. A laboratory manual*, 2nd Edition, New York: Cold Spring Harbor Lab. Soller.
- Schaeffer, L.R. (2006), "Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle", *J. Anim. Breed. Genet.*, Vol. 123, No 4, pp.218-223.
- Schefers, J.M., Weigel, K.A. (2012), "Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs", *Animal Frontiers*, Vol. 2, No 1, pp.4-9.
- Shook, G.E., Schutz, M.M. (1994), "Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States", *J Dairy Sci.*, Vol. 77, No 2, pp.648-658.
- Taylor, J.F., Taylor, K.H., Decker, J.E. (2016), "Holsteins are the genomic selection poster cows", *PNAS*, Vol. 113, No 28, pp.7690-7692.
- VanRaden, P.M., Wiggans, G.R. (1995), "Productive life evaluations: Calculation, accuracy and economic value", *J Dairy Sci.*, Vol. 78, No 3, pp.631-638.
- Van Tassell, C.P., Wiggans, G.R., Norman, H.D. (1999), "Method R estimates of heritability for milk, fat, and protein yields of United States dairy cattle", *J Dairy Sci.*, Vol. 82, No 10, pp.2231-2237.
- Weigel, K.A., Lawlor, T.J., Vanraden, P.M., Wiggans, G.R. (1998), "Use of linear type and production data to supplement early predicted transmitting abilities for productive life", *J Dairy Sci.*, Vol. 81, No 7, pp.2040-2044.
- Wiggans, G.R., Cooper, T.A., VanRaden, P.M., Van Tassell, C.P., Bickhart, D.M., Sonstegard, T.S. (2016), "Increasing the number of single nucleotide polymorphisms used in genomic evaluation of dairy cattle", *J Dairy Sci.*, Vol. 99, No 6, pp.4504-4511.
- Wiggans, G.R., VanRaden, P.M., Cooper, T.A. (2011), "The genomic evaluation system in the United States: Past, present, future", *J Dairy Sci.*, Vol. 94, No 6, pp.3202-3211.
- Igenity Dairy Dashboard (2016), available at, <https://www.igenity.com>, referred on 23/12/2017.

LIETUVOS PIENINIŲ GALVIJŲ GENOMINĖS SELEKCIJOS EKONOMINIS ĮVERTINIMAS

SANTRAUKA

Kristina Morkūnienė, Sigita Kerzienė, Astrida Miceikienė

Siekiant įvertinti ekonominę genominės selekcijos panaudojimo naudą Lietuvos pieniniams galvijams, buvo atliktas bandomasis tyrimas. Kiekvienai karvei buvo nustatytas genominis pieninių galvijų „Igenity“[®] profilis pagal produktyvaus amžiaus požymį, somatinių ląstelių skaičių, primilžį, riebalų ir baltymų kiekį bei procentą, ir pieninę formą. Didelis, nuo 8 iki 10 siekiantis produktyvaus amžiaus požymio, genominis potencialas buvo nustatytas 23 % ištirtų karvių, primilžyje – 13 %, riebalų kg – 25,5 %, riebalų procentais – 17 %, baltymų kg – 27 %, baltymų procentais – 41,5 %. Nuo 1 iki 3 svyruojanti bei somatinių ląstelių skaičiui pageidautina žema genetinė vertė buvo nustatyta pagal 13 % ištirtų gyvūnų. Pieninių galvijų genominės selekcijos taikymas leido autoriams įvertinti pieninių genčių potencialą, padidinti selekcijos tikslumą, pasirinkti skirtingus atrankos modelius ir taikant naują selekcijos priemonę, didinti jos intensyvumą. Genominės selekcijos metodą rekomenduojama taikyti ne tik atskiroms galvijų bandoms, bet ir visose pieninių galvijų veislių (Lietuvos juodmargiams, Lietuvos žaliiesiems, Holšteinams) selekcijos programose, nes kiekvieno gyvūno genominė informacija yra vertinama remiantis tarptautiniais duomenimis, suteikiant galimybę įvertinti veislinę vertę tarptautiniu mastu ir dalyvauti tarpvalstybinėse tarptautinėse pieninių galvijų veisimo programose.

REIKŠMINIAI ŽODŽIAI: ekonominė nauda, genominė atranka, galvijai, pieninių galvijų profilis, Lietuva.

ASSOCIATION OF KAPPA CASEIN POLYMORPHISM WITH MILK YIELD AND MILK PROTEIN GENOMIC VALUES IN COWS REARED IN LITHUANIA

Kristina Morkūnienė, Lina Baltrenaitė, Aušrinė Puišytė, Renata Bižienė, Nijolė Pečiulaitienė, Natalja Makštutienė, Ramutė Misičikienė, Ilona Miceikienė, Sigita Kerzienė

Lithuanian University of Health Sciences, Institute of Biology Systems and Genetics
Tilzes 18, LT-Lithuania, Kaunas; kristina.morkuniene@lsmuni.lt

Summary. Aim of the study was to investigate polymorphism of bovine kappa casein gene in Lithuanian milk cattle population and to evaluate relation of certain genotypes with milk production traits expressed by genome scores. DNA samples were collected from 189 milk breed cattle reared in Lithuania. DNA was extracted from blood by salt method (Miller et al., 1998). Bovine kappa casein gene polymorphism study was performed by PCR-RFLP method (Soria et al., 2003). After PCR 935 bp fragment was received, which was digested with restriction enzymes HaeIII / HindIII and the fragments were separated in the 3% agarose gel, what allowed to identify the kappa casein A, B, E alleles. A allele with frequency 0.72, E allele with frequency 0.05. B allele, which can be used to carry out selection to improve milk processing properties was found 0.23 frequency. Six genotypes were identified: AA, AB, AE, BB, BE, EE at different frequencies. The most common was the AA genotype, which had 49.2 % of the tested animals. EE was least frequently occurring genotype, which had only 0.5% of the tested animals. The biggest influence on the milk processing properties having BB genotype was found in 2.1% of the cows. Cows with kappa casein AA genotype had the highest genomic scores for milk yield (6.05), observing statistically significant difference between kappa casein AA and AB genotypes ($P < 0.05$); the highest protein amount genomic values had kappa casein BB genotype cows (6.25), the highest protein percent genomic scores had BB and BE genotype cows. Dispersion analysis showed that 2.8 % of milk yield variation expressed by genomic scores, 0.2% of protein amount variation and 3.3 % of protein percent variation ($P < 0.05$) are dependent from kappa casein gene genotype. These results create opportunities to improve the properties of milk processing in Lithuanian dairy cattle population.

Keywords: kappa casein, polymorphism, cattle, PCR-RFLP

Background. Animal productivity, milk amount, milk composition, milk protein and fat amount, and composition, milk suitability for manufacturing and other farm traits are inherited from generation to generation. Farm traits expression and functional properties are dependent on genes that animals have. Cow milk quality and quantity are also dependent on feeding, milking, keeping conditions and many other factors but even when all the factors are optimally balanced, the part of productivity, dependent on heritability, stays unchanged.

The milk proteins are the most important components of milk in human nutrition. Today the dairy industry has the technological possibilities to produce much more different kinds of milk products. The manufacturing properties of milk are related to the composition of proteins in milk (Lunden et al., 1997). All of casein proteins are the major constituents (80%) of total proteins in cattle milk. (Grosclaude, 1988).

Milk casein proteins are coded by four genes Casein S1, Casein S2, Beta casein and Kappa casein found on chromosome 6 in 6q31 position (Threadgill and Womack, 1990). Total kappa casein gene length is 13 kb, composed from 5 exons (Martin et al., 2002), but most sequences coding proteins are found in fourth exon (Azevedo et al., 2008). Kappa casein is a one strand polypeptide, comprised from 169 amino acids with molecular weight 19.2 KDa. Kappa casein is only fraction of caseins, which contains S-amino acid and is not precipitated by calcium ions. In 1984 Eigel and co-authors published an article about the two variants of κ -casein, A and B, that differ in their amino acids at the positions 136 and 148. In position 136, Thr (ACC) is substituted by Ile (ATC), while in

position 148 there is Ala (GCT) instead of Asp (GTA) (Tinaev, 2003). The positions of these two point mutations are close to the glycosylation sites, which affects the protein structure as well as the glycosylation itself (Fox, 1992). Thus, these genetic variants are related to the milk properties of the dairy cows, milk instability during the milk processing as its suitability for cheese production. In recent years, the variations in the promoter region of the casein gene, and their influence for the expression of the milk proteins came into the scientists attention. In addition, changes in the flanking region, together or separately with the changes in the coding region, may affect the yield and quality of milk (Caroli et al., 2009; Hoogendoorn et al., 2003; Martin et al., 2002; Pauciuolo et al., 2013).

Kappa casein genetic variants are found in different frequencies in various milk cattle populations. Most European cattle breeds have very high frequency of kappa casein A allele (Jakob, 1992; Van Eenennaam and Medrano, 1991) and this allele is predominant in the Holstein cattle (Lin et al., 1986). For the selection it is very important to identify animals with B allele and BB genotype of kappa casein to increase the frequency of this allele in dairy cattle population. So our aim was to test kappa casein polymorphism in milk cattle reared in Lithuania, identify animals with favourable B allele and BB genotype and evaluate relation of certain genotypes with milk production traits expressed by genome scores.

Materials and methods

One hundred eighty nine milk breed cows reared in Lithuania were sampled at random. Blood samples were taken from jugular vein into EDTA containing tubes,

transported to laboratory and stored at -20°C until genomic DNA extraction. DNA was extracted by chloroform salt method (Miller et al., 1998). Genomic DNA content and purity were determined by spectrophotometric methods (DNA / RNA Reader, Pharmacia). Genomic DNA was stored at 4°C until

analysis. Statistical analysis performed by SPSS program.

Genotyping for kappa casein was done using PCR-RFLP method (Soria et al., 2003). The primers, PCR profile, PCR product size and restriction enzymes used for identification of milk protein are shown in Table 1.

Table 1. Primer, PCR profile, PCR product size and restriction enzymes used for identification of milk protein kappa casein polymorphisms

Milk protein	Primer	PCR profile			PCR product size	Restriction enzyme
Kappa casein	CSN3 1 5'-AGCGCTGTGAGAAAGATG-3' CSN3 2 5'-GTGCAACAACACTGGTAT-3'	94 $^{\circ}\text{C}$	3 min	30 cycles	935 bp	<i>HindIII</i> <i>HaeIII</i>
		94 $^{\circ}\text{C}$	30 s			
		58 $^{\circ}\text{C}$	30 s			
		72 $^{\circ}\text{C}$	30 s			
		72 $^{\circ}\text{C}$	5 min			

The PCR reaction was carried out in GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystem). PCR mix – 12 μl ddH₂O; 5 μl 10xPCR buffer; 2.5 μl dNTP (2 mM); 3 μl MgCl₂ (50 mM); 2.5 μl CSN3 1 (20 pmol); 2.5 μl CSN3 2 (20 pmol); 0.5 μl BSA; 2 μl Taq (1U/ μl) polymerase (MBI Fermentas, Lithuania). The digestion of PCR product was performed using endonucleases *HaeIII*/*HindIII* (MBI Fermentas, Lithuania). 20 μl PCR product was digested with 10.5 μl restriction mix (8 μl ddH₂O, 2 μl 10xMbuf., 0.5 μl *HaeIII*/*HindIII*) (to separate alleles A, B, E). The samples were left in thermostate for night (15 h) at 37°C (table 2).

Table 2. PCR fragment sizes in bp of Kappa casein gene after the digestion with restriction endonucleases

Genotype	Restriction endonucleases, fragment sizes in bp	
	<i>HindIII</i>	<i>HaeIII</i>
A/A	935	641 + 294
A/B	935 + 520 + 415	641 + 294
A/E	935	641 + 496 + 294 + 145
B/B	520 + 415	641 + 294
B/E	935 + 520 + 415	641 + 496 + 294 + 145
E/E	935	496 + 294 + 145

Kappa casein genotypes were determined using 3 % agarose gel by electrophoresis 100 V 50 min. stained with ethidium bromide 15–20 min. EtBr was added to gels to visualize the analysis results under UV light in „MiniBisPro“ system (Herolab).

Genome analysis was performed by Igenity SNP panel identifying the genetic potential for dairy cattle traits - milk yield and protein amount and protein %. Different traits potentially related to milk yield, protein amount and protein % SNP's were tested. The IGENITY dairy cattle profile calculates scores for traits using multiple DNA markers. The largest score indicates the best genomic value for milk yield and milk amount and milk protein %. Combined results provide more complete picture of an animal's production potential. Genotypes

were rated in Igenity dairy cattle reference group to identify genomic scores relating to productive traits.

Results

The polymorphism of kappa-casein gene was investigated by PCR-RFLP method in 189 dairy cattle. Restriction of the obtained 935 bp PCR reaction products by *HinfI* and *HaeIII* restriction enzymes allowed determination of the frequencies of A, B and E alleles of kappa-casein in the investigated group of cattle.

Table 3. Kappa casein allele frequencies in Lithuanian milk cattle

Identified kappa casein alleles	Observed frequencies
A	0.721
B	0.227
E	0.052

Table 4. Kappa casein genotype frequencies in Lithuanian milk cattle

Kappa casein genotypes	Observed frequencies	Expected frequencies
AA	0.492	0.518
AB	0.386	0.327
AE	0.069	0.076
BB	0.021	0.052
BE	0.026	0.024
EE	0.005	0.003

The frequency of A allele was found to be highest – 0.721, while the lowest was of E allele – 0.052. B allele, which is important for the processing properties of milk, was found in 22.7% of cows investigated. A allele was more than three times more frequent than B allele and even 13.6 times more frequent than E allele (table 3).

The expected and predicted genotype frequencies did not differ statistically significantly ($\chi^2 = 6.255$; $P = 0.282$).

Six different genotypes were identified in the group of investigated cattle: AA (0.492), AB (0.386), AE (0.069),

BB (0.021), BE (0.027), EE (0.005). Three homozygous genotypes AA, BB and EE were found and three heterozygous - AB, AE and BE. Out of the identified genotypes, the AA was found to be the most frequent. It was found in 49.2% of investigated cows. EE genotype

was found to be the least frequent. It was found only in 0.5% of investigated cattle. BB genotype, which highly influences the processing properties of milk, was found in 2.1% of cows (table 4).

Table 5. Distribution of Kappa casein genotypes according milk yield genomic scores

Kappa casein genotypes	Milk yield genomic scores									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AA			1.1%	12.6%	16.1%	34.5%	24.1%	9.2%	2.3%	
AB		4.6%	9.2%	13.8%	16.9%	27.7%	15.4%	7.7%	4.6%	
AE			8.3%		16.7%	25.0%	25.0%	16.7%		
BB				25.0%	25.0%	25.0%		25.0%		
BE				25.0%	25.0%		50.0%			
EE					100.0%					

Comparing different kappa casein genotypes according to milk yield genomic scores in kappa casein, AA genotype cow milk yield genomic scores varied from 3 to 9, most cows (34.5%) got 6 milk yield genomic scores; kappa casein AB genotype cow milk yield genomic scores varied from 2 to 9, most cows (27.7%) got 6 milk yield genomic scores; kappa casein AE genotype cow milk yield genomic scores varied from 3 to 8, same amount of cows (25.0%) got 6 and 7 milk yield genomic scores; in kappa casein BB genotype cow milk yield genomic scores varied from 4 to 8, same amount of cows (25.0%) got 4, 5, 6 and 8 milk yield genomic scores; in kappa casein BE genotype cow milk yield genomic scores varied from 4 to 7, same amount of cows (25.0%) got 4 and 5 milk yield genomic scores; rest 50 % of cows got 7 milk yield genomic scores; all kappa casein EE genotype cows got 5 milk yield genomic scores. Pearson Chi-Square test shows no statistically significant influence of kappa casein gene to milk amount expressed by genomic scores ($P=0.838$) (table 5).

Comparing different kappa casein genotypes according to protein amount genomic scores in kappa casein, AA genotype cows protein amount genomic scores varied from 2 to 10, the most of cows (20.7%) got 6 and 8 protein amount genomic scores equally; kappa casein AB genotype cows protein amount genomic scores varied from 1 to 10, most cows (19.7%) got 7 protein amount genomic scores; kappa casein AE genotype cows protein amount genomic scores varied from 4 to 8, same amount of cows (33.3 %) got 6 and 7 protein amount genomic scores; in kappa casein BB genotype cows protein amount genomic scores varied from 4 to 9, all cows (25.0%) got same protein amount genomic scores; in kappa casein BE genotype cows protein amount genomic scores varied from 2 to 9, most cows (50.0%) got 9 protein amount genomic scores; all kappa casein EE genotype cows got 6 protein amount genomic scores. Pearson Chi-Square test shows no statistically significant influence of kappa casein gene to milk amount expressed by genomic scores ($P=0.636$) (table 6).

Table 6. Distribution of Kappa casein genotypes according protein amount genomic scores

Kappa casein genotype	Protein amount genomic scores									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AA		3.4%	2.3%	14.9%	16.1%	20.7%	12.6%	20.7%	6.9%	0.4%
AB	1.5%	6.1%	6.1%	9.1%	13.6%	18.2%	19.7%	16.7%	6.1%	0.7%
AE				25.0%		33.3%	33.3%	8.3%		
BB				25.0%	25.0%		25.0%		25.0%	
BE		25.0%		25.0%					50.0%	
EE						100.0%				

Comparing different kappa casein genotypes according to protein percent genomic scores in kappa casein, AA genotype cows protein percent genomic scores varied from 5 to 10, most cows (33.3%) got 7 protein percent genomic scores; kappa casein AB genotype cow milk protein percent genomic scores varied from 5 to 10, most cows (27.3%) got 7 protein percent genomic scores; kappa casein AE genotype cow milk protein percent genomic scores varied from 5 to 10, same amount of cows (25.0%) got 6 and 7 protein percent genomic scores; in kappa casein BB genotype cows milk protein percent

genomic scores varied from 6 to 10, same amount of cows (25.0%) got 9 and 10 protein percent genomic scores and the rest of cows (50.0 %) got protein 6 percent genomic scores; in kappa casein BE genotype cows protein percent genomic scores varied from 7 to 8, the most of cows (75.0%) got 8 protein percent genomic scores; all kappa casein EE genotype cows got 9 protein percent genomic scores. Pearson Chi-Square test shows no statistically significant influence of kappa casein gene to milk amount expressed by genomic scores ($P=0.2300$) (table 7).

Table 7. Distribution of Kappa casein genotypes according protein percent genomic scores

Kappa casein genotypes	Protein percent genomic scores									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AA					8.0%	18.4%	33.3%	28.7%	10.3%	1.3%
AB					3.0%	21.2%	27.3%	21.2%	21.2%	6.1%
AE					8.3%	25.0%	25.0%	16.7%	16.7%	8.3%
BB						50.0%			25.0%	25.0%
BE							25.0%	75.0%		
EE									100.0%	

Table 8. Relation of Kappa casein genotypes to milk production traits genomic scores

Kappa casein genotypes	n	Milk amount genomic scores	Protein amount genomic scores	Protein percent genomic scores
AA	87	6.05±0,136 a	6.17±0,200	7.18±0,122
AB	65	5.54±0,215 b	6.02±0,257	7.55±0,159
AE	12	6.00±0,444	6.00±0,389	7.33±0,432
BB	4	5.75±0,854	6.25±1,109	7.75±1,031
BE	4	5.75±0,750	6.00±1,780	7.75±0,250
EE	1	5.00	6.00	9.00

a, b – averages marked in different letters in the column differ significantly ($P < 0.05$)

Cows with kappa casein AA genotype had the highest genomics scores for milk yield (6.05), observing statistically significant difference between kappa casein AA and AB genotypes ($P < 0.05$); the highest protein amount genomic values had kappa casein BB genotype cows (6.25), highest protein percent genomic scores had BB and BE genotype cows. EE genotype cow had genomic score for protein percent 9, but as it was only 1 cow, it can be a casual case (table 8).

Dispersion analysis showed that 2.8 % of milk yield variation expressed by genomic scores ($P > 0.05$), 0.2% of protein amount variation ($P > 0.05$) and 3.3 % of protein percent variation ($P < 0.05$) are dependent from kappa casein gene genotype.

Discussion. For the first time association of Igenity dairy cattle genomic values for production traits with milk protein genotypes were tested. Cows with kappa casein AA genotype had the highest genomics scores for milk yield, observing statistically significant differences between kappa casein AA and AB genotypes; kappa casein BB genotype cows had highest genomic values for protein amount and protein percent, BE genotype cows - for protein percent. The IGENITY profile calculates scores for milk yield, fat amount, fat percent, protein amount and protein percent using multiple DNA markers. These markers identify genetic variations that help to regulate milk yield, protein and fat content, without decreasing fertility. The combined results provide more complete picture of an animal's production potential. The use of genomic information in genetic evaluation has brought revolutionary change in dairy. Genomic selection offers many advantages with regard to improve the rate of genetic gain in dairy cattle breeding programs. The most important factors that contribute to faster genetic gain include: a greater accuracy of predicted genetic merit for young animals; a shorter generation interval because of heavier use of young, genetically superior males and

females; an increased intensity of selection, because breeders can use genomic testing to screen a larger group of potentially elite animals. By increasing the accuracy and intensity of selection and shortening the generation interval, the rate of genetic progress for economically important dairy traits can be approximately doubled (Schaeffer, 2006; Pryce and Daetwyler, 2012).

Milk is very important in human diet. Human consume raw milk and different milk products such as cheese, curd, yogurt, ect. so milk manufacturing properties are very important. One of the modern ways to improve milk quality is genetic or biotechnological method such as MAS (Marker Assisted Selection) (Rachagani and Gupta, 2008; Dogru and Ozdemir, 2009). Caseins are one of the most important milk proteins. There are 14 alleles identified of the kappa-casein (A, A1, B, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I, J) (Caroli et al., 2009), but the A and B alleles are the most prominent, as were also found in our study (Chessa et al., 2007; Soria et al., 2003; Atherton et al., 1977; Addeo et al., 1983; Di Luccia et al., 1988; Eigel et al., 1984). The frequency of A allele is highest in many of the dairy cattle breeds, but the selection is intensively carried out against the B allele by selecting such cows and forming specific cattle herds that produce milk suitable for cheese production. A lot of focus is concentrated on the B allele, as it is associated with improvement of milk processing properties (Kübarssepp et al., 2005; Strzalkowska et al., 2002). Relatively high frequency of kappa-casein B allele has been found in the cattle of Italy, France, Germany and UK (0,400 – 0,840) (Jann et al., 2004), slightly lower in Turkish (0,2979 – 0,3452), Croatian (0,130 – 0,460), Polish (0,33) and Belgian (0,190 – 0,280) cattle (Jann et al., 2004) as well as in Lithuanian cows, as shown by the results of our study (0,227). High frequency of kappa-casein B allele has been determined for Estonian brown and Jersey breeds, while lower frequency - in Estonian

Holstein and Argentinian Holstein breeds (Bonvillani et al., 2000; Beja-Pereira et al., 2002; Kubarsepp et al., 2005).

Kappa-casein E allele has not been found in Italian (Caroli et al., 2004; Jann et al., 2004), French (Jann et al., 2004), Belgian (Jann et al., 2004), Croatian (Jannet et al., 2004) and Turkish cattle (Dinc et al., 2013). The frequency of E allele for the Lithuanian cattle was 0.052 as found in this study.

High frequency of A allele, as well as in our study, has been found in Chinese Holsteins and Simmentals (Trakovic et al., 2012), also among Holstein cattle, bred in India, Russian black and white and Russian brown, and Columbian Holstein breeds (Zmbrano-Burbano et al., 2012).

The importance of B allele and BB genotype of kappa casein for milk manufacturing properties is reported in several studies (Martin et al., 2002; Hoogendoorn et al., 2003; Caroli et al., 2009; Pauciuolo et al., 2013). In dairy cattle the B variant of kappa casein is associated with a higher protein content, better quality of curd and increased yield of cheese. It has been suggested that identification of kappa casein genotypes could be an economically important selection criteria for dairy herds designated for industrial milk production (Pedersen, 1991).

Evaluation of actual and theoretical heterozygosity in the studied milk cattle population reared in Lithuanian revealed that theoretical heterozygosity was lower than the actual. The difference was not statistically significant, thus showing that, according to the Hardy-Weinberg principle, the studied group of cattle is in genetic equilibrium at the locus of kappa-casein gene. Observed higher than predicted actual heterozygosity indicates high level of genetic variation, which creates favorable conditions for livestock breeding.

Introduction of genetic markers into breeding programs allows to increase selection effectiveness and to expand the spectrum of traits, which can be effectively manipulated. The use of markers enables selection by a single trait only, which is determined by a single gene, or by several traits that are dependent on several genes. Consequently, with the rise of new molecular methods for genotype evaluation, new opportunities for cattle selection emerge (Miceikienė et al., 2007).

Conclusions

1. In this study, the polymorphism of milk protein gene kappa-casein was investigated in milk cattle reared in Lithuania. Three alleles with following frequencies A (0.72), B (0.23) and E (0.05) and six genotypes AA, AB, AE, BB, BE, EE were identified. The most frequent genotype AA was identified for 49.5% of tested animals. The least frequent genotype was EE, which was found only in 0.5% of investigated cattle.

2. BB genotype, which highly influences the processing properties of milk, was found in 2.1% of investigated cows.

3. Cows with kappa casein AA genotype had the highest genomics scores for milk yield (6.05), observing statistically significant difference between kappa casein

AA and AB genotypes ($P < 0.05$); highest protein amount genomic values had kappa casein BB genotype cows (6.25), highest protein percent genomic scores had BB and BE genotype cows.

4. Dispersion analysis showed that 2.8 % of milk yield variation expressed by genomic scores ($P > 0.05$), 0.2% of protein amount variation ($P > 0.05$) and 3.3 % of protein percent variation ($P < 0.05$) are dependent from kappa casein gene genotype.

5. The studied milk cattle population reared in Lithuania was in genetic equilibrium at the locus of kappa casein gene according to the Hardy-Weinberg principle. Observed higher than predicted actual heterozygosity indicates high level of genetic variation, which creates favorable conditions for livestock selection. Obtained results provide opportunities for selection of Lithuanian dairy cattle population in order to improve milk processing properties.

References

- Addeo F., Anelli G., Chianese L., Di Luccia A., Mauriello R., Petrilli P. Identification of bovine casein variants by gel isoelectric focusing. *Milchwissenschaft*. 1983. T. 38(10) P. 586-588.
- Altherton HV., Newlander JA. *Chemistry and Testing of Dairy products*. 1977. 4th Edition AVI publishing Co.
- Azevedo ALS., Nascimento CS., Steinberg RS., Carvalho MRS., Peixoto MGCD., Teodoro RL., Verneque RS., Guimaraes SEF. and Machado MA. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genetics and Molecular Research* 2008. T. 7. P. 623-630.
- Beja-Pereira A., Erhardt G., Matos C., Gama L., Ferrand N. Evidence for a geographical cline of casein haplotypes in Portuguese cattle breeds. *Anim Genet*. 2002. T. 33 P. 295-300.
- Bonvillani A.G., Di Renzo M.A., Tiranti, I.N. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. *Genetics and Molecular Biology*. 2000. T. 23 (4) P. 819-823.
- Caroli A., Chessa S., Bolla P., Budelli E., Gandini GC. Genetic structure of milk protein polymorphisms and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *J Anim Breed Genet*. 2004. T. 121. P. 119-127.
- Caroli AM., Chessa S., Erhardt GJ. Milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. 2009. T. 92 (11) P. 5335-5352.
- Chessa S., Chiatti F., Ceriotti G., Caroli A., Consolandi C., Pagnacco G., Castiglioni B. Development of a single nucleotide polymorphism genotyping microarray platform for the identification of bovine milk protein genetic polymorphisms. *Journal of Dairy Science*. 2007. T. 90(1) P. 451-464.
- Di Luccia A., Addeo F., Corradini C., Mariani P.

- Bovine kappa Casein C: an electrophoretic study. *Scienza e tecnica lattiero-casearia* 1988. T. 39(6) P. 413-422.
10. Dinc H., Ozkan E., Koban E., Togan I. Beta-casein A1/ A2, kappa-casein and beta-lactobulin polymorphisms in Turkish cattle breeds. *Archiv Tierzucht*. 2013. T. 65 P. 650-657.
 11. Dogru U., Ozdemir M. Genotyping of Kappa-casein locus by PCR-RFLP in brown Swiss cattle breed. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2009. T. 8(4) P. 779-781.
 12. Eigel WN., Butler JE., Ernstrom CA., Farrell Jr. HM., Harwalkar VR., Jenness R., Whitney RMcL. Nomenclature of Proteins of Cow's Milk: Fifth Revision. *J Dairy Sci*. 1984. T. 67. P. 1599-1631.
 13. Fox PF. *Advanced Dairy Chemistry Proteins*. London: Elsevier Science Publishing. 1992.
 14. Grosclaude F. Genetic Polymorphism of the Main Bovine Lactoproteins: Relationship with Milk Yield, Composition, and Cheese Yielding Capacity. *Anim*. 1988. T. 1 P. 5-17.
 15. Hoogendoorn B., Coleman SL., Guy CA., Smith K., Bowen T., Buckland PR., O'Donovan MC. Functional analysis of human of promoter polymorphisms. *Hum. Mol. Genet*. 2003. T. 12. P 2249-2254.
 16. Jakob E., Puhon Z. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins. *Int. Dairy J*. 1992. T. 2. P. 157-178.
 17. Jann OC., Ibeagha-Awemu EM., Ozbeyaz C., Zaragoza P., Williams JL., Ajmone-Marsan P., Lenstra JA., Moazami-Goudarzi K., Erhardt G. Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genet Sel Evol*. 2004. T. 36. P. 243-257.
 18. Kübarssepp I., Henno M., Viinalass H., Sabre D. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk renneting coagulation properties. *Agron. Res*. 2005. T. 3(1) P. 55-64.
 19. Lin CY., MsAllister AJ., Ng-Kwai-Hang KF., Hayes JF. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 1986. T. 69. P. 704-712.
 20. Lunden A., Nilsson M., Janson L. Marked effect of β polymorphism on the ratio of casein to total proteins in milk. *J Dairy Sci*. 1997. T. 80. P. 2996-3005.
 21. Martin P., Szymanowska M., Zwierczowski L., Leroux C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. *Reproduction Nutrition Development*. 2002. T. 42. P. 433-459.
 22. Miceikienė I., Kriauzienė J., Baltėnaitė L. Goat caprine casein gene polymorphism. *VetZoo* 2007. T. 38. P. 9-11.
 23. Pauciuolo A., Shuipe ES., Cosenza G., Ramunno L., Erhardt G. Molecular characterization and genetic variability at κ -casein gene (CSN3) in camels. *Gene*. 2013. T. 513. P. 22-30.
 24. Pedersen J. Selection to increase frequency of kappa-casein variant B in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 1991. T 108(1-6). P. 434-445.
 25. Pryce J., Daetwyler H. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection. A review of international research *Anim. Prod. Sci*. 2012. T. 52. P. 107-114.
 26. Rachagani S., Gupta ID. Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. *Genetics and Molecular Biology*. 2008. T. 31(4). P. 893-897.
 27. Schaeffer L. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle *J. Anim. Breed. Genet*. 2006. T. 123(4). P. 218-223.
 28. Soria LA., Iglesias GM., Huguet MJ., Mirande SL. A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappa-casein gene. *Animal Biotechnology*. 2003. T. 14(1). P. 1-5.
 29. Strzalkowska N., Krzyzewski J., Zwierczowski L., Ryniewicz Z. Effects of κ -casein and β -lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. *Anim Sci Pap Rep*. 2002. T. 20. P. 21-35.
 30. Threadgill DW., Womack JE. Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucleic Acids Res*. 1990. T. 18. P. 6935-6942.
 31. Tinaev AS. Effects of polymorphic milk protein genes on milk yield at heifer black-pied breed. *All-Russian Research Institute of Animal Breeding*. 2003.
 32. Trakovic A., Moravcikova N., Navratilova A. Kappa-casein gene polymorphism (CSN3) and its effect on milk production traits. *Acta fytotechnica et zootechnica*. 2012. T. 3. P. 61-64.
 33. Van Eenennaam AL., Medrano JF. Differences in allelic protein expression in the milk of heterozygous κ -casein cows. *J. Dairy Sci*. 1991. T. 74 P. 1491-1496.
 34. Zambrano-Burbano G., Eraso-Cabrera Y., Solarte-Portilla C., Rosero-Galindo C. Relationship between Kappa Casein Genes (CSN3) and Industrial Yield in Holstein Cows in Nariño-Colombia. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. Chapter 10. 2012.

Received 02 November 2016

Accepted 22 November 2016

SUMMARY

INTRODUCTION

In the last century, the genetic development of farm animals has been based on the registration of the traits and parentage information. The Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) technique [1] was used to evaluate breeding values, according which selection have been carried out. Dairy cattle breeding programs have usually been based on progeny evaluation schemes, when there were approximately 100 daughters of the sire, whose prodigy data were obtained, when the bulls were around 5 years old. The best bulls were later widely used in the population. These traditional breeding programs have been very effective since genetic progress has improved many selective traits. However, the limits of these traditional breeding programs are also well known, which primarily arise on purpose to constantly register phenotypes, which can be complicated for a variety of reasons. For example, the generation interval of dairy cattle is long, because only the traits of productivity of females can be considered. DNA markers can extend these limits because DNA can be collected from all, of any age, individuals and used to predict the genetic benefit of each individual. The genetic benefit of individuals is determined by the alleles which they have due to causative mutations which are based on the trait. For the last two decades, DNA markers have been used to investigate quantitative genomic traits [2], while using markers of genotypes in quantitative locus, the aim is to predict the genetic value of individuals [3].

The use of DNA markers in selection schemes is useful because it can increase the reliability of evaluation of breeding values, especially for young animals and those traits that are difficult to register [4, 13]. The increase in reliability can ultimately lead to greater genetic improvement. In spite of the considerable effort it was to undertake research and selection according to the markers, the effect was not as high as expected [5]. Meuwissen and his scholars [6] introduced a methodology for assessing breeding values using genome-wide markers. Due to the use of dense markers, each quantitative trait locus of the population was associated with some of the markers. In addition, since genomic markers were used, all quantitative traits locuses were evaluated at the same time. The selection based on these genomic predictions of breeding values was named genomic selection [7].

In practice, genomic selection has recently begun to be used, as genetic markers identified in many cattle species were not sufficient and genotyping was still quite expensive. The recent development of DNA technology and genome sequencing has led to the discovery of thousands of single nucleo-

tion polymorphisms (SNP) and a significant reduction in the costs of SNP genotyping. This has enabled practically adapting genomic selection and initiated various research. Many of the first studies of the genomic selection focused on genomic prediction models [8, 9], assessed the effect of population parameters on the reliability of genomic prediction [10, 11] or compared the traditional and genomic selection schemes [5, 12]. Later, when genomic data were obtained, genomic predictions were confirmed by real data, most often comparing genomic predictions with respect to the characteristics of the offspring [14, 66]. With the results of these confirmatory studies, the benefits of genomic selection have become very clear. This has led the inclusion of genomic selection in dairy cattle breeding schemes in recent years [15].

1. AIM AND OBJECTIVES

1.1. Aim of the study

To investigate influence of genomic selection to improvement of cattle dairy and health traits.

1.2. Objectives of the study

1. To determine dairy cattle genomic profile for milk yield, milk protein content, milk protein %, fat content, milk fat %, somatic cell count, dairy form and productive life traits.
2. Compare Lithuanian dairy cattle genomic profiles with international dairy cattle population genomic investigation results.
3. Evaluate genomic potential of dairy cattle and economic benefit applying different genomic selection models.
4. Evaluate interfaces of milk protein kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin gene polymorphism with dairy traits genomic values and milk quality parameters.
5. To perform evaluation of cattle lethal diseases BLAD, DUMPS and CVM prevalence in Lithuanian dairy cattle population.

1.3. Novelty and practical significance of the study

Determined Lithuanian dairy cattle genomic profile and evaluated genomic potential for milk yield, milk protein content, milk protein %, fat content, milk fat %, somatic cell count, dairy form and productive life traits refilled data of world dairy cattle population genomic diversity. It can be concluded that using genomic selection method in dairy cattle breeding schemes gives possibility to evaluate dairy cattle genomic potential at an

very early stage, increases selection accuracy and intensity. While determining dairy cattle genomic profile for each animal, rating animals in herds according to genomic profile results for separate traits and different traits combinations, selecting animals with the highest genomic scores and predicting according to results separate breed or population genetic improvement trends, it is possible to prognose economic effect in the beginning of genomic selection process.

Determined associations between milk protein polymorphisms and genomic values of productive traits, while carrying out genomic selection towards increasing milk protein content, increases number of cattle with kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin B allele and BB genotype, preferred in cheese and curd industry.

Introduction of dairy cattle genomic profiles to international dairy cattle genomic data bases allows to identify which place separate animal, whole herd or dairy cattle population has in international space. Genomic selection data is possible to use together with traditional breeding value determination methods. Possibility to perform genomic test early in animal life gives perfect genetic database for implementation of many breeding, selection and management solutions.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. The studies were carried out according to the presented scheme (Fig. 2.1.1–2.1.4)

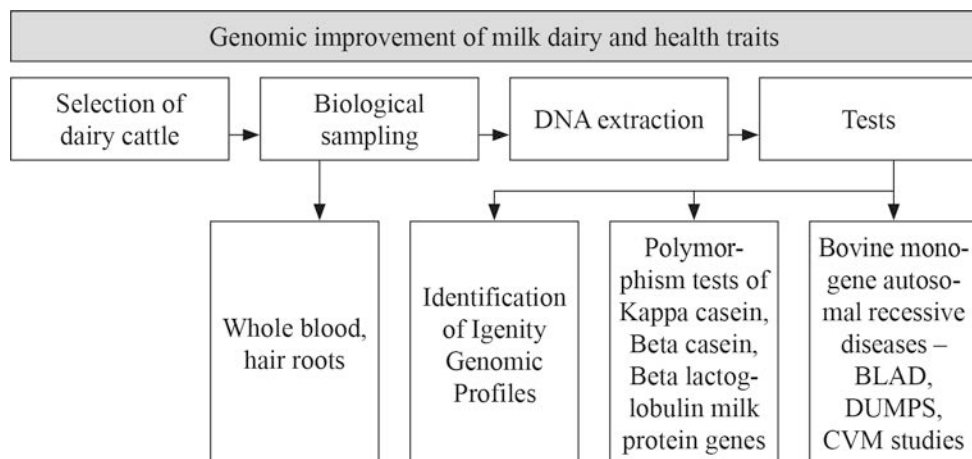


Fig. 2.1.1. Scheme of the study

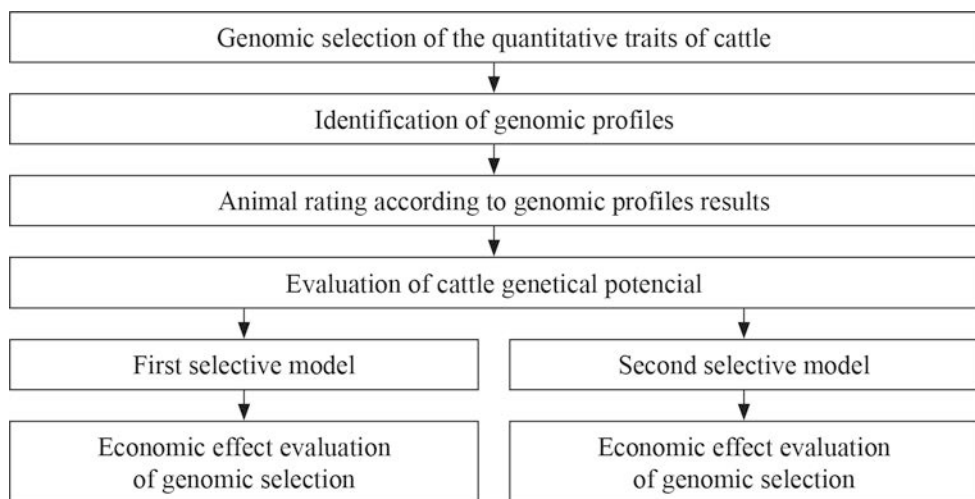


Fig. 2.1.2. *The first stage of the research*

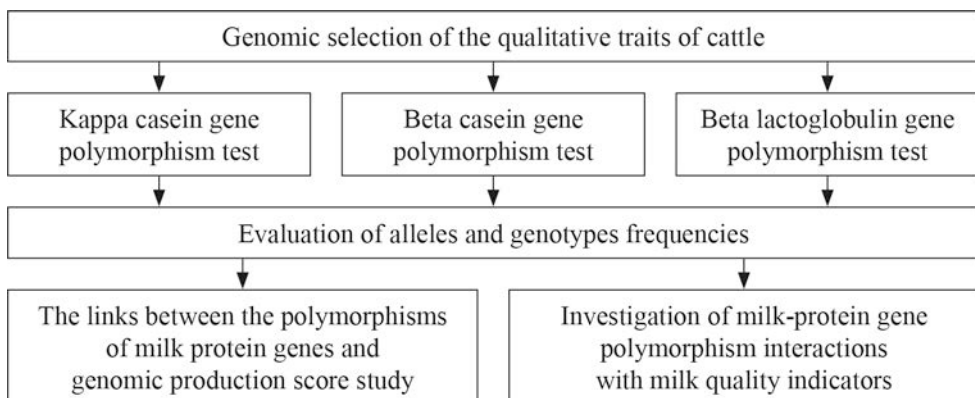


Fig. 2.1.3. *The second stage of the research*

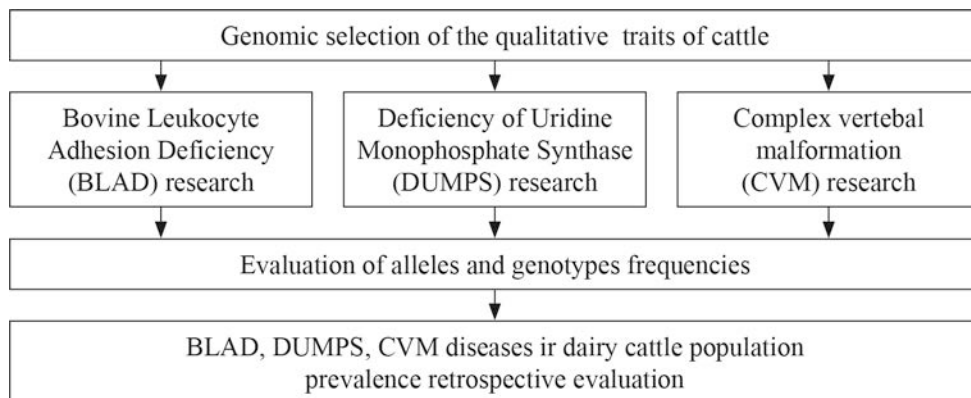


Fig. 2.1.4. *The third stage of the research*

2.2. Research material

The cattle for research were selected in dairy herds, where breeding accounting and cattle productivity control were carried out. Farms are located in four different regions of Lithuania. In each dairy herd, 50 non-related (based on the documentation of origin) cattle – cows and heifers – were selected. The cattle were healthy, kept and fed according to hygiene norms, the conditions for keeping and feeding were in line with veterinary requirements.

Blood samples for genetic studies were taken from jugular vein into EDTA containing tubes, transported to laboratory and stored at minus 20 °C until genomic DNA extraction. Blood for genetic testing was carried out under aseptic conditions from Cephalic Vein in vacuum tubes (Vacutainer) with K₂EDTA (ethylenediamine tetraacetate) anticoagulant. The tubes were marked. Fill in the datasheet. The blood was stored at +4 °C until the test. Hair for genetic research (with bulbs) were taken from the animal tail, from 10 to 20 pcs, placed in special bags and marked.

2.3. Research methods

DNA extraction from hair roots was performed according N. Pečiulaitienė [196]. DNA extraction from blood leukocytes was performed by chloroform salt method according Miller et al. [197]. Genomic DNA content and purity were determined by spectrophotometric method (DNA/RNA Reader, Pharmacia).

Identification of dairy cattle genomic profile. Genomic analysis of dairy cattle economical traits was carried out to evaluate genetic potential using a patented bovine SNP microchip „Igenity SNP panel“. The study was done at the Neogen Genomics Corporation Laboratory (USA). A total of 72,000 SNP were investigated. A reference population of dairy cattle, that is genotyped and associated with phenotypica traits, consists of over 500,000 cattle (www.igenity.com) [198].

For each cattle, 360 single-nucleotide polymorphisms (SNP) encompassing the entire bovine genome associated with milk yield, milk protein content, milk protein %, fat content, milk fat %, somatic cell count, dairy form and productive life phenotypes have been investigated. The information of the cattle SNP (genotype) has been compared with the reference cattle SNP database. Correlations have been found between the SNP of the tested cattle and the reference animals SNP records. Since there are known interactions between the reference cattle populations SNP and phenotypes, links between the tested animal SNP and reference population phenotypes have been identified. For each tested cattle, “Igenity” dairy cattle genomic

profile was composed. The genomic profile of dairy cattle shows the genetically predicted values of the traits using genomic scores of 1 to 10. The highest score shows the best genomic value and the highest genetic potential for a certain feature.

Evaluation of cattle genetical potencial. Analysis of the distribution of the cattle by genomic scores. Comparison of the genetic potential of the cattle and the genetic potential of the cattle from the “Igenity” database by the “Igenity Benchmark” software (www.igenity.com). This software allows to estimate the location of the cattle group, herd, breed in more than half a million „Igenity” database based on genomic information. Evaluation and selection of cattle according to genomic information by “Igenity Custom” software (www.igenity.com). This software allows to apply a priority filter that shows the orientation and intensity of selection, for traits expressed by scores. The orientation of the selection was expressed by traits selection and the intensity, applying different values in percentage of the selected traits. The average genomic score varied from 1 to 10 was calculated for each individual. This process allowed to evaluate the cattle according to traits, which were selected as the most important, to reach the selection purpose. First selection model – calculations performed for the whole group of cattle, individually for cows and heifers. 100% significance was given for the amount of milk, 0% for fat content, 0% for fat percent, 0% for protein content, 0% for protein percent, 0% for productive life, 0% for somatic cell count and 0% for dairy form. 30% of low genetic potential in traits of dairy cattle cows was replaced by 30% of heifers that received high genomic scores, i.e. with a high genetic potential for the trait manifestation. The significances in percent of the first selection model for the selected traits were applied. Second selection model – calculations performed for the whole group of cattle, individually for cows and heifers. 25% significance was given for the amount of milk, kg, 15%. for fat content, 15% for milk protein content, 15% for productive life, 15% for somatic cell count and 15% for dairy form. 30% of low genetic potential in traits of dairy cattle cows was replaced by 30% of the heifers, that received high genomic scores, i. e. with a high genetic potential for the trait manifestation. The significances in percent of the second selection model for the selected traits were applied.

Economic effect evaluation of genomic selection. Genomic scores by the „Igenity Custom” software (www.igenity.com) have been converted to the true rates of phenotypic traits – genomic scores of milk in kilograms, milk protein in percentage, milk protein amount in kilograms, milk fat in percentage, milk fat amount in kilogram, somatic cell count in ths/ml, productive life in months. Phenotypic traits rates showed how much added va-

lue each animal could give. The lowest genomic score 1 equates to a zero-manifestation. The genomic potential of the cattle and the added genomic value expressed in the values of the phenotypic traits were converted into euros and the economic effect of genomic selection was evaluated.

Kappa casein gene PCR-RFLP test method [200].

The PCR reaction was carried out in thermocycler (G-storm, United Kingdom). PCR mix – 12 µl ddH₂O, 5 µl 10xPCR buffer, 2.5 µl dNTP (2 mM), 3 µl MgCl₂ (50 mM), 2.5 µl CSN3 1 (20 pmol); 2.5 µl CSN3 2 (20 pmol); 0.5 µl BSA; 2 µl *Taq* (1U/ml) polymerase (Thermo Scientific, Lithuania). The digestion of PCR product was performed using endonucleases *HaeIII*/*HindIII* (Thermo Scientific, Lithuania) (Table 2.3.1).

Table 2.3.1. *The primers, PCR profile, PCR product size and restriction enzymes used for identification of milk protein kappa casein gene polymorphism.*

Milk protein	Primers	PCR profile			PCR product size	Restriction endonuclease
Kappa casein	CSN3 1 5'– AGCGCTGTGAGAAA GATG –3' CSN3 2 5'– GTGCAACAACACTG GTAT –3'	94 °C	3 min		935 bp	<i>HindIII</i>
		94 °C	30 s	30 cycles		<i>HaeIII</i>
		58 °C	30 s			
		72 °C	30 s			
		72 °C	5 min			

To separate alleles A, B and E 20 µl PCR product was digested with 10.5 µl restriction mix (8 µl ddH₂O, 2 µl 10xMbuf., 0.5 µl. *HaeIII*/*HindIII*). The samples were left in the thermostate for night (15 h) at 37 °C (Table 2.3.2).

Table 2.3.2. *PCR fragments sizes in bp of kappa casein gene after the digestion with restriction endonuclease*

Genotype	Restriction endonuclease, fragment sizes in bp	
	<i>HindIII</i>	<i>HaeIII</i>
A/A	935	641 + 294
A/B	935 + 520 + 415	641 + 294
A/E	935	641 + 496 + 294 + 145
B/B	520 + 415	641 + 294
B/E	935 + 520 + 415	641 + 496 + 294 + 145
E/E	935	496 + 294 + 145

Kappa casein genotypes were determined by electrophoresis using restricted PCR product fractionated by electrophoresis method on 3% agarose gel (Thermofisher Scientific Baltics), 100 V for 50 min and analysed under UV light (wave length 300 nm) by „MiniBisPro“ videodocumentation system (Herolab).

Beta casein gene test method. Investigations of the A and B alleles polymorphism of bovine beta casein genes were performed at the Neogen Genomics Corporation Laboratory (USA). The allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction (ASO-PCR) [138], was used to determine the variants, A1 and A2, of the cattle beta casein gene (Table 2.3.3).

Table 2.3.3. *Primers used for identification of milk protein beta casein A1 and A2 alleles polymorphism*

Allele	Direction	Primers
A1	Forward	5'-TCCCTTCCCTGGGCCCATCCA-3'
	Reverse	5'-TCAGTGAGAGTCAGGCTCTGG-3'
A2	Forward	5'-TCCCTTCCCTGGGCCCATCCC-3'
	Reverse	5'-TCAGTGAGAGTCAGGCTCTGG-3'

The PCR mixture consists of 2.5 µl forward and reverse primers (biomers.net), 2.5 µl Buffer (10xDreamTaq Green Buffer ((with 20mM MgCl₂), Thermo Scientific), 2.5 µl dNTP (5 mM, Thermo Scientific), 4.75 µl water without RNase (Thermo Scientific), 0.25 µl *Taq* polymerase (DreamTaq DNA Polymerase 5U/µl Thermo Scientific) and investigated DNA. A separate reaction was performed to identify each allele (10 µl of DNA and 15 µl of PGR into the tube) (Table 2.3.4).

Table 2.3.4. *PCR profile and PCR product size used for identification of milk protein beta casein polymorphism*

Milk protein	PCR profile			PCR product size
Beta Casein	95°C	2 min	35 cycles	208 bp
	95°C	30 s		
	64°C	30 s		
	72°C	30 s		
	72°C	7 min		

Beta lactoglobulin gene PCR-RFLP test method. Genotyping for beta lactoglobulin was done using PCR-RFLP method [200].

The PCR reaction was carried out in thermocycler (G-storm, United Kingdom). PCR mix – 4.95 µl ddH₂O, 2.5 µl 10xPCR buffer, 2 µl dNTP (2 mM), 2 µl MgCl₂ (50 mM), 1.5 µl BLg 2, 1.5 µl BLg 3, 0.25 µl BSA, 0.3 µl *Taq* (1U/ml) polymerase (MBI Fermentas, Lithuania). The digestion of PCR product was performed using endonuclease *HaeIII* (MBI Fermentas, Lithuania) (Table 2.3.5).

Table 2.3.5. Primers, PCR profile, PCR product size and restriction enzymes used for identification of milk protein beta lactoglobulin polymorphism

Milk protein	Primers	PCR profile			PCR product size	Restriction enzyme
Beta lactoglobulin	JBLG 2: 5'- TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G-3' JBLG 3: 5'- GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT-3'	94 °C	3 min	35 cycles	247 bp	<i>HaeIII</i>
		94 °C	40 s			
		58 °C	50 s			
		72 °C	50 s			
		73 °C	5 min			

To separate alleles A, B 10 µl PCR product was digested with 10.5 µl restriction mix (8 µl ddH₂O, 2 µl 10xMbuf., 0.5 µl. *HaeIII* (MBI Fermentas, Lithuania, 10 units/20 ml)). The samples were left in the thermostate for night (15 h) at 37 °C. Restricted PCR product was fractionated by electrophoresis method on 4% agarose gel (Thermofisher Scientific Baltics), 100 V for 50 min and analysed under UV light (wave length 300 nm) by „MiniBisPro“ videodocumentation system (Herolab) (Table 2.4.6).

Table 2.3.6. PCR fragments sizes in bp of beta lactoglobulin gene after the digestion with restriction endonuclease

Genotype	Restriction endonuclease, fragment sizes in bp
	<i>HaeIII</i>
A/A	148 + 99
A/B	74+74+99+99+148
B/B	74 + 74 + 99

Tests for milk quality traits. Samples of 50 ml raw milk for testing were taken during evening milking according to the milk sampling rules (LST EN ISO 707: 1999 + P: 2003 Milk and milk products – Sampling rules). Milk composition and quality studies were performed by “Pieno

tyrimai". Samples of milk composition and quality assay were collected to a special container, which collects mixed milk amount from individual cow. Samples of raw milk were preserved with „Sedupol” tablets (containing 8 mg bronopol and 0.3 mg natamycin per tablet). After placing the preservative, the milk was well mixed. Preserved milk samples in special containers at a temperature of not more than 6–8 °C in two hours were delivered to the laboratory. Milk protein content was determined by the Lactoscope, based on the measurement of specific mean infra-red wavelength absorption of the test component (LST ISO 9622: 2000).

The number of somatic cells was determined by flow cytometry method using the Somascope gauge according to LST EN ISO 13366-2: 2006 + AC: 2007 “Milk. Somatic cell count. 2nd part. Fluorooptoelectronic Meter Guide”. The number of somatic cells in milk is expressed in ths.cells/ml. The amount of casein was determined by the reference method using an approved international standard LST EN ISO 8968-2: 2002 for the determination of nitrogen in milk. The amount of casein in milk is expressed in g/100 g of milk.

Improvement of cattle health traits by genetic markers

Investigation of polymorphism of the genes for BLAD, DUMPS and CVM diseases in cattle were performed at the “Neogen Genomics” Corporation Laboratory (USA).

Testing method for mutation c. 383 A→G in CD18 gene, causing BLAD disease in cattle

BLAD disease is caused by point mutation in CD18 gene of the cattle first chromosome. Single nucleotide mutation was determined as change adenin to guanin in 383 position. PCR-RFLP test method was used to determine polymorphism of BLAD gene. Primers used for identification of mutated allele:

forward 5'-GAATAGGCATCCTGCATCATATCCACCA-3';

reverse 5'-CTTGGGGTTTCAGGGGAAGATGGAGTAG-3'.

If animal has two mutated alleles, his genotype is BL/BL. Such animal is sick.

If animal has one mutated allele, his genotype is BL/TL. Such animal is not sick, but is carrier and distributor of mutated allele.

If animal does not have mutated alleles, his genotype is TL/TL. Such animal is healthy.

Testing method for mutation c.405 C→T in UMPS gene, causing DUMPS disease in cattle

DUMPS disease is caused by point mutation in UMPS gene of the cattle first chromosome. Single nucleotide mutation was determined as change citozin to timine in 405 position. PCR-RFLP test method was used to determine polymorphism of DUMPS gene. Primers used for identification of mutated allele:

forward 5'-GCAAATGGCTGAAGAACATTCTG-3';

reverse 5'-GCTTCTAACTGAAGTCTCGAGT-3'.

If animal has two mutated alleles, his genotype is DP/DP. Such animal is sick.

If animal has one mutated allele, his genotype is DP/TD. Such animal is not sick, but is carrier and distributor of mutated allele.

If animal does not have mutated alleles, his genotype is TD/TD. Such animal is healthy.

Testing method for mutation c.559 G→T SLC35A3 in SLC35A3 gene, causing CVM disease in cattle

CVM disease is caused by missense mutation in SLC35A3 gene of cattle third chromosome. The study was performed by sequencing method.

If animal has two mutated alleles, his genotype is CV/CV. Such animal is sick.

If animal has one mutated allele, his genotype is CV/TV. Such animal is not sick, but is carrier and distributor of mutated allele.

If animal does not have mutated alleles, his genotype is TV/TV. Such animal is healthy.

2.4. Statistical data analysis

Statistical data analysis was performed using the data collection and analysis program package SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Science 22 for Windows). Using the Kolmogorov-Smirnov test, the assumption of the continuity of the variables was verified. The following descriptive statistics were used for the tested characteristics: the arithmetic mean and its deviation, the median (minimum and maximum value), and the frequency variables for the qualitative variables. The effect of genomic score, kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes on the dairy characteristics in the standard lactation duration – milk content, protein content and protein content was determined using the single-factor dispersion analysis ANOVA (post-hoc Fisher LSD criterion ($\alpha = 0.05$)). The influence of kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes on the

genomic score was assessed by analyzing the distributions and evaluating their differences by nonparametric methods (χ^2 test, Kruskal Wallis test). The frequencies of alleles and genotypes of kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin polymorphism were investigated using a χ^2 test to determine the deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium.

3. RESULTS

3.1. Dairy cattle genomic selection of quantitative traits

High genomic scores ranging from 8 to 10 points for productive life received 23% of tested animals, for milk yield – 13.0% of animals, for fat amount – 25.5% of animals, for fat percent – 17.0% of animals, for protein amount – 27.0% of animals, for protein percent – 41.5% of animals, for dairy form – 8.5% of animals. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points which are preferable for somatic cell score received 16.0% of animals. Middle genomic scores ranging from 5 to 6 points for productive life received 41.0% of tested animals, for milk yield – 44.5% of animals, for fat amount – 34.0% of animals, for fat percent – 29.0% of animals, for protein amount – 36.0% of animals, for protein percent – 23.0% of animals, for dairy form – 42.5% of animals, for somatic cell score received 24.0% of animals. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points for productive life received 5.0% of tested animals, for milk yield – 6.0% of animals, for fat amount – 12.5% of animals, for fat percent – 18.0% of animals, for protein amount – 7.5% of animals, for protein percent – 0.0% of animals, for dairy form – 19.0% of animals, for somatic cell score received 24.0% of animals. High genomic values not preferable for somatic cell score ranging from 8 to 10 received 13.5% of tested animals (Table 3.1.1).

Table 3.1.1. Results of “Igenity” genomic profile tests for dairy cattle (all studied population)

Genomic scores	Productive life, months	Somatic cell score, (×1000, ml)	Milk yield, kg	Fat, kg	Fat, %	Protein, kg	Protein, %	Dairy form
The percentage of tested cattle population, that have a specific genomic score based on individual trait								
10	2.5*	1.5	0	8.0*	6.0*	2.0*	3.5*	0
9	4.5	3.0	3.0*	3.5	5.5	7.0	14.0	4.0*
8	16.0	9.0	10.0	14.0	5.5	18.0	24.0	4.5
7	22.5	17.0	22.0	17.5	16.5	17.0	30.5	12.0
6	24.0	18.0	27.0	19.5	18.5	22.0	22.5	21.5
5	17.0	16.0	17.5	14.5	10.5	14.0	5.0	21.0
4	8.5	19.0	14.5	10.5	19.5	12.5	0.5	18.0
3	4.5	9.0	4.5	9.0	10.0	3.0	0	11.5
2	0.5	3.0	1.5	3.5	5.0	4.0	0	5.5
1	0	4.0*	0	0	3.0	0.5	0	2.0

* indicates the percentage of animals, that have the best genomic score according to the specified trait.

High genomic scores ranging from 8 to 10 points for productive life received 20% of tested cows, for milk yield – 8.4% of cows, for fat amount – 28.3% of cows, for fat percent – 22.1% of cows, for protein amount – 21.7% of cows, for protein percent – 45.7% of cows, for dairy form – 13.4% of cows. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points which are preferable for somatic cell score received 28.4% of cows. Middle genomic scores ranging from 5 to 6 points for productive life received 45.0% of tested cows, for milk yield – 55.0% of cows, for fat amount – 26.7% of cows, for fat percent – 30.5% of cows, for protein amount – 41.7% of cows, for protein percent – 20.1% of cows, for dairy form – 38.3% of cows, for somatic cell score received 26.7% of cows. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points for productive life received 5.0% of tested cows, for milk yield – 8.3% of cows, for fat amount – 16.7% of cows, for fat percent – 8.5% of cows, for protein amount – 10.0% of cows, for protein percent – 0.0% of cows, for dairy form – 16.7% of cows. High genomic values not preferable for somatic cell score ranging from 8 to 10 received 15.1% of tested cows (Table 3.1.2).

Table 3.1.2. Results of “Igenity” genomic profile tests for cows

Genomic scores	Productive life, months	Somatic cell score, (×1000, ml)	Milk yield, kg	Fat, kg	Fat, %	Protein, kg	Protein, %	Dairy form
The percentage of tested cows, that have a specific genomic score based on individual trait								
10	0	1.7	0	15.0*	8.5*	1.7*	5.0*	0
9	8.3*	1.7	1.7*	1.7	6.8	10.0	11.7	6.7*
8	11.7	11.7	6.7	11.6	6.8	10.0	30.0	6.7
7	20.0	6.7	15.0	20.0	16.9	18.3	33.3	13.3
6	25.0	15.0	36.7	20.0	18.6	25.0	13.3	20.0
5	20.0	11.7	18.3	6.7	11.9	16.7	6.8	18.3
4	10.0	23.3	13.3	8.3	22.0	8.3	0	18.3
3	5.0	21.7	3.3	11.7	8.5	5.0	0	6.7
2	0	1.7	5.0	5.0	0	3.3	0	8.3
1	0	5.0*	0	0	0	1.7	0	1.7

* indicates the percentage of animals, that have the best genomic score according to the specified trait.

High genomic scores ranging from 8 to 10 points for productive life received 20.0% of tested heifers, for milk yield 15.5% of heifers, for fat amount – 25.5% of heifers, for fat percent – 13.4% of heifers, for protein amount – 29.1% of heifers, for protein percent – 39.2% of heifers, for dairy form – 5.7% of heifers. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points, which are preferable for somatic cell score received 28.6% of heifers. Middle genomic scores ranging from 5 to 6 points for productive life received 43.0% of tested heifers, for milk yield – 42.9% of heifers, for fat amount – 36.8% of heifers, for fat percent – 35.0% of heifers, for protein amount – 33.7% of heifers, for protein percent – 31.6% of heifers, for dairy form – 35.7% of heifers, for somatic cell score received 40.7% of heifers. Low genomic scores ranging from 1 to 3 points for productive life received 2.2% of tested heifers, for milk yield – 3.9% of heifers, for fat amount – 8.1% of heifers, for fat percent – 10.5% of heifers, for protein amount – 7.0% of heifers, for protein percent – 0.0% of heifers, for dairy form – 16.7% of heifers. High genomic values not preferable for somatic cell score ranging from 8 to 10 received 17.4% of tested heifers (Table 3.1.3).

Table 3.1.3. Results of “Igenity” genomic profile tests for heifers

Genomic scores	Productive life, months	Somatic cell score, (×1000, ml)	Milk yield, kg	Fat, kg	Fat, %.	Protein, kg	Protein, %	Dairy form
	The percentage of tested heifers, that have a specific genomic score based on individual trait							
10	2.2*	2.9	0	5.2*	4.2*	2.5*	0.9*	0
9	2.2	5.1	3.9*	5.2	4.2	4.5	14.2	1.4*
8	15.6	9.4	11.6	15.1	5.0	22.1	24.1	4.3
7	25.2	21.8	26.1	15.8	17.5	16.2	29.2	13.6
6	23.0	27.3	28.3	18.7	22.5	20.5	27.3	15.0
5	20.0	13.4	14.6	18.1	12.5	13.2	4.3	20.7
4	9.6	11.5	11.6	11.8	23.3	14.0	0	22.2
3	1.5	4.3	3.9	7.2	10.0	2.5	0	14.6
2	0.7	2.9	0	2.9	0.8	4.5	0	5.0
1	0	1.4*	0	0	0	0	0	2.9

* indicates the percentage of animals, that have the best genomic score according to the specified trait.

Comparing distribution according genomic scores between cows and heifers was determined that high genomic scores for milk yield (8–10), showing potential for high milk yield had 7.1% more heifers than cows ($P<0.05$). 14% more heifers than cows had average genomic scores (5–6) for somatic cell scores, showing resistance to mastitis. 11.6% and 4.5% more heifers than cows had higher average genomic scores (5–6) for milk protein % and milk fat % ($P<0.05$). Less heifers than cows received ($P<0.05$) low genomic scores for traits like: productive life, milk yield, milk fat and protein amount, showing heifers better genetic potential for milk production traits.

Comparing Lithuanian dairy cattle genomic profiles with international dairy cattle population, comprising of more than half million genomic profiles in “Igenity” database, by “Benchmark Igenity” custom sort program, was determined that Lithuanian dairy cattle average genomic value was higher for milk fat amount 0.09 point, milk yield 1.49 point, milk protein amount 0.78 point, dairy form 0.11 point. Determined less than average “Igenity” dairy cattle population genomic value for milk fat % 1.00 score, for protein % 0.94, for productive life 0.54. For somatic cell score lower genomic point shows positive trait expression and is desirable, but in Lithuanian dairy cattle population genomic points for somatic cell score is higher 0.18 than the average “Igenity” dairy population genomic point. After determination that Lithuanian dairy cattle average genomic values was higher for fat %, milk yield, milk protein amount and dairy form distribution and comparison with “Igenity” cattle population was analyzed according these traits (Table 3.1.4).

Table 3.1.4. *Comparison of average genomic values of Lithuanian dairy cattle with cattle of the “Igenity” population*

Traits	Lithuanian dairy cattle average genomic values	“Igenity” international dairy cattle population average genomic values
Fat, kg	6.19	6.10
Fat, %	5.80	6.80
Milk yield, kg	6.01	4.50
Productive life, months	6.26	6.80
Protein, kg	6.18	5.40
Dairy form	5.18	5.07
Protein, %	7.26	8.20
Somatic cell score, ($\times 1000$, ml)	5.38	5.10

Comparing Lithuanian dairy cattle distribution according dairy form genomic scores with distribution of cattle in international dairy cattle population, by Benchmark “Igenity” custorm sort program was determined that genomic scores ranging from 8 to 10 had 8.5% of Lithuanian dairy cattle population and 5.0% “Igenity” dairy cattle population, average genomic value ranging from 4 to 7 points got 73.0% of Lithuanian dairy cattle population, and 75.0% of “Igenity” dairy cattle population, low genomic values ranging from 1 to 3 got 19.0% of Lithuanian dairy cattle population and 19.0% genity dairy cattle population. Comparing Lithuanian dairy cattle distribution according milk fat amount genomic scores with distribution of cattle in international dairy cattle population, by Benchmark “Igenity” custorm sort program was determined that genomic scores ranging from 8 to 10 had 25.5% of Lithuanian dairy cattle population and 7.0% “Igenity” dairy cattle population, average genomic value ranging rom 4 to 7 points got 63.0% of Lithuanian dairy cattle population, and 88.0% of “Igenity” dairy cattle population, low genomic values ranging from 1 to 3 got 13.0% of Lithuanian dairy cattle population and 5.0% “Igenity” dairy cattle population. Comparing Lithuanian dairy cattle distribution according to milk protein amount genomic scores with distribution of cattle in international dairy cattle population, by Benchmark “Igenity” custorm sort program was determined that genomic scores ranging from 8 to 10 had 27.0% of Lithuanian dairy cattle population and 10.0% “Igenity” dairy cattle population, average genomic value ranging from 4 to 7 points got 65.0% of Lithuanian dairy cattle population, and 88.0% of “Igenity” dairy cattle population, low genomic values ranging from 1 to 3 got 8.0% of Lithuanian dairy cattle population and 15.0% “Igenity” dairy cattle population. Comparing Lithuanian dairy cattle distribution according milk yield genomic scores with distribution of cattle in international dairy cattle population, by Benchmark “Igenity” custorm sort program was determined that genomic scores ranging from 8 to 10 had 13.0% of Lithuanian dairy cattle population and 6.0% “Igenity” dairy cattle population, average genomic value ranging from 4 to 7 points got 82.0% of Lithuanian dairy cattle population, and 79.0% of “Igenity” dairy cattle population, low genomic values ranging from 1 to 3 got 5.0% of Lithuanian dairy cattle population and 12.0% “Igenity” dairy cattle population.

We carried out analysis of the selectable traits added values of dairy cattle according to genomic profile results. Cattle in “Igenity” reference population are ranked according correlation between genomic informacion and phenotypic traits. Genomic scores are related to additive phenothypic traits value. Comparing SNP genomic data of tested animals with SNP data of reference animals each animal gets certain genomic score for each trait.

Best cows, having genomic score 10 for milk yield, had genomic potential give 1175 kg milk per lactation more than cows that got genomic score 1. Cows having genomic score 10 for productive age have genomic potential give production 5.5 month longer cows that got genomic score 1. Cows having genomic score 10 for fat amount have genomic potential give 33 kg more per lactation in comparison with cows getting genomic score 1. Cows having genomic score 10 for protein amount have genomic potential give 19 kg more per lactation in comparison with cows getting genomic score 1 (Table 3.1.5).

Table 3.1.5. Added values of dairy cattle selectable traits based on genomic scores

Genomic scores	Added values of selectable traits based on genomic scores			
	Milk yield, kg	Fat amount, kg	Protein amount, kg	Productive life, months
10	1,175	33	18	5.5
9	970	28	16	4.6
8	853	24	14	4.1
7	731	21	12	3.5
6	617	18	10	3.0
5	504	14	8	2.4
4	387	11	6	1.9
3	263	7	4	1.7
2	150	4	3	1.3
1	0	0	0	0

Investigation revealed, that 3% of cattle that got genomic score 9 for milk yield, could give extra 5,820 kg milk per lactation, in comparison with cattle who got genomic score 1. So if in population we have 13% of cattle, that got high genomic scores ranging from 8 to 9, we can get extra 22,880 kg of milk per lactation. So if in tested population we have 25.5% cattle, that got high genomic scores for fat amount ranging from 8 to 10 and 27% cattle, that got high genomic scores for protein amount ranging from 8 to 10 we can get extra 1,396 kg of fat and 800 kg of protein per lactation. So if in tested population we have 25.5% cattle, that got high genomic scores for fat amount ranging from 8 to 10 and 27% cattle. If in tested population we have 20.0% cattle, that got high genomic scores for productive life ranging from 8 to 10, we can get extra 200.1 month of most productive cow lactation and get 450,121 kg milk, 27,464 kg milk fat amount, 15,738 kg milk protein amount (Table 3.1.6).

Table 3.1.6. *Added values of Lithuanian dairy cattle (all tested population) selectable traits based on genomic scores*

Genomic scores	Added values of Lithuanian dairy cattle (all tested population) selectable traits based on genomic scores			
	Milk yield, kg	Fat amount, kg	Protein amount, kg	Productive life, months
10	0	528.0	72.0	27.5
9	5,820.0	196.0	224.0	41.4
8	17,060.0	67230	504.0	131.2
7	32,164.0	735.0	408.0	157.5
6	33,318.0	702.0	440.0	144.0
5	17,640.0	406.0	224.0	81.6
4	11,223.0	231.0	150.0	32.3
3	2,367.0	126.0	24.0	11.7
2	450.0	28.0	32.0	1.7
1	0	0	0	0

Investigation revealed, that 1.7% of cows that got genomic score 9 for milk yield, could give extra 1,649 kg milk per lactation, in comparison with cows which got genomic score 1. So if in population we have 8.4% of cows, that got high genomic scores ranging from 8 to 9, we can get extra 7,364 kg of milk per lactation. So if in tested population we have 28.3% cattle, that got high genomic scores for fat amount ranging from 8 to 10 and 21.7% cows, that got high genomic scores for protein amount ranging from 8 to 10 27% we can get extra 705 kg of fat and 661.2 kg of protein per lactation. If in tested population we have 20.0% cows, that got high genomic scores for productive life ranging from 8 to 9, we can get extra 172.3 month of most productive cow lactation and get 124,803 kg milk, 11,948 kg milk fat amount, 11,206 kg milk protein amount (Table 3.1.7).

Table 3.1.7. *Added values of Lithuanian dairy cattle (cows) selectable traits based on genomic scores*

Genomic scores	Added values of Lithuanian dairy cattle (cows) selectable traits based on genomic scores			
	Milk yield, kg	Fat amount, kg	Protein amount, kg	Productive life, months
10	0	495.0	61.2	0
9	1,649.0	47.6	320.0	76.36
8	5,715.1	162.4	280.0	95.94
7	10,965.0	420.0	432.0	140.0
6	22,643.9	360.0	400.0	150.0
5	9,223.2	93.8	200.4	96.0
4	5,147.1	91.3	99.6	38.0
3	867.9	81.9	40.0	13.0
2	750	20.0	19.8	0
1	0	0	3.34	0

If in population we have 15.5% of cattle, that got high genomic scores ranging from 8 to 9, we can get extra 13,681.8 kg of milk per lactation. If in tested population we got 25.5% of heifers with genomic scores ranging from 8 to 10 for fat amount we can get extra 679.6 kg of fat and 29.1% of heifers with genomic scores ranging from 8 to 10 for protein amount we can get extra 426.4 kg of protein per lactation. If in tested population we have 20.0% heifers, that got high genomic scores for productive life ranging from 8 to 10, we can get extra 86.2 month of most productive heifers lactation and get 116,004 kg milk, 5,762 kg milk fat amount, 3,615 kg milk protein amount (Table 3.1.8).

Table 3.1.8. *Added values of Lithuanian dairy cattle (heifers) selectable traits based on genomic scores*

Genomic scores	Added values of Lithuanian dairy cattle (heifers) selectable traits based on genomic scores			
	Milk yield, kg	Fat amount, kg	Protein amount, kg	Productive life, months
10	0	171.6	45.0	12.1
9	3,783.0	145.6	72.0	10.1
8	9,894.8	362.4	309.4	64.0
7	19,079.1	331.8	194.4	88.2
6	17,461.1	336.6	205.0	69.0
5	7,358.4	253.4	105.6	48.0
4	4,489.2	129.8	84.0	18.2
3	1,025.7	50.4	10.0	2.0
2	0	11.6	13.5	1.2
1	0	0	0	0

In the first genomic selection model we selected animals by cattle “Custom Igenity” program giving 100% priority to increase milk yield with no attention to other dairy traits. We left in the herd 70% of cows with highest genomic scores for milk yield and replaced 30% of cows that got lowest genomic scores for milk yield with 30% of the best heifers for milk yield trait according SNP data. It was calculated that average extra milk amount according genomic scores for cow per lactation in tested population is 548 kg. After selecting 70% of the best cows (genomic potential for extra milk 641 kg per cow per lactation), in herd were 30% of cows is replaced by 30% of best heifers (genomic potential for extra milk 876 kg per heifer per lactation), milk amount genomic potential could be increased up to 148 kg extra per cow per lactation or 14,800 kg per lactation per 100 cow herd. Average herd genomic score after replacement of cows by genomically evaluated heifers increased from 5.50 up to 6.41. But carrying out selection only for increased milk amount other important dairy traits become worse – decreased milk fat % and milk protein % genomic potential, increased somatic cell score genomic value (Table 3.1.9).

Table 3.1.9. Added genomic value, when increased milk yield is selected as the selection priority (100% for milk amount, kg)

Average genomic score of all traits	Added values of dairy cattle selectable traits based on genomic scores							
	Milk yield, kg	Fat amount, kg	Fat, %	Protein amount, kg	Protein, %	Productive life, months	Somatic cell score, (×1000, ml)	Dairy form
Cows								
5.5	548±189 ^{1*}	24±11	0.29±0.12 ^{1****}	10±4 ^{1****}	0.13±0.02 ^{1****}	2.95±0.91	0.19±0.08 ^{1****, 2**}	1.7±0.7 ^{1****}
Cows – 70% selected based on the best genomic score for milk								
6.01	641±128	17±8	0.24±0.09	11±3	0.12±0.02	2.96±0.84	0.19±0.09	1.7±0.7
Heifers								
6.06	527±130 ^{1*}	21±7	0.26±0.08	9±4	0.13±0.02	3.41±0.96	0.24±0.08 ^{1****}	1.2±0.5 ^{1****}
Heifers – 30% selected based on the best genomic score for milk								
8.28	876±58	19±5	0.17±0.06	14±2	0.10± 0.01	3.18± 0.68	0.27± 0.08	1.6± 0.8
Herd with 30% cows replaced by 30% heifers								
6.41	696±163	17±8	0.22±0.09 ^{1****}	12±3 ^{1****}	0.11±0.02 ^{1****}	3.02±0.82	0.21±0.09 ^{2**}	1.61±0.69

1, 2, 3 – difference is statistically significant. * – significance value (*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001).

In the first genomic selection model converting genomic scores to production traits records and production records to money in Eur, giving 100% priority to increase milk yield with no attention to other dairy traits, we got 148 Eur for extra milk yield per cow (0.27 Eur for one kg milk) in herd before genomic selection, 173 Eur per cow from 70% of best selected cows, 237 Eur from 30% best selected heifers and 188 Eur per cow in the herd where 30% of cows with the lowest genomic scores replaced by 30% of heifers that got the highest genomic scores. Profit increase in Eur per lactation in first genomic selection model would be in 100 herd cow 4,000 Eur for milk yield and 1,100 Eur for milk amount got for prolonged productive age. Selected the best genomically evaluated heifers give 237 Eur profit per animal, if all cows would be replaced by the best heifers, the increase in profit could reach 8,900 Eur for milk yield and 7,000 Eur for prolonged productive life (Table 3.1.10).

Table 3.1.10. *Economic evaluation of added genomic value when selection is made to increase the amount of milk (100% for milk amount, kg)*

Dairy cattle	Milk amount per lactation per cow, EUR / for 100 cows herd, EUR	Prolonged productive life in months if the average milk amount per lactation per one cow is 5,600 kg, EUR / for 100 cows herd, EUR
Cows	148/14,800	446/44,600
Cows – 70% selected based on the best genomic score for milk	173/17,300	448/44,800
Heifers	142/14,200	516/51,600
Heifers – 30% selected based on the best genomic score for milk	237/23,700	481/48,100
Herd with 30% cows replaced by 30% heifers	188/18,800	457/45,700

In the second genomic selection model we selected animals by cattle “Custom Igenity” program giving selection pressure to all dairy cattle important traits – 25% to milk yield, 15% fat %, 15% protein %, 15% productive life, 15% somatic cell count and 15% dairy form. We left in the herd 70% of cows with the highest genomic scores for milk yield and replaced 30% of cows that got the lowest genomic scores for milk yield with 30% of the best heifers for milk yield trait according SNP data. It was calculated that average extra milk amount according to genomic scores for cow per lactation in tested population is 548 kg. After selecting 70% of the best cows (genomic potential for extra milk 553 kg per cow per lactation), in herd were 30% of cows is replaced by 30% of the best heifers (genomic potential for extra milk 524 kg per heifer per lactation), milk amount genomic potential decreased in 24 kg per cow per lactation or 2,400 kg per lactation per 100 cow herd. Average herd genomic score after replacement of cows by genomically evaluated heifers increased from 6.08 up to 6.45. But despite of the decrease of milk amount in genomic selection model where selection pressure is given to all dairy cattle traits other important dairy traits genomic potential increased – milk fat % from 0.28 up to 0.32, milk fat amount from 16 up to 21 kg per cow per lactation, productive age could be increased from 2.95 up to 3.45 month per cow, decreased somatic cell count show higher genomic potential for better udder health of cows (Table 3.1.11).

Table 3.1.11. Added genomic value, when the selection priority is allocated equally to all the important traits of dairy cattle (25% milk, 15% fat, 15% protein, 15% productive life, 15% somatic cell count and 15% milk form)

Average genomic score of all traits	Added values of dairy cattle selectable traits based on genomic scores					
	Milk yield, kg	Fat, %	Protein, %	Productive life, months	Somatic cell score, (×1000, ml)	Dairy form
Cows						
6.08	548±190 ^{1*}	0.28±0.13 ^{1**}	0.13±0.02 ^{1*}	2.95±0.91 ^{1**}	0.20±0.09 ^{1****}	1.71±0.65 ^{1****}
Cows – 70% selected based on the best genomic score for milk						
6.31	553±167	0.29±0.12	0.13±0.02	3.32 ±0.76	0.16±0.05	1.64±0.71
Heifers						
7.21	611±172 ^{1*}	0.26±0.11	0.13±0.02	3.13±0.91	0.24±0.08 ^{1****}	1.38 0.60 ^{1****}
Heifers – 30% selected based on the best genomic score for milk						
6.85	665±158	0.38±0.10 ^{1**}	0.15±0.02 ^{1*}	4.24±0.66	0.21±0.08	1.52±0.48
Herd with 30% cows replaced by 30% heifers						
6.45	524±174	0.32±0.12	0.13±0.02	3.45±0.92 ^{1**}	0.17±0.06	1.61±0.66

^{1, 2, 3} – difference is statistically significant. * – significance value (*P<0.05, ** P<0.01, ***P<0.001).

Profit increase in Eur per lactation in first genomic selection model would be in 100 herd cow 4,000 Eur for milk yield and 1,100 Eur for milk amount got for prolonged productive age. Selected the best genomically evaluated heifers give 237 Eur profit per animal, if all cows would be replaced by the best heifers, the increase in profit could reach 8,900 Eur for milk yield and 7,000 Eur for prolonged productive life.

In the second genomic selection model converting genomic scores to production traits records and production records to money in Eur, giving equal selection pressure to all dairy cattle important traits, we got 148 Eur for extra milk yield per cow (0.27 Eur for one kg milk) in herd before genomic selection, 126 Eur from 30 % the best selected heifers and 141 Eur per cow in the herd where 30% of cows with the lowest genomic scores replaced by 30% of heifers that got the highest genomic scores. Profit decrease in Eur per lactation in second genomic selection model would be 7 Eur per cow, in 100 herd cow 700 Eur for milk yield. But prolonged productive age gives 7,500 Eur as well as increase in milk fat and decrease in somatic cell score showing better udder health (Table 3.1.12).

Table 3.1.12. *Economic evaluation of added genomic value when the selection priority is allocated equally to all the important traits of dairy cattle (25% milk, 15% fat, 15% protein, 15% productive life, 15% somatic cell count and 15% milk form)*

Dairy cattle	Milk amount per lactation per cow, EUR / for 100 cows herd, EUR	Prolonged productive life in months if the average milk amount per lactation per one cow is 5,600 kg, EUR / for 100 cows herd, EUR
Cows	148/14,800	446/44,600
Cows – 70% selected based on the best genomic score for milk	149/14,900	502/50,200
Heifers	128/12,800	473/47,300
Heifers – 30% selected based on the best genomic score for milk	126/12,600	641/64,100
Herd with 30% cows replaced by 30% heifers	141/14,100	521/52,100

3.2. Dairy cattle genomic selection of qualitative traits

Results of milk protein kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genetic analysis. We have found three kappa casein alleles in Lithuanian dairy cattle population. The highest frequency is found A allele – 0.724, the lowest allele E – 0.052. B allele, having largest influence to milk technological properties, had 90% of tested cows. Six kappa casein genotypes have been found in Lithuanian cattle population: AA (0.5), AB (0.379), AE (0.069), BB (0.023), BE (0.023), EE (0.006). Observed and expected genotype frequencies did not differ statistically significant ($P = 0.185$). With the highest frequency was found AA genotype. 50% of cows had this genotype. The lowest frequency was found EE genotype. It had only 0.6% of tested cows. BB genotype, the most favourable to cheese production, was found in 2.3% of cows. We have found two beta casein alleles in Lithuanian dairy cattle population. The highest frequency was found A allele – 0.968, B allele – 0.032. Two beta casein genotypes have been found in Lithuanian cattle population: AA (0.937), AB (0.063). AA genotype had 93.7% of cows. There was no cows with BB genotype. Observed and expected genotype frequencies not differed statistically significant ($P = 0.999$). After analyzing scientific literature and understanding how much influence beta casein genotype has to human health we carried out extra investigation identifying A1 and A2 beta casein alleles. A1 allele is harmful to human health because of formation of casomorphin in human digestive track. In Lithuanian dairy cattle population A1 allele is found with frequency 0.261, A2 with frequency 0.739. In old Lithuanian cattle breeds Lithuanian grey and Lithuanian white backed A1 allele had 52% of cows and 38% of cows respectively. A2 allele had 48% of Lithuanian grey cattle and 62% of Lithuanian white backed cattle. We have found three beta casein genotypes in Lithuanian cattle population according A1 and A2 alleles: A1A1 (0.04), A1A2 (0.44) and A2A2 (0.52). A2A2 genotype causing human health problems had 52% of tested cows. Observed and expected genotype frequencies not differed statistically significantly ($P = 0.99$). We have found two beta lactoglobulin alleles in Lithuanian dairy cattle population, in frequencies for A allele – 0.456, for B allele – 0.544. We have found three beta lactoglobulin genotypes in Lithuanian cattle population: AA (0.183), AB (0.544), BB (0.273). The most frequent was AB genotype, which had 54.4% of cows. BB genotype favourable for cheese production had 27.3% of cows. Observed and expected genotype frequencies did not differ statistically significant ($P = 0.998$). Evaluated observed and expected heterozygosity in kappa and beta casein locuses showed that observed heterozygosity is lower than expected, but did not differ statistically significantly, so the

population according to Hardy Weinberg law is in genetic equilibrium ($\chi^2 = 0.028$; $P \geq 0.05$). Evaluated observed and expected heterozygosity in beta lactoglobulin locus showed that observed heterozygosity is higher than expected, but did not differ statistically significant, so the population according to Hardy Weinberg law is in genetic equilibrium ($P \geq 0.05$). Found higher heretozygosity than observed gives good opportunities to selection.

We investigated relation between milk protein kappa casein, beta casein and betalactoglobulin polymorphisms and production traits genomic scores.

Milk yield genomic scores varied in tested population from 1 to 9, protein amount and protein % from 1 to 10. 27% of cows had average genomic score 6 for milk yield and 10.5% of cows had average genomic score 7 for milk protein amount. Distribution of cows according to genomic scores showed that cows according to protein % had higher genomic scores than according to milk yield and milk protein amount ($P < 0.001$) (Fig 3.2.1.).

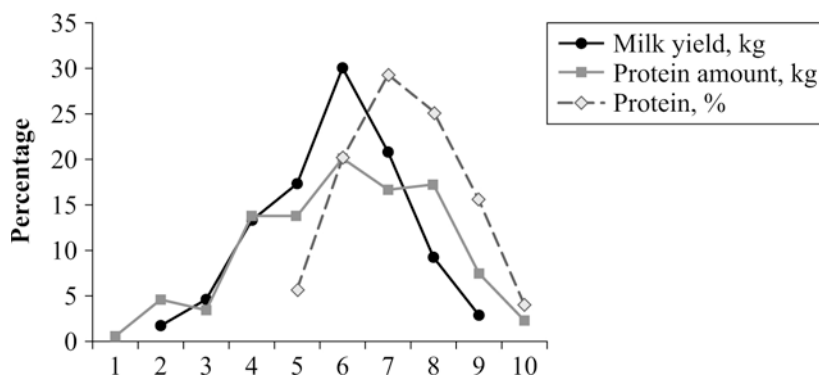


Fig 3.2.1. Lithuanian dairy cattle distribution according to genomic scores

Comparison of kappa casein genotypes according to distribution of milk yield genomic scores showed that the highest genomic scores according to milk yield had AE and BE genotype cows. 35.6% of AA genotype, 27.7% of AB genotype and 25.0% of BB genotype cows had average genomic score for milk yield higher than 6. The highest genomic score 9 for milk yield got 2.3% kappa casein AA genotype and 4.6% kappa casein AB genotype cows. It was determined that kappa casein genotype statistically significant influences milk yield trait ($P < 0.05$) (Fig. 3.2.2).

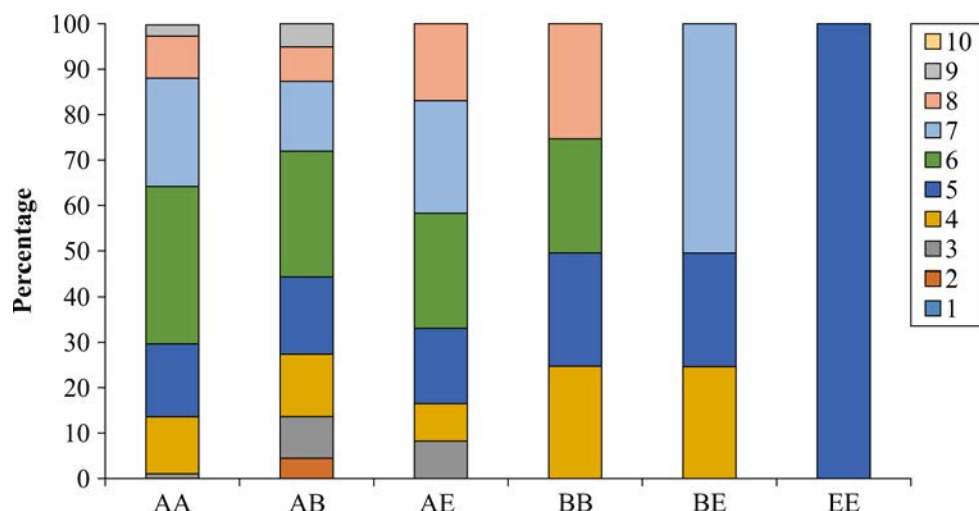


Fig 3.2.2. Distribution kappa casein genotypes according to milk yield (kg) genomic scores

The highest genomic scores according to milk protein amount had kappa casein BB and BE genotype cows. 50.0% of both genotype cows had average genomic score for protein amount higher than 6. 40.6% of AA genotype, 43.2% of AB genotype and 41.6% of AE genotype cows had average genomic score for protein amount higher than 6. The highest genomic score 9–10 for protein amount got 25.0% of kappa casein BB genotype, and 50% kappa casein BE genotype cows, 6.8% of AB genotype and 7.3% of AA genotype cows. It was determined that influence to milk protein amount trait variation is not statistically significant to milk yield trait ($P = 0.636$) (Fig. 3.2.3).

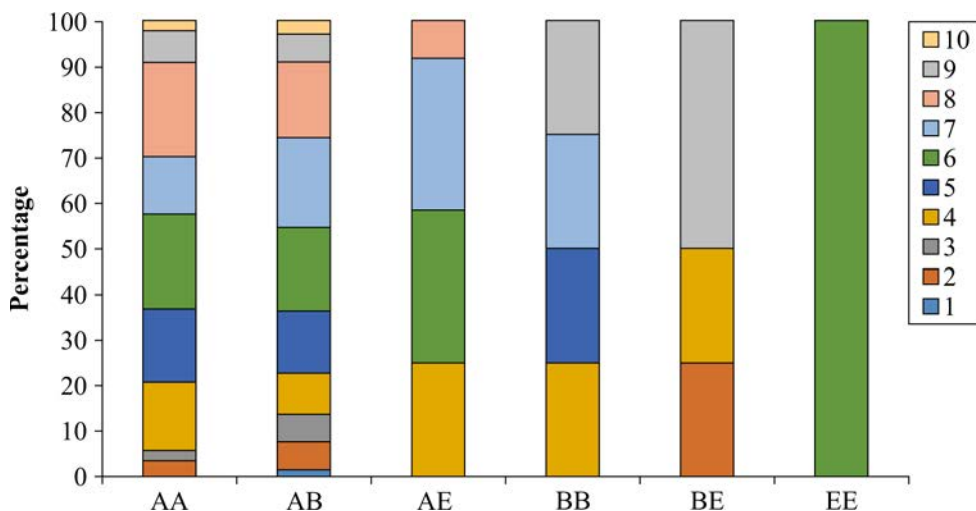


Fig 3.2.3. Distribution kappa casein genotypes according to milk protein amount (kg) genomic scores

All kappa casein genotypes according to milk protein % trait got high genomic scores varying from 5 up to 10. The highest genomic score 9–10 for protein % got 50.0% of kappa casein BB genotype, 25.0% kappa casein AE genotype cows, 27.3% of AB genotype and 11.4% of AA genotype cows. It was determined that influence of kappa casein genotype to milk % amount trait shows tendency that B allele increases milk protein %, but results were not statistically significant ($P = 0.230$) (Fig.3.2.4).

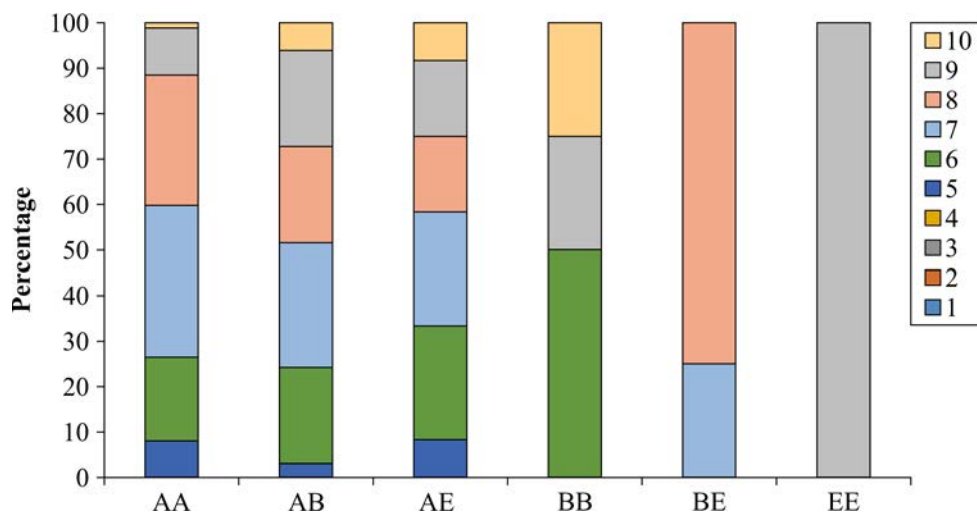


Fig 3.2.4. Distribution kappa casein genotypes according to milk protein (%) genomic scores

Average milk yield genomic scores varied in Lithuanian cattle population from 6.05 (AA kappa casein genotype) up to 5 (EE kappa casein genotype), for milk protein amount trait varied from 6.25 (BB kappa casein genotype) up to 6 (AE, BE, EE kappa casein genotypes), for milk protein % trait varied from 9 (EE kappa casein genotype) up to 7.18 (AA kappa casein genotype). Statistically significant average genomic scores differ between AA and AB genotypes for milk yield trait ($P<0.05$). Dispersion analysis showed that 2.8% of milk yield trait genetic variation ($P<0.05$), 0.2% of milk protein amount trait genetic variation ($P<0.5$) and 3.3% of milk protein % trait genetic variation ($P<0.05$) depend on kappa casein genotype (Fig. 3.2.5).

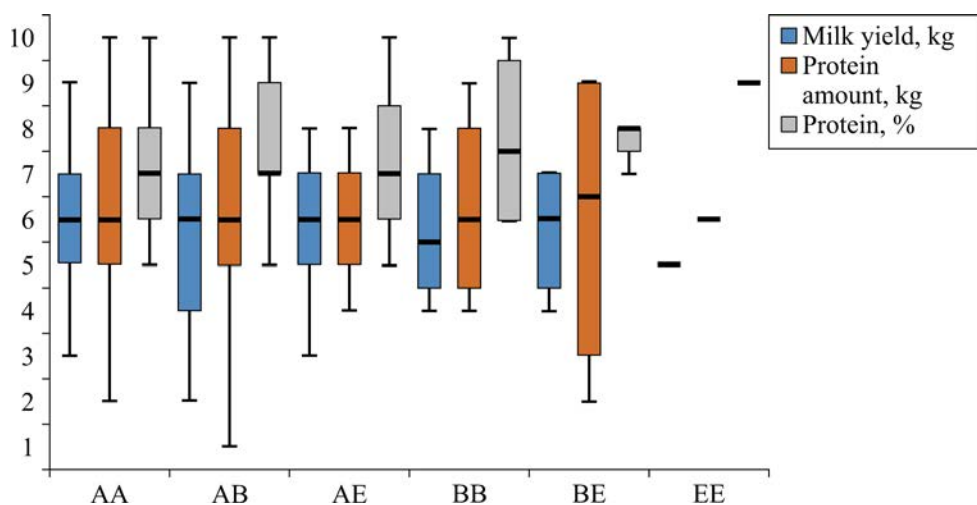


Fig 3.2.5. Distribution of kappa casein genotypes according to average milk yield, protein amount and protein % genomic scores

Comparison of beta casein genotypes according to distribution of milk yield genomic scores showed that 34.6% of AA genotype and 9.1% of AB genotype cows had genomic score higher than 6 for milk yield. Highest 9 genomic score for milk yield trait got 3.1% AA genotype cows, which have good genetic potencial and is suitable for genomic selection to increase the milk yield. It was determined that beta casein genotype statistically significant influences milk yield trait ($P<0.05$). Beta casein A allele is related to increased milk yield. 54.6% AB genotype cows and 42.0% of AA genotype cows had average genomic score for protein amount higher than 6. The highest genomic score 10 for protein amount got 2.5% of beta casein AA genotype. All beta casein genotypes according to milk protein % trait got high genomic scores varying from 5 up to 10. The average genomic scores

more than 6 got 100.0% of beta casein AB genotype and 72.5% of AA beta casein genotype cows. 18.2% of beta casein AB genotype cows got the highest genomic 10 score for milk protein %. It was determined that influence of beta casein genotype to milk % trait was statistically significant ($P<0.001$). Beta casein B allele increases milk protein % (Fig. 3.2.6).

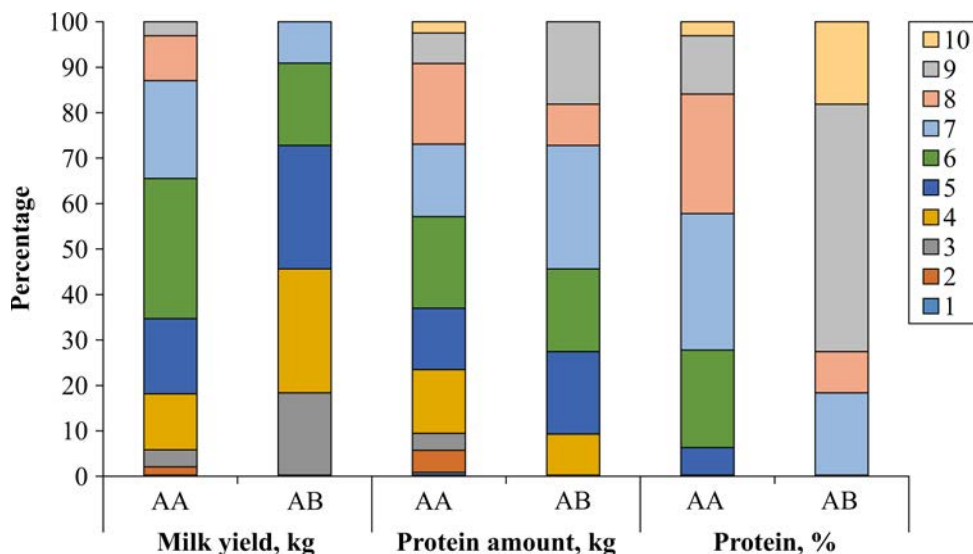


Fig 3.2.6. Distribution of beta casein genotypes according to milk yield, protein amount and protein % genomic scores

Average milk yield genomic scores varied in Lithuanian cattle population from 5.91 (AA beta casein genotype) up to 4.73 score (AB beta casein genotype), for milk protein amount trait varied from score 6.64 (AB beta casein genotype) up to score 6.06 (AA beta casein genotypes), for milk protein % trait varied from score 8.73 (AB beta casein genotype) up to score 7.28 (AB beta casein genotype). Statistically significantly average genomic scores differed between AA and AB genotypes for milk protein % trait ($P<0.001$) (Fig. 3.2.7).

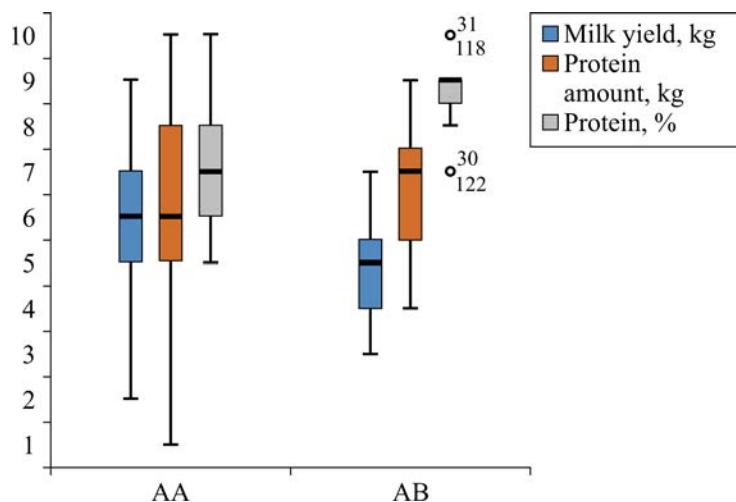


Fig 3.2.7. Distribution of beta casein genotypes according average milk yield, protein amount and protein % genomic scores

Dispersion analysis showed that 3.8% of milk yield trait genetic variation ($P < 0.05$), 0.5% of milk protein amount trait genetic variation ($P < 0.05$) and 8.1% of milk protein % trait genetic genetic variation ($P < 0.001$) depend on beta casein genotype.

Comparison of beta lactoglobulin genotypes according to distribution of milk yield genomic scores showed that 53.0% of AA genotype, 28.0% of AB genotype and 16.1% BB genotype cows had genomic score higher than 6 for milk yield. Highest 9 genomic score for milk yield trait got 6.1% AA genotype cows and 2.2% AB genotype cows, which has good genetic potencial and is suitable for genomic selection to increase of milk yield. It was determined that beta lactoglobulin genotype statistically significant influences milk yield trait ($P < 0.01$). Beta lactoglobulin A allele is related to increased milk yield. 42.0% beta lactoglobulin AA genotype cows, 43.1% of AB genotype cows and 48.4% of BB genotype cows had average genomic score for protein amount higher than 6. The highest genomic score 10 for protein amount got 3.2% of beta actoglobulin BB genotype. Beta lactoglobulin genotype influence to milk protein amount trait variation is not statistically significant ($P = 0.66$). Cows with all beta lactoglobulin genotypes according to milk protein % trait got high genomic scores varying form 5 up to 10. 44.0% of beta lactoglobulin AA genotype cows, 85.0% of AB genotype cows and 90.4% of BB genotype cows got higer than average 6 genomic score for milk protein % trait. 9.7% of beta lactoglobulin BB genotype cows got the highest genomic 10 score for milk protein %. It shows good opportunities for genomic selection for this trait according milk

protein genotype. It was determined that influence of beta lactoglobulin genotype to milk % trait was statistically significant ($P<0.001$). Beta lactoglobulin B allele increases milk protein % (Fig. 3.2.8).

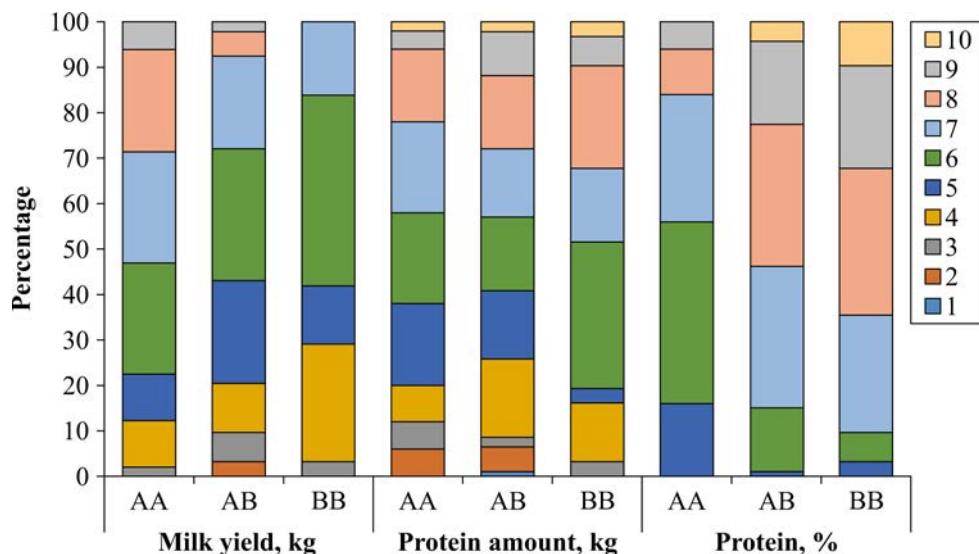


Fig 3.2.8. Distribution of beta lactoglobulin genotypes according milk yield, protein amount and protein % genomic scores

Average milk yield genomic scores varied in Lithuanian cattle population from score 6.51 (AA beta lactoglobulin genotype) up to score 5.42 (BB beta lactoglobulin genotype), for milk protein amount trait varied from score 6.55 (BB beta lactoglobulin genotype) up to score 5.96 (AA beta lactoglobulin genotypes), for milk protein % trait varied from score 7.94 (BB beta lactoglobulin genotype) up to score 6.50 (AA beta lactoglobulin genotype). Statistically significant average genomic scores differed between AA-BB genotypes and AB-BB genotypes for milk yield trait ($P<0.01$) and for milk protein % trait ($P<0.001$). Beta lacoglobulin A allele increases milk yield, while B allele milk protein % trait (Fig. 3.2.9).

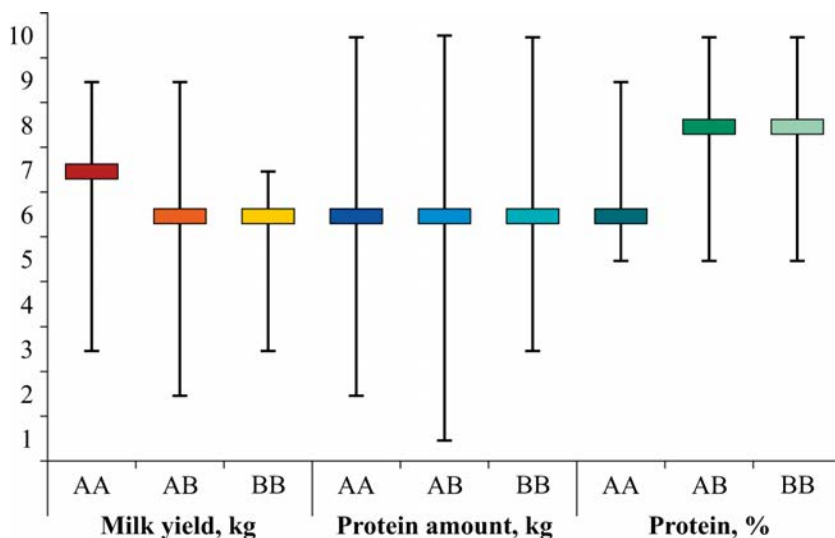


Fig 3.2.9. Distribution of beta lactoglobulin genotypes according to average milk yield, protein amount and protein % genomic scores

Dispersion analysis showed that 8.4% of milk yield trait genetic variation ($P < 0.01$), 1.2% of milk protein amount trait genetic variation and 20.6% of milk protein % trait genetic variation ($P < 0.001$) depend on beta lactoglobulin genotype.

We have tested relation between milk casein amount and kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes. Casein amount ranged from 2.24 g/100 g milk for AA kappa casein genotype cows up to 2.96 g/100 g milk for BB kappa casein genotype cows. Chances ratio that kappa casein BB genotype cows will have higher casein amount is 1.3. Chances ratio that BB beta lactoglobulin and AB beta casein genotype cows will have higher casein amount is 1.1 (Fig. 3.2.10).

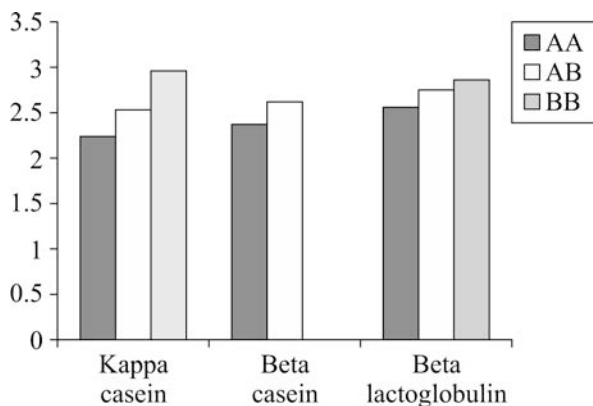


Fig 3.2.10. Influence of milk protein genotype to casein amount in milk

We have tested relation between somatic cell count and kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes. Somatic cell count ranged from 123 thous. cells/100 ml milk for BB beta lactoglobulin genotype cows up to 321 thous. cells/100 ml milk for AB beta casein genotype cows. Chances ratio that kappa casein BB genotype cows will have less somatic cell count is 1.27. Chances ratio that AB beta casein genotype cows will have less somatic cell count than AA genotype is 1.82 (Fig. 3.2.11).

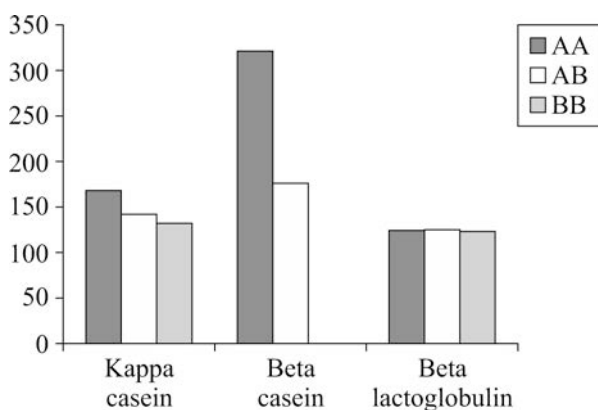


Fig 3.2.11. Influence of milk protein genotype to somatic cell score in milk

3.3. Dairy cattle genomic selection of health traits

We have tested cows for lethal autosomal recessive disorders widely distributed in black and white cattle population – bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD), deficiency of uridine monophosphate synthesis (DUMPS) and vertebral malformation (CVM). Recessive allele with point mutation A→G (383), causing BLAD disease, showing up by persistent heifers infections, caused by disfunction of neutrofiles, found in Lithuanian cow population with 0.0025 frequency, heterozygote individuals found 0.5%. Recessive allele with point mutation C→T (405), causing DUMPS disease, showing up by early embrion mortality, caused by defficiency of uridine monophosphate synthesis, was not found in Lithuanian cows population. Recessive allele with point mutation SLC35A3 G→T (559), causing CVM disease, showing up by cows abortion or heifers stillbirth, found in Lithuanian cows population with 0.005 frequency, heterozygote individuals found 1.0% (Table 3.3.1).

Table 3.3.1. *Prevalence of BLAD, DUMPS and CVM diseases in Lithuanian dairy cattle population*

Genetic disease	Genotype frequency			Allele frequency	
	TL/TL	TL/BL	BL/BL	TL	BL
BLAD/CD18 gene	0.995	0.005	0	0.9975	0.0025
CVM/SLC35A3 gene	TV/TV	TV/CV	CV/CV	G	T
	0.99	0.01	0	0.995	0.005
DUMPS/UMPS gene	TP/TP	TP/DP	DP/DP	TP	DP
	1	0	0	1	0

CD18 gene genotype: TL/TL = homozygote, without BLAD disorder;

TL/BL = heterozygote, BL allele carrier, BL/BL sick.

UMPS gene genotype: TP/TP= homozygote, without DUMPS disorder;

TP/DP = heterozygote, DP allele carrier, DP/DP sick.

SLC35A3 gene genotype: TV/TV = homozygote, without CVM disorder;

TV/CV = heterozygote, CV allele carrier, CV/CV sick.

In 2000 year 5% of heterozygote animals BLAD gene carriers were found in Lithuanian dairy cattle population, in 2002 year 4%, in 2004 year 2%, we found 0.5% BL allele carriers and distributors of disease gene in population (Fig. 3.3.1).

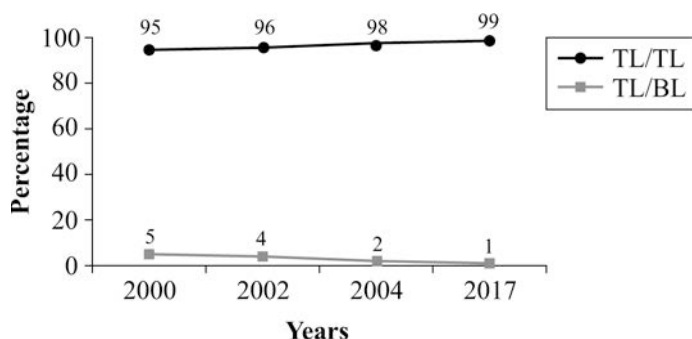


Fig 3.3.1. *Monitoring of BLAD disease prevalence in Lithuanian dairy cattle population during 2000–2017 year*

Mutated allele BL, which in homozygote status causes bovine BLAD disease, frequency from 2000 year up to 2017 year had tendency to decrease because of intensive selection against this allele (Fig. 3.3.2.).

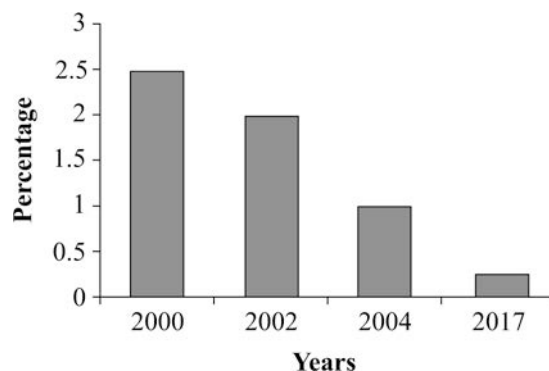


Fig 3.3.2. *Monitoring of BL allele prevalence in Lithuanian dairy cattle population during 2000–2017 year*

4. DISCUSSION

The use of genome information in the genetic evaluation of cattle led to revolutionary changes in dairy cattle selection [12, 62, 64, 204]. In genomic selection, breeding value is based on hundreds or even thousands of molecular markers, not information regarding the animal itself or its parents and ancestors. Using molecular markers, exact breeding values can be determined for both sexes of cattle at an early age, which is useful in reducing the generation interval by skipping the assessment according to the offspring [12, 205]. Genomic selection offers many advantages in improving the genetic potential of dairy cattle production. The most important factors contributing to an accelerated increase in genetic potential are: higher accuracy of predicted genetic value for young animals, shorter inter-generational intervals (because of the more intensive use of young females and males with high genetic value), and increased breeding intensity (because breeders can carry out genomic studies to test a larger group of potentially elite animals at a young age). By increasing the accuracy and intensity of breeding and reducing the intervals between generations, the genetic progress of the bioaccumulation potential of economically-important milk production can be approximately doubled. Genomic selection of dairy cattle has been introduced in many countries known for their elevated milk production [68–71].

The genomic selection of dairy cattle utilizes a range of DNA microchips with different densities. We used the “Igenity” dairy cattle genomic evaluation system for genomic selection [206]. The “Igenity” system makes it possible to carry out genomic selection in separate bovine herds and breeds, and throughout the population. The “Igenity” genomic selection system uses DNA information to help understand and manage the potential of animals which possess and transmit economically important

traits. The “Igenity” dairy livestock profile shows the genetic potential of animals analysed using single nucleotide polymorphisms as multiple markers of DNA, converted into genomic scores for dairy form, milk content, fat content, fat percentage, protein content, protein percentage, and somatic cell count. The correlation of the genomic profile with phenotypic traits was investigated in four cattle populations of different cattle breeds reared under different conditions. The number of individuals in the population ranged from 4,000 to 6,000 head of cattle, and a multiple statistical model was used [206].

Our research has shown that in the Lithuanian dairy cattle population the average genomic score for milk content was 6.01: protein level – 7.26, protein content – 6.18, fat level – 5.80, fat content – 6.19, productive age trait – 6.26, somatic cell count – 5.38, and dairy form – 5.18, which correlate to the genomic profiles of the international dairy cattle population. We determined that the average genomic value of Lithuanian dairy cattle for some attributes was higher than the average genomic scores for the international dairy cattle population, the milk fat content was 0.09 genomic points, milk quantity 1.49 points, milk protein content 0.78 points, dairy form 0.11 points.

The levels of milk, fat and protein were measured routinely for a century. Quantitative attributes had a different economic value in the overall profit calculation [207], but the desirable progress of these traits depends on their average inheritance [208]. Previously, different selection methods were used, from simple phenotypic evaluation to best linear unbiased prediction (BLUP). The selection breakthrough occurred when the genomic selection method was applied. Single nucleotide polymorphism markers used for “Igenity” identify genetic variations that help regulate milk, protein and fat levels without reducing fertility or increasing inbreeding [209, 210].

The milk form analysis showed that cows with high dairy scores tend to be more susceptible to metabolic, reproductive and hoof and foot diseases. The low dairy form of the dairy cattle studied in Lithuania was found to be 8.5% of cattle. Milk form is closely related to productive age, mostly because of its effects on reproductive properties. Animals in the “Igenity” profile that scored 10 points in the dairy form category will have a low dairy form – a good longevity indicator. Each additional month of productive age may be a conversion to the added value of a cow through additional production.

Productive age [211] is an indicator of the longevity of an animal, based on how long the cow lactates milk during its lifetime. Animals with a longer lifespan are generally more profitable, especially when the cost of raising them from birth to lactation is high. The inheritance of productive age is

relatively low ($h^2 = 0.08$), and the accuracy of selection is usually low for young animals with few offspring with direct slaughtering data [212]. In spite of these challenges, the trait has high economic value, currently comprising 22% in the combined economic index. In the Lithuanian dairy cattle population that was analysed, high-yielding genome scores varying from 8 to 10 points were found in 23% of the cattle tested. Productive age has a strong correlation with fertility and other signs of good physical condition.

Somatic cell count (SCC) is the driving force behind most producers and is a potential indicator for mastitis. It is a measure of udder health, converted from the number of somatic cells associated with mammary gland infections, and mastitis. SCC is an important indicator as, although it is closely associated with clinical and subclinical mastitis, it is much easier to evaluate than dairy cattle mastitis [213, 214]. Sensitivity to mastitis in the dairy industry is of major economic significance due to losses caused by the reduction of milk production, malnutrition, early discarding, increased veterinary care and treatment costs, and the cost of replacement animals [215]. Since “Igenity” profiles can be determined at any age in cattle, SCC analysis can be used to identify calves and heifers that potentially have a high SCC and, at the same time, sensitivity to mastitis, prior to entering the herd. An animal with a score of 10 may be more sensitive to mastitis than an animal with the genomic score of 1.

We found the low somatic cell counts preferred for a genomic score ranging from 1 to 3 in 16.0% of the Lithuanian dairy cattle population.

The efficiency of genomic selection depends on the genomic value of the heifers we choose for replacement. In evaluating a herd of heifers, if their genomic value is too low, the farmer may decide to purchase heifers with a certain genomic value for individual attributes, depending on the selected breeding direction [216]. Having estimated the distribution of cows and heifers among Lithuanian dairy cattle according to genomic scores, we found that 7.1% more heifers than cows ($P < 0.05$) had high genomic scores (8–10) for milk quantity, indicating a high potential for milk yield ($P < 0.05$). 14.0% more heifers than cows had average genomic scores (5–6) for the somatic cell count, indicating resistance to mastitis. 11.6% and 4.5% more heifers than cows had average genome scores for signs of milk protein and milk fatty acids (5–6) ($P < 0.05$), respectively. The heifers’ higher genomic scores compared to cows indicate that there is genetic potential for genomic selection in the Lithuanian dairy cattle population.

The use of genomic selection as a new tool in cattle breeding can lead to significant economic benefits [217]. The introduction of genomic selection in the United States in 2008 reduced the interval between generations by six years. This achievement has contributed to the development of all

other changes. Analysis shows that genetic improvement in cattle increased the amount of milk, fat and protein when genomic selection was launched. Comparing the data for 2008 and 2014, the increase in milk, fat and protein content was 71%, 111%, and 81%, respectively [205]. In experiments which model genomic breeding schemes, values ranging from about 20% [42] up to 100% [67] reveal that the increase in genetic benefit depends on the intensity of selection and the range of implied generation in the study. By comparing two genomic selection models in the Lithuanian dairy cattle population, we determined that when genomic selection is carried out with the aim of increasing the milk quantity only, the predicted milk content increased by 21% and the productive age by 2%, but other significant dairy cattle traits deteriorated. When genomic selection is carried out to favour improvement in all dairy traits, giving them equal importance, the amount of milk produced increased only by 4%, but other important cattle trait indicators also improved: milk fat content increased by 12%, productive age by 14%, and somatic cell count decreased by 15%.

The genomic profiles of dairy cattle may be included in the international database of dairy cattle genomic profiles, whereby the farmer can determine the location of his herd's genetic potential in comparison with other herds of a separate breed, ranking a herd or an individual animal in the international database of almost 500,000 individuals, based on their genomic profiles.

The completeness of the "Igenity" profile makes it possible to track the traits that are most important to profitability. Using a convenient scoring system, together with genomic estimates, it is possible to compare and monitor the genetic progress of the herd. Early examination of animals is a powerful genetic basis for many breeding, selection and management plans. Evaluation of cattle based on genomic profiles makes it possible to select bovines with the best variants of the genomic profile for all dairy cattle traits, i.e. animals with the highest genomic value [218].

In cattle selection, quantitative attributes, whose genetic potential is increased by means of the genomic selection method, as well as qualitative attributes, the phenotypic changes which depend on the polymorphism of a single gene, are important. One of the important qualitative features of dairy cattle is milk protein levels – kappa casein, beta casein, beta lactoglobulin, with different variants having different effects on the technological properties of milk and the suitability or production of cheese and cottage cheese. One of the modern ways to improve milk quality is the genetic or biotechnological method known as MAS (marker-assisted selection) [79, 219].

In order to have livestock with truly high breeding value, the genetic markers of the milk proteins responsible for milk quality are also examined in determining the genomic profile of dairy cattle [220].

Milk protein polymorphism studies have evolved in various directions in order to study the chemical evolution of milk proteins, find possible similarities with other proteins, confirm the relationships between different breeds or varieties, capture changes occurring over time or space in a certain animal population, and understand the biological role of genetic variants. The use of new, modern biomolecular methods has opened up new opportunities in the study of milk protein polymorphism.

The relationships between milk protein polymorphism, production characteristics, milk composition and milk processing properties with the quantitative effects of the different protein loci have been studied and described in several papers [83, 90, 111, 221]. Kappa casein and beta-casein A allele are associated with higher milk yields [78] and most milk is produced by bovine animals having AA genotype and AB genotype. Several studies have shown the importance of kappa casein, beta casein B allele and BB genotype for the technological properties of milk [86, 88, 93, 95, 96]. For dairy cattle, the kappa casein and beta-casein B option is associated with higher protein content, better cottage cheese quality and increased cheese yield. The correlation of the genome values of Lithuanian dairy cattle production with milk protein genotypes showed that the B allele of kappa casein, beta casein ($P < 0.001$) and beta lactoglobulin ($P < 0.001$) increases milk protein content. The highest genomic scores in the Lithuanian dairy cattle population for milk protein content and protein level were found in AB genotype cows, with a 6.64 genomic score and 8.73 genomic score for beta-casein, respectively. B allele relates to the milk's temperature resistance and shorter coagulation times. Due to the shorter formation time of small micelles, sufficiently firm curd is produced [78, 222]. Meanwhile, the milk of AA genotype cows has a lower concentration of kappa casein and beta casein, and large micelles are formed, thereby reducing the yield of cottage cheese [223]. Although beta lactoglobulin itself is not involved in the enzymatic coagulation process of non-heated milk, it has been shown that the genetic variants of beta-lactoglobulin may affect the coagulation properties of raw milk [147]. In addition, it was found that beta lactoglobulin B allele is associated with a higher yield of cheeses than beta-lactoglobulin A allele. Several studies have shown that beta lactoglobulin A and B alleles have a significant impact on protein content, protein composition and casein content in milk [85, 148]. Several studies have confirmed that beta lactoglobulin polymorphism affects not only the properties of milk processing, but also production characteristics such as milk quantity, protein content in milk

as a percentage, and the amount of milk protein in kilograms [153]. Studies of the Lithuanian dairy cattle population showed that the beta lactoglobulin genotype had an 8.4% effect on the genetic variation of milk content ($P<0.01$), 1.2% of genetic changes in the milk protein content and 20.6% of genetic variation in milk protein ($P<0.001$).

The identification of kappa, beta casein and beta lactoglobulin genotypes thus may be an economically important selection criterion for the formation of dairy herds for industrial milk production [224].

Casein A and B alleles are most prevalent in cattle, although a total of 11 alleles have been identified [86, 88, 110, 112, 113, 118]. In most dairy cattle breeds, kappa casein A allele is found at a high frequency, as in our research. In the Lithuanian dairy cattle population, we found kappa casein A allele 0.724 times more often; it was found at a similar frequency in Chinese Holsteins, Simmental [102, 117], Holsteins bred in India, Russian black-and-white and red cows, Colombian Holsteins [223], and Turkish Grey cattle [86]. B allele is given plenty of attention because it has the potential to improve the technological properties of milk. Intensive selection is carried out when choosing cows with the BB genotype and forming specific bovine herds suitable for the cheese industry [90, 147]. Kappa casein B allele was found with high frequency in cattle in Italy, France, Germany and the United Kingdom (0.400–0.840) in the local Romanian, Jersey and Simmental breeds [110, 116, 118], at a lower frequency in the cattle of Turkey (0.2979–0.3452), Croatia (0.130–0.460), Poland (0.33) and Belgium (0.190–0.280) [113], as well as in the results of our research in the Lithuanian dairy cattle population (0.224), with a low frequency in Turkish Greys and Ayrshires [86, 113]. In the past, the polymorphism of the kappa casein gene in Lithuania has been investigated in four cattle breeds. In the preferred cheese industry, the highest frequency of kappa casein protein B allele was found in the Lithuanian Red cattle breed [158].

The milk protein beta casein B allele, preferred in the dairy industry, and the BB genotype are most commonly found in cattle with low frequency. Among Estonian dairy cows, the Holstein B allele was found at a frequency of 0.024 [138], in German Holsteins at 0.026 [139], and in Czech dairy cattle at 0.008 [83]. Like other researchers, we found the allele B at a low frequency (0.032) in the Lithuanian dairy cattle population. The low frequency of beta casein B allele was determined for the American Guernsey (0.010–0.020) [225], Herefords (0.010–0.060) [226], and Turkish Greys at (0.029) [86]. Among Jersey cows in Germany, the beta casein B allele was found to be slightly higher, at a frequency of 0.186 [139], quite similar to Denmark's 0.219 [114]. The beta casein A allele and AA geno-

type leading to a higher milk yield was found by other researchers and our research results to prevail among Lithuania's dairy cattle population.

Like kappa and beta caseins, beta lactoglobulin is one of the milk proteins important for the dairy industry due to its effect on tannic characteristics. There are 15 different alleles of beta lactoglobulin, but the A and B alleles are the most common [161, 227]. The BB genotype was found in 29% of Swiss red cattle, 49% of Ayrshires, 45% of Jersey cattle, and 74% of Egyptian Baladi cattle [155]. In local Iranian local bovines, beta lactoglobulin B allele was found at a frequency of 0.77 [154], and among the Fleckvieh cattle of the Czech Republic at 0.499 [83]. A high beta lactoglobulin B allele frequency was determined for the Holstein breed in Turkey (0.49–0.66) [86, 153, 157], Iran (0.47) [154], Serbia (0.48) [150, 153], Estonia (0.68) [138], Egypt (0.87) [155] and China [110, 152]. Argentine Holsteins [112], like in our studies of Lithuanian dairy cattle, have a similar B allele frequency (0.57), and the BB genotype was found in 27.3% of cattle. Slightly lower frequency was found in Polish (0.34) and Thai (0.29) Holsteins.

Milk has anti-carcinogenic, immunomodulatory, antimicrobial, anti-cariogenic, anti-hypertensive and hydro-cholesterolemic effects [228]. However, in addition to the positive qualities of milk, the composition of milk proteins can have a negative effect on human health. Two main aspects are the hypoallergenic properties of bovine milk and the release of peptides during biological functions due to enzymatic proteolysis of milk proteins in the digestive tract during digestion [88, 140]. In the digestive tract, under the effect of enzymes, beta casein A1 and B variants form beta-casomorphin (BCM), which belongs to the group of opioid peptides and can increase the risk of diseases such as ischemic heart disease, diabetes, atherosclerosis, sudden infant death syndrome, autism, schizophrenia in humans [131-136]. It is therefore important to identify beta casein A1 and A2 alleles in order to be able to only select cows with the A2A2 genotype and to produce functional milk from such bovine animals. Such specialty milk and its products are produced in New Zealand and Australia. In the Lithuanian dairy cattle population, we found A1 allele at a frequency of 0.261, and A2 allele at 0.739. Beta casein A1 and A2 in archaic gene pool breeds of Lithuanian grey and Lithuanian white and back cattle were found. In the grey breed of Lithuania, A1 allele was found in 52% of cows and A2 allele in 48% of cows. In the Lithuanian grey cattle breed, A1 was found in 38% of cows and A2 allele in 62% of cows. The high frequency of beta lactoglobulin A2 allele in the Lithuanian dairy population was found to be very favourable for a positive selection of this allele and the formation of

cattle herds that would produce A2A2 milk, with its rather large niche in the world market.

Genomic selection is carried out not only by improving the genetic potential of cattle productivity, reproduction and milk quality, but also by assessing the signs of bovine health. In the dairy cattle population, due to the international breeding of males with high genetic value despite also being the carriers of recessive, genetic disease alleles, genetic diversity has been significantly reduced. As a result, many genes have become homozygous, producing abundant genetic diseases among the dairy cattle population that cause significant economic losses, as many of them are lethal. After a retrospective assessment of the prevalence of the lethal genetic diseases of BLAD, DUMPS and CVM in the dairy cattle population, the following was established:

CVM and BLAD are some of the most common hereditary genetic defects of the Holstein breed in the past decades. Researchers have found that in 2000 the BLAD allele frequency was 24%, and the rate of CVM alleles in the German Holstein population from 2001 by 2007 ranged from 9% up to 16% [169].

The BL allele determining BLAD disease (A → G, 383) manifested as the changes of the neutrophil function that cause common outbreaks of infections among calves, was found at a frequency of 0.05 in the Lithuanian dairy cattle population; carriers of the allele leading to heterozygous cattle BL/TL disease was 0.5%, and no heterozygous animals with BL/BL, having BLAD were found. In Lithuania in 2000, 6.7% of key areas of altered gene leading to BLAD disease were found among selected cows. Of the 146 bulls tested, 4 carriers were found. In 2002, 3% of selected cows were carriers, and in 2004, 2% of selected cows and 1 young bull. All breeding bulls and selected cows that are newly introduced among breeding animals are compulsorily tested for BLAD disorder [30]. A similar BL allele frequency was found in 0.82% of Czech cattle 0.82% [187], of Turkish Holsteins [229] and 0.69% of Chinese Holsteins [230]. However, a much larger BL allele frequency was founded Indian Holstein Friesian cattle 2.99% [231], Iranian Holsteins 3.3% [232], American Holsteins 8.2% [233], Polish Holsteins Friesian 7.9% [203], Turkish Holstein cows 4.0% [234].

The DP allele causing DUMPS genetic disorder in cattle (C→T, 405), manifested as early mortality of cattle embryos due to the shortage of uridine monophosphate synthase, was not found in the Lithuanian population. No key areas of DUMPS genetic disorder was found in Turkey [184, 229, 234]. Similar results were obtained in the research done by other international scientists in Poland [182], the Czech Republic [187], Germany [235], India [231], Iran [236] and Romania [237]. However, the mutant DUMPS

disease allele with 1–2% frequency was found in the Holstein breed of cattle in the USA, 0.96% in Argentine Holstein bulls [234], and 0.06% in Chinese Holsteins [186].

The CV allele causing CVM cattle disease (G → T, 559), manifested in malformations of the embryo's spine, was found in the population of Lithuanian dairy animals at the frequency of 0.005, while the number of heterozygous bovines carrying the allele that causes the CV/TV disease was found to be 1%, and no homozygous bovine CV/CV affected by CVM was found. In Turkey, the frequency of Holstein bovine CVM mutated allele carriers was 3.4%, in the Chinese dairy population it was 3.86% [188]. A high frequency of CV allele was found in Denmark, coming in at 31.0% [189], in Poland at 24.8% [238], in Japan at 32.5% [239], in Sweden at 23.0% [240], in Germany, at 13.2% [241], and in China 15% [191]. Since 2000, breeding programs in most counties have been implemented to reduce the prevalence of CVM carriers. Thus, in some Holstein populations, the incidence of CVM disorder carriers is still high. The study of Iranian Holstein cattle did not identify heterozygous bovine animals [242]. This can be associated with the use of a small number of bulls carrying the CV allele for breeding, during the formation of the breed and further selection.

In the Lithuanian dairy cattle population, the number of key areas of hereditary, lethal bovine diseases caused by recessive genes in the population was reduced because of an intense selection programme, eliminating the BLAD gene carriers and not using BLAD, DUMPS and CVM heterozygous bulls for breeding. The number of BL allele carriers dropped from 6% in 2000 to 0.5% in 2017.

The application of genomic selection on a global scale essentially changes bovine breeding programmes. This new selection tool is particularly useful in dairy cattle breeding programmes since there is no need for having all phenotypic indicators for close relatives of potential breeders. Genomic selection in dairy cattle breeding programs allows breeders to identify genetically-optimal bovines at an early age. Bovines that have been DNA-tested can be given a precise, genomically evaluated breeding value before they reach puberty. This reduces generation intervals and enhances genetic progress for all targeted traits, as it allows for a significant reduction in intervals between generations and an inexpensive increase in the intensity of selection [12, 63, 65, 243].

CONCLUSIONS

1. Estimated by genomic dairy profiles, average genomic points of production traits in Lithuanian dairy cattle population were for milk yield – 6.01, milk protein content – 6.18, milk protein % – 7.26, fat content – 6.19, milk fat % – 5.80, somatic cell count – 5.38, dairy form – 5.18 and productive life – 6.26 traits. Ascertained higher genomic scores for heifers than cows ($P < 0.05$) shows genetic potential for genomic selection in Lithuanian dairy cattle population.
2. Comparing Lithuanian dairy cattle genomic profiles with genomic data of international dairy cattle population, was determined that Lithuanian dairy cattle have higher genomic potential for milk fat and protein amount, milk yield and dairy form. In Lithuanian dairy cattle population genomic values for somatic cell score is higher than the average of international dairy population genomic score showing that cows have genetic predisposition to be more susceptible to mastitis.
3. Evaluated genomic potential of dairy cattle applying different genomic selection models showed, that carrying out selection only for increased milk amount average herd genomic score after replacement of cows by genomic evaluated heifers increased from 5.50 up to 6.41, but except increase in milk yield genetic potential for other important dairy traits become worse. Carrying out genomic selection with equal selection pressure to all dairy cattle important traits average herd genomic score increased from 6.08 up to 6.45 with higher genomic potential for all traits.
4. Evaluated economic effect of applying different genomic selection models showed, that carrying out selection only for increased milk amount the economic profit could be up to 27%, but losses could be of decreased milk protein and fat % as well as higher somatic cell score. Carrying out genomic selection with equal selection pressure to all dairy cattle important traits despite negligible decrease of milk yield, increase of genomic potential of productive age could give 14% more income as well as higher genomic potential for all other traits.
5. In Lithuanian dairy cattle population milk protein kappa casein BB genotype improving milk technological properties had 22.4% of tested cows, beta lactoglobulin BB genotype had 54.4% cows, cows with beta casein BB genotype not identified. We identified two beta casein A allele variants – A1 with frequency 0.261, A2 allele with frequency 0.739. A2A2 genotype suitable for functional milk production had 52%

of cows showing good selection opportunities and specific cattle herd formation.

6. Investigated connections between milk protein kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin polymorphism and production traits genomic scores showed that kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin A allele increases milk yield genomic potencial ($P < 0.05$), while B allele milk protein content ($P < 0.001$).
7. Investigated relationship between milk casein amount and kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes showed that BB kappa casein genotype cows will have 1.3 chances ratio for higher casein amount in milk than AA or AB genotypes. Investigated relationship between milk somatic cell count and kappa casein, beta casein and beta lactoglobulin genotypes showed that BB kappa casein genotype cows will have 1.27 chances ratio for lower somatic cell count milk and better udder health than AA or AB genotypes.
8. Investigation of cows for lethal genetic disorders BLAD, DUMPS and CVM prevalence in Lithuanian dairy cattle population showed 0.5% BLAD gene carriers and 1.0% CVM gene carriers. No cattle DUMPS gene carriers been found. In Lithuanian dairy cattle population number of cattle, carriers of heritable lethal diseases caused by recessive genes decreased, because of intensive selection program, eliminating cows mutated gene carriers and not using heterozygote for BLAD, DUMPS and CVM bulls.

RECOMMENDATIONS

The genomic selection method is recommended for application not only to separate cattle herds but in the overall dairy breeds selection programs, as the genomic information of each animal is ranked in the international database, enabling international breeding value evaluation and participation in cross-country international dairy cattle breeding programs.

The results can be used to make more accurate breeding decisions, assist in heifer selection, whether buying, selling or keeping replacements, improve voluntary culling decisions, select superior dams or donor animals, adjust management practices, take inventory of herd and establish a baseline for improvement, calculate the economic effect of genetic progress of the herd, by using genomic selection.

CURRICULUM VITAE

Name, Surname: Kristina Morkūnienė
Address: Institute of Biology Systems and Genetic Research, Lithuanian University of Health Sciences, Tilžės 18, LT-47121 Kaunas, Lithuania.
E-mail: kristina.morkuniene@lsmuni.lt

Education:

2012–2017 PhD studies in Zootechnics,
Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas
2009–2011 Master degree in Public Health,
Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas
2005–2009 Bachelor studies in Public Health,
Lithuanian Veterinary Academy, Kaunas

Professional activity:

From 2013–until now Lecturer
Institute of Biology Systems and Genetic Research,
Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas
2012–2013 Assistant
Institute of Biology Systems and Genetic Research,
Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas
2005–2009 Technician
K. Janusauskas Laboratory of Animal Genetics,
Veterinary Academy, Kaunas.

PADĖKA

Esu dėkinga Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Biologinių sistemų ir genetinių tyrimų instituto ir K. Janušausko genetikos laboratorijos kolektyvui už sudarytas geras darbo atlikimo sąlygas ir moralinį palaikymą sunkiais momentais, mokslinio darbo vadovei doc. dr. Sigitai Kerzienei, padėjusiai išspręsti kilusius neaiškumus rengiant disertaciją.

Dėkoju šeimos nariams už visapusišką paramą ir palaikymą bei visiems, geranoriškai padėjusiems vykdyti mokslinį darbą.

Ypač dėkinga esu mamai (prof. Ilonai Miceikienei) už neišsenkančią kantrybę konsultuojant visais iškilusiais klausimais ir skyrusiai daugybę laiko disertacijos temos analizei bei suteikusiai daug naudingų idėjų.