Nierekombinujące markery DNA jako nowe narzędzia analiz w hodowli zwierząt (cz. 2)

Beata Prusak[1], Iwona Głażewska[2], Barbara Gralak[1]

[1]Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu
[2]Uniwersytet Gdański

Wgląd w historię hodowli koni arabskich czystej krwi na podstawie rodowodów oraz wyników badań polimorfizmu mtDNA

Hodowla koni arabskich w Polsce ma bogatą, kilkusetletnią tradycję i poprzez eksport materiału oddziałuje znacząco na światową hodowlę koni tej rasy. Materiał wyjściowy krajowej hodowli stanowiły konie importowane z Bliskiego Wschodu, a najstarszą stadninę założono w 1778 roku [11]. Podczas dwóch wojen światowych XX wieku, a także w okresie zamętu związanego z wybuchem w Rosji rewolucji październikowej, pogłowie koni doznało znacznych strat, przepadła także część informacji dotycząca rodowodów [11]. Po 1945 roku istniały w Polsce prawie wyłącznie stadniny państwowe i dopiero pod koniec XX wieku nastąpił proces odradzania się hodowli prywatnej. W 1926 roku wydano pierwszą księgę stadną koni arabskich [10] (od 1932 roku wydawana jako Polska Księga Stadna Koni Arabskich Czystej Krwi – PASB). Kilka lat później (w 1938 r.) opublikowano pierwsze na świecie tablice genealogiczne polskich arabów, autorstwa dr. Skorkowskiego, a po wojnie tablice genealogiczne opracowane przez Rozwadowskiego. Od końca lat osiemdziesiątych warunkiem wpisu do ksiąg stadnych koni arabskich czystej krwi jest uwiarygodnienie pochodzenia konia na podstawie wyników badań markerów genetycznych – początkowo wariantów genetycznych białek, a obecnie markerów DNA. Analizy te prowadzone są pod auspicjami International Society for Animal Genetics, według ściśle zunifikowanych kryteriów. Certyfikaty wydawane przez poszczególne laboratoria (w Polsce analizy wykonywane są w IGiHZ PAN w Jastrzębcu) mają więc charakter dokumentu hodowlanego honorowanego na całym świecie.

Konie arabskie czystej krwi są w Polsce populacją stosunkowo nieliczną. Z informacji zawartych w księgach stadnych wynika, że aktualna liczba matek stadnych (dane za 2012 rok) wynosi 1056 szt. Araby, z rodowodami sięgającymi początku XIX wieku, są dobrym modelem do badań struktury założycielskiej przy pomocy mierników rodowodowych. Mierniki oparte na rodowodach zwierząt i służące do szacowania struktury genetycznej populacji są istotne zwłaszcza w hodowli zachowawczej. Jej głównym zadaniem jest utrzymanie jak największego zróżnicowania genetycznego populacji. Ważne jest przy tym zachowanie alleli rzadkich, gdyż prawdopodobieństwo ich wypadnięcia z puli genowej w wyniku dryfu genetycznego jest największe [9]. Poprzez losowy wybór osobników do badań, prawdopodobieństwo zidentyfikowania rzadkich sekwencji mtDNA, tj. występujących u jednego lub kilku osobników, jest niewielkie. Z kolei w populacji zwierząt o znanym pochodzeniu i przy założeniu, że rodowody są wiarygodne, a mutacje występują na tyle rzadko, że można je pominąć w rozważaniach, liczbę badanych osobników można ograniczyć wyłącznie do reprezentantów poszczególnych linii żeńskich, które potencjalnie posiadają różne haplotypy mtDNA [5]. Dlatego wybierając osobniki do badań na podstawie danych rodowodowych można odnaleźć wszystkie haplotypy/sekwencje bez względu na częstość ich występowania. Podstawowym miernikiem rodowodowym jest liczba założycieli populacji, definiowanych jako osobniki o nieznanym pochodzeniu, które są spokrewnione w rodowodach jedynie ze swoimi potomkami. Liczba założycieli, ustalona na podstawie rodowodów koni arabskich hodowanych w Polsce w latach 90. XX wieku, wynosiła 203, przy czym większość to konie oznaczone w księgach stadnych jako oryginalne araby. Warto podkreślić, że genetyczne znaczenie poszczególnych założycieli mierzone udziałem ich genów w puli genowej populacji było bardzo różne, w granicach od <0,005% do niemal 7,96% [3]. Co więcej, udziały genów czterech najważniejszych założycieli populacji obejmowały łącznie prawie 25% puli, podczas gdy udziały 150 założycieli o najmniejszej reprezentacji nie przekraczały łącznie 18% puli genowej [3]. Przyczynami tak dużych dysproporcji były zarówno duże straty materiału hodowlanego w okresie obu wojen światowych, jak również duża dysproporcja w liczbie osobników zakwalifikowanych do hodowli w kolejnych pokoleniach potomnych. Dotyczyło to przede wszystkim najbardziej popularnych ogierów, z bardzo dużą liczbą kryć (tzw. efekt popularnego rozpłodnika). Intensywna eksploatacja hodowlana wybranych osobników skutkowała także wzrastającym poziomem spokrewnienia koni, jak również stałym wzrostem wartości współczynnika inbredu liczonego na podstawie pełnej informacji rodowodowej.

Polskie araby okazały się także dobrym obiektem do badań zróżnicowania mtDNA, z uwagi na dużą stabilność odnośnie do liczby linii żeńskich. W populacjach dzikich zwierząt liczba haplotypów mtDNA oraz ich frekwencja zależą od szeregu czynników związanych z historią gatunku oraz jego biologią (system rozrodu, migracje). Natomiast w przypadku populacji kształtowanych i zarządzanych przez człowieka, pierwszoplanową kwestią jest wola hodowcy i jego decyzje odnośnie do wyboru samic do stada hodowlanego, co skutkuje występowaniem zróżnicowania mtDNA pomiędzy lokalnymi populacjami tej samej rasy z różnych miejscowości, krajów czy kontynentów, całkowicie niezależnego od tzw. czynnika geograficznego. Występowanie różnic w liczbie oraz frekwencji alleli i haplotypów w takich populacjach nie jest więc niczym szczególnym. Taki stan ukazuje m.in. zróżnicowanie pomiędzy populacją w Polsce i w USA, zarówno co do liczby, jak i frekwencji poszczególnych haplotypów mtDNA koni czystej krwi arabskiej. W historycznie dużo starszej i stosunkowo bardzo małej populacji polskiej potwierdzono obecność 5 haplotypów mtDNA, niespotykanych u koni arabskich czystej krwi z USA. Z kolei w bardzo licznej populacji amerykańskiej, wśród zidentyfikowanych 27 haplotypów [1], występowania 17 haplotypów (ich łączna frekwencja jest blisko 55%) nie notuje się u koni z polskich stadnin. Znając historię rasy i dysponując danymi rodowodowymi koni z obu krajów można wytłumaczyć tę różnicę: wynika ona z pochodzenia współczesnych amerykańskich koni tej rasy importowanych z wielu krajów, w tym także z Polski. Podany przykład pokazuje, że duże zróżnicowanie haplotypowe mtDNA (tak jak w przypadku koni arabskich z USA) nie musi wynikać z wieku populacji, a wiarygodnych informacji z tego zakresu dostarcza wiedza na temat rodowodów.

Z uwagi na fakt, że konie arabskie są w Polsce populacją stosunkowo nieliczną oraz biorąc pod uwagę efektywność współczesnych procedur molekularnych, przebadanie całej populacji tej rasy nie byłoby poważniejszym wyzwaniem. Jednakże barierą są koszty analiz sekwencjonowania DNA, a także dostępność do całego materiału, rozproszonego obecnie w wielu hodowlach prywatnych. Przeszkody te łatwo zniwelować, badając linie żeńskie obecne w populacji w uproszczony sposób, tj. poprzez przeprowadzenie analiz na wybranych reprezentantach poszczególnych linii.

Wyniki analizy sekwencji mtDNA przeprowadzonej na 44 reprezentantach 15 linii żeńskich i ich najważniejszych gałęzi, do których należy w sumie ok. 98% polskiej populacji koni arabskich, pozwoliły na wyodrębnienie 14 różnych haplotypów [6]. Założycielki wspomnianych 15 linii żeńskich stanowiły 7,0% z ogólnej liczby wszystkich 213 założycieli populacji, a udział ich genów w puli genowej populacji wynosił około 8%. Ten niski, choć stabilny udział jest pochodną długości rodowodów oraz efektu szyjki butelki, związanego ze stratami materiału hodowlanego podczas obu wojen światowych.

Ogólnie biorąc, badania wykazały pełną zgodność wyników analizy mtDNA z zapisami rodowodowymi w Polskich Księgach Stadnych, obejmującymi okres po I wojnie światowej. Tym samym wyniki badań mtDNA potwierdziły dobrą opinię o rzetelności zapisów polskich ksiąg stadnych. Odnośnie do zapisów z okresu wcześniejszego, wykryto dwa błędy w dokumentacji, będące skutkiem wojennych zawirowań. Jeden z nich dotyczył nieprawidłowej atrybucji jednej z dwóch gałęzi linii Milordki urodzonej

ok. 1810 r., która to kwestia, znana na świecie jako *Milordka-Malikarda problem*, była dyskutowana od początku lat 90. XX wieku [8]. Drugi błąd wykryto w zapisach linii Gazella or.ar. i jej dwóch podlinii rozpoczętych przez klacze Fryga i Gazella II, urodzone w 1914 roku. Uzyskany wynik nie podważa arabskiego pochodzenia linii, a jedynie wskazuje na jej nieprecyzyjną atrybucję (haplotyp znaleziony w podlinii Frygi wskazuje na jej przynależność do linii Sahary or.ar., równie cennej klaczy arabskiej z Jarczowiec). Należy także wspomnieć, że wykazano wysoki stopień spokrewnienia założycielek linii sławuckich i białocerkiewskiej z założycielkami linii arabskich, które oficjalnie uznawane są za oryginalne araby. Można oczekiwać, że wyniki te położą ostatecznie kres pojawiającym się spekulacjom o odrębnym, „niearabskim" pochodzeniu tych starych linii.

Monitorowanie puli genowej odtwarzanych ras psów poprzez badania polimorfizmu sekwencji mtDNA

Przykładem rasy psów, w hodowli której ogniskuje się wiele współczesnych problemów genetyki populacyjnej są ogary polskie – rasa psów gończych o historii sięgającej przełomu XVIII i XIX wieku [12]. Hodowla psów tej rasy była zlokalizowana głównie na wschodnich kresach Polski, tj. terenach należących do II Rzeczypospolitej, a obecnie do Litwy, Białorusi i Ukrainy. Działania wojenne oraz późniejsze zmiany terytorialne spowodowały zanik krajowej populacji ogarów polskich. Restytucję rozpoczęto w 1959 roku od dwóch suk i psa, sprowadzonych z terenów dzisiejszej Białorusi oraz jednego psa o nieznanym pochodzeniu [2]. Osobniki te stały się założycielami odtwarzanej rasy, zatwierdzonej w 1966 roku przez FCI. W następnych latach hodowlę prowadzono opierając się na psach zapisanych w Polskiej Księdze Rodowodowej, jak również psach o nieznanym pochodzeniu, wpisywanych do Księgi Wstępnej na podstawie decyzji uprawnionego kynologa (na podstawie wyglądu zewnętrznego). Jest oczywiste, że pochodzenie psów określane według wspomnianych subiektywnych kryteriów może budzić wątpliwości, gdyż mogą to być zarówno psy rasowe hodowane bez dokumentacji związku kynologicznego, jak i osobniki mające reprezentantów innych ras wśród swych przodków. Ogary polskie są populacją bardzo małą. Wyniki badań dowodzą, że liczba założycieli rasy jest ograniczona i w latach 1960-2008 wynosiła zaledwie 21 osobników [2]. Konsekwencją ograniczonej liczby założycieli jest wysokie spokrewnienie i zinbredowanie populacji (F=37%), znacznie przewyższające wartości notowane w populacjach innych ras psów (od 2,4% do 32%). Duży stopień spokrewnienia wśród ogarów polskich powoduje negatywne konsekwencje, ujawniające się m.in. w częstych problemach zdrowotnych. Konieczna jest więc analiza genetyczna przeprowadzana według zobiektywizowanych kryteriów (badania DNA) dla ustalenia rzeczywistego poziomu zróżnicowania populacji, w celu uzyskania danych umożliwiających skuteczne przeciwdziałanie zagrożeniom.

Przy pomocy analizy mtDNA oceniono poziom zróżnicowania genetycznego pomiędzy poszczególnymi liniami żeńskimi oraz określono stopień spokrewnienia ich założycielek [7]. Ponadto, w drodze analizy pośredniej z wykorzystaniem danych rodowodowych, prześledzono dynamikę zmian frekwencji poszczególnych haplotypów na przestrzeni lat 1960-2008. Ustalono także, jakie są relacje pomiędzy ogarami i innymi rasami psów, wynikające z posiadania wspólnych przodków w przeszłości, tj. w okresie nie objętym zapisami rodowodowymi. Sekwencje mtDNA znalezione u ogarów porównano z sekwencją referencyjną oraz z 67 sekwencjami innych 55 ras psów, reprezentującymi różne typy użytkowe i przypisanych do różnych grup FCI (sekwencje te zaczerpnięto ze światowej bazy GenBank). Wykazano, że spośród 15 linii żeńskich, w hodowli są aktywne obecnie tylko 4 linie. Historycznie najliczniej reprezentowana jest linia pierwszej założycielki rasy (suka Czita), z liczbą miotów równą 260. Liczba miotów urodzonych w pozostałych liniach była znacząco niższa i wahała się od 1 do 17. Długość funkcjonowania poszczególnych linii była różna i wynosiła od jednego do 12 pokoleń suk hodowlanych. Charakterystyczne jest nie tylko wygasanie całych linii, ale i ich odgałęzień. We współczesnej populacji ogarów polskich występują jedynie trzy haplotypy mitochondrialnego DNA odnalezione u przedstawicieli sześciu linii żeńskich. Niestety, nie jest możliwe odtworzenie, jakie sekwencje występowały w wygasłych liniach żeńskich i jaki był stopień ich spokrewnienia ze sobą, z uwagi na brak materiału biologicznego do badań.

Wyniki badań wskazują, że ogary charakteryzują się bardzo małym stopniem zróżnicowania genetycznego [7]. Zasadne wydaje się pytanie: jak przeciwdziałać niekorzystnym tendencjom ograniczania puli genowej populacji i problemom zdrowotnym obserwowanym u ogarów polskich. Jak wynika z wcześniej opublikowanych wyników analizy rodowodowej, bardzo małe zróżnicowanie genetyczne ogarów polskich jest wynikiem zbyt małej liczby założycieli rasy i dużej dysproporcji w udziałach ich genów w puli genowej populacji [2]. Dodatkowo, obecność tych samych haplotypów mtDNA u różnych założycielek, czyli osobników, które z definicji jako założyciele rasy powinny być niespokrewnione ze sobą, może wskazywać, że poziom spokrewnienia rasy jest jeszcze wyższy niż wynikałoby to z analizy rodowodowej. Z drugiej jednak strony, stwierdzono obecność odrębnych haplotypów u trzech założycielek rasy, w tym jednego haplotypu znacząco różniącego się od haplotypu typowego dla rasy, co może dowodzić, że pula genowa populacji wzbogaciła się o nowe, całkiem odmienne geny. W sytuacji wspomnianych problemów zdrowotnych w populacji ogarów polskich, wykorzystanie w hodowli psów o odrębnym pochodzeniu, zapisanych w KW, należałoby więc uznać za działanie pozytywne.

Niestety, wprowadzenie do hodowli takich psów doprowadziło nie tylko do wzrostu poziomu zróżnicowania genetycznego, ale także i do wzrostu zróżnicowania fenotypowego, co nie zostało zaakceptowane przez środowisko hodowców i sędziów kynologicznych, którzy kierując się wynikami subiektywnej oceny wyglądu zewnętrznego krytycznie oceniali jakość psów o takim pochodzeniu. Sprawa ta ukazuje istnienie wewnętrznej sprzeczności. Rasa ogarów polskich ma bardzo ograniczoną pulę genową, co ujawnia się w wysokim stopniu inbredu zagrażającego populacji, a jednocześnie wzbogacenie jej puli genowej poprzez hodowlane użytkowanie obcych genetycznie osobników zapisanych do KW napotyka przeszkody [4]. Ostatecznie, w listopadzie 2010 roku Księga Wstępna została zamknięta decyzją Związku Kynologicznego w Polsce.

Podsumowanie

Stan współczesnej wiedzy genetycznej nie daje odpowiedzi na kluczowe pytania dotyczące istoty zasobów genetycznych, gdyż nie tylko liczba zaangażowanych genów, lecz skomplikowana sieć ich aktywacji oraz zachodzące interakcje decydują o wszystkich właściwościach biologicznych organizmu. Potrzeby właściwego ukierunkowania takich działań sprawiają, że oprócz metodologii badań służącej rozpoznaniu i opisaniu stanu faktycznego w zakresie puli genowej, konieczna jest retrospekcja w procesy kształtowania poszczególnych populacji.

Populacje wielu ras, stanowiących obecnie obiekt zainteresowania hodowców, poddawano w przeszłości rozmaitym oddziaływaniom. Ich filogenetyczna historia, a przede wszystkim aktualny status puli genowej oraz bieżące cele hodowlane są zatem inne. Do puli genowej niektórych populacji celowo wprowadzano obce komponenty, co miało na celu poprawę niektórych cech (np. poprawienie mleczności bydła rasy polskiej czerwonej). Inne populacje niemal całkowicie zanikły i są obecnie odtwarzane. Przykładem jest błędna polityka hodowlana w stosunku do bydła białogrzbietego, cieszącego się niegdyś w Polsce dużą renomą. Zdecydowano nie popierać i nie obejmować rejonizacją bydła tej rasy, co spowodowało, że w latach 70. XX w. uznano ją za niemal wymarłą, a w pierwszych pracach podjętych w połowie lat 90. przez Katedrę Hodowli Bydła ówczesnej AR w Lublinie, zinwentaryzowano zaledwie około 50 osobników odpowiadających opisom tej rasy. Inne populacje zanikły na skutek zmian terytorialno-politycznych po II wojnie światowej, np. populacja psów gończych – ogar polski, których hodowla koncentrowała się głównie na Kresach Wschodnich II RP. Inne rasy doznały ubytków (np. straty w hodowli koni arabskich czystej krwi w okresie rewolucji październikowej w Rosji), a niektóre cenne osobniki tej rasy wywieziono i rewindykowano do Polski z Niemiec w 1945 roku.

Tradycyjne narzędzia analizy genetycznej są niewystarczające w wielu kwestiach związanych z rozpoznawaniem historii populacji pradziejowych i ich wzajemnych relacji, analizą tzw. efektu założyciela w restytuowanych populacjach, retrospekcją w rodo-

wody i weryfikowaniem atrybucji starych linii, itd. Nowe możliwości w zakresie odtwarzania matczynej i ojcowskiej genealogii linii wynikają z badań polimorfizmu markerów nie rekombinujących oraz z zastosowania modeli i procedur bioinformatycznych, właściwych filogenetyce molekularnej i archeogenetyce.

Literatura: 1. Bowling A.T., Del Valle A., Bowling M., 2000 – Anim. Genet. 31, 1-7. **2. Głażewska I.,** 2008 – Livest. Sci. 2-3, 296-301. **3. Głażewska I., Jezierski T.,** 2004 – Livest. Prod. Sci. 90, 293-298. **4. Głażewska I., Prusak B.,** 2012 – Czech J. Animal Sci. 57, 248-254. **5. Głażewska I., Prusak B., Gralak B.,** 2012 – Anim. Genet. 44, 2, 227-230. **6. Głażewska I., Wysocka A., Gralak B., Prus R., Sell J.,** 2007 – Genet. Sel. Evol. 39, 609-619. **7. Głażewska I., Zielińska S., Prusak B.,** 2012 – Archiv Tierzucht 55, 4, 391-401. **8. Kwiatkowski W.,** 1993 – A guide to the complete pedigrees of Arabian horses from Poland. Kawalkada, Brwinów. **9. Maruyama T., Fuerst P.A.,** 1985 – Genetics 111, 675-689. **10.** Polska Księga Koni Arabskich, Tom I. Warszawa 1926. **11. Pruski W.,** 1983 – Dwa wieki polskiej hodowli koni arabskich (1778-1978) i jej sukcesy na świecie. PWRiL, Warszawa 1983. **12. Ściesiński K.** (ed.) 2009 – Polskie rasy psów. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.

Wpływ zróżnicowanych dawek TMR na jakość mleka krów rasy phf i wytwarzanych z niego produktów

Krzysztof Bilik

Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy w Krakowie

W ostatnich latach podejmuje się coraz więcej kompleksowych badań nad aspektami zdrowotnymi różnego rodzaju tłuszczów, białek i składników biologicznie aktywnych zawartych w mleku i jego przetworach oraz możliwościami modyfikowania ich składu różnymi metodami [4, 12]. Wykazano, że spośród czynników żywieniowych istotny wpływ na zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych i innych składników funkcjonalnych w mleku wywiera skład dziennej dawki pokarmowej [7]. Jednym z naturalnych sposobów podniesienia zawartości NNKT i CLA w mleku jest zwiększenie w dawce pokarmowej udziału pasz objętościowych bogatych w prekursory wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny *n-3*, zwłaszcza traw i roślin motylkowatych występujących w runi pastwiskowej [6]. Wprowadzane obecnie w fermach bydła mlecznego systemy żywienia krów dawkami kompletnymi – pełnoskładnikowymi (TMR) lub częściowo kompletnymi (PMR), w których podstawową paszę objętościową stanowi kiszonka z całych roślin kukurydzy, wyeliminowały niemal całkowicie pastwiskowe żywienie krów mlecznych. Kiszonka z kukurydzy, ze względu na stosowane obecnie technologie zbioru, zaliczana jest do pasz niestrukturalnych, co przy dużym udziale pasz treściwych stosowanych w żywieniu wysokowydajnych krów prowadzi do pogorszenia struktury fizycznej dawki [1] i zwiększenia ryzyka wystąpienia kwasicy żwacza. Zapewnienie wymaganego udziału fizycznie efektywnego włókna (feNDF) w dawce TMR, sprzyja bowiem nie tylko utrzymaniu fizjologicznego pH treści żwacza i jego aktywności trawiennej, ale może mieć także wpływ na profil kwasów tłuszczowych w mleku [1]. W tym kontekście kiszonki z przewiędniętych traw lub roślin motylkowatych stanowią nie tylko źródło białka, ale mają także wpływ na utrzymanie wymaganej struktury fizycznej dawki [14]. Nasilające się w ostatnich latach choroby grzybowe i szkodniki kukurydzy oraz rozwijający się sektor naturalnych źródeł energii powodują, że uprawa kukurydzy na cele paszowe może ulec ograniczeniu. W tych przypadkach paszą uzupełniającą dla krów wysokomlecznych lub alternatywną dla krów w pełnym okresie laktacji, w stosunku do kiszonki z kukurydzy, mogą być w wielu rejonach kraju kiszonki z całych roślin zbożowych (GPS) lub mieszanek zbożowo-strączkowych.

Celem niniejszego artykułu jest przedstawienie wyników badań własnych, dotyczących wpływu żywienia krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej dawkami TMR, zróżnicowanymi pod względem rodzaju paszy objętościowej „energetycznej" (kiszonka z całych roślin kukurydzy lub kiszonka z jęczmienia ozimego) i jej stosunku do paszy objętościowej „białkowej" (kiszonka z traw przewiędniętych), na wydajność, wartość odżywczą i technologiczną mleka oraz wytwarzanych z niego produktów (twaróg, serek podpuszczkowy, masło).

Badania przeprowadzono w latach 2009-2011 w Zakładzie Doświadczalnym IZ PIB Chorzelów Sp. z o.o. na 36 krowach rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (phf-cb) w środkowym (od 4. do 6. miesiąca) okresie laktacji. Wyodrębniono dwa etapy badawcze różniące się rodzajem skarmianej kiszonki energetycznej: z kukurydzy – w 1. etapie lub z całych roślin zbożowych – w 2. etapie oraz ich stosunkiem (70:30% lub 50:50% w suchej masie) do kiszonki z przewiędniętych traw łąkowych. W każdym etapie utworzono dwie analogiczne, pod względem wydajności, genotypu i kolejnej laktacji, grupy krów (po 9 szt.). Do poszczególnych grup żywieniowych krowy dobierano równolegle, w tej samej (od 2. do 4.) laktacji i okresie laktacji (od 91. do 180. dnia). Zwierzęta doświadczalne wybrano ze stada 300 krów dojnych o wydajności w granicach 7800 kg mleka za 305 dni laktacji, o zawartości 3,86% tłuszczu i 3,44% białka. Wartość energetyczną i białkową pasz w jednostkach systemu INRA oraz skład dawek pokarmowych i mieszanek treściwych ustalano według norm żywienia IZ PIB-INRA, przy zastosowaniu programu komputerowego INRAtion (wersja 4.05. 2009). Przy ustalaniu składu dawek (TMR) w Zakładzie Doświadczalnym brano pod uwagę średnią masę ciała, wydajność mleczną oraz zawartość tłuszczu i białka w mleku w 7.-10. dniu przed rozpoczęciem doświadczenia. Procentowy udział pasz objętościowych (soczystych i suchych) w stosunku do pasz treściwych w TMR wynosił około 67:33% w s.m. Krowy utrzymywano w oborze wolnostanowiskowej i żywiono grupowo dwa razy dziennie. W czasie doświadczenia określano skład chemiczny i pobranie paszy, strukturę fizyczną TMR, wydajność i skład chemiczny mleka oraz profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka. W pobranych w ostatnim tygodniu analizowanej laktacji próbkach mleka określano wskaźniki przydatności technologicznej, a w produktach mlecznych (twaróg, serek podpuszczkowy miękki, masło śmietankowe) cechy jakościowe i organoleptyczne oraz profil kwasów tłuszczowych w tłuszczu masła. Zawartość podstawowych składników i mocznika w mleku oznaczano przy użyciu Milkoscanu FT 120 Foss Elekric, profil kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i masła – metodą chromatograficzną, główne frakcje białek i substancji białkowych – metodą Kjeldahla, wartość pH – pehametrem cyfrowym, kwasowość miareczkową (°SH) zgodnie z PN-68/a-86122, próbę fermentacyjną i fermentacyjno-podpuszczkową wykonano według Budsławskiego [3], zdolność krzepnięcia pod wpływem podpuszczki metodą Scherna [3]. Ocenę jakości produktów mlecznych (wyprodukowanych sposobem laboratoryjnym) przeprowadzono metodą AOAC [2]. Ocenę organoleptyczną według 5-punktowej skali hedonicznej [10], z uwzględnieniem wyróżnika jakościowego i współczynnika ważkości, przeprowadzono metodą standardową (PN-65-86155) w konsumenckich panelach złożonych z 4 osób oceniających.

Średnie dzienne pobranie TMR w poszczególnych grupach żywieniowych wynosiło od 51 do 57 kg (21,0-22,6 kg s.m.) i było o 2,6-6,8% niższe od wartości ustalonych w dawkach pokarmowych. Pomiędzy grupami nie stwierdzono istotnego zróżnicowania w masie ciała krów, wydajności mlecznej oraz zawartości podstawowych składników i mocznika w mleku (tab. 1). Jednak u krów żywionych dawkami z udziałem kiszonki z kukurydzy, jako podstawowej paszy objętościowej energetycznej, wykazano tendencję do uzyskiwania wyższej (o ok. 6,2%) wydajności niż w gru-