

Genomowa ocena wartości hodowlanej zwierząt

Stanisław Kamiński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wzrastająca rola markerów genetycznych

Selekcja genomowa, podobnie jak poprzedzająca ją koncepcja selekcji wspomagananej markerami (MAS – *Marker Assisted Selection*), zasadza się na wykorzystaniu markerów DNA [1]. Markery SNP służą do oznakowania fragmentu genomu, w celu śledzenia jego dziedziczenia w kolejnych generacjach. Jeśli w pobliżu markera leży gen wpływający na poziom cechy użytkowej, to i marker, i ów nieznan gen powinny się razem dziedziczyć. Prawdopodobieństwo wspólnego dziedziczenia zależy od stopnia sprzężenia zależnego od dystansu między markerem a genem. Im odległość mniejsza, tym sprzężenie większe i tym samym większa informatywność markera.

Początkowo, w latach 1995-2007, markerami były sekwencje mikrosatelitarne, głównie STRs (*Short Tandem Repeats* – krótkie tandemowe powtórzenia), których baza liczy obecnie ponad 5000 STRs dla genomu bydła. Kilkanaście z nich zostało uznanych przez ISAG (*International Society for Animal Genetics*) jako standardy w kontroli pochodzenia bydła, stosowane obecnie na całym świecie. Pozostałe odegrały kluczową rolę w stworzeniu map markerowych, wykryciu kilku genów głównych, np. DGAT1 [4] czy ABCG2 [2], badaniach filogenetycznych, czy też analizach oceniających bioróżnorodność.

Ze względów technicznych zostały one wyparte przez nowy typ markerów – jednonukleotydowe polimorfizmy, tzw. SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), których genotypowanie okazało się dużo łatwiejsze do automatyzacji przy użyciu wysokowydajnych technologii zwanych mikromacierzami DNA [7, 11]. Tę zaletę szybko dostrzeżono jako szansę do bardziej wydajnej i skutecznej MAS.

Rozwój genomiki i technologii mikromacierzy podstawą selekcji genomowej

Praktyczne wykorzystanie markerów w postaci tzw. selekcji genomowej stało się faktem w hodowli bydła mlecznego dzięki poznaniu kompletnej sekwencji jego genomu. Na tej podstawie wykryto tysiące SNPs, a następnie opracowano i komercyjnie udostępniono zestaw 54 000 markerów w postaci mikromacierzy Bovine 50K SNP firmy Illumina (USA), która jest standardowo używana w programach selekcji genomowej w wielu krajach [5]. Mikromacierz, tzw. chip, zawiera markery informatywne dla wielu ras bydła, gdyż została skonstruowana na bazie genomów przedstawicieli 10 ras mięsnych (w tym angus), 5 ras mlecznych (w tym holsztyńskiej i jersey), 4 ras mięsno-mlecznych i bizona amerykańskiego. Chip został tak zaprojektowany, że markery SNP są równomiernie rozmieszczone na wszystkich chromosomach, średnio co 57 000 pz.

Innowacyjność selekcji genomowej

Innowacyjność selekcji genomowej wpisuje się w cykl osiągnięć genetyki i biotechniki rozrodu, które dążą do znacznego skrócenia odstępu międzypokoleniowego. W klasycznym wzorze na szacowanie postępu hodowlanego jest on wprost proporcjonalny do dokładności oceny, ostrości selekcji i odziedziczalności cechy, natomiast odwrotnie proporcjonalny do odstępu międzypokoleniowego. Użycie markerów do oceny wartości buhaja już w wieku 18-24 miesięcy redukuje odstęp do skali nieporównywalnej dotąd w hodowli buhajów.

Schaeffer [13] dokonał systemowej i ekonomicznej analizy wdrożenia oceny genomowej do hodowli, i stwierdził, na podstawie ba-

dań symulacyjnych, że może ona doprowadzić do podwojenia postępu hodowlanego i obniżenia kosztów oceny buhajów o 92%. Choć po kilku latach szacunki te należy uznać za zbyt optymistyczne, nikt dzisiaj nie wątpi w opłacalność transformacji oceny tradycyjnej w ocenę genomową.

Powszechnie uznaje się, że kluczowe znaczenie dla postępów selekcji genomowej miała praca Meuwissena [12], w której opisano model szacowania efektów (haplotypów) SNPs i na tej bazie GBV (*Genomic Breeding Value*). Zaproponowany model stał się matrycą wielu nowych równań predykcji GBV, nieustannie doskonalonych w zespołach statystyków genetycznych zaangażowanych w projekty realizowane w USA, Kanadzie, Holandii, Francji czy w Niemczech [5]. Korzyści, jakie mogą być osiągnięte z tytułu GBV stały się zachętą do jej wdrożenia i oficjalnej publikacji [18]. Związek hodowców bydła holsztyńskiego w USA opublikował pierwszą wycenę genomową w styczniu 2009 r.

Polski Bank DNA Buhajów

Przewidując wzrastające znaczenie badań genetycznych w praktycznej hodowli bydła, w 2004 roku na mocy umowy między UWM w Olsztynie (Katedra Genetyki Zwierząt) a SHiUZ w Bydgoszczy założono pierwszy w Polsce bank DNA buhajów, w którym nieprzerwanie gromadzone są próbki DNA pozyskane od buhajów ze wszystkich krajowych spółek inseminacyjnych. Główną grupę stanowią buhaje testowe z 4 krajowych spółek inseminacyjnych, urodzone w latach 1997-2003. Na dzień 1 lipca 2012 r. w banku zdeponowano preparaty DNA od 3260 buhajów (w tym także buhajów urodzonych na początku lat 90. XX wieku, zachowane w Katedrze Genetyki Zwierząt UWM z okazji badań na nosicielstwo defektów genetycznych DUMPS i BLAD oraz badań genotypu kappa kazeiny). Izolaty DNA są systematycznie kontrolowane pod kątem jakości.

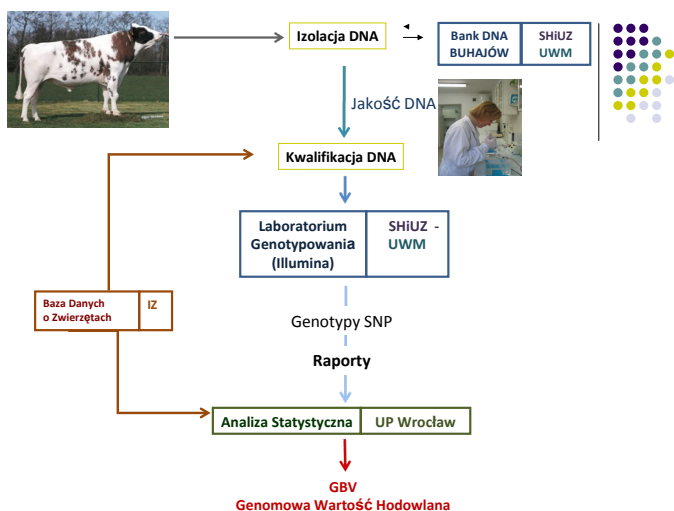
Inicjacja projektu selekcji genomowej w Polsce

Utworzenie banku DNA buhajów stało się czynnikiem znacznie przyspieszającym inicjację w Polsce badań nad selekcją genomową. Bazując na dotychczasowych zainteresowaniach naukowych [8, 9, 10, 14], prof. dr hab. Stanisław Kamiński (autor tego artykułu) oraz dr hab. Joanna Szyda skonstruowali obecnie funkcjonujący projekt pod tytułem „System szacowania genomowej wartości hodowlanej oparty na Polskim Banku DNA Buhajów i mikromacierzach jednonukleotydowych polimorfizmów”, który stał się podstawą do powołania konsorcjum MASinBULL (6 czerwca 2009 r.). Początkowo projekt był realizowany przez trzy zespoły badawcze: Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie (koordynacja), Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu (dr hab. Joanna Szyda) i Instytut Zootechniki w Balicach (prof. dr hab. Andrzej Żarnecki i przez pewien okres zespół prof. dr hab. Ewy Słoty), finansowany w całości przez Stację Hodowli i Unasienniania Zwierząt Sp. z o.o. w Bydgoszczy. W kwietniu 2011 roku nastąpiło rozszerzenie składu konsorcjum MASinBULL o Małopolskie Centrum Biotechniki w Krasnem, które przejęło na siebie część kosztów finansowania badań, a w styczniu 2012 roku członkiem konsorcjum stała się także Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka.

Głównym celem konsorcjum MASinBULL było, i nadal pozostaje, stworzenie solidnych i trwałych podwalin pod wdrożenie GBV w Polsce. Praktycznie główny wysiłek sprowadza się obecnie do stworzenia możliwie licznej populacji referencyjnej buhajów, która służy do określenia wpływu poszczególnych markerów na oceniane w Polsce cechy bydła, aby mogły one być użyte do estymacji genomowej wartości hodowlanej osobników młodych (nie posiadających oceny tradycyjnej na bazie potomstwa).

Postępy w pracy nad selekcją genomową

Stan prac konsorcjum MASinBULL był przedstawiony przez dr hab. Joannę Szydę początkowo na warsztatach INTERBULL w Uppsali [15] i Barcelonie [16], a następnie na warsztatach QTL/MAS w Poznaniu [17]. Wykorzystując zasoby Polskiego Banku DNA Buhajów



Rys. Przepływ zasobów i informacji w obrębie konsorcjum MASinBULL

utworzono początkową populację referencyjną składającą się z 1227 buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej, oznaczono ich genotypy dla 54 000 markerów, używając komercyjnej mikromacierzy Illumina BovineSNP50. Po odrzuceniu markerów, w których frekwencja allelu rzadszego była niższa niż 0,01 oraz wskaźnik efektywności genotypowania (*total call rate*) był niższy niż 90%, efekty oszacowano dla 46 267 SNP. Estymatory efektów SNP wykorzystano następnie do obliczenia DGV (*Direct Genomic Value*) buhajów. Otrzymano DGV dla 305-dniowych wydajności mleka, białka i tłuszczu, liczby komórek somatycznych, trzech cech płodności oraz 21 cech liniowych i opisowych pokroju. Dodatkowo oznaczono także genotypy oraz obliczono DGV dla młodych buhajów, nie posiadających córek z ukończonymi laktacjami. Korelacje między rutynowymi wartościami hodowlanymi a DGV buhajów należących do populacji referencyjnej były wysokie i wahały się od 0,98 dla wydajności mleka do 0,83 dla postawy tylnych nóg (widok z tyłu) – cechy o najniższej odziedziczalności (0,04). Średnia dokładność DGV wahała się od 0,573 dla ustawienia racic do 0,940 dla wydajności mlecznej.

W sierpniu 2011 roku przeprowadzono podobne obliczenia na znacznie powiększonej populacji referencyjnej, liczącej 2531 buhajów. Tak znaczące powiększenie populacji referencyjnej wyraźnie powiększyło dokładność szacowania DGV dla młodych buhajów – dla cech produkcyjnych, liczby komórek somatycznych raz niektórych cech pokrojowych przekroczyło ono wartość 0,55. W ten oto sposób wygenerowano po raz pierwszy w historii polskiego programu hodowlanego nowe narzędzie zapewniające stosunkowo wysoką precyzję szacowania wartości hodowlanej młodych zwierząt, bez wyceny własnej lub na podstawie potomstwa (i krewnych). Do tej pory jedynym sposobem uzyskania podobnej informacji był tzw. indeks rodowodowy, w Polsce mało popularny.

Od 2009 roku oznaczanie genotypów buhajów odbywa się w Laboratorium Genomiki Zwierząt SHIUZ w Bydgoszczy, umiejscowionym w budynku Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWMM w Olsztynie, które jest połączone z Pracownią Analizy Mikromacierzy DNA Katedry Genetyki Zwierząt. W obu pracowniach uzyskano i analizowano genotypy od ponad 1700 buhajów, otrzymując zadowalający poziom wskaźnika genotypowości – średnio 98%.

W 2011 roku zakończono także prace nad opracowaniem modelu do szacowania GEBV buhajów w oparciu o międzynarodowe wartości hodowlane buhajów publikowane przez INTERBULL. Prace wykonane w zespole prof. Joanny Szydy, przeprowadzone na grupie 4005 buhajów (buhaje krajowe i buhaje pochodzące z wy-

miany międzynarodowej) pozwoliły podnieść dokładność szacowania wartości hodowlanej dla większości cech, a dla cech produkcyjnych przekroczyć próg 0,6.

Jednocześnie zakończono prace przygotowujące ofertę szacowania genomowej wartości hodowlanej skierowaną do hodowców materiału żeńskiego. Obecnie jest możliwe zamówienie oceny genomowej dla jałówek i krów, na bazie chipu 54K. Kilka znanych gospodarstw hodowli zarodkowych zamawia już ocenę genomową swoich jałówek.

Potencjalne korzyści z selekcji genomowej

Korzyści płynące z realizacji projektu MASinBULL są co najmniej dwojakie. Po pierwsze, dzięki możliwości bardzo wczesnej wyceny wartości hodowlanej na podstawie markerów genomowych będzie można poznać przybliżoną wartość hodowlaną młodych buhajów w sposób bardziej dokładny niż na podstawie samych rodowodów rodziców. Wycena genomowa młodych buhajów (np. 2-letnich) otwóży możliwość sprzedaży ich nasienia. W kilku krajach ma to już miejsce na coraz szerszą skalę. Fakt ten rodzi poważne konsekwencje na rynku inseminacji, gdyż wprowadza dużą pulę nasienia nowych buhajów w atrakcyjnej cenie, konkurencyjnej do ceny nasienia polskich buhajów wycenionych tradycyjnie. Może to mieć poważny wpływ na przyszłość krajowych firm inseminacyjnych, a w konsekwencji na hodowców produkujących krajowy materiał hodowlany (matki buhajów i młode buhaje). Drugą możliwością wdrożenia nowego systemu jest wybór matek buhajów (oraz dawczyń zarodków), który według nowej metody może być dokonywany na podstawie połączonej oceny rodowodowo-genomowej, osiągając znacząco wyższą dokładność. Może to także spowodować wzrost liczby żeńskich linii hodowlanych oraz zmniejszenie ogólnego spokrewnienia, co ma bardzo pozytywne konsekwencje dla całej hodowli.

Przyszłość selekcji genomowej zależy w dużym stopniu od tego, czy genotypowaniem objęte zostaną krowy. Koszt chipu 50K jest jednak zbyt wysoki, aby hodowca był w stanie go swobodnie finansować. Stąd pojawiły się propozycje zaprojektowania małego chipu, zapewniającego stosunkowo dużą dokładność szacowania GEBV. Prace takie toczą się w wielu krajach, w tym także w Polsce na bazie danych uzyskanych w ramach konsorcjum MASinBULL [19]. Na świecie używany jest obecnie tzw. mały chip, zawierający ok. 7000 markerów, który jest dużo tańszy, a jednocześnie umożliwia tzw. imputację (czyli przewidywanie) pozostałych genotypów sprzężonych markerów z wysoką dokładnością.

Selekcja genomowa musi zostać zintegrowana z biotechnikami rozrodu, przede wszystkim z transferem zarodków, a także seksoowaniem plemników [6]. Ważne jest, aby ocenę wartości hodowlanej znać już na etapie selekcji zarodków, przed ich transferem. Podejmowanie takich wyzwań wymaga jednak wielkiej mobilizacji licznych ośrodków i specjalistów zajmujących się tym zagadnieniem na potrzeby praktyki hodowlanej w Polsce. Zaniechania na tym polu mogą spowodować, że sukces selekcji genomowej będzie tylko częściowy.

Programy selekcji genomowej dostarczają także unikalnych danych ułatwiających zmapowanie genów odpowiedzialnych za kształtowanie cech ilościowych [3] i mogą w ten sposób przyczynić się do rozwoju badań podstawowych.

Międzynarodowy aspekt selekcji genomowej

Ogromne znaczenie dla przyszłości hodowli, jakie przypisuje się selekcji genomowej, spowodowało swoisty wyścig krajów w uzyskaniu jak największej dokładności GEBV. Ponosząc duże inwestycje, początkowo każdy kraj z osobna tworzył własne populacje referencyjne. Wkrótce jednak zaczęto tworzyć konsorcja międzynarodowe. Pierwsze jakie powstało to EuroGenomics (dla bydła holsztyńsko-fryzyskiego), w skład którego weszły UNCEIA (Francja), CRV (Holandia), DHV/VIT (Niemcy) i VikingGenetics (Dania

i Szwecja). Drugie konsorcjum (dla bydła brown swiss) – zwane Intergenomics, objęło kilka państw, w których rasa ta stanowi ważny segment produkcji. Zaistniała sytuacja, w której kilka krajów o mniej zaawansowanych programach selekcji genomowej, w tym Polska, Irlandia, Wielka Brytania, Włochy czy Szwajcaria, zostało pozbawionych możliwości kooperacji i uzyskania korzyści płynących z dostępu do wspólnej populacji referencyjnej, która w konsorcjum EuroGenomics w maju 2012 r. liczyła 22 000 buhajów (w 2011 do EuroGenomics dołączyła także Hiszpania). Dzięki intensywnym działaniom podjętym przez konsorcjum MASinBULL, w tym przede wszystkim Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka, Polska jest o krok od przystąpienia do tej organizacji.

Aktualnie najważniejszym forum wymiany informacji oraz obserwacji postępu i trendów w selekcji genomowej są konferencje INTERBULL. Ta ceniona powszechnie organizacja uznała, że selekcja genomowa jest nieodwracalnym faktem i musi być włączona także do wyceny międzynarodowej buhajów, w postaci nowej odmiany oceny międzynarodowej buhajów, nazwanej GMACE. Obecnie kluczowym zagadnieniem w tym zadaniu jest walidacja krajowych wycen genomowych, prowadząca do powstania wiarygodnej i akceptowanej metody GMACE. Dzięki pracom zespołu dr hab. Joanny Szydy, konsorcjum MASinBULL, poprzez Instytut Zootechniki w Balicach, trzykrotnie przesłało wyniki tego typu walidacji do INTERBULL.

Uznanie oceny genomowej ma poważne konsekwencje w międzynarodowym handlu nasieniem, zwłaszcza w Unii Europejskiej, na terenie której nasienie buhajów młodych, bez wyceny wartości hodowlanej na podstawie cówek, nie powinno być rozpowszechniane. W roku 2011 Komisja Europejska dopuściła takie buhaje do inseminacji, po uzyskaniu stosowanej rekomendacji INTERBULL. Oznacza to pojawienie się na rynku inseminacji dużej puli tańszego nasienia buhajów młodych, o dość dokładnej wycenie wartości hodowlanej (genomowej). W krajach importujących nasienie, takich jak Polska, gdzie funkcjonują państwowe firmy inseminacyjne oraz działają przedstawicielstwa firm inseminacyjnych z USA, Kanady, Holandii, Francji czy Niemiec, może to doprowadzić do nierównej konkurencji, wynikającej z jakościowej nierównorzędności metod służących ocenie buhajów. Prowadzić to będzie do pogłębienia się dystansu w jakości materiału genetycznego pochodzącego z Polski i z innych krajów. Obecnie niższa cena buhajów polskich z trudem, ale hamuje nadmierną ekspansję buhajów z tych krajów, ale sytuacja ta dotyczy buhajów ocenionych tradycyjnie. Młode buhaje z wyceną genomową mogą tę sytuację szybko zmienić.

Polscy hodowcy, którzy stali się współwłaścicielami sprywatyzowanych firm inseminacyjnych, powinni zadbać o wartość swoich udziałów, stymulując rozwój selekcji genomowej w kraju i tym samym sukces swoich firm.

Program selekcji genomowej u innych gatunków

Otwarcie podobnych programów oceny genomowej u innych gatunków zwierząt wymaga spełnienia podstawowego warunku, jakim jest posiadanie wiarygodnej bazy danych z kontroli użyteczności. W zasadzie żaden z gatunków, poza bydlęciem mlecznym, nie ma w Polsce takiego systemu, który pozwoliłby na szybkie wdrożenie.

Od strony laboratoryjnej firma Illumina oferuje mikromacierze dla koni, trzody chlewnej i owiec, a istnienie w Polsce dwóch laboratoriów dysponujących tą technologią (w Olsztynie i Balicach) nie stanowi bariery wykonawczej. Innym wyzwaniem jest także organizacja banku DNA i stworzenie populacji referencyjnej, co może potrwać 2-3 lata.

Związki hodowców, śladem innych krajów, powinny rozważyć, czy w Polsce istnieje determinacja pozwalająca na rozszerzenie

tradycyjnych metod hodowlanych na nowe, oparte na najnowszych osiągnięciach genomiki.

Podsumowanie

Polska ze względu na tradycję naszej hodowli, rozmiar populacji bydła rasy holsztyńsko-fryzyskiej, oryginalny i nadal funkcjonujący krajowy program hodowlany, rozbudowany system rejestracji, oceny i hodowli, a także potencjał naukowy powinna systematycznie modernizować metody oceny wartości hodowlanej bydła, zachowując taki stopień niezależności, który gwarantuje interesy producentów materiału hodowlanego i całego systemu hodowli bydła w Polsce. W świetle powyższych uwag rodzi się pytanie: czy selekcja genomowa bydła hf stanie się nową i cenną szansą dla polskich hodowców, czy też początkiem szybkiej marginalizacji prowadzącej do wchłonięcia przez przodujące firmy hodowlane na świecie?

Dotychczasowe badania prowadzone w ramach konsorcjum MASinBULL pozwoliły na stworzenie podwalin pod dalsze prace zmierzające do wdrożenia w Polsce selekcji genomowej. Konieczne jest stałe powiększanie populacji referencyjnej, pozwalające na podnoszenie dokładności oceny genomowej. Dzięki funkcjonowaniu programu oceny genomowej możliwa jest wczesna selekcja młodych buhajów i jałówek, dokonywana na podstawie GBV szacowanych z istotnie większą dokładnością, niż jedynie na podstawie indeksu rodowodowego, który w Polsce jest stosowany wyrywkowo i na niewielką skalę.

Wykorzystanie osiągnięć genomiki u innych gatunków zwierząt gospodarskich jest technicznie możliwe pod warunkiem stworzenia elektronicznych baz kontroli użyteczności i szacowania wartości hodowlanej oraz zainicjowania prac nad organizacją banku DNA i populacji referencyjnej.

Literatura: 1. Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M.Y., Levéziel H., 2003 – Genet. Sel. Evol. 35, 77-101. 2. Cohen-Zinder M., Serroussi E., Larkin D.M., Looor L.L., Evertsvan der Wind A., Lee J.-H., Drackley J.K., Band M.R., Hernandez A.G., Shani M., Lewin H.A., Weller J.I., Ron M., 2005 – Genome Res. 15, 936-944. 3. Cole J.B., Van Raden P.M., O'Connell J.R., Van Tassel C.P., Sonstegard T.S., Schnabel D., Taylor J.F., Wiggans G.R., 2010 – J. Dairy Sci. 92, 2931-2948 doi: 10.3166/jds.2008-1762. 4. Grisart B., Coppieters W., Farnir F., Karim L., Ford C., Berzi P., Cambisano N., Mni M., Reid S., Simon P., Spelman R., Georges M., Snell R., 2002 – Genome Res. 12, 222-231. 5. Hayes B.J., Browman P.J., Chamberlain A.J., Goddard M.E., 2009 – J. Dairy Sci. 92, 433-443. 6. Humblot P., Le Bourhis D., Amigues Y., Colleau J. J., Heyman Y., Fritz S., Gonzalez C., Guyader Joly C., Malafosse A., Tissier S., Ponsart C., 2010 – 20th European AI Vets Meeting. 7. Kamiński S., 2002 – J. Appl. Genet. 43, 123-130. 8. Kamiński S., Ahman A., Ruś A., Wójcik E., Malewski T., 2005 – J. Appl. Genet. 46, 45-58. 9. Kamiński S., Brym P., Ahman A., Ruś A., Wójcik E., 2006 – Ann. Anim. Sci. 6, 257-264. 10. Kamiński S., Brym P., Ruś A., Wójcik E., 2006 – Anim. Biotechnol. 17, 1-11. 11. Kamiński S., Brym P., Oleński P., 2009 – Wykorzystanie mikromacierzy SNP do genotypowania bydła i świń. W: Genomika bydła i świń (red. L. Zwierzchowski i M. Świtoński). Wyd. UP w Poznaniu. 12. Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E., 2001 – Genetics 157, 1819-1829. 13. Schaeffer L.R., 2006 – J. Anim. Breed. Genet. 123, 218-223. 14. Szyda J., Liu Z., Reinhardt F., Reents R., 2005 – J. Dairy Sci. 88, 356-367. 15. Szyda J., Żarnecki A., Kamiński S., 2009 – INTERBULL Bulletin No 39, 43-46. 16. Szyda J., Kamiński S., Żarnecki A., Żukowski K., 2009 – INTERBULL Bulletin No 40, 193-197. 17. Szyda J., Żarnecki A., Kamiński S., 2010 – 14th QTL-MAS workshop, Book of Abstracts, p. 42, Poznań University of Life Sciences. 18. Van Raden P.M., Van Tassel C.P., Wiggans G.R., Sonstegard T.S., Schnabel R.D., Taylor J.F., Schenkel F.S., 2009 – J. Dairy Sci. 92, 16-24. 19. Żukowski K., Kamiński S., Żarnecki A., Szyda J., 2010 – Porównanie metod wyboru SNP w ocenie genomowej wartości hodowlanej polskiej populacji bydła mlecznego. Szkoła Zimowa Hodowców Bydła, Zakopane 8-12 marca.