

ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET
TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE
WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII I HODOWLI ZWIERZĄT

Anna Stanisławczyk

**Asocjacje pomiędzy polimorficznymi wariantami
wybranych genów zaangażowanych w procesie autofagii
a odpornością na *mastitis* u krów rasy
polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej**

*Rozprawa doktorska wykonana
w Katedrze Genetyki
pod kierunkiem dr hab. inż.
Katarzyny Wojdak-Maksymiec, prof.
ZUT*

Szczecin 2023

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	5
2. CEL PRACY	7
3. PRZEGLĄD LITERATURY	9
3.1 Mastitis	9
3.1.1 Występowanie <i>mastitis</i>	9
3.1.2 Kliniczne <i>mastitis</i>	10
3.1.3 Subkliniczne <i>mastitis</i>	10
3.2 Diagnostyka <i>mastitis</i>	11
3.3 Przyczyny <i>mastitis</i>	16
3.3.1 Patogeneza i transmisja patogenu	17
3.4 Leczenie <i>mastitis</i>	18
3.4.1 Terapia klinicznej postaci <i>mastitis</i>	18
3.4.2 Terapia antybiotykowa	19
3.4.3 Terapia subklinicznej postaci <i>mastitis</i>	20
3.4.4 Szczepionki	20
3.5 Konsekwencje <i>mastitis</i>	21
3.5.1 Straty ekonomiczne z powodu <i>mastitis</i>	21
3.5.2 Straty związane z wydajnością mleczną	21
3.5.3 Straty związane ze zmianą kompozycji mleka	22
3.5.4 Wpływ <i>mastitis</i> na parametry rozrodu/płodność	25
3.6 Czynniki środowiskowe związane z występowaniem <i>mastitis</i>	26
3.6.1 Czynniki środowiskowe	26
3.6.1.1 Higiena doju	27
3.6.1.2 Typ i higiena obory	27
3.6.1.3 Żywienie zwierząt	28
3.6.1.4 Pora roku i temperatura	30
3.6.1.5 Stan fizjologiczny	30
3.6.1.6 Stres	31

3.7 Czynniki genetyczne związane z występowaniem mastitis.....	31
3.7.1 Rasa.....	32
3.7.2 Dziedziczenie cech ilościowych i genetyczne podłoże mastitis	32
3.7.3 Doskonalenie genetyczne odporności bydła mlecznego na mastitis	33
3.7.4 Markery genetyczne	34
3.7.4.1 Przykłady genów kandydujących.....	35
3.7.4.1.1 Elementy odporności działające jak antybiotyki (elementy ziarnistości neutrofilii)	35
3.7.4.1.2 Mediatory i cytokiny prozapalne	36
3.7.4.1.3 Elementy układu immunologicznego zaangażowane w rozpoznanie i prezentację antygeny.....	36
3.7.4.1.4 Elementy układu immunologicznego działające jako antyoksydanty	37
3.7.5 Zastosowanie markerów genetycznych w selekcji	37
3.7.5.1 Selekcja wspomagana markerami (MAS)	37
3.7.5.2 Selekcja genomowa	39
3.8. Autofagia	40
3.8.1 Mechanizm działania i rodzaje autofagii.....	40
3.8.2 Charakterystyka wybranych genów i ich produktów uczestniczących w procesie autofagii	41
3.8.2.1 Gen <i>SH3GLB1</i> kodujący endofilinę B1	41
3.8.2.1.1 Charakterystyka ogólna endofiliny B1	41
3.8.2.1.2 Rola endofiliny B1 w procesie autofagii i mechanizmach odporności.....	42
3.8.2.1.3 Położenie i budowa genu <i>SH3GLB1</i>	42
3.8.2.2 Gen <i>CTSD</i> kodujący katepsynę D.....	42
3.8.2.2.1 Charakterystyka ogólna katepsyny D.....	42
3.8.2.2.2 Rola katepsyny D w procesie autofagii i mechanizmach odporności.....	43
3.8.2.2.3 Położenie i budowa genu <i>CTSD</i>	43
3.8.2.3 Gen <i>PRKCQ</i> kodujący kinazę białkową C theta	44
3.8.2.3.1 Charakterystyka ogólna kinazy białkowej C theta	44
3.8.2.3.2 Rola kinazy białkowej C theta w procesie autofagii i mechanizmach odporności	44
3.8.2.3.3 Położenie i budowa genu <i>PRKCQ</i>	44
3.8.2.4 Gen <i>BCL2</i> kodujący białko BCL2	45
3.8.2.4.1 Charakterystyka ogólna BCL2.....	45

3.8.2.4.2 Rola BCL2 w procesie autofagii i mechanizmach odporności ..	45
3.8.2.4.3 Położenie i budowa genu <i>BCL2</i>	45
3.8.2.5 Gen <i>ATG14</i> kodujący kluczowy regulator związany z autofagią	46
3.8.2.5.1 Charakterystyka ogólna <i>ATG14</i>	46
3.8.2.5.2 Rola <i>ATG14</i> w procesie autofagii i mechanizmach odporności	46
3.8.2.5.3 Położenie i budowa genu <i>ATG14</i>	46
4. MATERIAŁ I METODY	47
4.1. Materiał	47
4.2 Metody	53
4.2.1 Metody laboratoryjne	53
4.2.2 Metody statystyczne	55
4.2.2.1 Ocena efektów badanych <i>loci</i>	57
5. WYNIKI.....	61
5.1 Frekwencje alleli i genotypów	61
5.2 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów	62
5.2.1 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów w kolejnych laktacjach.....	62
5.2.3 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów w poszczególnych stadiach laktacji	75
5.2.4 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów w poszczególnych klasach SCC	83
5.3 Efekty badanych genów w odniesieniu do klinicznego <i>mastitis</i>	96
5.3.1 Efekty badanych genów w odniesieniu do klinicznego <i>mastitis</i> w kolejnych laktacjach.....	96
6. DYSKUSJA.....	107
6.1 Polimorfizmy w genach, których produkty zaangażowane są w proces autofagii.....	107
6.2 Związek autofagii z odpornością i procesem zapalnym	109
6.3 Znaczenie efektów nieaddytywnych	113

6.4 Znaczenie czynników środowiskowych	116
7. PODSUMOWANIE I WNIOSKI	119
8. LITERATURA	121
9. STRESZCZENIE/ABSTRACT	157
10. WYKAZ SKRÓTÓW	161
11. WYKAZ TABEL.....	164
12. ANEKS	167

1. Wstęp

Mastitis stanowi najpowszechniejszy problem w hodowli krów mlecznych. Straty poniesione przez hodowców w związku z zapaleniem wymienia u krów są często znacznie wyższe niż wynikające z innych chorób występujących wśród bydła mlecznego. Choroba generuje koszty związane z leczeniem, diagnostyką choroby, stratami w produkcji mleka, powikłaniami ze strony układu rozrodczego, dodatkowym nakładem pracy personelu, a w drastycznych przypadkach z przedwczesnym ubojem ciężko chorych zwierząt (Cheng i Han, 2020).

Czynnikami etiologicznymi *mastitis* są najczęściej bakterie, ale również grzyby, wirusy, pierwotniaki oraz priony. Diagnostyka *mastitis* jest złożona oraz zależy od tego, w jakiej formie choroba występuje (kliniczna, podkliniczna) i w związku z tym w niniejszej pracy skupiono się na obu kryteriach diagnostycznych komórkach somatycznych (SC – ang. *somatic cells*) oraz objawach klinicznej postaci *mastitis*. Objawy klicznego *mastitis* (CM – ang. *clinical mastitis*) są dostrzegalne „gołym” okiem. Natomiast, podkliniczne *mastitis* (SCM – ang. *subclinical mastitis*) diagnozowane jest za pomocą pośrednich wskaźników, np. liczby komórek somatycznych w mleku. Ich duża ilość w mleku może świadczyć o toczącym się procesie zapalnym w gruczole mlekowym, ponieważ najliczniejszą frakcją komórkową wchodzącą w ich skład są neutrofile, które jako pierwsze migrują do ogniska stanu zapalnego (Alhussieni i Dang, 2018; Cheng i Han, 2020).

Zaobserwowano genetyczne różnice w podatności/odporności na *mastitis* wśród bydła. Odporność czy też podatność na *mastitis* jest cechą wielogenową i bardzo trudno prześledzić sposób dziedziczenia tej choroby ze względu na istnienie pozaaddytywnych oddziaływań pomiędzy genami (epistaza, plejotropia, transgresja, dopełniający efekt genów, modyfikacje epigenetyczne), a także interakcje pomiędzy genami a środowiskiem. Wiele programów hodowlanych wykorzystuje genetyczne różnice w podatności/odporności na *mastitis* w selekcji bydła mlecznego. Ze względu na niską odziedziczalność odporności na infekcje gruczołu mlekowego poszukiwane są markery genetyczne, które są szczególnie przydatne w doskonaleniu zwierząt w takich sytuacjach (Hill i in., 2008; Sender, 2002; Wojdak-Maksymiec i in., 2013).

Autofagia jest ważnym procesem, niezbędnym do regulacji odpowiedzi immunologicznej (swoistej i nieswoistej) na toczący się stan zapalny (Ge i in., 2018). Dlatego można przypuszczać, że polimorfizmy zlokalizowane w genach, których produkty uczestniczą

w tym procesie, mogą być związane z odpornością czy podatnością na *mastitis*. Wiele prac badawczych uwzględnia w modelach statystycznych jedynie proste sumowanie efektów alleli danych genów, co nie odzwierciedla w pełni naturalnego mechanizmu dziedziczenia. Pomijanie w badaniach efektu dominacji, epistazy oraz interakcji genotypu ze środowiskiem może prowadzić do niedokładnego oszacowania całkowitego efektu allelu danego genu. Dlatego zasadne wydaje się włączenie tych czynników do modeli asocjacyjnych (Sun i in., 2014; Vitezica i in., 2018).

2. Cel pracy

Celem pracy było zweryfikowanie hipotezy dotyczącej **istnienia asocjacji pomiędzy polimorficznymi wariantami genów, których produkty uczestniczą w procesie autofagii a odpornością na mastitis u krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej z uwzględnieniem efektów dominacyjnych, epistatycznych oraz interakcji genotyp x środowisko.**

Na realizację powyższego celu badawczego składały się następujące zadania:

- identyfikacja polimorficznych wariantów wybranych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) oraz oszacowanie frekwencji alleli i genotypów występujących w badanej grupie krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej;
- ustalenie, czy istnieją statystycznie istotne związki pomiędzy polimorfizmem wybranych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) a odpornością na *mastitis*, wyrażoną jako liczba komórek somatycznych w mleku (SCC – *somatic cells count*) z uwzględnieniem różnych warunków środowiskowych (w kolejnych laktacjach, w wybranych stadiach laktacji oraz klasach SCC) oraz efektów nieaddytywnych i różnych warunków środowiskowych;
- ustalenie, czy istnieją statystycznie istotne związki pomiędzy polimorfizmem wybranych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) a odpornością na *mastitis*, wyrażoną jako liczba przypadków występowania klinicznego *mastitis acuta* i *chronica*, wraz z długością trwania infekcji i liczbą zajętych ćwiartek wymienia z uwzględnieniem efektów nieaddytywnych w kolejnych laktacjach, w wybranych stadiach laktacji oraz klasach SCC;
- ustalenie, czy addytywne i nieaddytywne efekty badanych genów są stałe, czy też zmieniają się w zależności od kolejnej laktacji, stadium laktacji i klasy SCC.
- wykazanie istnienia ewentualnych efektów dominacyjnych i epistatycznych pomiędzy genetycznymi wariantami wytypowanych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) w kształtowaniu zmienności liczby komórek somatycznych w mleku w badanej populacji krów;

- wykazanie istnienia ewentualnych efektów dominacyjnych i epistatycznych pomiędzy genetycznymi wariantami wytypowanych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) w kształtowaniu zmienności występowania klinicznych stanów *mastitis*;
- zweryfikowanie hipotez dotyczących możliwości wykorzystania badanych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*, *BCL2*, *ATG14*) jako markerów w selekcji prowadzonej w kierunku odporności na *mastitis* oraz użytkowości mlecznej bydła.

3. Przegląd literatury

3.1 *Mastitis*

Mastitis jest stanem zapalnym gruczołu sutkowego, które pojawia się, gdy leukocyty zostają uwolnione do gruczołu sutkowego w odpowiedzi na inwazję kanału strzykowego przez patogeny, zwykle przez bakterie. Patogeny przedostają się do sterylnego środowiska gruczołu sutkowego często w wyniku przerwania fizycznych barier stanowiących pierwszą linię obrony przed szkodliwymi czynnikami środowiska (Jones i Bailey, 2009; Thompson-Crispi i in., 2014). Drobnoustroje chorobotwórcze wytwarzają szkodliwe toksyny, które uszkodzają tkanki gruczołu mlecznego. Podwyższenie poziomu leukocytów lub komórek somatycznych powoduje zmniejszenie produkcji mleka oraz zmieniają jego skład, co niekorzystnie wpływa na jakość produktów mlecznych (Jones i Bailey, 2009). Reakcje układu immunologicznego w odpowiedzi na toczący się stan zapalny mogą przybierać różny stopień nasilenia i z tego powodu wyróżnia się kliniczną i subkliniczną postać *mastitis* (Pawlik i in., 2010).

3.1.1 Występowanie *mastitis*

Częstość występowania subklinicznego i klinicznego *mastitis* dotyczy odpowiednio 42% oraz 15% krów mlecznych na świecie. Zatem subkliniczne przypadki zachorowań występują częściej. Analiza oparta o 222 badania częstości występowania subklinicznego *mastitis* i 150 publikacji dotyczących klinicznej postaci choroby wykazała, że częstość występowania podklinicznej postaci choroby wynosiła 40% w latach 1967-2000, 38% w latach 2001-2010 i 43% w latach 2011-2019, a dla postaci klinicznej stanowiła odpowiednio 29%, 18% i 12% (Krishnamoorthy i in., 2021). Ponadto częstość występowania subklinicznej i klinicznej postaci choroby różniła się na wszystkich kontynentach i wynosiła odpowiednio 44% i 12% w Afryce, 42% i 18% w Azji, 37% i 29% w Europie, 34% i 8% w Ameryce Południowej, 46% i 22% w Ameryce Północnej oraz 36% i 5% w Oceanii. Kliniczne i subkliniczne *mastitis* występuje częściej u bawołów (odpowiednio 28% i 46%) niż bydła (odpowiednio 14% i 42%). Liczba badań z poszczególnych kontynentów była różna. Nie wszystkie przypadki zachorowań są rejestrowane prawidłowo ze względu na różne sposoby diagnostyki czy klasyfikacji choroby (Krishnamoorthy i in., 2021). W Wielkiej Brytanii w populacji liczącej ok. 2,2 mln krów na kliniczną postać choroby choruje ok. 880 tys. zwierząt. Szacuje się, że ok. 50% krów w okresie laktacji ma zainfekowaną jedną lub więcej ćwiartek

gruczołu mlekowego. Przeciętnie 25% krów w stadzie choruje na kliniczne *mastitis*. Nawroty choroby mogą występować z częstotliwością 60% w obrębie stada (Hillerton i Berry, 2005).

3.1.2 Kliniczne *mastitis*

Kliniczne zapalenie gruczołu mlekowego rozpoznawane jest na podstawie objawów dostrzegalnych „gołym okiem”, z reguły na podstawie nieprawidłowego wyglądu mleka czy wymienia. Najczęściej występującymi objawami są: gorączka, zaczerwienienie, bolesność i obrzęk wymion. Mleko staje się wodniste, widoczne są kłaczk i skrzepy krwi. Choroba ma charakter miejscowy, ale czasami przy obniżonej odporności może przybrać charakter ogólnoustrojowy. CM w zależności od stopnia nasilenia objawów chorobowych może przybrać postać podostrą lub ostrą (Cheng i Han, 2020; Hillerton i Berry, 2005). Około połowa (50%) wszystkich przypadków CM rozwija się w ciągu pierwszych 60 dni po ociełeniu. Kliniczne objawy występują rzadziej u młodszych zwierząt. Przez ostatnie 35 lat w krajach o rozwiniętym przemyśle mleczarskim zachorowalność na kliniczne zapalenie wymienia, zmniejszyła się z 150 przypadków/100 krów rocznie do 40 przypadków/100 krów rocznie (Cheng i Han, 2020; Hillerton i Berry, 2005).

3.1.3 Subkliniczne *mastitis*

Subkliniczne zapalenie gruczołu mlekowego nie jest łatwe do wykrycia z powodu braku widocznych objawów chorobowych. Nie wykazuje widocznych nieprawidłowości w mleku lub w obrębie wymienia, a diagnostyka choroby wykonywana jest w oparciu o pomiar SCC w mleku lub badania mikrobiologiczne. Subkliniczna postać choroby występuje częściej niż kliniczna i obejmuje 10-15% wszystkich krów w stadzie. Większa częstotliwość i czas trwania oraz brak widocznych objawów chorobowych stanowi poważne zagrożenie dla całego stada z powodu ryzyka przeniesienia infekcji z chorych krów na zdrowe zwierzęta. Straty wywołane przez subkliniczne *mastitis* są trudne do oszacowania, ale przyjmuje się, że są większe niż w te wynikające z klinicznej postaci choroby (Cheng i Han, 2020; Hillerton i Berry, 2005; Pawlik i in., 2010).

3.2 Diagnostyka *mastitis*

W pracy hodowlanej, której celem jest ograniczenie zachorowalności na *mastitis* kluczowy jest wybór najlepszej metody monitorowania tej cechy w stadach krów mlecznych (Sender, 2002). Odporność krów na *mastitis* może być diagnozowana na podstawie oceny fenotypowej cech związanych z zapaleniem wymienia (Heringstad i in., 2000). Niektóre kraje skupiły się na klinicznych objawach *mastitis*, a częstość ich występowania wykorzystano w pracach hodowlanych. Diagnoza może być subiektywna, a przez to trudno porównywalna (Sender, 2002). Ogromną trudność sprawia oszacowanie częstości występowania CM w stadzie. Różne badania przyjmują różne definicje tej cechy. Zapalenie wymienia jest traktowane przez niektórych badaczy jako cecha binarna (*mastitis* występuje albo nie), natomiast inni naukowcy szacują średnią liczbę przypadków *mastitis* przydających na jedną laktację. Istotną kwestią jest pochodzenie zapisów (weterynarz lub farmer). Trudność w definiowaniu sprawia również faza (zredukowana lub cała laktacja) i ilości przebytych laktacji (tylko pierwsza laktacja lub pierwsza i późniejsze laktacje). Badania wskazały, że CM występuje rzadziej w pierwszej laktacji i częściej w kolejnych przebytych laktacjach (Hinrichs i in., 2011; Kašná i in., 2018; Lund i in., 1994; Shook i Schutz, 1994).

Kolejnym problemem jest przyjęcie definicji CM. Różne kraje określają inaczej CM. Jednoznaczne zdefiniowanie choroby i przyjęcie wspólnych kryteriów diagnostycznych umożliwiłoby porównywalność wyników badań oraz przewidywanie wartości hodowlanej dla danej cechy między różnymi krajami oraz prezentowanie tych danych (Hinrichs i in., 2011; Kašná i in., 2018; Lund i in., 1994; Shook i Schutz, 1994). Zatem wadą selekcji opartej na klinicznych objawach zapalenia wymienia jest stosunkowo niska odziedziczalność cechy (2-10%) oraz potrzeba rejestrowania prawidłowo zdiagnozowanego przypadku choroby (Thompson-Crispi i in., 2014).

Najpopularniejszą cechą skorelowaną genetycznie i wykorzystywaną w celu oceny stopnia odporności na *mastitis* jest mierzenie SCC w mleku. Komórki somatyczne to głównie komórki układu immunologicznego (limfocyty, makrofagi, z niewielką zawartością neutrofilii) i komórki nabłonkowe powszechnie występujące w mleku zdrowych zwierząt w niewielkiej ilości. Ich stężenie w mleku zwiększa się, gdy dochodzi do infekcji wymienia w celu obrony przed patogenami. Podczas stanu zapalnego komórki somatyczne stanowią w większości leukocyty (99%) z przewagą frakcji neutrofilii. Poza zwalczaniem infekcji, komórki somatyczne uczestniczą w naprawie uszkodzonych zapalnie tkanek wymienia (Alhussieni i Dang, 2018; Bruckmaier i in., 2004; Rainard i in., 2018).

Zaledwie po kilku godzinach od inwazji patogenów SCC w mleku gwałtownie wzrasta w odpowiedzi na aktywowane mediatory zapalne. Znaczne przekroczenie wartości fizjologicznego SCC w mleku może wskazywać na rozleglejszy stan zapalny, obejmujący więcej niż jedną ćwiartkę u krowy (Alhussieni i Dang, 2018; Bruckmaier i in., 2004; Rainard i in., 2018). Ocena SCC w mleku jest wykorzystywana jako marker do monitorowania częstości występowania *mastitis* wśród krów mlecznych i z powodzeniem stosowana na całym świecie (Alhussieni i Dang, 2018).

Liczne badania wskazują na związek między SCC a *mastitis*. Wykazano dodatnią korelację genetyczną między SCC a infekcją bakteryjną. Wskazując, że obie cechy są od siebie zależne. Zaobserwowano również dodatnią korelację między SCC a *mastitis*, jednak była ona niższa niż w przypadku infekcji bakteryjnej (0,3). Oszacowano również genetyczną korelację na poziomie 0,7 między SCS a *mastitis* (Burgess, 2010; Thompson-Crispi i in., 2014; Weller i in., 1992). Inne badania wykazały, że korelacja genetyczna między SCS (*Somatic Cell Score*) i *mastitis* oscyluje w zakresie od 0,6 do 0,8 (Shook i Schutz, 1994).

Komórki somatyczne są wydzielane do mleka w czasie doju i pomagają w ocenie jakości mleka. Zawartość komórek somatycznych w mleku zależy od wydajności krów, liczby porodów, stanu zdrowia, rasy czy fazy laktacji. Mleko o niższej liczbie komórek somatycznych (SCC) to z założenia mleko o lepszej jakości a produkty mleczne z niego powstające mają z reguły dłuższy okres przydatności do spożycia. Odpowiednia higiena doju oraz zrównoważone odżywianie zwierząt pomaga w redukcji SCC. Nawet najmniejsza zmiana warunków środowiska, nieprawidłowe zarządzanie stadem lub stres mogą przyczynić się do wzrostu SCC (Alhussieni i Dang, 2018).

Przekroczenie fizjologicznej normy komórek somatycznych w mleku wpływa znacząco nie tylko na wydajność mleczną, ale także na jakość produktu. Z tego powodu w wielu krajach zostały określone normy dotyczące zawartości komórek somatycznych w mleku. W krajach Unii Europejskiej, Chinach, Nowej Zelandii, Australii, Szwajcarii i Kanadzie SCC w mleku nie może przekroczyć 300 tys. – 400 tys. SC/ml. Afryka południowa i Brazylia dopuszczają 500 tys. SC /ml, natomiast w USA liczba komórek na ml nie może być większa niż 750 tys. (Alhussieni i Dang, 2018; Burgess, 2010; Thompson-Crispi i in., 2014; Weller i in., 1992). Obecnie w Polsce mleko surowe przeznaczone do skupu musi spełniać wymogi ujęte w ROZPORZĄDZENIU (WE) NR 853/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r. „ustanawiające szczególne przepisy dotyczące higieny w odniesieniu do żywności pochodzenia zwierzęcego”. Przyjęto, że ilość drobnoustrojów nie

może równa oraz przekroczyć 100 tys./ml mleka a SCC nie może być równa oraz większa niż 400 tys. SC/ ml mleka pochodzącego od krów i przeznaczonego do skupu (Jakiel i in., 2011).

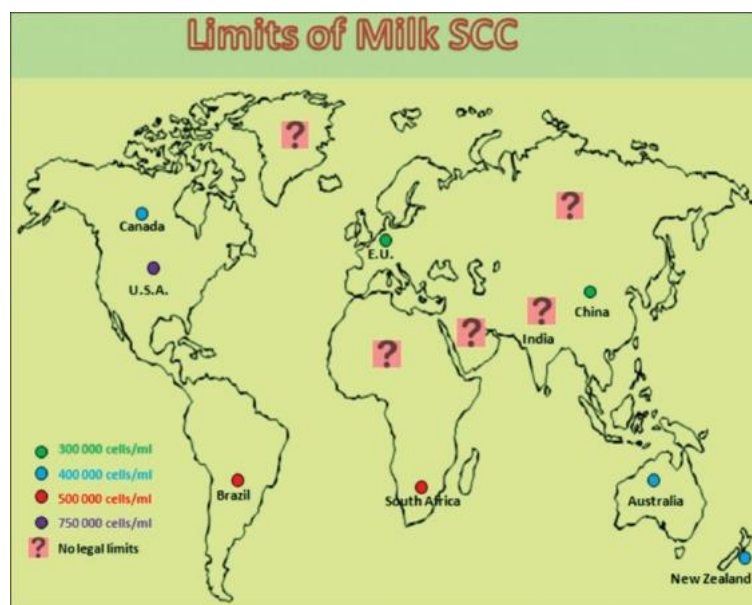
SCC jest stosowane na całym świecie jako wskaźnik *mastitis* i w tym celu ustalane są zakresy referencyjne SCC w celu rozróżnienia krów chorych od zdrowych (dos Reis i in., 2011). Wykrywanie subklinicznego *mastitis* opiera się na pomiarze SCC w mleku pobranym z poszczególnych ćwiartek wymienia krowy lub próbkach mleka, które są mieszaniną mleka pochodzącego ze wszystkich ćwiartek danej krowy. Każda ćwiartka gruczołu mlekowego krowy może ulec zakażeniu niezależnie od pozostałych, więc większość infekcji dotyczy pojedynczej ćwiartki. Dlatego podczas pobrań subkliniczne *mastitis* może zostać niewykryte, ponieważ mleko pochodzące z chorej ćwiartki może zostać rozcieńczone mlekiem pochodzącym ze zdrowych ćwiartek, zawierających mniejszą ilość komórek somatycznych. Generalnie za niezainfekowane ćwiartki uznaje się takie, których 1 ml mleka zawiera około 70 tysięcy komórek somatycznych.

Zmniejszoną wydajność mleczną obserwuje się już przy SCC wynoszącym powyżej 100 tys. (Ruegg i Pantoja, 2013; Schukken i in., 2003). Mleko zdrowych krów zawiera poniżej 100 tys. SC na ml mleka (Hamann, 2005). Sumon i in. (2020b) stwierdzili, że SCC przekraczające 100 tys. może świadczyć o rozwijającym się podklinicznym *mastitis* u krów pochodzących z Bangladeszu (Sumon i in., 2020b). Berry i Meaneya (2006) przyjęli, że SCC wynoszące 250 tys. wskazuje na subkliniczne *mastitis* (Berry i Meaneya, 2006). Natomiast, jeszcze inny wynik otrzymali Jadhav i in. (2018) w swoich badaniach, w których SCC wynoszące 310 tys. świadczyło o subklinicznym *mastitis* (Jadhav i in., 2018).

Chociaż różne badania przyjmują różne wartości SCC odróżniające zdrowe krowy od chorych, to uznaje się, że jego wartość nie powinna przekraczać 200 tys. u zdrowych krów. Mleko pochodzące od krów cierpiących z powodu klinicznej postaci *mastitis* jest usuwane, niezależnie od SCC. Z reguły kliniczne *mastitis* diagnozuje się na podstawie zmian w mleku i objawów chorobowych i z tego powodu zazwyczaj nie ma potrzeby stosowania wskaźników takich jak, np. SCC. Praktyka pokazuje, że SCC może stać się jednak pomocny w wykrywaniu klinicznych przypadków *mastitis* poprzedzonych subkliniczną fazą zakażenia (Ruegg i Pantoja, 2013). Deluyker i in. (2005) uznali, że SCC większe lub równe 300 tys./ ml mleka oznacza, że krowy cierpią z powodu klinicznego *mastitis* (Deluyker i in., 2005). Urioste i in. (2012) stwierdzili, że silną korelację między klinicznymi przypadkami zachorowań na *mastitis* a SCC wynoszącym ponad 500 tys. (Urioste i in., 2012). Różne badania określają inny poziom SCC wskazujący na kliniczną postać choroby, ale generalnie

w Polsce przyjęto, że SCC wynoszący 400 tys. i więcej wskazuje na kliniczne *mastitis* (Jakiel i in., 2011).

Pomiary dotyczące SCC poszczególnych badań mleka nie mają rozkładu normalnego. Dane o takim charakterze nie mogą zostać bezpośrednio użyte przy szacowaniu wartości hodowlanej i z tego powodu SCC przeliczany jest na skalę logarytmiczną w celu przybliżenia wyników pomiaru SCC do rozkładu normalnego. W niektórych krajach Ameryki Północnej stosuje się uproszczoną skalę logarytmiczną, gdzie SCC przekształca się na SCS (*ang. somatic cell score*) (Wiggans i Shook, 1987). Genetyczna korelacja między CM a SCS waha się w granicach do 60 do 80%, co wskazuje na silny związek między tymi cechami (Ruegg i Pantoja, 2013; Shook i Schutz, 1994).



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie światowych limitów liczby komórek somatycznych mleka krów. Źródło: Alhussien i Dang, 2018.

Prowadzenie programów selekcyjnych zwierząt w kierunku obniżenia SCC budzi pewne kontrowersje. Zdaniem wielu naukowców zbyt niskie SCC może w dłuższej perspektywie prowadzić do zmniejszenia odporności (Suriyasathaporn i in., 2000). Jednak wielu badaczy sądzi, że prowadzenie selekcji w kierunku zmniejszenia SCC w mleku nie obniża zasobów odporności wymienia. Donosi o tym Rainard i in. (2018), który rozważa tę kwestię. Według autorów niska zawartość komórek somatycznych w wymieniu nie wiąże się z obniżeniem odporności na infekcje (Rainard i in., 2018).

Stałe kontrolowanie SCC krów mlecznych wymaga pobieranie próbek mleka w ramach próbnich udojów. Takie próbne udoje powinny być wykonywane przynajmniej raz w miesiącu. Obecnie wykorzystuje się metody: A4, A8 i AT4, które różnią się między sobą

minimalną liczbą próbnych udojów w ciągu roku oraz doby. Producent mleka decyduje o rodzaju zastosowanej metody. Zwiększenie częstotliwości pomiarów zwiększa wiarygodność badań, ponieważ ewentualne stany zapalne pojawiające się pomiędzy pobraniami mogą nie zostać zaobserwowane. Zwiększone SCC może pojawić się także podczas pierwszego dnia pobrań prób mleka do analizy w wyniku infekcji, która nie rozwinie się w stan zapalny. Inną wadą określania stanu zapalnego na podstawie SCC jest to, że nie można oszacować SCC w mleku podczas zasuszenia, ponieważ w tym okresie próby mleka nie są pobierane (Bednarko-Młynarczyk i in., 2014; Dingwell i in., 2004; Gilbert i in., 2017; Miller. 1984).

Do oznaczania SCC mogą służyć testy diagnostyczne, takie jak: *California Mastitis Test* (CMT), *Wisconsin Mastitis Test* (WMT), metodą spektroskopii w bliskiej podczerwieni (*near-infrared spectroscopy*), czy test Whiteside. Jednak testy te nie są w pełni obiektywne i częściej stosowane w mniejszych gospodarstwach. Na większych nowoczesnych fermach SCC w mleku szacuje się, wykorzystując zliczanie elektroniczne. Jedną z takich metod jest zliczanie wybarwionych komórek somatycznych metodą fluoroforetyczno-elektroniczną (*fluoro-opto-electronic counting*) oraz wiele innych metod (Dingwell i in., 2003; Hanuš i in., 2011; Miller 1984, Rossi i in., 2018; Tsenkova i in., 2001).

Zaletą określania stanu zapalnego za pomocą szacowania SCC jest łatwość ich automatycznego oznaczenia przy zastosowaniu testów diagnostycznych oraz gromadzenie wyników SCC w krajowej bazie danych. Inną zaletą jest możliwość obiektywnego stwierdzenia stanu zapalnego na podstawie liczebności komórek somatycznych w mleku. Ponadto pomiar SCC jako cechy mierzalnej wydaje się bardziej wiarygodną metodą określania odporności czy podatności na *mastitis*. Prawdopodobnie niższa odziedziczalność CM diagnozowanego na podstawie oceny fenotypowej wynika z braku obiektywizmu. Zliczanie komórek somatycznych w mleku jest dużo tańszą metodą niż wykorzystywanie testów bakteriologicznych (Shook i Schutz, 1994; Sender, 2002).

Szacowanie SCC pozwala wykryć zarówno subkliniczną postać *mastitis*, jak i kliniczną. Niestety SCC można szacować tylko w mleku, a więc nie ma możliwości jej ustalenia podczas zasuszenia, ponieważ krowa w tym czasie nie wydziela mleka. Istnieje też możliwość przeoczenia występowania stanu zapalnego wymienia pomiędzy kolejnymi próbnymi udojami, ponieważ pobrania odbywają się jedynie raz w miesiącu (Shook i Schutz, 1994; Sender, 2002).

Proponowano także inne wskaźniki zdrowia wymienia takie jak badania bakteriologiczne mleka, pomiar N-acetylo- β -D-glukozaminidazy (NAGaza), aktywności dehydratu mleczanu genazy (LDH) czy antytrypsyny lub przewodność elektryczna mleka,

jednak pomiar SCC jest uważana za najlepszą metodę diagnozowania SCM (Bogni i in., 2011; Heringstad i in., 2000; Kuczaj, 2003; Thompson-Crispi i in., 2014).

3.3 Przyczyny *mastitis*

Znanych jest kilka przyczyn związanych z ryzykiem występowania *mastitis* u bydła mlecznego. Najczęstszą przyczyną jest wniknięcie patogenu do gruczołu mlekowego gospodarza, stan zdrowia (fizjologiczny) krowy oraz czynniki środowiska. Wszystkie wymienione czynniki zostały uwzględnione w programach hodowlanych w celu ograniczenia ryzyka rozwoju stanu zapalnego gruczołu mlekowego (Cheng i Han, 2020).

Drobnoustroje chorobotwórcze, będące najczęstszą przyczyną zapalenia wymienia, można podzielić na dwie grupy – patogeny zakaźne i środowiskowe. Patogeny zakaźne przenoszone są najczęściej podczas procesu dojenia z krowy na krowę. Należą do nich między innymi: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* i *Corynebacterium bovis*. Patogeny środowiskowe obecne są w całym środowisku krów mlecznych, a wśród nich dominują: *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* i inne ziarniaki Gram-dodatnie i katalazo-ujemne (Dufour i in., 2019).

Badania przeprowadzone w całej Polsce wykazały, że najczęstszą przyczyną zapalenia wymienia u bydła są gronkowce (24,61%) oraz gram-pozytywne, koagulazo-ujemne ziarniaki (32,15%). Wśród paciorkowców najczęściej izolowanymi z próbek mleka były *Streptococcus agalactiae* (2,61%) oraz inne (29,53%), takie jak: *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* czy *Enterococcus spp.* W przypadku gronkowców najczęściej występował *Staphylococcus aureus* (6,07%), a koagulazo-ujemne gronkowce stanowiły 18,54% z wszystkich próbek mleka. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*) znaleziono w 4,38% próbek mleka z zainfekowanych ćwiartek a niefermentujące gram-ujemne pałeczki, wyizolowano z 2,01% prób. Bakterie z rodzaju *Corynebacterium* oraz *Listeria monocytogenes* stanowiły 1,99% wszystkich próbek (Krukowski i wsp. 2019). CM powodowane jest głównie przez gronkowce, paciorkowce i *Escherichia coli*, natomiast najczęstszą przyczyną SCM są bakterie (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*) (Sender i in., 2010).

Zapalenie wymienia może być powodowane także przez grzyby, wirusy i *Prototheca* (Czernomysy-Furowicz i wsp. 2008). Krukowski i in. (2006) przebadali łącznie 3091 próbek mleka od polskich krów z CM i SCM z 29 stad i wykazali, że najczęściej izolowanymi drożdżami były *Candida sp.*, *Candida kefir*, *Candida humicola*, *Candida rugosa*, *Candida*

inconpicua (Krukowski i in., 2006). W innych badaniach przeprowadzonych również w Polsce najczęściej występowały *Candinda parapsilosis* w badanych próbkach mleka (Dworecka-Kaszak i in., 2012).

Malinowski i in. (2002) badając polskie krowy z CM i SCM wykazał, że najczęściej występującym gatunkiem *Prototheca* u chorego bydła jest *Prototheca zopfii* (Malinowski i in., 2002). Jagielski i in. (2011) wskazali *Prototheca zopfii* i *Prototheca blaschkeae* jako przyczynę *mastitis* (Jagielski i in., 2011). Chociaż zapalenie wymienia wywołane przez *Prototheca* stanowią niewielką część wszystkich przypadków *mastitis*, to wykazuje tendencje wzrastającą. Odnotowano przypadki zapalenia gruczołu mlekowego wywołanego przez *Prototheca zopfii* również w innych państwach, takich jak: USA, Brazylia, Wielka Brytania, Niemcy, Włochy, Rumunia, Belgia, Dania, Węgry, Kanada, Nowa Zelandia, Japonia (Lassa, i Malinowski 2007).

Etiologia wirusowego zapalenia gruczołu mlekowego nie została dokładnie zbadana. Przypuszcza się, że wirusy mogą być pośrednią przyczyną *mastitis*. Wirusy takie jak: herpeswirus bydła 1, herpeswirus bydła 4, wirus pryszczycy czy wirus paragrypy 3 mogą powodować uszkodzenie strzyków i w efekcie tego doprowadzić do osłabienia naturalnych mechanizmów chroniących przed inwazją innych patogenów, np. bakterii. Ponadto herpeswirus 1 bydła, wirus niedoboru odporności bydła, wirus biegunki bydła i wirus białaczki bydła ze względu na ich właściwości immunosupresyjne, mogą również odgrywać pośrednią rolę w zapaleniu gruczołu mlekowego u bydła (Çomakli i Özdemir, 2019; Wellenberg i in., 2002).

3.3.1 Patogeneza i transmisja patogenu

Przenoszenie patogenów wywołujących *mastitis* następuje w wyniku kontaktu strzyków czy wymienia krowy z zanieczyszczonymi pastwiskami, dojarkami czy rękoma dojarza. Inną drogą zakażenia może być transmisja między ustami a wymionami wśród cieląt (Abb-Schwedler i in., 2014; Hillerton i Berry, 2005). Ze względów ekonomicznych cielęta często karmione są mlekiem, które nie nadaje się do sprzedaży. Mleko to pochodzi od chorych krów i zawiera antybiotyki lub drobnoustroje chorobotwórcze. Cielęta mogą przenosić bakterie do gruczołu mlekowego poprzez wzajemne ssanie wymion po spożyciu skażonego mleka (Abb-Schwedler i in., 2014).

Drobnoustroje przedostają się do gruczołu sutkowego poprzez otwór strzykowy w wyniku pokonania wrodzonej, fizycznej bariery odpornościowej (Wellnitz i Bruckmaier, 2012). Kanał strzykowy stanowi pierwszą fizyczną barierę obrony przed patogenami i

stanowi źródło substancji przeciwdrobnoustrojowych. Kanał strzykowy zakończony jest zwieraczem mięśni gładkich, który zapobiega samoczynnemu wypływowi mleka oraz stanowi kolejną barierę fizyczną przed wnikaniem chorobotwórczych drobnoustrojów ze środowiska zewnętrznego. Źródło substancji przeciwdrobnoustrojowych stanowi zdrowa skóra pokrywająca strzyk oraz nabłonek płaski wyścielający przewód strzykowy. Skóra strzyku zawiera kwasy tłuszczowe, które spowalniają wzrost bakterii chorobotwórczych. Nabłonek płaski przewodu strzykowego wytwarza keratynę, czyli woskowatą substancję wychwytyjącą bakterie i utrudniającą ich przedostawanie się do wnętrza wymienia (Alnakip i in., 2014; Marshall i in., 2018; Wellnitz i Bruckmaier, 2012).

Poza barierami fizycznymi, gruczoł mlekowy chroniony jest przez mechanizmy wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej, które koordynują się nawzajem i działają synergicznie, aby zapewnić skuteczną obronę przed patogenami. Odporność wrodzona (nieswoista) gruczołu mlekowego stanowi pierwszą linię obrony, gdy patogen pokona bariery fizyczne i przedostanie się do wnętrza wymienia. Działa natychmiast, a czas jej inicjacji wynosi kilka minut lub godzin i odgrywa kluczową rolę w rozwoju stanu zapalnego. Mechanizmy nabytej (swoistej) odporności reagują z reguły wolniej, ale silniej przy ponownym zakażeniu danym patogenem, ponieważ są zależne od antygeny i wymierzone przeciwko konkretnemu patogenowi oraz mają zdolność do jego zapamiętywania (Alnakip i in., 2014; Marshall i in., 2018).

3.4 Leczenie *mastitis*

Właściwe leczenie *mastitis* powinno być poparte wynikami diagnostyki mikrobiologicznej i uwzględniać krajowe i międzynarodowe wytyczne dotyczące stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych (Pyörälä, 2009).

3.4.1 Terapia klinicznej postaci *mastitis*

Leczenie CM powinno być ukierunkowane na bakterie wywołujące chorobę, jednak w przebiegu ostrego stanu zapalnego leczenie powinno rozpocząć się od analizy danych dotyczących stada i osobistych doświadczeń, aby wybrać odpowiedni sposób leczenia. Szybka diagnostyka mikrobiologiczna przeprowadzona w obrębie stada jest pomocna w wyborze najbardziej odpowiedniego środka przeciwdrobnoustrojowego. Prowadzenie dokumentacji dotyczącej sposobu leczenia *mastitis* sprzyja racjonalnemu stosowaniu środków przeciwdrobnoustrojowych. Skuteczność zastosowanego leczenia należy monitorować, wykorzystując dane dotyczące SCC oraz wyniki analiz mikrobiologicznych (Pyörälä, 2009).

3.4.2 Terapia antybiotykowa

Środkami przeciwdrobnoustrojowymi pierwszego wyboru stosowanymi w przypadku klinicznego zapalenia gruczołu mlekowego powinny być antybiotyki o wąskim spektrum działania, np. antybiotyki β -laktamowe, w szczególności penicylina G. Środki przeciwdrobnoustrojowe o szerokim spektrum działania, takie jak cefalosporyny trzeciej i czwartej generacji, nie powinny być stosowane jako pierwsza alternatywa w sytuacji, w której leczenie antybiotykami β -laktamowymi zawodzi. Leczenie ogólnoustrojowe zalecane jest w przypadku zakażeń wywołanych przez *Staphylococcus aureus* czy *Escherichia coli*. Czas leczenia powinien wynosić co najmniej 3 dni. Krótszy czas leczenia jest niezalecany ze względu na niską skuteczność. Dłuższy czas leczenia jest istotny w leczeniu stanów zapalnych wywołanych przez *Staphylococcus aureus* czy *Streptococcus uberis* (Pyörälä, 2009).

Leki można podawać w postaci wlewu dowymiennego lub wstrzyknięć domięśniowych lub dożylnych. Także zaszuszenie krwi jest preferowanym okresem na stosowanie antybiotyków, o ile zachodzi taka potrzeba, ponieważ w tym okresie krowa nie produkuje mleka i w związku z tym ryzyko włączenia pozostałości stosowanych antybiotyków do łańcucha pokarmowego jest minimalne (Cheng i Han, 2020).

Istnieje wiele negatywnych aspektów stosowania antybiotyków w leczeniu *mastitis*. Przenikanie, wchłanianie oraz dystrybucja antybiotyków w obrębie wymienia na skutek podania dowymiennego zależy od właściwości farmakokinetycznych substancji (rozpuszczalność w lipidach, stopień zdolności do wiązania się leku z białkami surowicy i wymienia). Zatem powodzenie terapeutyczne zależy między innymi od właściwości farmakokinetycznych podanej substancji. Innym aspektem wpływającym na leczenie jest farmakodynamika antybiotyków. Generalnie mleko nie powinno zakłócać działania antybiotyków, jednak wykazano, że aktywność makrolidów, tetracyklin oraz połączeń trimetoprimu z sulfonamidami jest mniejsza. Co więcej, zastosowany w terapii antybiotyk powinien wykazywać działanie bakteriobójcze, a nie bakteriostatyczne, ponieważ fagocytoza w gruczole mlekowym jest zaburzona (Pyörälä, 2009).

Ponadto wszystkie antybiotyki stosowane w medycynie weterynaryjnej mają podobną lub taką samą strukturę i mechanizm działania jak antybiotyki stosowane u człowieka, co sprzyja rozwojowi oporności krzyżowej (Ungemach, 2006). Kolejnym problemem jest obecność pozostałości antybiotyków w mleku. Zwiększone ryzyko wystąpienia alergii i lekooporności na antybiotyki dyskwalifikuje takie mleko do spożycia przez konsumenta.

Zatem producent ponosi nie tylko koszty związane z leczeniem choroby, ale także straty wynikające ze zmniejszonej ilości mleka nadającego się do sprzedaży. Nie zaleca się stosowania antybiotyków o długim czasie działania, zwłaszcza w podczas laktacji. Dąży się do tego, aby okres karencji był jak najkrótszy i producent nie poniósł dodatkowych strat ekonomicznych. Zatem należy dobrać antybiotyk skuteczny, ale o możliwie najkrótszym czasie działania. Ponadto antybiotyki mogą wyeliminować infekcję, ale nie chronią gruczołu mlekowego przed nieodwracalnym uszkodzeniem jego tkanek (Cheng i Hen, 2020).

3.4.3 Terapia subklinicznej postaci *mastitis*

Leczenie SCM w czasie laktacji jest z jednej strony nieopłacalne ze względu na duże koszty leczenia i niską skuteczność. Wskaźnik wyleczeń *mastitis*, w którym czynnikiem sprawczym są bakterie, wyniósł 75% w przypadku wdrożenia leczenia i 68%, gdy leczenie nie zostało zastosowane. Z drugiej strony niewyleczone zwierzę stanowi rezerwuuar patogenów wywołujących *mastitis*, które mogą zostać przeniesione na inne krowy w stadzie. Wdrożenie leczenia SCM zaleca się przy zakażeniach stadnych i wywołanych przez *Staphylococcus aureus* lub *Streptococcus agalactiae*, które są bardzo zakaźne (Pyörälä, 2009).

3.4.4 Szczepionki

Modulacja odporności krów mlecznych w okresie laktacji szczepionkami jest potencjalną metodą zwiększania odpowiedzi ze strony układu immunologicznego na inwazję patogenów. Szczepionki można stosować jako jedną z możliwych metod profilaktyki *mastitis* oraz zapobiegających rozwojowi ciężkiego stanu zapalnego. Komercyjnie dostępne szczepionki mają ograniczoną skuteczność w przypadku wystąpienia CM. Większą skuteczność zaobserwowano przy zastosowaniu autogennych szczepionek (specyficzne dla stada) (Bradley i in., 2015; Cheng i Han, 2020; Ismail, 2017; Landin i in., 2015; Rainard i in., 2021). Większość komercyjnych szczepionek jest skierowana przeciwko *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* i *Escherichia coli*. Udowodniono, że szczepionki nie zapewniają niezawodnej ochrony. Popularna szczepionka o nazwie handlowej Startvac przeciwko *Staphylococcus aureus* osiągała różny stopień skuteczności. Prawdopodobnie wynikało to z rodzaju zastosowanych praktyk zarządzania stadem. Niedostateczna skuteczność szczepień może wynikać również z wieloetiologicznego charakteru choroby. Zatem szczepienia mogą być stosowane wraz z antybiotykoterapią czy właściwymi procedurami higienicznymi, aby osiągnąć większą skuteczność w walce z *mastitis*. Ponadto

stosowanie szczepień jest stosunkowo drogie (Bradley i in., 2015; Cheng i Han, 2020; Ismail, 2017; Landin i in., 2015; Rainard i in., 2021).

3.5 Konsekwencje *mastitis*

3.5.1 Straty ekonomiczne z powodu *mastitis*

Stany zapalne wymienia stanowią najpowszechniejszy problem hodowli krów mlecznych. Straty poniesione przez hodowców w związku z zapaleniem wymienia u krów są często znacznie wyższe niż wynikające z innych chorób występujących wśród bydła mlecznego. Koszty poniesione przez hodowców czy producentów mleka są ogromne i wynikają między innymi z dodatkowych usług weterynaryjnych, diagnostyki, leczenia, obniżenia klasy jakościowej mleka, spadku wydajności mlecznej, a w skrajnych przypadkach z konieczności przedwczesnego uboju poważnie chorych zwierząt (Azooz i in., 2020). Ponadto *mastitis* może powodować problemy z płodnością, a nawet przyczynić się do bezpłodności zwierząt. Zaburzenia płodności u krów cierpiących z powodu zapalenia gruczołu mlekowego są związane z infekcją i odpowiedzią immunologiczną na toczący się stan zapalny, wyrażony poprzez działanie cytokin (zwłaszcza TNF-alfa), kortyzolu, reaktywnych form tlenu, prostaglandyn czy mediatorów stanu zapalnego (Malinowski i Gajewski, 2010).

Starty przemysłu mleczarskiego z powodu *mastitis* są zróżnicowane w różnych państwach, np. w USA ten koszt szacuje się na około 2 miliardy USD rocznie. Koszt pojedynczego przypadku *mastitis* rocznie wynosi 200 USD (USA), 43,63- 84,84 EUR (Czechy), 240 EUR (Dania), 117 EUR (Hiszpania), 240 EUR (Holandia), 69-228 GBP (Szkocja), 160,4 EUR (Węgry), 662 CAD (Kanada) lub 692 USD (Kolumbia) (Aghamohammadi i in., 2018; Bogni i in., 2011; Felix i in., 2016; Fodor i in., 2014; Pérez-Cabal i in., 2008; Romero i in., 2018; van Soest i in., 2016; Wolfová i in., 2006; Yalçın i in., 2000).

3.5.2 Straty związane z wydajnością mleczną

Spadek produkcji mleka jest uważany za główny składnik strat ekonomicznych spowodowanych CM lub SCM (Hagnestam-Nielsen i in., 2009). Szkodliwy wpływ *mastitis* na produkcję mleka został potwierdzony wieloma badaniami różnych autorów.

De Graaf i Dwinger (1996) przeprowadzili badania, w których porównali wydajność mleczną u krów zdrowych i krów z SCM. Straty oszacowano na 1,56 kg mleka dla dobowej wydajności mleka na jedną chorą krowę (De Graaf i Dwinger, 1996). Halasa i in. (2009)

wykazali, że wzrost SCC wiązał się z mniejszą wydajnością mleczną (Halasa i in., 2009). Wilson i in. (2004) oszacowali straty w wydajności mlecznej wśród zwierząt z kliniczną postacią choroby. Badaniami objęto krowy rasy Holsztyńskiej. Straty w wydajności mlecznej wyniosły ok. 600 kg mleka/krowę na cały okres laktacji (Wilson i in., 2004). Rajala-Schultz i in. (1999) również ocenili wpływ CM na wydajność mleczną wśród 24 276 krów fińskich rasy Ayrshire. Dobbowe straty z powodu choroby po pierwszych dwóch tygodniach od momentu rozpoznania wynosiły od 1 do 2,5 kg. Suma strat odnotowanych w przebiegu całej laktacji wahały się od 110 do 552 kg/ krowę na laktację (Rajala-Schultz i in., 1999). Wyniki przedstawionych badań są podobne do szacunków otrzymanych przez Wilsona i in. (2004) (Wilson i in., 2004).

Kocak (2006) przeanalizował wpływ *mastitis* na wydajność mleczną w okresie laktacji. Całkowite straty wydajności mlecznej oszacowano na ok. 600 kg mleka/krowę/laktację wśród krów, które zachorowały w pierwszych sześciu tygodniach laktacji. W przypadku zwierząt, u których *mastitis* wystąpiło po szóstym tygodniu laktacji starty, wynosiły ok. 500 kg mleka/krowę/laktację (Kocak, 2006). Bartlett i in. (1991) w swoich badaniach porównali wyniki dobowej wydajności mlecznej u krów przed wystąpieniem choroby i w 60 dniu po zachorowaniu na CM. Chore zwierzęta produkowały ok. 341 kg/krowę/laktację mniej mleka nadającego się do skupu (Bartlett i in., 1991). Obniżenie wydajności mlecznej o 231 kg na laktację zaobserwowano także wśród brytyjskich fryzyjskich krów z klinicznymi objawami *mastitis* (Firat, 1993). Dane dotyczące holenderskich czarno-białych krów z klinicznym zapaleniem gruczołu mlekowego wskazały na obniżenie wydajności mlecznej o 527 kg mleka/ krowę na laktację (Houben i in., 1993). Zatem straty w wydajności mlecznej u chorych zwierząt waha się w granicach od 110 do 600 kg/ krowę na laktację. Wszysey autorzy przytoczonych badań potwierdzają, że leczone na *mastitis* krowy nigdy nie osiągnęły zdrowego, oczekiwanego poziomu mleczności.

3.5.3 Straty związane ze zmianą kompozycji mleka

Skład mleka jest ważny dla producentów i przetwórców żywności z ekonomicznego punktu widzenia. Coraz większe wymagania konsumentów mleka i produktów mlecznych oraz uzależnienie cen mleka od jego składu, zmusza rolników do produkcji mleka o najwyższej jakości (Roy i in., 2020).

Mastitis wpływa na skład wydzielanego mleka i w konsekwencji na jego przydatność technologiczną w przemyśle mleczarskim. Skład mleka zdrowych krów różni się od chorych. Najważniejszą zmianę stanowi wzrost komórek somatycznych (Le Maréchal i in.,

2011). Zwiększenie ilości komórek somatycznych (SCC) ma negatywny wpływ na jakość surowego mleka. Poziom SCC zależy przede wszystkim od stanu zdrowia krowy. Istnieje wiele czynników wpływających na podwyższenie poziomu SCC, najważniejszym z nich jest stan zapalny gruczołu mlekowego. SCC wzrasta wraz ze wzrostem liczby zakażonych ćwiartek wymienia (Sharma i in., 2011).

Ponadto infekcja wymienia wiąże się z obniżeniem wydajności mlecznej, niską zawartością kazein i laktozy w mleku, zmiany w konsystencji mleka, zmniejszoną możliwość obróbki mleka, wysokie ryzyko niedotrzymania higieny doju, ponieważ mleko może zawierać patogeny. Wzrost SCC może wpływać także na skrócenie przydatności mleka do spożycia, czy obniżenie właściwości organoleptycznych i sensorycznych mleka (Sharma i in., 2011). Mleko pasteryzowane lub UHT o wysokiej koncentracji komórek somatycznych charakteryzuje się nieprzyjemnym zapachem i smakiem. Przyczyną jest obecność patogenów w mleku oraz proteoliza czy lipoliza składników mleka (Le Maréchal i in., 2011). Jogurt wyprodukowany z mleka o wysokiej zawartości SCC może wykazywać skrócony okres przydatności do spożycia. Okres przydatności jogurtu otrzymanego ze zdrowego gruczołu szacowany jest na 30 dni. Natomiast jogurt wyprodukowany na bazie mleka o wysokiej koncentracji SCC po 20 dniach przechowywania traci swoją konsystencję, a po 30 dniach staje się gorszy w smaku (Oliveira i in., 2002).

Białka stanowią ok. 3,4% wszystkich składników mleka krowiego. Standardowe mleko pochodzące od krów składa się z dwóch głównych frakcji białek – kazein i białek serwatkowych. Kazeiny stanowią ok. 80% (29,5 g/l) całkowitej zawartości białka w mleku zdrowych zwierząt, natomiast białka serwatkowe – 20% (6,3 g/l) (Davoodi i in., 2016; Månsson, 2008). Przyjmuje się, że mleko krów chorych na *mastitis* charakteryzuje się obniżeniem poziomu α -kazeiny i β -kazeiny, a wzrostem γ -kazeiny (Le Maréchal i in., 2011). Wiadomo, że mleko pochodzące od krów cierpiących na *mastitis* zawiera większą liczbę komórek somatycznych, w tym neutrofilii, a obecne w ziarnistościach neutrofilii proteazy hydrolizują wiązania peptydowe białek. Dlatego można przypuszczać, że zwiększenie stężenia komórek somatycznych w mleku może prowadzić do degradacji białek i w efekcie prowadzić do obniżenia ich stężenia w mleku krowim. Zwiększone stężenie proteaz może pojawić się w mleku również wskutek ich przedostania się z krwi pochodzącej z naczyń krwionośnych uszkodzonego gruczołu mlekowego. Uszkodzenia takie często towarzyszą *mastitis* (Dallas i in., 2015; Hinz i in., 2012). Proteazy pochodzące z neutrofilii i makrofagów mogą przyczynić się do hydrolizy kazein mleka.

Considine i in. (2000) zaobserwowali, że elastaza leukocytów wielojądrzastych oraz makrofagów posiada zdolność do specyficznej hydrolizy kazeiny α s1, obecnej w mleku krowim (Considine i in., 2000). Inne badania wykazały, że katepsyna G leukocytów wielojądrzastych oraz makrofagów jest zdolna do specyficznej hydrolizy α s1- kazeiny oraz β - kazeiny (Considine i in., 2002). Katepsyna B ma także zdolność do proteolizy (głównie kazein) produktów mlecznych, zwłaszcza wytwarzanych z mleka o wysokiej zawartości komórek somatycznych (Considine i in., 2004). Ponadto, bakterie będące przyczyną *mastitis* oraz zanieczyszczające mleko podczas procesów jego obróbki i przetwarzania, wytwarzają proteazy i lipazy. Aktywność tych enzymów może prowadzić do zmian właściwości sensorycznych i fizycznych mleka (Burchacka i Witkowska, 2016; Chen i in., 2003; Dallas i in., 2015).

Haddadi i in. (2006) przeprowadzili badania, w których wykazali, że proteazy uwalniane przez neutrofile i *Escherichia coli* biorą udział w proteolizie kazein mleka w przebiegu *mastitis* (Haddadi i in., 2006). Peptydy pochodzące z proteolizy kazein mleka mogą wpływać niekorzystnie na czas krzepnięcia i jędrność twarogu (Le Maréchal i in., 2011). Wyższe stężenie kazein w mleku jest korzystne dla wydajnej produkcji sera cheddar. Im wyższy stosunek kazein do białek serwatkowych (immunoglobulin, albumin) w mleku, tym efektywniejsza produkcja sera cheddar (Amenu i Deeth, 2007).

Halasa i in. (2007) wykazali, że zawartość białka w mleku pochodzącym od chorych pierwiastek i wieloródek spadła odpowiednio o: 10,23g i 12,49g na dzień przy SCC wynoszącym do 200 tys. komórek na ml mleka, 13,75g i 17,64g / dzień przy SCC wynoszącym do 300 tys. komórek/ ml mleka, 16,25g i 21,29 g / dzień przy SCC wynoszącym do 400 tys. komórek/ ml mleka, 18,17 i 24,13 g/ml przy SCC wynoszącym do 500 tys. komórek na ml mleka oraz 19,75 i 26,44 g/ml przy SCC wynoszącym do 600 tys. komórek na ml mleka (Halasa i in., 2007). W innych badaniach tych samych autorów straty białka w mleku pochodzącym od pierwiastek i wieloródek wynosiły odpowiednio 9 i 13 g dziennie przy SCC wynoszącym 200 tys. komórek/ml mleka (Halasa i in., 2009).

Ponadto istnieją frakcje białek, których koncentracja wzrasta w przebiegu *mastitis*. Najczęściej są to białka krwiopochodne, uczestniczące w odpowiedzi na toczący się stan zapalny, przedostające się do mleka w wyniku zwiększonej przepuszczalności błon naczyń krwionośnych (albumina, immunoglobuliny) (Isaea i Kurtu, 2018).

Tłuszcz stanowi ok. 4,2% wszystkich składników mleka pochodzącego od zdrowych krów (Månsson, 2008). Halasa i in. (2009) zaobserwowali, że zawartość tłuszczu w mleku pochodzącego od pierworódek i wieloródek cierpiących z powodu *mastitis* spada o

odpowiednio 6 i 10g/d przy SCC do 200 tys. komórek/ml mleka (Halasa i in., 2009). Ten sam autor wykazał spadek zawartości tłuszczu mlecznego u pierwiastek i wieloródek odpowiednio o: 4,51 g i 10,16 g/dzień przy SCC wynoszącym do 200 tys. komórek/ml mleka, 8,91 g i 18,10 g/dzień przy SCC wynoszącym do 300 tys. komórek/ml mleka, 12,03 i 23,67 g/dzień przy SCC wynoszącym do 400 tys. komórek/ml mleka, 14,45 i 28,02 g/dzień przy SCC wynoszącym do 500 tys. komórek/ml mleka oraz 16,43 i 31,58 g/dzień przy SCC wynoszącym do 600 tys. komórek/ml mleka (Halasa i in., 2007).

Uallah i in. (2005) analizowali wpływ nasilenia zapalenia gruczołu mlekowego u bawołów na zawartość białka i tłuszczu w mleku. Wyniki badań wskazują, że zawartość białka i tłuszczu w mleku istotnie zmniejszała się wraz z rozwojem choroby (Uallah i in., 2005). Istnieje wiele innych dowodów potwierdzających szkodliwy wpływ *mastitis* na zawartość tłuszczu w wydzielanym mleku (Harjanti i in., 2020; Morsi i in., 2000; Uallah i in., 2005). Auldist i in. (1995) badali zmiany w składzie mleka u krów z *mastitis* i zdrowych. Mleko krów cierpiących z powodu *mastitis* zawierało niższe stężenia tłuszczu, laktozy i potasu oraz wyższe stężenie sodu i chloru niż mleko zdrowych zwierząt (Auldist i in., 1995).

Laktoza stanowi ok. 4,6% wszystkich składników mleka zdrowych krów. Coulon i in. (2002) zaobserwowali obniżenie poziomu laktozy w mleku pochodzącym od chorych krów (Coulon i in., 2002; Månsson, 2008). Ogola i in. (2007) również stwierdzili niższą koncentrację laktozy w mleku krów z *mastitis* (Ogola i in., 2007). Istnieje kilka badań wskazujących na obniżenie zawartości laktozy w mleku chorych krów (Andreatta i in., 2007; O'Brien i in., 2001; Somers i in., 2003).

3.5.4 Wpływ *mastitis* na parametry rozrodu/płodność

Stan zapalny gruczołu mlekowego prowadzi do pobudzenia różnych typów mechanizmów ze strony układu immunologicznego i tym samym wpływa na nieprawidłowe wydzielanie hormonów i cytokin. Skutkiem tego może być nieprawidłowe funkcjonowanie układu rozrodczego poprzez zahamowanie owulacji, dojrzewania oocytów czy problemy z prawidłowym zagnieżdżeniem się wczesnego zarodka (Wang i in., 2021). Uwalniane reaktywne formy tlenu (ROS) w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego zmniejszają produkcję progesteronu. Ponadto ROS wpływają negatywnie na apoptozę komórek ciała żółtego i poprzez to na oocyty. W przebiegu stanu zapalnego uwalniane zostają cytokiny prozapalne stymulujące produkcję ROS i aktywują fosfolipazę A2, prowadząc do luteolizy (Smulski i in., 2020).

Istnieją badania, które udowadniają niekorzystny wpływ subklinicznej i klinicznej postaci *mastitis* na płodność i czynność jajników. Rahman i in. (2012) udowodnili, że zapalenie gruczołu mlekowego może prowadzić do zaburzeń czynności jajników. Zaobserwowano zmniejszenie łożyska naczyniowego i wzrost tkanki włóknistej oraz zmniejszenie poziomu białka GDF-9 w oocytach, co wpływa niekorzystnie na dynamikę folikulogenezy (Rahman i in., 2012).

Asaf i in. (2013) stwierdzili, że *mastitis* ma wpływ na kompetencje rozwojowe oocytów (Asaf i in., 2013). Furman i in. (2014) zaobserwowali zaburzenia funkcji pęcherzyków w jajnikach, zwłaszcza we wczesnych pęcherzykach antralnych z powodu rozwoju subklinicznego zapalenia gruczołu mlekowego (Furman i in., 2014). Herzog i in. (2012) wykazali, że bakteryjny lipopolisacharyd (LPS) wpływa na zmniejszenie wielkości ciała żółtego oraz obniża poziom progesteronu w osoczu krwi (Herzog i in., 2012). Nguyen i in. (2011) udowodnili, że wzrost SCC wpływa na wzrost częstości wystąpienia przedłużonej fazy lutealnej (Nguyen i in., 2011). Smulski i in. (2020) przeprowadzili badania, w których ocenili wpływ różnych terapii wspomagających leczenie *mastitis* u krów leczonych za pomocą antybiotyków na skuteczność zastosowanego leczenia, a także na wskaźniki płodności. Wyniki badań potwierdziły, że kliniczne zapalenie gruczołu mlekowego wpływa negatywnie na wskaźniki rozrodu. Ponadto stwierdzono, że zastosowanie terapii wspomagającej leczenie *mastitis* (np. przeciwutleniające) może poprawić płodność zwierząt (Smulski i in., 2020).

Wiele autorów donosi o negatywnym wpływie *mastitis* na układ rozrodczy i parametry rozrodu/ płodności, ale trudno jednoznacznie stwierdzić, czy toczący się proces zapalny w obrębie układu rozrodczego i jego następstwa są konsekwencją *mastitis*, czy też „nowego” (niezwiązanego z *mastitis*) zakażenia.

3.6 Czynniki środowiskowe związane z występowaniem *mastitis*

3.6.1 Czynniki środowiskowe

Wystąpienie klinicznego lub subklinicznego zapalenia gruczołu mlekowego czy wzrost liczby komórek somatycznych uzależnione jest od wpływów czynników genetycznych i środowiska. Czynniki genetyczne decydują jedynie w 5–10% o możliwości wystąpienia *mastitis*. Pozostały wpływ warunkują czynniki środowiska (Sender i Bagnicka, 2000). Istnieje wiele przyczyn wpływających na wzrost zachorowalności i zwiększenie ilości komórek somatycznych (będących jednym z przejawów rozwoju *mastitis*). Do najistotniejszych z nich należą:

3.6.1.1 Higiena doju

Odpowiednie warunki sanitarne wpływają na jakość mleka i zmniejszają prawdopodobieństwo wystąpienia stanu zapalnego gruczołu mlekowego u zwierząt. Do większości infekcji dochodzi w czasie doju (Beukuma i Galmessa, 2018). Krowy mogą być dojone ręcznie lub maszynowo. Bez względu na sposób przeprowadzania doju ważne jest, aby ręce i ubrania dojarza były czyste, a także sprzęt udojowy oraz służący do przechowywania mleka (Bekuma i Galmessa, 2018). Bhakat i in. (2017a) porównywali dój ręczny oraz maszynowy i wykazali, że podczas doju ręcznego wartości SCC w mleku były wyższe niż w przypadku doju maszynowego (Bhakat i in., 2017a).

Stan techniczny aparatury udojowej ma również ogromne znaczenie i może wpływać na zawartość komórek somatycznych w mleku. Wadliwa konstrukcja lub uszkodzenie dojarki może zwiększyć ryzyko wystąpienia infekcji gruczołu mlekowego oraz SCC wskutek uszkodzeń tkanek gruczołu mlekowego i strzyków. Podczas doju dochodzi do rozciągania tkanki strzyków, co powoduje mikropęknięcia w skórze. Skutkiem tego może być zwiększona produkcja keratyny, prowadząca do hiperkeratynozy, czyli przerostu warstwy rogowej kanału strzykowego. Hiperkeratynoza może przyczynić się do wystąpienia *mastitis*. Ponadto wnikanie patogenów do kanału strzykowego może sprzyjać kontakt strzyku z zanieczyszczoną powierzchnią gumy strzyku będącą częścią aparatu udojowego. Wysoki poziom podciśnienia (powyżej 50 kPa), podobnie jak zbyt niskie ciśnienie może również mieć negatywny wpływ na stan strzyków i przyczynić się do powstawania *mastitis*. (Beiser i in., 2016; Peris i in., 2003).

3.6.1.2 Typ i higiena obory

System utrzymywania bydła mlecznego ma wpływ na jakość otrzymywanego mleka. Obory wolnostanowiskowe charakteryzują się korzystniejszymi warunkami środowiska i nowoczesnym systemem doju w przeciwieństwie do obór uwięziowych, gdzie dój odbywa się przy stanowiskach legowiskowych, co sprzyja ryzyku wystąpienia *mastitis* (Bogucki i in., 2010). Kapela i Guliński (2007) porównywali wpływ systemu utrzymywania krów na jakość mleka. Krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej były hodowane w oborach uwięziowych oraz wolnostanowiskowych. Zaobserwowano, że mleko pochodzące od krów hodowanych w systemie uwięziowym charakteryzowało się wyższą liczbą komórek somatycznych w porównaniu do bydła utrzymywanego w oborach wolnostanowiskowych (Kapela i Guliński, 2007). Do podobnych wniosków doszli Bogucki i in. (2010). Mleko krów hodowanych w oborach uwięziowych zawierało więcej komórek somatycznych (Bogucki i in., 2010).

Niewłaściwa higiena bydła mlecznego jest związana ze wzrostem komórek somatycznych w mleku i ryzykiem rozwoju subklinicznego oraz klinicznego *mastitis*. Mleko pochodzące od krów z brudnymi nogami oraz wymieniem charakteryzowało się wyższymi wskaźnikami SCC. Obornik i wilgoć obecne w oborze sprzyja bytowaniu patogenów środowiskowych, wywołujących stany zapalne gruczołu mlekowego i wzrost komórek somatycznych w mleku krów (DeVries i in., 2012; Erdem i Okuyucu, 2019). Na wzrost liczby komórek somatycznych mleka mają wpływ: brud w oborze, brak wentylacji czy niewygodne stanowiska. Właściwe wyposażenie obory ma ogromne znaczenie. Dobór odpowiedniego legowiska czy boksu dla krowy mogą zapobiec urazom mechanicznym nóg i przez to wpływać na SCC w mleku. Do rozwoju *mastitis* mogą się także przyczyniać pogryzienia przez owady (Bhakat i in., 2017b; Fulwider i in., 2007).

3.6.1.3 Żywnienie zwierząt

Niewłaściwie żywienie krów może wpływać na wzrost komórek somatycznych w mleku i przyczyniać się do rozwoju stanu zapalnego gruczołu mlekowego. Zapewnienie zwierzętom odpowiednio zbilansowanej diety jest niezbędne dla utrzymania gruczołu mlekowego w dobrej kondycji zdrowotnej. Odpowiednia dieta ma na celu zaspokojenie potrzeb życiowych krów mlecznych na różnych etapach laktacji (O'Rourke, 2009). Zapotrzebowanie energetyczne krów w okresie przejściowym (od trzeciego tygodnia poprzedzającego wycielenie do samego dnia porodu) większa się o ok. 23% a możliwości pobrania paszy spada o 30-35% z powodu obniżenia apetytu. Skutkiem tego jest spadek bilansu energetycznego i zaburzenia metaboliczne (Włodarczyk i Budvytis, 2011). Krowy z ujemnym bilansem energetycznym są bardziej podatne na ketozę i poprzez to na *mastitis* (Leslie i in., 2000; Uyarlar i in., 2018). Leslie i in. (2000) zaobserwowali, że więcej krów z przedporodową ketozą zachorowało na kliniczne *mastitis* niż zwierzęta bez przedporodowej ketozy (Leslie i in., 2000). Do podobnych wniosków doszli dużo wcześniej Oltenacu i Ekesbo (1994), którzy stwierdzili, że kliniczna ketoza wiąże się z dwukrotnie większym wzrostem ryzyka wystąpienia klinicznego *mastitis* (Oltenacu i Ekesbo, 1994).

Na ryzyko wystąpienia *mastitis* wpływa również rodzaj zastosowanego systemu odżywiania zwierząt. Sobotka i in. (2011) porównując tradycyjny sposób odżywiania i TMR (*total mixed ration*), zaobserwowali niższe wartości SCC w mleku krów karmionych TMR (Sobotka i in., 2011). Ponadto nadmierne żywienie krów, jak i niedożywienie może wiązać się z większą skłonnością do pojawienia się stanów zapalnych (Sordillo i in., 2016).

Niedobory niektórych mikroelementów pokarmowych w okresie okołoporodowym są związane z częstością występowania *mastitis*. Niektóre witaminy i pierwiastki śladowe wspierają funkcje układu odpornościowego. Do pierwiastków śladowych i witamin mogących wpływać na zdrowie wymion należą: selen, witamina A i E, miedź, cynk i β -karoten (Sordillo i in., 2016). Niedobór witaminy E i selenu prowadzi do zaburzenia aktywności granulocytów. Suplementacja selenu i tokoferolu wpływa na zmniejszenie częstotliwości i skrócenie czasu trwania klinicznego *mastitis* (Hoque i in., 2016; Smith i in., 1997). Moyo i in. (2005) na podstawie przeprowadzonej metaanalizy (w latach 1984-2003) stwierdzili, że suplementacja witaminą E była związana z mniejszym ryzykiem wystąpienia klinicznego i podklinicznego *mastitis* u krów (Moyo i in., 2005). Niskie stężenia witaminy A i β -karotenu w osoczu wiązało się z nasileniem zapalenia gruczołu mlekowego (O'Rourke, 2009). Cope i in. (2009) wykazali, że suplementacja cynkiem zmniejszyła liczbę komórek somatycznych w mleku krowim (Cope i in., 2009). Machado i in. (2013) zaobserwowali, że suplementacja pierwiastków śladowych (mangan, selen, miedź i cynk) zmniejszała zawartość komórek somatycznych w mleku oraz częstość występowania *mastitis* u krów mlecznych (Machado i in., 2013).

Mleko pochodzące od krów zbyt chudych lub otluszczonych może zawierać więcej komórek somatycznych. Straten i in. (2009) donoszą, że podwyższona SCC w mleku krów jest związana z utratą masy ciała we wczesnej laktacji (Souissi i Bouraoui, 2019; van Straten i in., 2009). Ponadto wydajność mleczna krów oraz cechy mleczności korelują z kondycją ciała (Souissi i Bouraoui, 2019). BCS (ang. *body condition score*) ocenia proporcje tkanki tłuszczowej bydła i jest uznawany przez naukowców i producentów mleka za ważny czynnik w zarządzaniu stadem krów mlecznych (Roche i in., 2009). Związek między BSC i masą ciała (BW- ang. *body weight*) a zdrowiem wymienia jest sporny. Berry i in. (2007) przeanalizowali związek między BSC oraz masą ciała a zdrowiem wymienia. Zdrowie wymion oceniano za pomocą pomiaru zawartości komórek somatycznych i zdiagnozowanych, klinicznych przypadków *mastitis*. Zaobserwowano, że zwiększony BCS był związany ze zmniejszonym SCS u krów po pierwszym i drugim porodzie oraz zwiększonym SCS po trzecim i kolejnych porodach. BW również było związane z SCS. Zwiększona utrata masy ciała była związana z niższym SCS. Nie wykazano istnienia statystycznie istotnego związku między BSC a klinicznym *mastitis*, natomiast kilka zmiennych BW było związanych z kliniczną postacią choroby (Berry i in., 2007).

3.6.1.4 Pora roku i temperatura

Gwałtownie postępujące w ostatnim czasie zmiany klimatyczne powodują wydłużone występowanie okresów gorących w strefie umiarkowanej. Wysoka temperatura otoczenia oraz wilgotność wywołują u krów zmiany fizyczne, biochemiczne i biologiczne w odpowiedzi na stres cieplny. Stres termiczny zmniejsza produkcję mleka oraz wpływa na obniżenie wskaźników reprodukcji, a także obniża odporność. Skutkiem tego jest zwiększenie częstości występowania stanów zapalnych gruczołu mlekowego i pojawienie się większej liczby komórek somatycznych w mleku. Stres termiczny zmniejsza zdolność do fagocytozy i zaburza proces wybuchu tlenowego komórek PMN (Hammami i in., 2013; Rakib i in., 2020).

Dokładne badania dotyczące stresu termicznego zostały przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych. Norman i in. (2000) zaobserwowali, że liczba komórek somatycznych jest wyższa w południowo-zachodnich regionach kraju, a mniejsza w stanach zachodnich. Co więcej, SCC było wyższe od lipca do sierpnia, a mniejsze od października do stycznia (Norman i in., 2000).

3.6.1.5 Stan fizjologiczny

Większość przypadków *mastitis* występuje w okresie laktacji, często zaraz po wycieleniu (Hillerton i Berry, 2005). SCC wzrasta wraz z wiekiem i stopniem zaawansowania laktacji (Sumon i in., 2020a). Mleko pochodzące od pierwiastek charakteryzuje się niższym SCC niż wieloródek. Ponadto pierwiastki produkują mniej mleka niż starsze krowy (Alhussieni i Dang, 2018). Sebastino i in. (2020) zaobserwowali istnienie statystycznie istotnego związku między liczbą porodów (laktacji) i stadium laktacji wyrażone jako DIM (ang. *day in milk*) a SCC u bydła mlecznego. Wykazali, że SCC wzrastał wraz z liczbą porodów i stadium laktacji (Sebastino i in., 2020). Sabuncu i in. (2013) również wykazali, że SCC i częstość zachorowań na kliniczne *mastitis* wzrasta z wiekiem (liczbą porodów) (Sabuncu i in., 2013). Inna grupa naukowców stwierdziła, że odporność gruczołu mlekowego pierwiastek jest wyższa niż u wieloródek przez wszystkie stadia laktacji (Dang i in., 2014).

Istnieje korelacja między SCC a stadium laktacji (Alhussieni i Dang, 2018). Sheldrake i in. (1983) zaobserwowali, że wartości średniej SCC wzrosły z 80000 komórek/ ml mleka w 35 dniu połoгу do 160000 komórek/ ml mleka w 285 dniu po porodzie (Sheldrake i in., 1983). Singh i Ludri (2001) również sugerowali, że SCC był wyższy w późniejszych etapach laktacji (Singh i Ludri, 2001).

Wahania SCC mogą wynikać z tzw. efektu rozcieńczenia, czyli zwiększenia koncentracji komórek somatycznych w mleku na skutek obniżenia ilości wydzielanego mleka. Rzeczywista liczba komórek somatycznych może pozostać bez zmian (Harmin, 1994).

Siara jest wydzieliną gruczołu mlekowego o dużej koncentracji składników odżywczych i biologicznie czynnych niezbędnych do prawidłowego rozwoju cieląt. Akumulowana jest w końcowej fazie ciąży i w pierwszych dniach po ociełeniu. Składniki siary wspomagają pracę układu hormonalnego i immunologicznego (Puppel i in., 2019). Liczba komórek somatycznych jest wskaźnikiem jakości siary. Wskaźniki SCC są najwyższe w siarze, a najniższe w 9-10 tygodniu w mleku (Alhussieni i Dang, 2018).

3.6.1.6 Stres

Stres różnego pochodzenia powoduje wzrost liczby komórek somatycznych w mleku. Stresory napotkane przez zwierzęta podczas ich hodowli, pielęgnacji czy rutynowej obsługi może niekorzystnie wpływać na układ odpornościowy (Burdick i in., 2011; Harmin, 1994). Yagi i in. (2004) donoszą, że stres związany z transportem bydła mlecznego może wpływać na zwiększenie ilości SCC w wydzielanym mleku (Yagi i in., 2004). Mleko krów trzymanyh w zamkniętym systemie zawiera więcej komórek somatycznych niż hodowanych w systemie pastwiskowym (Fontaneli i in., 2005).

Zaobserwowano, że zwiększony poziom stresu jest związany z ostrzejszym temperamentem i nerwowością u bydła. Temperament może zmniejszać odporność immunologiczną na infekcje. Ponadto, bydło o większym temperamencie ma większą skłonność do zadawania obrażeń innym zwierzętom czy autoagresji. Zatem istnieje związek między reakcją na stres, temperamentem a odpornością u bydła (Burdick i in., 2011). Hałas czy wibracje odczuwane przez krowy w czasie doju również mogą być czynnikami stresogennymi. Gygax i Nosal (2006) przeanalizowali wpływ hałasu i wibracji na SCC u bydła mlecznego. Wykazano, że liczba komórek somatycznych wzrastała wraz z intensywnością wibracji, ale nie z hałasem. SCC obniżyły się po modyfikacji systemu udoju w celu redukcji hałasu i wibracji (Gygax i Nosal, 2006).

3.7 Czynniki genetyczne związane z występowaniem *mastitis*

Zmiana sposobu zarządzania stadem w oparciu o poprawę warunków środowiskowych jak do tej pory, mimo znacznego postępu technologicznego oraz rozwoju wiedzy nie była w stanie całkowicie czy przynajmniej w znaczący sposób wyeliminować zachorowalności na *mastitis* w stadzie. Konieczne jest zatem postępowanie dwutorowe: doskonalenie środowiska

i jednocześnie zwrócenie uwagi na genetyczne podłoże choroby w pracy hodowlanej (Sender, 2002).

3.7.1 Rasa

Rasa holsztyńska jest najbardziej rozpowszechnioną rasą krów mlecznych na świecie i coraz częściej wypiera rodzime gatunki bydła mlecznego w aspekcie produkcji mlecznej ze względu na ich wysoką wydajność (Zadoks i Fitzpatrick, 2009). Mleko pochodzące od wysokowydajnych ras bydła charakteryzuje się zazwyczaj większymi wartościami SCC, ponieważ wysokomleczne krowy narażone są na stres związany z produkcją mleka, co prowadzi do spadku odporności i wzrostu SCC w mleku (Alhussieni i Dang, 2018). Walsh i in. (2007) porównując mleko, pochodzące od kilku ras bydła mlecznego wskazał, że najwyższymi wskaźnikami SCS charakteryzowało się mleko od krów holsztyńskich (Walsh i in., 2007). Typ rasy wpływa na kształt i wielkość strzyków. Zaobserwowano wyższe wskaźniki SCC w mleku pochodzącym od krów o krótszych strzykach i o większej średnicy kanału strzykowego (Alhussieni i Dang, 2018).

3.7.2 Dziedziczenie cech ilościowych i genetyczne podłoże *mastitis*

Wiele cech ważnych z punktu widzenia ekonomicznego są cechami ilościowymi i wykazują poligeniczny sposób dziedziczenia (Du i in., 2015). Należy do nich także odporność/podatność na *mastitis* u krów mlecznych. Osiągnięcia genetyki populacyjnej i molekularnej w znaczącym stopniu przyczyniły się do projektowania nowych strategii hodowlanych dla cech złożonych, które są bardziej skuteczne od tradycyjnej selekcji fenotypowej (Cooper i in., 2005).

Zrozumienie dziedziczenia cech ilościowych wymaga stworzenia systemowego modelu współdziałania genów. Stosowany dotychczas model zakłada proste sumowanie efektów genów i niestety nie odzwierciedla w pełni naturalnego mechanizmu dziedziczenia. Bardzo trudno prześledzić sposób dziedziczenia odporności na *mastitis* z powodu istnienia nieaddytywnych interakcji między genami takich jak: dominacja, epistaza, modyfikacje epigenetyczne oraz interakcje genu ze środowiskiem (Cooper i in., 2005; Hill i in., 2008; Lopes i in., 2015; Wojdak-Maksymiec i in., 2013).

Określenie poziomu zmienności genetycznej cechy jest ważne w przewidywaniu konsekwencji selekcji w populacji. Wskaźnikiem tej zmienności jest odziedziczalność wyrażana jako stosunek zmienności genetycznej do zmienności ogólnej/fenotypowej. Wysoka odziedziczalność wskazuje, że większość zmienności obserwowanej w badanej populacji jest powodowana przez większy udział zmienności genotypowej w kształtowaniu się

różnorodności określonej cechy i w związku z tym prowadzenie selekcji genetycznej w takim przypadku może przynieść efekty. Niska odziedziczalność wskazuje, że zmienność środowiska miała większy wpływ na zmienność cechy (Hill i in., 2007; Peaston i Whitelaw, 2006; Visscher i in., 2008; Wojdak-Maksymiec i in., 2013).

Odziedziczalność cech odporności na *mastitis* oscyluje w zakresie od 2 % do 10%. SCS, który jest genetycznie skorelowany z *mastitis*, ma wyższą odziedziczalność mieszczącą się w granicach 17% (Thompson-Crispi i in., 2014). Badania przeprowadzone przez Jattawa i wsp. (2012) wykazały, że odziedziczalność SCC (która została przekształcona logarytmicznie – $\ln SCC$) wynosi 0,12 (Jattawa i in., 2012). Natomiast Kadarmideen i Pruce (2001) zaobserwowali, że odziedziczalność CM wynosi 0,034, a SCM – 0,120 (Kadarmideen i Pruce, 2001). Z kolei Lund i in. (1994) wykazali, że odziedziczalność klinicznego *mastitis* wynosi 0,011-0,025, natomiast dla SCC wynosi 0,18 (Lund i in., 1994). Koenen i in. (1994) oszacował odziedziczalność *mastitis* na poziomie $0,083 \pm 0,030$ (Koenen i in., 1994).

3.7.3 Doskonalenie genetyczne odporności bydła mlecznego na *mastitis*

Poprawa wydajności mlecznej i jakości mleka, która została dokonana w ostatnich dziesięcioleciach, mogła przyczynić się do pogorszenia płodności krów i zdrowotności wymienia. Wiadomo, że istnieje niekorzystna korelacja genetyczna pomiędzy wydajnością mleczną a odpornością na *mastitis* (Brajnik i Ogorevc, 2023). Zapewnienie odpowiednich warunków środowiskowych pozwala zniwelować w pewnym stopniu niekorzystne następstwa zbyt intensywnie prowadzonej selekcji, ale nie eliminuje całkowicie problemu. Poprawa odporności na choroby jest zatem uważana za jeden z kluczowych celów w nowoczesnych programach hodowlanych (Brajnik i Ogorevc, 2023).

Obecne metody selekcji genetycznej mające na celu poprawę odporności na *mastitis*, mogą być realizowane albo w kierunku ograniczania liczby występowania klinicznych przypadków *mastitis* (metoda bezpośrednia) lub w kierunku obniżenia SCC (metoda pośrednia). Większość krajów, w tym Polska, w pracy hodowlanej zmierza do obniżenia liczby komórek somatycznych w mleku. Wyjątek stanowią kraje Skandynawskie, które skupiają się na ograniczeniu liczby przypadków zachorowań na kliniczną postać choroby. Jednak metoda ta nie jest szeroko stosowana, ponieważ kliniczne *mastitis* ma niższą odziedziczalność (0,02 do 0,05) niż SCC. Problemy związane z takim podejściem obejmują też potrzebę dokładnego rejestrowania i diagnozowania każdego przypadku klinicznego *mastitis* (Jattawa i in., 2012; Thompson-Crispi i in., 2014). Metoda ta jest w dużym stopniu

subiektywna, wymaga też dużej świadomości, dyscypliny i konsekwencji właścicieli zwierząt w rejestracji przypadków.

Od późnych lat 70 XX wieku SCC jest powszechnie stosowany w programach hodowlanych na całym świecie jako fenotypowy wskaźnik występowania *mastitis*. Uznawany jest za bardziej obiektywny, niezależny od uznania właściciela zwierząt, jego doświadczenia i sumienności. Wzrost SCC spowodowany jest rekrutacją leukocytów do ogniska stanu zapalnego w odpowiedzi na infekcję gruczołu mlecznego. Pomiar liczby komórek somatycznych jest tańszy oraz szybszy niż bezpośrednie oceny bakteriologiczne zapalenia gruczołu mlecznego. SCC jako wskaźnik odzwierciedla zarówno przypadki subkliniczne, jak i kliniczne choroby. Ponadto nie wymaga wprowadzenia nowego systemu rejestracji danych, ponieważ próbki mleka są rutynowo pobierane i analizowane (Martin i in., 2018). Próbki mleka badane są co miesiąc zatem istnieje możliwość „przeoczenia” przypadku *mastitis* w okresie pomiędzy pobraniami lub w okresie zasuszenia, kiedy mleko nie jest pobierane. Wartości SCC nie mają rozkładu normalnego i w związku z tym istnieje konieczność jego transformacji do skali logarytmicznej (SCS) (Weigel i Shook, 2018).

3.7.4 Markery genetyczne

Zaledwie niewielką część DNA genomowego stanowią geny. Znaczną część genomu stanowią sekwencje niekodujące, których rola nie jest dokładnie znana. Markery genetyczne można traktować jako punkty orientacyjne w genomie. Zatem uściślając, marker genetyczny to polimorficzna sekwencja DNA o znanej lokalizacji na chromosomie, które mogą być przekazywane z jednego pokolenia do następnego. Identyfikacja takich markerów opiera się na testach molekularnych (np. PCR). Istnieją różne rodzaje markerów genetycznych, które wykorzystywane są do analizy zmienności organizmu, np. polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP – ang. *single nucleotide polymorphism*), polimorfizm insercyjno-delecyjny, polimorfizm krótkich powtórzeń tandemowych STR (ang. *short tandem repeats*) czy zmienna liczba powtórzeń tandemowych (VNTR – ang. *variable number of tandem repeats*). (Brodowska-Wójcik i in., 2017; Moniruzzaman i in., 2014).

Istnieją dwa główne podejścia poszukiwania markerów – metoda genów kandydujących oraz metoda wskazania lokalizacji QTL (ang. *quantitative trait loci*). Metoda genów kandydujących poszukuje polimorfizmów (np. SNPs) genów związanych funkcjonalnie z daną cechą fenotypową (Sender i in., 2013).

Wykrywanie QTL jest często wczesnym etapem identyfikacji rzeczywistych genów wpływających na zmienność danej cechy, czyli genów kandydujących do miana markera

(Abiola i in., 2003). Zdarza się, że znalezione fragmenty sekwencji DNA nie wpływają bezpośrednio na kształtowanie danej cechy, a jedynie znajdują się w bliskiej odległości od *locus* zawierającego allel realnie wpływający na kształtowanie danej cechy (Dekkers, 2004; Wakchaure i in., 2015).

Wykrywanie QTL nie wymaga żadnej wcześniejszej wiedzy na temat genów i może być przeprowadzone przy zastosowaniu metody GWAS (ang. *genome-wide association study*). Metoda GWAS polega na przeszukiwaniu całego genomu dużej liczby osobników w celu wyszukiwania fragmentów sekwencji DNA statystycznie związanych z daną cechą fenotypową. Metoda GWAS odniosła spory sukces w identyfikacji alleli, głównie SNP, związanych z powszechnie występującymi chorobami. Przeprowadzono wiele badań asocjacyjnych całego genomu (GWAS) bydlą w celu lokalizacji QTLs związanych z odpornością czy podatnością na zapalenie gruczołu mlecznego. Odporność na *mastitis* była badana za pomocą wskaźników pośrednich takich jak SCC lub SCS lub klinicznych przypadków zachorowań na *mastitis* (Raza i in., 2020; Ren i in., 2023; Sharma i in., 2015; Sender i in., 2013). W ostatnich latach zidentyfikowano wiele QTLs u bydląt związanych z *mastitis*. QTLs związane z zapaleniem gruczołu mlecznego oraz z cechami produkcji mlecznej są na bieżąco aktualizowane w obszernej bazie Cattle Quantitative Trait Locus (<https://www.animalgenome.org>).

3.7.4.1 Przykłady genów kandydujących

Poszukiwanie markerów metodą genów kandydujących skupia się na analizie genów, które są związane funkcjonalnie z daną cechą fenotypową, np. *mastitis*. W tym podejściu wykorzystuje się wiedzę na temat funkcji produktu danego genu i szukaniu w jego obrębie polimorfizmu, który może kontrolować zmienność cechy. W przypadku *mastitis* ze względu na istnienie złożonych mechanizmów genetycznych przyczyniających się do zmienności cechy, proponowano bardzo wiele różnych genów, ale większość badań koncentruje się na genach, których produkty uczestniczą w mechanizmach odporności (Sender i in., 2013).

3.7.4.1.1 Elementy odporności działające jak antybiotyki (elementy ziarnistości neutrofilii)

Wiele badań wskazuje na istnienie statystycznie istotnych asocjacji między genem *LTF*, kodującym laktoferynę a *mastitis* u bydląt (Wojdak-Maksymiec i in., 2006; Wojdak-Maksymiec i in., 2013). Istnieją dowody na związek defensyn z *mastitis*. Bagnicka i in. (2007) przeanalizowali asocjacje w genie kodującym β -defensyny i wykazali istnienie statystycznie istotnego związku między analizowanym genem a liczbą komórek

somatycznych w mleku oraz niektórymi cechami użytkowości mlecznej (Bagnicka i in., 2007). Inne badania przeprowadzone przez Ryniewicz i in. (2003) wskazują, że analizowane polimorfizmy genów kodujących β -defensyny można stosować z powodzeniem w programach selekcji bydła mlecznego (Ryniewicz i in., 2003). Wskazano, że geny kodujące katelicydyny (*CATH4*, *CATH5* i *CATH6*), transferryiny czy lizozym również są związane z *mastitis* (Chen i in., 2013; Ju i in., 2011; Kościuczuk i in., 2011).

3.7.4.1.2 Mediatory i cytokiny prozapalne

Wiele badań wskazuje na asocjacje między genem kodującym interleukinę 8 czy 6 oraz receptor dla interleukiny 8 a *mastitis* u bydła. (Chen i in., 2014; Galvão i in., 2011; Muhagheh-Dolatbady, 2014; Ridhowi i in., 2017; Stanisławczyk i Wojdak-Maksymiec, 2018; Youngerman i in., 2004). Badania przeprowadzone na 810 chińskich krowach rasy holsztyńskiej przez Chen i wsp. (2014) wykazały SNP -105G> A w genie *IL-8* może mieć wpływ na *mastitis*. Analiza statystyczna wykazała znaczącą asocjację między badanym SNP a somatic cell score (SCS). Genotyp GA i AA miały znacząco wyższy SCS niż genotyp GG. Dodatkowo w tych samych badaniach badano poziom ekspresji mRNA tego samego genu. Najwyższy poziom ekspresji mRNA został odnotowany u osobników o genotypie GG, a najniższy u zwierząt heterozygotycznych (GA) (Chen i in., 2014). Wojdak-Maksymiec i in. (2013) wykazali asocjacje między genem kodującym czynnik martwicy nowotworów (TNF- α) i *mastitis* (Wojdak-Maksymiec i in., 2013). Ranjan i in. (2015) wykazali asocjacje między fragmentem genu TNF- α (239 pz) a *mastitis* u krów (Ranjan i in., 2015).

3.7.4.1.3 Elementy układu immunologicznego zaangażowane w rozpoznanie i prezentację antygeny

Wiele badań potwierdza istnienie asocjacji między genem kodującym TLR2, TLR4, TLR6 i *mastitis* u bydła (Chu i in., 2009; Huang i in., 2011; Bai i in., 2015; Morales i in., 2017; Noori i in., 2013; Prebavathy i in., 2015; Ranjan i in., 2018; Razak i in., 2015; Sharma i in., 2006; Sentitula i in., 2011; Wang i in., 2014; Zhang i in., 2009).

Analiza asocjacji pomiędzy polimorficznymi wariantami genu *TLR2* (T385G, G398A i G1884A) a SCS wykazała istnienie statystycznie istotnych związków pomiędzy analizowanym polimorfizmem (T385G) a SCS. W przypadku pozostałych polimorfizmów takich związków nie wykazano (Zhang i in., 2009).

Wang i in. (2014) wytypowali gen *TLR4* jako gen kandydujący odporności na *mastitis* i przeprowadzili badania na 404 krowach 3 różnych ras- chińskie holsztyńskie, Sanhe oraz chińskie Simmental. Oszacowano statystyczne związki pomiędzy zrekonstruowanymi

haplotypami a SCS w mleku. Badania ujawniły, że Hap2, Hap4 i Hap12 mogą być niekorzystnie powiązane z SCS, natomiast Hap13 może wykazać pozytywny wpływ na analizowaną cechę (Wang i in., 2014).

Baltian i in. (2012) przeprowadzili badania, których celem było ustalenie związków między allelami genu *BoLA-DRB3* a SCC u krów rasy holsztyńskiej. Wyniki badań wskazały istnienie statystycznych związków między *BoLa-DRB3.2*, *BoLa-DRB3.23* i *BoLa-DRB3.25* a wysokim poziomem SCC (Baltian i in., 2012).

Komórki T CD4⁺ odgrywają kluczową rolę w prezentacji antygeny. He i in. (2011) przeprowadzili badania na chińskich holsztyńkach w celu wykrycia asocjacji między polimorfizmami w genie *CD4* a SCS. Wyniki badań wykazały istnienie asocjacji między analizowanym polimorfizmem (g.13598C> T) a SCS (He i in., 2011).

3.7.4.1.4 Elementy układu immunologicznego działające jako antyoksydanty

Neutrofilowy czynnik cytozolowy 4 (NCF4) wchodzi w skład kompleksu oksydazy fosforanowej dinukleotydu nikotyn amidowego (nicotinamide dinucleotide phosphate oxidase complex), który pełni ważną rolę w wielu szlakach metabolicznych oraz we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Przeprowadzone badania ujawniły większy poziom mRNA *NCF4-TV* w tkankach gruczołu mlecznego chorych krów niż w przypadku zdrowych krów (Ju i in., 2015).

Innym genem kandydującym do miana markera odporności na *mastitis* był gen kodujący lektoperoksydazę (*LPO*). Wykonano badania, w których porównywano poziom mRNA *LPO* u zdrowych i chorych bawołów. Wykazano o 2,41 razy większy poziom ($P = 0,097$) mRNA tego genu u chorych niż u zdrowych bawołów (Stella i in., 2018).

3.7.5 Zastosowanie markerów genetycznych w selekcji

3.7.5.1 Selekcja wspomagana markerami (MAS)

Niektóre markerowe sekwencje DNA związane z podatnością czy odpornością na *mastitis* mogą przyczynić się do postępu w doskonaleniu tej cechy. Informacje dotyczące markerów pomagają ocenić wartość hodowlaną osobnika (Flint i Mott, 2001; Khatkar i in., 2004; Wakchaure i in., 2015).

Jednym ze sposobów wybierania osobników przeznaczonych do rozrodu jest selekcja wspomagana markerami (MAS - ang. *marker assisted selection*), w której cecha będąca przedmiotem zainteresowania jest oceniana metodami konwencjonalnymi i jednocześnie bierze się pod uwagę genotypy wybranych markerów związanych z tą cechą. Zastosowanie

MAS ma sens, gdy markery są silnie skorelowane z pożądanym fenotypem. Na przykład Pongpisantham (1994) stwierdził, że selekcja oparta na markerach może zwiększyć do 15% odpowiedź genetyczną na selekcję pod kątem tempa wzrostu w populacji kurczaków i tym samym zwiększyć wiarygodność wyceny wartości hodowlanej osobników (Pongpisantham, 1994; Wakchaure i in., 2015). Metoda MAS wykorzystuje markery molekularne, chociaż pierwszymi markerami, które umożliwiły zastosowanie tego rodzaju selekcji, były markery morfologiczne (Dekkers i Hospital, 2002).

Istnieją dwa główne rodzaje markerów wykorzystywanych w ramach MAS – *linked markers* (markery pośrednie) oraz *direct markers* (markery bezpośrednie). Pierwszy rodzaj markerów występuje w nierównowadze sprzężeń z analizowanym polimorfizmem, co oznacza, że dziedziczone są zazwyczaj razem. Korzystając z tego rodzaju markerów, można ustalić przybliżoną lokalizację polimorfizmu, będącego przedmiotem zainteresowania. Wykorzystanie tego rodzaju markerów nie jest pozbawione wad, ponieważ pomiędzy interesującym nas *loci* a markerem może zajść zjawisko rekombinacji genetycznej (*crossing-over*). Identyfikacja tego rodzaju markerów może być tańsza niż *direct markers* i można ją zastosować, gdy identyfikacja markera bezpośredniego jest problematyczna (Dekkers, 2004; Robinson, 1998; Weller i Ron, 2011). Drugi rodzaj markerów (*direct marker*) jest częścią interesującego nas genu, czy fragmentu DNA. Taki marker może być z powodzeniem wykorzystywany w programach hodowlanych, ponieważ możemy przewidzieć z niemalże 100% dokładnością, które zwierzęta odziedziczą pożądaną wariant interesującego nas genu (Dekkers, 2004; Kinghorn, 2000).

Poszukiwanie markerów, które można by wykorzystać w selekcji MAS, obejmuje analizę *direct marker* (występującego w obrębie genów o znanej funkcji czy fragmentów niekodującego DNA) lub *linked marker* i sprawdzenie, czy istnieje silny związek pomiędzy danym markerem a interesującą nas cechą oraz określenie, które allele korzystnie korelują z interesującą nas cechą. Na kolejnym etapie badań należy wyizolować DNA od osobników z danej populacji na wczesnym stadium rozwoju i poddać wyekstrahowane DNA testom molekularnym w celu identyfikacji alleli danego genu lub genów. Następnie, w oparciu o wyniki badań laboratoryjnych należy wybrać rodziców następnego pokolenia na podstawie posiadanych przez nich korzystnych wariantów genów (Kinghorn, 2000; Moniruzzaman i in., 2014).

MAS może być stosowana w celu ulepszenia cech o stosunkowo niskiej odziedziczalności. Lande i Thompson (1990) udowodnili, że w przypadku cechy o niskiej odziedziczalności (0,025) MAS przyniosła lepszy rezultat niż tradycyjna selekcja

(Krishnappa, 2021; Lande i Thompson, 1990; Wakchaure i in., 2015). MAS umożliwia dokładniejszą selekcję, na którą nie wpływają czynniki środowiskowe (Reshma i Das, 2021). Istnieje zgodność co do tego, że sukces danego rodzaju selekcji zależy od rodzaju cechy jej podlegającej. Jeśli interesująca nas cecha jest trudna do zarejestrowania, zmierzenia (np. odporność na choroby), to zastosowanie MAS może przynieść większe korzyści niż selekcja tradycyjna. Podobnie jest w przypadku cech, które są warunkowane płcią lub mogą być zmierzone w późnym wieku osobnika. (Moniruzzaman i in., 2014; Wakchaure i in., 2015). Oszacowanie efektów addytywnych i nieaddytywnych (epistaza, dominacja), oraz interakcji genotyp x środowisko markerów wykorzystywanych w MAS wydają się być łatwiejsze niż w przypadku selekcji genomowej, w której wykorzystywanych jest od 10000 do 800000 SNPs (Dezfouli, 2023; Gimelfarb i Lande, 1994; Varona i in., 2018).

Ograniczeniem tej metody jest koszt genotypowania wielu prób oraz konieczność posiadania pełnej informacji fenotypowej o wszystkich analizowanych osobnikach. Zatem koszty przeprowadzenia takiego rodzaju selekcji są stosunkowo wysokie, ponieważ oprócz wydatków związanych z wykorzystaniem testów molekularnych należy wziąć również pod uwagę koszty związane konwencjonalną oceną wartości użytkowej. Stosowanie MAS wymaga dobrej znajomości genetycznych wariantów uwzględnianych genów. Pracochłonność oraz czasochłonność analiz stanowią kolejną wadę metody. Następnym ograniczeniem MAS jest możliwość charakterystyki niewielkiej liczby genów związanych z badaną cechą. Ponadto, szacunki wartości hodowlanej opierają się jedynie o oddziaływania zachodzące pomiędzy kilkoma analizowanymi genami, a nie pomiędzy wszystkimi genami czy fragmentami genomu, które mogą bezpośrednio lub pośrednio wpływać na kształtowanie się danej cechy. Badania wyjaśniają jedynie część zmienności genetycznej danej cechy (Krishnappa, 2021; Moniruzzaman i in., 2014; Pachota i in., 2016; Wakchaure i in., 2015).

3.7.5.2 Selekcja genomowa

Selekcja genomowa (GS - ang. *genomic selection*), jako nowsza koncepcja, jest metodą selekcji, w której wartość hodowlana szacowana jest tylko na podstawie genomu. Zatem podstawą decyzji o selekcji są wyniki otrzymane w oparciu o bardzo bogatą pulę markerów DNA związanych z daną cechą, które wpływają na wartość hodowlaną osobnika. Zastosowanie GS stało się możliwe dzięki identyfikacji dużej liczby SNPs za pomocą technik sekwencjonowania całego genomu oraz nowoczesnym metodom wydajnego genotypowania dużej liczby SNPs (mikromacierze) (Goddard i Hayes, 2007; Kamiński, 2012; Krishnappa, 2021; Pachota i in., 2016; Zenger i in., 2019).

Zaletą GS jest uwzględnienie przy ocenie wartości hodowlanej całkowitej złożoności oddziaływań między genami w całym genomie, a nie tylko wybranych genów, jak w przypadku MAS. Podczas GS identyfikuje się setki tysięcy, a nawet miliony sekwencji, w tym również *loci* o niewielkich efektach, które są pomijane przez MAS. Kolejną zaletą jest możliwość zautomatyzowania genotypowania dzięki zastosowaniu mikromacierzy DNA (Kamiński i in., 2012; Pachota i in., 2016). Brak konieczności posiadania czy zbierania danych fenotypowych dotyczących wszystkich osobników i ich krewnych jest kolejną zaletą metody. Dane fenotypowe są zbierane jedynie dla populacji referencyjnej. Ponadto GS zmniejsza odstęp pokoleniowy, ponieważ genotyp osobnika można stwierdzić już na bardzo wczesnym etapie. GS nie wymaga znajomości genu i jego produktu (Ibtisham i in., 2017; Krishnappa, 2021).

Wadą tego rodzaju selekcji jest konieczność stworzenia populacji referencyjnych dla każdej rasy, która musi być stale „aktualizowana” w celu prognozowania genomycznego (Meuwissen i in., 2016).

3.8. Autofagia

Autofagia jest ewolucyjnie konserwatywnym procesem. Występuje we wszystkich komórkach eukariotycznych (począwszy od drożdży a skończywszy na ssakach). Autofagia to proces samodegeneracji, który jest ważny dla utrzymywania zrównoważonego poziomu energii w krytycznych momentach rozwoju organizmu, a także w warunkach niedostatecznego odżywiania. Odgrywa ważną rolę porządkową w usuwaniu uszkodzonych organelli komórkowych (mitochondria, retikulum endoplazmatyczne, peroksysomy), białek oraz eliminowaniu patogenów wewnątrzkomórkowych. Autofagia promuje również starzenie się komórek i prezentację antygenów powierzchniowych komórki, chroni przed niestabilnością genomu i zapobiega martwicy. Zapobiega powstawaniu i rozwojowi takich chorób jak rak, neurodegeneracja, kardiomiopatia, cukrzyca, choroby wątroby, choroby o podłożu autoimmunologicznym oraz infekcje (Dereń-Wagemann i in., 2013; Glick i in., 2010).

3.8.1 Mechanizm działania i rodzaje autofagii

Za odkrycie mechanizmów procesów autofagii 3 października 2016 r. przyznano nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny dla Yoshinori Ohsumi. Autofagia może zostać zainicjonowana przez głód aminokwasowy, obniżony poziom insuliny, obniżony poziom ATP i hipoksję. Indukcja autofagii prowadzi do uformowania się pęcherzyka błonowego, zwanego fagoforem. Nowopowstały pęcherzyk opłaszcza wybrany do usunięcia

obszar cytoplazmy, co prowadzi do powstania autofagosomu. Następnie po dołączeniu lizosomu, rozpoczyna się trawienie, a składniki ze zniszczonych organelli komórkowych mogą być ponownie wykorzystywane w różnym celu, np. do pozyskiwania energii dla przeprowadzania wewnątrzkomórkowych syntez. Wyróżnia się cztery rodzaje autofagii: makroautofagię, mikroautofagię, peksofagię (autofagia specyficzna) i autofagię zależną od chaperonów (Ichimiya i in., 2020; Levine i Klionsky, 2017; Niedźwiedzka-Rystwej i Deptuła, 2009).

Makroautofagia polega na otoczeniu przez pęcherzyk błonowy i zamknięciu w swoim wnętrzu organelli komórkowych przeznaczonych do usunięcia. Mikroautofagia dotyczy usuwania jedynie niewielkich składników komórki. Autofagia zależna od chaperonów wymaga obecności białek opiekuńczych (chaperonów), które pomagają w dostarczaniu pojedynczych białek cytoplazmy do lizosomu. Peksofagia to usuwanie peroksysomów. Zjawisko autofagii regulowane jest za pomocą swoistego zestawu genów kodujących katepsyny, czyli białka indukujące oraz regulujące cały proces. Ponadto wspiera mechanizmy odporności swoistej i nieswoistej. Aktywację tego procesu zaobserwowano w infekcjach bakteryjnych oraz wirusowych (Niedźwiedzka-Rystwej i Deptuła, 2009).

3.8.2 Charakterystyka wybranych genów i ich produktów uczestniczących w procesie autofagii

Produkty wybranych genów uczestniczą na poszczególnych etapach procesu autofagii, począwszy od inicjacji całego procesu, skończywszy na degradacji biomateriałów w lizosomach.

3.8.2.1 Gen *SH3GLB1* kodujący endofilinę B1

3.8.2.1.1 Charakterystyka ogólna endofiliny B1

Endofiliny są konserwatywną ewolucyjnie rodziną białek. Główną rolą endofilin jest udział w procesach związanych z dynamiką błon wewnątrzkomórkowych. Wyróżniamy endofilinę A i B. Endofiliny A zidentyfikowano w 1997 roku, natomiast endofiliny B w 2000 roku (Kjaerulffa i in., 2011; Takahashi i in., 2009).

Zidentyfikowano 3 rodzaje endofilin A (endofilina A1-3) i dwa rodzaje endofilin B (endofilina B1/SH3GLB1 oraz endofilina B2/SH3GLB2) u ssaków. Endofilina B1 zlokalizowana została w cytoplazmie i bierze udział w regulacji dynamiki błon aparatu Golgiego, mitochondriów oraz autofagosomów. Białka z rodziny endofilin posiadają domenę N-BAR na końcu aminowym i domenę SH3 na końcu karboksylowym. Domena SH3 jest

istotna w czasie tworzenia kompleksu z białkiem zawierający region bogaty w prolinę, natomiast domena N-BAR wspomaga wiązanie się z błonami oraz wpływa na ich krzywiznę. Co więcej, domena N-BAR ułatwia endofilinom dimeryzowanie ze sobą (Kjaerulff i in., 2011; Takahashi i in., 2009).

3.8.2.1.2 Rola endofiliny B1 w procesie autofagii i mechanizmach odporności

Endofilina B1 tworzy kompleks z Beclina 1 poprzez UVRAG (ang. *UV Radiation Resistance Associated*). Kompleks ten zwiększa aktywność kinazy lipidowej PI3KC3 i usprawnia proces formowania się autofagosomów. Badania przeprowadzone przez Takahashi i in. (2007) wykazały, że tworzenie autofagosomów było zahamowane w komórkach z niedoborem endofiliny B1. Ponadto endofilina B1 i białko Beklina 1 biorą udział w powstawaniu błony fagoforu (nukleacji). Endofilina B1 wiążąc się z lipidami, indukuje krzywiznę błony. Zatem przypuszcza się, że endofilina B1 oddziałuje z Beclina 1 poprzez UVRAG i reguluje tym samym nukleację pęcherzyków poprzez indukowanie krzywizny błony. Poza tym endofilina B1 jest zaangażowana w proces apoptozy i nowotworzenia (Kjaerulff i in., 2011; Takahashi i in., 2007).

3.8.2.1.3 Położenie i budowa genu *SH3GLB1*

SH3GLB1 kodujący endofilinę B1 został zdeponowany w bazie Ensembl (Finn i Yates, 2023). Gen zmapowany został na chromosomie 3 (3BTA) w pozycji 57270182–57314297. Zbudowany jest z 10 eksonów i 9 intronów a obszar ten rozciąga się na przestrzeni 44116 pz u bydła. Transkrypt tego genu związany jest z 1906 wariantami alleli (polimorfizmami). Gen koduje białko zbudowane z 366 aminokwasów (Finn i Yates, 2023). Polimorfizm o numerze rs470591018 typu insercyjno–delecyjnego zlokalizowany został w obrębie I intronu w pozycji 57307410–57307435 (Finn i Yates, 2023).

3.8.2.2 Gen *CTSD* kodujący katepsynę D

3.8.2.2.1 Charakterystyka ogólna katepsyny D

Nazwa katepsyna służy do określenia enzymu proteolitycznego, który aktywuje się w lekko kwaśnym pH. Wyróżnia się wiele rodzajów katepsyn: A, B, C, D, E, F, G, H, L, K, O, S, V, W, X. Różnią się one budową, mechanizmem katalitycznym oraz białkami, które rozszczepiają (Bossowska-Nowicka i in., 2018; Lkhider i in., 2004). Katepsyna D jest jedną z nielicznych enzymów proteolitycznych, który wykazuje pewną aktywność w obojętnym pH. Jest ona rozpuszczalną endopeptydazą asparaginową zlokalizowaną w lizosomach, a syntetyzowaną w siateczce śródplazmatycznej jako preprokatepsyna D. Katepsynę D można

znaleźć w prawie wszystkich komórkach, tkankach i narządach, z wyjątkiem dojrzałych erytrocytów, które są pozbawione lizosomów. Występuje także w przestrzeni pozakomórkowej. Miejsce katalityczne katepsyny D budowane jest przez dwie reszty asparaginowe (aminokwas 33 i 231), zlokalizowane na łańcuchach o masie 14 kDa i 34 kDa. Dojrzała forma katepsyny D składa się z 337 reszt aminokwasowych, w tym 196 reszt aminokwasowych buduje łańcuch ciężki, natomiast lekki zawiera 141 reszt aminokwasowych. Oba łańcuchy połączone są przez efekt hydrofobowy (Benes i in., 2008; Minarowska i in., 2008).

3.8.2.2.2 Rola katepsyny D w procesie autofagii i mechanizmach odporności

Autofagia jest procesem zależnym od lizosomów. Dojrzały autofagosom łączy się z lizosomem, tworząc autolizosom. Lizosomy to organelle komórkowe, które degradują wszelkie biomateriały. Wnętrze lizosomów wypełnione jest kwaśnymi hydrolazami oraz proteazami, zwłaszcza: katepsynami B, D i H (Hausmann i in., 2004; Xie i Klionsky, 2007). Katepsyna D spełnia wiele istotnych funkcji w układzie immunologicznym. Odgrywa kluczową rolę w prezentacji antygeny i tym samym prowadzi do proteolizy lizosomalnej i degradacji biomateriału na mniejsze fragmenty (Cheng i in., 2021). Ponadto uczestniczy we wczesnej apoptozie limfocytów T i B oraz neutrofilii, czyli kluczowego procesu zmniejszającego intensywność odpowiedzi zapalnej. Katepsyna D uczestniczy w apoptozie neutrofilii poprzez aktywację kaspazy 8 (Conusa i in., 2008; Conus i Simon, 2010). Ketterer i in. (2020) wykazali, że nokaut genu *CTSD* w nabłonku sutka i tym samym niedobór katepsyn D, blokuje rozwój raka piersi. Brak katepsyn D zaburza sygnalizację szlaku kompleksu celu rapamycyny 1 (mTOR1), czyli jednego z kluczowych w procesie autofagii (Ketterer i in., 2020).

3.8.2.2.3 Położenie i budowa genu *CTSD*

CTSD kodujący katepsynę D został zlokalizowany w obrębie 29 chromosomu bydła (29BTA) w pozycji 49712700–49722179. Gen składa się z 9 eksonów i 8 intronów, które osiągają łączną długość 9480 par zasad. Transkrypt tego genu związany jest z 1973 wariantami alleli. Ponadto koduje białko zbudowane z 412 aminokwasów (Finn i Yates, 2023). Polimorfizm o numerze rs432368101 typu insercyjno–delecyjnego zlokalizowany został w obrębie II intronu pozycji 49716200–49716236 (Finn i Yates, 2023).

3.8.2.3 Gen *PRKCQ* kodujący kinazę białkową C theta

3.8.2.3.1 Charakterystyka ogólna kinazy białkowej C theta

Kinaza białkowa C (PKC) fosforyluje reszty seryny i treoniny w wielu białkach, a zatem spełnia różne funkcje w organizmie. Enzym ten został pierwszy raz zidentyfikowany w mózdzku bydłęcym. PKC obejmuje dużą rodzinę enzymów różniących się budową, kofaktorem i funkcją. Istnieją 3 grupy o innych domenach regulatorowych. Izoformy konwencjonalne (α , β I, β II i γ), które wymagają aktywacji Ca^{2+} i diacyloglicerolu (DAG), nowe izoformy (nPKC δ , ϵ , ζ , θ i μ), które wymagają tylko DAG oraz izoformy nietypowe (aPKC ζ , ι i λ) (Webb i in., 2000). Podobnie jak u wszystkich izoform, PKC theta (PKC- θ) zbudowana jest z N-końcowej domeny regulatorowej i konserwatywnej C-końcowej domeny kinazy, która jest połączona poprzez unikalny region zawiasowy V3. PKC θ odgrywa kluczową rolę w aktywacji dojrzałych limfocytów T (Brezar i in., 2015; Hayashi i Altman, 2007).

3.8.2.3.2 Rola kinazy białkowej C theta w procesie autofagii i mechanizmach odporności

Autofagia jest indukowana w odpowiedzi na uszkodzenia komórkowe, które powodują nagromadzenie się nieprawidłowo sfałdowanych białek w retikulum endoplazmatycznym. Fosforylacja pętli aktywacyjnej PKC theta jest wymagana do aktywacji autofagii w odpowiedzi na stres w obrębie siateczki śródplazmatycznej (Sakaki i in., 2008). Ponadto PKC θ bierze udział w kontrolowaniu kilku procesów związanych z biologią limfocytów T, np. proliferacji i różnicowaniu czy aktywacji limfocytów T. Kinaza białkowa C theta integruje sygnały TCR i CD28 prowadząc do aktywacji czynników transkrypcyjnych (NF- κ B i AP-1), potrzebnych do aktywacji limfocytów T, (Hayashi i Altman, 2007). Co więcej, wykazano, że mysie komórki NK z niedoborem kinazy białkowej C theta miały zaburzoną produkcję interferonu (IFN)- γ stymulowaną przez IL-12 (interleukina 12) (Page i in., 2008).

3.8.2.3.3 Położenie i budowa genu *PRKCQ*

PRKCQ kodujący kinazę białkową C theta występuje w obrębie 13 chromosomu bydła (13BTA) w pozycji 17008653–17100097. Gen składa się z 17 eksonów i 16 intronów, które osiągnęły łączną długość 91445 par zasad. Transkrypt tego genu związany jest z 4466 wariantami alleli. Ponadto koduje białko zbudowane z 706 aminokwasów (Finn i Yates, 2023). Polimorfizm o numerze rs447037882 typu insercyjno-delecyjnego zlokalizowany został w obrębie XI intronu w pozycji 17061630–17061675 (Finn i Yates, 2023).

3.8.2.4 Gen *BCL2* kodujący białko BCL2

3.8.2.4.1 Charakterystyka ogólna BCL2

Białka z rodziny Bcl-2 są kluczowymi regulatorami apoptozy i autofagii. Do tej pory zidentyfikowano 25 heterogennych białek z tej rodziny i można wyróżnić dwie klasy – hamujące i promujące apoptozę. Główne białko, założyciel rodziny Bcl-2, posiada cztery homologiczne domeny Bcl-2 (BH1-4). Oprócz regionów BH wiele białek z tej rodziny, posiada hydrofobową domenę na końcu karboksylowym, który jest odpowiedzialny za ulokowanie białka na błonie. Bcl-2 znajduje się na cytoplazmatycznej powierzchni błony zewnętrznej mitochondrium. To zakotwiczenie białka w błonie może wpływać na integralność błony mitochondrialnej. Białko Bcl-2 składa się z ośmiu α -helis z hydrofobowym rowkiem na ich powierzchni. Gen *BCL2* został po raz pierwszy zidentyfikowany w chłoniaku grudkowym z komórek B. Dowiedziono, że białko Bcl-2 hamuje śmierć komórek (Petros i in., 2004; Tzifi i in., 2012; Xu i in., 2013).

3.8.2.4.2 Rola BCL2 w procesie autofagii i mechanizmach odporności

Białko Bcl-2 reguluje śmierć komórek poprzez hamowanie apoptozy. Ponadto może tworzyć kompleks wraz z białkiem beclin 1 i hamować autofagię zależną od tego białka. Xu i in. (2013) donoszą, że aktywacji autofagii towarzyszy zmniejszenie poziomu białka Bcl-2. Spadek poziomu Bcl-2 był hamowany przez inhibitory autofagii. Tłumienie funkcji Bcl-2 za pomocą inhibitorów dodatkowo wzmocniło aktywność autofagii. Zatem Bcl-2 odgrywa zasadniczą rolę w ograniczaniu nadmiernej aktywacji autofagii i zapobiega śmierci komórek (Xu i in., 2013). Badania przeprowadzone na myszach wykazały, że nadekspresja Bcl-2 zwiększyła przeżycie limfocytów T i B. Co więcej, transgeniczne białko Bcl-2 powodowało wzmocnienie odpowiedzi immunologicznej przez IgM i IgG. Ponadto myszy Bcl2^{-/-} mimo zakończenia rozwoju wykazywały kilka wad, w tym mniejszy rozmiar ciała, mniejszą grasicę oraz charakteryzowały się zaburzonym rozwojem układu immunologicznego (Renault i Chipuk, 2013).

3.8.2.4.3 Położenie i budowa genu *BCL2*

BCL2 kodujący białko bcl-2 występuje w obrębie 24 chromosomu bydła (24BTA) w pozycji 61396513–61588241. Gen składa się z 2 eksonów i 1 długiego intronu (190654 par zasad), które osiągają łączną długość 19 1729 par zasad. Transkrypt tego genu związany jest z 8702 wariantami alleli. Ponadto koduje białko zbudowane z 229 aminokwasów (Finn i Yates, 2023). Polimorfizm o numerze rs520904638 typu insercyjno-delecyjnego zlokalizowany został w obrębie intronu w pozycji 24:61497169–61497199 (Finn i Yates, 2023).

3.8.2.5 Gen *ATG14* kodujący kluczowy regulator związany z autofagią

3.8.2.5.1 Charakterystyka ogólna *ATG14*

ATG to białka, które pośredniczą w tworzeniu autofagosomów. Po raz pierwszy zostały zidentyfikowane u drożdży. Znaleziono je także w komórkach wyższych organizmów eukariotycznych. Białka ATG tworzą sześć podstawowych grup funkcyjnych, obejmujących:

- 1) kompleks ATG1 składający się z ATG1, ATG13, ATG17, ATG29 i ATG31;
- 2) ATG9;
- 3) kompleks 3-kinazy (PI3K) fosfatydyloinozytolu, zawierający ATG6, ATG14 i ATG38;
- 4) Kompleks ATG2-ATG18;
- 5) System koniugacji ATG12, składający się z ATG5, ATG7, ATG10, ATG12, i ATG16;
- 6) System lipidacji ATG8, składający się z ATG3, ATG4, ATG7 i ATG8.

Wszystkie grupy funkcyjne tworzą struktury zwane preautofosomy (Matoba i Noda, 2021).

ATG14 jako specyficzna podjednostka kompleksu PI3K zbudowana jest z dwóch fragmentów N-końcowego i C-końcowego. Pierwszy z nich zawiera domeny typu coiled-coil, które są wymagane do utworzenia kompleksu PI3K i skierowania go w odpowiednie miejsce, natomiast C-końcowy fragment bierze udział w formowaniu autofagosomu (Obara i Ohsumi, 2011).

3.8.2.5.2 Rola *ATG14* w procesie autofagii i mechanizmach odporności

Kompleks 3-kinazy (PI3K) fosfatydyloinozytolu jest konieczny do formowania autofagosomów. ATG14 jako specyficzna podjednostka kompleksu PI3K, kieruje go do prawdopodobnego miejsca powstania autofagosomu i wspiera jego tworzenie (Obara i Ohsumi, 2011). Zatem ATG14 rekrutuje kompleks PI3K do retikulum endoplazmatycznego, tworząc omegasom (Mizushima i in., 2011). Ponadto fosforylacja ATG14 w 29 serynie za pośrednictwem ULK1 promuje autofagię (Wold i in., 2016).

3.8.2.5.3 Położenie i budowa genu *ATG14*

ATG14 kodujący białko o tej samej nazwie, występuje w obrębie 10 chromosomu bydła (10BTA) w pozycji 67842151–67879035. Gen zbudowany jest z 10 eksonów i 9 intronów, które osiągają łączną długość 36885 par zasad, koduje białko zbudowane z 492 aminokwasów (Finn i Yates, 2023). Transkrypt tego genu związany jest z 2218 wariantami alleli. Polimorfizm o numerze rs380963644 typu insercyjno-delecyjnego zlokalizowany został w obrębie 3 intronu w pozycji 10:67863855–67863886 (Finn i Yates, 2023).

4. Materiał i metody

4.1. Materiał

Badaniami objęto 745 krów mlecznych rasy polskiej holsztyńsko–fryzyjskiej odmiany czarno-białej. Zwierzęta utrzymywane były w tej samej oborze wolnostanowiskowej i hodowane w identycznych warunkach środowiskowych. Krowy dojone były w hali udojowej typu rybia ość, pojone *ad libitum*, karmione identyczną standardową dawką TMR (ang. *total mixed ratio*). Co więcej, podczas udoju każda krowa dokarmiana była specjalnie dobranym do indywidualnych potrzeb (poziom mleczności, kondycja fizjologiczna) koncentratem paszowym. Krowy pochodziły od 244 różnych buhajów. Krew obwodowa została pobrana od każdego osobnika z żyły szyjnej podczas rutynowych, cyklicznych badań weterynaryjnych, a zatem zgoda komisji etycznej nie była wymagana.

Zwierzęta podlegały kontroli użytkowości mlecznej prowadzonej metodą A4. W dokumentacji hodowlanej zebrane zostały dane dotyczące próbnych udojów – dobowej wydajności mlecznej, zawartości suchej masy, procentowej zawartości białka, tłuszczu, laktozy oraz liczby komórek somatycznych (SCC) w mleku.

Ponadto dokumentacja prowadzona przez doświadczonego lekarza weterynarii zawierała dane dotyczące zachorowalności na *mastitis acuta* i *chronica*, z uwzględnieniem długości trwania choroby oraz jej intensywności definiowanej jako liczba zajętych zapalnie ćwiartek wymienia.

W tabeli 1. w celu dokładniejszej charakterystyki stada zaprezentowane zostały średnie wartości poszczególnych cech odporności i mleczności (SCC): dobową wydajność mleka, procentową zawartość białka, tłuszczu i laktozy oraz zawartość suchej masy w mleku) z uwzględnieniem liczby laktacji pochodzące z próbnych udojów. Zwierzęta znajdowały się w trakcie I, II, III, IV, V, VI, VII oraz VIII laktacji i według tego zostały podzielone na oddzielne klasy. Wyjątkiem były krowy znajdujące się w trakcie VI, VII i VIII laktacji, które zostały potraktowane jako jedna klasa ze względu na zbyt niską liczebność w wymienionych laktacjach. Największą dobową wydajnością mleczną charakteryzowały się krowy znajdujące się w III laktacji (34,28 kg) a najniższą w I laktacji (29,31 kg). Mleko z najwyższą procentową zawartością tłuszczu pochodziło od zwierząt będących w trakcie II i III laktacji (4,05%) a najniższą w I i V (3,98%). Najwyższe wartości białka w mleku odnotowano u krów znajdujących się w I laktacji (3,61%) a najniższe – VI i kolejne laktacje (3,44%). Mleko z najwyższą zawartością laktozy pochodziło od zwierząt w II laktacji (4,77%) a z najniższą w

VI i kolejnych laktacjach (4,64%). Najwięcej suchej masy występowało w mleku pochodzącym od krów znajdujących się w III laktacji (13,01) a najmniej w I laktacji (12,46). Krowy z najwyższą liczbą komórek somatycznych w mleku znajdowały się w trakcie VI i kolejnych laktacji (1391,06) a najniższą w I laktacji (404,79). Podobnie jak w przypadku liczby komórek somatycznych, lnSCC przyjmował najwyższe wartości dla krów VI i kolejnych laktacjach (6,24) a najniższe w I laktacji (5,10).

Tabela 2. przedstawia wyniki próbných udojów dla poszczególných cech: SCC, dobową wydajność mleka, procentową zawartość białka, tłuszczu i laktozy oraz zawartość suchej masy w mleku z uwzględnieniem stadiów laktacji. Każda laktacja została podzielona na 3 stadia. Pierwsze stadium trwało od 5 do 21 dnia laktacji, drugie od 120 do 150 dnia laktacji a trzecie stadium laktacji było tożsame z ostatnim próbnym udojem ze względu na to, że laktacja miała różny czas trwania u poszczególných zwierząt. Najwyższą dobową wydajność mleczną odnotowano dla krów w I stadium laktacji (39,47 kg) a najniższą w ostatnim stadium laktacji (26,36 kg). Odwrotnie było w przypadku procentowej zawartości tłuszczu w mleku, ponieważ najwyższymi wartościami charakteryzowało się mleko krów w III stadium laktacji (4,18%) a najniższymi w I stadium laktacji (3,86%). Mleko o najwyższej procentowej zawartości białka pochodziło od zwierząt będących w III stadium laktacji (3,81), natomiast o najniższej w I stadium laktacji (3,81%). Najwyższą procentową zawartość laktozy odnotowano w mleku pochodzącym od krów w II stadium laktacji (4,75%) a najniższą w I i III stadium laktacji (4,71%). Najwyższą zawartość suchej masy w mleku zaobserwowano w III stadium (13,25) a najniższą w I stadium laktacji (12,22). Liczba komórek somatycznych była najwyższa w mleku krów w ostatnim stadium laktacji (771,22) a najniższa w I stadium laktacji (553,92). LnSCC osiągał najwyższe wartości w mleku od krów w III laktacji (5,74) a najniższe w I stadium laktacji (5,15).

Wartości średniej arytmetycznej wyników próbných udojów dla poszczególných klas SCC zostały zaprezentowane w tabeli 3. Krowy zostały podzielone na 3 klasy zdrowotności – zdrowe, cierpiące z powodu podklinicznego i klinicznego *mastitis*. Przynależność zwierzęcia do danej klasy zdrowotności zależała od liczby komórek somatycznych w mleku. Mleko zdrowych krów zawierało mniej niż 200 tys. komórek somatycznych na ml mleka (SC/ml). Krowy cierpiące z powodu podklinicznego *mastitis* dawały mleko zawierające od 200 tys. do 400 tys. SC/ml mleka. Natomiast za zwierzęta z kliniczną postacią choroby uznaje się takie, których mleko zawierało powyżej 400 tys. SC/ml mleka.—Wielu badaczy w inny sposób klasyfikuje subkliniczne lub kliniczne *mastitis* w oparciu o różne wartości SCC (Berry i Meaneya, 2006; Deluyker i in., 2005; Jakiel i in., 2011; Sumon i in., 2020b; Urioste i in.,

2012). W niniejszej pracy zostały przyjęte wartości pośrednie SCC dla poszczególnych klas zdrowotności wymienia. Najwyższą dobową wydajnością mleczną charakteryzowały się krowy zdrowe (34,87 kg) a najniższą zwierzęta cierpiące z powodu klinicznej postaci choroby (29,98 kg). Mleko o najwyższej procentowej zawartości tłuszczu pochodziło od krów z podklinicznym *mastitis* (3,65%), natomiast o najniższej od krów zdrowych. Najwyższą procentową zawartością białka charakteryzowało się mleko pochodzące od krów z klinicznym *mastitis* (3,66%) a najniższą – krowy zdrowe (3,49%). Odwrotne zaobserwowano dla procentowej zawartości laktozy w mleku, gdzie najwyższe wartości odnotowano w mleku krów zdrowych (4,79%) a najniższe w mleku krów z kliniczną postacią choroby (4,62%). W przypadku suchej masy najwyższą jej zawartość stwierdzono w mleku zwierząt z podklinicznym *mastitis* (12,98) a najniższą w mleku krów zdrowych (12,69). Liczba komórek somatycznych i lnSCC było najwyższe w mleku krów cierpiących z powodu klinicznego *mastitis* (kolejno: 1658,74 i 7,03) a najniższe w mleku zwierząt zdrowych (kolejno: 86,72 i 4,25).

Tabela 1. Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną

Laktacja	Dobowa wydajność mleczna (kg)	Zawartość tłuszczu (%)	Zawartość białka (%)	SCC (SC tys./ml)	Zawartość laktozy (%)	Zawartość suchej masy (%)
I	29,31	3,98	3,61	404,79	4,67	12,46
II	34,05	4,05	3,600	531,18	4,77	12,97
III	34,28	4,05	3,57	688,99	4,76	13,01
IV	33,72	4,02	3,54	891,66	4,72	12,93
V	32,55	3,98	3,52	1103,64	4,68	12,87
VI i kolejne	32,09	3,94	3,44	1391,06	4,64	12,72

Tabela 2. Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną w poszczególnych stadiach laktacji

Stadia laktacji	Dobowa wydajność mleczna (kg)	Zawartość tłuszczu (%)	Zawartość białka (%)	SCC (SC tys./ml)	Zawartość laktozy (%)	Zawartość suchej masy (%)
I	39,47	3,86	3,26	553,92	4,71	12,22
II	34,12	3,93	3,56	620,50	4,75	12,77
III	26,36	4,18	3,81	771,22	4,71	13,25

Tabela 3. Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną w poszczególnych klasach SCC

Klasa SCC (SC tys./ml)	Dobowa wydajność mleczna (kg)	Zawartość tłuszczu (%)	Zawartość białka (%)	SCC (SC tys./ml)	Zawartość laktozy (%)	Zawartość suchej masy (%)
SCC>400	29,98	4,04	3,66	1658,74	4,62	12,87
400≥SCC>200	30,98	4,11	3,65	288,07	4,72	12,98
SCC≤200 tys.	34,87	3,96	3,49	86,72	4,79	12,69
Razem	32,47	4,02	3,58	663,34	4,72	12,80

Tabela 4. Średnia liczba przypadków *mastitis acuta* i *chronica*, średnia liczba zainfekowanych ćwiartek (intensywność stanu zapalnego) oraz długość trwania infekcji na krowę/laktację

Laktacja	<i>Mastitis acuta</i>	<i>Mastitis chronica</i>	<i>Mastitis acuta</i> i <i>chronica</i> łącznie	Liczba zajętych ćwiartek	Liczba dni występowania <i>mastitis acuta</i>	Liczba dni występowania <i>mastitis</i> <i>chronica</i>	Liczba dni występowania <i>mastitis acuta</i> i <i>chronica</i> łącznie
I	1,23	0,63	1,86	2,00	3,87	1,79	5,67
II	1,35	0,70	2,06	2,00	4,42	2,43	6,85
III	1,39	0,66	2,05	2,00	5,08	2,20	7,27
IV	1,91	0,82	2,73	1,28	6,70	2,63	9,33
V	1,93	0,63	2,56	1,29	7,59	2,20	9,79
VI i kolejne	2,05	0,70	2,75	1,34	7,55	2,65	10,20
Razem	1,53	0,69	2,22	1,52	5,36	2,25	7,61

4.2 Metody

4.2.1 Metody laboratoryjne

Z krwi obwodowej pochodzącej od badanych krów zostało wyizolowane DNA przy pomocy zestawu MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit firmy Lucigen. Izolacja została przeprowadzona w oparciu o protokół pochodzący od producenta. Identyfikacja wybranych polimorfizmów w badanych genach została przeprowadzona za pomocą polimerazowej reakcji łańcuchowej PCR. Wybrane polimorfizmy mają charakter insercyjno-delecyjny. Reakcje prowadzone były w termocyklerach firmy Whatman Biometra (Whatman Biometra GmbH, Göttingen, Niemcy). Startery (tab. 5.) wykorzystane w PCR zostały zaprojektowane przy użyciu programu Primer3. W tabeli 6 zestawione zostały parametry reakcji PCR, a w tabeli 7. podane zostały objętości poszczególnych odczynników w PCR. Wykorzystane odczynniki w PCR pochodziły z firmy A&A Biotechnology.

Tabela 5. Sekwencje starterów i długości oczekiwanych produktów PCR dla badanych polimorfizmów

Gen	Polimorfizm	Sekwencje starterów (5'→3')	Długość oczekiwanych produktów (pz)
<i>CTSD</i>	rs432368101	F: GTCGTGAGTCAGTGGTGGCTGCTG R: CCATCCTCAGCCCCTCAGAGATCA	Insercja: 185 Delecja: 145
<i>PRKCQ</i>	rs447037882	F: GCCAATTAAATGTCATCAGGAGC R: CTTCTGGCAGCTTTGAGGAGAAC	Insercja: 142 Delecja: 95
<i>SH3GLB1</i>	rs470591018	F: TAGGCTATGTGCCTGTGCTAGTAA R: TTGAAACATCACGTTCTCTAAAATG	Insercja: 236 Delecja: 210
<i>BCL2</i>	rs520904638	F: CCTACTGTGTGCATTCCTGTTC R: ACAAGGCATGACTGGACTTTTT	Insercja: 161 Delecja: 130
<i>ATG14</i>	rs380963644	F: AGCTCTGTATTGGATAGGACAGGT R: GCAGGACATTATTTTCCATCTCTT	Insercja: 299 Delecja: 267

Tabela 6. Profile temperaturowe oraz czas reakcji PCR dla poszczególnych polimorfizmów

Gen	Polimorfizm	Denaturacja wstępna	Denaturacja właściwa	Annealing (etap przyłączenia starterów)	Elongacja	Elongacja końcowa
<i>CTSD</i>	rs432368101	95°C, 5 min	95°C, 40sek	68,4°C, 40sek	72°C,40sek	72°C,5 min
<i>PRKCQ</i>	rs447037882	95°C, 5 min	95°C, 40sek	60,9°C, 40sek	72°C,40sek	72°C,5 min
<i>SH3GLB1</i>	rs470591018	95°C, 5 min	95°C, 40sek	57,3°C, 40sek	72°C,40sek	72°C,5 min
<i>BCL2</i>	rs520904638	95°C, 5 min	95°C, 40sek	54,1°C, 40sek	72°C,40sek	72°C,5 min
<i>ATG14</i>	rs380963644	95°C, 5 min	95°C, 40sek	53,9°C, 40sek	72°C,40sek	72°C,5 min

Tabela 7. Skład mieszaniny reakcyjnej wykorzystywanej do PCR o końcowej objętości 15µl

Składnik	Objętość składnika (µl)
Master mix	7
Starter F	1
Starter R	1
Matryca DNA	1
Woda dejonizowana	5

Produkty powstałe w wyniku PCR rozdzielane były w żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydy (1 μ l/ 10 ml żelu agarozowego). Wizualizacja i analiza otrzymanych produktów wykonywana była przy wykorzystaniu zestawu do dokumentacji i analizy żeli elektroforetycznych firmy Viber Lourmat (Vilber Lourmat Deutschland GmbH, Eberhardzell, Niemcy).

4.2.2 Metody statystyczne

Wyniki badań laboratoryjnych zostały przeanalizowane statystycznie. Scharakteryzowana została struktura genetyczna badanej populacji – określono frekwencje alleli i genotypów badanych genów. Poszukiwano także asocjacji pomiędzy polimorfizmami analizowanych genów a SCC w mleku, klinicznymi przypadkami zachorowań na *mastitis* oraz dobową wydajnością mleczną, a także zawartością białka, tłuszczu, suchej masy oraz laktozy w mleku.

Wiadomo, że poziom SCC oraz innych cech produkcji mlecznej może zmieniać się w ciągu całej laktacji w zależności od środowiska. Eliminacja czynników środowiska jest możliwa dzięki analizie skumulowanych wartości cech za całe laktacje (305-dniową) lub stosując model dla dziennych wydajności/próbnego udoju (ang. *test day model* – TDM), który jest skuteczniejszy, ponieważ uwzględnia wpływ środowiska w każdym dniu badania (próbnego udoju) oraz umożliwia modelowanie indywidualnych krzywych laktacji (Schaeffer, 2004; Strabel i in., 2005).

Do oceny asocjacji cech zarejestrowanych podczas próbnego udoju a badanymi genami zastosowano model mieszany z czynnikami losowymi i stałymi. Obliczenia dokonano oddzielnie dla każdej laktacji (I, II, III, IV, V, VI i kolejnej) oraz dla wszystkich laktacji łącznie. Przeanalizowano również wpływ poszczególnych genów jako zmiennych w okresach laktacji. Analiza danych została przeprowadzona osobno dla wybranych etapów laktacji. W obliczeniach wykorzystano trzy przedziały DIM (dni laktacji, ang. *day in milking*): 5-21 dzień (I etap), 120-150 dni (II etap) oraz ostatni test z próbnego doju wykonywany tuż przed zasuszeniem (III etap). Ponadto dokonano oddzielnych analiz dla krów w różnych przedziałach SCC, które prawdopodobnie odpowiadały różnym stanom zdrowotnym wymienia: ≤ 200 tys./ml – zdrowe krowy, 200 tys./ml $< SCC \leq 400$ tys./ml – podkliniczne *mastitis* oraz dla krów z $SCC > 400$ tys./ml – kliniczne *mastitis*. Model dla próbnego udoju zawierał, poza efektami analizowanych polimorfizmów, również efekty stałe: dni laktacji DIM, roku/miesiąca wycielenia, daty doju w stadzie (rok/miesiąc), udziału genów rasy

holsztyńsko-fryzyjskiej. Ponadto, w modelu uwzględniono również efekty losowe, takie jak: permanentny efekt środowiskowy i addytywny efekt genetyczny (efekt tła genetycznego).

Przeanalizowano również asocjacje pomiędzy badanymi polimorfizmami a klinicznym mastitis. Uwzględniono liczbę przypadków zachorowań oraz dni przechorowanych na *mastitis acuta* i *chronica* oddzielnie i łącznie w kolejnych laktacjach. Jako wskaźniki intensywności *mastitis* oszacowano także średnią liczbę ćwiartek wymienia objętych procesem zapalnym oraz ćwiartko-dni w kolejnych laktacjach,. W modelu uwzględniono także standardowe czynniki, takie jak: rok/sezon badania, DIM, addytywny efekt poligeniczny i permanentny efekt środowiskowy.

SCC zostało transformowane na skalę logarytmiczną w celu uzyskania rozkładu normalnego tej cechy. Rodzaj transformacji (logarytm naturalny) wybrano na podstawie wyników testu Kołmogorowa-Smirnowa z poprawkami Lilleforsa oraz testu Shapiro-Wilka, które badają najlepsze dopasowanie rozkładu przy różnych typach transformacji (np. log2, ln, log10), uwzględniając przy tym wartości skośności i kurtozy.

Ponadto model statystyczny uwzględniał efekty dominacyjne oraz efekty epistatyczne, zachodzące między genami, w oparciu o model NOIA (ang. *natural and orthogonal interactions*), który obejmuje 4 kombinacje interakcji (Alvarez-Castro i Calbourg, 2007):

- addytywny x addytywny,
- dominujący x dominujący,
- addytywny x dominujący,
- dominujący x addytywny.

Do estymacji parametrów lnSCC zastosowano wielomian Wilminka (Wilmink, 1987), a do oszacowania parametrów dobowej wydajności mlecznej, procentowej zawartości białka, tłuszczu, laktozy, suchej masy w mleku jako funkcji dnia doju DIM, wybrano wielomiany Legendre'a trzeciego stopnia.

Zastosowano jednocechowe, mieszane modele regresji wielorakiej z czynnikami losowymi i stałymi w celu oszacowania efektów genetycznych badanych loci we wszystkich stadiach laktacji, kolejnych laktacjach i klasach zdrowotności wymienia krowy traktowanych łącznie. Natomiast w celu oszacowania efektów genetycznych badanych *loci* we wszystkich laktacjach, stadiach i klasach SCC traktowanych łącznie wykorzystano jednocechowe, mieszane modele regresji wielorakiej z czynnikami losowymi i stałymi.

Ogólny zapis wybranych modeli wyglądał następująco:

$$Y_{jklmn} = \mu + \sum_1^{18} G_{ij} + TD_k + P_l + YS_m + DIM_n + A_j + PE_j + e_{jklmn}$$

gdzie:

Y_{jklmn} – lnSCC (lub dobowa wydajność mleka, procentowa zawartość białka, laktozy, tłuszczu, suchej masy) dla j – tej krowy, w k – tej klasie roku / miesiąca próbnego udoju, m -tej klasie roku/sezonu wycielenia, w n - tym dniu laktacji;

μ – średnia wartość cechy w badanej populacji;

G_{ij} – i -ty efekt – addytywny (a), dominacyjny (d) lub interakcji *loci* $CTSD$ (1), $SH3GLB1$ (2), $PRKCQ$ (3) j - tej krowy:

$$\sum_{i=1}^{18} G_{ij} = a_1 + a_2 + a_3 + d_1 + d_2 + d_3 + a_1a_2 + a_1d_2 + d_1a_2 + d_1d_2 + \\ + a_1a_3 + a_1d_3 + d_1a_3 + d_1d_3 + a_2a_3 + a_2d_3 + d_2a_3 + d_2d_3;$$

gdzie:

DT_k – efekt k - tej klasy roku / miesiąca próbnego udoju;

P_l – efekt l – tej laktacji

YS_m – efekt m - tej klasy roku /miesiąca;

DIM_n – efekt n - tego dnia laktacji;

A_j – losowy efekt addytywny poligeniczny dla j - tej krowy;

PE_j – losowy efekt trwały środowiskowy j ;

e_{jklmn} – reszta losowa dla j - krowy, w k - tej klasie roku / miesiąca próbnego udoju, m -tej klasie roku / sezonu wycielenia zagnieżdżonej w l - tej laktacji, w n - tym dniu l - tej laktacji.

Rozwiązywanie równań dla poszczególnych stadiów laktacji odbywało się z uwzględnieniem tych samych czynników, co w przypadku wyznaczania krzywych dla wszystkich próbnym udojów łącznie. Podobnie w przypadku analiz w grupach zwierząt o SCC mieszczących się w trzech zakresach: 0 – 200 tys./ml, 200 tys. – 400 tys./ml oraz powyżej 400 tys./ml zastosowano model analogiczny do modelu traktującego wszystkie laktacje łącznie. Natomiast w modelu stosowanego do analiz asocjacji w poszczególnych laktacjach pominięto efekt kolejnej laktacji.

4.2.2.1 Ocena efektów badanych *loci*

W badaniach wykorzystano model uwzględniający proste sumowanie efektów genów (addytywny) oraz efekty nieaddytywne – efekty dominacyjne i epistatyczne wykorzystując skalę zaproponowaną przez Alvarez-Castro i Calbourg'a (2007). Prawidłowo skonstruowany model powinien być zgodny z regułą ortogonalności sformułowaną przez Cockerhama

(1954). Zgodnie z założeniem ortogonalności modelu dla efektów addytywnych rzeczywista średnia wartość cechy osobników homozygotycznych w populacji musi być równa średniej wartości oszacowanych efektów genotypów homozygotycznych. Podobny warunek dotyczy także efektów dominacyjnych i epistatycznych (Alvarez-Castro i Calbourg, 2007; Cockerhama, 1954).

Model funkcjonalny NOIA spełnia założenie ortogonalności dla wszystkich efektów genetycznych tylko w przypadku, gdy:

$$p_{11} = p_{22} \quad \text{lub} \quad p_{12} = 0$$

gdzie:

p_{11} i p_{22} – częstości homozygot,

p_{12} – częstość heterozygot w populacji (Alvarez-Castro i Calbourg'a (2007)).

W pierwszym etapie analiz posłużono się formułą statystyczną, ponieważ nie stwierdzono takiego rozkładu analizowanych genotypów w badanej populacji. Wstępnie przeprowadzono kodowanie efektów genetycznych pojedynczych *loci*.

Parametryzacja Alvareza-Castro (2007) – model statystyczny dla szacowania efektów (tylko dla genów, które w wyniku dalszych analiz okazały się polimorficzne):

– addytywnych genu CTSD:

$$X = \begin{cases} -p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ 1 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ 2 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

– dominacyjnych genu CTSD:

$$X = \begin{cases} -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ -\frac{2p_{11}p_{12}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

- addytywnych genu PRKCQ:

$$X = \begin{cases} -p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ 1 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ 2 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

- dominacyjnych genu PRKCQ:

$$X = \begin{cases} -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ -\frac{2p_{11}p_{12}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

- addytywnych genu SH3GLB1:

$$X = \begin{cases} -p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ 1 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ 2 - p_{12} - 2p_{22} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

- dominacyjnych genu SH3GLB1:

$$X = \begin{cases} -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/INS} \\ -\frac{2p_{12}p_{22}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu IN/DEL} \\ -\frac{2p_{11}p_{12}}{p_{11} + p_{22} - (p_{11} - p_{22})^2} & \text{dla genotypu DEL/DEL} \end{cases}$$

gdzie: p_{11} , p_{12} , p_{22} to odpowiednio: częstości genotypów IN/IN, IN/DEL i DEL/DEL dla genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*.

Następnie rozszerzono formułę, wprowadzając wartości interakcji dwugenowych jako iloczyny Kroneckera macierzy wartości dla trzech pojedynczych *loci* (*CTSD*), *PRKCQ*) i (*SH3GLB1*). W ten sposób dla każdej pary genów otrzymano cztery możliwe rodzaje interakcji:

Oszacowanie funkcjonalnego modelu substytucji genów wymaga transformacji formuły statystycznej na funkcjonalną zgodnie z procedurą Alvarez-Castro i Calbourg'a

(2007). Uzyskane po transformacji estymatory funkcjonalne są oznaczone odnośnymi symbolami: a – oznacza funkcjonalny efekt addytywny (efekt allelu w układzie homozygotycznym), d – funkcjonalny efekt dominacyjny (efekt allelu w układzie heterozygotycznym), natomiast symbole aa , ad , da oraz dd oznaczają odpowiednie rodzaje interakcji pomiędzy allelami z różnych par w układzie homo- i heterozygotycznym:

Dokładny zapis interakcji pomiędzy badanymi genami wygląda następująco:

CTSD x PRKCQ

aa – allele: w *locus CTSD* i *PRKCQ* w układzie homozygotycznym,

ad – allele: w *locus CTSD* w układzie homozygotycznym.

w *locus PRKCQ* w układzie heterozygotycznym,

da – allele: w *locus CTSD* w układzie heterozygotycznym,

w *locus PRKCQ* w układzie homozygotycznym,

dd – allele: w *locus CTSD* i *PRKCQ* w układzie heterozygotycznym

CTSD x SH3GLB1

aa – allele: w *locus CTSD* i *SH3GLB1* w układzie homozygotycznym,

ad – allele: w *locus CTSD* w układzie homozygotycznym.

w *locus SH3GLB1* w układzie heterozygotycznym,

da – allele: w *locus CTSD* w układzie heterozygotycznym,

w *locus SH3GLB1* w układzie homozygotycznym,

dd – allele: w *locus CTSD* i *SH3GLB1* w układzie heterozygotycznym

PRKCQ x SH3GLB1

aa – allele: w *locus PRKCQ* i *SH3GLB1* w układzie homozygotycznym,

ad – allele: w *locus PRKCQ* w układzie homozygotycznym.

w *locus SH3GLB1* w układzie heterozygotycznym,

da – allele: w *locus PRKCQ* w układzie heterozygotycznym,

w *locus SH3GLB1* w układzie homozygotycznym,

dd – allele: w *locus PRKCQ* i *SH3GLB1* w układzie heterozygotycznym

Funkcjonalny efekt dominacyjny d , zgodnie z modelem NOIA, przedstawia odchylenie wartości genotypu heterozygotycznego od średniej arytmetycznej obydwu genotypów homozygotycznych. Gdy efekt ten ma taki sam znak jak efekt addytywny danego allelu, to znaczy, że analizowany allel jest dominujący, natomiast, jeśli znaki efektów addytywnych i dominacyjnych różnią się to mamy do czynienia z allelem recesywnym.

Wartości interakcji wyrażono natomiast jako odchylenia od wartości przewidywanych, oszacowanych przy założeniu, że występuje jedynie proste sumowanie efektów addytywnych.

5. Wyniki

5.1 Frekwencje alleli i genotypów

W tabelach 8. – 10. zostały zaprezentowane wyniki dotyczące frekwencji alleli i genotypów genów *CTSD*, *PRKCQ* oraz *SH3GLB1*. W analizie statystycznej pominięto wyniki badań dotyczące polimorfizmu genów *BCL2* i *ATG14*, ponieważ nie zaobserwowano zmienności genetycznej w tych *loci* (monomorfizm) w badanej populacji krów mlecznych. Analizując frekwencje dotyczące genu *CTSD*, stwierdzono wyższą frekwencję allelu IN (ok. 73%) i najwyższą genotypu IN/IN (ok. 54%). Niższą frekwencję zaobserwowano w przypadku genotypu IN/DEL (ok. 39%) a najniższą genotypu DEL/DEL (ok. 7%) (tab. 8.). W badaniach dotyczących genu *PRKCQ* wykazano wyższą frekwencję allelu IN (ok. 92%) oraz genotypu IN/IN (ok. 84%). Genotyp IN/DEL występował rzadziej (ok. 15%) a najrzadziej – DEL/DEL (ok. 1%) (tab. 9.). W przypadku genu *SH3GLB1* najwyższą częstości charakteryzował się allel IN (ok. 68%) i genotyp IN/DEL (ok. 53%). Niżej uplasowały się kolejno genotypy: IN/IN – ok. 42% i DEL/DEL – ok. 6 % (tab. 10.).

Tabela 8. Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu *CTSD*

	Genotyp/ Allel	Frekwencja (%)
Genotyp	IN/IN	53,960
	DEL/DEL	7,248
	IN/DEL	38,792
Allel	IN	73,356
	DEL	26,644

Tabela 9. Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu *PRKCQ*

	Genotyp/ Allel	Frekwencja (%)
Genotyp	IN/IN	83,893
	DEL/DEL	0,805
	IN/DEL	15,302
Allel	IN	91,544
	DEL	8,456

Tabela 10. Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu *SH3GLB1*

Genotyp / Allel		Frekwencja (%)
Genotyp	IN/IN	41,208
	DEL/DEL	6,174
	IN/DEL	52,617
Allel	IN	67,517
	DEL	32,483

5.2 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów

W tabelach 11. – 36. zaprezentowane zostały wyniki dotyczące efektów genów *CTSD*, *PRKCQ* oraz *SH3GLB1* w odniesieniu do wyników próbnych udojów

5.2.1 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbnych udojów w kolejnych laktacjach

W tabeli 11. przedstawione zostały wyniki dotyczące efektów badanych alleli w odniesieniu do lnSCC w kolejnych laktacjach. Allel IN genu *CTSD* wykazywał korzystny efekt na cechę, gdyż wiązał się z mniejszą SCC w mleku w IV laktacji (-0,171) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (-0,060) w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny). Zaobserwowano też podobny, pożądany efekt dominacyjny na liczbę komórek somatycznych w II (-0,333) i IV (-0,624) laktacji w heterozygotyce (*dCTSD* – efekt dominacyjny). Zaobserwowano pozytywny efekt addytywny allelu IN genu *PRKCQ* na lnSCC w III (-0,208) i V (-0,370) laktacji w homozygotyce (*aPRKCQ*) oraz podczas II (-0,940) i V (-0,608) laktacji w heterozygotyce (*dPRKCQ* – efekt dominacji). Allel IN genu *SH3GLB1* wykazywał pożądany efekt addytywny w kształtowaniu cechy podczas I (-0,112), II (-0,062), VI (-0,282) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,069) w układzie homozygotycznym (*aSH3GLB1* – efekt addytywny). Niekorzystny efekt dominacyjny allelu IN genu *CTSD* (*dCTSD*) na cechę zaobserwowano w przebiegu III laktacji w heterozygotyce (0,368). W przypadku genu *PRKCQ* niepożądany efekt dominacyjny allelu IN (*dPRKCQ*) na cechę zarejestrowano w I laktacji (1,306) oraz addytywny podczas II laktacji (0,112) (*aPRKCQ*). Allel IN genu *SH3GLB1* wiązał się z większą od średniej lnSCC w mleku jedynie podczas VI laktacji (0,765) w heterozygotyce (*dSH3GLB1* – efekt dominacyjny).

Tabela 11. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,016	0,027	-0,03	0,028	-0,059	0,038	<u>-0,171</u>	0,042	-0,090	0,150	-0,155	0,082	<u>-0,060</u>	0,015
<i>dCTSD</i>	0,129	0,114	<u>-0,333</u>	0,120	0,368	0,176	<u>-0,624</u>	0,224	0,466	0,747	0,662	0,448	0,078	0,070
<i>aPRKCQ</i>	-0,154	0,094	0,112	0,052	<u>-0,208</u>	0,066	-0,130	0,070	<u>-0,370</u>	0,105	-0,076	0,109	-0,016	0,028
<i>dPRKCQ</i>	<u>1,306</u>	0,904	<u>-0,940</u>	0,674	-0,765	1,727	0,559	1,816	<u>-0,608</u>	0,499	-0,561	1,042	-0,641	0,939
<i>aSH3GLB1</i>	<u>-0,112</u>	0,054	<u>-0,062</u>	0,029	-0,073	0,042	0,040	0,047	-0,058	0,076	<u>-0,282</u>	0,093	<u>-0,069</u>	0,017
<i>dSH3GLB1</i>	-0,042	0,183	0,060	0,102	0,073	0,158	-0,075	0,204	-0,347	0,388	<u>0,765</u>	0,365	0,091	0,062
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,278</u>	0,109	<u>0,380</u>	0,103	-0,031	0,116	-0,042	0,114	<u>-0,781</u>	0,396	<u>0,522</u>	0,231	<u>0,182</u>	0,048
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	-0,915	2,043	<u>-0,845</u>	0,714	<u>-0,847</u>	0,527	<u>-0,801</u>	0,751	<u>-0,793</u>	0,693	<u>-0,608</u>	0,434	<u>-0,583</u>	0,468
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,328	0,439	<u>-0,784</u>	0,437	0,391	0,589	0,064	0,617	<u>0,773</u>	0,671	<u>-0,633</u>	0,357	<u>-0,805</u>	0,231
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,136</u>	0,045	<u>0,130</u>	0,047	0,043	0,067	-0,049	0,082	0,399	0,291	<u>0,446</u>	0,172	<u>0,130</u>	0,027
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,031	0,149	0,087	0,169	<u>-0,911</u>	0,246	-0,701	0,369	0,523	0,765	0,507	1,285	<u>-0,272</u>	0,104
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>-0,626</u>	0,188	-0,378	0,198	0,144	0,289	0,74	0,467	<u>-0,991</u>	0,508	-0,288	1,003	<u>-0,361</u>	0,120
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>1,593</u>	0,609	0,235	0,705	<u>0,874</u>	0,789	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>1,221</u>	0,451
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,162</u>	0,075	0,025	0,081	-0,092	0,129	0,100	0,156	0,186	0,174	0,403	0,254	-0,032	0,048
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,212	0,211	-0,288	0,238	-0,048	0,422	<u>-0,868</u>	0,736	0,000	0,000	0,000	0,000	0,151	0,147
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,762	1,412	0,342	0,438	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,938	1,564
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>-0,926</u>	0,805	-0,864	1,160	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>-0,832</u>	0,525

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślenie – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W przypadku oddziaływań epistatycznych (tab.11.) zaobserwowano korzystne współdziałanie badanych alleli w kształtowaniu SCC w podwójnej homozygotcie genu *CTSD* i *PRKCQ* jedynie w V laktacji (-0,781), natomiast niepożądane w I (0,278), II (0,380), VI (0,522) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,182) (*aCTSD* x *aPRKCQ* – efekt addytywno–addytywny). Pozytywne działanie alleli na tę cechę, stwierdzono w przebiegu prawie wszystkich laktacji (II, III, IV, V, VI i wszystkie laktacje łącznie) w układzie IN/IN x IN/DEL genów *CTSD* oraz *PRKCQ* (*aCTSD* x *dPRKCQ* – efekt addytywno–dominacyjny), z wyjątkiem I laktacji (wynik był statystycznie nieistotny).

Podobnie, korzystne współdziałanie analizowanych alleli na cechę, zaobserwowano w przebiegu II (-0,784), VI (-0,647) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,805) w układzie IN/DEL x IN/IN genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ* – efekt dominacyjno–addytywny) a niekorzystne jedynie w V laktacji (0,773). Niekorzystne działanie interakcji addytywno–addytywnej genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) na cechę wykazano również podczas I (0,136), II (0,045), VI (0,446) laktacji i we wszystkich laktacjach łącznie (0,130). Odwrotny efekt, czyli pożądanе współdziałanie alleli w kształtowaniu cechy zaobserwowano w III (-0,911) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,272) w układzie IN/IN x IN/DEL genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1* – efekt addytywno–dominacyjny). Ponadto pozytywne interakcje alleli zarejestrowano również w I (-0,626), V (-0,991) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,361) a niepożądane w IV laktacji (0,74) w układzie IN/DEL x IN/IN genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1* – efekt dominacyjno–addytywny). Niekorzystne efekty epistatyczne, biorące udział w kształtowaniu się cechy, odnotowano w przebiegu I (1,593), III (0,874) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (1,221) w podwójnej heterozygotcie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1* – efekt dominacyjno–dominacyjny). Natomiast pożądanе współdziałanie alleli w kształtowaniu cechy wykazano w czasie I laktacji w podwójnej homozygotcie (-0,162) oraz w IV laktacji (-0,868) w układzie IN/IN x IN/DEL (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny), a także w I laktacji (-0,926) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,832) w podwójnej heterozygotcie genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *dSH3GLB1* – efekt dominacyjno–dominacyjny).

Tabela 12. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	<u>-0,360</u>	0,152	-0,183	0,213	<u>-0,782</u>	0,304	-0,040	0,348	-0,809	1,096	-1,023	0,569	<u>-0,288</u>	0,110
<i>dCTSD</i>	1,60	0,650	<u>1,252</u>	0,929	0,957	1,394	0,022	1,839	0,412	0,457	-1,424	1,109	<u>0,852</u>	0,503
<i>aPRKCQ</i>	0,554	0,53	<u>-0,828</u>	0,399	-0,673	0,525	<u>-0,941</u>	0,573	0,801	0,769	-0,922	0,760	<u>-0,805</u>	0,202
<i>dPRKCQ</i>	<u>-0,504</u>	0,517	0,555	2,954	0,566	1,551	-0,891	1,905	0,768	0,952	0,725	0,907	0,293	0,769
<i>aSH3GLB1</i>	<u>1,528</u>	0,305	<u>0,798</u>	0,223	<u>0,947</u>	0,333	-0,084	0,384	0,031	0,553	1,611	0,648	<u>0,626</u>	0,120
<i>dSH3GLB1</i>	<u>-0,872</u>	0,429	-0,367	0,787	-0,913	1,245	0,520	1,167	-0,320	1,832	<u>-0,986</u>	0,554	<u>-1,141</u>	0,451
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-1,235</u>	0,619	<u>-0,902</u>	0,794	-0,196	0,913	-0,621	0,931	0,822	0,896	1,065	1,608	-0,400	0,349
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,176	3,000	0,682	2,293	<u>-1,133</u>	1,065	-0,798	0,817	0,419	0,984	0,695	0,923	-0,530	0,584
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	1,921	2,495	0,763	0,384	<u>-0,928</u>	0,655	-0,846	0,907	<u>-1,299</u>	1,102	0,900	1,043	-0,815	0,967
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>-0,571</u>	0,257	<u>-0,984</u>	0,361	-0,688	0,526	0,16	0,672	-0,180	2,129	-0,916	1,194	<u>-0,497</u>	0,195
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>1,296</u>	0,846	0,017	1,304	1,034	0,944	-0,957	1,028	0,746	1,589	0,993	0,936	1,488	0,749
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-1,162	1,071	<u>-0,806</u>	0,753	-4,211	2,284	-0,602	0,836	0,778	1,016	0,726	0,973	<u>-0,928</u>	0,866
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	1,533	3,465	-0,634	1,453	0,860	0,820	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,973	1,249
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	1,041	0,426	1,186	0,629	3,809	1,022	0,228	1,278	0,839	1,274	0,584	0,764	<u>1,342</u>	0,348
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>-1,176</u>	1,198	-1,759	1,837	-0,807	1,339	0,459	0,904	0,000	0,000	0,000	0,000	-1,876	1,060
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,015	13,721	1,743	18,859	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,385	1,277
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>0,715</u>	0,620	0,813	0,634	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,858	1,417

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W tabeli 12. zaprezentowane zostały wyniki dotyczące efektu allelu IN na średnią dobową wydajność mleczną. Efekt addytywny allelu IN genu *CTSD* w układzie homozygotycznym (*aCTSD*) był niekorzystny dla dobowej wydajności mlecznej w I (-0,360), III (-0,782) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,288). Korzystny dominacyjny efekt allelu, w kształtowaniu cechy, w heterozygotycie (*dCTSD*), zaobserwowano w przebiegu I (1,60), II (1,252) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,852). Odwrotne działanie addytywne allelu IN genu *PRKCQ* na cechę, zaobserwowano w czasie II (-0,828), IV (-0,941) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (-0,805) w homozygotycie (*aPRKCQ*). Efekt addytywny allelu IN w homozygotycie genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1*) był pożądanym dla dobowej wydajności mlecznej w prawie wszystkich laktacjach, z wyjątkiem IV i V laktacji (efekt był nieistotny statystycznie), natomiast w układzie heterozygotycznym (*dSH3GLB1*) zaobserwowano niepożądane działanie dominacyjne tego samego allelu w przebiegu I (-0,872), VI (-0,986) i we wszystkich laktacjach łącznie (-1,141).

W przypadku epistaz (tab. 12.) zaobserwowano niekorzystną interakcję alleli typu addytywno–addytywną w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w I (-1,235), II laktacji (-0,902) i w układzie IN/IN x IN/DEL genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) w III laktacji (-1,133). Podobne, negatywne działanie epistatyczne alleli na cechę zostało zarejestrowane podczas III (-0,928) i V (-1,299) laktacji w układzie IN/DEL x IN/IN genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ* – efekt dominacyjno–addytywny) oraz w I (-0,571), II (-0,984) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,497) w podwójnej homozygotycie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny). Natomiast, wykazano, że współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) w kształtowaniu cechy jest korzystne w II laktacji (0,763). Pozytywne działanie układu addytywno-dominacyjnego alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) na cechę odnotowano w I (1,296), III (1,034), VI (0,993) i we wszystkich laktacjach łącznie (1,488). Odwrotne, czyli niepożądane współdziałanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* w kształtowaniu cechy stwierdzono w II (-0,806) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,928) w przypadku układu IN/DEL x IN/IN (*dCTSD* x *aPRKCQ* – efekt dominacyjno–addytywny). Korzystne działanie alleli na cechę zarejestrowano w III laktacji (0,860) w przypadku dominacyjno–dominacyjnej interakcji genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) oraz w I (1,041), III (3,809) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (1,342) w przypadku interakcji addytywno–addytywnej genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*). Niekorzystne współdziałanie alleli w kształtowaniu cechy, wykazano w przebiegu I laktacji (-1,176) w układzie IN/IN x IN/DEL genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *dSH3GLB1* – efekt

addytywno–dominacyjno). Ponadto, oddziaływanie dominacyjno–dominacyjne alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *dSH3GLB1*) na cechę było korzystne dla dobowej wydajności mlecznej w I (0,715) i II laktacji (0,813) (tab. 12.).

W tabeli 13. zaprezentowano wyniki dotyczące efektu, jaki wywierał allel IN analizowanych genów na procentową zawartość tłuszczu w mleku w kolejnych laktacjach. Efekt allelu IN genu *CTSD* na procentową zawartość tłuszczu w mleku był istotny i dodatni w VI laktacji (0,179) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (0,027) w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny). W przypadku genu *PRKCQ* wykazano, że allel IN działa korzystnie na procentową zawartość tłuszczu w mleku w I laktacji (homozygota, *aPRKCQ* –0,143, heterozygota, *dPRKCQ* – 1,104). Ponadto pozytywne działanie allelu IN genu *PRKCQ* na cechę odnotowano w V laktacji w homozygotie (0,136) (*aPRKCQ* – efekt addytywny) i negatywne w przypadku heterozygot (-0,560) (*dPRKCQ* – efekt dominacji). Niepożądane działanie allelu IN genu *SH3GLB1* na cechę odnotowano we wszystkich laktacjach łącznie w homozygotie (-0,036) (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) a korzystne w I, II, V i we wszystkich laktacjach łącznie w heterozygotie (kolejno: 0,435; 0,191; 0,732 i 0,157) (*dSH3GLB1* – efekt dominacji).

Analiza oddziaływań nieallelicznych (tab. 13.) wskazała na niekorzystną interakcję addytywno–addytywną alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) w kształtowaniu cechy w przypadku I (-0,161) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,107). Podobne, czyli negatywne współdziałanie alleli na cechę zaobserwowano w odniesieniu do I (-0,279), II (-0,267) i wszystkich laktacji łącznie (-0,279) w układzie IN/IN x IN/DEL genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1* – efekt addytywno–dominacyjny) oraz w V laktacji (-0,203) w podwójnej homozygotie genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny). Co więcej, interakcja dominacyjno–addytywna zachodząca pomiędzy allelami genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) okazała się być niekorzystna dla procentowej zawartości tłuszczu w mleku w przebiegu I (-1,586), II (-0,838) i wszystkich laktacjach łącznie (-0,727). Odwrotne, czyli pożądane współdziałanie alleli na procentową zawartość tłuszczu mlecznego odnotowano w przebiegu I (0,730), V (0,409) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,424) w układzie addytywno–dominacyjnym (*aCTSD* x *dPRKCQ*) genów *CTSD* i *PRKCQ*. Stwierdzono, że oddziaływanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *dPRKCQ*) było korzystne dla badanej cechy we wszystkich laktacjach łącznie (0,428). Ponadto zaobserwowano pożądane dominacyjno–addytywne epistazy genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) dla cechy w I (0,040), II (0,415) we wszystkich laktacjach łącznie (0,246) (tab. 13)

Tabela 13. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,006	0,018	-0,002	0,020	0,074	0,051	0,082	0,058	0,094	0,085	<u>0,179</u>	0,049	0,027	0,014
<i>dCTSD</i>	0,041	0,075	-0,023	0,086	0,373	0,233	0,149	0,306	-0,141	0,424	-0,360	0,266	0,108	0,062
<i>aPRKCQ</i>	<u>0,143</u>	<u>0,062</u>	0,030	0,0368	0,069	0,0877	0,100	0,096	<u>0,136</u>	<u>0,060</u>	0,063	0,065	0,016	0,025
<i>dPRKCQ</i>	<u>1,104</u>	<u>0,906</u>	1,010	1,195	-0,436	1,599	-0,714	2,483	<u>-0,560</u>	<u>0,413</u>	0,0729	0,849	0,514	0,839
<i>aSH3GLB1</i>	-0,027	0,035	-0,005	0,021	-0,079	0,056	-0,091	0,064	-0,076	0,043	0,076	0,056	<u>-0,036</u>	<u>0,015</u>
<i>dSH3GLB1</i>	<u>0,435</u>	<u>0,120</u>	<u>0,191</u>	<u>0,073</u>	0,050	0,208	-0,150	0,279	<u>0,732</u>	<u>0,220</u>	0,144	0,390	<u>0,157</u>	<u>0,056</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-0,161</u>	<u>0,071</u>	-0,100	0,073	-0,177	0,152	-0,126	0,156	0,338	0,225	-0,150	0,138	<u>-0,107</u>	<u>0,043</u>
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	<u>0,730</u>	<u>0,538</u>	0,395	2,240	0,540	0,956	0,810	0,901	<u>0,409</u>	<u>0,310</u>	0,929	1,450	<u>0,424</u>	<u>0,312</u>
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,438	0,288	0,254	0,312	0,608	0,777	0,360	0,844	-0,906	1,174	0,690	0,808	<u>0,428</u>	<u>0,207</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,010	0,030	-0,013	0,033	-0,030	0,088	-0,067	0,112	-0,158	0,165	-0,089	0,102	-0,037	0,0241
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>-0,279</u>	<u>0,098</u>	<u>-0,267</u>	<u>0,120</u>	-0,265	0,325	-0,564	0,505	-0,337	0,434	-0,189	0,766	<u>-0,279</u>	<u>0,093</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,40</u>	<u>0,124</u>	<u>0,415</u>	<u>0,141</u>	0,149	0,381	-0,682	0,639	0,969	0,856	-0,636	0,598	<u>0,246</u>	<u>0,107</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,757	0,400	-0,009	0,503	-0,723	0,931	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,275	0,403
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,059	0,049	-0,031	0,058	-0,049	0,171	0,027	0,213	<u>-0,203</u>	<u>0,099</u>	0,135	0,151	0,005	0,043
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,179	0,138	0,085	0,169	0,276	0,558	-0,466	1,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,071	0,131
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-1,586</u>	<u>0,883</u>	<u>-0,838</u>	<u>1,739</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>-0,727</u>	<u>0,398</u>
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,239	1,8100	0,497	3,997	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,833	1,150

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*)

Tabela 14. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	<u>0,034</u>	<u>0,014</u>	0,023	0,012	0,058	0,047	<u>0,034</u>	<u>0,014</u>	<u>0,089</u>	<u>0,045</u>	<u>0,057</u>	<u>0,023</u>	<u>0,033</u>	<u>0,009</u>
<i>dCTSD</i>	0,086	0,060	0,042	0,054	0,235	0,216	0,060	0,0729	-0,258	0,223	0,076	0,128	<u>0,104</u>	<u>0,042</u>
<i>aPRKCQ</i>	-0,032	0,050	-0,010	0,023	-0,046	0,081	0,039	0,023	-0,013	0,031	-0,009	0,031	-0,015	0,017
<i>dPRKCQ</i>	0,504	1,533	-0,294	0,753	-0,45	0,34	-0,419	0,591	<u>-0,624</u>	<u>0,393</u>	-0,536	0,407	-0,118	0,565
<i>aSH3GLB1</i>	0,005	0,028	-0,014	0,013	0,001	0,052	0,012	0,015	-0,032	0,023	0,043	0,027	0,001	0,010
<i>dSH3GLB1</i>	<u>0,249</u>	<u>0,097</u>	0,066	0,046	0,247	0,193	0,027	0,066	<u>0,350</u>	<u>0,116</u>	<u>0,652</u>	<u>0,187</u>	<u>0,098</u>	<u>0,038</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	0,065	0,057	-0,018	0,046	-0,106	0,142	-0,014	0,037	0,088	0,118	<u>-0,135</u>	<u>0,066</u>	-0,028	0,029
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	-0,428	2,134	0,627	1,411	0,583	0,455	0,692	1,142	1,694	1,103	0,322	0,696	0,830	0,884
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,077	0,231	-0,183	0,197	-0,145	0,721	0,189	0,201	0,350	0,617	<u>0,798</u>	<u>0,388</u>	0,131	0,139
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,024	0,024	-0,039	0,021	0,066	0,082	-0,040	0,027	<u>-0,242</u>	<u>0,087</u>	-0,036	0,050	-0,028	0,016
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>-0,194</u>	<u>0,079</u>	-0,129	0,076	0,066	0,301	-0,153	0,120	0,004	0,228	0,325	0,368	-0,120	0,063
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,238</u>	<u>0,099</u>	<u>0,324</u>	<u>0,089</u>	0,648	0,354	0,140	0,152	<u>0,393</u>	<u>0,250</u>	-0,141	0,287	<u>0,332</u>	<u>0,072</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,121	0,322	-0,193	0,317	0,438	1,212	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,050	0,271
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,061	0,040	-0,018	0,037	-0,197	0,158	<u>-0,151</u>	<u>0,051</u>	<u>-0,297</u>	<u>0,052</u>	-0,009	0,073	-0,056	0,029
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,205	0,111	0,105	0,107	-0,032	0,517	0,276	0,239	0,000	0,000	0,000	0,000	0,069	0,089
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,889	1,273	<u>-0,929</u>	<u>0,096</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>-1,975</u>	<u>0,942</u>
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,251	3,0640	-0,636	1,518	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,921	1,123

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W tabeli 14. przedstawiono wartości efektów addytywnych, dominacyjnych oraz epistaz w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w kolejnych laktacjach. Efekt allel IN genu *CTSD* był pożądanym dla procentowej zawartości białka w mleku w I (0,034), IV (0,034), V (0,089), VI (0,057) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,033) w homozygotycie (*aCTSD* – efekt addytywny) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (0,104) w heterozygotycie (*dCTSD* – efekt dominacji) genu *CTSD*. Ponadto zaobserwowano korzystny efekt allelu IN genu *SH3GLB1* na cechę w przypadku I (0,249), V (0,350), VI (0,652) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,098) w układzie heterozygotycznym (*dSH3GLB1* – efekt dominacji). Odwrotny, niekorzystny efekt allelu IN na cechę, odnotowano w przypadku V laktacji (-0,624) w heterozygotycie genu *PRKCQ* (*dPRKCQ* – efekt dominacji).

Niepożądane współdziałanie alleli na procentową zawartość białka w mleku, stwierdzono w V (-0,242) laktacji w podwójnej homozygotycie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny) oraz w IV (-0,151) i V laktacji (-0,297) w podwójnej homozygotycie *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny) (tab. 14). Dodatkowo zaobserwowano negatywną interakcję dominacyjno–addytywną alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRCKQ* x *aSH3GLB1*) w kształtowaniu się cechy w II (-0,929) i we wszystkich laktacjach łącznie (-1,975). Niekorzystne współdziałanie addytywno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) na procentową zawartość białka w mleku, zaobserwowano w przebiegu V laktacji (-0,242). Odwrotne, czyli pozytywne działanie układu dominacyjno–addytywnego (*dCTSD* x *aPRKCQ*) alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* na cechę odnotowano w VI laktacji (0,798) oraz w I laktacji (-0,194) w przypadku współdziałania alleli typu addytywno–dominacyjnego genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*). Ponadto badania wykazały, że oddziaływanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) na cechę było pożądanym dla cechy w I (0,238), II (0,324), V (0,393) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,332) (tab. 14).

Tabela 15. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości laktozy w mleku w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,007	0,004	0,009	0,024	0,000	0,007	0,003	0,009	-0,020	0,030	0,030	0,018	0,004	0,007
<i>dCTSD</i>	<u>-0,063</u>	<u>0,0190</u>	0,063	0,104	<u>-0,076</u>	<u>0,030</u>	<u>-0,090</u>	<u>0,045</u>	<u>-0,301</u>	<u>0,148</u>	<u>-0,302</u>	<u>0,097</u>	<u>-0,080</u>	<u>0,034</u>
<i>aPRKCQ</i>	<u>0,032</u>	<u>0,016</u>	-0,030	0,045	<u>0,032</u>	<u>0,011</u>	0,020	0,014	<u>0,090</u>	<u>0,021</u>	0,001	0,0238	0,003	0,014
<i>dPRKCQ</i>	-0,595	0,483	0,497	1,454	<u>0,729</u>	<u>0,470</u>	0,105	0,364	0,435	0,395	0,435	0,310	0,300	0,452
<i>aSH3GLB1</i>	-0,003	0,009	0,044	0,025	-0,012	0,007	<u>-0,035</u>	<u>0,009</u>	<u>-0,035</u>	<u>0,015</u>	0,010	0,020	0,009	0,008
<i>dSH3GLB1</i>	0,011	0,030	<u>-0,207</u>	<u>0,088</u>	0,030	0,027	0,026	0,041	-0,111	0,077	0,018	0,142	<u>-0,093</u>	<u>0,030</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,033	0,018	-0,014	0,089	0,029	0,020	-0,039	0,023	<u>0,262</u>	<u>0,079</u>	0,080	0,050	-0,001	0,023
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	1,013	0,673	0,414	2,726	-0,449	0,909	-0,661	0,704	0,382	0,734	-0,245	0,529	-0,210	0,707
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,054	0,073	0,017	0,38	-0,178	0,102	0,027	0,124	<u>-0,806</u>	<u>0,4105</u>	0,096	0,295	0,038	0,111
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,010	0,008	0,052	0,040	<u>0,025</u>	<u>0,011</u>	<u>0,037</u>	<u>0,016</u>	-0,073	0,058	<u>-0,093</u>	<u>0,037</u>	0,011	0,013
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>-0,049</u>	<u>0,025</u>	-0,264	0,146	-0,051	0,042	<u>-0,356</u>	<u>0,074</u>	-0,153	0,152	0,391	0,279	<u>-0,136</u>	<u>0,050</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	0,022	0,031	0,28	0,172	-0,004	0,050	-0,128	0,094	0,510	0,299	0,155	0,218	0,093	0,058
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,119	0,101	<u>-0,739</u>	<u>0,612</u>	<u>-0,558</u>	<u>0,171</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>-0,679</u>	<u>0,217</u>
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,027</u>	<u>0,012</u>	-0,124	0,071	0,004	0,022	-0,046	0,031	-0,057	0,035	<u>-0,129</u>	<u>0,055</u>	<u>-0,062</u>	<u>0,023</u>
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>-0,078</u>	<u>0,035</u>	<u>0,484</u>	<u>0,206</u>	0,090	0,073	-0,217	0,147	0,000	0,000	0,000	0,000	0,058	0,071
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,395	0,401	-0,582	1,116	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,290	0,754
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	1,407	0,966	0,911	1,864	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,599	0,699

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standard oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „*d*” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „*aa*” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „*ad*” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „*da*” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W tabeli 15. zaprezentowane zostały wyniki dotyczące oddziaływań allelicznych i nieallelicznych genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* w odniesieniu do procentowej zawartości laktozy w mleku w kolejnych laktacjach. Allel IN genu *CTSD* wykazywał niekorzystne działanie na cechę we wszystkich laktacjach (I, III, IV, V, VI i wszystkie laktacje łącznie), z wyjątkiem II laktacji (wynik był statystycznie nieistotny) w układzie heterozygotycznym (*dCTSD* – efekt dominacji). W przypadku genu *PRKCQ* allel IN wykazywał korzystne działanie na cechę w I (0,032), III (0,032) i V (0,090) laktacji w homozygocie (*aPRKCQ* – efekt addytywny) oraz w III laktacji (0,729) w heterozygocie (*dPRKCQ* – efekt dominacji). Niepożądane działanie allelu IN na cechę odnotowano w IV (-0,035) i V (-0,035) laktacji w homozygocie (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) oraz w II (-0,207) i wszystkich laktacjach łącznie (-0,093) w heterozygocie (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) genu *SH3GLB1*.

Podobne, niepożądane działanie na procentową zawartość laktozy w mleku, odnotowano w przypadku epistazy zachodzącej pomiędzy allelami w układzie IN/DEL x IN/IN genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ* – efekt dominacyjno–addytywny) w V laktacji (-0,806) oraz w podwójnej homozygocie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) w VI laktacji (-0,093) (tab. 15). Negatywne działanie epistazy addytywno–dominacyjnej alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) na cechę, zaobserwowano również w przypadku I (-0,049), IV (-0,356) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,136). Interakcja dominacyjno–dominacyjna zachodząca pomiędzy allelami genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) okazała się niekorzystna dla procentowej zawartości laktozy w mleku w przebiegu II (-0,739) III (-0,558) i wszystkich laktacjach łącznie (-0,679). Podobna sytuacja miała miejsce w przypadku oddziaływania typu addytywno–addytywnego alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*), które okazało się być niepożądane dla badanej cechy w I (-0,027), VI (-0,129) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,062). Niekorzystne również było oddziaływanie addytywno–dominacyjne alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* w kształtowaniu cechy (*aPRKCQ* x *dSH3GLB1*) w I laktacji (-0,078). Odwrotne, czyli korzystne oddziaływanie alleli, zaobserwowano w przypadku V laktacji (0,262) w podwójnej homozygocie genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ* – efekt addytywno–addytywny) oraz w III (0,025) i IV (0,037) w podwójnej homozygocie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny). Pożądaną dla procentowej zawartości laktozy w mleku interakcję typu IN/IN x IN/DEL alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *dSH3GLB1* – efekt addytywno–dominacyjny) zaobserwowano w przebiegu II laktacji (0,484) (tab. 15).

Tabela 16. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,026	0,035	0,028	0,039	<u>0,061</u>	<u>0,029</u>	<u>0,072</u>	<u>0,035</u>	0,158	0,106	<u>0,260</u>	<u>0,059</u>	<u>0,054</u>	<u>0,018</u>
<i>dCTSD</i>	0,093	0,149	0,107	0,171	0,152	0,135	-0,049	0,185	-0,606	0,528	-0,498	0,323	0,102	0,081
<i>aPRKCQ</i>	0,134	0,123	0,055	0,073	<u>0,108</u>	<u>0,051</u>	<u>0,167</u>	<u>0,058</u>	<u>0,195</u>	<u>0,074</u>	0,057	0,079	0,020	0,033
<i>dPRKCQ</i>	-0,381	1,793	0,504	1,379	<u>-0,666</u>	<u>0,809</u>	-0,986	1,502	<u>-0,436</u>	<u>0,406</u>	-0,104	1,0308	1,000	1,091
<i>aSH3GLB1</i>	-0,014	0,070	0,002	0,041	-0,060	0,032	-0,062	0,039	<u>-0,130</u>	<u>0,053</u>	0,110	0,068	-0,025	0,019
<i>dSH3GLB1</i>	<u>0,666</u>	<u>0,239</u>	<u>0,362</u>	<u>0,145</u>	<u>0,286</u>	<u>0,120</u>	-0,020	0,169	<u>0,942</u>	<u>0,274</u>	0,761	0,474	<u>0,258</u>	<u>0,073</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,152	0,142	0,001	0,146	<u>-0,187</u>	<u>0,088</u>	-0,145	0,094	<u>0,667</u>	<u>0,280</u>	-0,219	0,167	-0,089	0,056
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	1,089	1,281	1,083	1,461	<u>0,924</u>	<u>0,703</u>	0,612	0,904	<u>0,903</u>	<u>0,612</u>	0,110	1,061	<u>0,622</u>	<u>0,571</u>
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,157	0,573	1,211	0,621	0,672	0,450	0,619	0,510	-0,657	1,462	1,575	0,981	<u>0,841</u>	<u>0,269</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,077	0,059	-0,029	0,066	0,087	0,051	0,030	0,068	<u>-0,439</u>	<u>0,206</u>	-0,165	0,124	-0,046	0,0314
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>-0,569</u>	<u>0,194</u>	-0,327	0,239	-0,285	0,188	<u>-0,686</u>	<u>0,305</u>	-0,412	0,541	0,347	0,930	<u>-0,391</u>	<u>0,121</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	0,396	0,246	<u>0,781</u>	<u>0,281</u>	<u>0,680</u>	<u>0,221</u>	0,000	0,387	<u>0,860</u>	<u>0,707</u>	-0,679	0,725	<u>0,637</u>	<u>0,140</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,042	0,796	0,198	1,001	<u>-0,868</u>	<u>0,566</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,331	0,524
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,119	0,0980	-0,100	0,116	<u>-0,250</u>	<u>0,099</u>	-0,162	0,129	<u>-0,512</u>	<u>0,123</u>	0,060	0,183	-0,084	0,056
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,126	0,275	0,519	0,337	0,492	0,323	-0,307	0,608	0,000	0,000	0,000	0,000	0,155	0,171
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,596	1,150	<u>-0,860</u>	<u>0,463</u>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	<u>-0,982</u>	<u>0,818</u>
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,439	1,582	1,513	1,959	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,509	4,098

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W tabeli 16. zestawione zostały wyniki dotyczące oddziaływań allelicznych i nieallelicznych genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w kolejnych laktacjach. Przeprowadzone badania wykazały, że efekt addytywny allelu IN genu *CTSD* (*aCTSD*) był korzystny dla procentowej zawartości suchej masy w mleku w III (0,061), IV (0,072), VI (0,260) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,054). Podobne, pożądane działanie na cechę, wykazano w przypadku genu *PRKCQ* w układzie homozygotycznym (*aPRKCQ* – efekt addytywny) w III (0,108), IV (0,167) i V (0,195) laktacji oraz u heterozygoty genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) w I (0,666), II (0,362), III (0,286), V (0,942) oraz wszystkich laktacji łącznie (0,258). Odwrotne, negatywne działanie allelu IN na cechę, zaobserwowano w III (-0,666) i V (-0,436) laktacji w heterozygotcie genu *PRKCQ* (*dPRKCQ* – efekt dominacji) oraz w V laktacji (-0,130) homozygoty *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny).

Niepożądaną interakcję addytywno–addytywną alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) na procentową zawartość suchej masy w mleku, zaobserwowano w III laktacji (-0,187) (tab. 16). Niekorzystne działanie alleli w układzie addytywno–addytywnym genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) na cechę, wykazano w V laktacji (-0,439) oraz w przebiegu I (-0,569), IV (-0,686) i wszystkich laktacjach łącznie (-0,391) w układzie INS/INS x INS/DEL genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1* – efekt addytywno–dominacyjny). Ponadto negatywne oddziaływanie alleli na cechę odnotowano także w III laktacji (-0,868) w podwójnej heterozygotcie genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1* – efekt dominacyjno–dominacyjny) oraz w III (-0,250) i V laktacji (-0,512) w podwójnej homozygotcie genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1* – efekt addytywno–addytywny). Zaobserwowano niepożądane współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) w II (-0,860) i we wszystkich laktacjach łącznie (-0,982) dla procentowej zawartości suchej masy w mleku. Stwierdzono korzystną interakcję addytywno–addytywną alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) dla badanej cechy w V laktacji (0,667). Oddziaływanie addytywno–dominacyjne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *dPRKCQ*) było korzystne dla badanej cechy w III (0,924), V (0,903) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,622). Zaobserwowano korzystne współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) na procentową zawartość suchej masy w mleku we wszystkich laktacjach łącznie (0,841). Pozytywne działanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę odnotowano także w przypadku II (0,781), III (0,680) i V (0,860) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,637) w układzie INS/DEL x INS/INS (*dCTSD* x *aSH3GLB1* – efekt dominacyjno–addytywny) (tab. 16).

5.2.3 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbných udojów w poszczególnych stadiach laktacji

Tabela 17. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w mleku w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	<u>-0,075</u>	0,030	<u>-0,063</u>	0,028	<u>-0,050</u>	0,022
<i>dCTSD</i>	0,027	0,135	0,071	0,128	0,068	0,101
<i>aPRKCQ</i>	0,027	0,053	0,050	0,052	-0,081	0,042
<i>dPRKCQ</i>	0,363	1,759	-0,218	0,761	-0,601	1,430
<i>aSH3GLB1</i>	<u>-0,090</u>	0,032	<u>-0,078</u>	0,030	<u>-0,049</u>	0,024
<i>dSH3GLB1</i>	0,194	0,121	0,007	0,115	0,052	0,090
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,273</u>	0,092	<u>0,208</u>	0,085	0,123	0,075
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	<u>-0,851</u>	1,761	<u>-0,803</u>	0,531	<u>-0,199</u>	0,124
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-1,097</u>	0,447	-0,697	0,415	<u>-0,823</u>	0,343
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,174</u>	0,052	0,045	0,050	<u>0,157</u>	0,039
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,174	0,201	0,083	0,192	<u>-0,528</u>	0,150
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>-0,590</u>	0,232	<u>-0,446</u>	0,223	-0,195	0,173
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,064	0,870	0,629	0,845	<u>0,594</u>	0,364
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,12	0,093	-0,075	0,092	-0,101	0,069
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,202	0,288	-0,042	0,276	0,229	0,209
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,445	3,044	0,544	3,053	<u>-0,264</u>	0,184
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>-0,697</u>	0,589	<u>-0,366</u>	0,271	<u>-0,361</u>	0,108

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Zestawione w tabeli 17. dane wskazują, że allel IN w układzie homozygotycznym genu *CTSD* (*aCTSD* – efekt addytywny) działa korzystnie na lnSCC poprzez obniżenie liczby komórek somatycznych w mleku w przebiegu całej laktacji (kolejno: I stadium -0,075; II stadium -0,063; III stadium -0,050). Podobny, pożądany efekt addytywny allelu genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) na cechę, zaobserwowano w przebiegu całej laktacji (kolejno: I stadium -0,090; II stadium -0,078; III stadium -0,049).

Korzystne interakcje addytywno–dominacyjnego alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD x dPRKCQ*) dla lnSCC zarejestrowano w przebiegu całej laktacji (kolejno: I stadium

-0,851; II stadium -0,803; III stadium -0,199). Współdziałanie typu dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) było korzystne dla lnSCC w przebiegu I (-1,097) i III (-0,823) stadium laktacji (tab. 17). Pożądane działanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na badaną cechę stwierdzono w przypadku ich addytywno–dominacyjnej (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) konfiguracji w III stadium laktacji (-0,528). Podobnie było w przypadku alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1*, których dominacyjno–addytywna interakcja (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) okazała się być korzystna dla lnSCC w I (-0,590) i II (-0,446) stadium laktacji. Pożądany efekt zaobserwowano także dla III stadium laktacji (-0,264) w układzie IN/DEL x IN/IN (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1* – efekt dominacyjno–addytywny) oraz dla całego okresu trwania laktacji w podwójnej heterozygotycie (*dPRKCQ* x *dSH3GLB1* – efekt dominacyjno–dominacyjny) genów *PRKCQ* i *SH3GLB1*. Odwrotne, czyli niekorzystne współdziałanie epistatyczne alleli w kształtowaniu się cechy, zaobserwowano w przypadku I (0,273) i II (0,208) stadium laktacji w podwójnej homozygotycie genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ* – efekt addytywno–addytywny). Negatywne działanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na badaną cechę zaobserwowano w I (0,174) i III (0,157) stadium laktacji w przypadku oddziaływania addytywno–addytywnego (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) oraz podczas dominacyjno–dominacyjnego (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) współdziałania alleli tych genów w III stadium laktacji (0,594) (tab. 17).

W odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej wykazano (tab. 18.), że allel IN w układzie homozygotycznym genu *CTSD* (*aCTSD* – efekt addytywny) działa niekorzystnie na badaną cechę w III stadium laktacji (-0,388). Zaobserwowano negatywny efekt allelu IN na cechę w układzie homozygotycznym genu *PRKCQ* (*aPRKCQ* – efekt addytywny) w przebiegu całej laktacji (kolejno: -0,747; -1,259; -0,509), a także w II stadium laktacji (-1,003) w układzie heterozygotycznym (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) genu *SH3GLB1*. Pożądane działanie allelu na cechę, zauważono w I (0,873) i II (0,941) stadium laktacji w heterozygotycznym układzie genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) oraz w III stadium laktacji (0,898) w heterozygotycie genu *PRKCQ* (*dPRKCQ* – efekt dominacji). Ponadto, działanie allelu IN w jego homozygotycznym układzie genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) było pozytywne na dobową wydajność mleczną w przebiegu całej laktacji (kolejno: I stadium 0,404; II stadium 0,677; III stadium 0,773) (tab. 18).

Tabela 18. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,208	0,172	-0,240	0,144	<u>-0,388</u>	<u>0,155</u>
<i>dCTSD</i>	<u>0,873</u>	<u>0,783</u>	<u>0,941</u>	<u>0,662</u>	0,791	0,705
<i>aPRKCQ</i>	<u>-0,747</u>	<u>0,310</u>	<u>-1,259</u>	<u>0,270</u>	<u>-0,509</u>	<u>0,291</u>
<i>dPRKCQ</i>	-0,753	0,923	0,811	0,908	<u>0,898</u>	<u>0,538</u>
<i>aSH3GLB1</i>	<u>0,404</u>	<u>0,185</u>	<u>0,677</u>	<u>0,157</u>	<u>0,773</u>	<u>0,166</u>
<i>dSH3GLB1</i>	-0,771	0,703	<u>-1,003</u>	<u>0,594</u>	-0,125	0,628
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	0,021	0,536	-0,287	0,440	<u>-1,741</u>	<u>0,523</u>
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	-0,821	1,058	-0,788	0,794	<u>0,429</u>	<u>0,386</u>
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-1,648</u>	<u>0,600</u>	-0,635	0,714	<u>0,702</u>	<u>0,386</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,323	0,304	<u>-0,561</u>	<u>0,256</u>	-0,484	0,272
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	1,994	1,168	0,881	0,992	-0,203	1,043
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,057	1,348	-0,674	1,149	<u>-0,523</u>	<u>0,420</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,591	0,606	0,906	1,036	0,490	0,848
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,921	0,542	<u>0,931</u>	<u>0,473</u>	<u>0,847</u>	<u>0,479</u>
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,487	1,673	-0,550	0,894	<u>-0,592</u>	<u>0,456</u>
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,646	0,707	0,579	0,734	-0,832	0,921
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,561	1,050	<u>1,180</u>	<u>0,608</u>	<u>0,592</u>	<u>0,353</u>

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Zaobserwowano, że interakcja addytywno–addytywna alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD x aPRKCQ*) działa w negatywny sposób na cechę w III stadium laktacji (-1,741) (tab. 18.). Podobnie było w przypadku interakcji dominacyjno–addytywnej genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD x aPRKCQ*) w I stadium laktacji (-1,648) czy oddziaływania addytywno–addytywnego genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD x aSH3GLB1*) w II stadium laktacji (-0,561). Oba, powyższe typy oddziaływań nieallelicznych okazały się być niekorzystne dla dobowej wydajności mlecznej. Niepożądane działanie alleli na cechę stwierdzono także w III stadium laktacji w układzie dominacyjno-addytywnym (-0,523) genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD x aSH3GLB1*) oraz w układzie addytywno–dominacyjnym (-0,592) genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ x dSH3GLB1*). Natomiast, pożądane współdziałanie alleli w kształtowaniu cechy, zaobserwowano w III stadium laktacji w układzie *IN/IN x IN/DEL* (0,429) (*aCTSD x*

dPRKCQ – efekt addytywno–dominacyjny) oraz w układzie IN/DEL x IN/IN (0,702) (*dCTSD* x *aPRKCQ* – efekt dominacyjno–addytywny) genów *CTSD* i *PRKCQ*. Ponadto wykazano korzystne oddziaływanie addytywno–addytywne alleli genów *PRCKQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*) na badaną cechę w II i III stadium laktacji (kolejno: II stadium 0,931 i III stadium 0,847). Stwierdzono, że oddziaływanie dominacyjno-dominacyjne alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *dSH3GLB1*) było korzystne dla dobowej wydajności mlecznej w II i III stadium laktacji (kolejno: 1,180 i 0,592) (tab. 18).

W toku przeprowadzonych badań wykazano (tab. 19.), że allel IN genu *CTSD* zarówno w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny) jak i heterozygotycznym (*dCTSD* – efekt dominacyjny) wykazuje korzystny efekt na procentową zawartość tłuszczu w mleku w III stadium laktacji (kolejno: *aCTSD* 0,032 i *dCTSD* 0,162). Podobny, pozytywny efekt na cechę, zaobserwowano w przypadku allelu IN w układzie heterozygotycznym genu *SH3GLB1* w III stadium laktacji (0,242) (*dSH3GLB1* – efekt dominacji). Negatywne działanie allelu IN w homzygocie genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) na cechę, zaobserwowano w przebiegu III stadium laktacji (-0,033).

Niekorzystne działanie na procentową zawartość tłuszczu w mleku stwierdzono w przypadku oddziaływania addytywno–addytywnego genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) w przebiegu II (-0,181) i III (-0,109) stadium laktacji (tab. 19). Co więcej, interakcja typu addytywno–dominacyjna alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) również była niekorzystna dla cechy w III stadium laktacji (-0,316). Zaobserwowano negatywną interakcję, w której allele genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* współdziałały ze sobą w konfiguracji dominacyjno–addytywnym (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) w II (-0,742) i III (-0,424) stadium laktacji. Inaczej było w przypadku oddziaływania addytywno–dominacyjnego genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *dPRKCQ*), które okazało się być korzystne w II i III stadium laktacji (kolejno: II stadium 0,599 i III stadium 0,246). Podobna sytuacja miała miejsce również w przebiegu II i III stadium laktacji, gdzie allele genów *CTSD* i *PRKCQ* występujące w konfiguracji dominacyjno–addytywnej (*dCTSD* x *aPRKCQ*) działały w pozytywny sposób na cechę (kolejno: II stadium 0,738 i III stadium 0,558). Ponadto stwierdzono korzystną interakcję dominacyjno-addytywną alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) na procentową zawartość tłuszczu w mleku w III stadium laktacji (0,539) (tab. 19).

Tabela 19. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,040	0,040	0,009	0,015	<u>0,032</u>	<u>0,014</u>
<i>dCTSD</i>	0,179	0,182	-0,086	0,068	<u>0,162</u>	<u>0,063</u>
<i>aPRKCQ</i>	0,026	0,072	-0,006	0,028	0,030	0,026
<i>dPRKCQ</i>	-0,283	2,371	0,603	0,933	0,366	0,884
<i>aSH3GLB1</i>	-0,060	0,043	-0,019	0,016	<u>-0,033</u>	<u>0,015</u>
<i>dSH3GLB1</i>	0,119	0,163	0,066	0,061	<u>0,242</u>	<u>0,056</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,004	0,124	<u>-0,181</u>	<u>0,045</u>	<u>-0,109</u>	<u>0,046</u>
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,546	0,721	<u>0,599</u>	<u>0,341</u>	<u>0,246</u>	<u>0,149</u>
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,239	0,602	<u>0,738</u>	<u>0,220</u>	<u>0,558</u>	<u>0,212</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,091	0,070	-0,019	0,026	-0,010	0,024
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,304	0,271	-0,183	0,102	<u>-0,316</u>	<u>0,093</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,198	0,312	0,219	0,118	<u>0,539</u>	<u>0,107</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,513	1,173	0,637	0,448	-0,717	0,398
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,110	0,126	-0,030	0,049	-0,033	0,043
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,125	0,388	0,073	0,146	0,041	0,129
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,597	0,710	<u>-0,742</u>	<u>0,618</u>	<u>-0,424</u>	<u>0,352</u>
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,800	0,928	-0,717	0,956	-0,508	1,141

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W tabeli 20. zestawiono dane dotyczące oddziaływań addytywnych, dominacyjnych oraz epistatycznych występujących pomiędzy allelami badanych genów w odniesieniu do procentowej zawartości białka w poszczególnych stadiach laktacji. Allel *IN* genu *CTSD* w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny) w II (0,024) i III (0,040) stadium laktacji oraz w układzie heterozygotycznym (*dCTSD* – efekt dominacji) w III stadium laktacji (0,192) działał korzystnie na procentową zawartość białka. Zaobserwowano, że efekt allelu *IN* był pożądanym dla cechy w przebiegu II stadium laktacji (0,079) w układzie heterozygotycznym genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji).

Przeprowadzone badania wykazały, że oddziaływanie dominacyjno-addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD x aSH3GLB1*) w III laktacji (0,414) było pożądanym dla

procentowej zawartości białka w mleku. Niepożądane oddziaływanie na badaną cechę zaobserwowano w przypadku konfiguracji addytywno–dominacyjnej (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) oraz addytywno–addytywnej (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* w II stadium laktacji (kolejno: *aCTSD* -0,242 i *dCTSD* -0,060). Ponadto w tym samym stadium laktacji zaobserwowano również niekorzystne działanie alleli na cechę, występujących w konfiguracji addytywno–addytywnej (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*) oraz dominacyjno–addytywnej (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (kolejno: *aPRKCQ* x *aSH3GLB1* -0,082 i *dPRKCQ* x *aSH3GLB1* -0,608) (tab. 20).

Tabela 20. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,031	0,026	<u>0,024</u>	<u>0,009</u>	<u>0,040</u>	<u>0,009</u>
<i>dCTSD</i>	0,0500	0,117	-0,033	0,043	<u>0,192</u>	<u>0,043</u>
<i>aPRKCQ</i>	-0,018	0,047	-0,006	0,018	-0,008	0,0178
<i>dPRKCQ</i>	0,347	1,535	-0,657	0,596	-0,494	0,608
<i>aSH3GLB1</i>	0,025	0,028	-0,015	0,010	-0,006	0,010
<i>dSH3GLB1</i>	0,132	0,105	<u>0,079</u>	<u>0,039</u>	0,069	0,038
<i>aCTSD</i> x <i>aPRKCQ</i>	0,008	0,080	-0,018	0,029	-0,041	0,032
<i>aCTSD</i> x <i>dPRKCQ</i>	0,755	2,409	0,46	0,856	-0,735	1,022
<i>dCTSD</i> x <i>aPRKCQ</i>	0,160	0,390	0,055	0,141	0,019	0,146
<i>dCTSD</i> x <i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD</i> x <i>aSH3GLB1</i>	0,004	0,046	<u>-0,060</u>	<u>0,017</u>	-0,030	0,017
<i>aCTSD</i> x <i>dSH3GLB1</i>	0,035	0,175	<u>-0,242</u>	<u>0,066</u>	-0,103	0,064
<i>dCTSD</i> x <i>aSH3GLB1</i>	0,365	0,202	0,124	0,075	<u>0,414</u>	<u>0,073</u>
<i>dCTSD</i> x <i>dSH3GLB1</i>	0,686	0,759	-0,055	0,286	-0,477	0,274
<i>aPRKCQ</i> x <i>aSH3GLB1</i>	-0,021	0,081	<u>-0,082</u>	<u>0,031</u>	-0,051	0,029
<i>aPRKCQ</i> x <i>dSH3GLB1</i>	0,077	0,251	0,097	0,093	0,054	0,089
<i>dPRKCQ</i> x <i>aSH3GLB1</i>	-0,304	0,656	<u>-0,608</u>	<u>0,503</u>	-0,464	0,929
<i>dPRKCQ</i> x <i>dSH3GLB1</i>	0,181	6,007	-0,231	0,827	-0,370	0,516

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN* x *IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL* x *IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN* x *IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL* x *IN/IN*).

Przeprowadzone badania wykazały (tab. 21), że allel IN w heterozygotycznym układzie genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) działa w negatywny sposób na procentową zawartość laktozy w mleku w I (-0,059) i II (-0,087) stadium laktacji. Podobnie było w I (-0,044) i III (-0,157) stadium laktacji w heterozygotycznym układzie alleli genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji), gdzie zaobserwowano również niekorzystny efekt na analizowaną cechę.

Zaobserwowano niepożądaną interakcję addytywno–dominacyjną (-0,305) (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) i dominacyjno–dominacyjną (-0,448) (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* w III stadium laktacji na procentową zawartość laktozy w mleku. Podobnie było w I (-0,049) i II (-0,037) stadium laktacji, w której allele genów *PRKCQ* i *SH3GLB1*, występujące w konfiguracji addytywno–addytywnej (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*), działały niekorzystnie na procentową zawartość laktozy w mleku. Korzystne współdziałanie alleli na analizowaną cechę stwierdzono w przypadku oddziaływania dominacyjno–addytywnego genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) w I stadium laktacji (0,080) oraz dominacyjno–dominacyjnego (*dPRKCQ* x *dSH3GLB1*) genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* w I (0,591) i II (0,288) stadium laktacji.

Przeprowadzone badania wykazują (tab. 22), że allel IN genu *CTSD*, występujący w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny), działa korzystnie na zawartość suchej masy w mleku w III stadium laktacji (0,052). Pozytywny efekt allelu IN genu *SH3GLB1* na badaną cechę zaobserwowano także, gdy występował w układzie heterozygotycznym (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) w I (0,272) i III (0,328) stadium laktacji. Stwierdzono, że interakcja addytywno–addytywna genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) w II stadium laktacji (-0,195), addytywno–dominacyjna genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) w II (-0,432) i III (-0,509) stadium laktacji, dominacyjno–dominacyjna genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) w III stadium laktacji (-0,460), dominacyjno–addytywna genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) w II (-0,108) i III (-0,448) stadium laktacji, działa niekorzystnie na zawartość suchej masy w mleku (tab. 22).

Pozytywne oddziaływanie addytywno–dominacyjne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *dPRKCQ*) na procentową zawartość suchej masy w mleku, zaobserwowano w I stadium laktacji (0,978). Ponadto stwierdzono korzystne działanie dominacyjno–addytywnej epistazy genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) na badaną cechę w I (1,081) i III (0,762) stadium laktacji. Stwierdzono, że allele genów *CTSD* i *SH3GLB1*, znajdujące się w

konfiguracji dominacyjno–addytywnej (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) w pozytywny sposób oddziałują na cechę w I (0,528) i III (0,890) stadium laktacji (tab. 22.).

Tabela 21. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej laktozy w mleku w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,008	0,005	0,000	0,005	0,003	0,0172
<i>dCTSD</i>	<u>-0,059</u>	0,022	<u>-0,087</u>	0,022	-0,078	0,078
<i>aPRKCQ</i>	0,011	0,009	0,006	0,009	-0,008	0,032
<i>dPRKCQ</i>	0,135	0,282	0,317	0,296	0,520	1,105
<i>aSH3GLB1</i>	-0,004	0,005	0,006	0,005	0,019	0,018
<i>dSH3GLB1</i>	-0,037	0,019	<u>-0,044</u>	0,019	<u>-0,157</u>	0,070
<i>aCTSD</i> x <i>aPRKCQ</i>	-0,004	0,015	0,007	0,014	-0,015	0,058
<i>aCTSD</i> x <i>dPRKCQ</i>	0,122	0,442	0,029	0,426	-0,091	1,858
<i>dCTSD</i> x <i>aPRKCQ</i>	0,019	0,072	-0,084	0,070	0,198	0,265
<i>dCTSD</i> x <i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD</i> x <i>aSH3GLB1</i>	-0,005	0,008	-0,003	0,008	0,033	0,030
<i>aCTSD</i> x <i>dSH3GLB1</i>	-0,030	0,032	-0,005	0,032	<u>-0,305</u>	0,116
<i>dCTSD</i> x <i>aSH3GLB1</i>	0,080	0,037	0,000	0,038	0,169	0,134
<i>dCTSD</i> x <i>dSH3GLB1</i>	-0,013	0,139	-0,167	0,142	<u>-0,448</u>	0,250
<i>aPRKCQ</i> x <i>aSH3GLB1</i>	<u>-0,049</u>	0,015	<u>-0,037</u>	0,015	-0,086	0,053
<i>aPRKCQ</i> x <i>dSH3GLB1</i>	-0,058	0,046	-0,088	0,047	0,218	0,162
<i>dPRKCQ</i> x <i>aSH3GLB1</i>	0,074	0,488	0,310	0,514	0,238	1,689
<i>dPRKCQ</i> x <i>dSH3GLB1</i>	0,591	0,410	0,288	0,130	0,260	0,924

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN* x *IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL* x *IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN* x *IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL* x *IN/IN*).

Tabela 22. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w kolejnych stadiach laktacji

Rodzaj efektu	I stadium laktacji		II stadium laktacji		III stadium laktacji	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,047	0,032	0,047	0,031	<u>0,052</u>	<u>0,024</u>
<i>dCTSD</i>	-0,009	0,143	-0,090	0,141	0,190	0,110
<i>aPRKCQ</i>	0,086	0,057	-0,005	0,058	0,022	0,045
<i>dPRKCQ</i>	1,671	1,873	0,529	1,938	0,373	1,547
<i>aSH3GLB1</i>	-0,014	0,034	-0,057	0,033	-0,022	0,026
<i>dSH3GLB1</i>	<u>0,272</u>	<u>0,129</u>	0,062	0,127	<u>0,329</u>	<u>0,098</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	0,150	0,098	<u>-0,195</u>	<u>0,094</u>	-0,136	0,081
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	<u>0,978</u>	<u>0,941</u>	0,618	0,786	0,394	0,602
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>1,081</u>	<u>0,476</u>	0,603	0,457	<u>0,762</u>	<u>0,371</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,023	0,056	-0,091	0,055	-0,043	0,042
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,197	0,214	<u>-0,432</u>	<u>0,219</u>	<u>-0,509</u>	<u>0,162</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,528</u>	<u>0,247</u>	0,190	0,245	<u>0,890</u>	<u>0,187</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,440	0,927	0,208	0,931	<u>-0,460</u>	<u>0,270</u>
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,004	0,099	-0,104	0,101	-0,109	0,074
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,534	0,307	0,164	0,304	-0,018	0,226
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,709	0,824	<u>-0,108</u>	<u>0,361</u>	<u>-0,448</u>	<u>0,364</u>
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,636	0,734	-0,598	0,739	-0,788	0,849

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

5.2.4 Efekty badanych genów w odniesieniu do wyników próbných udojów w poszczególnych klasach SCC

W tabeli 23. zestawiono wyniki dotyczące efektu allelu *IN* badanych genów na *lnSCC* w mleku w zależności od statusu zdrowotnego, ocenianego na podstawie liczby komórek somatycznych na 1 ml mleka. Za prawdopodobnie zdrowe, uznano zwierzęta w mleku, których liczba komórek somatycznych na 1 ml mleka była równa bądź mniejsza niż 200 tys. Za prawdopodobnie chore na podkliniczną postać choroby, uznano zwierzęta w mleku, których liczba SC na 1 ml mleka była większa niż 200 tys., ale równa bądź mniejsza niż 400 tys. Natomiast za prawdopodobnie chore na kliniczną postać choroby, uznano zwierzęta w mleku, których liczba komórek somatycznych na 1 ml mleka była większa niż 400 tys.

Allel IN działał w negatywny sposób na lnSCC (tab.23) poprzez podwyższenie liczby komórek somatycznych w mleku w układzie heterozygotycznym genu *CTSD* (0,150) (*dCTSD* – efekt dominacji) i *SH3GLB1* (0,146) (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) oraz w homozygotocie genu *SH3GLB1* (0,042) (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*). Ponadto, zaobserwowano korzystny efekt na analizowaną cechę allelu IN w układzie homozygotycznym genu *PRKCQ* (*aPRCKQ* – efekt addytywny) u zwierząt w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,088). Pożądany efekt allelu IN na cechę, stwierdzono również w przypadku układu heterozygotycznego genu *PRKCQ* (-0,876) (*dPRCKQ* – efekt dominacji) oraz homozygotycznego genu *SH3GLB1* (-0,012) (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) u krów w mleku, których było powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (tab. 23).

Negatywne współdziałanie alleli na analizowaną cechę (tab. 23.), zaobserwowano w przypadku interakcji addytywno–addytywnej genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,060). Natomiast, stwierdzono pożądaną interakcję dominacyjno–addytywną alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRCKQ*) na lnSCC u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,661). Ponadto allele występujące w konfiguracji dominacyjno–addytywnej genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) również działały korzystnie na lnSCC u krów w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe). (-0,205) (tab. 23).

Przeprowadzone badania wykazały (tab. 24.), że allel IN w układzie homozygotycznym genu *CTSD* (*aCTSD* – efekt addytywny) działał negatywnie na wydajność mleczną u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,636). Niekorzystny efekt allelu IN na cechę, zaobserwowano również w homozygotocie genu *PRKCQ* (*aPRCKQ* – efekt addytywny) u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,999) i powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,847). Pożądany efekt allelu IN na badaną cechę zaobserwowano w układzie heterozygotycznym genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) u krów w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,920) oraz homozygotycznym genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,526) i powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,765) (tab. 24).

Przeprowadzone badania wykazują, że interakcja addytywno–addytywna alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) jest korzystna dla dobowej wydajności mlecznej u krów w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,899) (tab. 24). Pozytywne współdziałanie alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* na analizowaną cechę, zaobserwowano w przypadku konfiguracji addytywno–addytywnej (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*) u krów w mleku, których było powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,411) i powyżej 400 tys. SC/ml (0,649) (kliniczne *mastitis*). Negatywne działanie alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* na cechę, stwierdzono w przypadku układu addytywno–dominacyjnego (-0,558) (*aCTSD* x *dPRKCQ*) oraz dominacyjno–addytywnego (-0,718) (*dCTSD* x *aPRKCQ*) u krów w mleku, których odnotowano równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe). Ponadto, niekorzystne działanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1*, zaobserwowano w przypadku ich dominacyjno–addytywnej (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) konfiguracji u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,725) (tab.24).

W tabeli 25. zaprezentowane zostały wyniki dotyczące oddziaływań addytywnych i nieaddytywnych genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w zależności od statusu zdrowotnego krowy. Pożądany efekt allelu IN genu *CTSD* zaobserwowano w układzie homo- (0,066) (*aCTSD* – efekt addytywny) i heterozygotycznym (0,323) (*dCTSD* – efekt dominacji) u krów w mleku, których było powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) oraz w heterozygotycie genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) u zwierząt, w mleku których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,109) i powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,273).

Tabela 23. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w mleku w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tyś./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,013	0,012	-0,005	0,005	-0,012	0,015
<i>dCTSD</i>	0,045	0,046	-0,014	0,026	0,15	0,073
<i>aPRKCQ</i>	0,031	0,032	0,001	0,010	-0,088	0,033
<i>dPRKCQ</i>	0,277	0,827	-0,876	0,418	-0,293	0,457
<i>aSH3GLB1</i>	-0,014	0,012	-0,012	0,006	0,042	0,017
<i>dSH3GLB1</i>	-0,071	0,041	0,024	0,021	0,146	0,071
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,025	0,065	0,007	0,017	-0,070	0,043
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,710	0,857	-0,676	0,576	0,464	1,267
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,035	0,151	0,016	0,091	-0,661	0,236
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	0,060	0,020	-0,011	0,009	0,010	0,026
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,07	0,076	-0,006	0,034	-0,097	0,110
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,205	0,085	0,047	0,043	-0,096	0,125
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,378	0,318	-0,139	0,156	0,743	0,486
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,031	0,034	-0,006	0,018	0,089	0,063
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,043	0,111	0,066	0,054	0,087	0,200
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,291	0,603	0,567	0,730	-0,459	0,795
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,300	0,361	0,089	1,421	-0,615	0,74

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 24. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,145	0,161	-0,291	0,260	<u>-0,636</u>	<u>0,196</u>
<i>dCTSD</i>	<u>0,920</u>	<u>0,621</u>	0,501	0,829	0,065	0,972
<i>aPRKCQ</i>	-0,556	0,435	<u>-0,847</u>	<u>0,512</u>	<u>-0,999</u>	<u>0,444</u>
<i>dPRKCQ</i>	-0,850	1,070	0,729	0,972	0,579	0,936
<i>aSH3GLB1</i>	<u>0,526</u>	<u>0,159</u>	<u>0,765</u>	<u>0,274</u>	0,229	0,220
<i>dSH3GLB1</i>	-0,874	0,556	-0,765	1,055	-1,068	0,938
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,899</u>	<u>0,487</u>	-0,137	0,851	-0,752	0,568
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	<u>-0,558</u>	<u>0,496</u>	-0,586	0,653	-0,804	0,828
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-0,718</u>	<u>0,303</u>	-0,462	5,525	0,328	0,913
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,388	0,271	-0,674	0,745	-0,079	0,350
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,973	1,012	0,294	0,710	0,074	1,462
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,407	1,014	-0,808	0,912	<u>-0,725</u>	<u>0,667</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,582	0,727	0,825	0,743	0,424	0,645
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,004	0,461	<u>0,411</u>	<u>0,390</u>	<u>0,649</u>	<u>0,319</u>
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,063	1,148	-0,143	0,660	-0,60	0,657
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,614	0,785	-0,824	0,890	0,574	0,713
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,821	0,989	-0,879	1,142	-1,676	0,829

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Pozytywne współdziałanie alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* na procentową zawartość tłuszczu w mleku, zaobserwowano w przypadku interakcji addytywno–dominacyjnej (0,569) (*aCTSD* x *dPRKCQ*) oraz dominacyjno–addytywnej (0,599) (*dCTSD* x *aPRKCQ*) u zwierząt, w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe). Stwierdzono korzystne współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) na badaną cechę u krów, w mleku których było powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,597) (tab. 25). Natomiast, stwierdzono niekorzystną interakcję typu addytywno–addytywnego alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) na analizowaną cechę u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,230). Ponadto równie niepożądane działanie alleli na cechę, zaobserwowano w przypadku addytywno–dominacyjnego oddziaływania alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,219) i powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,369). Negatywne współdziałanie alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* w kształtowaniu cechy, zaobserwowano, gdy występowały w konfiguracji dominacyjno–addytywnej (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) u krów w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,486) i powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,707) Co więcej, zaobserwowano niekorzystne współdziałanie addytywno–addytywne epistazy genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) u krów w mleku, których było równo lub mniej niż 200 tys./ml (zdrowe) (-0,230) oraz powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*). Interakcja addytywno–addytywna alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) była niepożądana dla analizowanej cechy, u krów których mleko zawierało powyżej 400 tys SC/ml (kliniczne *mastitis*) (tab. 25).

W odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku (tab. 26.) allel IN genu *CTSD* w układzie homozygotycznym (*aCTSD* – efekt addytywny) wywierał korzystne działanie na cechę u krów, których mleko zawierało równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,027) i u zwierząt w mleku, których odnotowano powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,040) oraz powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (0,048). Natomiast, w heterozygotcie allel IN genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) działał w pożądanym sposób na badaną cechę u krów w mleku, których było powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,177). Ponadto pozytywny efekt na procentową zawartość białka w mleku wykazywał również allel

IN, występujący w układzie heterozygotycznym genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) u krów, których mleko zawierało więcej niż 400 tys. SC/ml (klinicznym *mastitis*) (0,247) (tab. 26.).

Przeprowadzone badania wskazują, że dominacyjno–addytywne współdziałanie alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (0,318) (*dCTSD* x *aPRKCQ*) oraz *CTSD* i *SH3GLB1* (0,189) (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) jest korzystne dla analizowanej cechy u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (tab. 26.). Ponadto stwierdzono pożądane współdziałanie addytywno–dominacyjne alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *dSH3GLB1*) na badaną cechę u zwierząt w mleku, których było powyżej 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,448). Wykazano korzystne współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) na badaną cechę u krów, których mleko zawierało równo lub mniej niż 200 tys. SC/ml (0,189) (zdrowe) oraz w przypadku zwierząt, których mleko zawierało powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (0,655). Niepożądane działanie epistazy genów *CTSD* i *SH3GLB1* na badaną cechę, zaobserwowano w konfiguracji addytywno–addytywnej (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,031). Niekorzystne współdziałanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę, zaobserwowano w układzie addytywno-dominacyjnym (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) u krów, których mleko zawierało więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,241). Ponadto stwierdzono niepożądaną interakcję dominacyjno-addytywną alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) w kształtowaniu się cechy u zwierząt, których mleko zawierało równo lub mniej niż 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,411) (tab. 26.).

Tabela 25. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,020	0,015	-0,014	0,022	<u>0,066</u>	<u>0,033</u>
<i>dCTSD</i>	-0,018	0,059	0,085	0,108	<u>0,323</u>	<u>0,163</u>
<i>aPRKCQ</i>	0,009	0,041	-0,031	0,043	0,035	0,075
<i>dPRKCQ</i>	0,774	1,262	0,248	0,732	-0,389	0,625
<i>aSH3GLB1</i>	-0,027	0,015	-0,033	0,023	-0,042	0,037
<i>dSH3GLB1</i>	<u>0,109</u>	<u>0,053</u>	<u>0,273</u>	<u>0,088</u>	0,145	0,157
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	<u>-0,230</u>	<u>0,082</u>	<u>-0,144</u>	<u>0,071</u>	0,00	0,095
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	<u>0,569</u>	<u>0,269</u>	0,127	0,385	0,751	0,823
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,599</u>	<u>0,192</u>	0,516	0,378	0,253	0,526
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	0,002	0,026	0,014	0,037	<u>-0,116</u>	<u>0,059</u>
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>-0,219</u>	<u>0,096</u>	<u>-0,369</u>	<u>0,143</u>	-0,395	0,245
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	0,077	0,108	<u>0,597</u>	<u>0,177</u>	0,336	0,28
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,095	0,404	0,470	0,647	-0,606	1,083
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,015	0,044	0,061	0,075	-0,085	0,140
<i>aPRKC x dSH3GLB1</i>	-0,079	0,141	0,181	0,222	0,290	0,446
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,486</u>	<u>0,306</u>	<u>-0,707</u>	<u>0,503</u>	0,747	0,923
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,415	0,627	-0,233	0,887	0,712	0,849

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 26. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	<u>0,027</u>	0,009	0,040	0,018	0,048	0,023
<i>dCTSD</i>	0,013	0,033	0,177	0,088	0,199	0,112
<i>aPRKCQ</i>	-0,012	0,023	-0,062	0,035	-0,004	0,051
<i>dPRKCQ</i>	0,282	0,913	-0,115	1,412	-0,046	0,722
<i>aSH3GLB1</i>	-0,008	0,008	-0,004	0,0187	0,032	0,025
<i>dSH3GLB1</i>	0,013	0,030	0,072	0,072	0,247	0,108
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,072	0,046	-0,044	0,058	-0,009	0,065
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,658	0,845	0,631	0,944	-0,238	1,933
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,318</u>	0,109	0,250	0,308	-0,061	0,360
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,031	0,015	-0,037	0,030	-0,023	0,040
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,095	0,054	-0,241	0,117	-0,104	0,168
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	<u>0,189</u>	0,061	0,208	0,144	<u>0,655</u>	0,191
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,009	0,228	-0,339	0,528	0,078	0,741
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,013	0,025	-0,067	0,061	-0,129	0,096
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,047	0,079	0,448	0,181	-0,042	0,305
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,411</u>	0,374	-0,379	0,847	0,105	1,266
<i>dPRKC x dSH3GLB1</i>	-0,389	0,941	0,341	0,799	-0,495	0,629

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

W przypadku procentowej zawartości laktozy w mleku (tab. 27.) allel IN działał niekorzystnie na cechę, gdy występował w układzie heterozygotycznym genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) u krów, których mleko zawierało równo lub mniej niż 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,069) i zwierząt, w których mleku odnotowano więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,114). Podobny, czyli negatywny efekt allelu IN na cechę, zaobserwowano w heterozygotyce genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) u zwierząt w mleku, których było równo lub poniżej 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,024) oraz krów w mleku, których zawartość SC przekraczała 400 tys. na ml (kliniczne *mastitis*) (-0,230). Pozytywny efekt allelu IN w kształtowaniu cechy, stwierdzono jedynie w heterozygotyce genu *PRKCQ* (*dPRKCQ* – efekt dominacji) u krów, których mleko zawierało więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,628) (tab. 27).

Analiza oddziaływań nieallelicznych (tab. 27.) wskazuje, że interakcja addytywno–dominacyjna alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) jest niekorzystna dla badanej cechy u zwierząt, których mleko zawiera więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,122) i więcej niż 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,435). Ponadto negatywne współdziałanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę zaobserwowano w przypadku ich dominacyjno–dominacyjnego układu (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) u krów, których mleko zawierało więcej niż 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,527). Dodatkowo interakcja typu addytywno–addytywna (-0,055) (*aPRCKQ* x *aSH3GLB1*) oraz addytywno–dominacyjna (-0,146) (*aPRCKQ* x *dSH3GLB1*) alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* była niekorzystna dla procentowej zawartości białka w mleku u krów, których zawartość SC była równa lub nie przekraczała 200 tys. na ml (zdrowe). Stwierdzono, że interakcja addytywno–addytywna alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) była korzystna dla badanej cechy u krów, których mleko zawierało więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (0,024) (tab. 27.).

Tabela 27. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości laktozy w mleku w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,004	0,004	0,001	0,006	0,006	0,021
<i>dCTSD</i>	<u>-0,069</u>	<u>0,014</u>	<u>-0,114</u>	<u>0,030</u>	-0,084	0,102
<i>aPRKCQ</i>	0,006	0,010	-0,006	0,012	-0,011	0,046
<i>dPRKCQ</i>	0,259	0,374	<u>0,628</u>	<u>0,477</u>	0,261	0,902
<i>aSH3GLB1</i>	-0,006	0,003	-0,001	0,006	0,018	0,023
<i>dSH3GLB1</i>	<u>-0,024</u>	<u>0,012</u>	-0,032	0,024	<u>-0,230</u>	<u>0,098</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	0,019	0,019	-0,005	0,020	0,002	0,059
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	-0,579	0,755	-0,324	0,657	-0,924	1,176
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,054	0,044	-0,050	0,104	0,098	0,327
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,005	0,006	<u>0,024</u>	<u>0,010</u>	0,051	0,037
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,025	0,022	<u>-0,122</u>	<u>0,039</u>	<u>-0,435</u>	<u>0,153</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,017	0,025	0,008	0,049	0,301	0,174
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,067	0,093	-0,238	0,178	<u>-0,527</u>	<u>0,467</u>
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,055</u>	<u>0,0101</u>	0,001	0,021	-0,100	0,087
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	<u>-0,146</u>	<u>0,032</u>	0,059	0,061	0,509	0,277
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,355	0,302	-0,513	0,834	-0,479	0,878
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,292	0,499	-0,599	0,623	0,660	0,830

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 28. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w zależności od statusu zdrowotnego

Rodzaj efektu	200 tys./ml \geq SCC (zdrowe)		400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml (podkliniczne <i>mastitis</i>)		SCC > 400 tys./ml (kliniczne <i>mastitis</i>)	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,051	0,028	0,052	0,049	<u>0,062</u>	<u>0,028</u>
<i>dCTSD</i>	0,008	0,110	0,285	0,242	0,126	0,136
<i>aPRKCQ</i>	0,011	0,077	-0,106	0,096	0,062	0,062
<i>dPRKCQ</i>	0,666	0,801	0,698	0,896	-0,666	0,714
<i>aSH3GLB1</i>	-0,035	0,028	-0,063	0,052	0,023	0,031
<i>dSH3GLB1</i>	0,147	0,098	0,254	0,198	<u>0,430</u>	<u>0,132</u>
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,224	0,153	-0,194	0,160	0,031	0,080
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,458	0,608	0,429	0,536	0,571	0,636
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	<u>0,375</u>	<u>0,312</u>	0,511	0,851	0,516	0,439
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,027	0,048	-0,044	0,084	-0,058	0,049
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,319	0,178	<u>-0,687</u>	<u>0,322</u>	<u>-0,456</u>	<u>0,205</u>
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	0,259	0,200	0,563	0,398	<u>0,528</u>	<u>0,234</u>
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,018	0,752	-0,332	1,146	-0,331	0,905
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,056	0,081	0,037	0,169	<u>-0,246</u>	<u>0,117</u>
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,055	0,261	0,685	0,500	0,316	0,372
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	<u>-0,702</u>	<u>0,429</u>	-0,807	0,897	0,484	0,821
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,290	7,946	0,940	1,002	0,568	0,779

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Przeprowadzone badania wykazują (tab. 28.), że allel IN w homozygotie genu *CTSD* (0,062) (*aCTSD* – efekt addytywny) oraz w heterozygotie genu *SH3GLB1* (0,430) (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) działał w pożądaną sposób na procentową zawartość suchej masy w mleku od krów, u których odnotowano powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*).

Badania wykazały, że oddziaływanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) było korzystne dla procentowej zawartości suchej masy w mleku u zwierząt, których mleko zawierało równo lub mniej niż 200 tys. SC/ml (zdrowe) (0,375). Podobne, pożądane współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* dla cechy (*dCTSD* x *aSH3GLB1*), zaobserwowano w przypadku krów, których mleko zawiera powyżej 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (0,528). Niekorzystne działanie epistazy genów *CTSD* i *SH3GLB1* na analizowaną cechę, stwierdzono w przypadku układu addytywno–dominacyjnego (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) u krów w mleku, których było więcej niż 200 tys., ale równo lub mniej niż 400 tys. SC/ml (podkliniczne *mastitis*) (-0,687) oraz zwierząt, których mleko zawierało więcej niż 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,456). Ponadto negatywne współdziałanie alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* na cechę, stwierdzono w przypadku ich addytywno–addytywnej (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*) konfiguracji u krów, których mleko zawierało więcej niż 400 tys. SC/ml (kliniczne *mastitis*) (-0,246). Podobne, niekorzystne oddziaływanie dominacyjno–addytywne genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*dPRKCQ* x *aSH3GLB1*) na cechę, zaobserwowano w przypadku zwierząt w mleku, których było równo lub mniej niż 200 tys. SC/ml (zdrowe) (-0,702) (tab. 28.).

5.3 Efekty badanych genów w odniesieniu do klinicznego *mastitis*

5.3.1 Efekty badanych genów w odniesieniu do klinicznego *mastitis* w kolejnych laktacjach

Badania wykazały (tab. 29.), że efekt allelu IN genu *SH3GLB1* był niekorzystny dla liczby przypadków *mastitis acuta* w homozygotycie (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) w pierwszej laktacji (0,305). Podobny, czyli negatywny efekt allelu IN genu *CTSD*, zaobserwowano w heterozygotycie (*dCTSD* – efekt dominacji) w V laktacji (0,709).

Ponadto niepożądane współdziałanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę stwierdzono, gdy występowały w konfiguracji dominacyjno–dominacyjnej (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) we wszystkich laktacjach łącznie (0,485). Natomiast, dominacyjno–addytywne oddziaływanie alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) na badaną cechę zaobserwowano w IV laktacji (-0,480) (tab. 29.).

W tabeli 30. zestawione dane odnoszą się do liczby przypadków *mastitis chronica*. Efekt addytywny genu *PRKCQ* (*aPRKCQ*) był korzystny dla analizowanej cechy w II laktacji (-0,515). Podobnie było w przypadku dominacyjno–addytywnego współdziałania genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*), które okazało się być pożądane dla cechy w III laktacji (-0,864). Natomiast, oddziaływanie dominacyjno–dominacyjne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *dSH3GLB1*) na cechę było niekorzystne w II laktacji (0,620) (tab. 30.).

Badania wykazały (tab. 31.), że efekt allelu IN genu *SH3GLB1* w układzie homozygotycznym (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) wiązał się z większą liczbą przypadków zachorowań na *mastitis acuta* i *mastitis chronica* łącznie w I laktacji (0,490). Podobnie zaobserwowano w przypadku II laktacji, w której efekt allelu IN występującego w układzie heterozygotycznym genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) był niekorzystny dla analizowanej cechy (0,571). Korzystne działanie na cechę stwierdzono w przypadku dominacyjno–addytywnej (*dCTSD* x *aPRKCQ*) konfiguracji alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (-0,496) oraz dla interakcji addytywno–addytywnej alleli genów *PRKCQ* i *SH3GLB1* (*aPRKCQ* x *aSH3GLB1*) w IV laktacji (-0,614). Co więcej, badania wykazały, że oddziaływanie addytywno–addytywne alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) w IV laktacji wiązało się ze wzrostem liczby przypadków *mastitis acuta* i *chronica* łącznie (0,442) (tab. 31.).

Tabela 32. zawiera dane dotyczące średnich wartości efektów addytywnych i dominacyjnych genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz epistaz w odniesieniu do liczby

ćwiartek wymienia objętych infekcją w kolejnych laktacjach. Wykazano, że efekt allelu IN genu *CTSD* w układzie heterozygotycznym (*dCTSD* – efekt dominacji) wiązał się z większą liczbą ćwiartek wymienia objętych procesem zapalnym we wszystkich laktacjach łącznie (0,521). Równie niekorzystny efekt na badaną cechę, rozumianą jako większą liczbę ćwiartek wymienia objętych procesem zapalnym, stwierdzono w przypadku oddziaływania addytywno–addytywnego alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*aCTSD* x *aPRKCQ*) w I laktacji (1,046) i we wszystkich laktacjach łącznie (0,415). Podobnie niekorzystne działanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę zaobserwowano w przypadku ich dominacyjno–addytywnej (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) interakcji w V laktacji (0,580) (tab. 32.).

W odniesieniu do cechy wskazującej stopień nasilenia choroby, czyli ćwiartko-dni (tab. 33) wykazano, że allel IN genu *CTSD* w heterozygocie (*dCTSD* – efekt dominacji) działa niekorzystnie na cechę w II laktacji (0,527) i we wszystkich laktacjach łącznie (1,875). Korzystny efekt allelu IN zaobserwowano w przypadku heterozygoty genu *SH3GLB1* (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) w I laktacji (-0,822). Co więcej, oddziaływanie typu dominacyjno–addytywnego alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) wiązało się z mniejszą liczbą ćwiartko-dni we wszystkich laktacjach łącznie (-0,893) (tab. 33.).

W tabeli 34. zostały zestawione dane dotyczące między innymi wartości efektów addytywnych, dominacyjnych *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz epistaz w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na *mastitis chronica* w kolejnych laktacjach. Stwierdzono niekorzystny efekt allelu IN występującego w heterozygocie genu *CTSD* (*dCTSD* – efekt dominacji) na analizowaną cechę w II laktacji (0,505). Stwierdzono, że współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) w III laktacji (-0,448), a także *CTSD* i *SH3GLB1* (*dCTSD* x *aSH3GLB1*) w I laktacji (-0,286) wiązało się z mniejszą liczbą przechorowanych na *mastitis chronica* (tab. 34.).

Natomiast w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na *mastitis acuta* (tab. 35) wykazano, że allel IN genu *SH3GLB1* działał w niepożądany sposób na cechę, gdy występował w układzie homozygotycznym (0,487) (*aSH3GLB1* – efekt addytywny), a w pożądanym w heterozygocie w I laktacji (-0,402). Negatywne oddziaływanie alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* na cechę, stwierdzono również w przypadku układu addytywno–dominacyjnego (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) w I laktacji (0,705) (tab. 35.).

W tabeli 36. zestawiono dane dotyczące łącznej liczby dni zachorowań na kliniczne *mastitis* (zarówno *mastitis chronica*, jak i *acuta*). Wykazano, że allel IN genu *CTSD* występujący w heterozygocie (*dCTSD* – efekt dominacji) działa niekorzystnie na cechę w II laktacji (0,656) oraz we wszystkich laktacjach łącznie (0,836). Ponadto allel IN działa w

negatywny sposób na cechę, gdy występuje w homozygocie genu *SH3GLB1* (*aSH3GLB1* – efekt addytywny) w I laktacji (0,873) a korzystny w przypadku heterozygoty (*dSH3GLB1* – efekt dominacji) w I laktacji (-0,701) oraz wszystkich laktacji łącznie (-0,776). Co więcej, w badaniach przeanalizowano oddziaływania niealleliczne i wykazano, że interakcja addytywno–addytywna w IV laktacji (0,575) (*aCTSD* x *aSH3GLB1*) oraz addytywno–dominacyjna (*aCTSD* x *dSH3GLB1*) w I laktacji (0,488) alleli genów *CTSD* i *SH3GLB1* wiązała się z większą liczbą dni zachorowań na *mastitis acuta* i *chronica* łącznie. Natomiast, współdziałanie dominacyjno–addytywne alleli genów *CTSD* i *PRKCQ* (*dCTSD* x *aPRKCQ*) było związane z mniejszą liczbą dni zachorowań na *mastitis acuta* i *chronica* łącznie we wszystkich laktacjach ujętych łącznie (-0,789).

Tabela 29. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków *mastitis acuta* w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie razem	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,011	0,1211	0,0311	0,140	0,328	0,540	-0,168	0,234	0,099	0,220	-0,223	0,458	0,078	0,062
<i>dCTSD</i>	0,160	0,474	0,620	0,572	-0,199	0,136	-0,401	1,176	0,709	0,697	0,272	0,538	0,202	0,261
<i>aPRKCQ</i>	-0,025	0,256	0,0750	0,282	-0,405	0,252	-0,210	0,397	-0,213	0,326	-0,002	0,912	-0,112	0,109
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,305	0,728	0,715	0,825	-0,308	0,403	-0,250	0,405	-0,607	0,636
<i>aSH3GLB1</i>	0,305	0,132	0,096	0,154	-0,056	0,145	0,026	0,250	-0,095	0,248	-0,269	0,483	-0,040	0,069
<i>dSH3GLB1</i>	-0,751	0,410	-0,378	0,572	0,807	0,547	1,148	1,007	0,079	1,189	0,069	0,688	-0,269	0,264
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,027	0,441	-0,380	0,582	-0,236	0,399	-0,756	0,696	-0,133	0,548	0,445	1,393	0,124	0,186
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,813	1,277	0,000	0,000	-0,540	1,060	-0,480	0,146	-0,782	0,382	-0,297	0,961	-0,498	0,785
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,118	0,206	-0,079	0,239	-0,203	0,263	0,771	0,462	-0,039	0,415	-0,276	1,026	0,058	0,112
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,520	0,656	0,994	0,896	0,377	1,171	-0,006	1,990	0,257	2,359	0,000	0,000	0,003	0,440
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,719	0,769	-0,085	0,978	0,824	1,06	-0,199	0,514	-0,341	0,915	0,000	0,000	0,126	0,464
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,597	0,839	0,708	0,848	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,485	0,277
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,108	0,408	0,238	0,510	0,425	0,480	-0,630	0,920	-0,599	0,745	-0,157	0,754	0,042	0,208
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,275	0,612	0,401	0,845	-0,161	0,439	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,223	0,692
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 30. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków *mastitis chronica* w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,082	0,130	-0,029	0,125	0,052	0,454	0,036	0,196	0,213	0,202	-0,110	0,354	-0,011	0,068
<i>dCTSD</i>	-0,266	0,509	0,951	0,513	0,175	0,115	0,200	0,982	0,122	0,918	0,034	0,965	0,440	0,287
<i>aPRKCQ</i>	0,511	0,275	-0,515	0,253	-0,209	0,212	0,011	0,331	-0,224	0,300	0,065	0,706	-0,106	0,120
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,611	0,734	-0,852	1,055	0,196	0,550	-0,163	0,680	-0,734	4,007595
<i>aSH3GLB1</i>	0,184	0,141	-0,110	0,138	0,203	0,122	-0,285	0,209	-0,331	0,229	-0,327	0,374	0,100	0,076
<i>dSH3GLB1</i>	-0,373	0,440	0,608	0,514	0,001	0,460	-0,895	0,841	-0,223	1,095	-0,551	0,611	-0,148	0,291
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,592	0,474	-0,246	0,523	0,557	0,335	-0,390	0,582	0,074	0,504	0,254	1,078	-0,135	0,205
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,893	1,390	0,000	0,000	-0,864	0,347	-0,476	0,629	-0,410	0,619	-0,378	0,614	-0,411	0,866
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,230	0,221	0,388	0,215	-0,065	0,221	0,671	0,386	-0,222	0,382	-0,814	0,794	0,0357	0,123
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,186	0,703	0,448	0,804	0,506	0,985	-0,507	1,166	-0,258	0,517	0,000	0,000	0,789	0,485
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-1,025	0,825	0,852	0,878	0,369	0,905	-0,584	0,910	-0,698	0,764	0,000	0,000	-0,285	0,511
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,857	0,976	0,620	0,312	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,616	0,956
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,634	0,438	0,578	0,457	-0,210	0,404	-0,084	0,769	0,221	0,686	-0,186	1,109	-0,070	0,230
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,801	1,201	-0,936	1,302	0,052	1,210	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-1,004	0,763
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 31. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków *mastitis acuta* i *mastitis chronica* łącznie w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,071	0,187	0,002	0,181	0,37951	0,689	-0,132	0,336	0,313	0,330	-0,333	0,712	0,067	0,097
<i>dCTSD</i>	-0,106	0,732	0,571	0,374	-0,024	0,174	-0,202	1,117	0,213	1,050	0,757	0,949	0,642	0,408
<i>aPRKCQ</i>	0,485	0,395	-0,440	0,737	-0,614	0,322	-0,199	0,569	-0,437	0,490	0,062	1,420	-0,218	0,170
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,915	1,133	0,297	0,826	-0,311	0,548	-0,413	0,641	-0,806	1,700
<i>aSH3GLB1</i>	0,490	0,203	-0,014	0,200	0,148	0,185	-0,259	0,359	-0,427	0,729	-0,596	0,751	0,060	0,109
<i>dSH3GLB1</i>	-1,125	0,632	0,230	0,742	0,807	0,698	0,253	1,044	-0,144	0,787	-0,828	0,918	-0,417	0,414
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,619	0,681	-0,625	0,755	0,322	0,508	-0,915	0,999	-0,059	0,823	0,199	0,217	-0,011	0,292
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,765	0,736	0,000	0,000	-0,404	0,504	-0,496	0,512	-0,193	0,579	-0,676	0,927	-0,909	1,231
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,348	0,318	0,309	0,311	-0,268	0,336	0,442	0,663	-0,261	0,624	-0,414	0,596	0,094	0,175
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,389	1,011	0,443	1,163	0,883	0,949	-0,513	0,853	-0,300	0,545	0,000	0,000	0,792	0,690
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,744	1,187	0,767	1,269	0,192	0,372	-1,157	3,605	-0,40	0,877	0,000	0,000	-0,159	0,727
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,626	0,687	0,790	0,951	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,910	0,781
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,526	0,630	0,815	0,661	0,215	0,612	-0,614	1,314	-0,377	1,120	-0,343	0,393	-0,028	0,326
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,526	1,073	-0,535	0,882	-0,108	0,836	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,723	1,085
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 32. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby ćwiartek wymienia objętych infekcją w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,043	0,118	-0,061	0,136	0,262	0,527	0,070	0,092	0,012	0,087	0,271	0,209	0,029	0,051
<i>dCTSD</i>	0,203	0,462	0,585	0,556	0,194	0,133	0,901	0,464	0,650	0,393	-0,720	1,158	0,521	0,217
<i>aPRKCQ</i>	0,239	0,249	-0,289	0,274	0,435	0,246	-0,020	0,157	-0,051	0,129	-0,433	0,416	0,058	0,091
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,699	0,852	0,458	0,546	0,076	0,376	-0,125	0,759	-0,604	1,035
<i>aSH3GLB1</i>	-0,186	0,128	0,097	0,150	0,091	0,141	-0,044	0,099	-0,031	0,098	0,028	0,220	-0,032	0,058
<i>dSH3GLB1</i>	0,201	0,399	0,232	0,556	-0,323	0,534	0,194	0,398	0,171	0,469	0,463	0,523	0,193	0,221
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	1,046	0,429	0,166	0,566	0,748	0,389	0,284	0,275	-0,137	0,216	-0,591	0,636	0,415	0,155
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,403	0,725	0,000	0,000	0,524	0,956	-0,617	0,724	-0,204	0,939	0,599	0,720	-0,227	0,656
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	0,009	0,201	0,072	0,233	0,069	0,257	-0,011	0,183	0,258	0,416	0,431	0,468	-0,001	0,093
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,241	0,637	0,422	0,871	-0,582	1,143	-0,154	0,786	0,586	0,930	0,000	0,000	0,304	0,367
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,197	0,748	-0,466	0,951	-0,252	1,050	-0,787	0,993	0,580	0,7550	0,000	0,000	-0,022	0,387
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,800	1,032	0,197	0,383	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,400	1,481
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,463	0,397	0,022	0,495	-0,372	0,469	0,251	0,363	-0,063	0,294	0,054	0,702	-0,225	0,14
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,228	1,088	0,123	1,411	0,451	0,840	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,723	0,578
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 33. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby ćwiartko-dni w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,721	1,046	-0,272	0,515	0,512	0,654	-0,599	0,883	0,722	0,838	-0,050	4,048	0,382	0,693
<i>dCTSD</i>	0,568	0,709	<u>0,527</u>	<u>0,197</u>	0,404	0,619	0,132	0,452	0,572	0,833	0,450	0,644	<u>1,875</u>	<u>0,931</u>
<i>aPRKCQ</i>	0,343	0,081	-0,073	0,058	-0,745	0,992	0,080	0,420	-0,414	0,726	-0,390	0,665	-0,026	1,223
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,770	0,594	0,696	0,814	0,409	0,639	-0,195	0,457	-0,923	0,899
<i>aSH3GLB1</i>	0,248	0,585	-0,148	0,670	0,451	0,719	-0,795	0,901	-0,263	0,408	-0,252	0,269	0,066	0,781
<i>dSH3GLB1</i>	<u>-0,822</u>	<u>0,693</u>	0,024	0,720	-0,373	0,492	0,441	0,709	-0,425	0,943	0,874	0,768	-0,873	0,972
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	0,631	1,311	-0,035	0,309	0,419	0,731	0,158	0,599	-0,251	0,580	0,731	0,832	0,821	1,093
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,393	1,336	0,000	0,000	-0,812	0,901	-0,818	0,929	-0,471	0,919	-0,122	0,700	<u>-0,893</u>	<u>0,784</u>
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,542	0,648	0,164	0,594	0,673	0,812	0,410	0,716	0,369	0,470	-0,165	0,675	0,715	1,254
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,886	0,979	0,156	0,711	-0,762	0,903	-0,132	0,995	-0,106	0,728	0,000	0,000	0,817	0,952
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,017	0,255	0,700	0,981	-0,484	0,770	-0,580	0,721	-0,205	0,401	0,000	0,000	-0,273	1,216
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,411	0,756	0,606	0,699	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,814	0,959
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,607	0,914	0,631	0,952	0,680	0,699	-0,537	0,639	-0,603	0,723	-0,472	0,601	-1,065	1,342
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,521	0,646	-0,295	0,721	0,670	0,821	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-1,100	1,278
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 34. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na *mastitis chronica* w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,322	0,395	-0,093	0,482	1,072	1,827	-0,480	0,749	0,861	0,903	-0,084	1,321	0,237	0,225
<i>dCTSD</i>	-0,530	1,543	0,505	0,397	0,781	0,462	0,355	0,762	0,450	0,519	0,396	0,732	0,6910	0,950
<i>aPRKCQ</i>	0,458	0,832	-0,906	0,974	-0,783	0,853	0,178	1,271	-0,523	1,043	0,079	0,631	-0,162	0,396
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,453	0,533	-0,389	0,523	-0,690	0,728	-0,274	0,437	-0,679	1,253
<i>aSH3GLB1</i>	0,738	0,428	-0,317	0,532	0,852	0,490	-0,238	0,801	-0,782	0,794	-0,380	0,393	-0,127	0,253
<i>dSH3GLB1</i>	-1,068	1,332	0,397	0,975	-0,385	0,851	-0,494	0,722	-0,762	0,804	-0,035	0,753	-0,640	0,963
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,816	1,435	0,000	0,009	0,702	0,835	-0,525	0,623	0,496	0,675	0,217	0,502	0,810	0,678
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	-0,514	0,765	0,000	0,000	-0,448	0,342	-0,359	0,407	0,444	0,621	-0,284	0,419	-0,668	0,862
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,751	0,671	0,621	0,826	0,026	0,890	0,483	0,648	0,652	1,328	-0,071	0,958	0,466	0,406
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,283	0,313	0,266	1,093	0,792	0,964	-0,188	0,366	-0,789	0,955	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,286	0,501	0,804	0,375	0,452	0,640	-0,028	0,604	-0,559	0,713	0,000	0,000	-0,265	1,690
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,421	0,769	0,312	0,501	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,932	1,467
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,404	1,328	0,409	0,000	0,284	1,625	-0,524	0,943	-0,578	0,638	0,643	4,437	-0,675	0,759
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,971	1,164	-0,330	0,501	-0,693	0,870	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,460	0,852
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Literą „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 35. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na *mastitis acuta* w kolejnych laktacjach

Efekt	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	0,203	0,512	-0,458	0,619	0,889	0,960	-0,959	0,932	0,451	1,087	-0,299	1,665	-0,157	0,299
<i>dCTSD</i>	0,760	1,000	0,151	0,533	-0,642	0,766	-0,560	0,679	0,807	0,930	0,710	1,230	1,145	1,263
<i>aPRKCQ</i>	0,792	1,079	-0,172	1,250	-0,693	1,212	-0,512	0,758	-0,263	1,261	-0,563	1,318	-0,144	0,527
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,827	1,297	0,716	0,802	0,658	0,810	-0,598	0,989	-0,794	0,862
<i>aSH3GLB1</i>	<u>0,487</u>	<u>0,555</u>	-0,365	0,683	0,272	0,697	0,301	0,997	-0,350	0,723	-0,305	0,756	0,343	0,336
<i>dSH3GLB1</i>	<u>-0,402</u>	<u>0,673</u>	-0,106	0,535	-0,316	0,630	0,592	0,601	-0,834	0,882	0,414	0,777	-0,381	1,281
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,985	1,386	-0,694	0,858	-0,329	1,917	-0,063	1,771	-0,301	0,710	0,161	0,660	-0,307	0,902
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,195	0,474	0,000	0,000	-0,546	0,702	-0,418	0,521	-0,605	0,784	-0,135	0,677	-0,912	1,181
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,738	0,870	0,102	1,060	-0,489	1,265	0,592	0,840	-0,224	0,405	0,400	0,730	0,327	0,540
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	<u>0,705</u>	<u>0,476</u>	0,069	0,970	0,532	0,633	-0,306	0,918	-0,406	0,671	0,000	0,000	0,748	1,133
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,276	0,524	0,580	0,733	0,593	0,617	0,081	0,300	-0,224	0,473	0,000	0,000	-0,296	0,425
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	-0,802	0,907	-0,183	0,410	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,408	0,599
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,111	1,072	0,106	0,426	0,273	0,309	-0,201	0,660	-0,575	0,687	-0,029	0,595	-0,389	1,009
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,760	0,937	0,481	0,643	-0,606	0,921	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,727	0,835
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Litera „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

Tabela 36. Efekty addytywne i dominacyjne *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na *mastitis acuta* i *mastitis chronica* łącznie w kolejnych laktacjach

Rodzaj efektu	I laktacja		II laktacja		III laktacja		IV laktacja		V laktacja		VI laktacja		Wszystkie laktacje łącznie	
	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE	Efekt	SE
<i>aCTSD</i>	-0,119	0,699	-0,551	0,806	0,961	1,090	-0,439	1,220	0,312	1,038	-0,383	0,309	0,080	0,390
<i>dCTSD</i>	0,230	0,730	0,656	0,296	0,140	0,806	0,376	0,613	0,523	0,237	0,673	0,797	0,836	0,650
<i>aPRKCQ</i>	0,425	1,473	-0,508	1,116	-0,716	0,949	-0,338	0,697	-0,179	0,204	-0,484	0,600	-0,306	0,689
<i>dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,280	0,564	0,773	0,806	0,297	0,712	-0,337	0,485	-0,473	0,803
<i>aSH3GLB1</i>	<u>0,873</u>	<u>0,758</u>	-0,682	0,888	0,412	0,856	-0,594	1,031	-0,132	0,553	-0,253	0,435	0,216	0,440
<i>dSH3GLB1</i>	<u>-0,701</u>	<u>0,384</u>	0,292	0,630	-0,168	0,232	0,265	0,425	-0,596	0,844	0,379	0,554	-0,776	0,674
<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	-0,801	1,539	-0,494	0,636	0,690	0,835	-0,588	0,630	-0,338	0,428	0,378	0,602	0,503	1,179
<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	0,681	1,200	0,000	0,000	-0,699	0,946	-0,478	0,640	-0,716	0,907	-0,420	0,905	-0,789	0,697
<i>dCTSD x dPRKCQ</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	-1,489	1,187	0,723	0,838	-0,464	1,055	0,575	0,641	-0,572	0,597	0,329	0,817	0,579	0,706
<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	0,488	0,298	0,335	0,717	0,645	0,920	-0,494	0,737	-0,20	0,764	0,000	0,000	0,793	0,885
<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	-0,562	0,942	0,385	0,637	0,384	0,636	0,053	0,102	-0,784	0,984	0,000	0,000	-0,561	0,937
<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	0,619	0,747	0,129	0,905	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,849	1,240
<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	-0,706	0,835	0,515	0,937	0,557	0,836	-0,246	0,794	-0,152	0,664	-0,386	0,756	-1,063	1,319
<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	-0,790	0,744	-0,381	0,836	-0,598	0,850	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,734	1,383
<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Czerwonym kolorem zostały zaznaczone efekty istotne statystycznie (podkreślone – efekty istotne przy $P \leq 0,01$, bez podkreślenia – efekty istotne przy $P \leq 0,05$). SE- Błąd standardowy. Litera „a” oznaczono efekty addytywne (*IN/IN*), „d” – dominacyjne (*IN/DEL*), natomiast interakcje (efekty epistatyczne) zostały oznaczone jako „aa” – efekt addytywno-addytywny (*IN/IN x IN/IN*), „dd” – efekt dominacyjno-dominacyjny (*IN/DEL x IN/DEL*), „ad” – efekt addytywno-dominacyjny (*IN/IN x IN/DEL*), „da” – efekt dominacyjno-addytywny (*IN/DEL x IN/IN*).

6. Dyskusja

6.1 Polimorfizmy w genach, których produkty zaangażowane są w proces autofagii

W niniejszej pracy zostały przeanalizowane polimorfizmy typu IN/DEL występujące w regionach niekodujących genów *CTSD*, *PRKCQ*, *SH3GLB1*, *BCL2* i *ATG14*. Przeprowadzone badania wykazały istnienie polimorfizmów jedynie w obrębie genów *CTSD*, *PRKCQ* oraz *SH3GLB1* i tym samym obecność trzech różnych genotypów – IN/IN, IN/DEL, DEL/DEL. Natomiast, w przypadku genów *BCL2* i *ATG14* występował tylko jeden wariant genu (monomorfizm) i z uwagi na ten fakt w pracy zostały przeanalizowane asocjacje z badanymi cechami jedynie dla genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*.

Analiza polimorfizmów typu IN/DEL w regionach niekodujących wydaje się być zasadna. Polimorfizmy niekodujące IN/DEL nie ulegają tak silnej selekcji jak IN/DEL, czy SNPs, zlokalizowane w obrębie sekwencji kodujących oraz zostały mniej przebane. Ponadto analizowane polimorfizmy genów uczestniczących w procesie autofagii nie zostały dotychczas zbadane w kontekście *mastitis* i cech produkcji mlecznej u bydła. Produkty wytypowanych w badaniu genów uczestniczą w poszczególnych etapach procesu autofagii oraz wykazują związek z odpornością.

Sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) dostarczyło danych genomicznych, które pozwoliły scharakteryzować różnorodność genetyczną populacji bydła oraz stworzenie obszernej bazy danych. Łącznie w populacji bydła zidentyfikowano około 60,44 milionów SNPs, 6,86 milionów polimorfizmów typu IN/DEL oraz 76 634 regionów CNVs (Chen i in., 2020). SNPs w regionach kodujących i niekodujących są zarówno zaangażowane w choroby dziedziczne zgodnie z prawami Mendla, jak i wielogenowe. Podobne zjawisko występuje w przypadku polimorfizmów IN/DEL. Wystąpienie insercji lub delecji w regionie kodującym, których długość nie jest podzielna przez trzy, może prowadzić do przesunięcia ramki odczytu i odczytania przez rybosom innego od typu dzikiego aminokwasu. Przykładowo u ludzi taka sytuacja ma miejsce w mukowiscydozie, gdzie występująca w genie *CFTR* delecja skutkuje usunięciem jednego aminokwasu (fenyloalaniny) w pozycji 508, co prowadzi do zahamowania funkcji białka i wywołania objawów chorobowych. Polimorfizmy typu insercyjno-delecyjnego mogą zostać również zlokalizowane w sekwencjach niekodujących. Introny wbrew wcześniejszemu przekonaniu o swojej bezużyteczności spełniają wiele ważnych funkcji. Sekwencje intronowe mogą regulować alternatywny splicing, wzmacniać

ekspresję genów, kontrolować transport mRNA, składanie chromatyny czy zjawisko rozpoznające i niszczące mRNA zawierający przedwczesny kodon STOP (*Nonsense-mediated Decay*–NMD). Zatem w przypadku regionów niekodujących polimorfizmy typu insercyjno-delecyjnego mogą wpływać na przykład na powinowactwo czynnika transkrypcyjnego i miejsca jego wiązania czy na strukturę chromatyny (powstawanie nukleosomów). Przykładowo u ludzi insercje w promotorze genu *FMRI* mogą powodować zespół łamliwego chromosomu X (Gagliano i in., 2019; Jo i Choi, 2015).

Asocjacje pomiędzy SNPs w niektórych genach (np. geny odporności lub związane z procesami odpornościowymi) a *mastitis* są obecnie szeroko analizowane. Podobnie jest w przypadku polimorfizmów typu CNVs, których jest znacznie mniej w genomie niż SNPs. Jednak wyniki tych badań nie wyjaśniają w pełni zmienności tej cechy ze względu na niski współczynnik dziedziczalności. Drugim najczęściej występującym zaraz po SNPs w genomie bydła typem polimorfizmów są IN/DEL. Analiza tych polimorfizmów może przyczynić do wyjaśnienia złożonego mechanizmu dziedziczenia zapalenia wymienia u krów ze względu na ich stosunkowo duże rozproszenie w genomie bydła. Skumulowany wpływ polimorfizmów typu IN/DEL na ryzyko rozwoju poszczególnych chorób nie został tak dokładnie przebadany, jak w przypadku SNPs. Mniejsze zainteresowanie badawcze może wynikać z powodu podlegania genów kodujących IN/DEL silniejszej selekcji niż SNPs. Silniejsza selekcja polimorfizmów insercyjno-delecyjnych w regionach kodujących ma swoje biologiczne uzasadnienie. Zmiana ramki odczytu nukleotydów może nieść z sobą negatywne konsekwencje (powstanie innego aminokwasu czy nie powstanie ważnego aminokwasu). Zatem ważne jest eliminowanie takich polimorfizmów indel z puli genowej populacji na drodze selekcji (Berry i in., 2011; Gagliano i in., 2019).

Gagliano i in. (2019) przeprowadził badania, w których porównywali wspólny wpływ polimorfizmów IN/DEL czy SNPs na dziedziczenie cechy złożonej. Badania wykazały, że zarówno indel i SNPs pod tym względem są genetycznie równoważne. Ponadto, polimorfizmy insercyjno-delecyjne podobnie jak SNPs, pomimo tego, że nie są mutacją przyczynową, mogą być pomocne przy mapowaniu *loci* o większym efekcie na daną cechę (QTL), gdy występują w nierównowadze sprzężeń. Polimorfizmy typu indel mają ekonomiczną przewagę nad SNPs, gdyż są tańsze w identyfikacji niż SNPs, ponieważ wymagają jedynie przeprowadzenia klasycznego PCR (Gagliano i in., 2019; Vasemägi i in., 2010).

6.2 Związek autofagii z odpornością i procesem zapalnym

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istnienie wielu istotnych asocjacji pomiędzy badanymi polimorfizmami a analizowanymi cechami (odporność na *mastitis* i cechy użytkowości mlecznej), co wskazuje na związek analizowanych genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*) z odpornością/podatnością na infekcje, w tym zapalenie gruczołu mlecznego. Niniejsza praca jest pierwszym badaniem potwierdzającym istnienie asocjacji pomiędzy polimorfizmami genów, których produkty uczestniczą w procesie autofagii, a odpornością na *mastitis* u bydła mlecznego. Niemniej jednak już wcześniej udowodniono, że istnieje związek między autofagią a odpornością/podatnością na infekcje.

Autofagia jest niezbędna do regulacji odpowiedzi immunologicznej na toczący się proces zapalny. Prawidłowe rozpoznanie drobnoustroju chorobotwórczego prowadzi do rekrutacji komórek odpornościowych. Wydzielanie chemokin i cytokin wspiera rekrutację innych komórek odpornościowych oraz aktywację komórek dendrytycznych, które aktywują mechanizmy adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej (Ge i in., 2018). Autofagia reguluje mechanizmy odporności swoistej i nieswoistej poprzez modulowanie elementów układu odpornościowego, w szczególności: komórek NK, makrofagów, komórek dendrytycznych (DC), a także limfocytów T i B. Ponadto wpływa również na uwalnianie cytokin i przeciwciał (Jiang i in., 2019). Komórki NK, w których proces autofagii zachodził nieprawidłowo, gromadzą uszkodzone mitochondria i produkują duże ilości reaktywnych form tlenu (ROS). Ogólnoustrojowa indukcja autofagii lekiem przeciwcukrzycowym metforminą, zwiększyła produkcję komórek CD8⁺T, komórek NKT, komórek mNK (ang. Mature NK cells- dojrzałe komórki NK) i ILC typu 1 u myszy (López-Soto i in., 2017).

Autofagia jest zaangażowana w prawie wszystkie funkcje makrofagów, począwszy od rozpoznania patogenu i fagocytozy, skończywszy na uwalnianiu cytokin. Makrofagi nie są jednorodne i mogą ulegać polaryzacji na rozbieżne fenotypy w różnych mikrośrodkach tkankowych. Zazwyczaj można wyróżnić fenotyp M1 (aktywowany w klasyczny sposób) i M2 (aktywowany alternatywnie). Interferon- γ i lipopolisacharydy (LPS) mogą aktywować typ M1, prowadząc do zwiększonej produkcji cytokin prozapalnych oraz innych związanych z odpornością komórkową, podczas gdy IL-4 (interleukina 4) lub IL-3 (interleukina 3) mogą aktywować typ M2 w celu promowania naprawy tkanek i odporności humoralnej. Zaobserwowano, że autofagia reguluje proces polaryzacji makrofagów poprzez różne mechanizmy, np. degradację NF- κ B oraz szlak mTOR. Aktywacja NF- κ B może powodować polaryzację makrofagów do M1 lub M2. Wykazano, że sygnał pochodzący z TLR2 (receptor toll-podobny 2) indukuje ubikwitynację cytozolową NF- κ B p65 (czynnik transkrypcyjny,

podjednostka NF- κ B), co powoduje jego degradację przez autofagię za pośrednictwem p62 (Podjednostka białkowa NF kappa B) (Chang i in., 2013a; Chang i in., 2013b; Wu i Lu, 2019). Aktywacja szlaku mTOR rozpoczyna polaryzację makrofagów. Zaobserwowano, że rapamycyna (induktor autofagii) działając inhibicyjnie na proces autofagii, stymuluje makrofagi M1. Zablockowanie szlaku mTOR wywołało odwrotny efekt (Chen i in., 2012; Wu i Lu, 2019). Ponadto NF- κ B jest znanym czynnikiem transkrypcyjnym, który reguluje wiele genów związanych z odpowiedzią zapalną. Autofagia reguluje degradację kinazy aktywującej NF- κ B. Co więcej, autofagia jest odpowiedzialna za skuteczne usuwanie mitochondriów, które utraciły swoją funkcję i przez to zapobiega aktywacji inflamasomu (Wu i Lu, 2019).

Komórki dendrytyczne (DC - ang. *dendritic cell*) rozmieszczone są w całym organizmie, aby natychmiast reagować na drobnoustroje chorobotwórcze. Ich główna funkcja polega na przeniesieniu się do węzłów chłonnych i prezentacji antygenów limfocytom Th w celu wywołania adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej. Autofagia może wpływać na migrację komórek DC. Zaobserwowano, że komórki dendrytyczne z niedoborem białka ATG16 (białko biorące udział w procesie autofagii), wykazywały zmniejszoną migrację do węzłów chłonnych i zwiększoną adhezję komórkową. Ponadto autofagia reguluje proces dojrzewania komórek dendrytycznych. Zahamowanie autofagii w komórkach DC (pochodzących ze szpiku kostnego) zakażonych wirusem RSV zatrzymało ich dojrzewanie (Ghislat i Lawrence, 2018).

Autofagia jest szczególnie ważna dla homeostazy limfocytów T. Brak białek autofagii ATG5 i ATG7 prowadzi do pełnego dojrzewania limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺, ale szybko ulegają apoptozie. Oprócz utrzymania homeostazy autofagia może wywołać śmierć komórek lub być zaangażowana w funkcjonalną odpowiedź limfocytów T. Badania przeprowadzone przez Li i in. (2006) wykazało wyższy poziom autofagii w spolaryzowanych komórkach Th2 (Li i in., 2006). Ostatnie badania udowodniły ważną rolę autofagii w limfocytach B. Analizując chimery wątroby płodowej z niedoborem białka ATG5 wykazano, że u dorosłych myszy limfocyty B w śledzionie są zmniejszone. Ponadto, limfocyty B śledziony miały większe szanse na zajście apoptozy (McLeodi i He, 2010; Pua i in., 2007).

Inne badania udowodniły, że ekspresja białka Bcl-2 była większa w limfocytach pro-B, ale drastycznie obniżyła się po przejściu limfocytów z pro-B do pre-B. Co więcej, aktywacja receptorów limfocytów B jest związana z formowaniem się autofagosomów, a ich tworzenie jest niezbędne do prezentacji antygenów limfocytom T (Arsov i in., 2008; McLeodi i He, 2010).

Autofagia jest regulowana przez cytokiny, ale również sama może bezpośrednio wpływać na ich wydzielanie. Zakłócenie prawidłowego przebiegu autofagii skutkowało zwiększoną produkcją cytokin prozapalnych IL-1 α , IL-1 β i IL-18. Istnieją dowody, że autofagia reguluje wydzielanie TNF- α (czynnik martwicy nowotworów alfa) przez makrofagi i komórki dendrytyczne (Harris, 2011). Autofagia ułatwia wydzielanie IFN- γ (interferon gamma), IL-1 β , TNF- α oraz hamuje produkcję TNF- α , IL-1 α , IL-17, IL-1 β (Ge i in., 2018).

Neutrofile odgrywają ważną rolę w nieswoistych mechanizmach odpornościowych, ponieważ migrują do ogniska zapalnego, gdzie pochłaniają i dezaktywują patogeny poprzez fuzję fagosomów z ziarnistościami i tworzenie fagolizosomów, w których peptydy przeciwdrobnoustrojowe i reaktywne formy tlenu unieszkodliwiają patogen. Zaobserwowano, że hamowanie autofagii zapobiega wyrzutowi zewnątrzkomórkowych sieci neutrofilowych (NET- ang. Neutrophil extracellular traps) (Qian i in., 2017).

Ponadto, istnieje kilka naukowych dowodów, że produkty analizowanych w niniejszych pracy genów uczestniczą nie tylko w procesie autofagii, ale również biorą udział w regulacji procesów immunologicznych. PKC- θ jest wyrażana głównie w limfocytach T i bierze udział w ich aktywacji, przeżyciu i rozwoju (Zhang i in., 2013). Co więcej, PKC- θ ma kluczowe znaczenie dla funkcji limfocytów Th2 i Th17 i są od niego zależne, co zostało potwierdzone w badaniach Marsland i in. (2004) przeprowadzonych na myszach. Wykazano, że myszy z niedoborem PKC- θ mają upośledzoną odpowiedź immunologiczną komórek Th2 na zakażenie, wywołane przez *Nippostrongylus brasiliensis*. Ponadto autorzy zwracają uwagę na zmniejszoną produkcję interleukiny 2 w limfocytach z niedoborem PKC- θ (Marsland i wsp. 2004). Kilka grup badawczych, wykorzystując różne modele infekcji, potwierdziło rolę PKC- θ w odpowiedzi przeciwwirusowej i przeciwbakteryjnej (Giannoni i in. 2005; Marsland i in., 2005; Valenzuela i in., 2009; Zhang i in., 2013). Udowodniono, że PKC- θ jest również ważna w procesach przeciwnowotworowych. Kilku autorów prac wskazuje, że PKC- θ jest silnie wyrażany w komórkach nowotworowych piersi u ludzi na poziomie transkrypty i białka oraz jest zaangażowany w progresję raka piersi (Belguise i Sonenshein, 2007; Chin i in., 2006; Nicolle i in., 2021; Soyombo i in., 2013). Znane są doniesienia o roli PKC- θ w aktywacji komórek NK. Co więcej, udowodniono, że komórki NK z niedoborem PKC- θ u myszy wykazywały zaburzoną produkcję interferonu (IFN)- γ stymulowanego przez IL-12 (Page i in., 2008). Strillacci i in. (2023) postulowali w swojej pracy, że PKC- θ ma związek z odpornością (Strillacci i in., 2023). Badania przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej

wykazują, że polimorfizm genu *PRKCQ* wpływa na SCC, jako wskaźnik odporności/podatności na *mastitis*, w kolejnych laktacjach.

Stwierdzono, że zwiększona ekspresja katepsyn D jest związana z agresywnością nowotworu piersi oraz jego metastazą u ludzi (Benes i in., 2008; Liaudet-Coopman i in., 2006; Radisky, 2010). Katepsyna D bierze udział w procesie apoptozy neutrofilii poprzez bezpośrednią aktywację inicjatora kaspazy-8 (Conus i Simon, 2010). Katepsyny D są zaangażowane w odpowiedź przeciwbakteryjną. Wykazano, że ekspresja tych proteaz wzrasta w makrofagach zakażonych *Listeria monocytogenes* (del Cerro-Vadillo i in., 2006; Fu i in., 2020; Szulc-Dąbrowska, 2022). Ponadto w badaniach *in vitro* zaobserwowano wzrost ekspresji katepsyn D w komórkach RAW 264.7 po infekcji *Staphylococcus aureus* i stwierdzono, że odgrywają ważną rolę w kontrolowaniu wzrostu i żywotności tej bakterii w makrofagach (Fu i in., 2020; Szulc-Dąbrowska i in., 2022). Co więcej, Oliveira i in. (2019) wykazali w swoich badaniach, że efekt genu *CTSD* wpływa na SCC przez cały okres laktacji u krów rasy Jersey (Oliveria i in., 2019). Podobne wyniki zostały otrzymane w niniejszej pracy doktorskiej. Wykazano istnienie asocjacji pomiędzy polimorfizmem w obrębie genu *CTSD* a SCC w I (-0,075), II (-0,063) i III (-0,050) stadium laktacji. Otrzymane wyniki w korzystny sposób wpływały na analizowaną cechę, gdyż zaobserwowano obniżenie SCC w poszczególnych stadiach laktacji.

Endofilina B1 jest niezbędna między innymi do utrzymania morfologii mitochondriów (Karbowski i in., 2004). Dunham-Snary i in. (2022) przeprowadzili badania, w których udowodnili, że mitochondria w ludzkich neutrofilach pośredniczą w zabijaniu *Staphylococcus aureus*. Autorzy badań doszli do wniosku, że zahamowanie funkcji kompleksu III fosforylacji oksydacyjnej znacznie upośledza działanie przeciwdrobnoustrojowe (Dunham-Snary i in., 2022). Ponadto, wykazano, że mitochondria biorą udział w sygnalizacji komórkowej, która kontroluje wrodzoną odporność oraz reakcje zapalne (Sandhir i in., 2017). Co więcej, mitochondrialne DNA reguluje funkcje immunologiczne poprzez interakcję i zarządzanie szlakami TLR9, inflammasomu i stymulatora genów interferonu (STING- ang. Stimulator of Interferon Genes). Istnieją dowody sugerujące rolę mitochondriów w odpowiedzi przeciwbakteryjnej poprzez wytwarzanie reaktywnych form tlenu oraz zewnątrzkomórkowych mechanizmów wychwytywania i zabijania drobnoustrojów (Kausar i in., 2020). Yousefi i in. (2008) sugerowali, że eozynofile mogą uwalniać mitochondrialne DNA, które może działać jako pułapka zewnątrzkomórkowa dla bakterii (Yousefi i in., 2008). Wyniki badań niniejszej pracy wyraźnie wskazują, że istnieje asocjacja między polimorfizmem analizowanego genu a SCC, jako wskaźnika odporności/podatności na

mastitis, we wszystkich stadiach laktacji oraz niektórych laktacjach. Otrzymane wyniki badań wykazują, że wytypowany polimorfizm genu *SH3GLB1* wpływa korzystnie na cechę poprzez obniżenie SCC.

6.3 Znaczenie efektów nieaddytywnych

W niniejszej pracy wykazano istotność efektów nieaddytywnych i zasadność uwzględnienia ich w analizie statystycznej. Do podobnych wniosków doszli inni autorzy prac badawczych, którzy również wykazali zasadność uwzględniania tych efektów w modelach statystycznych.

Większość prac asocjacyjnych wykorzystuje modele statystyczne sumujące proste (addytywne) efekty genów. Prawdopodobnie wynika to z ograniczonej liczby dostępnych do badań osobników. Takie modele nie odzwierciedlają pełnego mechanizmu dziedziczenia występującego naturalnie w przyrodzie. Pojedyncze efekty addytywne mogą nie mieć takiej siły jak efekty kombinowanych genotypów. Dlatego w pracy zastosowano modele statystyczne uwzględniające efekty nieaddytywne (epistaza i efekt dominacji), które mogą mieć istotny wpływ na zmienność cechy. Co więcej, efekty alleli genów są zmienne w zależności od środowiska zewnętrznego i wewnętrznego, czyli stanu fizjologicznego (takiego jak: kolejna laktacja, stadium laktacji, stan zdrowia). Pominięcie efektów nieaddytywnych w modelach statystycznych może prowadzić do uchybień i niedokładnego oszacowania całkowitego efektu allelu danego genu. (Sun i in., 2014; Vitezica i in., 2018).

Wielu autorów zaproponowało włączenie efektów nieaddytywnych (efekt dominacji i epistazy) do ocen genetycznych. Su i in. (2012) zastosowali w swoich badaniach cztery różne modele statystyczne. Trzy z nich obejmowały efekty nieaddytywne. Wyniki badań wykazały, że modele zawierające efekty nieaddytywne poprawiły wiarygodność prognoz genomicznych (Su i in., 2012).

Calleja-Rodriguez i in. (2021) stwierdzili, że nieaddytywna wariancja genetyczna może odgrywać istotną rolę w zmienności cech selekcyjnych sosny zwyczajnej (Calleja-Rodriguez i in., 2021). Monir i Zhu (2018) przeprowadzili badania, w których poszukiwano *loci* związanych z orientacją liści kukurydzy. Cechy liści analizowano przy pomocy pełnego modelu genetycznego i addytywnego modelu wielu *loci*. Analiza wykorzystująca pełny model genetyczny wykryła 38-47 znaczących *loci* a całkowita odziedziczalność wyniosła 64,32-79,06%. Natomiast badania z użyciem modelu addytywnego uzyskała mniejszą całkowitą odziedziczalność (18,68-29,56%) i zidentyfikowano mniej znaczących loci (30-36) (Monir i Zhu, 2018).

Aliloo i in. (2017) porównali wyniki programów kojarzeń opartych na różnych modelach wyceny zwierząt, które obejmowały zarówno efekty addytywne, jak i nieaddytywne. Autorzy zaobserwowali, że programy kojarzeń z modelami zawierającymi efekty nieaddytywne działały lepiej niż model z wyłącznie efektami addytywnymi (Aliloo i in., 2017)

Wojdak-Maksymiec i in. (2013) w swojej pracy wykazali, że wyniki badań asocjacyjnych dla genów *TNF- α* , *LTF* i *mLYZ* w odniesieniu do *mastitis* różniły się w zależności od zastosowanego modelu. Zastosowano trzy różne modele. Pierwszy model obejmował dane z wszystkich laktacji łącznie wraz z addytywnymi efektami genów. Drugi model także traktował wszystkie laktacje łącznie wraz z efektami addytywnymi i nieaddytywnymi. Trzeci model był specyficzny dla każdej laktacji i obejmował jedynie efekty addytywne genów. Wyniki badań wykazały, że w przypadku pierwszego i drugiego modelu asocjacje między analizowanymi wariantami genów a *mastitis* nie były statystycznie istotne. Natomiast wyniki badań szacowane w oparciu o trzeci zastosowany model okazały się statystycznie istotne. Ponadto efekt *TNF- α* i *LTF* różniły się w zależności od kolejnej laktacji (Wojdak-Maksymiec i in., 2013).

Wariancja cech związanych z *mastitis* i jakością mleka może wynikać z niewielkich zmian w aktywności potencjalnie sąsiadujących genów, które działając wspólnie wywierają wpływ na daną cechę. Zatem identyfikacja poszczególnego *locus* cechy ilościowej jest trudne, ponieważ jego efekt może być wynikiem przeróżnych interakcji (Kadri i in., 2015). Wyniki niniejszych badań wyraźnie wskazują, jak ważne jest oszacowanie efektów oddziaływań nieallelicznych, ponieważ można łatwo pominąć *locus* o istotnym efekcie. Przykładowo, efekt allelu danego genu nie był istotny, gdy analizowano jedynie oddziaływania alleliczne, natomiast gdy ten sam allel wchodził w przeróżne interakcje z allelami innego genu, to efekt tej interakcji stawał się istotny statystycznie. Takie zjawisko zaobserwowano, analizując efekty allelu w poszczególnych laktacjach w odniesieniu do lnSCC.

Efekt allelu IN w układzie homozygotycznym genu *CTSD* i *PRKCQ* był statystycznie nieistotny, natomiast interakcja pomiędzy nimi okazała się statystycznie istotna w I laktacji. W tej samej laktacji zaobserwowano, że efekt allelu IN genu *CTSD* czy *SH3GLB1* w heterozygocie nie jest istotnie związany z cechą. Jedynie interakcje zachodzące w podwójnej heterozygocie były istotne statystycznie. W III laktacji efekt allelu IN genu *CTSD* w homozygocie oraz *SH3GLB1* w heterozygocie był nieistotny. Dopiero po przeanalizowaniu interakcji zachodzących pomiędzy allelami tych genów efekt okazał się istotny statystycznie. Podobnie było w przypadku allelu IN genów *CTSD* w homozygocie i *PRKCQ* w

heterozygoty. Analiza oddziaływań allelicznych była nieistotna statystycznie, natomiast współdziałanie alleli tych genów okazało się statystycznie istotne w III laktacji (tab. A1). W IV laktacji wykazano, że efekt allelu IN genu *PRKCQ* w homozygoty oraz *SH3GLB1* w heterozygoty był nieistotny. Dopiero ich interakcje okazały się być istotne statystycznie. Podobne zjawisko zaobserwowano w przypadku allelu IN genu *CTSD* w heterozygoty i *PRKCQ* w homozygoty w VI laktacji (nieistotne statystycznie). Zachodząca między nimi epistaza okazała się być istotna statystycznie. Identyczna sytuacja miała miejsce w tej samej laktacji (VI), w której efekt allelu IN genu *CTSD* w homozygoty i *PRKCQ* w heterozygoty był nieistotny, natomiast współdziałanie alleli obu genów było statystycznie istotne. Analizując wszystkie laktacje łącznie, zaobserwowano podobną sytuację. Allel IN genu *CTSD* w heterozygoty i *PRKCQ* w homozygoty nie wiązał się istotnie z cechą, natomiast interakcja zachodząca między allelami obu genów okazała się statystycznie istotna. Podobnie było w przypadku allelu IN genu *CTSD* w heterozygoty i *SH3GLB1* w homozygoty oraz genu *PRKCQ* i *SH3GLB1* w heterozygoty we wszystkich laktacjach łącznie. Więcej takich przykładów zestawiono w tabelach A1, A2, A3 i A4, które zostały dołączone do aneksu niniejszej pracy.

Oczywistym wydaje się, że większość fenotypów wynika ze skomplikowanych interakcji genów. Te interakcje, znane jako odchylenia od efektów addytywnych, nazywane są epistazami. Zasadniczo epistaza wynika ze sposobu, w jaki elementy genetyczne oddziałują ze sobą wzajemnie, natomiast niewiele wiadomo o przyczynach epistazy. Istnieją różne hipotezy na ten temat. Epistaza może wynikać z wpływu mutacji na stabilność RNA i poprzez to na aktywność enzymów. Przyczyną może być również interakcja białek danego szlaku metabolicznego (De Visser i in., 2011).

Inna hipoteza zakłada, że przyczyną epistazy może być efekt plejotropowy genu. Dobrze to widać w przypadku negatywnej plejotropii, w której mutacje mające pozytywny wpływ na jedną cechę mają negatywny wpływ na drugą cechę. Chociaż oczekuje się, że korelacja między efektami genów wpływających na cechy mleczności u bydła będzie dodatnia, to często okazuje się ona ujemna. Niestety doskonalenie jednej cechy może mieć antagonistyczny wpływ na drugą cechę. Intensywna selekcja bydła mlecznego w celu zwiększenia wydajności mleka miała negatywne konsekwencje dla częstości występowania zapalenia wymienia. Poza tym, w wielu pracach wykazano, że korelacja efektów genów wpływających na SCC i dobową wydajność mleczną często jest ujemna. Przykładowo, Jankiel i in. (2011) analizując zależności między dzienną zawartością komórek somatycznych a wydajnością mleka i zawartością tłuszczu i białka w mleku krów wykazała ujemną korelację

między SCS a dobową wydajnością mleczną (De Visser i in., 2011; Jankiel i in., 2011; Kadri i in., 2015).

6.4 Znaczenie czynników środowiskowych

W niniejszej pracy wykazano, że efekt genu nie jest stały i ulega zmianie w zależności od środowiska wewnętrznego (stanu fizjologicznego krowy). Wyniki zawarte w pracy pozwalają stwierdzić, że efekt genu zmienia się w poszczególnych laktacjach, stadiach laktacji czy w zależności od statusu zdrowotnego krowy.

Czynniki środowiska odgrywają istotną rolę w kształtowaniu się fenotypu. Interakcja genotyp-środowisko to sytuacja, w której wpływ środowiska na rozwój choroby jest różny u osobników o różnych genotypach lub odwrotnie, sytuacja, w której wpływ genotypu na ryzyko choroby jest różny u osobników żyjących w różnych warunkach środowiska (Wakchaure i in., 2016). Badania interakcji gen x środowisko mają na celu opisanie, w jaki sposób czynniki genetyczne i środowiska łącznie wpływają na ryzyko wystąpienia choroby (Hunter, 2005). Za pomocą interakcji genotyp-środowisko można przewidzieć zarówno skutki zmian warunków środowiska (które mogą być widoczne jedynie u osobników podatnych genetycznie), jak i skutki „genetyczne” (które mogą być widoczne jedynie u osobników poddanych silnemu lub długotrwałemu wpływowi danego czynnika środowiska). Wobec powyższego, badanie tej interakcji jest ważne dla poprawy precyzji przewidywań częstości zachorowań i stanowi podstawę do sformułowania zaleceń przeciwdziałających rozwojowi i rozprzestrzenianiu się chorób (Ottman, 1996). Sprawdzonym sposobem oszacowania interakcji genotyp-środowisko są badania dotyczące korelacji genetycznej między cechami wyrażanymi w różnych środowiskach (Wakchaure i in., 2016).

Ron i Hillel (1983) przeprowadzili badania w celu ustalenia, czy zachodzi interakcja genotyp-środowisko i jaki ma wpływ na wydajność mleka między wycieleniami. Zastosowano różne ilościowe miary środowiska. Gdy za czynniki środowiskowe przyjęto poziom produkcji, to stwierdzono, że znaczenie interakcji jest bardzo niskie. Natomiast, gdy czynniki środowisko zdefiniowane zostały jako kolejne laktacje i ich stadia, to wykazano znaczące interakcje między genotypami a środowiskami (Ron i Hillel, 1983). Podobne badania przeprowadzili Ramírez-Valverde i in. (2010), gdzie określali siłę interakcji genotypu ze środowiskiem (system żywienia-izolacja i wypas). Krowy zostały podzielone na dwie grupy żyjące w różnych warunkach środowiskowych. Pierwsza grupa hodowana była w systemie alkierzowym a druga – pastwiskowym. Krowy trzymane w systemie alkierzowym czy pastwiskowym były rozważane jako dwa osobne środowiska. Wyniki przeprowadzonych

badan jasno wskazywały na istnienie interakcji genotyp-środowisko (Ramírez-Valverde i in., 2010). Shi i in. (2021) badali istnienie interakcji genotyp-środowisko u zwierząt wysokoprodukcyjnych. Wykryto znaczącą siłę interakcji genotyp-środowisko (Shi i in., 2010). Hayesa i in. (2003) przeprowadzili badania mające na celu ocenę wielkości wpływu interakcji genotypu x środowisko na cechy produkcji mlecznej (wydajność mleka, białka oraz tłuszczu). Zaobserwowano znaczny wpływ interakcji genotyp x środowisko na cechy mleczności (Hayesa i in., 2003).

Stres cieplny u bydła mlecznego prowadzi do zmniejszenia spożycia paszy, produkcji mleka oraz może stanowić przyczynę wielu fizjologicznych reakcji stresowych. Li i in. (2018) przeprowadzili analizę sekwencjonowania RNA i wykazali, że 27 miRNA ulegały zróżnicowanej ekspresji w gruczole mlecznym bydła narażonego na szok termiczny i krów, które nie były poddawane stresowi cieplnemu. Zaobserwowano, że 20 miRNA charakteryzował wyższy poziom ekspresji wśród zwierząt narażonych na stres termiczny w porównaniu z drugą grupą krów (Garner i in., 2020; Li i in., 2018). Dai i in. (2018) przeprowadzili badania, w których porównali profile ekspresji genów w gruczole mlecznym w dwóch grupach krów karmionych różnymi paszami. Badania wskazały na istotne różnice w poziomie ekspresji 1631 genów pomiędzy obiema grupami zwierząt (Dai i in., 2018).

Strucken i in. (2012) stwierdzili, że wariancja efektu pewnego *loci* zmienia się z laktacji na laktację u krów niemieckich rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Przyczynę tego zjawiska można upatrywać w tym, że organizm krów, w tym ich gruczoł mlekowy czy przewód pokarmowy, w czasie pierwszej laktacji nadal się rozwija. Trwające zmiany w organizmie wpływają na skład mleka oraz odporność gruczołu mlekowego na infekcje. Zatem mleko pochodzące z pierwszej laktacji może różnić od tego pobranego w bardziej zaawansowanych laktacjach (Strucken i in., 2012).

Wojdak-Maksymiec i in. (2013) przeprowadzili badania i zaobserwowali, że allele, które w analizach zostały powiązane z wysoką odpornością na *mastitis* we wcześniejszych laktacjach miały odwrotny efekt w późniejszych laktacjach. Przyczyną tego może być postępująca z wiekiem (kolejną laktacją) deregulacja układu odpornościowego. Zatem efekt genów związanych z *mastitis* i cechami produkcji mlecznej może być zmienny w czasie całej laktacji i między laktacjami (Wojdak-Maksymiec i in., 2013).

Zmienne efekty alleli genów, których produkty uczestniczą w procesie autofagii, mogą wynikać z epigenetycznej regulacji genów autofagii (modyfikacja histonów, metylacja DNA, przebudowa chromatyny). Cały złożony mechanizm regulacji epigenetycznej może nie tylko modyfikować geny związane z autofagią, ale również wpływać na niektóre geny cząsteczek

sygnałowych, które regulują autofagię, wpływając w ten sposób na ekspresję genów. Metylacja DNA jest procesem odwracalnym, a więc zmetylowane DNA może być również demetylowane. Dynamika procesu metylacji DNA mogłaby zatem tłumaczyć zmienny efekt genów w poszczególnej laktacji. Przykładowo, białko Beclin 1 jest wielofunkcyjnym białkiem autofagii i może tworzyć kompleks z endofiliną B1 oraz kinazą białkową C theta i oddziaływać w ten sposób na autofagię. Li i in. (2010) wykazali, że poziom mRNA Beclin 1 był niższy u 14 z 20 pacjentek z rakiem piersi a ekspresja białka była obniżona u 13 z nich. Przyczynę tego upatrywano między innymi w nieprawidłowej metylacji regiony bogatego w wyspy CpG w promotorze i intronie II genu Beclin 1. Podanie metylotransferaz spowodowało zwiększenie poziomu ekspresji genu (Hu, 2019; Li i in., 2010). Inne mechanizmy takie jak np. acetylacja, metylacja, fosforylacja czy ubikwitynacja histonów mogą również regulować ekspresję genów uczestniczących w procesie autofagii i tym samym wpływać na nierównomierny rozkład efektu allelu danego genu w poszczególnej laktacji (Hu, 2019).

7. Podsumowanie i wnioski

1. Badaniem objęto 745 krów, od których został pobrany materiał genetyczny i wykorzystany w analizie laboratoryjnej. Zaobserwowano polimorficzne warianty genetyczne w obrębie 3 genów (*CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1*) a w 2 pozostałych monomorfizm (*BCL2*, *ATG14*). Najwyższą frekwencją charakteryzował się allel IN i genotyp IN/IN genu *CTSD*. W przypadku genu *PRKCQ* najwyższą frekwencję zaobserwowano także dla allelu IN i dla genotypu IN/IN. Podobne wyniki dotyczyły genu *SH3GLB1* - najwyższą frekwencję miał allel IN oraz genotyp IN/DEL. Niższą frekwencję zaobserwowano dla genotypu IN/DEL genu *CTSD*, IN/DEL genu *PRKCQ* oraz IN/IN genu *SH3GLB1*, a najniższą frekwencję stwierdzono w przypadku genotypu DEL/DEL genu *CTSD*, DEL/DEL genu *PRKCQ* oraz DEL/DEL genu *SH3GLB1*.
2. Badania wykazały istnienie statystycznie istotnych asocjacji pomiędzy analizowanymi polimorfizmami a odpornością na *mastitis*, wyrażaną jako liczba komórek somatycznych w mleku. Wykazano również istnienie statystycznie istotnych asocjacji pomiędzy analizowanymi polimorfizmami a cechami produkcji mlecznej, takich jak: dobowa wydajność mleczna oraz procentowa zawartość białka, tłuszczu, laktozy i suchej masy w mleku.
3. W pracy przeanalizowano również asocjacje pomiędzy polimorfizmami a odpornością na *mastitis*, wyrażoną jako liczba przypadków występowania klinicznego *mastitis acuta* i *chronica*, wraz z długością trwania infekcji i liczbą zajętych ćwiartek wymienia. Wykazano istnienie statystycznych asocjacji.
4. W badaniach wykazano, że efekty niektórych genów były nieistotne, gdy analizowano je „oddzielnie”. Dopiero analiza interakcji pomiędzy genami z różnych *loci* dawała statystycznie istotne wyniki.
5. Przeprowadzone badania wskazały na zmienność w czasie efektu allelu danego genu. W toku przeprowadzonych badań udowodniono, że efekt genu nie jest stały i może zmieniać się w zależności od środowiska wewnętrznego (stan fizjologiczny organizmu).
6. Modele statystyczne poza prostym sumowaniem efektów genów powinny obejmować również efekty dominacyjne i epistatyczne. Nieuwzględnienie

efektów nieaddytywnych w modelu może prowadzić do niedostatecznego oszacowania udziału danego polimorfizmu w kształtowaniu określonego fenotypu. Szacowanie jedynie efektów addytywnych poszczególnych genów nie odzwierciedla w pełni naturalnego mechanizmu dziedziczenia występującego w przyrodzie i może prowadzić do niewłaściwego oszacowania wartości hodowlanej zwierzęcia i w związku z tym do podejmowania błędnych decyzji selekcyjnych. Przeprowadzone badania ujawniają mechanizm dziedziczenia wybranych genów/alleli i wskazują na zasadność włączania do analizy statystycznej efektów nieaddytywnych, które uzupełniają model statystyczny i tym samym zwiększają wiarygodność wykorzystania genów kandydujących jako markera w przyszłości.

7. Stwierdzone asocjacje badanych polimorfizmów związanych z odpornością na *mastitis*, mogą przyczynić się lepszemu poznania genetycznych mechanizmów warunkujących odporność na infekcje. Jednak na podstawie uzyskanych wyników nie można jednoznacznie wskazać genów markerowych, których polimorfizmy mogłyby stanowić podstawę do prowadzenia selekcji w kierunku odporności na *mastitis*, a jednocześnie nie wpływać antagonistycznie na inne cechy związane z ilością i jakością mleka.

8. Literatura

1. Abb-Schwedler, K., Maeschli, A., Boss, R., Graber, H. U., Steiner, A., Klocke, P. (2014). Feeding mastitis milk to organic dairy calves: effect on health and performance during suckling and on udder health at first calving. *BMC veterinary research*, 10(1):267. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0267-7>
2. Abiola, O., Angel, J.M., Avner, P., Bachmanov, A.A., Belknap, J.K., Bennett, B., Blankenhorn, E.P., Blizard, D.A., Bolivar, V., Brockmann, G.A., Buck, K.J., Bureau, J.F., Casley, W.L., Chesler, E.J., Cheverud, J.M., Churchill, G.A., Cook, M., Crabbe, J.C., Crusio, W.E., Darvasi, A., de Haan, G., Dermant, P., Doerge, R.W., Elliot, R.W., Farber, C.R., Flaherty, L., Flint, J., Gershenfeld, H., Gibson, J.P., Gu, J., Gu, W., Himmelbauer, H., Hitzemann, R., Hsu, H.C., Hunter, K., Iraqi, F.F., Jansen, R.C., Johnson, T.E., Jones, B.C., Kempermann, G., Lammert, F., Lu, L., Manly, K.F., Matthews, D.B., Medrano, J.F., Mehrabian, M., Mittlemann, G., Mock, B.A., Mogil, J.S., Montagutelli, X., Morahan, G., Mountz, J.D., Nagase, H., Nowakowski, R.S., O'Hara, B.F., Osadchuk, A.V., Paigen, B., Palmer, A.A., Peirce, J.L., Pomp, D., Rosemann, M., Rosen, G.D., Schalkwyk, L.C., Seltzer, Z., Settle, S., Shimomura, K., Shou, S., Sikela, J.M., Siracusa, L.D., Spearow, J.L., Teuscher, C., Threadgill, D.W., Toth, L.A., Toyne, A.A., Vadasz, C., Van Zant, G., Wakeland, E., Williams, R.W., Zhang, H.G., Zou, F. (2003). Complex Trait Consortium. The nature and identification of quantitative trait loci: a community's view, *Nature Reviews Genetics*, 4(11),911-916. doi: 10.1038/nrg1206
3. Aghamohammadi, M., Haine, D., Kelton, D.F., Barkema, H. W., Hogeveen, H., Keefe, G.P., Dufour, S. (2018). Herd-level mastitis-associated costs on canadian Dairy Farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 5:100. doi:10.3389/fvets.2018.00100
4. Alhussien, M.N., Dang, A.K. (2018). Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Veterinary World*, 11(5), 562-577. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.562-577>
5. Alvarez-Castro, J.M., Carlborg, O. (2007). A unified model for functional and statistical epistasis and its application in quantitative trait loci analysis. *Genetics*, 176: 1151-1167. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.067348>

6. Aliloo, H., Pryce, J. E., González-Recio, O., Cocks, B.G., Goddard, M.E., Hayes, B.J., (2017). Including nonadditive genetic effects in mating programs to maximize dairy farm profitability. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1203-1222. <https://doi.org/10.3168/jds.2016>
7. Alnakip, M.E., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P., & Barros-Velázquez, J (2014). The Immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *Journal of Veterinary Medicine*, 2014:659801. <https://doi.org/10.1155/2014/659801>.
8. Andreatta, E., Fernandes AM., dos Santos, MV., de Lima, CG., Mussarelli, C., Marquesi, MC., de Oliveira, CAF. (2007). Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 62(3),166–170. <https://doi.org/10.5219/1099>
9. Arsov, I., Li, X., Matthews, G., Coradin, J., Hartman, B., Simon, A.K., Sealfon, S.C., Yue, Z. (2008), BAC-mediated transgenic expression of fluorescent autophagic protein Beclin 1 reveals a role for Beclin 1 in lymphocyte development. *Cell Death & Differentiation*, 15(9), 1385-95. doi: 10.1038/cdd.2008.59
10. Auldist, M.J., Coats, S., Rogers, G.L., McDowell, G.H. (1995). Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35(4), 427-436. <https://doi.org/10.1071/EA9950427>
11. Asaf, S., Leitner, G., Furman, O., Lavon, Y., Kalo, D., Wolfenson, D., Roth, Z. (2013). Effects of *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in lactating cows on oocyte developmental competence. *Reproduction*, 147 (1): 33–43. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0383>
12. Azooz, M. F., El-Wakeel, S. A., Yousef, H. M. (2020). Financial and economic analyses of the impact of cattle mastitis on the profitability of Egyptian dairy farms. *Veterinary World*, 13(9), 1750–1759. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1750-1759>.
13. Bagnicka, E., Strzałkowska, N., Flisikowski, K., Szreder, T., Joźwik, A., Prusak, B., Krzyzewski, J., Zwierzchowski, L. (2007). The polymorphism in the b4-defensin gene and its association with production and somatic cell count in Holstein-Friesian cows.

Journal of Animal Breeding and Genetics, 124(3), 150-156.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2007.00649.x>

14. Bai, J., Lin, J., Li, W., Liu, M., Prebavathy, T., Thanislass, J., Dhanammal, L., Ganesan, R., Mukhopadhyay, H.K. (2015). Association between SNPs in TLR2 gene segment corresponding to LRR functional domain of TLR2 receptor and bovine mastitis. *Asian Journal of Animal Sciences*. 9(2): 45-56. doi: 10.3923/ajas.2015.45.56
15. Baltian, L. R., Ripoli, M. V., Sanfilippo, S., Takeshima, S. N., Aida, Y., Giovambattista, G. (2012). Association between BoLA-DRB3 and somatic cell count in Holstein cattle from Argentina. *M Molecular Biology Reports*, 39(7), 7215-7220. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1526-y>
16. Bartlett, P.C., Van Wijk, J., Wilson, D. J., Green, C. D., Miller, G. Y., Majewski, G. A., Heider, L. E. (1991). Temporal patterns of lost milk production following clinical mastitis in a large Michigan holstein herd, *Journal of Dairy Science*, 74 (5), 1561-1572, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78318-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78318-5).
17. Bednarko-Młynarczyk, E., Sztejn, J., Wiszniewska-Łaszczych, A., Liedtke, K., (2014). Kierunki i zasady pobierania próbek mleka surowego w łańcuchu mlecznym. *Medycyna Weterynaryjna*,70(7), 409-412.
18. Bekuma, A., Galmessa, U., (2018). Review on hygienic milk products practice and occurrence of mastitis in cow's milk. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, 18(2): 556053. doi: 10.19080/ARTOAJ.2018.18.556053
19. Belguise, K, Sonenshein, G.E. (2007). PKC θ promotes c-Rel-driven mammary tumorigenesis in mice and humans by repressing estrogen receptor alpha synthesis. *Journal of Clinical Investigation*, 117(12),4009-4021. doi: 10.1172/JCI32424
20. Benes, P., Vetvicka, V., Fusek, M. (2008). Cathepsin D - many functions of one aspartic protease. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 68(1), 12-28. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.02.008
21. Berry, D. P., Bermingham, M. L., Good, M., More, S. J. (2011). Genetics of animal health and disease in cattle. *Irish Veterinary Journal*, 64(1):5. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-64-5>.
22. Berry, D.P., Lee, J.M., Macdonald, K.A., Stafford, K., Matthews, L., Roche, J.R., (2007). Associations among body condition score, body weight, somatic cell count,

- and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90(2), 637-648. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71546-1.
23. Berry, D.P., Meaney, W.J. (2006). Interdependence and distribution of subclinical mastitis and intramammary infection among udder quarters in dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 75(1-2), 81-91. doi: 10.1016/j.prevetmed.2006.02.001
 24. Besier, J., Lind, O., Bruckmaier, R.M., (2016). Dynamics of teat-end vacuum during machine milking: types, causes and impacts on teat condition and udder health – a literature review. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1), 263-272, doi: 10.1080/09712119.2015.1031780
 25. Bhakat, C., Chatterjee, A., Mandal, D. K., Karunakaran, M., Mandal, A., GaraI, S., Dutta, T.K., (2017a). Milking management practices and IMI in Jersey crossbred cows in changing scenario, *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(4), 495–500. doi: 10.56093/ijans.v87i4.69613
 26. Bhakat, C., Mandal, A., Mohammad, A., Rai, S. (2017b). Factors affecting hygienic milk production for farmers of Nadia Dist. *Journal of Agricultural Engineering and Food Technology*, 4(1), 13-16. doi: 10.13140/RG.2.2.30924.16001
 27. Bogni, C., Odierno, L., Raspanti, C., Giraud, J., Larriestra, A., Reinoso, E., Lasagno, M., Ferrari, M., Ducro's, E., Frigerio, C., Bettera, S., Pellegrino, M., Frola, I., Dieser, S., Vissio, C. (2011). War against mastitis: current concepts on controlling bovine mastitis Pathogens. W: A. Me'ndez-Vilas (Red.), *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances* (s. 483–494). World Scientific.
 28. Bogucki, M., Neja, W., Kunert, S. (2010). Wpływ systemu utrzymania na użytkowość mleczną krów. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 6(2), 59-64
 29. Bossowska-Nowicka, M., Toka, F.M., Mielcarska M., Dąbrowska-szulc L. (2018). Katepsyny: proteazy odporności wrodzonej regulujące wnikanie wirusów do komórek gospodarza. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 72, 253-263. doi: 10.5604/01.3001.0011.7519
 30. Bradley, A.J., Breen, J.E., Payne, B., White, V., Green, M.J. (2015). An investigation of the efficacy of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens

- under field conditions in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1706-20. doi: 10.3168/jds.2014-8332
31. Brajnik, Z., Ogorevc, J. (2023). Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1):10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>.
 32. Brezar, V., Tu, WJ., Seddiki, N. (2015). PKC-theta in regulatory and effector T-cell functions. *Frontiers in Immunology*, 6:530. doi: 10.3389/fimmu.2015.00530.
 33. Brodowska-Wójcik, P., Reczyńska, D., Kościuczuk, E., Kawecka, E., Marczak, S., Bagnicka, E. (2017). Geny kandydujące do wykorzystania w selekcji wspomaganej markerami w kierunku odporności krów mlecznych na zapalenie gruczołu sutkowego. W *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce* (s. 15- 21). Hodowla zwierząt i weterynaria. ISBN: 978-83-65677-76-1
 34. Bruckmaier, R.M., Ontsouka, C. E., Blum, J. W. (2004). Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis, *Veterinary Medicine - Czech*, 49(8), 283-290. doi: 10.17221/5706-VETMED
 35. Burchacka, E., Witkowska, D. (2016). Proteazy serynowe i ich funkcja w patogenezie zakażeń bakteryjnych, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70, 678-694. doi: 10.5604/17322693.1208011
 36. Burdick, N. C., Randel, R. D., Carroll, J. A., Welsch, T. H. (2011). Interactions between temperament, stress, and immune function in cattle. *International Journal of Zoology*, 373797, 1687-8477. doi: 10.1155/2011/373197
 37. Burgess, K. (2010). Key requirements for milk quality and safety: a processor's perspective. W: M. Griffiths (Red.), *Improving the Safety and Quality of Milk* (s. 64–84). Elsevier. doi:10.1533/9781845699420.1.64
 38. Calleja-Rodriguez, A., Chen, Z., Suontama, M., Pan, J., Wu, H.X. (2021). Genomic predictions with nonadditive effects improved estimates of additive effects and predictions of total genetic values in *Pinus sylvestris*. *Frontiers in Plant Science*. 12:666820. doi: 10.3389/fpls.2021.666820
 39. Çomakli, S., Özdemir, S. (2019). Comparative evaluation of the immune responses in cattle mammary tissues naturally infected with bovine parainfluenza

- virus type 3 and bovine alphaherpesvirus-1. *Pathogens*, 8(1), 26. <https://doi.org/10.3390/pathogens8010026>
40. Chang, C.P., Su, Y.C., Lee, P.H., Lei, H.Y. (2013a). Targeting NF- κ B by autophagy to polarize hepatoma-associated macrophage differentiation. *Autophagy*, 9(4), 619-621. doi: 10.4161/auto.23546
 41. Chang, C.P., Su, Y.C., Hu, C.W., Lei, H.Y. (2013b). TLR2-dependent selective autophagy regulates NF- κ B lysosomal degradation in hepatoma-derived M2 macrophage differentiation. *Cell Death and Differentiation*, 20(3), 515-23. doi: 10.1038/cdd.2012.146
 42. Chen, L., Daniel, R.M., Coolbear, T. (2003). Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders, *International Dairy Journal*, 13(4), 255-275, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00171-1)
 43. Chen, N., Fu, W., Zhao, J., Shen, J., Chen, Q., Zheng, Z., Chen, H., Sonstegard, T.S., Lei, C., Jiang, Y. (2020). BGVD: An integrated database for bovine sequencing variations and selective signatures, *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 18(2), 186-193. doi: 10.1016/j.gpb.2019.03.007
 44. Chen, R., Wang, Z., Yang, Z., Mao, Y., Ju, D., Zhu, X., Hamza, A.E. (2013). A novel SNP of lysozyme gene and its association with *mastitis* trait in chinese holstein. *Archiv für Tierzucht/Archives Animal Breeding*, 56(1), 589-592. <https://doi.org/10.7482/0003-9438-56-058>
 45. Chen, R., Wang, Z., Yang, Z., Zhu, X., Ji, D., Mao, Y. (2014). Association of IL8 - 105G/A with Mastitis Somatic Cell Score in Chinese Holstein Dairy Cows, *Animal Biotechnology*, 26(2), 143-174. DOI: 10.1080/10495398.2014.939657
 46. Chen, W., Ma, T., Shen, X.N., Xia, X.F., Xu, G.D., Bai, X.L., Liang, T.B. (2012). Macrophage-induced tumor angiogenesis is regulated by the TSC2-mTOR pathway. *Cancer Research*, 72(6), 1363-7132. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-2684
 47. Cheng, A., Tse, K. H., Chow, H. M., Gan, Y., Song, X., Ma, F., Qian, Y., She, W., Herrup, K. (2021). ATM loss disrupts the autophagy-lysosomal pathway. *Autophagy*, 17(8), 1998–2010. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1805860>

48. Cheng, W. N., Han, S. G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1699–1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>
49. Chin K., DeVries, S., Fridlyand, J., Spellman, P.T, Roydasgupta, R., Kuo, W.L, Lapuk, A, Neve, R.M., Qian, Z., Ryder, T., Chen, F., Feiler, H., Tokuyasu, T., Kingsley, C., Dairkee, S., Meng, Z., Chew, K., Pinkel, D., Jain, A., Ljung, B.M., Esserman, L., Albertson, D.G., Waldman, F.M., Gray, J.W. (2006). Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiologies. *Cancer Cell*, 10(6), 529-541. doi: 10.1016/j.ccr.2006.10.009
50. Chu, M.X., Miao, L.C., Hai, S.W. (2009). Polymorphism of TLR6 gene and its relationship with somatic cell score in Holstein cows (China). *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 40(11), 1621-1629. doi: 10.15446/rfna.v70n2.60766
51. Cockerham, CC. (1954). An extension of the concept of partitioning hereditary variance for analysis of covariances among relatives when epistasis is present. *Genetics*. 39(6), 859-882. doi: 10.1093/genetics/39.6.859
52. Conus, S., Simon, HU. (2010). Cathepsins and their involvement in immune responses. *Swiss Medical Weekly*, 140(2930), 140:w13042. doi: 10.4414/smw.2010.13042
53. Considine, T., Geary, S., Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. (2002). Proteolytic specificity of cathepsin G on bovine α s1- and β -caseins, *Food Chemistry*, 76(1), 59-67, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00250-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00250-3)
54. Considine, T., Healy, Á., Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. (2000). Proteolytic specificity of elastase on bovine α s1-casein, *Food Chemistry*, 69(1), 19-26, [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00217-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00217-4)
55. Considine, T., Healy, Á., Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. (2004). Hydrolysis of bovine caseins by cathepsin B, a cysteine proteinase indigenous to milk. *International Dairy Journal*, 14(2), 117-124, [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00171-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00171-7)
56. Cooper, M., Podlich, D.W., Smith, O.S. (2005). Gene-to-phenotype models and complex trait genetics. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(9), 895-918. <https://doi.org/10.1071/AR05154>

57. Cope, C.M., Mackenzie, A.M., Wilde, D., Sinclair, L.A. (2009). Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2128-2135. doi: 10.3168/jds.2008-1232
58. Coulon, J.B., Gasqui, P., Barnouin, J., Ollier, A., Pradel, P., Pomies, D. (2002), Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research*, 51(5), 383–393. <https://doi.org/10.1051/animres:2002031>
59. Czernomysy-Furowicz, D., Karakulska, J., Silecka, A. (2008). Etiological agents of mastitis in dairy cows on a farm in the West Pomeranian region, *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 7(1), 3–10.
60. Dai, W., Wang, Q., Zhao, F., Liu J., Liu H. (2018). Understanding the regulatory mechanisms of milk production using integrative transcriptomic and proteomic analyses: improving inefficient utilization of crop by-products as forage in dairy industry. *BMC Genomics*, 9(1), 403. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4808-5>
61. Dallas, D.C., Murray, N.M., Gan, J. (2015). Proteolytic systems in milk: perspectives on the evolutionary function within the mammary gland and the infant. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 20(3-4), 133-147. doi:10.1007/s10911-015-9334-3
62. Dang, A.K, Mukherjee, J., Chaudhury, M., Shiv, P., Mohanty, A.K., Kapila, S., Kapila, R. (2014). In vitro phagocytic activity of blood and milk neutrophils against *Saccharomyces cerevisiae* in primiparous and multiparous Karan Fries crossbred cows throughout the dry period and lactation cycle. *The Indian Journal of Animal Sciences*. 84(3), 262–266.
63. Davoodi, S. H., Shahbazi, R., Esmaeili, S., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A., Jazayeri, S., Taslimi, A. (2016). Health-related aspects of milk proteins. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 15(3), 573–591.
64. de Graaf, T., Dwinger, R.H. (1996). Estimation of milk production losses due to sub-clinical mastitis in dairy cattle in Costa Rica. *Preventive Veterinary Medicine*, 26(3–4), 215-222, [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(95\)00560-9](https://doi.org/10.1016/0167-5877(95)00560-9)

65. Dekkers, J.C. (2004). Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Science*, 82, 313-328. doi: 10.2527/2004.8213_supplE313x
66. Dekkers, J.C, Hospital, F. (2002). The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetic*, 3(1), 22-32. doi: 10.1038/nrg701
67. del Cerro-Vadillo, E., Madrazo-Toca, F., Carrasco-Marín, E., Fernandez-Prieto, L., Beck, C., Leyva-Cobián, F., Saftig, P., Alvarez-Dominguez, C. (2006). Cutting edge: a novel nonoxidative phagosomal mechanism exerted by cathepsin-D controls *Listeria monocytogenes* intracellular growth. *Journal of Immunology*, 176(3), 1321-1325. doi: 10.4049/jimmunol.176.3.1321
68. Deluyker, H.A., Van Oye, S.N., Boucher, J.F. (2005). Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 88(2), 604-614. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72724-7
69. de Visser, J. A., Cooper, T. F., Elena, S. F. (2011). The causes of epistasis. *Proceedings. Biological sciences*, 278(1725), 3617–3624. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1537>.
70. DeVries, T.J., Aarnoudse, M.G., Barkema, H.W., Leslie, K.E., von Keyserlingk, M.A.G., (2012). Associations of dairy cow behavior, barn hygiene, cow hygiene, and risk of elevated somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 5730-5739. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5375>
71. Dereń-Wagemann, I., Kielbiński M., Kulickowski K., (2013). Autofagia - proces o dwóch obliczach. *Acta Haematologica Polonica*, 44(4), 383-391. <https://doi.org/10.1016/j.achaem.2013.05.003>
72. Dezfouli, B. T. (2023). Comparing classic and genomic selection for Iranian water buffaloes simulated population in the Khuzestan region for milk trait. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2474296/v1>
73. Dingwell, R.T., Leslie, K.E., Schukken, Y.H., Sargeant, J.M., Timms, L.L., Duffield, T.F., Keefe, G.P., Kelton, D.F., Lissemore, K.D., Conklin, J. (2004). Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period, *Preventive Veterinary Medicine* 2004, 63(1-2), 75-89. doi: 10.1016/j.prevetmed.2004.01.012

74. Dingwell, R.T., Leslie, K.E., Schukken, Y.H., Sargeant, J.M., Timms, L.L. (2003). Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, 44(5), 413-415.
75. dos Reis, C.B, Barreiro, J.R, Moreno, J.F, Porcionato, M.A, Santos, M.V. (2011). Evaluation of somatic cell count thresholds to detect subclinical mastitis in Gyr cows. *Journal of Dairy Science*, 94(9):4406-4412. doi: 10.3168/jds.2010-3776
76. Dufour, S., Labrie, J., Jacques, M. (2019). The mastitis pathogens culture collection. *Microbiology resource announcements*, 8(15), e00133-19. <https://doi.org/10.1128/MRA.00133-19>
77. Dunham-Snary, K.J., Surewaard, B.G., Mewburn, J.D., Bentley, R.E., Martin, A.Y., Jones, O., Al-Qazazi, R., Lima, P.A., Kubes, P., Archer, S.L. (2022). Mitochondria in human neutrophils mediate killing of *Staphylococcus aureus*. *Redox Biology*, 49:102225. doi: 10.1016/j.redox.2021.102225
78. Du, Q., Tian, J., Yang, X., Pan, W., Xu, B., Li, B., Ingvarsson, P.K., Zhang, D. (2015). Identification of additive, dominant and epistatic variation conferred by key genes in cellulose biosynthesis pathway in *Populus tomentosa*. *DNA Research*, 22(1), 53-67. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsu040>.
79. Dworecka-Kaszak, B., Krutkiewicz, A., Szopa, D., Kleczkowski, M., Biegańska, M. (2012). High prevalence of *Candida* yeast in milk samples from cows suffering from mastitis in Poland. *Scientific World Journal*, 2012:196347. doi: 10.1100/2012/196347
80. Erdem, H., Okuyucu, I.C. (2019). Influence of hygiene status of cows on somatic cell count and milk components during summer season. *Large Animal Review*, 25(1), 7-10.
81. Finn, R. i Yates A. (2023, luty). Projekt Ensembl. <https://www.ensembl.org/index.html>
82. Firat, M.Z. (1993). An investigation into the effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Livestock Production Science*, 36(4), 311-321, [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(93\)90048-M](https://doi.org/10.1016/0301-6226(93)90048-M)
83. Flint, J., Mott, R. (2001). Finding the molecular basis of quantitative traits: successes and pitfalls. *Nature Reviews. Genetics*, 2(6), 437-445. doi: 10.1038/35076585

84. Fodor, I., Dunay A., Ózsvári L. (2014). Economic impacts of mastitis and reproductive disorders in the Hungarian dairy herds. W: A. Dunay (Red.), Challenges for the Agricultural Sector in Central and Eastern Europe (s. 227-245). Agroinform Publishing House. doi: 10.18515/dBEM.M2014.n01.ch15.
85. Fontaneli, R.S., Sollenberger, L.E., Littell, R.C., Staples, C.R. (2005). Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *Journal of Dairy Science*, 88(3), 1264-1276. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72793-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72793-4)
86. Fulwider, W.K., Grandin, T., Garrick, D.J., Engle, T.E., Lamm, W.D., Dalsted, N.L., Rollin B.E. (2007). Influence of free-stall base on tarsal joint lesions and hygiene in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3559-3566. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-793>
87. Fu, Q., Yuan, J., Wang, L., Ran, H., Li, F., Liu, F., Zhang, J., Liu, W., Huang, W., Huang, Y., Xia, X. (2020). Proteomic analysis of murine macrophages mitochondria and lysosomes reveal Cathepsin D as a potential broad-spectrum antimicrobial protein. *Journal of Proteomics*, 223:103821. doi: 10.1016/j.jprot.2020.103821
88. Furman, O., Leitner, G., Roth, Z., Lavon, Y., Jacoby, S., Wolfenson, D. (2014). Experimental model of toxin-induced subclinical mastitis and its effect on disruption of follicular function in cows. *Theriogenology*, 82(8), 1165–1172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.08.002>
89. Gagliano, S.A., Sengupta, S., Sidore, C., Maschio, A., Cucca, F., Schlessinger, D., Abecasis, G.R. (2019). Relative impact of indels versus SNPs on complex disease. *Genetic Epidemiology*, 43(1), 112–117. <https://doi.org/10.1002/gepi.22175>
90. Galvão, K. N., Pighetti, G. M., Cheong, S. H., Nydam, D. V., Gilbert, R. O. (2011). Association between interleukin-8 receptor- α (CXCR1) polymorphism and disease incidence, production, reproduction, and survival in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 2083–2091. doi: 10.3168/jds.2010-3636.
91. Garner, J.B., Chamberlain, A.J., Vander Jagt, C., Nguyen T. T. T., Mason B. A., Marett L. C., Leury B. J., Wales W. J., Hayes B. J. (2020). Gene expression of the heat stress response in bovine peripheral white blood cells and milk somatic cells in vivo. *Scientific Reports*, 10:19181. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75438-2>

92. Ge, Y., Huang, M., Yao, Y.M. (2018). Autophagy and proinflammatory cytokines: Interactions and clinical implications. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 43, 38-46. doi: 10.1016/j.cytogfr.2018.07.001.
93. Ghislat, G., Lawrence, T. (2018). Autophagy in dendritic cells. *Cellular & molecular immunology*, 15(11), 944-952. <https://doi.org/10.1038/cmi.2018.2>
94. Giannoni, F., Lyon, A.B., Wareing, M.D., Dias, P.B., Sarawar, S.R. (2005). Protein kinase C theta is not essential for T-cell-mediated clearance of murine gammaherpesvirus 68. *Journal of Virology*, 79(11), 6808-6813. doi: 10.1128/JVI.79.11.6808-6813.2005
95. Gilbert, R.O., Cable, C., Fubini, S.L., Steiner, A. (2017). Surgery of the bovine reproductive system and urinary tract. W L. F. Susan, N. G. Ducharme (red), *Farm Animal Surgery- Second Edition* (s.439-504). New York:Elsevier.
96. Gimelfarb, A., Lande, R. (1994). Simulation of marker assisted selection for non-additive traits. *Genetical Research*, 64(2), 127-136. doi: 10.1017/s0016672300032730
97. Glick, D., Barth, S., Macleod, K. F. (2010). Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *The Journal of Pathology*, 221(1), 3-12. <https://doi.org/10.1002/path.2697>
98. Goddard M.E, Hayes B.J. (2007). Genomic selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124(6), 323-30. doi: 10.1111/j.1439-0388.2007.00702.x
99. Gyax, L., Nosal, D., (2006). Short communication: Contribution of vibration and noise during milking to the somatic cell count of milk, *Journal of Dairy Science*, Volume 89(7), 2499-2502. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72324-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72324-4)
100. Haddadi, K., Prin-Mathieu, C., Moussaoui, F., Faure, G.C., Vangroenweghe, F., Burvenich, C., Le Roux, Y. (2006). Polymorphonuclear neutrophils and Escherichia coli proteases involved in proteolysis of casein during experimental E. coli mastitis. *International Dairy Journal*, 16(6), 639 -647. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.014>
101. Hagnestam-Nielsen, C., Emanuelson, U., Berglund B., Strandberg, E. (2009). Relationship between somatic cells count and milk yield in different stages of lactation, *Journal of Dairy Science*, 92,7, 3124-3133. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1719>

102. Halasa, T., Nielen, M., De Roos, A.P.W., Van Hoorne, R., de Jong, G., Lam, T.J.G.M., van Werven, T., Hogeveen, H. (2007). Estimation of the economic loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairies using a test-day model, Proceedings van het symposium ter gelegenheid van het 4de lustrum van de, VEEC Dutch Society for Veterinary Epidemiology and Economics en het 3de lustrum van de (s. 81-84).
103. Halasa, T., Nielen, M., De Roos, A.P.W., Van Hoorne, R., de Jong, G., Lam, T.J.G.M., van Werven, T., Hogeveen, H. (2009). Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model, *Journal of Dairy Science*, 92(2), 599-606, <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1564>
104. Hamann, J. (2005). Diagnosis of mastitis and indicators of milk quality. W: H. Hogeveen (Red.), *Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions* (s. 82–91), Wageningen, the Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
105. Hammami, H., Bormann, J., M'hamdi, N., Montaldo, H.H., Gengler, N. (2013). Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1844-1855. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5947>.
106. Hanuš, O., Sojková, K., Hanušová, K., Samková, E., Hronek, M., Hyšpler, R., Kopecký, J., Jedelská, R., (2011). An experimental comparison of methods for somatic cell count determination in milk of various species of mammals, *Acta Universitatis agriculturae et silviculturae mendeliana brunensis*, 59(1), 67-82.
107. Harjanti, D. W., Sambodho, P. (2020). Effects of mastitis on milk production and composition in dairy cows, W The 5th International Seminar on Agribusiness 2019 “Agricultural Innovation for Sustainable Farming System”. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: Indonesia. doi: 10.1088/1755-1315/518/1/012032
108. Harris, J. (2011). Autophagy and cytokines. *Cytokine*. 56(2), 140-144. doi: 10.1016/j.cyto.2011.08.022.
109. Hausmann, M., Obermeier, F., Schreiter, K., Spottl, T., Falk, W., Schölmerich, J., Herfarth, H., Saftig, P., Rogler, G. (2004). Cathepsin D is up-regulated in inflammatory bowel disease macrophages. *Clinical and experimental immunology*, 136(1), 157–167. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.02420.x>

110. Hayashi, K., Altman, A. (2007). Protein kinase C theta (PKCtheta): a key player in T cell life and death. *Pharmacological Research*, 55 (6), 537-544. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.04.09>
111. Hayes, B.J., Carrick, M., Bowman, P., Goddard, M.E. (2003). Genotype x environment interaction for milk production of daughters of Australian dairy sires from test-day records. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3736-44. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73980-0
112. He, Y., Chu, Q., Ma, P., Wang, Y. (2011). Association of bovine CD4 and STAT5b single nucleotide polymorphisms with somatic cell scores and milk production traits in Chinese Holsteins. *Journal of Dairy Research*, 78(2), 242-249. <https://doi.org/10.1017/S0022029911000148>
113. Heringstad, B., Klemetsdal G., Ruane J. (2000). Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries, *Livestock Production Science*, 64(2-3), 95-106. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00128-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00128-1)
114. Herzog, K., Strüve, K., Kasteli, J.P., Piechotta, M., Ulbrich, S.E., Pfarrer, C., Shirasuna, K., Shimizu, T., Miyamoto, A., Bollwein, H. (2012). Escherichia coli lipopolysaccharide administration transiently suppresses luteal structure and function in diestrous cows. *Reproduction*, 144(4), 467-476. <https://doi.org/10.1530/REP-12-0138>
115. Hill, W.G., Goddard, M.E., Visscher, P.M. (2008). Data and theory point to mainly additive genetic variance for complex traits. *PLoS Genetics*, 4(2): e1000008. doi:10.1371/journal.pgen.1000008
116. Hill, W.G., Mulder, H.A., Zhang, X.S. (2007). The quantitative genetics of phenotypic variation in animals, *Acta Agriculturae Scand Section A*, 57(4), 175-182. doi: 10.1080/09064700801959353
117. Hillerton, J.E., Berry, E.A. (2005). Treating mastitis in the cow – a tradition or an archaism. *Journal of Applied Microbiology*, 98(6), 1364-5072. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02649.x>
118. Hinrichs, D., Bennewitz, J., Stamer, E., Junge, W., Kalm, E., Thaller, G. (2011). Genetic analysis of mastitis data with different models. *Journal of Dairy Science*, 94 (1), 471-478. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3374>

119. Hinz, K., Larsen, L.B., Wellnitz, O., Bruckmaier, R.M., Kelly, A.L. (2012). Proteolytic and proteomic changes in milk at quarter level following infusion with *Escherichia coli* lipopolysaccharide, *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1655-1666, <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4813>
120. Houben, E.H., Dijkhuizen, A.A., Van Arendonk, J.A., Huirne, R.B. (1993). Short- and long-term production losses and repeatability of clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 76(9), 2561-2578. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77591-8
121. Hoque, M.N., Das, Z.C., Rahman, A.N.M.A., Hoque, M.M. (2016). Effect of administration of vitamin E, selenium and antimicrobial therapy on incidence of mastitis, productive and reproductive performances in dairy cows. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 4(2), 63-70. doi:10.1016/j.ijvsm.2016.11.001
122. Hu, L.F. (2019). Epigenetic regulation of autophagy. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1206, 221-236. doi: 10.1007/978-981-15-0602-4_11.
123. Huang, J., Liu, L., Wang, H., Zhang, C., Ju, Z., Wang, C., Zhong, J. (2011). Variants and gene expression of the TLR2 gene and susceptibility to mastitis in cattle. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6(1), 51-61. doi: 10.3923/ajava.2011.51.61, 2011
124. Hunter, D. (2005). Gene–environment interactions in human diseases. *Nature Reviews Genetics*, 6, 287–298. <https://doi.org/10.1038/nrg1578>
125. Ibtisham, F., Zhang, L., Xiao, M., An, L., Ramzan, M.B., Nawab, A., Zhao, Y., Li, G., Xu, Y. (2017). Genomic selection and its application in animal breeding. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47(3), 301-310.
126. Ichimiya, T., Yamakawa, T., Hirano, T., Yokoyama, Y., Hayashi, Y., Hirayama, D., Wagatsuma, K., Itoi, T., Nakase, H. (2020). Autophagy and autophagy-related diseases: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 8974. <https://doi.org/10.3390/ijms21238974>
127. Isaea, A.A., Kurtu, M.Y. (2018). Mastitis and its effect on chemical composition of milk in and around Worabe Town, Siltie Zone, Ethiopia. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*, 42(1), 2313-4402.

128. Ismail, Z.B. (2017). Mastitis vaccines in dairy cows: Recent developments and recommendations of application. *Veterinary World*, 10(9), 1057–1062. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1057-1062>
129. Jadhav, P.V., Das, D.N., Suresh, K.P., Shome, B.R. (2018). Threshold somatic cell count for delineation of subclinical mastitis cases. *Veterinary World*, 11(6), 789-793. doi: 10.14202/vetworld.2018.789-793
130. Jagielski, T., Lassa H, Ahrholdt, J., Malinowski, E., Roesler, U. (2011). Genotyping of bovine *Prototheca mastitis* isolates from Poland. *Veterinary Microbiology*, 149(1-2), 283-287. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.09.034
131. Jakiel, M., Jesiołkiewicz, E., Ptak, E. (2011). Zależność między zawartością komórek somatycznych a cechami wydajności mlecznej w mleku krów rasy PHF odmiany czarno-białej. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 7(1), 9-17.
132. Jattawa, D., Koonawootrittriron, S., Elzo, M.A., Suwanasopee, T. (2012). Somatic cells count and its genetic association with milk yield in dairy cattle raised under Thai tropical environmental conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(9), 1216-1222. doi: 10.5713/ajas.2012.12159
133. Jiang, G.M., Tan, Y., Wang, H., Peng, L., Chen, H.T., Meng, X.J., Li, L.L., Liu, Y., Li, W.F., Shan, H. (2019). The relationship between autophagy and the immune system and its applications for tumor immunotherapy, *Molecular Cancer*, 18(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0944-z>
134. Jo, B.S., Choi, S.S. (2015). Introns: The functional benefits of introns in genomes. *Genomics & Informatics*, 13(4), 112–118. <https://doi.org/10.5808/GI.2015.13.4.112>
135. Jones, G.M., Bailey, T.L. (2009). Understanding the basics of mastitis, milk quality & milking management. *Virginia Cooperative Extension*, 404-233. http://pubs.ext.vt.edu/404/404-233/404-233_pdf.pdf
136. Ju, Z.H., Li, Q.L., Huang, J.M., Hou, M.H., Li, R.L., Li, J.B., Zhong, J.F., Wang, C.F. (2011). Three novel SNPs of the bovine Tf gene in Chinese native cattle and their associations with milk production traits. *Genetics and Molecular Research* 10(1), 340-352. doi: 10.4238/vol10-1gmr1038

137. Ju, Z., Wang, C., Wang, X., Yang, C., Sun, Y., Jiang, Q., Wang, F., Li, M., Zhong, J., Huang, J. (2015). Role of an SNP in alternative splicing of bovine NCF4 and mastitis susceptibility. *PLOS ONE*, 10(11):e0143705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143705>
138. Kašná, E., Zavadilová, L., Štípková, M. (2018). Genetic evaluation of clinical mastitis traits in holstein cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 63(11), 443–451. <https://doi.org/10.17221/105/2018-CJAS>
139. Kadarmideen, H. N., Pryce, J. E. (2001). Genetic and economic relationships between somatic cell count and clinical mastitis and their use in selection for mastitis resistance in dairy cattle. *Animal Science*, 73(1), 19-28. <https://doi.org/10.1017/S135772980005801X>
140. Kadri, N.K., Gulbrandsen, B., Lund, M.S., Sahana, G. (2015). Genetic dissection of milk yield traits and mastitis resistance quantitative trait loci on chromosome 20 in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 9015-90125. doi: 10.3168/jds.2015-9599
141. Kamiński, S. (2012). Genomowa ocena wartości hodowlanej zwierząt, *Przegląd Hodowlany*, 7-9, 6-8.
142. Kapela, K., Guliński, P. (2007). Jakość cytologiczna mleka produkowanego w różnych typach obór, *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 3(1):109-114.
143. Karbowski, M., Jeong, S.Y, Youle, R.J. (2004). Endophilin B1 is required for the maintenance of mitochondrial morphology. *Journal of Cell Biology*, 166(7), 1027-39. doi: 10.1083/jcb.200407046
144. Kausar, S., Yang, L., Abbas, M.N., Hu, X., Zhao, Y., Zhu, Y., Cui, H. (2020). Mitochondrial DNA: A key regulator of anti-microbial innate immunity. *Genes (Basel)*, 11(1):86. doi: 10.3390/genes11010086
145. Ketterer, S., Mitschke, J., Ketscher, A., Schlimpert, M., Reichardt, W., Baeuerle, N., Hess, M.E., Metzger, P., Boerries, M., Peters, C., Kammerer, B., Brummer, T., Steinberg, F., Reinheckel, T. (2020). Cathepsin D deficiency in mammary epithelium transiently stalls breast cancer by interference with mTORC1 signaling. *Nature Communications*, 11(1):5133. doi: 10.1038/s41467-020-18935-2

146. Khatkar, M. S., Thomson, P. C., Tammen, I., Raadsma, H. W., (2004). Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution*, 36(2), 163-190. doi: 10.1051/gse:2003057
147. Kinghorn B., (2000). Implementation of direct and indirect markers. W: J., Van der Werf, B., Kinghorn (Red.), Identifying and incorporating genetic markers and major genes in animal breeding programs (s. 129-138). Belo Horizonte.
148. Kjaerulff, O., Brodin, L., Jung, A. (2011). The structure and function of endophilin Proteins. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 60, 137–154. <https://doi.org/10.1007/s12013-010-9137-5>
149. Kocak, O., (2006). Influence of mastitis on milk yield in holstein cows. *Acta Veterinaria Brno - ACTA VET BRNO*, 75, 507-513. 10.2754/avb200675040507
150. Koenen, E.P.C., Berglund B., Philipsson J., Groen A.F. (1994). Genetic parameters of fertility disorders and mastitis in Swedish Friesian breed. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 44(4), 202-207.
151. Kościuczuk, E.M., Lisowski, P., Jarczak, J., Krzyżewski, J., Zwierzchowski, L., Bagnicka, E. (2014). Expression patterns of β -defensin and cathelicidin genes in parenchyma of bovine mammary gland infected with coagulase-positive or coagulase-negative Staphylococci. *BMC Veterinary Research*, 10:246. doi:10.1186/s12917-014-0246-z
152. Krishnamoorthy, P., Goudar, A.L., Suresh, K. P., Roy, P. (2021). Global and countrywide prevalence of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle and buffaloes by systematic review and meta-analysis. *Research in Veterinary Science*, 136, 561-586. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.021>
153. Krishnappa, G., Savadi, S., Tyagi, B. S., Singh, S. K., Mamrutha, H. M., Kumar, S., Mishra C. N., Khan, H., Gangadhara, K., Uday, G., Singh, G., Singh, G. P. (2021). Integrated genomic selection for rapid improvement of crops, *Genomics*, 113(3), 1070-1086, <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.02.007>
154. Krukowski, H., Lassa, H., Zastempowska, E., Smulski, S., Bis-Wencel, H. (2019). Etiological agents of bovine mastitis in Poland. *Medycyna Weterynaryjna*, 76 (4), 221-225. doi:dx.doi.org/10.21521/mw.6339

155. Krukowski, H., Lisowski, A., Rózański, P., Skórka, A. (2006). Yeasts and algae isolated from cows with mastitis in the south-eastern part of Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 9(3),181-184.
156. Kuczaj, M. (2003). Analysis of changes in udder size of high-yekding cows in subsequent lactations with regard to mastitis. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 6(1).
157. Lande, R., Thompson, R. (1990). Efficiency of marker assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*, 124(3),743-756.
158. Landin, H., Mörk, M.J., Larsson, M., Waller, K.P. (2015). Vaccination against *Staphylococcus aureus* mastitis in two Swedish dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57, 81. doi: 10.1186/s13028-015-0171-6
159. Lassa, H., Malinowski, E. (2007). *Prototheca* spp. i prototekozy u zwierząt, *Życie Weterynaryjne*, 82(1), 31-34.
160. Lopes, MS., Bastiaansen, JW., Janss, L., Knol, EF., Bovenhuis, H. (2015). Estimation of additive, dominance, and imprinting genetic variance using genomic data. *G3 (Bethesda)*, 25(12), 2629-2637. doi:10.1534/g3.115.019513
161. López-Soto, A., Bravo-San Pedro, J. M., Kroemer, G., Galluzzi, L., Gonzalez, S. (2017). Involvement of autophagy in NK cell development and function. *Autophagy*, 13(3), 633–636. <https://doi.org/10.1080/15548627.2016.1274486>
162. Le Maréchal, C., Thiéry, R., Vautor, E., Le Loir Y., (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products—a review. *Dairy Science & Technology*, 91 (3), 247-282. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0009-6>
163. Leslie, K.E., Duffield, T.F., Schukken, Y.H. (2000). The influence of negative energy balance on udder health. *NMC Regional Meeting Proceedings*, 25–33.
164. Levine, B., Klionsky, D. J. (2017). Autophagy wins the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine: Breakthroughs in baker's yeast fuel advances in biomedical research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(2), 201–205. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619876114>
165. Lkhider, M., Castino, R., Bouguyon, E., Isidoro, C., Ollivier-Bousquet, M. (2004). Cathepsin D released by lactating rat mammary epithelial cells is involved in prolactin

- cleavage under physiological conditions. *Journal of Cell Science*, 117(21), 5155-5164. doi: 10.1242/jcs.01396
166. Liaudet-Coopman, E., Beaujouin, M., Derocq, D., Garcia, M., Glondu-Lassis, M., Laurent-Matha, V., Prébois, C., Rochefort H., Vignon, F. (2006). Cathepsin D: newly discovered functions of a long-standing aspartic protease in cancer and apoptosis. *Cancer Letters*, 237(2), 167-79. doi: 10.1016/j.canlet.2005.06.007
167. Li, Q., Yang, C., Du, J., Zhang B., He Y., Hu Q., Li M., Zhang Y., Wang C., Zhong J. (2018). Characterization of miRNA profiles in the mammary tissue of dairy cattle in response to heat stress. *BMC Genomics* 19, 975. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5298-1>
168. Li, Z., Chen, B., Wu, Y., Jin, F., Xia, Y., Liu, X. (2010). Genetic and epigenetic silencing of the beclin 1 gene in sporadic breast tumors. *BMC Cancer*, 10, 98. doi: 10.1186/1471-2407-10-98
169. Lund, T., Miglior, F., Dekkers, J.C.M., Burnside, E.B. (1994). Genetic-relationships between clinical mastitis, somatic-cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. *Livestock Production Science*, 39(3), 243-251. [https://doi.org/10.1016/0301-6226\(94\)90203-8](https://doi.org/10.1016/0301-6226(94)90203-8)
170. Månsson, H. L. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*, 52, 10.3402/fnr.v52i0.1821. <https://doi.org/10.3402/fnr.v52i0.1821>
171. Machado, V.S., Bicalho, M.L.S., Pereira, R.V., Caixeta, L.S., Knauer, W.A., Oikonomou, G., Gilbert, R.O., Bicalho, R.C. (2013). Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating holstein cows. *The Veterinary Journal*, 197, 451–456. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.02.022.
172. Malinowski, E., Lassa, H., Kłossowska, A. (2002). Isolation of *Prototheca zopfii* from inflamed secretion of udders. *Bulletin of The Veterinary Institute in Pulawy*, 46(2), 295-299.
173. Malinowski E, Gajewski Z., (2010). Mastitis and fertility disorders in cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 13(3), 555-60.

174. Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W., Kim, H. L. (2018). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, asthma, and clinical immunology : official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology*, 14(2), 49. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>.
175. Marsland, B.J., Nembrini, C., Schmitz, N., Abel, B., Krautwald, S., Bachmann, M.F., Kopf, M. (2005). Innate signals compensate for the absence of PKC- θ during in vivo CD8(+) T cell effector and memory responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(40), 14374-14379. doi: 10.1073/pnas.0506250102
176. Marsland, B.J., Soos, T.J., Späth, G., Littman, D.R., Kopf, M. (2004). Protein kinase C θ is critical for the development of in vivo T helper (Th)2 cell but not Th1 cell responses. *Journal of Experimental Medicine*, 200(2), 181-9. doi: 10.1084/jem.20032229
177. Martin, P., Barkema, H.W., Brito, L.F., Narayana, S.G., Miglior, F. (2018). Symposium review: Novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2724-2736. doi: 10.3168/jds.2017-13554
178. Matoba, K., Nobuo, N. N. (2021). Structural catalog of core Atg proteins opens new era of autophagy research. *The Journal of Biochemistry*, 169(5), 517–525, <https://doi.org/10.1093/jb/mvab017>
179. McLeod, I. X., He, Y. (2010). Roles of autophagy in lymphocytes: reflections and directions. *Cellular & Molecular Immunology*, 7(2), 104–107. <https://doi.org/10.1038/cmi.2009.115>
180. Meuwissen, T., Hayes, B., Goddard M. (2016). Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, 6(1), 6–14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
181. Miller, R.H. (1984). Traits for sire selection related to udder health and management. *Journal of Dairy Science*, 67(2), 459-471.
182. Minarowska, A., Gacko, M., Karwowska, A., Minarowski, Ł. (2008). Human cathepsin D. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 46(1), 23-38. doi: 10.2478/v10042-008-0003-x

183. Mizushima, N., Yoshimori, T., Ohsumi, Y. (2011). The role of atg proteins in autophagosome formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2011(27), 107-132. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005
184. Monir, M.M., Zhu, J. (2018). Dominance and epistasis interactions revealed as important variants for leaf traits of maize NAM Population. *Frontiers in Plant Science*. 9:627. doi: 10.3389/fpls.2018.00627
185. Moniruzzaman, M., Khatun, R., Minto A.A. (2014). Application of marker assisted selection for livestock improvement in Bangladesh, *The Bangladesh Veterinarian*, 31(1), 1 – 11. doi: 10.3329/bvet.v31i1.22837
186. Morales, J.P.A., Lopez-Herrera, A., Echeverri, J. (2017). Association of TLR6 gene polymorphisms with zootechnical parameters in Holstein cattle in northern Antioquia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 70(2), 8203-8211. doi: 10.15446/rfna.v70n2.60766, 2017
187. Morsi, N. M., Saleh, Y., El Gazzar, H., i Hanafi, A. (2000). Effect of mastitis on milk fat content. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 3 (2), 196-200. doi: 10.3923/pjbs.2000.196.200
188. Moyo, N., Nielen, M., Kruitwagen, C., Beynen, A.C. (2005). Vitamin E supplementation and udder health: A metaanalysis. W: H. Hogeveen (Red.), *Mastitis in dairy production: Current knowledge and future solutions* (s. 159-165).
189. Muhagheh-Dolatabady, M. (2014). Single nucleotide polymorphism in the promoter region of bovine interleukin 8 gene and its association with milk production traits and somatic cell score of holstein cattle in Iran. *Iranian Journal of Biotechnology*, 12(3), 35-40. doi:10.15171/ijb.1016
190. Nguyen, T.C., Nakao, T., Gautam, G., Su, L.T., Ranasinghe, R.M.S.B.K., Yusuf, Y. (2011). Relationship between milk somatic cell count and postpartum ovarian cyclicity and fertility in dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica*, 59(3), 349-362. doi: 10.1556/AVet.2011.017.
191. Nicolle, A., Zhang, Y., Belguise, K. (2021) The emerging function of PKCtheta in cancer. *Biomolecules*, 11(2):221. doi: 10.3390/biom11020221

192. Niedźwiedzka-Rystwej, P., Deptuła, W. (2009). Autofagia- ważne zjawisko odpornościowe. *Postępy Biologii Komórki*, 36(3), 455-464.
193. Noori, R., Mahdavi, A.H., Edriss, M.A., Rahmani, H.R., Talebi, M., Soltani-Ghombavani, M. (2013). Association of polymorphism in Exon 3 of toll-like receptor 4 gene with somatic cell score and milk production traits in Holstein dairy cows of Iran. *South African Journal of Animal Science*, 43(4), <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v43i4.6>
194. Norman, H.D., Miller, R.H., Wright, J.R., Wiggans, G.R. (2000). Herd and state means for somatic cell count from dairy herd improvement. *Journal of Dairy Science*, 83(12), 2782-2788. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75175-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75175-7)
195. Obara, K., Ohsumi, Y. (2011). Atg14: a key player in orchestrating autophagy. *International Journal of Cell Biology*, 2011, 713435. <https://doi.org/10.1155/2011/713435>
196. O'Brien, B., Meaney, W.J., McDonagh, D., Kelly, A. (2001). Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation. *Australian Journal of Dairy Technology*, 56(3), 213–218.
197. Ogola, H., Shitandi, A., Nanua, J. (2007). Effect of mastitis on raw milk compositional quality. *Journal of veterinary science*, 8(3), 237–242. <https://doi.org/10.4142/jvs.2007.8.3.237>
198. Oliveira, H.R., Cant, J.P., Brito, L.F., Feitosa, F.L.B., Chud, T.C.S., Fonseca, P.A.S., Jamrozik, J., Silva, F.F., Lourenco, D.A.L., Schenkel, F.S. (2019). Genome-wide association for milk production traits and somatic cell score in different lactation stages of Ayrshire, Holstein, and Jersey dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 102(9):8159-8174. doi: 10.3168/jds.2019-16451
199. Oliveira, C.A.F., Fernandes, A.M., Neto, O.C.C., Fonseca, L.F.L., Silva, E.O.T., Balian, S.C. (2002). Composition and sensory evaluation of whole yogurt produced from milk with different somatic cell counts. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57(3), 192–196
200. Oltenacu, P.A., Ekesbo, I. (1994). Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle, *Veterinary Research*, 25(2-3), 208-212.

201. O'Rourke, D. (2009). Nutrition and udder health in dairy cows: a review. *Irish veterinary journal*, 62(4), 15–20. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S15>
202. Ottman, R. (1996). Gene-environment interaction: definitions and study designs. *Preventive Medicine*, 25(6), 764-70. doi: 10.1006/pmed.1996.0117
203. Pachota, K., Niedziela, A., Orłowska, R., Bednarek, P.T. (2016). Nowoczesne metody genotypowania DArT i GBS w hodowli gatunków roślin użytkowych. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 279, 3-18.
204. Page, K.M., Chaudhary, D., Goldman, S.J., Kasaian, M.T. (2008), Natural killer cells from protein kinase C $\theta^{-/-}$ mice stimulated with interleukin-12 are deficient in production of interferon- γ . *Journal of Leukocyte Biology*, 83(5): 1267-1276. <https://doi.org/10.1189/jlb.1107745>
205. Pawlik, A., Sender, G., Oprządek, J. (2010). Zapalenie wymienia u krów (cz.1), *Przegląd Hodowlany*, 10, 17-19.
206. Pérez-Cabal, M.A., Yaici, S., Alenda, R., (2008). Clinical mastitis in Spanish dairy cows: incidence and costs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(4), 615-622. doi: 10.5424/sjar/2008064-354.
207. Peaston, A.E., Whitelaw, E. (2006). Epigenetics and phenotypic variation in mammals. *Mammalian Genome*, 17(5), 365-374. doi: 10.1007/s00335-005-0180-2
208. Peris, C., Díaz, J.R., Balasch, S., Beltrán, M.C., Molina, M.P., Fernández, N. (2003). Influence of vacuum level and overmilking on udder health and teat thickness changes in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 3891-3898. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73997-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73997-6)
209. Petros, A.M., Olejniczak, E.T., Fesik, S.W. (2004). Structural biology of the Bcl-2 family of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1644(2-3), 83-94. doi: 10.1016/j.bbamcr.2003.08.012
210. Pongpisantham B. (1994). Applying genotype and marker assisted selection for the improvement of quantitative traits in poultry [Praca doktorska, University of New England].

211. Pua, H.H., Dzhagalov, I., Chuck, M., Mizushima, N., He, Y.W. (2007). A critical role for the autophagy gene Atg5 in T cell survival and proliferation. *Journal of Experimental Medicine*, 204(1), 25-31. doi: 10.1084/jem.20061303
212. Puppel, K., Gołębiewski, M., Grodkowski, G., Slószarz, J., Kunowska-Slósarz, M., Solarczyk, P., Łukasiewicz, M., Balcerak, M., Przysucha, T. (2019). Composition and factors affecting quality of bovine colostrum: A Review. *Animals*, 9(12), 1070. <https://doi.org/10.3390/ani9121070>
213. Pyörälä, S. (2009). Treatment of mastitis during lactation. *Irish Veterinary Journal*, 62(4), S40, <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S40>
214. Qian, M., Fang, X., Wang, X. (2017). Autophagy and inflammation. *Clinical and Translational Medicine*, 6(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0154-5>
215. Radisky, E.S. (2010). Cathepsin D: Regulation in mammary gland remodeling, misregulation in breast cancer. *Cancer Biology & Therapy*, 10(5):467-70. doi: 10.4161/cbt.10.5.12855
216. Rahman, M.M., Mazzilli, M., Pennarossa, G., Brevini, T.A.L., Zecconi, A., Gandolfi, F. (2012). Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1885-1893, <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4815>
217. Rainard P., Florence B.G., Germon P., Foucras G. (2021). Invited review: A critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 104,10, 10427-10448. doi: 10.3168/jds.2021-20434
218. Rainard, P., Foucras, G., Boichard, D., Rupp, R. (2018). Invited review: Low milk somatic cell count and susceptibility to mastitis. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6703-6714. doi: 10.3168/jds.2018-14593
219. Rajala-Schultz, P.J., Gröhn, Y.T, McCulloch, C.E., Guard, C.L. (1991). Effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(6), 1213-1220, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75344-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75344-0)
220. Rakib, M., Zhou, M., Xu, S., Liu, Y., Asfandyar Khan, M., Han, B., Gao, J. (2020). Effect of heat stress on udder health of dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 87 (3), 315-321. doi:10.1017/S0022029920000886

221. Ramírez-Valverde, R., Peralta-Aban, J.A., Núñez-Domínguez, R., Ruíz-Flores, A., García-Muñiz, J.G., García-Peniche, T.B. (2010). Genotype by feeding system interaction in the genetic evaluation of Jersey cattle for milk yield. *Animal*, 4(12), 1971-1975. doi: 10.1017/S175173111000128X
222. Ranjan, S., Bhushan, B., Gupta, J.P., Panigrahi, M. (2018). Genotype based transcript abundance of TLR2 among crossbred cattle and their relation with mastitis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 449-453.
223. Ranjan, S., Bhushan, B., Panigrahi, M., Kumar, A., Deb, R., Kumar, P., Sharma, D. (2015). Association and expression analysis of single nucleotide polymorphisms of partial tumor necrosis factor alpha gene with mastitis in crossbred cattle, *Animal Biotechnology*, 26(2), 98-104. doi: 10.1080/10495398.2014.929582
224. Raza, S.H.A., Khan, S., Amjadi, M., Abdelnour, S.A., Ohran, H., Alanazi, K.M., Abd El-Hack, M.E., Taha, A.E., Khan, R., Gong, C., Schreurs, N.M., Zhao, C., Wei, D., Zan, L. (2020). Genome-wide association studies reveal novel loci associated with carcass and body measures in beef cattle. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 15,694:108543. doi: 10.1016/j.abb.2020.108543
225. Razak, R., Hussain, I., Dar, P.A., Bashir, S.M., Bhat, S.A., Mir, M.R. (2015). Association of toll-like receptor 4 gene polymorphism with the severity of mastitis in crossbred dairy cattle. *Applied Biological Research*, 17(3), 242-249. doi: 10.5958/0974-4517.2015.00035.X
226. Ren, J., Lin, Z., He, R., Shen, X., Pan, W. (2023). Using GWAS summary data to impute traits for genotyped individuals, *Human Genetics and Genomics Advances*, 4, 3, 100197. <https://doi.org/10.1016/j.xhgg.2023.100197>
227. Renault, T. T., Chipuk, J. E. (2013). Getting away with murder: how does the BCL-2 family of proteins kill with immunity?. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1285(1), 59–79. <https://doi.org/10.1111/nyas.12045>
228. Reshma, R. S., Das, D. N. (2021). Molecular markers and its application in animal breeding. W: S. Mondal i R. L. Singh (Red.), *Advances in Animal Genomics* (s. 123-140). Academic Press.

229. Ridhowi, A., Chang, H.L., Liang, C.L., Wu, S., Wu, M.C. (2017). The Interleukin-8 gene polymorphism and its association with milk production traits in holstein cows. *Indian Journal of Animal Research*, 52(10), 1395-1399. doi:10.18805/ijar.B-702
230. Robinson, M.A. (1998). Linkage Disequilibrium, W: P.J. Delves (Red.), *Encyclopedia of Immunology (Second Edition)* (s. 1586-1588). Elsevier.
231. Roche, J.R., Friggens, N.C., Kay, J.K., Fisher, M.W., Stafford, K.J., Berry, D.P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, Volume, 92(12), 5769-5801. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2431>
232. Romero, J., Benavides, E., Meza, C. (2018). Assessing financial impacts of subclinical mastitis on colombian dairy farms. *Frontiers in Veterinary Science*, 5: 273. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00273>
233. Ron, M., Hillel, J. (1983). Genotype x environment interaction in dairy cattle and its role in breeding programmes. *Theoretical and Applied Genetics*, 66, 93–99. <https://doi.org/10.1007/BF00265180>
234. Roy, D., Ye, A., Moughan, P.J., Singh, H. (2020). Composition, structure, and digestive dynamics of milk from different species-A Review. *Frontiers in Nutrition*, 7:577759. doi: 10.3389/fnut.2020.577759
235. Ruegg, P.L., Pantoja, J.C.F. (2013). Understanding and using somatic cells counts to improve milk quality, *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 52 (2), 101-117.
236. Ryniewicz, Z., Zwierzchowski, L., Bagnicka, E., Flisikowski, K., Maj, A., Krzyżewski, J., Strzałkowska, N. (2003). Association of the polymorphism at defensin gene loci with dairy production traits and milk somatic cell count in Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports*, 21(4), 209-222.
237. Sabuncu, A., Enginler S.O., Dumen, E. (2013). The effect of parity, age and season on somatic cell count of dairy cows with subclinical mastitis. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12(4), 472-477. doi: 10.36478/javaa.2013.472.477
238. Sakaki, K., Wu, J., Kaufman, R.J. (2008). Protein kinase C θ is required for autophagy in response to stress in the endoplasmic reticulum.

The Journal of biological chemistry, 283(22), 15370–15380.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M710209200>.

239. Sandhir, R., Halder, A., Sunkaria, A. (2017). Mitochondria as a centrally positioned hub in the innate immune response. *Biochimica et Biophysica Acta: Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1090-1097. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.10.020
240. Schaeffer, L.R. (2004). Application of random regression models in animal breeding. *Livestock Production Science*, 86(1-3), 35-45. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00151-9)
241. Schukken, Y.H., Wilson, D.H., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzales, R.N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, 34(5):579-596. doi: 10.1051/vetres:2003028
242. Sharma, B.S., Leyva, I., Schenkel, F., Karrow, N.A. (2006). Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation persistency in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, 89(9), 3626-3635. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72402-X
243. Sharma, N., Singh, N. K., Bhadwal, M.S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An, *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(3), 429 – 438. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10233>
244. Sharma, A., Lee, J.S., Dang, C.G., Sudrajad, P., Kim, H.C., Yeon, S.H., Kang, H.S., Lee, SH. (2015). Stories and challenges of genome wide association studies in livestock - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(10), 1371-1379. doi: 10.5713/ajas.14.0715
245. Sheldrake, R.F., Hoare, R.J.T., McGregor, G.D. (1983). Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *Journal of Dairy Science*, 66(3), 542–547. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81823-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81823-2)
246. Shi, R., Brito, L.F., Liu, A., Luo, H., Chen, Z., Liu, L., Guo, G., Mulder, H., Ducro, B., van der Linden, A., Wang, Y. (2021). Genotype-by-environment interaction in Holstein heifer fertility traits using single-step genomic reaction norm models. *BMC Genomics*, 22(1):193. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07496-3>

247. Shook, G.E., Schutz, M.M. (1994). Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. *Journal of Dairy Science*, 77(2), 648-658. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(94)76995-2
248. Sebastino, K.B., Uribe, H., González, H. H. (2020). Effect of test year, parity number and days in milk on somatic cell count in dairy cows of Los Ríos region in Chile. *Austral Journal of Veterinary Sciences*, 52(1), 1-7. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-81322020000100102>
249. Sender, G. (2002). Selekcja krów mniej podatnych na zapalenie wymienia na podstawie liczby komórek somatycznych w mleku. *Przegląd Hodowlany*, 6, 1-6.
250. Sender, G., Bagnicka, E. (2000). Wpływ wielkości stada, stosowania środków dezynfekcyjnych oraz rodzaju doju na liczbę komórek somatycznych. *Przegląd Hodowlany*, 8, 46-47.
251. Sender, G., Korwin-Kossakowska, A., Pawlik, A., Hameed, KGA., Oprządek, J. (2013). Genetic basis of mastitis resistance in dairy cattle – a review. *Annals of Animal Science*, 13 (4), 663– 673, doi: 10.2478/aoas-2013-0043
252. Sentitula, P., Kumar, R., Yadav, B.R. (2011). Molecular analysis of TLR4 gene and its association with intra-mammary infections in Sahiwal cattle and Murrah buffaloes. *Indian Journal of Biotechnology*, 11(3), 267-273.
253. Singh, M., Ludri, R. S. (2001). Influence of stages of lactation, parity and season on somatic cell counts in cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(12), 1775-1780.
254. Smith, K.L., Hogan, J.S., Weiss, W.P. (1997). Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *Journal of Animal Science*, 75, 1659–1665. doi: 10.2527/1997.7561659x
255. Smulski, S., Gehrke, M., Libera, K., Cieslak, A., Huang, H., Patra, A.K., Szumacher-Strabel M. (2020). Effects of various mastitis treatments on the reproductive performance of cows. *BMC Veterinary Research*, 16(1):99. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02305-7>
256. Sobotka, W., Miciński, J., Wróblewski, P., Zwierzchowski, G. (2011). Wpływ systemu żywienia tradycyjnego i TMR na pobranie paszy przez krowy, ich wydajność,

skład mleka i jego jakość higieniczną. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, 7(4), 87-96.

257. Somers, J.M., O'Brien, B., Meaney, W.J., Kelly, A.L. (2003). Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count. *Journal of Dairy Research*, 70(1), 45–50. doi: 10.1017/s0022029902005988
258. Sordillo, L.M. (2016). Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4967-4982. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10354>
259. Souissi, W., Bouraoui, R. (2019). Relationship between body condition score, milk yield, reproduction, and biochemical parameters in dairy cows. W: N. M'Hamdi (Red.), *Lactation in Farm Animals - Biology, Physiological Basis, Nutritional Requirements, and Modelization* (s. 1-13). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85343>
260. Soyombo, A.A., Wu, Y., Kolski, L., Rios, J.J., Rakheja, D., Chen, A., Kehler, J., Hampel, H., Coughran, A., Ross, T.S. (2013). Analysis of induced pluripotent stem cells from a BRCA1 mutant family. *Stem Cell Reports*, 1(4), 336-49. doi: 10.1016/j.stemcr.2013.08.004
261. Stanisławczyk, A., Wojdak-Maksymiec, K. (2018). Associations between interleukin-8 receptor (CXCR1) and interleukin-6 (IL6) polymorphism and immunity to mastitis in the Black-and-White variety of Polish Holstein-Friesian cows. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 17(3), 23–30. doi: 10.21005/asp.2018.17.3.04
262. Stella, A.A.S., Fonseca, L.F.S., Gimenez, D.F.J., Tanamati, F., do Nascimento, A.V., Cardoso, D.F., Tonhati, H. (2018). Expression profile of the CSF3 and LPO genes in milk from buffalo (*Bubalus bubalis*) with and without mastitis. *Molecular and Cellular Probes*, 41, 39-42. doi: 10.1016/j.mcp.2018.09.001
263. Strabel, T., Szyda, J., Ptak, E., Jamrozik, J. (2005). Comparison of random regression test-day models for Polish Black and White cattle. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3688-3699. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)73055-1
264. Strillacci, M.G., Punturier, C., Milanesi, R., Bernini, F., Mason, T., Bagnato, A. (2023). Antibiotic treatments and somatic cell count as phenotype to map QTL for mastitis susceptibility in Holstein cattle breed, *Indian Journal of Animal Science*, 22(1), 190-199. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2023.2175498>

265. Strucken, E.M., Bortfeldt, R.H., Koning, D.J., Brockmann, G.A. (2012). Genome-wide associations for investigating time-dependent genetic effects for milk production traits in dairy cattle. *Animal Genetics*, 43(4), 375-382. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02278.x
266. Su, G., Christensen, O.F., Ostersen, T., Henryon, M., Lund, M.S. (2012). Estimating additive and non-additive genetic variances and predicting genetic merits using genome-wide dense single nucleotide polymorphism markers. *PLoS ONE*, 7(9):e45293. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045293>
267. Sumon, S.M.M.R., Parvin, M.S., Ehsan, M.A., Islam, M.T. (2020a). Dynamics of somatic cell count and intramammary infection in lactating dairy cows. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research (JAVAR)*, 7(2), 314-319. doi: 10.5455/javar.2020.g423
268. Sumon, S.M.M.R., Parvin, M.S., Ehsan, M.A., Islam, M.T. (2020b). Relationship between somatic cell counts and subclinical mastitis in lactating dairy cows. *Veterinary World*, 13(8), 1709-1713. doi:10.14202/vetworld.2020.1709-1713
269. Sun, C., VanRaden, P. M., Cole, J. B., O'Connell, J. R. (2014). Improvement of prediction ability for genomic selection of dairy cattle by including dominance effects. *PloS one*, 9(8), e103934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103934>
270. Suriyasathaporn, W., Schukken, Y.H., Nielen, M., Brand, A. (2000). Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1248-55. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74991-5
271. Szulc-Dąbrowska, L., Bossowska-Nowicka, M., Struzik, J., Toka, F.N. (2020). Cathepsins in bacteria-macrophage interaction: defenders or victims of circumstance? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10:601072. doi: 10.3389/fcimb.2020.601072
272. Takahashi, Y., Coppola, D., Matsushita, N., Cualing, H. D., Sun, M., Sato, Y., Liang, C., Jung, J. U., Cheng, J. Q., Mulé, J. J., Pledger, W. J., Wang, H. G. (2007). Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis. *Nature Cell Biology*, 9(10), 1142–1151. <https://doi.org/10.1038/ncb1634>

273. Takahashi, Y., Meyerkord, C., Wang, HG. (2009). Bif-1/Endophilin B1: a candidate for crescent driving force in autophagy. *Cell Death Differ*, 16(7), 947-955. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.19>
274. Thompson-Crispi, K., Atalla, H., Miglior, F., Mallard, B.A. (2014). Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. *Frontiers in Immunology*, 5:493. doi:10.3389/fimmu.2014.00493
275. Tsenkova, R., Atanassova, S., Kawano, S., Toyoda K. (2001). Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: a new diagnostic tool. *Journal of Animal Science*, 79(10), 2550-2557. doi: 10.2527/2001.79102550x
276. Tzifi, F., Economopoulou, C., Gourgiotis, D., Ardavanis, A., Papageorgiou, S., Scorilas, A. (2012). The role of BCL2 family of apoptosis regulator proteins in acute and chronic leukemias. *Advances in Hematology*, 2012:524308. <https://doi.org/10.1155/2012/524308>
277. Uallah, S., Ahmad, T., Bilal, M., Rahman, Z., Rahman, S. (2005). The effect of severity of mastitis on protein and fat contents of buffalo milk. *Pakistan Veterinary Journal*. 25(1), 1-4.
278. Ungemach, F.R., Müller-Bahrtdt, D., Abraham, G. (2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. *International Journal of Medical Microbiology*, Volume 296(2), 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.01.059>
279. Urioste, J.I., Franzén, J., Windig, J.J., Strandberg, E. (2012). Genetic relationships among mastitis and alternative somatic cell count traits in the first 3 lactations of Swedish Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3428-3434. doi: 10.3168/jds.2011-4739
280. Uyarlar, C., Çetingül, İ. S., E.E. Gültepe, Sial, A. R., Bayram, İ. (2018). Effects of subclinical and clinical ketosis on the incidence of mastitis, metritis, culling rate and some hematological parameters in dairy cows, *Kocatepe Veterinary Journal*, 11(2), 186-193. doi: 10.30607/kvj.419839
281. Valenzuela, J.O., Iclozan, C., Hossain, M.S., Prlic, M., Hopewell, E., Bronk, C.C., Wang, J., Celis, E., Engelman, R.W., Blazar, B.R., Bevan, M.J., Waller, E.K., Yu, X.Z., Beg, A.A. (2009). PKCtheta is required for alloreactivity and GVHD but not for

- immune responses toward leukemia and infection in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 119(12), 3774-86. doi: 10.1172/JCI39692
282. Van Soest, F.J.S., Santman-Berends, I.M.G.A., Lam, T.J.G.M., Hogeveen, H. (2016). Failure and preventive costs of mastitis on Dutch dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 8365-8374. doi: 10.3168/jds.2015-10561
283. Van Straten, M., Friger, M., Shpigel, N.Y. (2009). Events of elevated somatic cell counts in high-producing dairy cows are associated with daily body weight loss in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4386-4394. doi: 10.3168/jds.2009-2204
284. Varona, L., Legarra, A., Toro, M.A., Vitezica, Z.G. (2018). Non-additive effects in genomic selection, *Frontiers Genetics*, 9:78. doi: 10.3389/fgene.2018.00078
285. Vasemägi, A., Gross, R., Palm, D., Paaver, T., Primmer, C. R. (2010). Discovery and application of insertion-deletion (INDEL) polymorphisms for QTL mapping of early life-history traits in Atlantic salmon. *BMC Genomics*, 11:156. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-156>
286. Visscher, P.M., Hill, W.G., Wray, N.R. (2008). Heritability in the genomics era — concepts and misconceptions. *Nature Reviews Genetics*, 9(4), 255-266. doi:10.1038/nrg2322
287. Vitezica, Z.G., Reverter, A., Herring, W., Legarra, A., (2018). Dominance and epistatic genetic variances for litter size in pigs using genomic models. *Genetics Selection Evolution* 50, 71. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0437-3>
288. Wakchaure, R., Ganguly, S., Praveen, P. K. (2016). Genotype x environment interaction in animal breeding: A Review. W: M.M. Abid Ali Khan, M. Abid, A. M. Omar, S. N. H. Zaidi, R. K. Maheshwari (Red.), *Biodiversity Conservation in Changing Climate* (s. 60-73). Lenin Media Private Limited.
289. Wakchaure, R., Ganguly, S., Praveen, P. K., Kumar, A., Sharma, S., Mahajan, T. (2015). Marker Assisted Selection (MAS) in animal breeding: A review. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 6(5), 1-4. doi:10.4172/2157-7609.1000e127.
290. Walsh, S., Buckley, F., Berry, D.P., Rath, M., Pierce, K., Byrne, N., Dillon, P. (2007). Effects of breed, feeding system, and parity on udder health and milking

- characteristics. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5767-5779. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0389>
291. Wang, N., Zhou, C., Basang, W., Zhu, Y., Wang, X., Li, C., Zhou, X. (2021). Mechanisms by which mastitis affects reproduction in dairy cow: A review. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(9), 1165-1175. doi:10.1111/rda.13953
292. Wang, X.P., Luoreng, Z.M., Gao, S.X., Guo, D.S., Li, J.Y., Gao, X., Xu, S.Z., Li, F., Chen, G., Wang, J.R. (2014). Haplotype analysis of TLR4 gene and its effects on milk somatic cell score in Chinese commercial cattle. *Molecular Biology Reports*, 41(4), 2345-2351. doi: 10.1007/s11033-014-3088-7
293. Webb, B.L, Hirst, S.J., Giembycz, M.A. (2000). Protein kinase C isoenzymes: a review of their structure, regulation and role in regulating airways smooth muscle tone and mitogenesis. *British Journal of Pharmacology*, 130 (7), 1433–1452. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703452>
294. Weigel, K.A., Shook, G. E. (2018). Genetic selection for mastitis resistance. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(3), 457–472. doi:10.1016/j.cvfa.2018.07.001
295. Wellenberg, G.J., van der Poel, W.H., Van Oirschot, J.T. (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*, 88(1), 27-45. doi: 10.1016/s0378-1135(02)00098-6
296. Weller, J.I., Saran, A., Zeliger, Y. (1992). Genetic and environmental relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 75 (9), 2532-2540. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78015-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78015-1)
297. Weller JI, Ron M. (2011). Invited review: quantitative trait nucleotide determination in the era of genomic selection. *Journal of Dairy Science*, 94(3), 1082-90. doi: 10.3168/jds.2010-3793
298. Wellnitz, O., Bruckmaier R.M. (2012). The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Veterinary Journal*, 192(2), 148-152. doi: 10.1016/j.tvjl.2011.09.013

299. Wiggans, G.R., Shook, G.E. (1987). A lactation measure of somatic cell count, *Journal of Dairy Science*, 70(12), 2666-2672. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80337-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80337-5)
300. Wilson, D.J., González, R.N., Hertl, J., Schulte, H.F., Bennett, G.J., Schukken, Y.H., Gröhn, Y.T. (2004). Effect of clinical mastitis on the lactation curve: a mixed model estimation using daily milk weights. *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2073-2084. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)70025-9
301. Włodarczyk, R., Budvytis, M. (2011). Właściwe żywienie krów wysoko wydajnych – jak w pełni wykorzystać ich potencjał produkcyjny. *Życie Weterynaryjne*, 86(10), 771-776.
302. Wojdak-Maksymiec, K., Kmiec, M., Ziemniak, J. (2006). Associations between bovine lactoferrin gene polymorphism and somatic cell count in milk. *Veterinarni Medicina*, 51(1), 14–20. doi:10.17221/5512-VETMED
303. Wojdak-Maksymiec, K., Szyda, J., Strabel, T. (2013). Parity-dependent association between TNF- α and LTF gene polymorphisms and clinical mastitis in dairy cattle. *BMC Veterinary Research*, 9:114. DOI:10.1186/1746-6148-9-114
304. Wold, M.S., Lim, J., Lachance, V., Deng, Z., Yue, Z. (2016). ULK1-mediated phosphorylation of ATG14 promotes autophagy and is impaired in Huntington's disease models. *Molecular Neurodegeneration*, 11(1):76. doi: 10.1186/s13024-016-0141-0
305. Wolfová, M., Štípková, M., Wolf, J. (2006). Incidence and economics of clinical mastitis in five Holstein herds in the Czech Republic. *Preventive Veterinary Medicine*, 77(1-2), 48-64. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.06.002>
306. Wu., M.Y., Lu, J.H. (2019). Autophagy and macrophage functions: inflammatory response and phagocytosis. *cells*, 9(1):70. <https://doi.org/10.3390/cells9010070>
307. Xie, Z., Klionsky, D.J. (2007). Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nature Cell Biology*, 9(10), 1102-1109. doi: 10.1038/ncb1007-1102
308. Xu, H.D., Wu, D., Ge, J.B., Wu, J.C., Han, R., Liang, Z.Q., Qin, Z.H. (2013). The pro-survival role of autophagy depends on Bcl-2 under nutrition stress conditions. *PLOS ONE*, 8(5), e63232. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063232>

309. Yagi, Y., Shiono, H., Chikayama, Y., Ohnuma, A., Nakamura, I., Yayou, K. (2004). Transport stress increases somatic cell counts in milk and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 66(4), 381-387. doi: 10.1292/jvms.66.381
310. Yalçın, C. (2000). Cost of mastitis in scottish dairy herds with low and high subclinical mastitis problems. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 24(5), 465-472.
311. Youngerman, S.M., Saxton, A.M., Oliver, S.P., Pighetti, G.M. (2004). Association of CXCR2 polymorphisms with subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2442-2448. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73367-6
312. Yousefi, S., Gold, J.A., Andina, N., Lee, J.J., Kelly, A.M., Kozłowski, E., Schmid, I., Straumann, A., Reichenbach, J., Gleich, G.J., Simon, H.U. (2008). Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nature Medicine*, 14(9), 949-53. doi: 10.1038/nm.1855
313. Zadoks, R., Fitzpatrick, J. (2009). Changing trends in mastitis. *Irish Veterinary Journal*, 62(4), 59–70. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-S4-S59>
314. Zhang, E.Y., Kong, K.F., Altman, A. (2013). The yin and yang of protein kinase C-theta (PKC θ): a novel drug target for selective immunosuppression. *Advances in Pharmacology*, 66, 267-312. doi: 10.1016/B978-0-12-404717-4.00006-8
315. Zhang, L.P., Gan, Q.F., Ma, T.H., Li, H.D., Wang, X.P., Li, J.Y., Gao, X., Chen, J.B., Ren, H.Y., Xu, S.Z. (2009). Toll-Like Receptor 2 gene polymorphism and its relationship with SCS in dairy cattle. *Animal Biotechnology*, 20(3), 87-95. doi:10.1080/10495390902873096
316. Zenger, K.R., Khatkar, M.S., Jones, D.B., Khalilisamani, N., Jerry, D.R., Raadsma, H.W. (2019). Genomic selection in aquaculture: application, limitations and opportunities with special reference to marine shrimp and pearl oysters. *Frontiers in Genetics*, 9:693. doi: 10.3389/fgene.2018.00693

9. Streszczenie/Abstract

Wprowadzenie: *Mastitis* to stan zapalny gruczołu mlekowego, który może występować w formie łatwo dostrzegalnych „gołym” okiem objawów klinicznych, jak i subklinicznej postaci diagnozowanej za pomocą pośrednich wskaźników, np. liczby komórek somatycznych w mleku. Choroba jest wywoływana przez drobnoustroje (bakterie, wirusy, grzyby), których obecność w tkankach wymienia krwi wywołuje stan zapalny. Zaobserwowano genetyczne różnice w podatności/odporności na chorobę wśród bydła. Podatność czy odporność na *mastitis* jest cechą wielogenową, której sposób dziedziczenia jest skomplikowany do prześledzenia ze względu na istnienie nieaddytywnych oddziaływań między genami oraz interakcji pomiędzy środowiskiem a genami. Programy hodowlane, mające na celu ograniczenie zachorowalności na *mastitis*, wykorzystuje genetyczne różnice w podatności/odporności na chorobę do poszukiwania markerów genetycznych związanych z zapaleniem gruczołu mlekowego.

W niniejszej pracy zostały przeanalizowane polimorfizmy genów, których produkty związane są z procesem autofagii (*CTSD*, *PRKCQ*, *SH3GLB1*, *BCL2* i *ATG14*). Autofagia jest ważnym procesem, niezbędnym do regulacji odpowiedzi immunologicznej (swoistej i nieswoistej) na infekcje i dlatego można przypuszczać, że polimorfizmy zlokalizowane w genach, których produkty uczestniczą w tym procesie, mogą być związane z odpornością czy podatnością na *mastitis*. Ponadto, w pracy zostały oszacowane efekty nieaddytywne badanych genów, a także prześledzono efekty poszczególnych genów, w zależności od których poziom ekspresji może być zależny od stanu fizjologicznego zwierzęcia.

Cel: Celem pracy było poszukiwanie asocjacji pomiędzy polimorficznymi wariantami genów *CTSD*, *PRKCQ*, *SH3GLB1*, *BCL2* i *ATG14* a odpornością na *mastitis* u krów mlecznych rasy holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej. oraz oszacowanie ewentualnych efektów nieaddytywnych między badanymi genami oraz zmienności efektów genów w zależności od czynników środowiskowych.

Materiał i metody: Materiał do badań stanowiła krew obwodowa pobrana od 745 krów, z której wyizolowano DNA i analizowano za pomocą PCR. Zwierzęta były hodowane w identycznych warunkach środowiska. Badane krowy podlegały kontroli użytkowości mlecznej metodą A4. Analiza statystyczna wyników badań została przeprowadzona dla poszczególnych stadiów laktacji (I, II, III), kolejnych laktacji (I, II, III, IV, V i VI) i

wszystkich laktacji łącznie oraz w zależności od klasy zdrowotności krowy (kliniczne, subkliniczne *mastitis*). Ponadto w badaniach uwzględniono krowy, które cierpiały z powodu klinicznego *mastitis*. Dokumentacja dotycząca klinicznych przypadków zachorowań została przeprowadzona przez doświadczonego lekarza weterynarii i zawierała dane dotyczące zachorowalności na *mastitis acuta* i *chronica*, z uwzględnieniem długości trwania choroby oraz jej intensywności definiowanej jako liczba zajętych zapalnie ćwiartek wymienia. Estymacja efektów wybranych genów została przeprowadzona za pomocą modelu, do którego włączono efekty dominacyjne oraz efekt epistazy pomiędzy genami. Co więcej, przeanalizowano interakcje genotypu ze środowiskiem.

Wyniki i wnioski: Wykazano istnienie statystycznie istotnych asocjacji pomiędzy wariantami genów *CTSD*, *PRKCQ* i *SH3GLB1* a odpornością *mastitis* u krów, wyrażaną jako liczba komórek somatycznych w mleku. Stwierdzono również istnienie statystycznie istotnych asocjacji pomiędzy analizowanymi polimorfizmami a cechami produkcji mlecznej. Ponadto, zaobserwowano istnienie asocjacji pomiędzy badanymi polimorfizmami a liczbą przypadków klinicznego *mastitis acuta* i *chronica* oraz długością trwania infekcji i liczbą zajętych ćwiartek wymienia. Co więcej, wykazano, że efekt allelu nie jest stały i zależy od środowiska wewnętrznego (stan fizjologiczny krowy). Fakt ten powoduje, że ewentualne wykorzystanie analizowanych polimorfizmów jako markerów genetycznych w pracy hodowlanej jest bardziej skomplikowane. Badania wymagają kontynuacji na większym stadzie i wśród innych ras bydła mlecznego.

Abstract

Introduction: *Mastitis* is an inflammation of the mammary gland, which can occur either in the form of easily visible clinical symptoms or in a subclinical form diagnosed on the basis of indirect indicators such as somatic cell count in milk. The disease is caused by microorganisms (bacteria, viruses, fungi), whose presence in the cow's udder tissues triggers inflammation. It has been found that there are genetic differences in susceptibility/resistance to udder inflammation in dairy cattle. Susceptibility or resistance to *mastitis* is a multi-gene trait, whose inheritance mechanism is difficult to trace due to non-additive interactions between genes and interactions between genes and environment. Cow breeding programmes aimed at reducing the incidence of *mastitis* use genetic differences in susceptibility/resistance to the disease to search for genetic markers associated with udder inflammation.

In this dissertation, I analyse polymorphic variants of genes whose products are associated with the autophagy process (*CTSD*, *PRKCQ*, *SH3GLB1*, *BCL2* and *ATG14*). Autophagy is essential for the regulation of the immune response (both specific and non-specific) to infection and it can therefore be hypothesised that polymorphisms located in the genes whose products are involved in this process may be associated with resistance or susceptibility to *mastitis*. In addition, during my study I estimated the non-additive effects of the analysed genes and examined the effects of the individual genes whose expression levels may depend on the physiological condition of the animal.

Aim: The aim of this study was to search for associations between the polymorphic variants of the *CTSD*, *PRKCQ*, *SH3GLB1*, *BCL2* and *ATG14* genes and resistance to *mastitis* in Black-and-White Holstein-Friesian dairy cows, and to estimate possible non-additive effects between the genes under study and the variability of the gene effects in relation to environmental factors.

Material and methods: The material for the study was peripheral blood collected from 745 cows, from which DNA was isolated and analysed by PCR. The animals were kept under identical environmental conditions and subjected to milk performance testing using the A4 method. The results of the study were analysed statistically for individual lactation stages (I, II, III), subsequent lactations (I, II, III, IV, V and VI) and all lactations combined, and according to the health class of the cow (clinical, subclinical *mastitis*). Additionally, cows suffering from clinical *mastitis* were included in the study. Clinical cases were documented by an experienced veterinarian, who recorded data on the incidence of *mastitis acuta* and

chronica, including the duration of the disease and its intensity defined as the number of inflamed udder quarters. The effects of the selected genes were estimated using a model which included dominance effects and epistasis effects between the genes. Also analysed were the interactions between the genotype and the environment.

Results and conclusions: Statistically significant associations were found between variants of the *CTSD*, *PRKCQ* and *SH3GLB1* genes and resistance to *mastitis* in cows, expressed as somatic cell count in milk. Statistically significant associations were also revealed between the analysed polymorphisms and milk production traits. What is more, associations were observed between the polymorphisms under study and the number of cases of clinical *mastitis acuta* and *chronica*, as well as the duration of infection and the number of affected udder quarters. It was also shown that the effect of the allele is not constant and depends on the internal environment (i.e. the physiological condition of the cow). This fact makes the possible use of the analysed polymorphisms as genetic markers in breeding work more complicated. The research needs to be continued on a larger population and in other breeds of dairy cattle.

10. Wykaz skrótów

- AP-1 – (ang. *activator protein 1*) - kompleks białkowy, zbudowany z dimerów białek z rodzin Fos, Jun, ATF i Maf, który działa jako czynnik transkrypcyjny.
- ATG – (ang. *autophagy related gene*) – geny związane z procesem autofagii.
- ATG/ Atg – Białka uczestniczące w procesie autofagii. Zidentyfikowano 27-30 białek Atg1-Atg30
- ATP – Adenozyno-5'-trifosforan
- BCL2 Gen kodujący białka BCL-2, które regulują proces autofagii
- BCS – (ang. *body condition score*) – Punktacja oceniająca kondycję ciała u zwierząt
- Beklina 1 – Białko uczestniczące w procesie autofagii. Oddziałuje z rodziną białek Bcl-2.
- Białko GDF-9 – (ang. *growth differentiation factor-9*) - różnicujący czynnik wzrostu-9,
- BW – (ang. *body weight*) – masa ciała zwierząt
- CATH4 – Gen kodujący katelicydynę 4
- CATH5 – Gen kodujący katelicydynę 5
- CATH6 – Gen kodujący katelicydynę 6
- CD28 – (ang. *cluster of differentiation 28*) – białko występujące na powierzchni komórek układu immunologicznego (np. limfocytów T)
- CD4 – Gen kodujący glikoproteinę występującą na powierzchni komórek układu immunologicznego (np. limfocytów T)
- CD4⁺ – (ang. *cluster of differentiation 4*) - białko występujące na powierzchni komórek układu immunologicznego (np. limfocytów T)
- CD8⁺ – (ang. *cluster of differentiation 8*) - białko występujące na powierzchni komórek układu immunologicznego (np. limfocytów T)
- CFTR – Gen kodujący białko CFTR (białko tworzące kanał chlorkowy w błonie komórkowej)
- CM – (ang. *clinical mastitis*) – kliniczna postać *mastitis*
- CMT – (ang. *california mastitis test*) – test służący do zliczania liczby komórek somatycznych
- CNV/ CNVs – (ang. *copy number variation*) – polimorfizm zmiennej liczby kopii
- CTSD – Gen kodujący katepsynę D (białko występujące, np. w ziarnistościach neutrofilii)
- DAG – diacyloglicerol
- DC – (ang. *dendritic cells*) – komórki dendrytyczne
- DIM – (ang. *day in milk*) – dni laktacji

FMRI – Gen kodujący białko białka FMRP, wpływające na prawidłowy rozwój i funkcje komórek nerwowych.

GS – (ang. *genomic selection*) – Selekcja genomowa

GWAS – (ang. *genome-wide associations study*) – Badania asocjacyjne całego genomu

IgG – Immunoglobulina G

IgM – Immunoglobulina M

IL-12 – Interleukina 12

IL-17 – Interleukina 17

IL-18 – Interleukina 18

IL-1 α – Interleukina 1 α

IL-1 β – Interleukina 1 β

IL-3 – Interleukina 3

IL-4 – Interleukina 4

IL-8 – Interleukina 8

ILC – Wrodzone komórki limfoidalne

Komórki PMN – Granulocyty

SC – Komórki somatyczne

LDH – Dehydrat mleczanu genazy

LnSCC – Logarytm naturalny liczby komórek somatycznych

LPO – Laktoperoksydaza

LPS – Lipopolisacharyd

LTF – Gen kodujący czynnik martwicy nowotworów

LTM – Model prognozy laktacji

MAS – (ang. *marker assisted selection*) – selekcja wspomagana markerami

mLYZ – Gen kodujący lizozym

MTLM – Model z wieloma progami

mTOR1 – białko znane również jako ssaczy cel kompleksu rapamycyny 1. Reguluje między innymi syntezę białek

NAGaza – N-acetylo- β -D-glukozaminidaza

NCF4 – Neutrofilowy czynnik cytozolowy 4

NCF4-TV – Wariant splicingowy neutrofilowego czynnika cytozolowego 4

NET – Neutrofilowe sieci zewnątrzkomórkowe

NF- κ B – Czynn timeranskrypcyjny NF kappa B

NGS – (ang. *next generation sequencing*) -sekwencjonowanie nowej generacji

NOIA – Model oddziaływań naturalnych i ortogonalnych

p65 – Podjednostka białkowa NF kappa B

PI3K – 3-kinaza fosfoinozytydu

PKC – Kinaza białkowa C

QTL – (ang. *quantitative trait loci*) - locus cechy ilościowej

Regiony BH –Domeny białkowe BH beklin

ROS – Reaktywne formy tlenu

SC – (ang. *somatic cells*) – komórki somatyczne

SCC – (ang. *somatic cells count*) - liczba komórek somatycznych

SCM – (ang. *subclinical mastitis*) -subkliniczna postać *mastitis*

SCS – (ang. *somatic cells score*) - zawartość komórek somatycznych

SNP/ SNPs – (ang. *single nucleotide polymorphism*) - polimorfizm pojedynczego nukleotydu

STING – (ang. *stimulator of interferon genes*)- stymulator genów interferonu

TCR – Receptor limfocytów T

TLR2 – (ang. *toll-like receptor 2*) – receptor Toll-podobny 2

TLR4 – (ang. *toll-like receptor 4*) – receptor Toll-podobny 4

TLR6 – (ang. *toll-like receptor 6*) – receptor Toll-podobny 6

TMR – (ang. *total mixed ration*) – rodzaj żywienia/diety zwierząt

TNF- α – Czynn timerantwicy nowotworu

TNF- α – Gen kodujący czynnimerantwicy nowotworu

ULK1 – Kinaza aktywująca autofagię

UVRAG – Białko genu związane z odpornością na promieniowanie UV

WMT – (ang. *wisconsin mastitis test*) – metoda służąca do oznaczania liczby komórek somatycznych

11. Wykaz tabel

Numer tabeli	Tytuł tabeli	Strona
1	Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną	50
2	Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną w poszczególnych stadiach laktacji	50
3	Średnie wartości cech związanych z użytkowością mleczną w poszczególnych klasach SCC	51
4	Średnia liczba przypadków <i>mastitis acuta</i> i <i>chronica</i> , średnia liczba zainfekowanych ćwiartek (intensywność stanu zapalnego) oraz długość trwania infekcji na krowę/laktację	52
5	Sekwencje starterów i długości oczekiwanych produktów PCR dla badanych polimorfizmów	53
6	Profile temperaturowe oraz czas reakcji PCR dla poszczególnych polimorfizmów	54
7	Skład mieszaniny reakcyjnej wykorzystywanej do PCR o końcowej objętości 15µl	55
8	Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu <i>CTSD</i>	61
9	Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu <i>PRKCQ</i>	61
10	Frekwencje poszczególnych alleli i genotypów genu <i>SH3GLB1</i>	62
11	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w kolejnych laktacjach	63
12	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w kolejnych laktacjach	65
13	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w kolejnych laktacjach	68
14	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w kolejnych laktacjach	69
15	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości laktozy w mleku w kolejnych laktacjach	70
16	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w kolejnych laktacjach	73

17	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w mleku w kolejnych stadiach laktacji	75
18	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w kolejnych stadiach laktacji	77
19	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w kolejnych stadiach laktacji	79
20	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w kolejnych stadiach laktacji	80
21	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej laktozy w mleku w kolejnych stadiach laktacji	82
22	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w kolejnych stadiach laktacji	83
23	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do lnSCC w mleku w zależności od statusu zdrowotnego	86
24	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do dobowej wydajności mlecznej w zależności od statusu zdrowotnego	87
25	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości tłuszczu w mleku w zależności od statusu zdrowotnego	90
26	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości białka w mleku w zależności od statusu zdrowotnego	91
27	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości laktozy w mleku w zależności od statusu zdrowotnego	93
28	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do procentowej zawartości suchej masy w mleku w zależności od statusu zdrowotnego	94
29	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków <i>mastitis acuta</i> w kolejnych laktacjach	99
30	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków <i>mastitis chronica</i> w kolejnych laktacjach	100

31	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby przypadków <i>mastitis acuta</i> i <i>mastitis chronica</i> łącznie w kolejnych laktacjach	101
32	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby ćwiartek wymienia objętych infekcją w kolejnych laktacjach	102
33	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby ćwiartko-dni w kolejnych laktacjach	103
34	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na <i>mastitis chronica</i> w kolejnych laktacjach	104
35	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na <i>mastitis acuta</i> w kolejnych laktacjach	105
36	Efekty addytywne i dominacyjne <i>CTSD</i> , <i>PRKCQ</i> i <i>SH3GLB1</i> oraz ich efekty epistatyczne w odniesieniu do liczby dni przechorowanych na <i>mastitis acuta</i> i <i>mastitis chronica</i> łącznie w kolejnych laktacjach	106
A1	Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne statystycznie dla danej cechy w poszczególnych laktacjach	167
A2	Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne statystycznie dla danej cechy w poszczególnych stadiach laktacji	168
A3	Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne statystycznie dla danej cechy w zależności od statusu zdrowotnego krów	160
A4	Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne dla danej cechy w odniesieniu do klinicznego <i>mastitis</i> w poszczególnych laktacjach	170

12. Aneks

Tabela A1. Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne dla danej cechy w poszczególnych laktacjach

Cecha	Typ oddziaływania nieallelicznego (efekt istotny statystycznie)	Laktacja
lnSCC	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	I
	<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	I
	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	III
	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	III
	<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	IV
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	VI
	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	VI
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	Wszystkie laktacje łącznie
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie
	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie
Dobowa wydajność mleczna	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	II
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	III
	<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	III
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	V
Procentowa zawartość tłuszczu w mleku	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	I
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	III
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	Wszystkie laktacje łącznie
Procentowa zawartość białka w mleku	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	I
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	IV
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	V
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	V
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	VI
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie
Procentowa zawartość laktozy w mleku	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	I
	<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	III
	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	IV
	<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	VI
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	VI
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie
Procentowa zawartość suchej masy w mleku	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	III
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	Wszystkie laktacje łącznie
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	Wszystkie laktacje łącznie

a – efekt addytywny, *d* – efekt dominacyjny.

Tabela A2. Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne dla danej cechy w poszczególnych stadiach laktacji

Cecha	Typ oddziaływania nieallelicznego (efekt istotny statystycznie)	Stadium laktacji
lnSCC	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	I
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	I
	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	II
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	III
	<i>dCTSD x dSH3GLB1</i>	III
	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	III
Procentowa zawartość tłuszczu w mleku	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	II
	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	II
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
Procentowa zawartość białka w mleku	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
Procentowa zawartość laktozy w mleku	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	I
	<i>dPRKCQ x dSH3GLB1</i>	I
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
Procentowa zawartość suchej masy w mleku	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	I
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	I
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	I
	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	II
	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	II
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	II
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	III
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	III
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	III

a – efekt addytywny, *d* – efekt dominacyjny

Tabela A3. Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne dla danej cechy w zależności od statusu zdrowotnego krów

Cecha	Typ oddziaływania nieallelicznego (efekt istotny statystycznie)	Zakres SCC (Status zdrowotny)
lnSCC	<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
Dobowa wydajność mleczna	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	SCC > 400 tys./ml
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	SCC > 400 tys./ml
Procentowa zawartość tłuszczu w mleku	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>aCTSD x dPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>aCTSD x aPRKCQ</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
Procentowa zawartość białka w mleku	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>aPRKCQ x dSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	SCC > 400 tys./ml
Procentowa zawartość laktozy w mleku	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC tys./ml
	<i>aCTSD x aSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
Procentowa zawartość suchej masy w mleku	<i>dCTSD x aPRKCQ</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>dPRKCQ x aSH3GLB1</i>	200 tys./ml \geq SCC
	<i>aCTSD x dSH3GLB1</i>	400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml
	<i>dCTSD x aSH3GLB1</i>	SCC > 400 tys./ml
	<i>aPRKCQ x aSH3GLB1</i>	SCC > 400 tys./ml

a – efekt addytywny, *d* – efekt dominacyjny, Zdrowe krowy- zawartość: 200 tys./ml \geq SCC, Krowy prawdopodobnie cierpiące na podkliniczne *mastitis* – zawartość: 400 tys./ml \geq SCC > 200 tys./ml, krowy prawdopodobnie cierpiące na kliniczne *mastitis*- zawartość: SCC > 400 tys./ml.

Tabela A4. Istotne statystycznie efekty addytywne alleli, które działając pojedynczo były nieistotne dla danej cechy w odniesieniu do klinicznego *mastitis* w poszczególnych laktacjach

Cecha	Typ oddziaływania nieallelicznego (efekt istotny statystycznie)	Laktacja
Liczba przypadków <i>mastitis chronica</i>	$dCTSD \times dSH3GLB1$	II
	$dCTSD \times aPRKCQ$	III
Liczba przypadków <i>mastitis acuta</i> i <i>mastitis chronica</i> łącznie	$dCTSD \times aPRKCQ$	IV
	$aCTSD \times aSH3GLB1$	IV
	$aPRKCQ \times aSH3GLB1$	IV
Liczba ćwiartek objętych stanem zapalnym	$aCTSD \times aPRKCQ$	I
	$dCTSD \times aSH3GLB1$	V
	$aCTSD \times aPRKCQ$	Wszystkie laktacje
Liczba dni przechorowanych na <i>mastitis chronica</i>	$dCTSD \times aSH3GLB1$	I
	$dCTSD \times aPRKCQ$	III
Liczba dni przechorowanych na <i>mastitis acuta</i> i <i>chronica</i>	$aCTSD \times aSH3GLB1$	IV

a – efekt addytywny, d – efekt dominacyjny