

## Prohlášení

Diplomová práce s názvem "Vliv polymorfismu kandidátního lokusu na technologické vlastnosti mléka" (Effect of candidate locus polymorphism on the technological properties of milk) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2017 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

Vedoucí diplomové práce

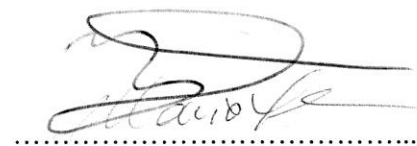
prof. Ing. Jindřich ČÍTEK, CSc.



.....

Autor diplomové práce

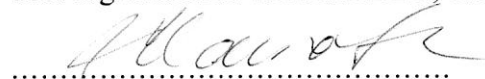
Bc. Angelina Mijailović



.....

Vedoucí katedry

doc. Ing. Miroslav MARŠÁLEK, CSc.



.....

V Českých Budějovicích, dne 20. 4. 2017

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: N4101 - Zemědělské inženýrství

Studijní obor: 4106T019 - Agroekologie – Péče o krajinu

Zadávací katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

Vliv polymorfismu kandidátního lokusu na technologické  
vlastnosti mléka

(Effect of candidate locus polymorphism on the technological properties  
of milk)

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

Autor: Bc. Angelina Mijailović

České Budějovice, 2017

**ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**  
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Angelina MIJAILOVIĆ**  
Osobní číslo: **Z15300**  
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Agroekologie - Péče o krajinu**  
Název tématu: **Vliv polymorfismu kandidátního lokusu na technologické vlastnosti mléka**  
Zadávající katedra: **Katedra zootechnických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Kvalita mléka je významným faktorem ekonomiky celého odvětví jeho výroby, zpracování a marketingu. Úspěšný chovatel mléčného skotu musí nabízet produkt kvalitní nejen z hlediska obsahu bílkovin, tuku a mikrobiologických ukazatelů, významná je i technologická kvalita mléka. Využití molekulárně genetických metod se přitom stává běžnou součástí šlechtění hospodářských zvířat. Jedná se zejména o genotypizaci jednoduchých bodových polymorfismů na čípech, dále potom o genotypizaci kandidátních lokusů, genů velkého účinku.

Úkolem diplomové práce je provést analýzu vlivu polymorfních variant zvoleného lokusu na technologickou jakost mléka.

Provedete genotypizaci zvoleného lokusu, jeho výběr provede vedoucí práce v závislosti na aktuální potřebě tak, aby výsledky bylo možné použít pro zpracování komplexní analýzy. Provedete asociační analýzu vztahu genotypů resp. alel k některým technologickým vlastnostem mléka. Datové soubory vyhodnotíte vhodnými statistickými metodami. Provedete interpretaci zjištěných výsledků.

Rozsah grafických prací: 4 tabulky, 2 grafy  
Rozsah pracovní zprávy: 40 - 50 stran  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:

Vlášková H., Trešlová H. (2008): Vybrané vyšetřovací metody v molekulární genetice a cytogenetice. Sborník textů. Ústav dědičných metabolických poruch VFN a 1. LF UK Praha.

Lukac D., Jovanovac S., Nemes Z., Vidovic V., Popovic-Vranjes A., Raguz N., Lopacic-Vasic T. (2015): Association of polymorphism kappa-casein gene with longevity and lifetime production of Holstein-Friesian cows in Vojvodina. Mljekarstvo, 65, 232-237.

Zima J., Macholán M., Munclinger P., Piálek J. (2004): Genetické metody v zoologii. Karolinum, Praha.

Vedoucí diplomové práce: **prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.**  
Katedra zootechnických věd  
Konzultant diplomové práce: **Ing. Lenka Hanusová, Ph.D.**  
Katedra zootechnických věd

Datum zadání diplomové práce: **29. března 2016**  
Termín odevzdání diplomové práce: **30. dubna 2017**

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.  
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA   
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA  
studijní oddělení  
Studentská 1888, 370 05 České Budějovice  
L.S.

  
doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 29. března 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne ..... Podpis studenta .....

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat prof. Ing. Jindřichu Čítkovi, CSc. Za odborné vedení práce a za podporu a trpělivost při jejím vytváření.

## Abstrakt

Cílem diplomové práce je provést analýzu vlivu polymorfních variant zvoleného lokusu (*SCD*) na technologickou jakost mléka.

Na začátku je popsána mléčná užitkovost společně s mléčnou žlázou – její struktura, onemocnění s ní spojená a její produkce mleziva a mléka. Dále je popsáno složení mléka, tedy obsah tuků včetně mastných kyselin, sacharidů, minerálních látek, vitaminů, bílkovin – syrovátkové bílkoviny ( $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin), kaseiny ( $\alpha$ -kasein,  $\beta$ -kasein,  $\kappa$ -kasein). Práce se dále zabývá genomem skotu, genetickými markery, kandidátními lokusy. V metodice je popsána izolace DNA, PCR, včetně metodiky PCR pro *SCD*, dále RFLP a stanovení mastných kyselin pomocí spektrofotometrie. V závěru práce jsou výsledky, které hodnotí četnosti genotypů a alel, ukazatele mléčné užitkovosti v závislosti na genotypu pro *SCD* a hodnocení vlivu genotypu *SCD* na spektrum mastných kyselin. Výsledky, které byly zjištěny, nevykazují významný vliv polymorfismu genu *SCD* na ukazatele mléčné užitkovosti a spektrum mastných kyselin v mléčném tuku krav.

**Klíčová slova:** mléko, mléčné tuky, bílkoviny, mastné kyseliny, *SCD*, PCR

## Abstrakt

The aim of this thesis is to analyze the influence of polymorphic variants of selected locus (*SCD*) on the technological quality of milk.

At the beginning is described, milk yields along with the mammary gland - structure, diseases associated with it, colostrum and milk production. The composition of milk includes fat, fatty acids, carbohydrates, minerals, vitamins, proteins - whey protein ( $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin), casein ( $\alpha$ -casein,  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein) The thesis also deals with the genome of cattle, genetic markers, candidate loci. Methodology describes DNA isolation, PCR, including PCR for *SCD*, RFLP, and determination of fatty acids by spectrophotometry. At the end of the thesis are the results, which evaluate the genotypes and alleles abundance, the milk performance indicators depending on the genotype for *SCD* and the evaluation of the influence of the *SCD* genotype on the fatty acid spectrum. The results found did not show a significant effect of *SCD* gene polymorphism on milk performance and acid fatty acid spectra in cow's milk fat.

**Keywords:** milk, milk fats, proteins, fatty acids, *SCD*, PCR

## Obsah

1. Úvod.....	9
2. Literární rešerše.....	10
2.1 Mléčná užitkovost.....	10
2.2 Mléčná žláza.....	10
2.2.1 Onemocnění mléčné žlázy.....	11
2.3 Laktace.....	12
2.3.1 Laktační cyklus.....	13
2.4 Mlezivo.....	14
2.5 Mléko.....	16
2.5.1 Kvalita mléka.....	18
2.5.2 Složení mléka.....	19
2.5.2.1 <i>Obsah tuků</i> .....	22
2.5.2.1.1 Mastné kyseliny.....	24
2.5.2.1.2 Steroyl-CoA-desaturáza (SCD).....	27
2.5.2.2 <i>Obsah sacharidů</i> .....	28
2.5.2.3 <i>Obsah minerálních látek</i> .....	29
2.5.2.4 <i>Obsah vitaminů</i> .....	30
2.5.2.5 <i>Obsah bílkovin</i> .....	30
2.5.2.5.1 Syrovátkové bílkoviny.....	31
2.5.2.5.2 Kaseiny.....	32
2.6 Kvantitativní znaky.....	35
2.7 Dědivost.....	36
2.8 Plemenná hodnota (PH).....	36
2.9 Genom skotu.....	37
2.9.1 <i>BCM4</i> .....	38
2.9.2 <i>UMD2</i> .....	38
2.10 Genetické markery.....	39
2.11 Kandidátní lokusy.....	40
7. Literární zdroje.....	45



# 1. Úvod

Mléko patřilo a dodnes patří k základní lidské obživě. Skot byl v minulosti běžnou součástí každé usedlosti. K podstatnému snížení stavu skotu došlo v období první a druhé světové války.

Dnes tvoří mléko skotu 85 % světové produkce mléka. V České republice činí spotřeba mléka na jednu osobu za rok 200 litrů k tomu ještě 7 kg jogurtů a 7 kg sýrů. Obecně tedy platí, že v potravinářském průmyslu patří odvětví zpracování mléka k jednomu z nejvýznamnějších.

Plemena skotu dělíme do tří skupin: masný, mléčný a kombinovaný. A právě díky vzniku a rozvoji mlékárenského průmyslu došlo k intenzivnímu šlechtění mléčného skotu na vysokou mléčnou užitkovost. V dnešní době se při šlechtění již neupřednostňuje pouze kvantita mléka, ale i jeho kvalita. Chovatelé mléčného skotu tedy musí nabízet mléko, které je kvalitní na obsah bílkovin, tuku a mikrobiologických ukazatelů. Významná je i technologická kvalita mléka. Mezi nejběžnější a nejznámější mléčný skot patří holštýnský, ayrshirský a jerseyký skot.

V současné době je větší zákaznická poptávka po nenasycených mastných kyselinách než nasycených mastných kyselinách. Je to způsobeno tím, že nenasycené mastné kyseliny jsou považované za zdravější. Z tohoto důvodu je velká snaha o ovlivnění mastných kyselin v mléčném tuku.

Obsah tuku v mléce lze snadněji ovlivnit krmnou dávkou než ostatní složky mléka. Obsah bílkovin v mléce je především ovlivněn geneticky tedy i plemenem. Obsah laktózy je v mléce velmi stabilní a její zastoupení je velmi těžce ovlivnitelné.

Obsah tuku a složení mastných kyselin v mléce je variabilní a ovlivnitelné řadou faktorů jako je plemenná příslušnost, prošlechtění, pořadí laktace, fyziologický stav dojnice. Tučnost mléka je především určována výživou dojnic a celkovým způsobem chovu.

Tato práce je součástí rozsáhlejšího výzkumu, který se i mimo jiné zabývá výzkumem, jak ovlivnit spektrum mastných kyselin u mléčných plemen skotu.

## 2. Literární rešerše

### 2.1 Mléčná užitkovost

Mléčná užitkovost patří u skotu mezi hlavní užitkové vlastnosti. Kráva přetváří přijaté živiny na plnohodnotnou mléčnou bílkovinu dvakrát až dvaapůlkrát výhodněji než na maso. Hovoříme-li o mléčné užitkovosti, je nutné rozlišovat rozdíly mezi termíny (Skládanka, 2014):

- dojnost – charakterizuje schopnost dojnice produkovat mléko,
- dojivost – vyjadřuje fenotypový projev, tedy skutečnou produkci mléka,
- dojitelnost – schopnost uvolňovat mléko z vemene za určitou časovou jednotku.

### 2.2 Mléčná žláza

Mléčná žláza je uložena ve stydké krajině a je u krávy rozdělena na pravou a levou polovinu. Každá polovina je rozdělena na přední a zadní čtvrtě (Reece; 2011). Každá polovina má samostatné a nezávislé krevní a nervové zásobení, lymfatickou drenáž a závěsný aparát (Urban, 1997). Přední – břišní čtvrtky jsou vždy menší a tvoří 40 – 45 % celkové hmotnosti vemene, naproti tomu mohutnější zadní–stehenní čtvrtky 55 – 60 %. Každá čtvrtka je ventrálně zakončena strukem (Marvan a kol., 1998). Vývoj mléčné žlázy nazýváme mamogenezi (Jelínek a Koudela, 2003).

Mléčná žláza se skládá ze žláznatého parenchymu a závěsného aparátu. Jednotky sekretující mléko v mléčné žláze jsou sekreční alveoly. Několik alveol vyúsťuje do nitrolalůčkového vývodu, který odvádí mléko do mlékojemu uvnitř žlázy a nakonec do mlékojemu uvnitř struku. Mléko ze struku vychází strukovým kanálkem, který je těsně uzavřen svalovým svěračem (Urban, 1997).

Mléčná žláza má tři základní funkce (Skládanka, 2014):

1. sekrece mléka – ta zahrnuje syntézu a sekreci mléka jednovrstevným alveolárním epitelem,
2. shromažďování mléka – probíhá v alveolách, v mlékovodech a mléčné cisterně,
3. spouštění mléka – zahrnuje pasivní a aktivní uvolňování mléka z vemene.

Funkce mléčné žlázy je závislá jak na genetických dispozicích, tak na vývoji její činnosti, na níž se spolupodílejí také vlivy hormonální. Vlastní laktace po otelení souvisí s účinkem prolaktinu, přičemž normální funkce mléčné žlázy souvisí s účinkem oxytocinu. Intenzita funkce mléčné žlázy je úzce spojena s celkovým metabolismem a nervovou soustavou organismu dojnice a přirozeně s množstvím krve, které projde vemenem za časovou jednotku a jejím využitím (Urban, 1997). Na vytvoření 1 litru mléka musí protéct vemenem 540 l krve (Louda, 1994).

### **2.2.1 Onemocnění mléčné žlázy**

Se stoupající mléčnou produkcí narůstá i význam udržení zdraví dojnic. Je prokázáno, že selekce na mléčnou užitkovost u skotu zvyšuje riziko vzniku zdravotních poruch u dojnic, a to jak ze širšího obecného pohledu, tak i konkrétně při vzniku vlastních onemocnění mléčné žlázy (Hofírek, 2009).

Nejčastěji se vyskytují:

- *mastitis* – zánět mléčné žlázy,
- *galactophoritis* – zánět mlékovodů a mlékojemu,
- *thelitis* – zánět struku,
- poranění mléčné žlázy,
- eflorescence na kůži vemene,
- funkční a cirkulační poruchy mléčné žlázy,
- anomálie mléčné žlázy.

## 2.3 Laktace

Laktací rozumíme složitý fyziologický proces sekrece, shromažďování a spouštění mléka. Tyto funkce mléčné žlázy spolu úzce souvisejí, navazují na sebe, navzájem se ovlivňují a vytvářejí základ produkční schopnosti mléčné žlázy. Laktací se rovněž nazývá období, během kterého zvířata produkují mléko, tj. období od porodu do zaprahnutí, čili do doby, kdy ustane sekrece mléka v důsledku blížícího se dalšího porodu. Počáteční stádium laktace těsně po porodu se označuje jako laktogeneze a následující období pokračující produkce mléka jako laktopoeza (Jelínek a Koudela, 2003).

Laktogeneze je proces, kterým mléčné alveolární buňky získávají schopnost sekretovat mléko (Urban, 1997). První stadium zahrnuje zvyšování enzymatické aktivity v mléčné žláze a diferenciaci buněčných organel, což je provázeno omezenou sekrecí mléka před porodem (Reece, 2011). Druhé stadium je u většiny zvířat spojeno s bohatou sekrecí všech mléčných komponentů těsně před porodem a tato sekrece pokračuje několik dnů po porodu (Urban, 1997). Vzniká tak mlezivo (Reece, 2011).

Laktogeneze je řízena četnými hormony, které spolupracují následujícím způsobem (Urban., 1997):

- 1) Prolaktin indukuje genovou expresi v mléčné tkáni pro syntézu kaseinu. Pro uskutečnění tohoto procesu jsou nutné glukokortikoidy.
- 2) Přítomnost progesteronu zabraňuje v tkáních mléčné žlázy tvorbě receptorů pro vazbu prolaktinu a obsazuje místa, kde se glukokortikoidy mohou vázat. Nepřítomnost progesteronu je proto předpokladem pro laktogenezi.
- 3) Zvyšování produkce prostaglandinu těsně před porodem způsobuje lýzu žlutého tělíska a následný pokles hladiny progesteronu.
- 4) U skotu se koncentrace estrogenu začíná zvyšovat okolo jednoho měsíce před porodem a maxima dosahuje asi dva dny před porodem. Tím je stimulována laktogeneze, protože estrogeny stimulují sekreci prolaktinu a pravděpodobně i dalších hormonů z předního laloku hypofýzy.

- 5) Vlna růstového hormonu se vyskytuje právě před porodem a přebírá funkci regulace přímého zásobení mléčné žlázy výživnými látkami potřebnými pro syntézu mléka.

Dosažení vrcholu produkce mléka u krávy nastává mezi druhým a osmým týdnem po porodu, potom má produkce mléka sestupnou tendenci. Hormony, které jsou pro udržení této funkce nezbytné, jsou LTH (prolaktin), STH (růstový hormon), inzulin, parathormon, ACTH (adrenokortikotropní hormon) a TSH (tyreotropní hormon). Poslední dva hormony jsou nutné proto, aby stimulovaly produkci glukokortikoidů a hormonů štítné žlázy (Reece, 2011).

Změny mléka v průběhu laktace mohou mít významný vliv na kvalitativní a kvantitativní znaky sýrařské produkce. Vlivem stadia laktace na výtěžnost sýrů se zabývala řada autorů. Nejvýznamnějším fyziologickým faktorem ovlivňujícím obsah bílkovin je stádium laktace. Zjištěný obsah bílkovin vykazuje s postupujícím stadiem laktace vytrvalý vzestup. Stadium laktace krav se též odráží ve výsledném aroma a textuře sýrů (Kouřilová a kol., 2007).

Statisticky průkazný vliv stadia laktace byl zjištěn u těchto parametrů: obsah bílkovin, tuku, laktózy, sušiny, močoviny, aktivní kyselost, titrační kyselost a sýřitelnost (Kouřilová a kol., 2007).

### **2.3.1 Laktační cyklus**

Laktační období začíná u dojnice jejím otelením a trvá zpravidla 300-305-310 dnů. Vlivem opětovné březosti a často po zásahu člověka ustává a nastupuje období stání na sucho, které by mělo trvat optimálně 50-60 dnů. Pak následuje další porod. Období stání na sucho je nezbytné pro zdraví dojnice a je také předpokladem pro odpovídající produkci mléka v další laktaci (Hofírek, 2009).

## 2.4 Mlezivo

Mlezivo (kolostrum) je prvním sekretem, který mléčná žláza produkuje bezprostředně po porodu, někdy i zcela krátce před nebo i po něm. Vylučuje se po dobu 3-7 dnů a z komerčně pragmatického hlediska je již od 5. dne sekret mléčné žlázy po porodu pokládán za mléko, i když teprve po dvou až třech týdnech se jeho složení vyrovná zcela zralému mléku (Hofírek, 2009). Je nažloutlé vlivem vysokého obsahu karotenu, má vazkou konzistenci a slanou chuť. Od zralého mléka se liší vysokým obsahem bílkovin, karotenu, vitamínu A, E, riboflavinu, niacinu, sodíku, hořčíku a draslíku. V tabulce č. 1 jsou popsány hladiny bílkovin, vitaminů a karotenu v kolostru krav. Zvýšený obsah solí, zejména hořečnatých, má projímavý účinek. Při varu se sráží vlivem vysokého obsahu albuminů a globulinů (Jelínek a Koudela, 2003).

Tabulka č. 1 - Hladiny vitaminů, celkových bílkovin a jednotlivých frakcí bílkovin v kolostru krav (Hofírek, 2009)

<b>Vitamin A</b>	15,35 ± 7,65 μmol/l
<b>Vitamin E</b>	31,06 ± 14,26 μmol/l
<b>Karoten</b>	2,32 ± 1,35 μmol/l
<b>Celková bílkovina</b>	137,00 ± 23,00 g/l
<b>Albuminy</b>	14,10 ± 5,50 g/l
<b>Alfaglobuliny</b>	4,10 ± 2,80 g/l
<b>Betaglobuliny</b>	2,60 ± 1,20 g/l
<b>Gamaglobuliny</b>	116,20 ± 5,70 g/l

Nejvýznamnější složkou mleziva, zejména krav, jsou imunoglobuliny, a to IgG<sub>1</sub>. První hodiny, případně dny po porodu, má trávicí trakt mláďat schopnost resorbovat celé molekuly imunoglobulinů. Těsně po porodu se u telat resorbuje z mleziva kolem 50 % protilátek, za následujících 20 hodin jen 15 % a za 36 hodin po porodu jen zanedbatelné množství. Obsah protilátek v mlezivu po porodu rychle klesá (tab. č. 2). Proto má tak velký význam včasné a dostatečné podání mleziva (Jelínek a Koudela, 2003).

Tabulka č. 2 - Změny ve složení kravského mléka po porodu (mléko = 100 %) (Jelínek a Koudela, 2003)

Složky	Dny po porodu		
	0	3	5
Sušina	215	100	100
Celkové bílkoviny	600	170	110
Kasein	190	110	105
Imunoglobuliny	1850	400	200
Laktóza	45	90	100
Karoten	1500	250	125
Vitamin A	600	120	100
Riboflavin	320	130	110

## 2.5 Mléko

Schopnost produkce mléka závisí primárně na genetickém základu, který určuje míru rozvoje aktivních žlázových tkání v mléčné žláze. Mléko produkované přežvýkavci, stejně jako mléčné výrobky z tohoto mléka mají mimořádný význam ve výživě člověka (Mudřík a Hučko, 2001).

Kravné mléko z plné laktace má bílou barvu s mírným nádechem do žluta, typickou mléčnou chuť danou obsahem laktózy a mastných kyselin, hustotu 1 026 – 1 033. Po fyzikální stránce je mléko polydisperzní systém a tuk je v něm ve formě tukových kapének o velikosti 1-12  $\mu\text{m}$  a je v suspenzi, bod varu je  $>100^{\circ}\text{C}$  (o  $0,16^{\circ}\text{C}$ ), reakce je mírně kyselá. Po stránce chemického složení obsahuje mléko 12,5 % sušiny, kterou tvoří tuk, bílkoviny, mléčný cukr a minerální látky. Z enzymů obsahuje především lipázy, fosfatázy, amylázu, laktázu, katalázu, reduktázu aj., dále vitamin A, skupiny vitamínů B, C, D, E, K, PP, biotin, kyselinu pantotenovou a kyselinu listovou. Rozdíly ve složení zralého mléka ve srovnání s kolostrem jsou uvedeny v tabulce č. 3 (Hofírek, 2009).



Tabulka č. 3 - Rozdíly průměrného složení zralého mléka a kolostra dojnice (Hofírek, 2009)

<b>Složky mléka</b>	<b>Kolostrum</b>	<b>Zralé mléko</b>
Sušina (g/l)	200	127
pH	6,0-6,4	6,5-6,7
Celková bílkovina (g/l)	137	33
Kasein (g/l)	40	27
Tuk (%)	3,6	3,7
Laktóza (g/l)	28	48
Vitamin A (μmol/l)	15,4	1,4-1,8
Vitamin E (μmol/l)	31,1	8,2
Hořčík (mmol/l)	6,2	4,1
Vápník (mmol/l)	42,5	30
Fosfor (mmol/l)	48,4	32,3
Sodík (mmol/l)	26,1	17,4
Draslík (mmol/l)	38	38
Železo (μmol/l)	18,1	9,5
Kys. Citronová (mmol/l)	4,0-5,0	8,0-10,0
Somatické buňky (x 10 <sup>3</sup> /ml)	800-1000	<200
Elektrická vodivost (mS/cm)	6,5	4,8

### 2.5.1 Kvalita mléka

Kvalitativní požadavky na mléko jsou dány především ČSN 57 0529 a jejími novelizacemi. Za klíčové jsou považovány čtyři následující ukazatele (Skládanka, 2014):

1. Celkový počet mikroorganismů (CPM), který u standardního mléka nesmí překročit 100 000 v 1 ml.
2. Počet somatických buněk (SB), který u standardního mléka nesmí překročit 400 000 v 1 ml.
3. Rezidua inhibičních látek (RIL), které u standardního mléka nesmí být přítomny vůbec.
4. Bod mrznutí mléka (BM či BMM), který u standardního mléka musí být nižší než  $-0,520\text{ °C}$  (např.  $-0,524\text{ °C}$ ).

Tyto základní ukazatele kvality jsou doplněny dalšími, z nichž nejdůležitější jsou následující (Skládanka, 2014):

- Obsah bílkovin, který musí být vyšší než 2,8%
- Obsah tuku, který musí být vyšší než 3,3%
- Obsah tukuprosté sušiny, který musí být vyšší než 8,5%

## 2.5.2 Složení mléka

Buňky mléčné žlázy výběrově přijímají látky přinášené krví a vytvářejí látky, které se v krvi nenalézají. Mléčný tuk se tvoří ve vemeni z glycerolu a mastných kyselin. Glycerol se tvoří v mléčné žláze z glukózy krve. Mléčné bílkoviny se tvoří z volných aminokyselin přinášených krví k mléčné žláze. Laktóza se tvoří z krevní glukózy ve vemeni. Minerální látky a vitamíny mléka přecházejí z krve přímo do mléka, avšak při tom probíhá jejich přeskupení, zejména u minerálních látek (Louda, 1994).

V procesu tvorby mléka podléhá část základních složek mléka enzymatickému štěpení a ty se vstřebávají zpět do krve, což stimuluje další tvorbu mléka. Mléko, které přechází z buněk do alveolů, nemá ještě definitivní složení. V dutinách alveolů a sekrečních tubulů dochází na základě osmózy ke změnám v obsahu vody a elektrolytů. Cytofyzilogickými sledováními byla v procesu sekrece stanovena čtyři stadia (Jelínek a Koudela, 2003):

- 1) přestup prekurzorů mléka z krve do buněk alveolů
- 2) syntéza složitějších látek v sekrečních buňkách
- 3) vyloučení těchto látek z buňky do dutiny alveolu
- 4) obnova původní struktury a velikosti buněk

Základní složení mléka je dáno obsahem vody, lipidů, sacharidů, proteinů a minerálů. Obsah vody se určuje jako rozdíl v hmotnosti před a po vysušení. Obsah tuku se stanovuje extrakcí lipidů standardizovanými metodami. Sacharidy v mléce jsou obvykle vyjádřeny jako ekvivalent laktózy a mohou zahrnovat další sacharidy. Obsah proteinů reprezentuje všechny proteiny včetně enzymů. Mléčné minerály se vyjadřují množstvím popelovin (Reece, 1998). Souhrn tuků, proteinů, laktózy a popelovin je označován jako sušina nebo pevné složky mléka (Reece, 2011). Bílkoviny, sacharidy a tuky jsou stavebními jednotkami organismu, které se podílejí na úhradě energetických potřeb organismu. Minerální látky a vitamíny se nepodílejí na úhradě energetických potřeb organismu, jsou však esenciálními složkami potravy, tzn., že to jsou látky, které si organismus neumí sám syntetizovat a musí je přijímat

stravou (Drbohlav, Vodičková, 2002). Mléko nemá stálé chemické složení ani výživnou hodnotu. Tyto vlastnosti se mění v průběhu dojení, v průběhu dne a laktace. Složení mléka záleží také na plemeni (tabulka č. 4), složení krmiv, technice chovu, zdravotním stavu a způsobu dojení (Louda, 1994).

Tabulka č. 4 - Složení mléka některých plemen (Reece, 2011)

<b>Plemeno</b>	<b>Složka (%)</b>			
	<b>Tuky</b>	<b>Bílkoviny</b>	<b>Laktóza</b>	<b>Popeloviny</b>
Ayrshire	4,1	3,6	4,7	0,7
Brown Swiss	4	3,6	5	0,7
Guernsey	5	3,8	4,9	0,7
Holstein	3,5	3,1	4,9	0,7
Jersey	5,5	3,9	4,9	0,7
Shorthorn	3,6	3,3	4,5	0,8

Pro hodnocení syrového kravského mléka jsou stanoveny jakostní charakteristiky, mezi které patří chemické složení, fyzikální vlastnosti, mikrobiologické vlastnosti, hygienická hodnota, smyslové vlastnosti, technologické vlastnosti, nutriční/výživová hodnota. Každá jakostní charakteristika je tvořena několika jakostními ukazateli (znaky), které jsou vyjmenovány v tabulce č. 5 (Samková, 2012).

Tabulka č. 5 - Přehled jakostních charakteristik a znaků hodnocených u syrového kravského mléka (Samková, 2012)

<b>Jakostní charakteristika</b>	<b>Jakostní ukazatel/znak</b>
<b>Chemické složení</b>	Obsah tuku
	Obsah bílkovin
	Obsah laktózy
	Obsah tukuprosté sušiny
	Obsah vitaminů
	Obsah minerálních látek
	Obsah močoviny
<b>Fyzikální vlastnosti</b>	Obsah kyseliny citronové
	Bod mrznutí
	Měrná hmotnost
	Měrná vodivost
	Viskozita
	Povrchové napětí
<b>Mikrobiologické vlastnosti</b>	Index lomu
	Celkový počet mezofilních mikroorganismů
	Počet psychotrofních mikroorganismů
	Počet koliformních mikroorganismů
	Počet termorezistentních mikroorganismů
	Počet sporotvorných anaerobních mikroorganismů
<b>Hygienická hodnota</b>	Patogenní mikroorganismy
	Počet somatických buněk
<b>Smyslové vlastnosti</b>	Rezidua inhibičních látek
	Barva
	Chuť
	Vůně
	Konzistence
<b>Technologické vlastnosti</b>	Vzhled
	Kyselost
	Kysací schopnost
	Syřitelnost
<b>Nutriční/výživová hodnota</b>	Termostabilita
	Energetická hodnota
	Obsah základních živin
	Obsah vitaminů, minerálních látek, příp. dalších složek

### **2.5.2.1 Obsah tuků**

Mléčný tuk je jedním z nejkomplicovanějších přírodních tukových komplexů (Doležal a kol., 2000). Mléčný tuk se liší od tuku depotního, ukládaného v těle zvířat, vyšším podílem mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým uhlíkatým řetězcem a zastoupením nenasycených mastných kyselin (Mudřík a Hučko, 2001).

Mléčný tuk je nejvíce variabilní složka mléka a to jak v koncentraci, tak ve složení. Je to způsobeno především tím, že složení i koncentrace jsou hlavně ovlivňovány přijímanou stravou. Koncentrace se snižuje při přijímání stravy s velkým podílem snadno zkvasitelných sacharidů a nenasycených tuků (Palmquist, 2006).

Základem mléčného tuku jsou estery mastných kyselin s glycerolem. Jelikož triacylglyceroly jsou z 95 % tvořeny mastnými kyselinami a z 5 % glycerolem a vzhledem k tomu, že mastné kyseliny jsou vázány i v dalších složkách mléčného tuku, lze je pokládat za vlastní stavební kameny lipidů mléka (Hanuš a kol., 2015).

Mléčný tuk je významným zdrojem esenciálních mastných kyselin, lipofilních vitaminů a aromatických látek. Svým charakterem je nasyceným tukem, pro který je specifický vyšší obsah těkavých mastných kyselin, které obvykle chybějí v ostatních tucích (Samková, 2012). Nachází se v mléce v emulgovaném stavu a není identický s tukem krevní plazmy (Drbohlav, Vodičková, 2002). Tuk v mléce je ve formě emulze, typ „olej (tukové kapénky) ve vodě“ (mléčná plazma). Tukových kapének o velikosti 0,1 až 15  $\mu\text{m}$  je v 1 ml mléka přibližně 15 miliard (Samková, 2012). Kravské mléko obsahuje v průměru 4 % lipidů, z čehož 98 – 99 % je obsaženo v tukových kuličkách tvořených triacylglyceroly mastných kyselin ve formě emulze v plazmě (Drbohlav, Vodičková, 2002). Mléčný tuk je také jedinečný mezi živočišnými tuky pro poměrně vysoký obsah mastných kyselin s krátkým a středním řetězcem. Tyto kyseliny jsou tráveny mnohem rychleji a efektivněji než kyseliny s dlouhým řetězcem (Hanuš a kol, 2015).

Kolem 75 % mléčného tuku je výsledkem syntézy v mléčné žláze. Vzniká z prekurzorů tuku původem z krmiva přinášených krví, z neutrálního tuku přinášeného z jater, z neutrálního tuku tukové tkáně a produktu jeho štěpení (Jelínek a Koudela, 2003). Jeho obsah v mléce závisí zejména na plemeni krav, doživosti, sezoně, krmení a stadiu laktace (Doležal a kol., 2000).

Faktorů, které ovlivňují složení mléčného tuku z hlediska obsahu, i zastoupení existuje celá řada. Faktory mohou být rozděleny do dvou skupin a to biologické a výživy. Mezi nejvýznamnější biologické faktory patří genetické vlivy, plemeno a stadium laktace. Mezi další tyto vlivy můžeme řadit vliv věku zvířete (jedná se o pořadí laktace) a jeho zdravotní stav, především onemocnění mléčné žlázy. Mezi faktory vlivu výživy řadíme úroveň výživy a složení krmné dávky (Samková a kol., 2008).

Největší vliv na změny obsahu a složení mléčného tuku má výživa, roční období a plemeno. Výzkumy dokázaly, že pomocí vhodných doplňků a vhodně upravené krmné dávky lze například zvýšit podíl nenasycených mastných kyselin (USFA – unsaturated fatty acids) a tím snížit hladinu nasycených mastných kyselin (SAFA – saturated fatty acids) v kravském mléce (Hanuš a kol., 2012).

Co se chemického složení mléčného tuku týká, podstatnou složku tvoří homolipidy – estery glycerolu a mastných kyselin. Podle počtu esterově navázaných mastných kyselin v molekule glycerolu se tyto estery člení na monoacylglyceroly, diacylglyceroly a nejčastěji se vyskytující triacylglyceroly. Starší termíny byly mono- až triglyceridy. Zbývající část tvoří heterolipidy a tzv. doprovodné látky lipidů. V mléce a mléčném tuku se vyskytují mastné kyseliny také jako volné. Jedná se převážně o těkavé mastné kyseliny s krátkým řetězcem (Samková, 2012). Syntéza mléčného tuku u přežvýkavců vychází zejména z acetátu (kyselina octová) a butyrátu (kyselina mléčná). Acetát tvoří okolo 60-70 % těkavých mastných kyselin z bachorové fermentace (Reece, 2011). V mléčném tuku se vyskytuje 11 hlavních mastných kyselin se sudým počtem uhlíků ( $C_4 - C_{18}$ ) (Doležal a kol., 2000). Ke snížení koncentrace mléčného tuku dochází, tehdy, jestliže fermentační změny zapříčiní pokles v produkci kyseliny octové (Reece, 2011).

Obsah mléčného tuku je v porovnání s ostatními složkami mléka mnohem více proměnlivý a velká variabilita byla prokázána i v obsahu jednotlivých mastných kyselin a jejich skupin. Při snaze o změnu složení mléčného tuku je možné využít některé genetické poznatky a metody. Z genetických parametrů je vhodné sledovat heritabilitu (dědivost) a korelaci (vztahy) mezi mastnými kyselinami a ukazateli mléčné užitkovosti (Samková, 2012).

Korelační koeficient mezi tučností a obsahově nejvíce zastoupenými kyselinami palmitovou a olejovou potvrzují názor, že dojnice s vysokou tučností

mléka budou mít nižší zastoupení mastných kyselin C18 a více naopak. Tyto skutečnosti lze využít v selekci (Samková, 2012).

Pokud se týká pořadí laktace, pak dostupná data ukazují, že prvotelky produkují mléko s vyšším obsahem nenasycených mastných kyselin, zatímco dojnice na druhé a dalších laktacích mají mléko s vyšším obsahem nasycených mastných kyselin (Samková, 2012).

K významným doprovodným látkám v mléce patří karotenoidy. Základním přírodním barvivem vyskytujícím se v mléce je  $\beta$ -karoten (provitamin vitamínu A), který reprezentuje 95 % všech karotenoidů mléka. Toto barvivo způsobuje v kravském mléce typické nažloutlé zbarvení mléčného tuku a charakteristickou barvu mleziva (Navrátilová a Janštová, 2014).

Lipidy jsou vedle bílkovin a sacharidů jednou ze základních živin nezbytnou pro všechny živočichy. Kromě toho jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin linolové a linolenové a významných látek rozpustných v tucích – lipofilních vitaminů, hormonů, cholesterolu a dalších (Samková, 2012).

#### *2.5.2.1.1 Mastné kyseliny*

Mléčný tuk obsahuje přes 400 různých mastných kyselin. Jejich značná část, je ale v mléčném tuku zastoupena v nízkých až téměř zanedbatelných koncentracích. Jen zhruba 15 z nich má podíl 1 % a vyšší a právě tyto mastné kyseliny tvoří 90 % všech zastoupených mastných kyselin (Samková a kol., 2008). Mléčný tuk přežvýkavců je unikátní mezi suchozemskými savci vzhledem ke své velké rozmanitosti mastných kyselin. Rozmanitost vzniká díky efektu biohydrogenace nenasycených mastných kyselin v batoru a syntéze mastných kyselin v mléčné žláze (Palmquist, 2006).

Kravské mléko je zdrojem konjugované kyseliny linolové (CLA), která vzniká batorovou fermentací s tím, že vyšší obsahy jsou zjišťovány při pastvě. CLA je významnou sloučeninou, a proto je součástí některých potravních doplňků a předmětem vědeckého zkoumání (Samková a kol., 2012).



Mastné kyseliny lze rozdělit například podle struktury na nasycené (SAFA – saturated fatty acids), mononenasycené (MUFA - monounsaturated fatty acids) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA - polyunsaturated fatty acids) (Hanuš a kol., 2012). Nenasycené MK se od sebe vzájemně odlišují počtem atomů uhlíku, polohou dvojných vazby a prostorovou konfigurací. Podle toho se mastné kyseliny dělí na *cis* a *trans* isomery (Samková, 2012). Kyseliny vyskytující se v mléčném tuku, v množství větším než 1 %, jsou řazeny do skupiny majoritních a naopak kyseliny, kterých je méně než 1 % jsou označovány jako minoritní. Mléko je také zdrojem esenciálních mastných kyselin, tedy kyselin, které si není tělo schopné vytvořit a získává je pouze z potravin. Mezi takové kyseliny řadíme kyselinu linolovou, linolenovou a arachidonovou (Hanuš a kol., 2012).

Mléčný tuk se vyznačuje vysokým obsahem nasycených mastných kyselin (SFA – saturated fatty acids), zejména se středně dlouhým řetězcem mastných kyselin (FA – fatty acids) C14:0 a C16:0. Zatímco mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem C16:0 jsou běžně považovány za nositele negativního účinku na lidské zdraví, dlouhé řetězce mastných kyselin s 18 a více atomy uhlíku jsou považovány za nositele neutrálních či pozitivních účinků. U mastných kyselin s dlouhým řetězcem je zvláštní pozornost věnována konjugované kyselině linolové kvůli její roli při vytváření plasmy lipidů a její antikarcinogenní a protizánětlivým účinkům. Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem nejsou v mléčné žláze syntetizovány, ale jsou získávány z oběhu plasmy lipidů (Schennink a kol., 2009).

Přibližně polovina mastných kyselin vzniká přímo v mléčné žláze (syntéza „de novo“). Takto vznikají mastné kyseliny C4 – C14 a přibližně jedna polovina C16. Základním prekurzorem je kyselina octová, která je tvořena při bacherové fermentaci ze sacharidů krmiva. Druhá polovina je do mléčné žlázy přinášena krví ve formě neesterifikovaných (tedy volných) mastných kyselin přímo z krmné dávky nebo tkáňového a zásobního tuku. Tímto způsobem vzniká druhá polovina C16 a mastné kyseliny s počtem uhlíků osmnáct a více (Samková a kol., 2008).

Obsahově nejvíce zastoupené nasycené mastné kyseliny jsou kyseliny palmitová, stearová a myristová, z nenasycených mastných kyselin pak kyselina olejová (Samková, 2012).

Nejvýznamnější ze skupiny heterolipidů jsou fosfolipidy. Ve fosfolipidech se váží hlavně vyšší mastné kyseliny palmitová, stearová a olejová, které představují 96

% všech mastných kyselin fosfolipidů, v menší míře jsou vázány kyseliny linolová a linolenová (Samková, 2012).

Charakteristika, reakce a zastoupení jednotlivých mastných kyselin ovlivňují zároveň i výsledné vlastnosti mléčného tuku jako je např. teplota tání, krystalizace anebo oxidační stabilita a rozhodují tak o jeho technologické zpracovatelnosti. Nelze zapomenout také na senzorický a zdravotní význam mléčného tuku (Samková, 2012).

Kromě dobře charakterizovaných rozdílů v obsahu mléčného tuku mezi a v rámci plemen mléčného skotu, se vyskytují také rozdíly ve složení mastných kyselin. Jsou uváděny pozitivní genetické korelace mezi podílem mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem, zatímco záporná korelace je uváděna pro všechny C18 mastné kyseliny (Palmquist, 2006).

Pozitivní účinky mléčného tuku tkví především v poměrně vysokém obsahu monoenoových mastných kyselin v *cis*-konfiguracích (26 – 42 %) a nezanedbatelný je také obsah esenciálních mastných kyselin linolové a alfa-linolenové dále také obsah kyseliny rumenové, která je svým výskytem v produktech přežvýkavců unikátní. Mastné kyseliny s počtem uhlíků v řetězci od C6 do C12 či monoacylglyceroly těchto kyselin jsou spojovány s antimikrobiálními účinky (Samková, 2012).

Rozdíly mezi plemeny i uvnitř plemene lze vysvětlit nejen rozdílnou užitkovostí těchto zvířat, ale rovněž odlišnostmi v genovém polymorfismu, který byl zjištěn u některých enzymů zodpovídajících za tvorbu mastných kyselin (*SCD*; stearoyl-CoA-desaturáza a *DGAT*; diacylglycerol-acyltransferáza). Rozdílná desaturační aktivita těchto enzymů může ovlivnit množství mononenasycených mastných kyselin v *cis*-konfiguracích a CLA (Hanuš a kol., 2012).

### 2.5.2.1.2 Stearoyl-CoA-desaturáza (SCD)

Stearoyl-CoA-desaturáza je enzym, který katalyzuje syntézu mononenasycených mastných kyselin, především kyseliny olejové (18:1) a palmitové (16:1), které jsou hlavní složkou tkáňových lipidů (Dobrzyń a Dobrzyń., 2006). Nachází se v endoplasmatickém retikulu a katalyzuje vložení dvojně vazby mezi atomy uhlíku 9 a 10 ve spektru nasycených mastných kyselin. Jeho primární substráty jsou stearoyl-CoA a palmitoyl-CoA, zatímco mnohem nižší aktivita je pozorována u myristoyl-CoA (Palmquist, 2006). Gen *SCD* byl také uveden jako primární kandidátní gen pro změnu podílu nasycených versus nenasycených mastných kyselin, dále také zvyšuje obsah konjugované linolové kyseliny (Moioli a kol., 2007). Činnost *SCD* u přežvýkavců je vysoká v laktující mléčné žláze, tukové tkáni a o něco nižší ve střevní tkáni (Palmquist, 2006).

*SCD* lokus byl mapován na 26. chromosomu skotu. Je 17088bp dlouhý, s tím že délka pro čtení je 1080bp a kóduje 359 aminokyselin (Mele a kol., 2007).

Složení mastné kyseliny uložené v tukových zásobách, odráží předchozí působení *SCD*. Zatímco v případě výživy může být jasně prokázáno, že přispívá k profilu mastných kyselin podkožního a intramuskulárního tuku, genetické faktory pro stanovení profilu mastných kyselin v tuku musí být definovány. *SCD*, vzhledem ke své významné roli je kandidátní pro genetické variace ve složení mastných kyselin. Některé studie odhalily, že hladina exprese *SCD* souvisí s procenty mononenasycených mastných kyselin (Taniguchi a kol., 2003).

O vliv mastných kyselin na složení mléka je velký zájem a to především z hlediska hodnocení nutriční kvality mléka. Stearoyl-CoA-desaturáza je klíčovým enzymem metabolismu lipidů v mléčné žláze. Polymorfismus dvou alel (alanin a valin) byl prokázán na pátém exonu *SCD*. Frakce mastných kyselin v mléce přežvýkavců obsahuje několik sloučenin, o které je velký zájem z hlediska lidského zdraví. Mezi tyto sloučeniny se řadí i nenasycené mastné kyseliny. Mezi nejvýznamnější složky patří acyl-CoA C14, C16, C18, a *trans*-11 C18:1, které jsou přeměňovány na C14:1 n-5, C16:1 n-7, 9-*cis* C18:1 a *cis*-9, *trans*-11 C18:2. Více jak 70 % *cis*-9, *trans*-11 CLA v mléce přežvýkavců je produkováno mléčnou tkání díky činnosti *SCD* (Mele a kol., 2007).

### 2.5.2.2 *Obsah sacharidů*

Sacharidy slouží jako významný zdroj energie. Ze sacharidů obsahuje mléko především laktózu, tj. disacharid složený z glukózy a galaktózy (Drbohlav, Vodičková, 2002). Na litr mléka se spotřebuje asi 72 g glukózy (Mudřík a Hučko, 2001). Disacharid laktóza je tvořen v mléčné žláze krav z 80 % z krevní glukózy a z 20 % z octanů (Doležal a kol., 2000).

V organismu dojnice se glukóza spotřebovává (Mudřík a Hučko, 2001):

- na syntézu laktózy
- na syntézu glycerofosfátu, nutného pro tvorbu mléčného tuku
- na syntézu NADPH velmi důležitého pro tvorbu nenasycených mastných kyselin a cholesterolu
- na tvorbu oxalacetátu nutného pro průnik acetyl CoA do Krebsova cyklu, kde se vytváří volná energie

Obvyklý obsah laktózy v mléce je 4,8 % (Doležal a kol., 2000). Hlavním prekurzorem laktózy je glukóza. Významný prekurzor je rovněž propionát, nejdříve se však z něho vytváří glukóza. Propionát je významný u přežvýkavců, neboť je dostupný jako produkt z fermentačních procesů v bacheru (Reece, 1998). Laktóza má zvláštní význam z biologického hlediska, neboť se vyskytuje pouze v mléce, které je přirozenou výživou mláďat (Drbohlav, Vodičková, 2002).

V mléce je devadesátkrát více cukru než v krvi. Laktóza je jednou z nejstabilnějších složek mléka. Jedná se o aktivní látku schopnou udržovat stálost osmotického tlaku mléka (Jelínek a Koudela, 2003).

Laktosa jako jedna z hlavních složek plní v mléce a mléčných výrobcích řadu významných funkcí (Navrátilová a Janštová, 2014):

- zdroj energie
- dodává mléku charakteristickou nasládlou chuť
- přispívá k fyzikálně-chemickým vlastnostem (osmotický tlak, bod mrznutí, bod varu, měrná hmotnost)
- podporuje absorpci vápníku

- nezbytná složka mléka při výrobě fermentovaných mléčných výrobků
- přispívá k nutriční hodnotě mléka a mléčných výrobků
- ovlivňuje texturu některých zahuštěných a mražených výrobků
- podílí se na barvě, chuti a vůni výrobků, kde se při jejich výrobě používá vysoká teplota
- nežádoucí – laktózová intolerance

### ***2.5.2.3 Obsah minerálních látek***

Minerální látky včetně stopových prvků jsou integrálními složkami všech živých organismů. Organismus získává minerální látky a esenciální stopové prvky výživou tzn. exogenně (Drbohlav, Vodičková, 2002).

Obsah minerálních látek v mléce není konstantní, je ovlivněno četnými faktory např. stadiem laktace, zdravotním stavem dojnice, výživou, genetickými faktory a faktory prostředí. Minerální látky se v mléce nacházejí v různých chemických formách např. v rozpustné a koloidní formě, nebo jsou vázány v organických sloučeninách (nukleové kyseliny, tuky, sacharidy a bílkoviny). Jednotlivé formy jsou v rovnováze ke složkám mléka, ale i ve vzájemné rovnováze mezi sebou. Minerální látky mají i technologický význam. Složení minerálních látek ovlivňuje technologické vlastnosti látek (syřitelnost, termostabilitu bílkovin) a fyzikální vlastnosti mléka (osmotický tlak, stupeň bobtnání koloidů, koncentraci vodíkových iontů) (Navrátilová a Janštová, 2014).

Kravné mléko obsahuje průměrně 7,3g minerálních látek v 1l (Drbohlav, Vodičková, 2002). Hlavní minerální látkou v mléce je vápník (0,12 %), dále fosfor (0,10 %), sodík (0,05 %), draslík (0,15 %) a chlór (0,11 %) (Reece, 2011). Ve stopovém množství mléko obsahuje železo, zinek, mangan, cobalt, molybden, jod, fluor, chrom a selen (Drbohlav, Vodičková, 2002).

#### **2.5.2.4 Obsah vitaminů**

Z nutričního hlediska je kravské mléko velmi dobrým zdrojem vitaminů v dietě člověka, obsahuje všechny nezbytné vitaminy. Významný je zejména obsah vitaminů B<sub>2</sub> a B<sub>12</sub>. Obsah vitaminů A a E je ovlivněn jejich příjmem v krmivu a souvisí s obsahem tuku v mléce. Vitaminy skupiny B a vitamin K jsou syntetizovány bachorovou mikroflórou. Vitamin C je syntetizován v játrech a pravděpodobně i v jiných tkáních (střeva, ledviny). Obsah vitaminů v mléce není stálý a je ovlivněn řadou faktorů (výživa, plemeno, stádium laktace, zdravotní stav dojnice atd.) (Navrátilová a Janštová, 2014). Jsou to jednak lipofilní vitaminy A, D, E, K a z vitaminů rozpustných ve vodě vitamin C a vitaminy skupiny B (Skládanka, 2014).

#### **2.5.2.5 Obsah bílkovin**

Přibližně 95 % celkového proteinu (asi 34g/l) kravského mléka tvoří šest tkáňově specifických proteinů, které jsou syntetizovány a sekretovány sekrečním epitelem mléčné žlázy během laktace. Tuto skupinu tvoří čtyři typy kaseinu:  $\alpha_{S1}$ -kasein (40 %),  $\alpha_{S2}$ -kasein (10 %),  $\beta$ -kasein (40 %) a  $\kappa$ -kasein (10 %, označovaný také jako  $\kappa$ -CN nebo KCN) a dvě hlavní syrovátkové bílkoviny  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -LG, BLG) a  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA, ALA) (Urban, 1997).

Je třeba si uvědomit, že ani jeden z lokusů mléčných bílkovin nemůže být samostatně a výhradně použit jako marker produkce a kvality mléčné bílkoviny univerzálně u všech plemen. Kaseinové geny jsou v absolutní vazbě a navíc se všechny mléčné proteiny syntetizují ve stejném období. Jejich výsledné kvantitativní zastoupení je dáno interakcemi uvnitř kaseinového bloku a interakcí mezi genotypy pro kaseiny a betalaktoglobulin (Jandurová a kol., 2002).

Geny pro mléčné bílkoviny  $\alpha_{S1}$ -kasein,  $\alpha_{S2}$ -kasein,  $\beta$ -kasein a  $\kappa$ -kasein se nachází na 6. chromosomu. Geny pro syrovátkový protein  $\beta$ -laktoglobulin je umístěn na 5. chromosomu a gen pro  $\alpha$ -laktalbumin na 11. chromosomu (Urban, 2006).

Z celkového proteinu v mléce (2,5 – 3,5 %) tvoří kasein 76 – 86 % a syrovátkové bílkoviny 14 – 24 % (Urban, 1997).

Produkce jednotlivých bílkovinných složek v mléce je závislá především na celkovém genotypu pro alely mléčných bílkovin a je samozřejmě modifikována celou škálou negenetických faktorů, jak je to pro kvantitativní znaky charakteristické (Jandurová a kol., 2002).

#### *2.5.2.5.1 Syrovátkové bílkoviny*

Při pH 4,6 dochází k vysrážení kaseinu z mléka. V mléčném séru se nachází bílkoviny, které tvoří 17 – 20 % z celkového množství bílkovin. Vyšší nutriční hodnota syrovátkových bílkovin je dána vysokým obsahem aminokyseliny cystinu. Syrovátkové bílkoviny mají globulární charakter a řadíme je k hydrofilním koloidům (Navrátilová a Janštová, 2014).

#### ***$\beta$ -laktoglobulin***

Bílkovina se vyskytuje v mléce většiny savců, ale nenachází se v mateřském mléce a mléce hlodavců. V kravském mléce je  $\beta$ -laktoglobulin hlavní syrovátkovou bílkovinou a tvoří asi 50 % obsahu syrovátkových bílkovin. Gen pro, tuto bílkovinu je situován na chromosomu 11 (Matějčíková a kol., 2009). V polypeptidovém řetězci se nachází 162 aminokyselin (Navrátilová a Janštová, 2014). Pro  $\beta$ -laktoglobulin je známo 11 alel: *A, B, C, D, E, F, G, H, I, J* a *W* (Farrel a kol., 2004). Nejčastěji se vyskytují alely *A* a *B*, s tím že alela *B* je čteněji zastoupena. U evropských plemen se méně setkáme s alelami *C* a *D* (Matějčíková a kol., 2010). Vyznačuje se vysokým obsahem aminokyselin lysinu, valinu, cysteinu a cystinu. Je rozpustný ve zředěných roztocích soli (Navrátilová a Janštová, 2014).

#### ***$\alpha$ -laktalbumin***

Tvoří zhruba 25 % syrovátkových bílkovin. Polypeptidový řetězec obsahuje 123 aminokyselin. Obsahuje vysoké množství aminokyseliny tryptofanu. Jsou známy 3 alely: *A, B* a *C*. Bílkovina se účastní biosyntézy laktózy v mléčné žláze (Navrátilová a Janštová, 2014).

#### 2.5.2.5.2 Kaseiny

Kaseiny v mléce rodu *Bos* byly definovány jako fosfoproteiny, které precipitují ze syrového čerstvého mléka po acidifikaci při hodnotách pH = 4,6 a teplotě = 20° (Urban, 1997). Kaseiny obsahují kyselinu fosforečnou esterově vázanou na serin a threonin (Navrátilová a Janštová, 2014). Kasein je pro mláďata zdrojem aminokyselin, fosfátu a kalcia (Urban, 1997). Kaseinové frakce vytváří komplexy uspořádané do větších částic tzv. micel. Micela obsahuje 20 000 až 50 000 molekul kaseinu. Micely jsou schopny na sebe vázat velké množství vody a to 2 g vody na 1 g proteinu (Navrátilová a Janštová, 2014).

Při výrobě sýra kaseinové bílkoviny formují sýřeninu a zbytek mléka ve formě syrovátky obsahuje syrovátkové bílkoviny, které se nespojují s vytvářenou syrovou hmotou, ale zůstávají rozpustné v roztoku (Urban, 1997).

Frakce kaseinu se liší hodnotou měrné molekulové hmotnosti, elementárním složením, obsahem aminokyselin a hodnotami izoelektrického bodu (Navrátilová a Janštová, 2014).

Kaseiny typu  $\alpha_S$  a  $\beta$  jsou si podobné svým uspořádáním i chemickými vlastnostmi a jsou citlivé na kalcium, které způsobuje jejich precipitaci. Minoritní složka  $\kappa$ -kasein je intenzivní kalcium a chrání ostatní kaseiny v mléce před precipitací (Urban, 1997).

#### *$\kappa$ -kasein*

$\kappa$ -kasein tvoří asi 13% z celkového podílu kaseinů v mléce krav a představuje výjimečnou složku mezi kaseiny. Je totiž jedinou frakcí kaseinu, která obsahuje sirné aminokyseliny – cystein a methionin (Matějčíková a kol., 2009). Chymozin (renin) štěpí  $\kappa$ -kasein, narušuje povrchovou strukturu micel, iniciuje proces sýření a formování sraženiny (Urban, 1997).

Gen pro  $\kappa$ -kasein se nachází na 6. bovinním chromosomu. Tento gen ovlivňuje složení, množství a technologické vlastnosti mléka (Kučerová a kol., 2004).  $\kappa$ -kasein tvoří 22 aminokyselin, které tvoří řetězec o délce 169 aminokyselin, což znamená, že z kaseinů je nejkratší. Je známo 11 alel a to: A, B, C, E, F<sup>1</sup>, F<sup>2</sup>, G<sup>1</sup>,



$G^2$ ,  $H$ ,  $I$  a  $J$  (Farrell a kol., 2004). U evropských plemen skotu se nejvíce vyskytují alely  $A$ ,  $B$  a  $E$  (Matějčková a kol., 2010).

Řada studií vykazuje vliv genetické varianty  $\kappa$ -kasein na výrobní vlastnosti mléka a to především při výrobě sýrů (Barroso a kol., 1998).

Genotypizace  $\kappa$ -kasein lokusu znamená, že se 350bp fragment  $\kappa$ -kaseinu amplifikuje pomocí PCR. Amplifikovaný produkt je rozštěpen endonukleázou při RFLP a tak je možná přesnější identifikace genotypů  $AA$ ,  $AB$  nebo  $BB$  (Medrano a Codova, 1990).

Testováním polymorfismu  $\kappa$ -kaseinu bez ohledu na plemennou příslušnost a stupeň laktace byl zjištěn jeho významný vliv na celkovou produkci mléka, kdy nejvyšší produkci mají dojnice s genotypem  $AA$ , poté následuje  $AB$  a nejmenší produkci vykazují dojnice s genotypem  $BB$ . U obsahu mléčného tuku a mléčných bílkovin vykazuje lepší výsledky, které jsou vyobrazeny v tabulce č. 6, genotyp  $BB$  na rozdíl od genotypu  $AA$  (Manga a kol., 2008).

Tabulka č. 6 - Rozdíly mezi genotypy  $AA$  a  $BB$

[http://web2.mendelu.cz/pcentrum/publikace/21\\_genetika\\_skotu\\_ovci\\_koz.pdf](http://web2.mendelu.cz/pcentrum/publikace/21_genetika_skotu_ovci_koz.pdf) 3.11. 2016

<b><i>AA</i></b>	<b><i>BB</i></b>
Vyšší produkce mléka (kg)	Nižší produkce mléka (kg)
Nižší obsah tuku a bílkovin (%)	Vyšší obsah tuku a bílkovin (%)
Pomalejší sýřitelnost	Větší micely
Nižší jakost a produkce sýřeniny	Rychlejší sýřitelnost
Nižší výtěžnost sýra	Vyšší jakost a produkce sýřeniny
Zastoupení v populacích skotu v ČR 20-70 % (H) a 18-40 % (ČS)	Vyšší výtěžnost sýra
	Zastoupení v populacích skotu v ČR 1-5% (H) a 9-20 % (ČS)

V současnosti nabývá stále více na významu genetická charakteristika především býků v inseminaci, pokud jde o varianty kaseinového lokusu, s ohledem na využití mléka v sýrařství. Je známo, že  $\kappa$ -kasein je geneticky polymorfní a v posledních letech se proto mimořádně zvýšil zájem o jeho genetickou strukturu. Výběr plemenů pro inseminaci, potvrzených jako nositelé alely *B*  $\kappa$ -kaseinu, je proto preferován zejména v oblastech, kde výroba sýrů z mléka dojníc je jedním z nosných směrů užití mléka (Urban, 1997).

Alela  $\kappa$ -kaseinu *B* zvyšuje produkci  $\kappa$ -kaseinové frakce a celkový obsah bílkovin. Snižuje podstatně dobu denaturace, sýřenina má jemnější micely a konzistenci, zvyšuje se i obsah iontů, především vápníku (Jandurová a kol., 2002).

Alela  $\kappa$ -kaseinu *E* snižuje obsah kaseinů i  $\beta$ -laktoglobulinu a zhoršuje fyzikální vlastnosti sýřeniny i její výtěžnost, protože vytváří hrubší micely. Nebyl však prokázán negativní vliv na úroveň produkce mléka za laktaci nebo celkového obsahu bílkovin. V homozygotním stavu (*EE*) se projevuje technologicky velmi negativně, protože mléko od krav tohoto genotypu se tepelně nesráží. Tento problém je intenzivně studován především v severských zemích, protože frekvence výskytu *E* alely u ayrshirského skotu je varující (Jandurová a kol., 2002).

### *$\alpha_s$ – kasein*

Kaseiny  $\alpha_s$  se srážejí roztokem  $\text{CaCl}_2$  při teplotě nad  $20^\circ\text{C}$ . Z kaseinových frakcí obsahují nejvíce fosforu. Kaseiny  $\alpha_s$  se dále dělí na dvě frakce  $\alpha_{s1}$ - kasein a  $\alpha_{s2}$ - kasein (Navrátilová a Janštová, 2014).

$\alpha_{s1}$  - kasein tvoří až 40% kaseinů v mléce (Matějčíková a kol., 2009).  $\alpha_{s1}$ -kasein je tvořen 20 různými aminokyselinami. Délka řetězce je 199 aminokyselin. Pro tento kasein existuje 8 alel a to: *A, B, C, D, E, F, G* a *H* (Farrell a kol., 2004). U evropských plemen byl zaznamenán nejčastější výskyt alel *B* a *C* (Matějčíková a kol., 2009). Z genotypů jsou pak nejvíce zastoupeny genotypy *BB* a *BC*, s menším výskytem pak genotyp *CC* (Matějčíková a kol., 2009).

Podobně jako  $\beta$ -kasein neobsahuje aminokyselinu cystein. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří  $\alpha_{s1}$ -kasein nerozpustnou vápenatou sůl (Navrátilová a

Janštová, 2014).

Obsah  $\alpha_{S2}$  - kaseinu z celkového obsahu kaseinů v mléce je zhruba 10 % (Navrátilová a Janštová, 2014).  $\alpha_{S2}$ - kasein je tvořen 21 různými aminokyselinami, které vytvářejí řetězec o délce 207 po sobě jdoucích aminokyselin. Pro tento kasein existují 4 alely: *A*, *B*, *C* a *D* (Farrell a kol., 2004). Tento kasein obsahuje dva zbytky cysteinu a není rozpustný v přítomnosti vápníku (Navrátilová a Janštová, 2014).

### ***$\beta$ -kasein***

$\beta$ -kasein zaujímá až 45% podíl kaseinů v mléce (Matějčíková a kol., 2009) Tento kasein je složen z 20 aminokyselin, které vytvářejí řetězec o délce 209 aminokyselin. V dnešní době je známo 12 alel tohoto kaseinu:  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$ , *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, *G*,  $H^1$ ,  $H^2$  a *I* (Farrell a kol., 2004). Nejčastěji se u evropských plemen skotu vyskytují alely  $A^1$ ,  $A^2$ ,  $A^3$  a *B* (Matějčíková a kol., 2009). Frakce je citlivá vůči vysrážení vápníkem při 35°C (Navrátilová a Janštová, 2014).

## **2.6 Kvantitativní znaky**

Kvantitativní znaky jsou měřitelné a patří k nim všechny kvantitativně měřitelné užitkové vlastnosti skotu, tj. produkce mléka, produkce mléčných složek, obsah mléčných složek, znaky dojitelnosti, produkce masa, znaky jatečné hodnoty, růstové ukazatele atd. Jsou to vesměs znaky s kontinuální proměnlivostí, se všemi variacemi mezi extrémními typy a zpravidla splňující v příslušných populacích předpoklad normálního rozdělení (Kopecký, 1981). U těchto vlastností hrají podmínky prostředí mnohem větší důležitost než u vlastností kvalitativních (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Přenos genů kvantitativních vlastností a jejich variabilitu, lze zkoumat jen u velkého počtu příbuzných jedinců současně v jedné nebo různých populacích, na základě výpočtu statistického odhadu koeficientu dědivosti (heritability) (Kuciel, Urban, 2016).

Pomocí laboratorních metod jsme schopni identifikovat a zjistit umístění tzv. lokusů pro kvantitativní vlastnosti (QTL). QTL – lokus – je určité místo na chromosomu, kde se nachází jeden nebo několik genů, které spolu s ostatními polygeny významně ovlivňují projev kvantitativních vlastností. QTL je možné odhalit prostřednictvím jejich vazby s tzv. markery. Marker může být buď součástí QTL, jedná se tedy o přímý marker, nebo je alespoň ve vazbě s QTL, tudíž je to nepřímý marker (Řehout a kol., 2005).

## **2.7 Dědivost**

Hovoříme-li o polygenní genetické informaci, máme v současnosti na mysli lokusy kvantitativních vlastností, tzv. QTL (Kuciel, Urban, 2016).

Měřítkem hodnoty různého podílu variability genetické informace a prostředí na proměnlivost fenotypového projevu komplexních kvantitativních vlastností vyjadřuje koeficient dědivosti (heritability) (Kuciel, Urban, 2016).

V případě mléčné užitkovosti je pro ukazatele dojivosti a produkce tuku stanovena stejná dědivost a to 0,29. U obsahu tuku v mléce má dědivost vyšší hodnotu a to 0,47 (Samková, 2012).

## **2.8 Plemenná hodnota (PH)**

Pro odhad plemenné hodnoty existují složité matematicko-statistické modely, které se vyznačují především tím, že je zapotřebí odborných znalostí genetických a biometrických a jsou zároveň náročné na výpočetní techniku. Předpokladem pro odhad plemenné hodnoty je kontrola užitkovosti (Skládanka, 2014).

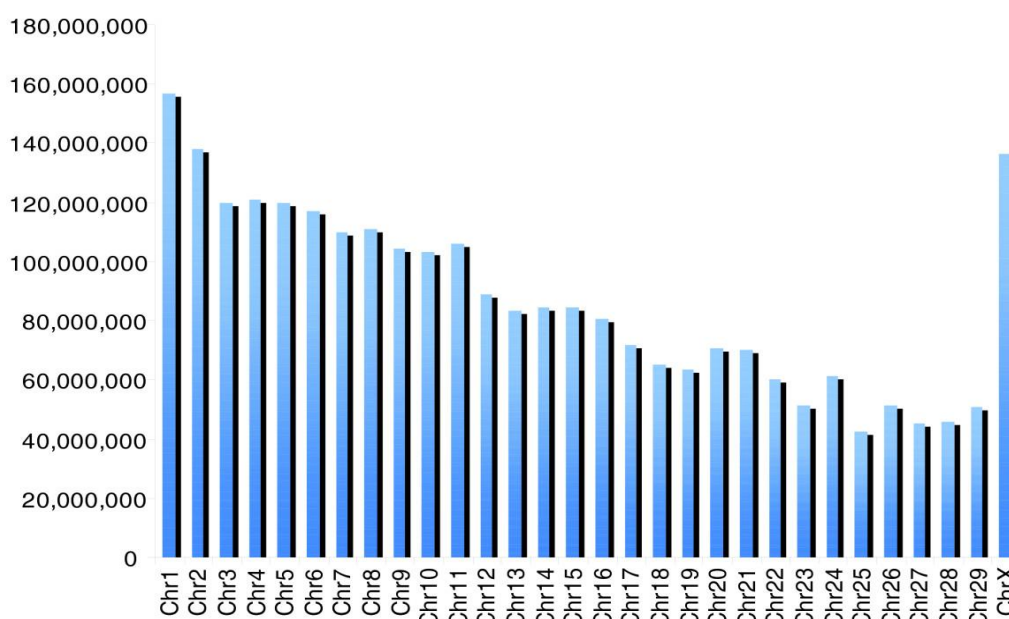
V současnosti se při odhadu plemenných hodnot používají komplexní matematické modely, které nám v jednom kroku očisťují celkovou užitkovost od systematických i náhodných vlivů a zároveň zohledňují příbuzenské vztahy mezi jedinci. Jde o smíšené lineární modely, konkrétně BLUP- AP (Best Linear Unbiased Prediction – Animal Model) (Skládanka, 2014).

## 2.9 Genom skotu

Genom je souhrnné genetické založení organismu – znamená to, že jde o veškeré genetické informace kódované v řetězci nukleových kyselin uloženými v buněčném jádře (Beran, 2009).

Celkem bylo shromážděno a přečteno 35 milionů sekvencí, které za použití pomocné techniky vytváří 2,86 miliard párů bází. Celková sestava genomu skotu obsahuje 2 857 605 192 párů bází, z nichž 2 612 820 649 párů bází je umístěno na jednom z 30 chromosomů (29 autosomů a 1 pohlavní chromosom). Graf č. 1 ukazuje počet párů bází umístěných na každém chromosomu (Zimin a kol., 2009).

Graf č. 1 - Počet párů bází na chromosomu (Zimin a kol., 2009)



Poznání genomu skotu bylo velice složité a pracovalo na něm více jak 300 vědců z 25 zemí a trvalo zhruba 6 let (Beran a Marcinková, 2011). Jedna a ta samá data získaná sekvencí genomu skotu byla složena dohromady dvěma různými týmy. Tým na Baylor College rekonstruoval z přečtených úseků genom označovaný jako BCM4 a na Universitě v Marylandu sestavili ze stejných dat genom s kódovým označením UMD2 (Petr, 2010). Celkem bylo dokončeno popsání a analyzování 22 000 genů. Díky tomuto výzkumu se povedlo přidat skot do skupiny savců, jejichž genom byl kompletně sekvenován a popsán (Beran a Marcinková, 2011).

### **2.9.1 BCM4**

Genom BCM4 je poslední verzí předchozích kompletací genomu skotu označených jako BCM1, BCM2 a BCM3.1. Měl by být přesnější jak jeho předchůdci, a to zvláště v tzv. repetitivních sekvencích, kde se určité úseky mnohokrát opakují. Pro kompletaci genomu BCM4 byly použity výsledky sekvence DNA býka a jeho dcery. To s sebou zákonitě nese sníženou přesnost čtení sekvencí chromosomu Y, který byl v daném souboru přítomen jen v jednom „výtisku“ (u býka). Chromosomy X byly k dispozici hned tři. Dva u dcery s konstelací pohlavních chromosomů XX a jeden u jejího otce s pohlavními chromosomy XY. Genom BCM4 má u 90 % všech sekvencí určeno, na kterém se nacházejí chromosomu. Celkem je v něm zkompletována DNA obsahující 2,54 miliardy bází a pokryto je odhadem 95 % všech genů. Identifikováno bylo 17 482 SNP a přesnost jejich odhalení se odhaduje na 99, 2% (Petr, 2010).

### **2.9.2 UMD2**

Pro kompletaci genomu UMD2 na Univerzitě v Marylandu byly použity poněkud odlišné postupy. Celkem se podařilo zkompletovat 2,86 miliard bází a z nich 91% má určeno, na kterém se nacházejí chromosomu. V genomu UMD2 byly identifikovány i některé sekvence z chromosomu Y. Genom UMD2 má mnohem méně „mezer“. Lze to demonstrovat například u sekvencí, jejichž poloha byla určena na pohlavním chromosomu X. Zatímco genom BCM4 pokryl v chromosomu X jen 83 milionů bází, v genomu UMD2 byla na chromosomu X identifikována poloha 136 milionů bází. Celkově se odhaduje, že genom BCM4 má třikrát více chyb než genom UMD2 (Petr, 2010).

Velmi překvapující byl poznatek, že bovinní genom je mnohem podobnější tomu lidskému než třeba myší nebo potkaní. Genom skotu obsahuje, již výše zmíněných, 22000 genů a přitom 80 % svých genů sdílí s člověkem. Dalším důležitým objevem je, že se více chromosomů skotu shoduje s částmi nebo celými lidskými chromosomy, i když je v nich DNA v některých úsecích přeskupena trochu jiným způsobem (Beran, 2009).

Zajímavé výsledky přinesl i výzkum lokalizace genů, jejichž exprese se podílí na mléčné užitkovosti. Byla potvrzena existence čtyř velkých skupin genů, které se vyskytují v genomu v těsné blízkosti. Jde o geny pro kaseiny, imunoglobuliny, fibrinogeny a proteiny podílející se na tvorbě tukových globulí. Ostatní geny pro mléčné proteiny se v podobných skupinách nevyskytují. Spíše je můžeme najít „přidružené“ k dalším genům regulujícím laktaci. Takové uspořádání je zřejmě výhodné pro vzájemnou dokonalou koordinaci exprese těchto genů (Petr, 2010).

## 2.10 Genetické markery

Genetický marker je gen, nebo úsek chromosomu, jehož umístění na chromosomu je známé a používá se jako orientační bod v mapování nových mutací (Rosypal, 2001).

Je to vysoce polymorfní znak, který vykazuje mendelistickou kodominantní dědičnost, je snadno a jednoznačně detekovatelný. Molekulárně-genetické markery mají proti klasickým tyto výhody (Knoll, Vykoukalová, 2002):

- a) jsou početné a relativně snadno identifikovatelné
- b) vysoce informativní mohou být typovány z malého množství tkáně v libovolném věku jedince (včetně embryí nebo po smrti jedince)
- c) DNA může být dlouhodobě archivována a lze se tak k analýze opakovaně vracet i po několika letech

Rozdělení markerů dle využití při mapování genomu (Knoll, Vykoukalová, 2002):

- I. typ – kódující exprimované geny, mohou být kandidátními geny pro QTL. Mají nízkou hladinu polymorfismu, jsou málo použitelné pro studie diverzity rodin a populací. Využívají se ale významně v komparativním, tedy srovnávacím mapování.
- II. typ – vysoce variabilní sekvence DNA. Zde se využívají především mikro a minisatelity. Vlivem vysokého stupně polymorfismu jsou mikrosatelity vysoce informativní v populačních studiích a při určování rodičovství,

jsou základem pro vazbové mapování genů. Tyto markery nemají přímo vliv na variabilitu znaku, ale mohou být ve vazbě s QTL).

III. typ – jednonukleotidové polymorfismy (SNP), které mohou ležet uvnitř kódujících genů, ale častěji v nekódujících intronech nebo intergenových oblastech. Jsou využitelné pro populační a rodinné studie. Vyskytují se v genomu přibližně každých 500 – 1000 bp. Význam získávají s rozvojem automatických metod screeningu (microarrays).

Rozdělení markerů dle charakteru svého polymorfismu (Knoll, Vykoukalová, 2002):

- a) polymorfismus délky restričních fragmentů (RFLP – restriction fragment length polymorphism)
- b) polymorfismus v délce sekvence (SSLP – simple sequence length polymorphism). Zahrnuje mikrosatelity a minisatelity. Sem patří i vzácně se vyskytující delece nebo inzerce v intronové části způsobené např. transpozony.
- c) polymorfismus jednotlivých nukleotidů (SNP – single nucleotide polymorphism). Jedná se o bodové mutace. Některé mohou být detekovány jako RFLP. V případě, že neexistuje rozpoznávací místo pro restriktázu, lze k detekci použít DGGE nebo SSCP, případně pouze sekvencování. Většinou jsou to bialelické markery.

Polymorfni molekulární markery jsou velmi užitečné pro odhad příbuznosti mezi jednotlivci a zjištění jejich původu, analýzy jsou nyní široce používány ve většině taxonů (Garant, Kruuk, 2005).

## **2.11 Kandidátní lokusy**

Kvantitativní užitkové vlastnosti zvířat jsou ovlivňovány množstvím genů malého účinku, některé geny však mohou mít větší vliv. Geny, které mají efekt na ekonomicky významné produkční vlastnosti, označujeme jako kandidátní geny (Mátlová a Sztankóová, 2010). Původně byly kandidátní geny studovány z důvodů



zjištění příčin onemocnění (Tabor a kol., 2002). Kandidátní geny jsou obecně geny se známou biologickou funkcí, přímo nebo nepřímo upravující vývojové procesy zkoumaných vlastností (Zhu a Zhao, 2007). Geny umístěné v těsné blízkosti vedle sebe na jednom nepohlavním chromosomu vytvářejí shluk genů, který označujeme jako haplotyp, a který se zpravidla dědí společně. Metody detekce těchto genů mají potenciál pro ovlivňování fyziologických procesů (např. syntézu mléčných proteinů). Na jejich základě je možné určit alelu, která má za následek žádoucí fenotypový projev, například lepší sýřitelnost (Mátlová a Sztankóová, 2010).

Marker sám o sobě nemusí užitkové vlastnosti ovlivňovat, ale může být ve vazbě s genem, jenž některý znak ovlivňuje (Mátlová a Sztankóová, 2010). Identifikace polymorfních míst a vyhodnocení rozdílů alel kandidátních genů mezi zvířaty různých fenotypových hodnot nabízí potencionální možnost identifikace markerového genu asociovaného s fenotypovou hodnotou (Urban, 2008). Pokud se vztah mezi užitkovostí a markerem prokáže, lze provést časnou selekci mezi zvířaty ještě dříve než je známá jejich vlastní užitkovost (Mátlová a Sztankóová, 2010).

Analýza kandidátních genů je obvykle nezbytný proces pro následné poziční klonování QTL ovládajících hlavní genetickou variabilitu (Zhu a Zhao, 2007).

Urban (2007) uvádí jako příklad genetického markeru identifikovaného u skotu v 1. laktaci:

#### kandidátní geny

- růstový hormon a zvýšení produkce mléka: somatotropní osa v regulaci laktace
  - GHRH (somatocinin, growth hormone releasing hormone; chr 13) a GHRHR (receptor; chr 4) – regulují GH
  - GH (růstový hormon; chr 19) a GHR (reseptor; chr 20)
- buněčně specifický transkripční faktor pro aktivaci prolaktinu (PRL) a GH genů v adenohypofýze
  - Pit-1 (Pituitary – Specific Transcription Factor) (chr. 1)
- IGF-1 (Insuline growth factor 1; chr.5) a IGF-1 receptor (chr. 21)

#### poziční klonování

- QTL na chromosomu 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 16, 18, 20, 23

Následující pasáž „ MATERIÁL A METODIKA“ o rozsahu 5 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ VÝSLEDKY A DISKUSE“ o rozsahu 12 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „ZÁVĚR“ o rozsahu 1 strany je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

## 7. Literární zdroje

1. **BARROSO, A., S. DUNNER, a J CAÑÓN (1998):** Technical note: Detection of bovine kappa-casein variants A, B, C, and E by means of polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). *Journal of Animal Science* [online]. 76(6), 1535- [cit. 2016-10-31]. DOI: 10.2527/1998.7661535x. ISSN 0021-8812. Dostupné z: <https://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/abstracts/76/6/1535>
2. **BERAN, O. (2009):** Cesta do hlubin genetiky aneb co člověku přináší poznání genomu skotu [online]. [cit. 2017-02-11]. Dostupné z: <http://bmprofit.cz/genetika1.php>
3. **BERAN, O. a A. MARCINKOVÁ (2011):** Společnost mladých agrárníků České republiky: Genetika pro šlechtění masného skotu [online]. [cit. 2017-02-11]. Dostupné z: <http://www.smacr.cz/zpravy/genetika-pro-slechteni-masneho-skotu/>
4. **BIONAZ, M. a J. J. LOOR (2008):** Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics* [online]. 9(1), 366- [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.1186/1471-2164-9-366. ISSN 1471-2164. Dostupné z: <http://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-9-366>
5. **ČÍTEK, J. (2014):** Vybrané návody k laboratorním cvičením z molekulární biologie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, ISBN 978-80-7394-443-8.
6. **DOBRZYŇ, A. a P. DOBRZYŇ (2006):** Stearoyl-CoA desaturase--a new player in skeletal muscle metabolism regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology* [online]. 57(10), 31-42 [cit. 2017-03-04].
7. **DOLEŽAL, O., J. HLÁSNÝ, F. JÍLEK, O. HANUŠ, J. VEGRICHT, J. PYTLOUN, E. MATOUŠ a J. KVAPILÍK (2000):** Mléko, dojení, dojírny. Praha: AGROSPOJ.
8. **DRBOHLAV, J. a M. VODIČKOVÁ (2002):** Tabulky látkové složení mléka a mléčných výrobků. Praha: ÚZPI-Ústav zemědělských a potravinářských informací. ISBN 80-7271-005-2.

9. **DUCHEMIN, S., H. BOVENHUIS, W.M. STOOP, A.C. BOUWMAN, J.A.M. VAN ARENDONK, M.H.P.W. VISKER, G. MASOERO a F. NAPOLITANO (2013):** Genetic correlation between composition of bovine milk fat in winter and summer, and DGAT1 and SCD1 by season interactions: Effect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk. *Journal of Dairy Science* [online].96(1), 592-604 [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.3168/jds.2012-5454. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030212007977>
  
10. **FALVELLA, F. S. (2002):** Stearoyl-CoA desaturase 1 (Scd1) gene overexpression is associated with genetic predisposition to hepatocarcinogenesis in mice and rats. *Carcinogenesis* [online]. 23(11), 1933-1936 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1093/carcin/23.11.1933. ISSN 14602180. Dostupné z: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/23.11.1933>
  
11. **FARRELL, H.M., R. JIMENEZ-FLORES, G.T. BLECK, .M. BROWN, J.E. BUTLER, L.K. CREAMER, C.L. HICKS, C.M. HOLLAR, K.F. NG-KWAI-HANG a H.E. SWAISGOOD (2004):** Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*[online]. 87(6), 1641-1674 [cit. 2016-10-31]. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73319-6. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030204733196>
  
12. **GARANT, D. a L. E. B. KRUIK (2005):** How to use molecular marker data to measure evolutionary parameters in wild populations. *Molecular ecology* [online]., vol. 14, issue 7, s. 1843-1859 [cit. 2014-11-17]. DOI: 10.1111/j.1365294X.2005.02561.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-294X.2005.02561.x>
  
13. **HANUŠ, O., E. SAMKOVÁ, J. ŠPIČKA, L. HASOŇOVÁ , R. KALA , Z. KLÍMOVÁ, P. KOPUNECZ a J. KOPECKÝ (2015):** Mlékařské listy: Porovnání metod používaných při stanovení zastoupení zdravotně významných mastných kyselin mléčného tuku v bazénových vzorcích mléka dojníc [online]. (151) [cit. 2017-03-26]. Dostupné z: <http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2015/151-xii-xv.pdf>
  
14. **HANUŠ, O., E. SAMKOVÁ, J. ŠPIČKA, P. ROUBAL, J. FRELICH, M.**

- ŠLACHTA, L. KŘÍŽOVÁ, T. PELIKÁNOVÁ, M. VYLETĚLOVÁ a R. SEYDLOVÁ (2012):** Doporučené postupy pro rozvoj chovu dojníc s cílem produkovat mléko jako potravinovou surovinu s vyšším zastoupením zdravotně prospěšných mastných kyselin mléčného tuku [online]. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., Rapotín, [cit. 2017-03-03]. ISBN 978-80-904348-1-3.
15. **HOFÍREK, B. (2009):** Nemoci skotu. Brno: Noviko, ISBN 978-80-86542-19-5.
16. **JAKUBEC, V., a J. BEZDÍČEK (2010):** Selekce - inbríding - hybridizace. 1. vyd. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, ISBN 978-802-6007-036
17. **JANDUROVÁ, O., M. ŠTÍPKOVÁ a B. KOTTOVÁ (2002):** Polymorfismus alel mléčných bílkovin u skotu a šlechtění na kvalitu mléčné bílkoviny. *Náš chov*. LXII.(8), 27-30. ISSN 002. Dostupné z: <http://profipress.cz/archiv/nas-chov-82002/?text=Polymorfismus%20alel%20ml%C3%A9%C4%8Dn%C3%BDch%20b%C3%ADlkovin%20u%20skotu%20a%20%C5%A1lecht%C4%9Bn%C3%AD%20na%20kvalitu%20ml%C3%A9%C4%8Dn%C3%A9%20b%C3%ADko%20viny#page/27>
18. **JELÍNEK, P., a K. KOUDELA (2003):** Fyziologie hospodářských zvířat. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, ISBN 80-7157-644-1.
19. **JENKINS, T.C. a M.A. MCGUIRE (2006):** Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *Journal of Dairy Science* [online]. 89(4), 1302-1310 [cit. 2017-04-17]. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72198-1. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030206721981>
20. **KNOLL, A., a Z. VYKOUKALOVÁ (2002):** Molekulární genetiky zvířat: (metody detekce polymorfizmů DNA genů). vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-715-7616-6
21. **KOPECKÝ, J. (1981):** Chov skotu: velká zootechnika. 1. vyd. Praha: SZN, 500 s.
22. **KOUŘILOVÁ, L., R. KOSINOVÁ a L. BABIČKA (2007):** Když se mluví o kravském mléce. *Náš chov*. LXVII.(5), 108-113. ISSN 0027-8068. Dostupné z:

<http://profipress.cz/archiv/nas-chov-52007/?text=kaseiny%20v%20kravsk%C3%A9m%20ml%C3%A9ce#page/109>

23. **KUCIEL, J. a T. URBAN (2016):** Principy genetiky. 1. vydání. Brno: Mendelova univerzita v Brně, ISBN 978-80-7509-385-1. - z citace.com
24. **KUČEROVÁ, J., E. NĚMCOVÁ a M. ŠTÍPKOVÁ (2004):** The influence of markers CSN3 and ETH10 on milk production parameters in Czech Pied cattle *Journal of Central European Agriculture* [online]. 5(4), 303-308 [cit. 2016-11-03]. Dostupné z: <http://hrcak.srce.hr/ojs/index.php/jcea/article/view/230>
25. **LI, C., D. SUN, S. ZHANG, L. LIU, M. A. ALIM, Q. ZHANG, G. MASOERO a F. NAPOLITANO (2013):** A post-GWAS confirming the SCD gene associated with milk medium- and long-chain unsaturated fatty acids in Chinese Holstein population: Effect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk. *Journal of Dairy Science* [online]. 96(1), 592-604 [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.1111/age.12432. ISBN 10.1111/age.12432. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/age.12432>
26. **LOUDA, F., L. STÁDNÍK, A. HEJTMÁNKOVÁ a R. TOUŠOVÁ (2000):** Agris.cz - agrární www portál: Faktory ovlivňující obsah nenasycených mastných kyselin v mléce [online]. [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: [http://www.agris.cz/zemedelstvi?id\\_a=109751](http://www.agris.cz/zemedelstvi?id_a=109751)
27. **LOUDA, F. (1994):** Základy chovu mléčných plemen skotu. Ilustroval O. Procházka. Praha: Institut výchovy a vzdělávání ministerstva zemědělství České republiky. Živočišná výroba (Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR). ISBN 80-7105-070-9.
28. **MANGA, I., J. ŘÍHA a I. VRTKOVÁ (2008):** Polymorphism of CSN3, Pit-1, LGB and its impact on milk performance traits at the Czech Fleckvieh and Holstein breed. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* [online]. 56(1), 131-136 [cit. 2016-11-03]. DOI: 10.11118/actaun200856010131. ISSN 1211-8516. Dostupné z: <https://acta.mendelu.cz/56/1/0131/>
29. **MARVAN, F. a kol. (1998):** Morfologie hospodářských zvířat. Vyd. 2. Praha: Brázda, ISBN 80-209-0273-2.



30. **MATĚJÍČKOVÁ, J., M. ŠTÍPKOVÁ, J. BOLEČKOVÁ, J. ŠEFROVÁ a M. KREJČOVÁ (2010):** Využití haplotypů genů mléčných bílkovin pro zlepšení technologické kvality mléka u českého strakatého skotu: certifikovaná metodika. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, ISBN 9788074030567.
31. **MATĚJÍČKOVÁ, J. a kol. (2009):** Využití genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvality mléka u českého strakatého skotu: metodika. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, ISBN 9788074030345.
32. **MÁTLOVÁ, V. a Z. SZTANKÓOVÁ (2010):** Využití polymorfismu genů mléčných bílkovin pro zlepšení kvalitativních a technologických vlastností mléka koz: certifikovaná metodika. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, ISBN 9788074030765.
33. **MEDRANO, J. F. a E. A. CORDOVA (1990):** Genotyping of Bovine Kappa-Casein Loci Following DNA Sequence Amplification. *Bio/Technology* [online]. 8(2), 144-146 [cit. 2016-10-31]. DOI: 10.1038/nbt0290-144. ISSN 0733-222x. Dostupné z: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nbt0290-144>
34. **MELE, M., G. CONTE, B. CASTIGLIONI, S. CHESSA, N.P.P. MACCIOTTA, A. SERRA, A. BUCCIONI, G. PAGNACCO, P. SECCHIARI (2007):** Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Gene Polymorphism and Milk Fatty Acid Composition in Italian Holsteins. *Journal of Dairy Science* [online]. 90(9), 4458-4465 [cit. 2017-03-05]. DOI: 10.3168/jds.2006-617. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207719082>
35. **MOIOLI, B., G. CONTARINI, A. AVALLI, G. CATILLO, L. ORRÙ, G. DE MATTEIS, G. MASOERO a F. NAPOLITANO (2007):** Short Communication: Effect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk. *Journal of Dairy Science* [online]. 90(7), 3553-3558 [cit. 2017-04-20]. DOI: 10.3168/jds.2006-855. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207718064>
36. **MUDŘÍK, Z. a B. HUČKO (2001):** Vliv výživy a krmení dojníc na kvalitu mléka. In: *AGRIS Agrární www portál* [online]. [cit. 2016-10-31]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/108624/vliv-vyzivy-a-krmeni-dojnic-na-kvalitu->

mleka

37. **NAVRÁTILOVÁ, P. a B. JANŠTOVÁ (2014):** Produkce mléka a technologie mléčných výrobků ISBN 978-80-7305-713-8 – nefunkční (<http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/realizovane-klicove-aktivity/skripta/ls-2013-2014/produkce-mleka-a-technologie-mlecnych-vyrobku.doc>) 16.2.2016
38. **PALMQUIST, D. L. (2006):** Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids [online]. Boston, MA: Springer US, **90**(9), 43 [cit. 2017-03-14]. DOI: 10.1007/0-387-28813-9\_2. ISBN 978-0-387-26364-9. ISSN 00220302. Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/0-387-28813-9\\_2](http://link.springer.com/10.1007/0-387-28813-9_2)
39. **PETR, J. (2010):** Co odhalil genom skotu. *Náš chov*. LXX.(1), 52-54. ISSN 0027-8068. Dostupné z: <http://profipress.cz/archiv/nas-chov-012010/?text=genom%20skotu#page/52>
40. **REECE, W. O. (1998):** Fyziologie domácích zvířat. 1. vyd. Praha: Grada, ISBN 80-7169-547-5.
41. **REECE, W. O. (2011):** Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3282-4.
42. **ROSYPAL, S. (2001):** Terminologie molekulární biologie: české odborné termíny, jejich definice a anglické ekvivalenty. 1. vyd. Brno: Stanislav Rosypal, ISBN 80-902-5623-6.
43. **ŘEHOUT, V. E. HRADECKÁ a J. ČÍTEK (2005):** Genetika II. 1. vyd. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, 189 s. ISBN 80-704-0774-3.
44. **SAMKOVÁ, E. (2012):** Mléko: produkce a kvalita: Milk: production and quality : vědecká monografie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta ISBN 978-80-7394-383-7.
45. **SAMKOVÁ, E., M. PEŠEK a J. ŠPIČKA (2008):** Mastné kyseliny mléčného tuku skotu a faktory ovlivňující jejich zastoupení: vědecká monografie = Fatty acids of cow milk fat and factors affecting their composition : a review. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-104-8.

46. **SCHENNINK, A., W.M. STOOP, M.H.P.W. VISKER, J.J. VAN DER POEL, H. BOVENHUIS, J.A.M. VAN ARENDONK, A. OGINO a S. TSUJI (2009):** Short communication: Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. II. Quantitative trait loci for long-chain fatty acids. *Journal of Dairy Science* [online]. **92**(9), 4676-4682 [cit. 2017-03-04]. DOI: 10.3168/jds.2008-1965. ISBN 10.3168/jds.2008-1966. ISSN 00220302. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030209707957>
47. **SKLÁDANKA, J. (2014):** Chov strakatého skotu. Brno: Mendelova univerzita v Brně, ISBN 978-80-7509-258-8.
48. **SLAVÍK, P., J. ILLEK, M. MATĚJÍČE a Z. KLOUDA (2004a):** Veterinářství: Obsah tuku v mléce jako ukazatel zdravotního stavu dojnic a úrovně výživy [online]. [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://vetweb.cz/obsah-tuku-v-mlece-jako-ukazatel-zdravotniho-stavu-dojnic-a-urovne-vyzivy/>
49. **SLAVÍK, P., J. ILLEK, M. MATĚJÍČEK a Z. KLOUDA (2004b):** Veterinářství: Mléko jako ukazatel zdraví dojnic – bílkoviny [online]. [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://vetweb.cz/mleko-jako-ukazatel-zdravi-dojnic-bilkoviny/>
50. **STOOP, W.M., A. SCHENNINK, M.H.P.W. VISKER, E. MULLAART, J.A.M. VAN ARENDONK, H. BOVENHUIS, A. OGINO a S. TSUJI (2009):** Genome-wide scan for bovine milk-fat composition. I. Quantitative trait loci for short- and medium-chain fatty acids. *Mammalian Genome* [online]. **15**(2), 142-148 [cit. 2017-03-04]. DOI: 10.3168/jds.2008-1966. ISBN 10.3168/jds.2008-1966. ISSN 0938-8990. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19700730>
51. **TABOR, H. K., N. J. RISCH a R. M. MYERS (2002):** Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nature Reviews Genetics* [online], **3**(5), 391-397 [cit. 2017-02-19]. DOI: 10.1038/nrg796. ISSN 14710056. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrg796>
52. **TANIGUCHI, M., T. UTSUGI, K. OYAMA, H. MANNEN, M. KOBAYASHI, Y. TANABE, A. OGINO a S. TSUJI (2003):** Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese

- Black cattle. Mammalian Genome [online]. 15(2), 142-148 [cit. 2017-03-04]. DOI: 10.1007/s00335-003-2286-8. ISSN 0938-8990. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00335-003-2286-8>
53. **URBAN T. (2008):** Virtuální svět genetiky 3 - principy genetiky populací a kvantitativních znaků [online]. Brno, [cit. 2017-02-19]. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/urban/vsg3/ctl/ctl5.html>
54. **URBAN, F. (1997):** Chov dojeného skotu: [reprodukce, odchov, management, technologie, výživa]. Praha: Apros, ISBN 80-901100-7-X.
55. **URBAN, T. (2006):** Genetika skotu, ovcí a koz [online]. Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat MZLU v Brně, [cit. 2016-11-03]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/pcentrum/publikace/21\\_genetika\\_skotu\\_ovci\\_koz.pdf](http://web2.mendelu.cz/pcentrum/publikace/21_genetika_skotu_ovci_koz.pdf)
56. **VESELÁ Z. (2013):** Situační a výhledová zpráva: Mléko. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR v Agrospoji. ISBN 978-80-7434-121-2.
57. **ZHU, M. a S. Zhao (2007):** Candidate Gene Identification Approach: Progress and Challenges. International Journal of Biological Sciences [online]. 3(7), 420-427 [cit. 2017-02-19]. DOI: 10.7150/ijbs.3.420. ISSN 1449-2288. Dostupné z: <http://www.ijbs.com/v03p0420.htm>
58. **ZIMIN, A., V, A. L DELCHER, L. FLOREA, a kol. (2009):** A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. Genome Biology [online], 10(4), R42- [cit. 2017-02-11]. DOI: 10.1186/gb-2009-10-4-r42. ISSN 1465-6906. Dostupné z: <http://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2009-10-4-r42>