

SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
ÁLLATTUDOMÁNYI TANSZÉK

Konzulens:

DR. GULYÁS LÁSZLÓ

egyetemi docens

DR. TEMPFLI KÁROLY

egyetemi docens

A TEHÉNTÉJ β -KAZEIN POLIMORFIZMUSÁNAK VIZSGÁLATA EGY GYŐR-
MOSON-SOPRON MEGYEI HOLSTEIN-FRÍZ TENYÉSZETBEN

TDK dolgozat

Készítette:

MÉSZÁROS ZSÓFIA

Mosonmagyaróvár

2021

Tartalom

1. Bevezetés és célkitűzés	2
2. Irodalmi áttekintés	3
2.1. Magyarország szarvasmarhatenyésztésének története	3
2.2. Magyarország szarvasmarha állománya	4
2.3. Magyarország tehénállománya	5
2.4. Tejtermelés Magyarországon	6
2.5. A holstein-fríz fajta	7
2.6. A tejtermelés mutatói	10
2.7. A tej minőségének mutatói	11
2.8. A tej beltartalmi értékei	11
2.8.1. Ásványi anyagok	12
2.8.3. Tejszír	12
2.8.4. Tejfehérje	13
2.8.5. Tejfehérje típusok	13
2.9. Genomikai módszerek a szarvasmarha tenyésztésben	18
3. Anyag és módszer	20
3.1. Az alkalmazott vizsgálati módszerek bemutatása	22
3.1.1. Polimeráz láncreakció (PCR)	22
3.1.2. Spektrofotométer	24
3.1.3. Az RFLP módszer	25
4. Vizsgálati eredmények és azok értékelése	27
4.1. A tehenek β -kazein tejfehérje A1/A2 allél- és genotípusgyakorisága	28
4.2. A laktációs tejtermelés és a genotípusok közötti összefüggés	29
4.3. Zsír és fehérje termelés, valamint a genotípusok közötti összefüggés	30
4.4. Bikaivadék csoportok teljesítménye az ismert genotípusok függvényében	32
5. Következtetések, javaslatok	37
6. Felhasznált irodalmak jegyzéke	39

1. Bevezetés és célkitűzés

Hazánkban a szarvasmarha tenyésztés mindig fontos szerepet töltött be, de napjainkban megnőtt a kereslet azokra a termékekre, amikkel a tejet, illetve a tejtermékeket ki tudják váltani a fogyasztók, mivel a lakosságban megnőtt azok száma, akik a tej valamilyen összetevőjére allergiás reakciót mutatnak. Úgy gondolom, hogy az A2-es tej részben megoldást jelenthet erre a problémára, hiszen vizsgálatok mutatták ki, hogy lényegesen egészségesebb és kevésbé vagy egyáltalán nem vált ki allergiás reakciót a fogyasztóknál.

Ez persze egy olyan dolog, amivel esetlegesen visszaélésekkel kell számolni. Ausztiában ennek már komoly piaca van és a boltok polcain kapható A2-es jelölésű tej, de kimutattak belőle nyomokban A1-es kazeint, így javasolják a teljes állományok genotípezését (*Helmut, 2021*).

Célomul azt tűztem ki, hogy egy hazai holstein-fríz tenyészetben megvizsgáljam az egyedek β -kazein polimorfizmusait és a kapcsolatukat a tehenek tej-, zsír- és fehérje termelésével. Vizsgáltam továbbá népesebb bikaivadék csoportok teljesítményét genotípusra bontva.

Úgy gondolom, hogy az A2-es tej a jövőben komoly szerepet fog kapni hazánk tejtermékelőállításában, Magyarországon van már tenyészet, ahol már β -kazein A2-es genotípusra szelektálnak és A2-es tejet állítanak elő, az erre irányuló tenyésztői munka szerintem a jövőben kiemelkedő jelentőségű lesz.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Magyarország szarvasmarhatenyésztésének története

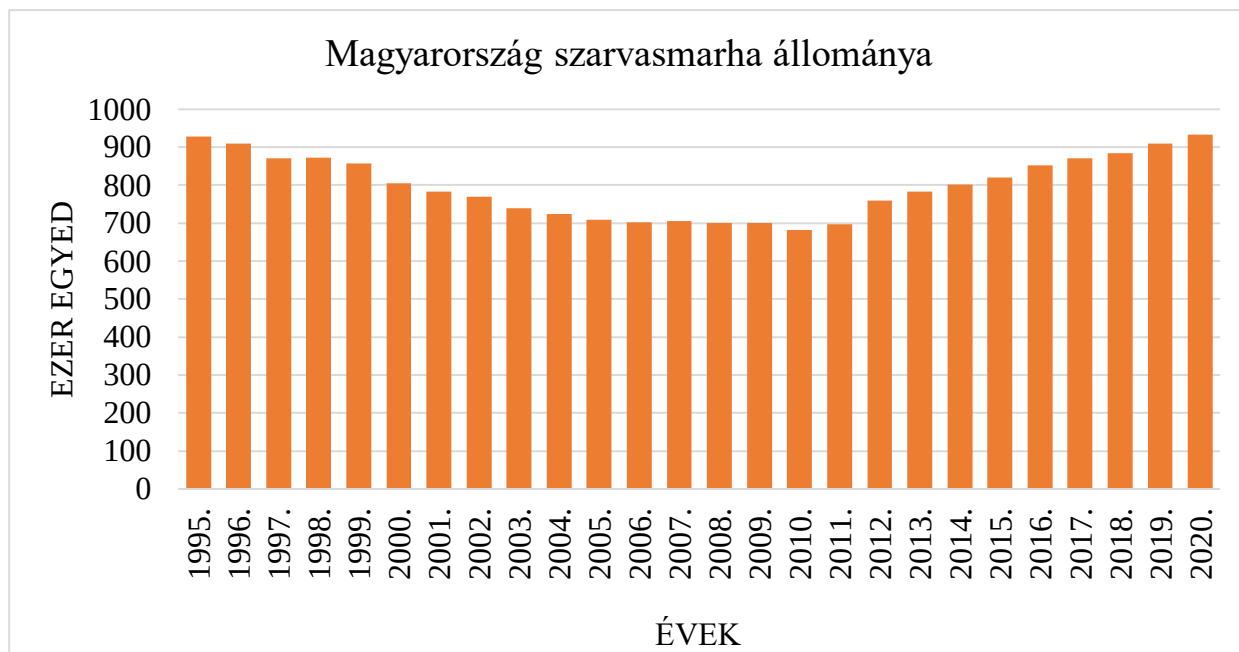
Magyarország állattenyésztése szorosan összefügg a történelmével, mely során lovat, szarvasmarhát, sertést és juhot is tartottak. A Kárpát-medence adottságai kedvezőek voltak a nomád állattartáshoz. A Habsburgok idején megemelték a szarvasmarha exportjának adóját, így szinte megszűnt az exportjuk. A történelem folyamán eleinte a leggyakrabban exportált szarvasmarha a magyar szürke marha volt, amelyet kiváló húsmínősége miatt drágábban vásároltak fel, mint a helyi fajtákat. Mikor a tejtermelés iránt nőtt a kereset, ezt a magyar szürke nem tudta kielégíteni, így elkezdődött a magyar tarka és ennek a tájfajtáinak kialakítása. A két világháború komoly károkat okozott az állattenyésztésünkben, hiszen az állatállományunk jórésze megsemmisült, ez szarvasmarhánál 55%-ra tehető. A világháborúk után az állattenyésztők újra munkához láttak és a magyar állatállomány folyamatos növekedésnek indult. Az 1980-as évek második felétől a kormány megvonta az állattenyésztés támogatását, így az majdnem összeomlott. A rendszerváltás után ismét fellendült az ágazat, de a minőség fokozatosan romlott. Magyarország 2004-ben csatlakozott az Európai Unióhoz, amely ismét fellendítette a mezőgazdaságot és ezzel az állattenyésztést (*Szűcs*, 2017).

Az 1972-es évektől elkezdődött a még magasabb tejhozam érdekében a holstein-fríz fajta behozatala egyrészt vemhes üszők útján, másrészt a magyar tarka állomány fajtaátalakító keresztezésével. Húsmarha fajták is megjelentek, mert a magyar szürkénél jobb hústermelésű fajtákat sikerült tenyészteni, így ez a hagyományos fajtánk majdnem teljesen eltűnt, így már szinte csak génmegőrzés miatt tartják (*Bene et al.*, 2015).

2.2. Magyarország szarvasmarha állománya

A következőekben Magyarország szarvasmarha állományának változásait mutatom be az 1995-ös évektől, melyet az 1. ábra szemléltet.

1.ábra: Magyarország szarvasmarha állománya



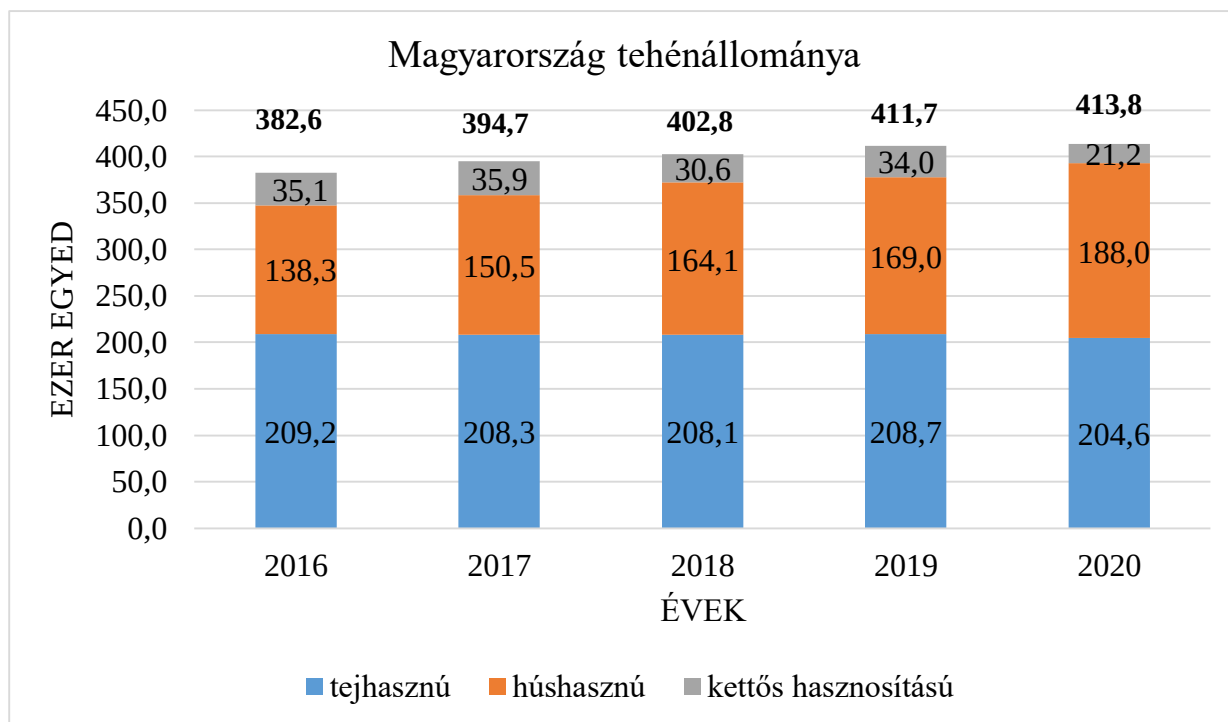
Forrás: URL¹

Az 1995-ös évben a szarvasmarha állományunk 928 ezer egyedre volt tehető. Ez az adat 2005-ig folyamatosan csökkenő tendenciát mutatott, ám 2005-től 2011-ig szinte csak stagnált, ekkor az egyed szám 700 ezer egyed körül mozgott. Ezután 2012-től folyamatosan emelkedik az állomány és 2020-ra már meghaladta az 1995-ös év állományát és 933 ezer egyedre tehető a szarvasmarha állomány.

2.3. Magyarország tehénállománya

A tehénlétszám hasznosítási irány szerinti alakulását magyarországi viszonylatban a 2. ábrán szemléltetem.

2. ábra: Magyarország tehénállományának alakulása



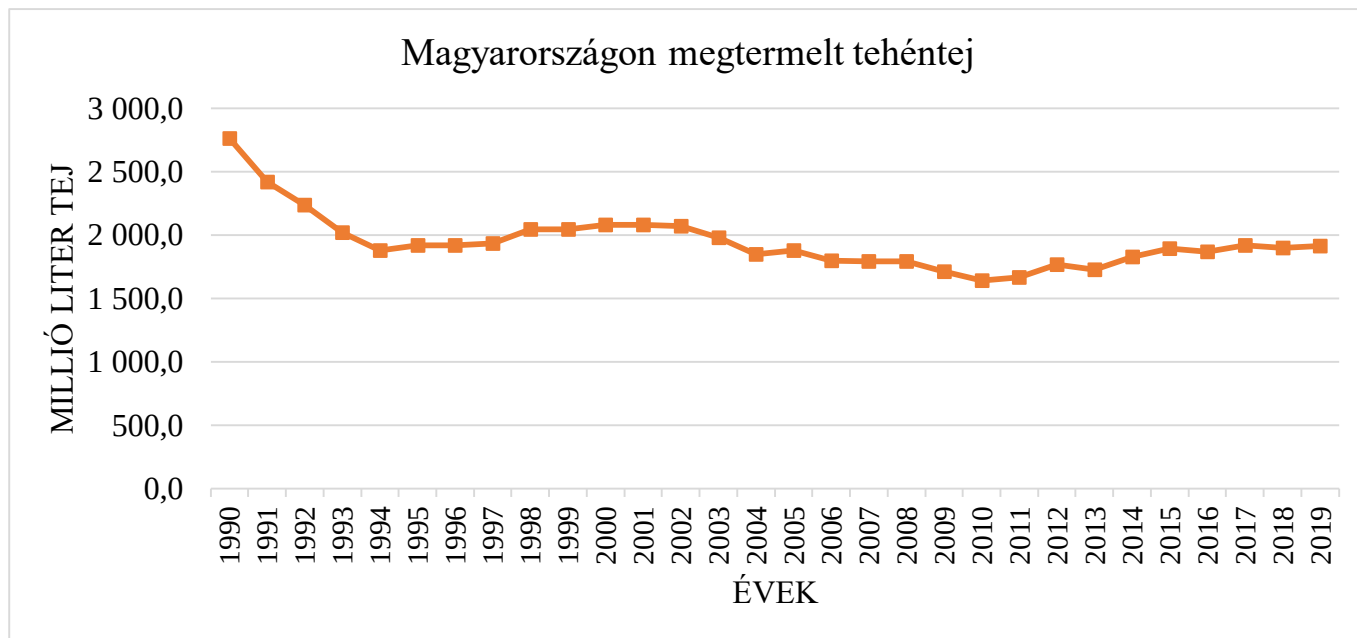
Forrás: URL²

Az ábrán látható a magyarországi tehenek hasznosítás szerinti felosztása. Kettőshasznú, húshasznú, illetve tejhasznú állományokról beszélhetünk. Megfigyelhető, hogy 2016 óta a húshasznú állomány folyamatosan növekvő tendenciát mutat, 138 ezer egyedről 188 ezer egyedre nőtt. A kettőshasznú állomány csökkenő tendenciát mutat, 35 ezer egyedről 21 ezer egyedre csökkent. A tejhasznú állomány is csökken, de drasztikus csökkenés nem tapasztalható, az állomány 209 ezer egyedről öt év alatt 204 ezer egyedre csökkent.

2.4. Tejtermelés Magyarországon

A 3. ábrán látható a Magyarországon megtermelt tehéntej millió literben megadva 1990-től 2019-ig.

3. ábra: Magyarországon megtermelt tehéntej

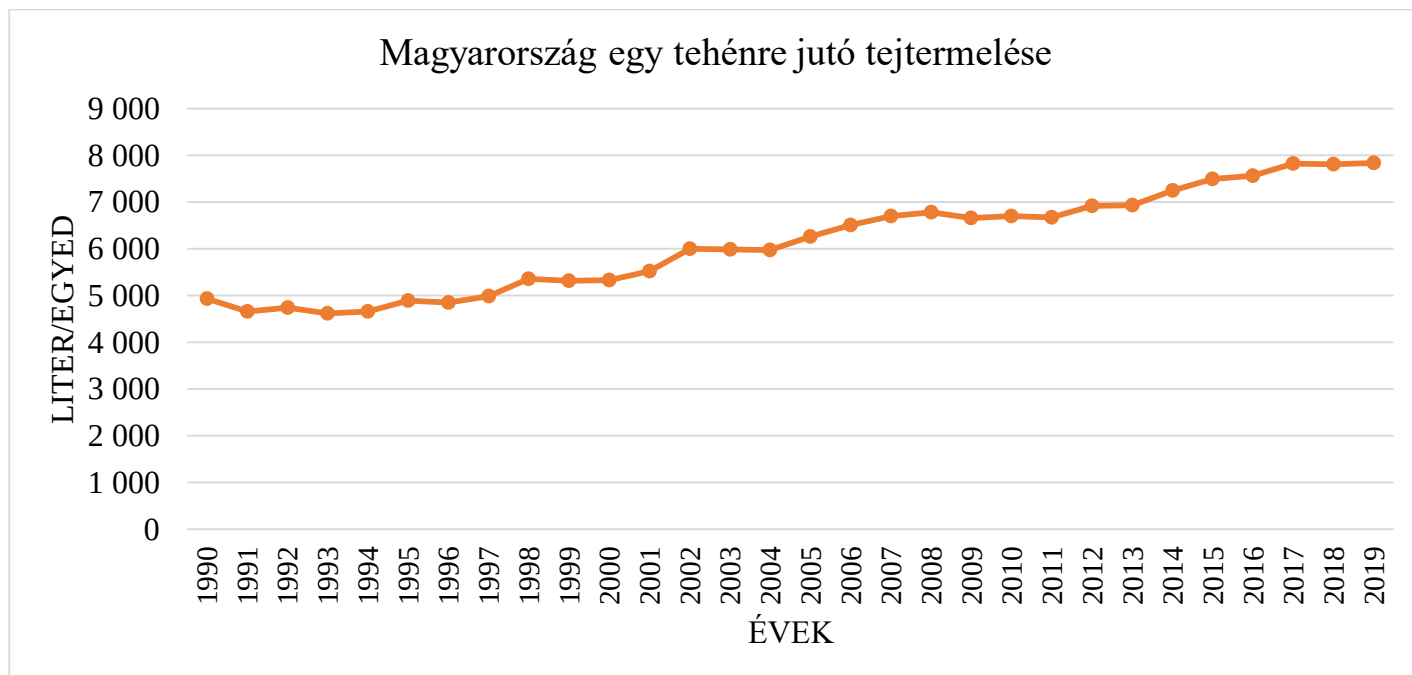


Forrás: URL³

Magyarországon 1990-ben volt az elmúlt 20 évben a legmagasabb a megtermelt tej mértéke, ez akkor 2763 millió liter tej volt. Ez 1994-ig folyamatosan csökkenő tendenciát mutatott, és 1994-ben 1878 millió liter volt, 1994 óta a megtermelt tej nagyjából stagnál, nem volt nagyobb kiugrás sem negatív sem pozitív irányban. A 2019-es évben az éves megtermelt tej 1911 millió liter volt.

A 4. ábrán látható a magyarországi egy tejelő tehénre jutó tejtermelés.

4. ábra: Magyarország egy tehénre jutó tejtermelése



Forrás: URL³

Az ábrából jól látszik, hogy az utóbbi évtizedekben növekedett az egy tehénre jutó tejtermelés. Míg 1990-ben 5000 liter/egyed volt az átlagos termelés, ez az érték 2019-re már majdnem 8000 liter/egyre emelkedett. Az egyre növekvő egy tehénre jutó tejtermelés tette lehetővé azt, hogy a hazai tejelő tehén állomány csökkenése ellenére a kibocsájtott tej mennyisége nem csökkent.

2.5. A holstein-fríz fajta

Amint minden állatfaj, úgy gazdasági állataink fajai is az állattan tudománya által használt rendszertani egységekbe sorolhatók. A legtöbb gazdasági állatunk a gerincesek törzsébe, a madarak és az emlősök osztályába és az ezek alatti alosztályba, rendbe, alrendbe, családba, alcsaládba stb. tartozik. Bár az állattan a fajt tekinti a legkisebb rendszertani egységnek, addig az állattenyésztésben ez a legmagasabb kategória, hiszen az utóbbi tudomány a faj alatti, azon belüli csoportokkal foglalkozik elsősorban (Horn, 1976).

Az 1. táblázatban bemutatott holstein-fríz fajta a legelterjedtebb tejelő szarvasmarha a nagyüzemekben. Mivel Magyarország tejfogyasztása és tejtermék fogyasztása is jelentős, ezért fontos a tenyészetekben a minél nagyobb mennyiségben előállított tej. Amint az 1. táblázatban is látható, a holstein-fríz fajta gyengébb tejszír, illetve tejfehérje termelő fajta.

1. táblázat: A holstein-fríz fajta jellemzése

Tulajdonság	Holstein-fríz
Szín	feketetarka, vagy vöröstarka
Tehén testtömege	650-750 kg
Tejmennyiség	11 000-12 000 kg
Tejszír tartalom	3,5-3,9 %
Tejfehérje tartalom	3,2-3,4 %
Gépi fejhetőség	kiváló
Perzisztencia	jó
Ellés lefolyás	közepes
Tenyésztésbevétel	12-13 hónap
Növekedési erély	közepes
Vágóérték	gyenge-közepes

Forrás: Holló és Szabó (2011); URL⁴

Az 5. ábrán egy holstein-fríz tehén látható.

5. ábra: Holstein-fríz tehén



Forrás: URL⁸

A holstein-fríz fajtát az utóbbi száz esztendőben tenyésztették ki az USA-ban és Kanadában az európai feketetarka lapáymarhából. Mivel különösen nagy a tejhozama a holstein-fríz világszerte elismert és kívánatos fajta. A világon mindenütt megtalálható. Legjobban termelő állományai Izraelben és az USA-ban vannak. Ezen kívül Németország, Olaszország, Magyarország, Dél-Afrikában, Japánban is nagymértékben rányomta bélyegét az adott ország fajta-összetételére (Holló és Szabó, 2011; URL⁴).

Színe szabálytalan fekete-, vagy vöröstarka, a fekete szín domináns a vörössel szemben. Középnagy testű, középkorán érő fajta. A kifejlett tehenek súlya 650-750 kg, a bikáké 1000-1100 kg. Tenyésztésbe vételük 12-13 hónapos korban történik, ekkor az állatok súlya 360-380 kg körüli. Magyarországra az 1972-ben egy kormányrendelet eredményeként került a fajta, az akkori, zömében magyartarka fajtájú állományok kárára, azok átkeresztézése céljából. A testalakulás tekintetében az ivari dimorfizmus jól megfigyelhető. A finom, nemes tejelő jelleg, általában hosszú és mély, viszonylag lapos mellkassal, terjedelmes hassal, szikár, vékony csontozattal, illetve terjedelmes, ideális teknő alakú tőggel párosul a tehenek esetében. A fajtára használják az önfeláldozó jelzőt, mivel a tejtermelés szintjének fenntartása érdekében saját tartalékait is mozgósíthatja. Nemesítésében a tejmenyiségre, és a jó gépi fejhetőségre törekedtek, e tulajdonságok tekintetében a fajta kitűnő. A fajta elsősorban a fogyasztói tej

előállítására alkalmas ez azt jelenti, hogy a nagy tejmenyiség (11 000-12 000 kg) egy közepes hasznosanyag-tartalommal (3,7-4,1% zsír; 3,1-3,4% fehérje) párosul, a hústermelő-képességük viszont csak közepes. Utóbbi magyarázza, hogy a borjaknak nagy a növekedési erélyük, de a vágás során a húskihozatal gyengébb. Az ellések lefolyása a tehenek esetében általában problémamentes, de az üszőknél előfordulhat nehéz ellés is. Az utóbbi évtizedben csökkent az átlagos használati hasznos élettartam, illetve a magyarországi viszonylatban az átlagos teljesített laktáció szám 2,1 és a reprodukciós tulajdonságok tekintetében is gyakoriak a zavarok. Nagy tejhozama, gépi fejésre alkalmas tögye, jó technológiai tűrése révén az ipari rendszerű tejtermelő telepek legfontosabb fajtája (*Holló és Szabó, 2011; URL⁴*).

2.6. A tejtermelés mutatói

A tehenek termelését többféle mutató alapján is nyilván tarthatjuk:

- Napi tejtermelés: Az a tejmenyiség, amit az egyed 24 óra alatt termel. Ez a mennyiség a laktáció során folyamatos változásban van.
- Laktációs tejtermelés: A laktáció időtartama alatt- elléstől a szárazra állítás időpontjáig termelt tejmenyiség.
- Standard laktáció: Az elléstől 305 napig termelt tejmenyiség. Ez nemzetközileg elfogadott mérőszám.
- FCM tejtermelés: Gainess képlettel történik a kiszámítása, a tejmenyiséget 4%-os zsírtartalomra korrigáljuk.
- Életteljesítmény: A tehén élete során termelt összes tej mennyisége.
- Istálló átlag: A tehenészetben az egy nap alatt termelt összes tejmenyiség elosztva a telepen lévő összes tehén létszámával.
- Fejési átlag: A tehenészetben egy nap alatt termelt összes tej mennyisége elosztva a fejt tehenek létszámával.
- Perzisztencia: Jól perzisztálónak tekinthető az a tehén, amely laktációja alatt egyenletesen termel tejet. A tejtermelés az első 60 napban éri el a maximumot, ezután fokozatosan csökkenni kezd. A jól perzisztáló tehén laktációs görbéje harang görbét mutat (*Holló et al., 2016*).
- Laktációs görbe: a laktációs görbe alkalmas az egyenletes vagy egyenetlen termelés kifejezésére. Ha a laktációs tejtermelés 3-szor 100 napra bontjuk, vizsgálható az, hogy

mennyivel termelt többet vagy kevesebbet a tehén az adott időszakokban, az így kapott értékekkel kifejezhető a perzisztálás minősége (*Kecskés et al.*, 1955).

2.7. A tej minőségének mutatói

Szomatikus sejtszám (SCC): A tej minőségét nagyban meghatározza a sejtes elemek jelenléte. Ezek általában vagy a tőgy szöveteiből (főleg epithel sejtek) vagy a vérből (leukociták, eritrociták és fagociták) kerülhetnek a tejbe. Az SCC megnövekedése jelezhet számunkra esetleges tőgygyulladást. Ennek az értéknek az élelmezésügyi határértéke 400 000 sejt/cm³ tej (*Szabó és Polgár*, 2013; *Szajkó*, 1984).

Csíraszám: Az élelmiszernek szánt tej maximális összecsíraszama maximum 100 000 Cfu/cm³. Ezek a baktériumok leggyakrabban a nem megfelelő higiénias előírások miatt kerülnek a tejbe.

Fontos követelmény, hogy a tejben ne forduljanak elő erjedést gátló anyagok (ilyen anyagok például a fejőeszközök tisztítására, fertőtlenítésére használt készítmények, antibiotikumok, gyógyszer-maradványok).

A tej fizikai jellemzői:

- sűrűség: 1028 – 1033 g/l
- fagyáspont: -0,52 – -0,59 °C
- forráspont: 100,16 °C
- pH: 6,6 – 6,75
- savfok: 6,0 – 7,2 (*Szabó és Polgár*, 2013).

2.8. A tej beltartalmi értékei

A tej tipikus polidiszperz rendszer, melynek víztartalma 84-88% között mozog. A tej 12-16%-át a szárazanyag teszi ki, amit a tejcukor, tejfehérje, tejszír, az ásványi anyagok és a vitaminok adnak. Ezen alkotórészek határozzák meg a tej tejipari felhasználhatóságát (*Holló et al.*, 2016).

2.8.1. Ásványi anyagok

A tej rendkívül gazdag ásványi anyagokban. Bár sokféle ásványi anyag található benne, a legfontosabbak a kalcium, a kálium, a magnézium, illetve a szelén. Napi 0,2 liter tej elfogyasztása fedezi egy 70 kg-os felnőtt kalcium bevitelének 30 %-át (Kukovics *et al.*, 2009). A tej átlagos ásványi anyag tartalma 0,6 – 0,8 %, ám ez a tejsír tartalom függvényében változhat (Holló *et al.*, 2016).

2.8.2. Tejcukor

A tejben viszonylagosan állandó mértékben, 4,5 – 4,7 %-ban van jelen. Szerepe van a tőgy ozmotikus nyomásának beállításában, csökkenése tőgygyulladásra utalhat. A tejcukor különböző savanyú tejtermékek, illetve sajt gyártás során a technológiában használatos mikrobák táplálékául szolgál (Kukovics *et al.*, 2009).

2.8.3. Tejsír

A tej egyik legfontosabb alkotóeleme, mennyisége 3 – 6 % között mozog. Különböző tejtermékek alapanyaga, mint pl. a vaj, tejföl, tejszín és a zsírosabb sajtok, így előnyös lehet, ha a tejiparhoz kerülő tej magas zsírtartalmú. A tej zsírtartalmát több tényező befolyásolhatja: függ a mennyisége az egyed fajtájától, az egyed genetikájától, a laktáció szakaszától, a fejés idejétől (adott napi első fejésnél alacsonyabb %), sőt a fejés végén magasabb a kifejt tej zsírtartalma, mint annak kezdetekor (Holló *et al.*, 2016; Kukovics *et al.*, 2009).

Megkülönböztetünk ún. ipari tejet termelő szarvasmarha fajtákat (4,5 % feletti tejsír) és fogyasztói tejet termelőket (3,5 – 4 %). Előbbire jó példa a jersey, utóbbira pedig a holstein-fríz fajta. A nagy rosttartalmú takarmányok növelik a tej zsírtartalmát, a lédús vagy abraktakarmányok pedig csökkenthetik (Holló *et al.*, 2016).

2.8.4. Tejfehérje

A tejfehérje fontos szerepet tölt be az állati-fehérje szükségletünk biztosításában. A tej 2,8 – 4,5 %-át teszi ki. Változékonysága kisebb, mint a zsírtartalomé. A környezeti tényezők kevésbé befolyásolják. A tejfehérje % és a tejszír % között pozitív korreláció van. A tejfehérjét kétféle fehérje típus alkotja: általában 80 %-a kazein, 20 %-ban pedig savófehérje.

A kazeint további típusokba oszthatjuk. Létezik alfa (α_1 -CN, α_2 -CN), béta és kappa kazein, valamint a gamma kazein, amely a lényegében a béta kazein degradációjakor jön létre (Kamiński et al., 2010). A tejből készült sajtok minőségét ezek a típusok befolyásolják. A legkedvezőbb sajtkészítési szempontból a béta kazein B típus, illetve a kappa kazein B típus (Holló et al., 2016).

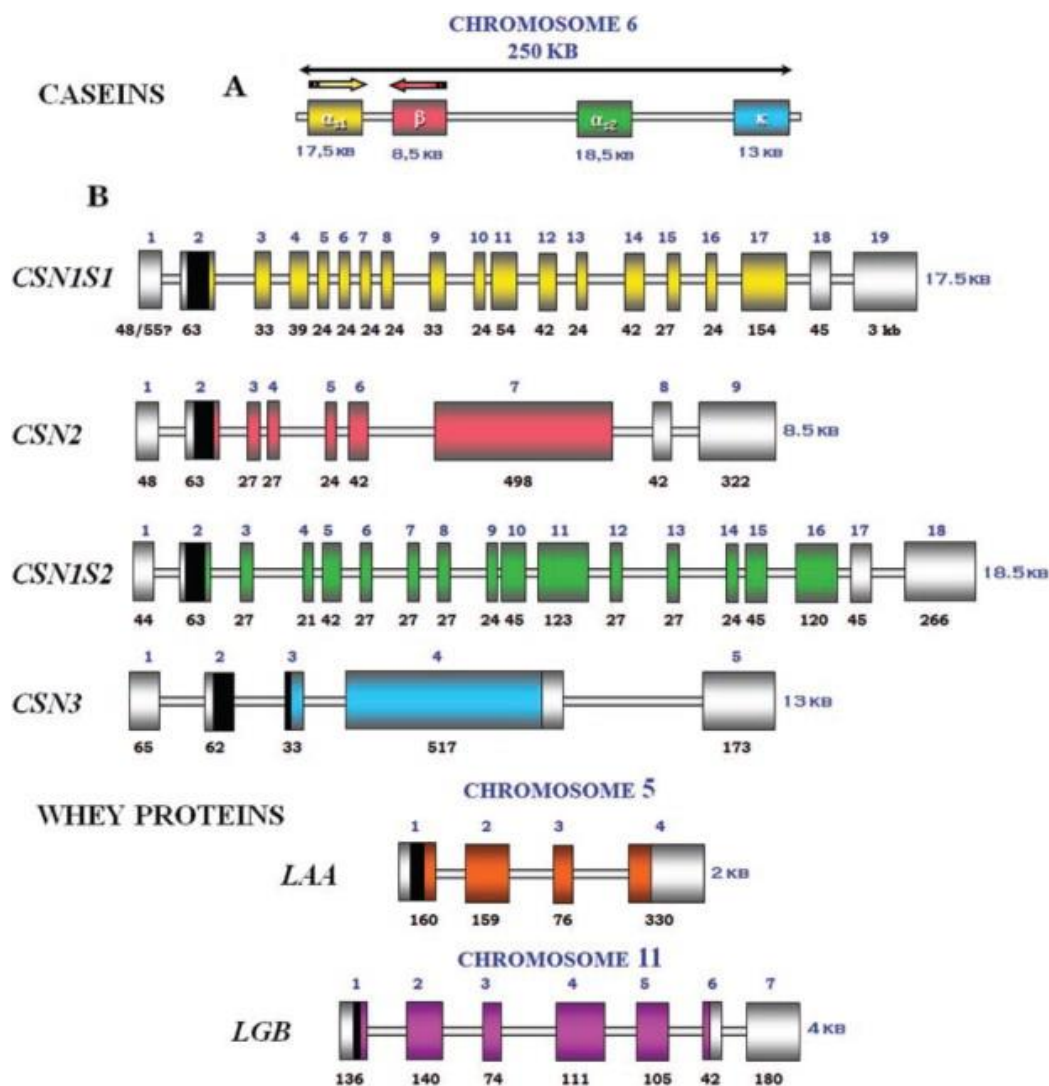
A savófehérjét a béta laktoglobulin, alfa laktalbumin, immunoglobulinok, glükomacropptidek, bovin szérum albumin valamint kisebb fehérjék, mint pl. a lakto-peroxidáz, lizozim és laktoferrin alkotja (Kamiński et al., 2010).

2.8.5. Tejfehérje típusok

A tejfehérjék mintegy 90 %-át a tejmirigy alveoláris sejtjeiben termelődő 6 fehérje alkotja, melyek 2 fő csoportba sorolhatók: a kazeinek (α_1 -CN, α_2 -CN, β -CN, κ -CN) és a savófehérjék (α -LA, β -LG). A tejfehérjék változatosságát tovább fokozza a különböző genetikai variánsok, allélok jelenléte. A tejfehérjék genetikai polimorfizmusát a fehérje láncban bekövetkezett aminosav csere (pontmutáció) vagy ritkábban néhány aminosav kiesése okozza (delécio). A különböző tejfehérje allélok öröklődését a Mendeli szabályoknak megfelelően a kodomináns, autoszomális gének irányítják, így közvetlenül lehet a fenotípusból a genotípusra következtetni. A különböző allélok befolyásolják a tej fizikai, kémiai jellemzői mellett magát a tejhozamot, illetve a tejfehérje és zsírtartalmát is. Hatással vannak a tej feldolgozhatóságára, megkönnyíthetik, vagy megnehezíthetik azt, valamint a késztermék minőségét is befolyásolhatják. Fontos, hogy egy adott allél hatását nem biztos, hogy a vizsgált gén okozza, hanem egy szorosan hozzá kapcsolt, másik gén. Ez magyarázhatja, hogy az irodalmi adatok gyakran ellent mondhatnak egymásnak. Az azonban biztos, hogy a tejfehérje kutatások révén már a tenyésztői munkával befolyásolhatjuk a tej fizikai-kémiai tulajdonságait, így lehetőségünk nyílik a tejfehérje minőség növelésére már a kezdetekkor (Baranyi és Bősze, 2009).

Az 6. ábra bemutatja a tejfehérjéket kódoló gének lókuszeit.

6. ábra: A tejfehérjéket kódoló lókuszok



Forrás: Caroli et al., (2009)

A kérődzők tejében fellelhető fehérjék 95 %-át 6 struktúrgén kódolja. A 4 kazein gén egy 250 kilobázis hosszú szakaszon található, a 6-os kromoszómán. A gének sorrendben a következők CSN1S1, CSN2, CSN1S2, és CSN3, melyek a α_{s1} -CN, β -CN, α_{s2} -CN, és κ -CN fehérjéket kódolják. A két fő savófehérjét, az α -LA és β -LG-t az LAA és LGB gének kódolják, az 5-ös kromoszómán. Az ábrán az exonok a felettük elhelyezett számokkal vannak megjelölve, mely ezeknek a sorrendjét mutatja. Az alattuk található számok arra utalnak, hogy mennyi bázispárosból áll az exon (Caroli et al., 2009).

A β -kazein

A β -kazein egy olyan tejfehérje frakció mely az összes kazein mennyiség 45 %-át is alkothatja. Az irodalomban leírtak szerint eddig 12 β -kazein variánst azonosítottak: ilyenek a A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2 és az I (Farrell *et al.*, 2004).

A tejelő tehenekben leggyakrabban az A1 és A2-es β -kazein változat fordul elő, melyek csak 1 aminosavban különböznek. Az A1-es tej esetében a fehérje 67. aminosava hisztidin, amely az A2-es variánsnál prolin. Az A2-es génváltozat a régi, parlagi fajtákban sokkal nagyobb valószínűséggel fordul elő, mint az A1-es. Az utóbbi inkább a mai, modern fajtákban fordul elő. A B variáns ritkább, az A3 és a C alléllal pedig még ritkábban találkozhatunk (Barłowska *et al.*, 2012).

Az A1-es tejben az A2-es tejhez képest megváltozik az aminosav lánc összetétel, mivel az A1-es tejbe hisztidin kerül, az A2-es tejben található prolin helyére és egy hét aminosavat tartalmazó béta-kazomorfint termel, aminek az emésztéséhez egy speciális enzimre (DPP4) van szükség. Egyes emberek ezt az enzimet nem állítják elő, emiatt náluk a béta-kazomorfin gyulladást okozhat. Ennek következtében a proteázok, vagyis az emésztésben szerepet játszó fehérjebontó enzimek, más helyen fogják hasítani (emésztetni) a peptid láncokat. A1-es tejben az 59. aminosav után és a 67. aminosav előtt. Így kialakul egy 7 aminosavból álló lánc, melynek neve BCM-7 vagyis béta-casomorphin-7. Ezt a peptidet összefüggésbe hozzák az immunsejtek aktivitásának növekedésével és gyulladásos immunválaszokkal. A BCM-7 peptidnek számos egyéb negatív hatást is tulajdonítanak, például az immunsejtek elszaporodását okozhatja, légzési diszfunkciókkal köthető össze, negatívan befolyásolja a gyomorban termelődő emésztéshez szükséges hormonok elválasztását, növeli a bél tranzit időt, ezáltal gyulladást válthat ki az emésztőtraktusban, valamint gyulladásos bőrbetegségek kialakulásában is szerepet játszhat. Abban az esetben, ha a 67. aminosav helyén prolint találunk, úgy az emésztőenzimek más-más hosszúságú szekvenciákat is képesek hasítani. Természetesen ebben az esetben is fog BCM-7 keletkezni, de jóval kisebb mennyiségben, így elmaradhat a gyulladásos folyamat és közben a szervezetünk számára hasznos peptidek is létrejöhetnek. Mindemellett még az A2 tej könnyebben emészthető, számos egyéb jótékony tulajdonsággal is rendelkezik (URL⁵; URL⁶).

A 2. táblázat bemutatja különböző holstein-fríz állományok β -kazein polimorfizmusait.

2. táblázat: β -kazein polimorfizmusának alakulása holstein-fríz egyedeknél

Genotípus	% ₁ (n=237)*	% ₂ (n=106)	% ₃ (n=92)	% ₄ (n=143)
A1A1	5,9	12,26	13	11,19
A1A2	46	54,72	83	58,04
A2A2	40,9	33,02	4	30,77

*%₁ egyéb allélokat is vizsgáltak, de azok aránya elhanyagolható.

Forrás: %₁ ♀ - Çardak, 2015.

%₂ ♀ – Ristanic et al., 2020.

%₃ ♀ – Hanusová et al., 2010.

%₄ ♂ – Kamiński et al., 2006.

A 2. táblázatban látható 4 tanulmány által vizsgált β -kazein polimorfizmus holstein-fríz egyedeknél. A leggyakoribb genotípus az A1A2-es heterozigóta előfordulás. A 4 tenyészet közül egynál nagyon alacsony volt az A2A2 genotípus, a többi három tenyészetben 30-40% között volt az A2A2 genotípus aránya. Az A1A1-es homozigóta egyedek mind a négy tenyészetben alacsony létszámban fordultak elő.

Kaskous (2020) szerint a homozigóta A2-es tej, de még a heterozigóta A1A2-es tej is egészségesebb lehet a homozigóta A1-es tejnél. Az A1-es tej növelheti az egyes típusú cukorbetegség, a szív elégtelenség, az autizmus, az emésztőszervi rendellenesség és más betegségek kockázatát, ezért nőtt meg a kereslet az A2-es tej iránt.

Clarke és Trivedi (2014) szerint az A1-es tej fogyasztása mellőzésével több betegségnél is javult a betegek egészségi állapota.

A fogyasztók és a termelők körében egyre gyakrabban emlegetett téma az A2 béta-kazein termelés. A fogyasztók által megfogalmazott egészségesebb életmódra való igény ösztönzi a termelőket a hagyományos tejtermelés egészségesebb alternatívájának kidolgozására. Habár az egyre inkább terjedő szemlélet tudományos alapja és magyarázata még eléggé vitatott.

Kutatások szerint a szarvasmarha fajban alapvetően az A2 forma volt jellemző, de egy több ezer évvel ezelőtti mutációnak köszönhetően az európai fajták esetében megjelent az A1 forma is.

Az A1 forma gyakrabban fordul elő olyan fajtákban, melyek európai felmenőkkel bírnak, bár a keresztezési programoknak köszönhetően több nem európai eredetű fajtában is megtalálható (Pal, 2015).

A holstein-fríz fajta esetében egyenlő arányban fordul elő a két említett változat. A jersey fajtánál azonban kissé gyakrabban fordul elő a β -kazein A2 formája (Woodford, 2007). A β -kazein fehérje termelését e két változat kombinációja határozza meg (minden egyed egy gén két allélját hordozza). Az allélok egymással kodomináns kapcsolatban vannak, ami azt jelenti, hogy ha egy tehén mindkét allélt hordozza (heterozigóta), akkor egyenlő mennyiségben állítja elő mindkét formát (Woodford, 2007). Ennek tükrében látható, hogy egy kizárólag A2 tejet előállító állomány létrehozása genetikai szelekció révén lehetséges. A gyors megoldás a genetikai tesztet követő A1 allélt hordozó egyedek selejtezése, vagy a kissé lassabb, de kevésbé drasztikus megoldásként szolgáló A2A2 bikák használata. Egyes bikasperma forgalmazók már feltüntetik a szaporító anyag kínálatukban a bikáknál, hogy milyen polimorfizmust mutatnak e gén tekintetében (URL⁹).

Az α_1 -kazein

Az α_1 -kazein frakció a kazeinek 40 %-át teszi ki. Egy nagyobb és egy kisebb részből állnak. Mindkét fehérje egy polipeptid láncból áll, amelyeknek ugyanaz az aminosav szekvenciája. Az α_1 -kazeinnek eddig 8 génváltozatát állapították meg: A, B, C, D, E, F, G és a H allélt (Farrell et al., 2004).

Aleandri et al (1986) szerint az alfa kazein 8 alléllal rendelkezik, de az eddig megjelent munkák a C allél genetikai fölényével számolnak be. A leggyakoribb allél a C mellett a B, melyek mind tejelő és húsmarhákban előfordulnak.

Az európai marha fajtákban a B allél a leggyakoribb, több mint 90%-os gyakorisággal. A B allél a 192. helyén egy glutation van, a C génváltozatban pedig glicin van. Az A variáns ritkán fordul elő, a C, D és E pedig a B allél mutációja hozott létre (Barłowska et al., 2012).

Az α_2 -kazein

Az α_2 -kazeinnek eddig 4 génváltozata ismeretes: A, B, C és D allél. Az A allél mely a D génváltozat egyik mutációjaként jött létre a leggyakoribb még ma is a legtöbb európai marha fajtában. A B és C allél kizárólag zebuknál és jakoknál fordul elő (Barłowska et al., 2012).

A κ -kazein

A κ -kazeinek egy nagyobb, és 6 kisebb egységből állnak. Az eddigi tanulmányok szerint 12 genetikai variáns ismeretes: A, A¹, B, C, E, F¹, F², G¹, G², H, I és J allél (*Farrell et al.*, 2004). A különbségek a polipeptid lánc 136. és 148. helyén lévő pontmutációk, valamint a molekula C-terminális részén egy makropeptid maradvány miatt léteznek (*Barłowska et al.*, 2012).

Fontos, hogy a holstein-fríz marhák egyedeiben csupán 5 génváltozat, az A1, A2, A3, B és C fordul elő, melyek közül az első kettő a leggyakoribb (*Kamiński et al.*, 2006).

2.9. Genomikai módszerek a szarvasmarha tenyésztésben

Az állattenyésztésben fontos a tenyésztértékbecslés, mely elengedhetetlen a hatékony szelekciós munkához. Alapját matematikai modellek képezik, melyekkel a tenyészállatok genetikai képességeinek becslését, illetve az egyedek rangsorolását végezzük. A hosszú generációs intervallummal rendelkező állatoknál ez akár több évig is tarthat. Az egyedek genetikai összetételének vizsgálata ezt lerövidítheti, illetve a becslés megbízhatóságát növelheti. A kiválasztott egyedek, a továbbtenyésztésre szánt üszők és bikák genomjának elemzése azonban nem elegendő a tenyésztési döntések meghozatalához, mert hozzá kell kapcsolni a hagyományos módon becsült tenyésztértéket. Az ismeretlen tenyésztértékű egyedek genomikai tenyésztértékbecslésének alapjául, egy olyan saját vagy ivadékteljesítmények alapján hagyományosan becsült és genomvizsgálati eredményekkel egyaránt rendelkező populáció szolgál, amelyet az adott genetikai tulajdonságokkal polimorfizmus jellemzőkkel rendelkező egyedek alkotnak.

A genetikai kutatások fejlődésével a tenyésztértékbecslésben is új lehetőségek nyíltak. Olyan módszereket vezettek be, amelyek már a szarvasmarha egyedek genetikai állományából kinyerhető információkat is figyelembe tudják venni. Magyarországon érdemi mennyiségű genomikai információ a holstein-fríz fajta esetében áll rendelkezésre. Ezek egy korszerű genom alapú tenyésztértékbecslésben hasznosíthatók.

A genetikai információk a tenyésztértékbecslésben az SNP (single nucleotide variant) formájában hasznosulnak. Az SNP egy DNS szekvencia variáció, ami akkor jön létre, ha egy nukleotid a genomban megváltozik. Csak akkor tekintünk egy variációt SNP-nek, ha a populáció legalább 1 %-ában megjelenik.

Genomikai információkkal bővített tenyészték (GEBV – genomically enhanced breeding value) becslése: először a genomikai tenyészték kalkulációt végzünk, direkt genomikai érték megállapítással (DGV – direct genomic value). Ez a BLUP módszer bővítése, egy az SNP-k hatását is figyelembe vevő taggal. Ezután a második fázisban a DGV-t ötvözzük a hagyományos tenyésztékekkel, így kapjuk meg a GEBV-t (*Bognár, 2021*).

3. Anyag és módszer

Vizsgálatomat egy Győr-Moson-Sopron megyei tejelő szarvasmarha (holstein-fríz) telepen végeztem, a Kisalföldi Mezőgazdasági Zrt. tulajdonában lévő, Rétalap-Baloghtagon (továbbiakban telep). A telepet 2019-ben felújították, jelenleg 3 termelő istállóval működnek. Az általam vizsgált 2 termelő istállóban 9 db Lely Astronaut A5 fejőrobottal történik a fejés, szabad tehenforgalommal. Jelenleg folyamatban van a telep 3. termelő istállójának az átalakítása, így jövőre már 13 fejőrobottal fog működni. Az állomány összesen a 3 istállóban 600 egyed körül mozog. Az felhasznált adatokat Lely T4C és BovySync telepírányítási rendszerek adták.

Vizsgálataimat a telepen lévő tehenek vérmintájából végeztem.

A vizsgálatom szempontjai:

- a tehenekben a β -kazein polimorfizmusok vizsgálata,
- az allélok eloszlása a tenyészetben,
- összefüggéseket keresni a laktációs termelés és a genotípus között,
- összefüggést keresni a zsír és fehérje termelés, valamint a genotípus között,
- valamint vizsgálni néhány népesebb bikaivadék csoport teljesítményét.

Mintavétel és DNS-izolálás

A vérvételéhez EDTA véralvadásgátlóval ellátott vérvételi csöveket használtunk. A DNS-izoláláshoz szükséges mintákat a tehenek farokvénájából vettük és -20 °C-on tároltuk a felhasználásig. A DNS-izolálást, valamint a további vizsgálatokat a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar Állattudományi Tanszékének laboratóriumában végeztük.

Az izolálási protokoll a következő volt (Tempfli, 2014):

1. a vérvételi csöveket kiolvasztottuk (fagyasztott minták esetében), majd alapos felrázást követően 300 μ l-t pipettáztunk 1,5 ml-es eppendorf kémcsőbe és 900 μ l saját készítésű Cell Lysis oldatot adtunk hozzá. A mintát és az oldatot forgatással elegyítettük

2. a csöveket ezután 1 percig ($15\,000\times g$) centrifugáltuk majd a keletkező, fehérvérsejteket tartalmazó pellettről pipettával eltávolítottuk a felülúszót
3. vortex segítségével visszaoldottuk a fehérvérsejteket (10-20 másodperc)
4. 300 μ l Extraction buffer oldatot pipettáztunk a mintához. Pipetázással és vortex-szel kevertük össze a sejteket és az oldatot
5. az elegyet legalább egy órán át 37°C-os vízfürdőben inkubáltuk
6. az inkubáció után 100 μ l NaAcetát oldatot pipettáztuk a mintákhoz, és vortexszel kb. 20 másodpercig homogenizáltuk
7. a mintákat ezután 4 percig szobahőmérsékleten centrifugáltuk ($15\,000\times g$)
8. a centrifugálás során keletkezett sötét színű pellettről az áttetsző felülúszót egy új, előkészített, 300 μ l izopropanolt tartalmazó eppendorf csőbe pipettáztuk
9. felfordításokkal kevertük össze a mintát, amely során a DNS kicsapódik és világos színű, cérnyszerű formában szabad szemmel is megfigyelhető
10. a kicsapódott DNS-t újabb centrifugálással a csövek aljára, pelletbe tömörítettük ($15000\times g$, 1 percig)
11. az áttetsző vagy fehér színeződésű DNS-pellettről leöntöttük és lepipettáztuk a felülúszót, majd 300 μ l 70%-os etanolt adtunk hozzá. Többszöri felfordításokkal mostuk át a pelletet
12. a DNS-t ezután szintén centrifugálással ($15\,000\times g$, 1 percig) a csövek alján gyűjtöttük ismét pelletbe
13. pipetázással eltávolítottuk a felülúszót, a pelletet pedig szobahőn 15-20 percig szárítottuk. A DNS-t Rehydration Solution-ban, egy éjszakán át szobahőn hagyva oldottuk vissza.

3.1. Az alkalmazott vizsgálati módszerek bemutatása

3.1.1. Polimeráz láncreakció (PCR)

A PCR (Polymerase Chain Reaction) technológia kidolgozása Kary Mullis nevéhez kötődik. Mullis-t a PCR technológia kidolgozásáért 1993-ban kémiai Nobel-díjjal jutalmazták. A technológia kifejlesztését megelőzően a gének sokszorosítását a kívánt szakasz baktériumba való bejuttatásával és azok tenyésztésével, in vivo végezték (Saiki *et al.*, 1988). Később a sokszorosítást DNS polimeráz és primerek hozzáadásával végezték in vivo (Saiki *et al.*, 1988.) A gond az enzimekkel kapcsolatban jelentkezett, mivel nem bírták a DNS- szálak szétválásához szükséges (92-96 °C) hőmérsékletet, így az enzimet minden ciklus elején újra a mintához kellett adni. Ebből következik, hogy ez az eljárás nagymennyiségű polimerázt és odafigyelést igényelt. Erre az akadályra a megoldást a *Thermus aquaticus* baktérium polimeráz enzimje jelentette, mely jól alkalmazkodott a Yellowstone gejzirjeiben lévő 100 °C körüli körülményekhez. Ezen polimeráz segítségével a folyamat programozhatóvá vált és különösebb felügyeletet sem igényelt (Zsolnai *et al.*, 2000). A polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction: PCR) lehetőséget ad egy adott DNS szakasz in vitro körülmények között történő sokszorosításához. Egy vagy több DNS szekvencia közel exponenciálisan sokszorosítható. A sokszorosítás feltétele, hogy az egyes reakció ciklusok szabályozott hőmérsékleten menjenek végbe. A szekvenciáról készült komplementerhű másolatok elektroforézissel, restrikciós enzimekkel stb. analizálhatók (Kovács, 2016; Mullis és Faloona, 1987).

A PCR során szükséges komponensek:

- Az adott DNS sokszorosítani (amplifikálni) kívánt részlete, a templát. Templát DNS bármilyen eredetű DNS molekula lehet, attól függően, hogy mi a célunk
- A primerek, melyek az amplifikálandó DNS szakasz 3' végeinek szintetikusan előállított komplementerei. (indító oligonukleotidok). Két kb. 18-25 nukleotid hosszúságú primert kell alkalmaznunk a sikeres amplifikálás véghezviteléhez.
- A nukleotidok a DNS építőkövei.
- DNS polimeráz enzim, az új szál építésében nélkülözhetetlen a szerepe, a legtöbb esetben a *Taq* polimeráz enzimet használják, amely arról a forróvízesforrásokban élő *Thermus aquaticus* ősbaktériumról kapta a nevét, amelyből az enzimet először izolálták. A *Taq* polimeráz enzim képes elviselni akár 100°C-ot is. E tulajdonsága miatt használható a 95°C-os denaturációs lépést is tartalmazó PCR reakció során.

- Nukleázmentes víz és puffer, ezek biztosítják a megfelelő kémiai környezetet a DNS polimeráz számára (*Rácz és Molnár, 2018*)

A polimeráz láncreakció lépéseinek sorrendje (*Zsolnai, 2000; Rácz és Molnár, 2018*):

1. Kezdeti denaturáció: A denaturáció célja a kettős szálú DNS lánc két szálát összekötő hidrogénkötések felszakítása és a szálak szétválasztása, ezt 94-96 °C-ra hevítve érhetjük el. A kezdeti denaturálás a genomi DNS nagyobb aránya miatt magasabb hőmérsékleten zajlik és hosszabb ideig, mint a későbbi ciklusokban. A denaturálás időtartama 15-45 másodperc. Az első ciklus előtt szükség van egy 3-5 perces denaturálási lépésre, amely a nagyméretű templát láncok felnyitására, valamint a hot start enzim aktiválására szolgál. A hot start polimerázokhoz kezdetben antitest köt, ami meggátolja az enzim aktivitását alacsony hőmérsékleten. 95°C-ra melegítve az antitest denaturálódik, így az enzim aktiválódik. A hot start polimerázok kiküszöbölik az alacsony hőmérsékleten történő specifikus reakciót.
2. Primerek felpadása (annealing): A felpadás az egyik legkritikusabb lépése a reakciónak. A mintákat lehűtjük arra a hőmérsékletre (45–70 °C), ahol a specifikus primerek megtalálják a komplementer szekvenciájukat, de még nem képesek arra, hogy a specifikus helyre kötődjenek. A denaturáláskor egyszálúvá vált DNS a hőmérséklet csökkenés során nem képes mérete miatt gyorsan újra egyesülni, azonban a kisméretű primerek (ált. 18-22 bázis hosszúságúak) képesek a komplementer szekvenciájukhoz kapcsolódni. A kapcsolódási hőmérsékletet a primerek összetétele határozza meg, ez jellemzően az olvadási hőmérséklet alatt 5 °C-kal állapítható meg. A nem megfelelő hőmérsékleten a primerek felpadása nem megy végbe, vagy kevésbé specifikussá válik. Ezt a kapcsolódási hőmérsékletet angolul „annealing temperature”-nek hívjuk, a reakció specifikitását elsősorban ez határozza meg.
3. A lánchosszabbodás (elongáció): Ebben a szakaszban játszódik le az új lánc szintézise a primer hibátlanul felpadódó 3' végéről. A primerek ellenkező irányultságúak, ezért a komplementer template szálakon, egymással szemben növekszenek. A hőmérsékletet a 72-73 °C-ra kell beállítani, ami a DNS-polimeráz optimumát jelenti. Ezt követően a ciklust 25-30-szor ismételve a kiindulási DNS mennyiségét a sokszorosára növeljük.

4. Végso lánchosszabbodás: Célja, hogy a még működő DNS-polimeráz az eddig be nem épített lánckötő nukleotidokat felhasználja. Ebben a lépésben 5percig 72 °C-on tartjuk a mintákat.
5. Rövid idejű tárolás 4 °C-on. Ez már csak egy opcionális lépés, de hasznos lehet, ha a program végénél nem tudunk jelen lenni és szeretnénk sérülésmentesen megőrizni a terméket a gélelektroforézisig.

Az első ciklus zárásakor megkétszereződik a primerek által határolt szakasz, majd ezt követően minden ciklus végén duplázódik a szakaszok száma (Forrás: *Rácz és Molnár*, 2018; URL7).

A β -kazein polimorfizmus azonosítása során a *Sodhi et al.* (2018) és *Lien et al.* (1992) által közölt és alkalmazott primereket használtuk fel a vizsgálandó lókus 251 bp hosszúságú szakaszának amplifikálására:

Forward primer 5' GAG TCG ACT GCA GAT TTT CAA ATC AGT GAG AGT CAG 3'

Reverse primer 5' CCT GCA GAA TTC TAG TCT ATC CCT TCC CTG GGC CCA TCG 3'.

A PCR-t 12 μ l-es mennyiségben állítottuk össze PCR MasterMix 2x (Thermo Fisher Scientific, USA), olidonukleotid primerek (Integrated DNA Technologies, USA), 0,4 μ M végso koncentrációban, és nukleáz mentes víz (Thermo Fisher Scientific, USA) felhasználásával.

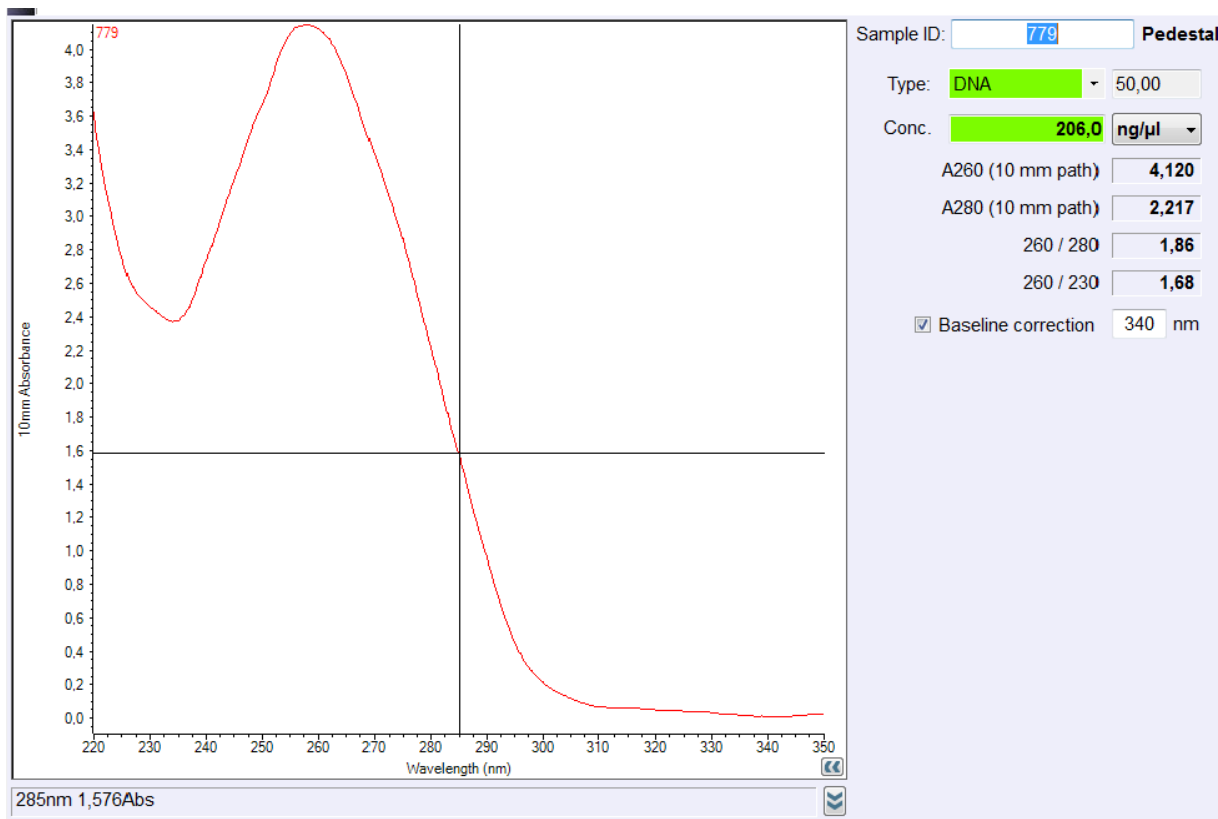
A reakció kezdeti denaturációval indult 94 °C-on 4 percig, majd 35 cikluson át a következő lépések ismétlődtek: denaturáció 94 °C-on 1 percig, annealing 64 °C-on 1 percig, majd elongáció 72 °C-on 1 percig. A PCR ThermoHybaid Px2 készülékben ment végbe.

3.1.2. Spektrofotométer

Az izolálást követően a NanoDrop 2000 spektrofotométer segítségével tudtuk meghatározni a DNS minőségét, valamint mennyiségét, mely a későbbi vizsgálatok során döntő jelentőséggel bír. A készülék működése abszorbancia mérésen alapul, melyet 230, 260 valamint 280 nm-en végez el és az így kapott adatokból arányszámokat képez. Az izolátum tisztasága abban az esetben tekinthető megfelelőnek, ha a 260/280 és a 260/230 arányszámok minimum az 1,8-as értéket veszik fel. Tiszta minta esetén a NanoDrop görbe csúcsa 260 nm-en lesz, mivel a nukleinsavak abszorbanciája ezen az értéken a legnagyobb. 230 nm-en a tisztítás során felhasznált szerves vegyületek abszorbanciája nőhet meg, míg 280 nm-en a fehérjéké. Így a spektrofotométer használata a minta koncentrációjának meghatározása mellett az esetleges szennyeződések kimutatására is lehetőséget nyújt (*Szalai*, 2014).

A 7. ábrán látható egy görbe, melyet a NanoDrop 2000 gép készített. Látható, hogy a DNS tiszta és megfelelő mennyiségben van jelen a vizsgálatokhoz.

7. ábra: NanoDrop kép a DNS minőségéről



Forrás: Saját ábra (2021)

3.1.3. Az RFLP módszer

Az RFLP (restriction fragment length polymorphism) genetikai kutatások során alkalmazott technikával úgynevezett hasítási mintázat alakítható ki, amely alapján az eltérő genotípusú egyedek elkülöníthetők egymástól. Amennyiben két organizmus genetikailag különbözik, abban az esetben a restrikciós enzim emésztést követően DNS fragmentumaik hossza is különböző lesz. Így el tudunk különíteni fajokat, fajtákat, de akár egyedeket is egymástól. Restrikciós enzimeknek azokat az enzimeket nevezzük, melyek egy meghatározott bázissorrend felismerése esetén hasítják a DNS-t. A hasító helyek általában 4-6 bázispár hosszúságúak. Az adott hasító hely gyakorisága meghatározza, hogy mennyi DNS darab jön létre a hasítást követően. Ezen DNS-szakaszokat gélelektroforézis alapján tudjuk elkülöníteni hosszúságuk alapján (Zsolnai, 2000).

A PCR-termékeket legalább három órán át emésztettük 65 °C-on TaqI restrikciós enzim (Thermo Fisher Scientific, USA) segítségével ThermoHybaid Px2 készülékben. Az enzim általi hasítás az A1 allél jelenléte esetén következik be, mely során a 251 bp szakasz 213 bp és 38 bp hosszúságú fragmentekre bomlik.

A 8. ábrán a gélelektroforézisre történő előkészület látható.

8. ábra: Előkészület a gélelektroforézisre



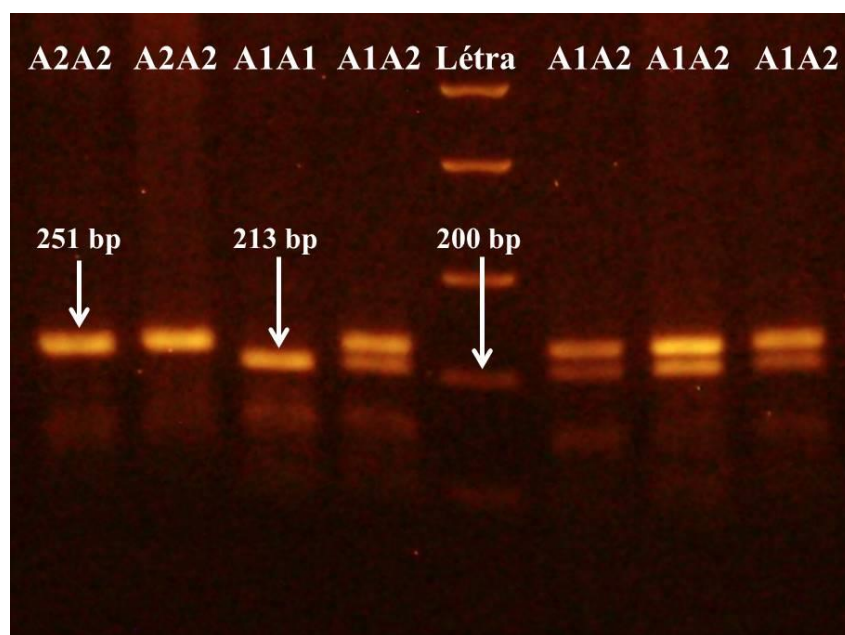
Forrás: Saját ábra (2021)

A statisztikai értékelést SPSS v20 program segítségével végeztem. Az adatok normális eloszlását Kolmogorov–Smirnov teszttel vizsgáltam. A genotípus-csoportok összehasonlítása során egytényezős varianciaanalízist, LSD (legkisebb szignifikáns differencia) tesztet alkalmaztam.

4. Vizsgálati eredmények és azok értékelése

A vizsgálatok során 324 egyed genotípusát határoztuk meg. A 9. ábrán a gélelektroforézis egyes eredményei láthatóak.

9. ábra. Az agaróz gélen elkülönített genotípusok



Forrás: Saját ábra (2021)

Az emésztett mintákat gél elektroforézissel vizsgáltuk meg, majd ezek alapján tudtuk őket besorolni az egyes genotípusokba. Mivel kevés bázispárnyi különbség van a két allél között, ezért a gélen közel láthatóak egymáshoz az heterozigótákon az allélok. A 251 bázispárt tartalmazó allél az A2-es a 213 bázispárt tartalmazó az A1-es allél.

4.1. A tehenek β -kazein tejfehérje A1/A2 allél- és genotípusgyakorisága

Az 3. táblázat szemlélteti a vizsgált tehenek β -kazein genotípus, illetve allélgyakoriságát.

3. táblázat. A β -kazein tejfehérje A1/A2 allél- és genotípusgyakorisága a vizsgált állományban

A1 allélgyakoriság	39,35%
A2 allélgyakoriság	60,65%
A1A1 genotípus-gyakoriság (n)	9,26% (30)
A1A2 genotípus-gyakoriság (n)	60,19% (195)
A2A2 genotípus-gyakoriság (n)	30,55% (99)

A 3. táblázatban látható, hogy az A1A2-es genotípus jellemző a vizsgált tehenek 60,19 %-ára. A második leggyakoribb típus az A2A2-es, mely 30,56 %-ban van jelen. Legkisebb mértékben az A1A1-es tehenek vannak, 9,26 %-os arányban. Ezek az eredmények hasonlóak *Ristanic et al.* (2020), és *Kamiński et al.*, (2006) által leírtakéhoz, akik hasonló genotípus megoszlást írtak le az általuk vizsgált állományokban.

Az A2-es allél több, mint az egyedek 60 %-ában jelen van. Hasonlót tapasztalt *Ristanic et al.* (2020) illetve *Oleński et al.* (2011) is, viszont *Antonopoulos et al.* (2021) publikációjában 74 %-os allélgyakoriságról is beszámolnak.

A 4. táblázat bemutatja a különböző genotípusok megoszlását, a tehenek laktációs száma szerint.

4. táblázat: Különböző β -kazein genotípusok laktáció szerinti megoszlása

Laktáció	A1A2 (egyed)	A2A2 (egyed)	A1A1 (egyed)	Összesen (egyed)	A1A2%	A2A2%	A1A1%
1.	78	49	5	132	59,09	37,12	3,79
2.	70	26	15	111	63,06	23,42	13,51
3. ≤	47	24	10	81	58,02	29,63	12,35

A legtöbb A2A2 genotípusú egyedet az első laktációsok között találtunk, illetve ezeknél az állatoknál volt a legalacsonyabb az A1A1-es típusúak jelenléte.

4.2. A laktációs tejtermelés és a genotípusok közötti összefüggés

Az 5. táblázat mutatja be a vizsgált tehenek 305 napra korrigált laktációs átlagát a genotípusok összefüggésében. A 305 napos laktációs átlagot a Lely csoport T4C telepírányítási rendszere számolta ki.

5. táblázat: A tejtermelés alakulása különböző β -kazein genotípusú csoportokban a vizsgált teljes állományban (átlag $\pm$ szórás)

Genotípus	Várható laktációs (305 napos) tejtermelés (kg)	Átlagos napi tejtermelés (kg)
A1A1	13414 $\pm$ 2434	44,66 ^a $\pm$ 7,75
A1A2	12675 $\pm$ 3154	39,92 ^b $\pm$ 9,35
A2A2	12371 $\pm$ 2288	39,15 ^b $\pm$ 7,83
Összes	12649 $\pm$ 2859	40,11 $\pm$ 8,87

^{a b} Az azonos oszlopban eltérő betűvel jelölt átlagok közötti különbség szignifikáns (P<0,05)

A vizsgált tehenek közül legjobban az A1A1-es genotípusú tehenek teljesítenek, átlagosan 13414 kg/laktációs termelésükkel. A heterozigóta, illetve az A2A2-es genotípusú egyedek átlagosan 12675, illetve 12371 kg/laktációs termelést produkálnak. Átlagos napi tejtermelés tekintetében a legjobban a homozigóta A1A1-es egyedek teljesítenek, melyek átlagosan napi 44,66 kg tejet termelnek. Ez az eredmény szignifikánsan eltér a másik két genotípus termelésétől.

4.3. Zsír és fehérje termelés, valamint a genotípusok közötti összefüggés

A 6. táblázatban láthatók a genotípusok és a zsír százalék, a fehérje százalék és a fehérjeindex (zsír %/fehérje %) összefüggései. A vizsgálatban a tehenek adott laktációjában lezajlott befejezési eredményeinek átlagával történt a vizsgálat.

6. táblázat: Egyes tej beltartalmi értékek alakulása különböző β -kazein genotípusú csoportokban a vizsgált teljes állományban (átlag $\pm$ szórás)

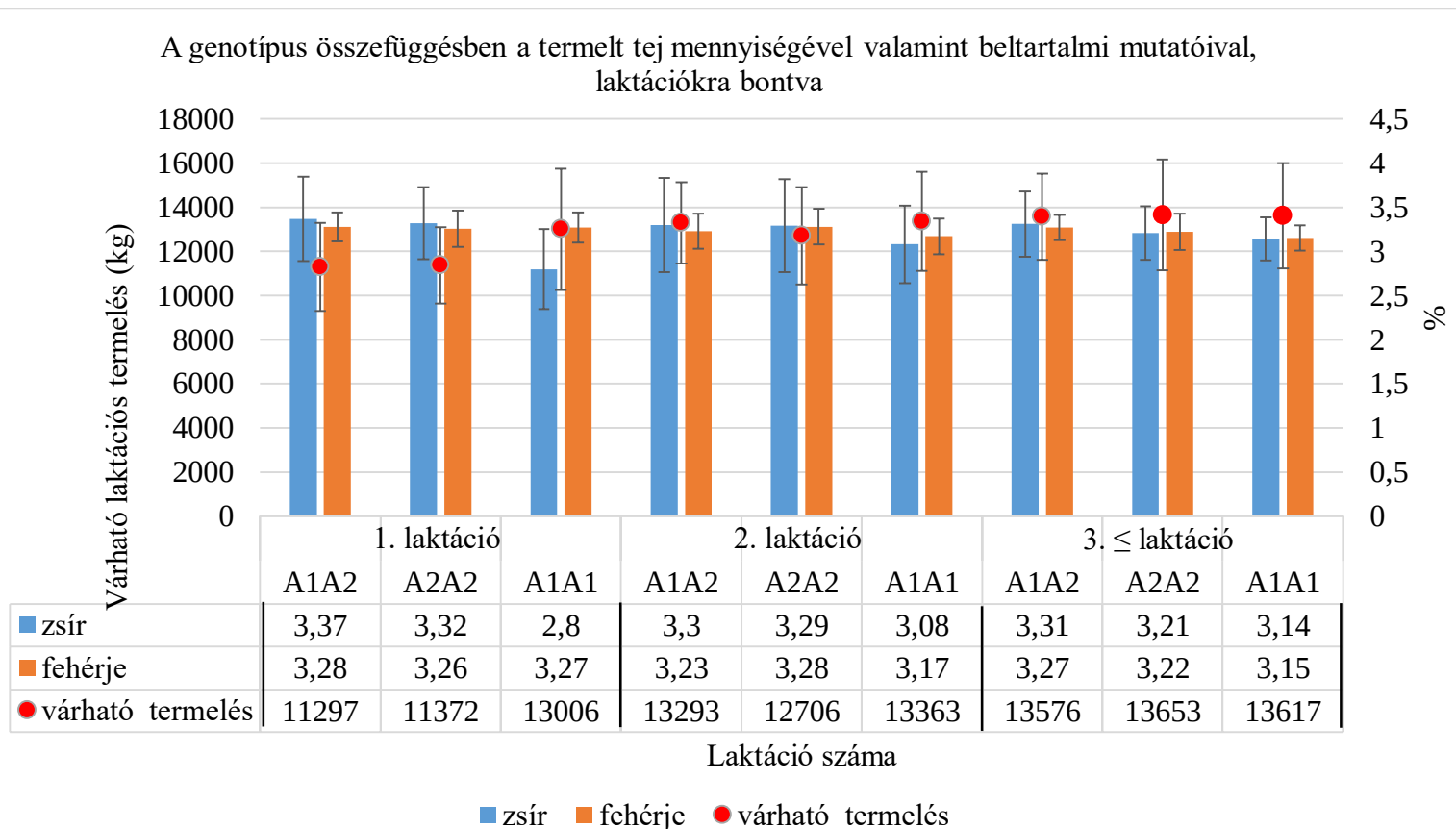
Genotípus	Tejzsír %	Tejfehérje %	Fehérjeindex
A1A1	3,15 $\pm$ 0,41	3,23 $\pm$ 0,19	0,98 $\pm$ 0,10
A1A2	3,32 $\pm$ 0,44	3,27 $\pm$ 0,22	1,03 $\pm$ 0,11
A2A2	3,29 $\pm$ 0,49	3,26 $\pm$ 0,20	1,00 $\pm$ 0,14
Összes	3,30 $\pm$ 0,46	3,26 $\pm$ 0,21	1,01 $\pm$ 0,12

Az ábrán látszik, hogy a legmagasabb zsírteljesítménnyel a vizsgált csoportok közül a heterozigóta egyedek rendelkeznek. Ezzel szemben *Ristanic et al.* (2020) vizsgálataik során a legmagasabb tejzsír % termelést az A2A2-es csoportnál állapították meg.

Fehérje termelés tekintetében az A1A1-es genotípusú egyedek teljesítettek a leggyengébben.

A 10. ábra bemutatja a genotípusok összefüggéseit a termelt tej mennyiségével és a beltartalmi mutatóival laktációkra lebontva.

10. ábra: A genotípus összefüggésben a termelt tej mennyiségével, valamint beltartalmi mutatóival, laktációkra bontva



Az első laktációs tehenek közül az A1A1-es típusú tehenek rendelkeznek a legmagasabb tejtermeléssel. A zsír % tekintetében az előbbi típus alacsonyabb teljesítményt produkál az A2A2 valamint a heterozigóta csoporthoz képest.

A második laktációs tehenek közül az A2A2 genotípusú egyedek tejtermelése a legalacsonyabb, viszont az általuk termelt tejnek a legmagasabb a fehérje %-a.

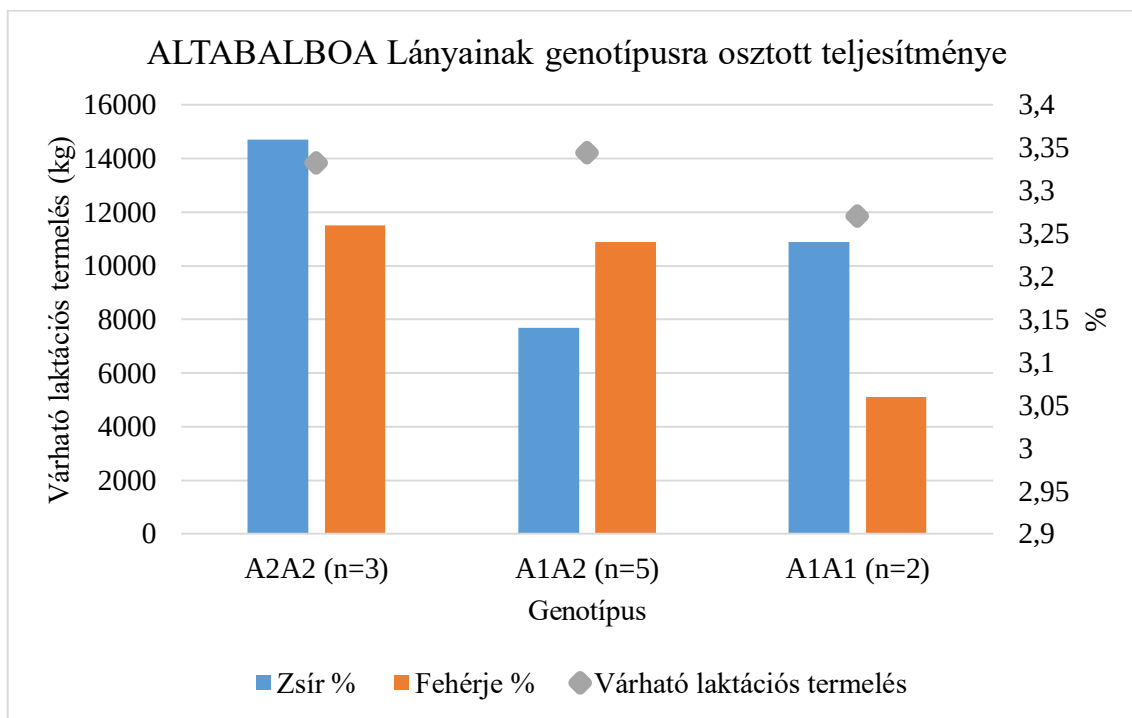
A harmadik (illetve háromnál több) laktációs tehenek közül mindhárom genotípus hasonló tejtermeléssel bír, ám az A1A1-es egyedek kevésbé koncentrált tejet termelnek a másik két típushoz képest.

4.4. Bikaivadék csoportok teljesítménye az ismert genotípusok függvényében

A tenyészetben a 6 legtöbb lánnyal rendelkező bika ivadékcsoportját vizsgáltam.

A 11. ábrán Altabalboa ivadékcsoportjának termelését mutatja be.

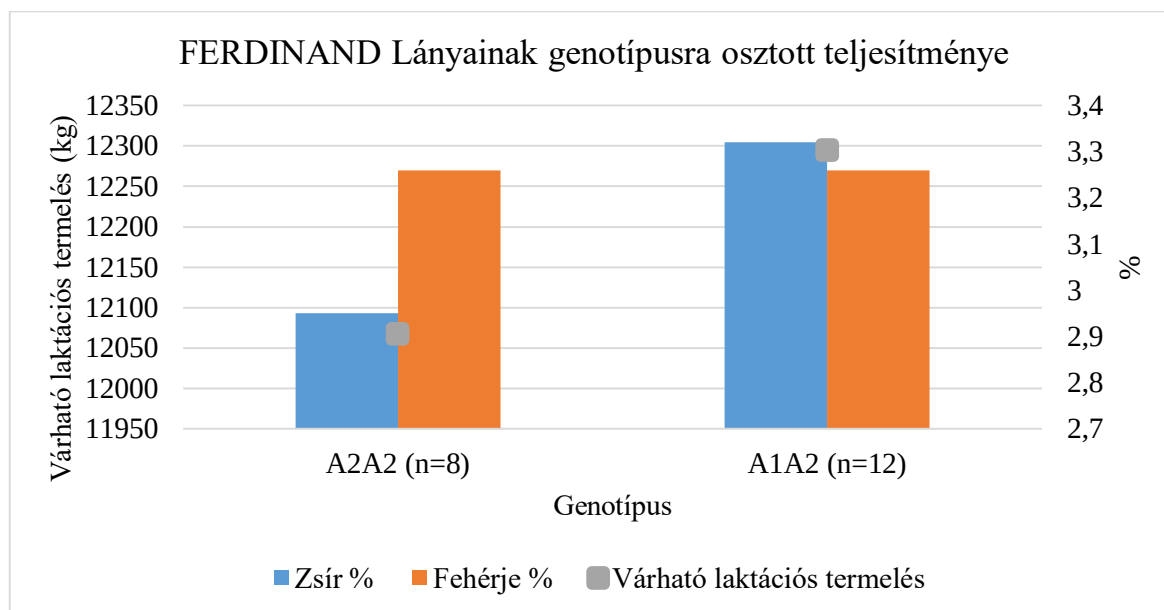
11. ábra Altabalboa lányainak genotípusra osztott teljesítménye



Altabalboa lányai közül a legmagasabb várható tejtermeléssel a heterozigóta egyedek rendelkeznek, viszont ezek a tehenek termelik a legkisebb tejzsír %-ú tejet. Az A2A2-es típusú egyedek termelik a legkoncentráltabb tejet. Altabalboa lányai jelenleg a 3. illetve 4. laktációjukban termelnek.

A 12. ábra Ferdinand ivadékcsoportjának termelését mutatja be.

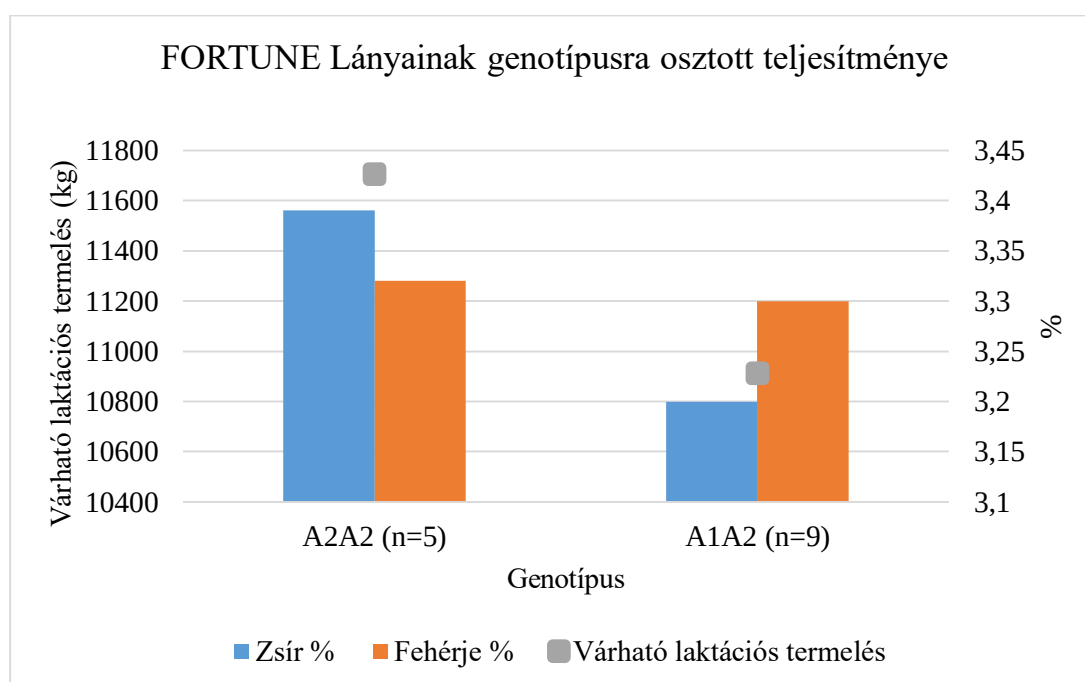
12. ábra: Ferdinand lányainak genotípusra osztott teljesítménye



Ferdinand nem rendelkezik a tenyészetben A1A1-es genotípusú lányokkal. A heterozigóta egyedeknek magasabb a várható tejtermelésük, mint az A2A2-es genotípusú teheneknek. Az A2A2 tehenek zsír % tekintetében gyengébben teljesítenek, mint az A1A2-es állatok. Ferdinand lányai nagy arányban 1. laktációs tehenek.

A 13. ábra Fortune ivadékcsoportjának termelését mutatja be.

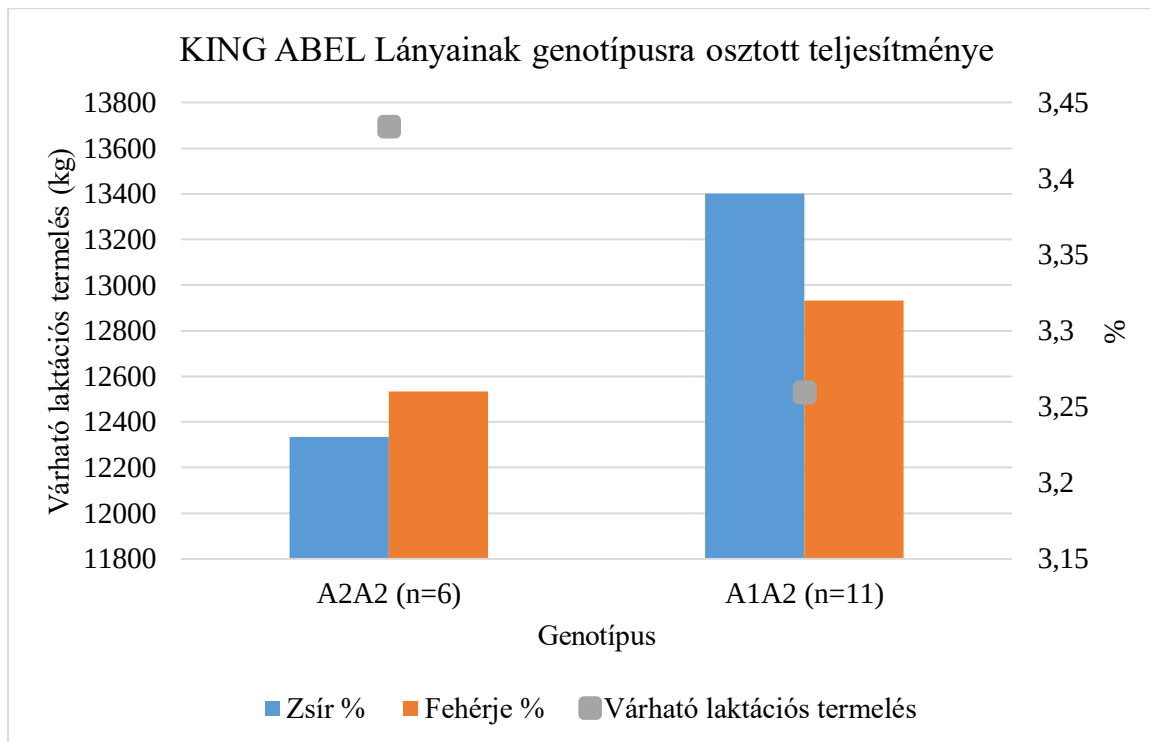
13. ábra: Fortune lányainak genotípusra osztott teljesítménye



Fortune nem rendelkezik a telepen A1A1-es genotípusú lányokkal. Az A2A2-es genotípusú tehenek mind a várható tejtermelés, valamint a zsír % és fehérje % tekintetében is jobban teljesítettek a heterozigóta egyedeknél. Fortune lányai mind az első laktációjukban vannak.

A 14. ábra King Abel ivadékcsoportjának termelését mutatja be.

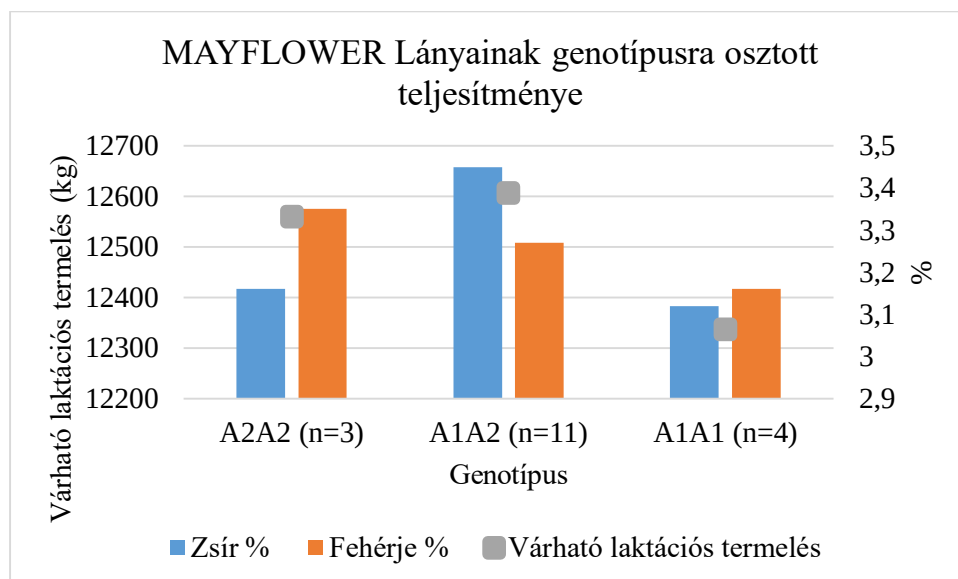
14. ábra: King Abel lányainak genotípusra osztott teljesítménye



King Abel nem rendelkezik a tenyészetben A1A1-es genotípusú lányokkal. A várható tejtermelés tekintetében a homozigóta egyedek jobban teljesítenek a heterozigótáknál, ám utóbbiak koncentráltabb tejet termelnek. King Abel kettő második laktációs lánnyal rendelkezik, a többi ivadéka első laktációs.

A 15. ábra Mayflower ivadékcsoportjának termelését mutatja be.

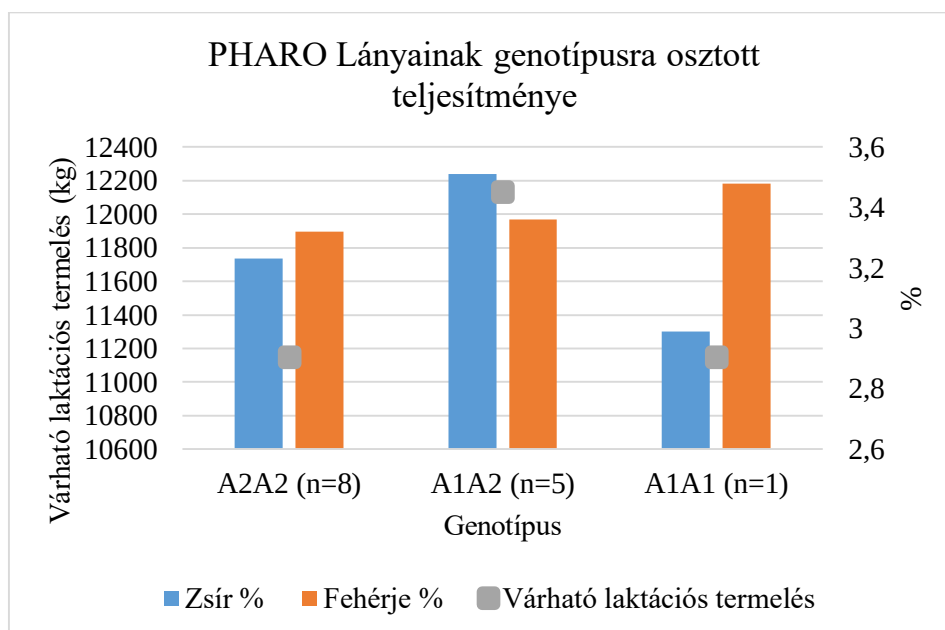
15. ábra: Mayflower lányainak genotípusra osztott teljesítménye



Mayflower lányai közül a legmagasabb tejtermeléssel a heterozigóta tehenek rendelkeznek. A többi típushoz képest, szintén az A1A2-es egyedek termelik a legmagasabb zsír %-ú tejet. Mayflower lányai között van egy negyedik, illetve öt első laktációjában lévő tehén. A többi ivadék a második laktációjában termel.

A 16. ábrán Pharo ivadékcsoportjának termelését mutatja be,

16. ábra: Pharo lányainak genotípusra osztott teljesítménye



Pharo lányai közül a legmagasabb tejtermelése a heterozigóta egyedeknek van. Ehhez párosul továbbá, hogy a legmagasabb zsír %-ú tejet is ezek a tehenek termelik a másik két típushoz képest. Pharo lányai mindannyian az első laktációjukban vannak.

5. Következtetések, javaslatok

A vizsgálatokból megállapítható, hogy a tenyészetben az állatok magas százalékában jelen van az A2-es allél. Bár a 305 napra várható laktációs teljesítmények között szignifikáns eltérést nem találtunk, az A1A1 homozigótával rendelkező egyedek tejtermelése némileg magasabb, mint az A2A2 homozigóta egyedeké, illetve mint a heterozigóta egyedeké, de a tejszír és tejfehérje százalékban a heterozigóták és az A2A2-es homozigóta egyedek teljesítettek jobban.

Azért gondolom, hogy ezzel a polimorfizmussal lényegesen foglalkozni kell, mivel a nyers tej jelenlegi felvásárlási ára alacsony és ehhez viszonyítva az ausztriai A2-es tejet lényegesen drágábban vásárolják fel, így profit növelésre is lenne lehetőség, ehhez persze megfelelő piac kialakítására van szükség.

A másik tényező, hogy a lakosságban folyamatosan nő a laktóz, illetve a tejfehérje érzékenyek aránya és így számukra egy ugyanolyan, ha nem egészségesebb opciót tudnánk kínálni a tejtermék fogyasztásra a növényi italokkal szemben, amik a tejtermékekhez mérve kisebb tápanyag értékkel rendelkeznek.

Valószínűsíthetően Magyarországon még éveknek kell eltelnie ahhoz, hogy a társadalom megismerje és elfogadja ezt a fajta tejet és tejtermékeit, de amikor ez megtörténik azok a termelők, akik időben léptek és erre szelektálták az állományukat, lényeges előnyből fognak indulni.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni a sok segítséget konzulenseimnek Dr. Gulyás Lászlónak és Dr. Tempfli Károlynak. Köszönöm a lehetőséget a Kisalföldi Mezőgazdasági Zrt.-nek, hogy hozzájárultak a kísérlet teljesítéséhez. Szeretném megköszönni a sok támogatást Hermán Zsoltnak, a labormunkákban való segítséget Szabó-Sárvári Loretának, a tehenek vérvételében a segítséget Dr. Altrichter Bekény Miklósnak, Hajkó Attilának, Fodor Beátának, Hermán Zsoltnak, Kolozsi Ágnesnek, köszönöm Bakó Emőkének az átolvasásokat és korrekciókat.

Szeretném még megköszönni a családomnak a sok támogatást és türelmet, amit felém mutattak miközben a dolgozatot írtam.

A dolgozat elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

6. Felhasznált irodalmak jegyzéke

Aleandri R. – Nardone A. – Russo V. (1986): Milk yield for the cheesemaking process: Quantitative trait loci and selection strategies.

Antonopoulos, D. – Vougiouklaki, D. – Laliotis, G. P. – Tsironi, T. – Valasi, I. – Chatzilazarou, A. – Halvatsiotis, P. – Houhoula, D. (2021): Identification of Polymorphisms of the CSN2 Gene Encoding β -Casein in Greek Local Breeds of Cattle.

Baranyi M. – Bősze Zs. (2009): A tehén- és juhtej fehérje összetevőinek, s azok variánsainak összehasonlítása. Szerk.: Kukovics S. (2009). A tej szerepe a humán táplálkozásban.

Barłowska J. – Wolanciuk A. – Litwińczuk Z. – Król J. (2012): Milk Proteins' Polymorphism in Various Species of Animals Associated with Milk Production Utility, Milk Protein, Walter L. Hurley, IntechOpen,

Bene Sz. – Balaskó G. – Polgár J. P. (2015): Néhány tényező hatása eltérő holstein-fríz génhánnyal rendelkező tehenek laktációs teljesítményére. 57. Georgikon Tudományos Konferencia.

Bognár L. (2021): A hazai genomikai tenyésztértékbecslés gyakorlati tapasztalatai a holstein-fríz fajta tenyésztési programjában. Szerk.: MTA Agrártudományok Osztály, Állattudományi Bizottsága (2021): Állattenyésztés és takarmányozás. 2021. 70. 3.

Çardak, A. D. (2015): Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmentaler cows.

Caroli, A.M. – Chessa, S. – Erhardt G. J. (2009): Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition, Journal of Dairy Science, Volume 92, Issue 11.

Clarke, A. – Trivedi, M. (2014): Bovine Beta Casein Variants: Implications to Human Nutrition and Health.

Farrell, H. M. – Jimenez-Flores, R. – Bleck, G. T. – Brown, E. M. – Butler, J. E. – Creamer, L. K – Hicks, C. L. – Hollar, C. M. – Ng-Kwai-Hang, K. F. – Swaisgood, H. E. (2004): Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk—Sixth Revision, Journal of Dairy Science, Volume 87, Issue 6, Pages 1641-1674,

Hanusová, E. – Huba, J. – Oravcová, M. – Polák, P. – Vrtková, I. (2010): Genetic Variants of Beta-casein in Holstein Dairy cattle in Slovakia.

Helmut K. Mayer - Kathrin Lenz - Eva-Maria Halbauer (2021): "A2 milk" authentication using isoelectric focusing and different PCR techniques,

Food Research International, Food Research International, Volume 147

Holló G. – Húth B. – Polgár J. P. (2016): A szarvasmarha értékmérő tulajdonságai. Szerk.: Holló I. - Szabó F. (2016): Szarvasmarha tenyésztés. Mezőgazda kiadó, Budapest.

Horn A. (1976): Állattenyésztés. Mezőgazdasági kiadó, Budapest.

Kamiński, S. – Cieślińska, A. – Kostyra, E. (2010): Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. Journal of Applied Genetics, 48, 189-198.

Kamiński, S. – Ruść, A. – Cieślińska, A. (2006): A note on frequency of A1 and A2 variants of bovine beta-casein locus in Polish Holstein bulls. Journal of Animal and Feed Sciences, 15, 195-198.

Kaskous, S. (2020): A1- and A2-Milk and Their Effect on Human Health.

Kecskés S – Menter L. – Németh B. (1955): Állattenyésztők kézikönyve.

Kovács B. (2016): Prolaktin és IGF1 polimorfizmus vizsgálata őshonos és árutermelő tyúkállományban, Diplomadolgozat SZE-MÉK.

Kukovics S. – Unger A. – Bakos E. – Szakály S. (2009): A tej és tejtermékek jelentősége. Szerk.: Kukovics S. (2009). A tej szerepe a humán táplálkozásban.

Lien, S. – Aleström, P. – Klungland, H. – Rogne, S. (1992): Detection of multiple β -casein alleles by amplification created restriction sites (ACRS). Animal Genetics, 333–338.

Mullis, K. B. – Faloona, F.A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155. 335–350.

Oleński, K. – Cieślińska, A. – Suchocki, T. – Szyda, J. – Kamiński S. (2011): Polymorphism in coding and regulatory sequences of beta-casein gene is associated with milk production traits in Holstein-Friesian cattle.

Pal, S. – Woodford, K. – Kukuljan, S. – Ho, S. (2015): Milk Intolerance, Beta-Casein and Lactose. *Nutrients* 2015, 7, 7285-7297.

R. K. Saiki – D. H. Gelfand – S. Stoffel – S. J. Scharf – R. Higuchi – G. T. Horn – K. B. Mullis – H. A. Erlich (1988): Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase.

Rácz G. – Molnár P. (2018): *Quantitative real-time PCR laborgyakorlat*, Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem.

Ristanic, M. – Glavinic, U. – Vejnovic, B. – Maletic, M. – Kirovski, D. – Teodorovic, V. – Stanimirovic, Z. (2020): Beta-casein gene polymorphism in Serbian Holstein-Friesian cows and its relationship with milk production traits.

Sodhi, M. – Kataria, R. S. – Niranjana, S. K. – Parvesh, K. – Verma, P. – Swami, S. K. – Sharma, A. – Bharti, V. K. – Kumar, B. – Iqbal, M. – Rabgais, S. – Kumar, P. – Giri, A. – Kalia, S. – Gagoi, D. – Sarangi, P. P. – Mukesh, M. (2018): Sequence characterisation and genotyping of allelic variants of beta casein gene establishes native cattle of Ladakh to be a natural resource for A2 milk. *Defence Life Science Journal*, 177–181.

Szabó F. – Polgár J. P. (2013): *A szarvasmarha és juhtenyésztés sajátosságai, biológiai alapjai*. Szerk.: Bene Sz. (2013): *Állattenyésztési termékek termelése*. Elméleti jegyzet.

Szajkó L. (1984): *Bevezetés*. Szerk.: Szajkó L. (1984): *Szakosított tejtermelés*. Mezőgazdasági kiadó, Budapest.

Szalai K. (2019): *Néhány anyagcserében kulcsszerepet játszó gén DNS polimorfizmus és génexpressziós mintázatának vizsgálata baromfi fajokban*, PhD doktori értekezés, SZE MÉK.

Szűcs D. (2017): *Magyarország mezőgazdaságának történelmi áttekintése, Vállalkozásfejlesztés a XXI. században* Budapest, PhD doktori értekezés.

Tempfli K. (2014): Néhány értékmérő tulajdonságot meghatározó gén szerepe őshonos, valamint keresztezett sertés és tyúk fajtáknál, PhD doktori értekezés NyME MÉK.

Woodford, K. (2007): A2 milk, farmer decisions, and risk management. In Proceedings of the 16th International Farm Management Congress: Peer reviewed papers (pp. 641-648). England: International Farm Management Association.

Zsolnai A. (2000): Molekuláris genetikai módszerek. Szerk.: Fésüs L. – Komlósi I. – Varga L. – Zsolnai A. (2000): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Agroinform Kiadó, Budapest.

Internetes hivatkozások

URL¹:http://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_oma003.html

URL²:<https://statinfo.ksh.hu/Statinfo/>

URL³:https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_eves/i_oma002.html

URL⁴:<http://www.holstein.hu/index.php/laktzarasmenu>

URL⁵:<http://zilda.hu/index.php/a2-tej-z/>

URL⁶:<https://magyarmezogazdasag.hu/2021/03/09/a2-beta-kazein-lehetoseg-tejfogyasztas-novelesere>

URL⁷:<https://www.sigmaaldrich.com/HU/en/technical-documents/technical-article/genomics/pcr/polymerase-chain-reaction>

URL⁸:<https://www.edenkert.hu/vilagos-zold/zold-bolygo/vilagrekorder-fejostehen/2815/>

URL⁹:<https://semex.hu/a2a2>