

Polimorfizm genu *CATHL2* w odniesieniu do cech użytkowości krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej

Sonia Hiller^{1#}, Inga Kowalewska-Łuczak¹, Ewa Czerniawska-Piątkowska²

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,

¹Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt,

Aleja Piastów 45, 70-311 Szczecin; [#]e-mail: sonia.hiller@zut.edu.pl

²Katedra Nauk o Zwierzętach Przeżuwających,

ul. Klemensa Janickiego 29, 71-270 Szczecin

W pracy dokonano identyfikacji mutacji SNPs w genie *CATHL2* i określono ich potencjalny związek z cechami użytkowości mlecznej krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej (phf). Identyfikacja genotypów poszczególnych osobników prowadzona była przy użyciu metody PCR-RFLP. Stwierdzono, że frekwencja alleli badanych genów *CATHL2/DdeI* wynosiła: *C* – 0,693 i *T* – 0,307, natomiast *CATHL2/HhaI*: *G* – 0,763 i *C* – 0,237. Analiza statystyczna wykazała, że krowy o genotypie *CC* (*CATHL2/DdeI*) i *CG* (*CATHL2/HhaI*) charakteryzowały się tendencją do wyższej wydajności mleka w porównaniu do pozostałych genotypów. Z kolei najwyższą liczbę komórek somatycznych stwierdzono w mleku krów heterozygotycznych *CT* (*CATHL2/DdeI*) i *CG* (*CATHL2/HhaI*).

SŁOWA KLUCZOWE: katelicydyny / *CATHL2/DdeI* / *CATHL2/HhaI* / krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej

Do cech użytkowości bydła mlecznego zalicza się: dzienną wydajność mleka (kg), zawartość białka i tłuszczu (%) w mleku oraz liczbę komórek somatycznych. Dzienna wydajność mleczna oraz zawartość białka i tłuszczu odgrywają kluczową rolę podczas pozyskiwania mleka o pożądanym właściwościach. Komórki somatyczne są ważne zarówno w produkcji mleka, jak i w aspekcie zdrowotności krów.

Komórki somatyczne występują w mleku zdrowych krów. Ich liczba nie powinna przekraczać 200 tys. w 1 ml mleka. W skład komórek somatycznych wchodzi głównie komórki pęcherzyków mlecznych oraz nabłonka wyściełającego kanaliki, przewody mlekonośne i zatoki mleczne. Znajdują się one w mleku na skutek procesu naturalnego ich wydalania, w wyniku ścierania i obumierania podczas produkcji mleka. Do standardowej liczby komórek somatycznych wlicza się również leukocyty, które przedostają się do mleka i pełnią w nim funkcje przeciwdrobnoustrojowe [13].

Liczba komórek somatycznych może wzrosnąć, co jest oznaką stanu zakażenia lub może być związane z czynnikami zewnętrznymi, takimi jak: stłuczenie wymienia, nieprawidłowy dój czy też długotrwała ekspozycja wymienia na niską temperaturę. Wzrost liczby komórek somatycznych w przypadku zakażenia drobnoustrojami chorobotwórczymi jest spowodowany napływem komórek odpornościowych z krwi do wymienia. U bydła mlecznego najczęściej można zaobserwować zapalenie wymienia – *mastitis*, które w krótkim czasie powoduje wzrost liczby komórek somatycznych w mleku, jak również, w zależności od jego formy, zmniejszenie lub całkowite ustanie produkcji mleka oraz możliwe uszkodzenie wymienia [10].

Mastitis jest zapaleniem wymienia powodowanym przez szereg drobnoustrojów chorobotwórczych, takich jak bakterie Gram-dodatnie jak i Gram-ujemne, wirusy, mykoplazmy, pleśnie oraz grzyby. Wśród podstawowych patogenów wywołujących *mastitis* wymienić można *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. czy też grzyby z rodzaju *Candida* [7]. Wśród mechanizmów obronnych, które są inicjowane podczas infekcji, wymienić można złuszczenie i odnawianie nabłonka wyściełającego kanał strzykowy, co w konsekwencji powoduje duży wzrost liczby komórek somatycznych w mleku. Dodatkowo aktywacji ulegają substancje ograniczające penetrację tkanek przez patogeny. Wśród nich można wymieniść lizozym, laktoperoksydazę, laktoferynę oraz katelicydyny [15]. Katelicydyny należą do białek pełniących wiele ważnych funkcji. Ich główną funkcją jest działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwgrzybiczne. Należy jednak podkreślić ich rolę w procesach gojenia się ran, angiogenezie oraz w regulacji wspomagania układu odpornościowego [4].

Ważnym aspektem, związanym z użytkowością mleczną bydła, jest prowadzenie badań nad wpływem mutacji w genach kodujących białka, które są odpowiedzialne za różne procesy mogące wpływać na laktację oraz jakość mleka.

Gen *CATHL2* zmapowano w 22 chromosomie bydła. Gen ten zbudowany jest z czterech eksonów rozdzielonych trzema intronami i łącznie składa się z 1559 par zasad. Ekspresja genu *CATHL2* u zdrowego bydła została wykazana w tkankach narządów, takich jak: jajniki, jelito cienkie, wątroba, śledziona, węzły chłonne płuca oraz gruczoł mlekowy [14].

Gen *CATHL2* koduje białko z rodziny katelicydyn – Bac-5. Białko to jest zbudowane z trzech zasadniczych części: peptydu sygnałowego, domeny katelinowej i domeny z centrum aktywnym o właściwościach przeciwbakteryjnych. Białko zbudowane jest z 176 aminokwasów, z czego domena z centrum aktywnym składa się z 43 aminokwasów bogatych w prolinę i argininę. Duża zawartość tych aminokwasów w rejonie zmiennym powoduje, że białko Bac-5 posiada funkcje wspomagające regenerację tkanki łącznej [3].

W związku z rolą katelicydyn jako peptydów przeciwdrobnoustrojowych, ważnym powiązaniem jest zależność ekspresji genu w stosunku do ilości komórek somatycznych. Ma to istotne znaczenie, ponieważ wysoka liczba komórek somatycznych może oznaczać stany chorobowe, które przekładają się na ilość produkowanego mleka, jak i wpływają na jego jakość, w tym na parametry tłuszczu i białka. Katelicydyny, odgrywając swoją rolę, mogą wpływać pozytywnie na zwiększenie odporności, co w konsekwencji wspomaga utrzymanie laktacji na wysokim poziomie oraz ogranicza obniżanie parametrów mleka.

Celem badań było określenie frekwencji genotypów oraz alleli w odniesieniu do polimorfizmu typu SNP w genie *CATHL2* oraz oszacowanie wpływu oznaczonych genotypów na wybrane cechy użytkowości badanego stada krów.

Material i metody

Badano stado krów mlecznych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej, liczące 150 krów, w gospodarstwie zlokalizowanym w województwie zachodniopomorskim. Krowy utrzymywano w systemie wolnostanowiskowym i karmiono z użyciem dawki TMR (Total Mixed Ration). W okresie wiosenno-letnim stado było wypasane na pastwisku. Dój wykonywano dwa razy dziennie, przy użyciu mechanicznej dojarki. Dane o użytkowości mlecznej krów pochodziły z dokumentacji hodowlanej, prowadzonej w ramach oceny użytkowości mlecznej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka.

Liczbę komórek somatycznych (LKS), wyrażoną w tys./ml mleka, przetransformowano w programie Excel® na logarytm naturalny (LnLKS), według Ali i Shook [1], co pozwoliło na spełnienie warunków rozkładu normalnego tej cechy, jak i dla dziennej wydajności mlecznej (kg) oraz zawartości białka i tłuszczu (%) w mleku.

Pierwszym etapem analizy była izolacja DNA, do której wykorzystano krew obwodową pobraną z żyły jarzmowej każdej z badanych krów do sterylnych probówek zawierających antykoagulant K_3EDTA . Izolację DNA przeprowadzono wykorzystując zestaw do izolacji DNA z pełnej krwi *MasterPure* Kit (Epicenter Technologies), według protokołu producenta.

Analizę genotypów poszczególnych osobników przeprowadzono z wykorzystaniem metody PCR-RFLP. Analizowano miejsca polimorficzne SNP w pozycjach 1730 $T>C$ (rs109775410) i 1757 $G>C$ (rs109848035) w obrębie intronu 3 genu *CATHL2*. Fragment genu *CATHL2* amplifikowano przy użyciu PCR z odpowiednimi specyficznymi sekwencjami starterowymi, o następujących sekwencjach nukleotydowych: forward: 5'-GGGCCTCGGTTTCATCTCTGTC-3' i reverse: 5'-AAGATCGGTGGCGGATCGG-3'.

Sekwencje starterów zostały zaprojektowane w oparciu o sekwencję genu *CATHL2* (GenBank EU380692).

Przeprowadzono optymalizację reakcji amplifikacji fragmentu genu *CATHL2*, która miała następujący profil termiczny: denaturacja wstępna w 95°C przez 5 minut, następnie kolejno w 30 cyklach: 30 sekund w 94°C (denaturacja), 45 sekund w 56°C (przyłączanie starterów) i 30 sekund w 72°C (wydłużanie łańcucha DNA), następnie końcowe wydłużanie w temperaturze 72°C przez 8 minut. Po przeprowadzeniu reakcji PCR wykonano elektroforezę w 1% żelu agarozowym, w celu oceny jakości produktu.

Kolejnym etapem analizy było poddanie produktów PCR trawieniu enzymami restrykcyjnymi *DdeI* oraz *HhaI* w temperaturze 37°C przez minimum 3 godziny. Otrzymane produkty PCR i fragmenty restrykcyjne oceniano przy użyciu elektroforezy w 3% żelu agarozowym z bromkiem etydydy oraz z użyciem markera pUC19/*MspI*, ponadto wykonano wizualizację oraz archiwizację uzyskanych wyników przy użyciu zestawu do dokumentacji i analizy żeli agarozowych.

Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej. Wykonano analizę zależności pomiędzy różnymi genotypami, różnymi kombinacjami genotypów i wybranymi parametrami użytkowości, takimi jak: dzienna wydajność mleka (kg), zawartość białka i tłuszczu (%) w mleku oraz liczba komórek somatycznych w mleku.

Analiza statystyczna zależności pomiędzy polimorfizmami *CATHL2/DdeI*, *CATHL2/HhaI* i parametrami użytkowości mlecznej została przeprowadzona z użyciem programu Stati-

stica 12 [16]. Obliczono wartości średnie (\bar{x}) i odchylenie standardowe (SD) oraz przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, z wykorzystaniem testu wielokrotnego rozstrępu Duncana. Ocenę istotności różnic w zakresie średniej liczby komórek somatycznych dokonano za pomocą testu Kruskala-Wallisa.

Wyniki i dyskusja

Analiza produktu PCR o długości 285 par zasad (pz), po trawieniu enzymami restrykcyjnymi wykazała występowanie trzech genotypów w każdym układzie. W przypadku trawienia enzymem *DdeI* otrzymano trzy genotypy: *TT* (285 pz), *CT* (285 pz, 202 pz, 83 pz) i *CC* (202 pz, 83 pz). Przy użyciu do trawienia produktu enzymu restrykcyjnego *HhaI*, określono obecność trzech genotypów: *GG* (285 pz), *CG* (285 pz, 173 pz, 112 pz) i *CC* (173 pz, 112 pz).

W tabeli 1. zawarto wyniki statystycznej analizy frekwencji występowania alleli i genotypów w stadzie krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej objętych doświadczeniem. W przypadku *CATHL2/DdeI* frekwencja genotypu homozygoty *TT* była najniższa, a frekwencje genotypu heterozygotycznego *TC* i genotypu homozygotycznego *CC* były zbliżone, z czego homozygota recesywna występowała z najwyższą frekwencją. Allel *T* występował z frekwencją niższą niż allel *C*. W przypadku polimorfizmu *CATHL2/HhaI* genotyp homozygotyczny *GG* występował z najwyższą frekwencją, a genotyp heterozygotyczny *CG* występował z najniższą frekwencją. Allel *G* występował z wysoką frekwencją, a allel *C* ze znacznie niższą.

Tabela 1 – Table 1

Frekwencje genotypów i alleli stada objętego doświadczeniem (n – liczba krów)

Genotype and allele frequencies in the cattle herd (n – number of cows)

| Polimorfizm Polymorphism | n | Frekwencje genotypów Genotype frequencies | | Frekwencje alleli Allele frequencies | |
|-----------------------------|-----|--|-------|---|-------|
| <i>CATHL2/DdeI</i> | 16 | <i>TT</i> | 0,107 | <i>T</i> | 0,307 |
| | 60 | <i>TC</i> | 0,400 | <i>C</i> | 0,693 |
| | 74 | <i>CC</i> | 0,493 | | |
| <i>CATHL2/HhaI</i> | 109 | <i>GG</i> | 0,727 | <i>G</i> | 0,763 |
| | 11 | <i>CG</i> | 0,073 | <i>C</i> | 0,237 |
| | 30 | <i>CC</i> | 0,200 | | |

Kolejnym etapem badań była analiza relacji między poszczególnymi genotypami badanych polimorfizmów a cechami użytkowości mlecznej. Określono wartości takich cech, jak: dzienna wydajność mleczna, zawartość procentowa tłuszczu i białka w mleku oraz liczba komórek somatycznych. W tabeli 2. uwzględniono wartości średnie i odchylenie standardowe dla cech w odniesieniu do występowania genotypu.

Tabela 2 – Table 2

Wartości średnie (\bar{x}) i odchylenie standardowe (SD) dla cech użytkowości mlecznej w odniesieniu do genotypów *CATHL2/DdeI* i *CATHL2/HhaI* w badanym stadzie (n – liczba krów)

Mean values (\bar{x}) and standard deviations (SD) for milk yield traits in relation to *CATHL2/DdeI* and *CATHL2/HhaI* genotypes in the cattle herd (n – number of cows)

| Genotyp Genotype | n | Wydajność mleka Milk yield (kg) | Zawartość tłuszczu Fat content (%) | Zawartość białka Protein content (%) | LnLKS* LnSCC* |
|---------------------|-----|---------------------------------------|--|--|------------------|
| TT | 16 | 16,27 ±2,10 | 3,95 ±0,54 | 3,28 ±0,24 | 3,26 ±1,06 |
| TC | 60 | 16,37 ±2,37 | 3,79 ±0,52 | 3,27 ±0,21 | 3,42 ±1,23 |
| CC | 74 | 16,41 ±2,37 | 3,87 ±0,49 | 3,24 ±0,19 | 3,40 ±1,35 |
| GG | 109 | 16,40 ±2,36 | 3,86 ±0,51 | 3,25 ±0,20 | 3,34 ±1,24 |
| CG | 11 | 16,75 ±2,96 | 3,81 ±0,60 | 3,31 ±0,20 | 3,97 ±1,51 |
| CC | 30 | 16,17 ±2,01 | 3,81 ±0,49 | 3,25 ±0,22 | 3,37 ±1,27 |

*LnLKS – logarytm naturalny liczby komórek somatycznych

*LnSCC – natural logarithm of somatic cell count

Wykazano, że w przypadku polimorfizmu *CATHL2/DdeI* najwyższą wydajnością mleczną charakteryzowały się zwierzęta o genotypie *CC*, przy czym najwyższe parametry zarówno dla zawartości tłuszczu, jak i dla białka w mleku występowały w przypadku zwierząt o genotypie *TT*.

W przypadku polimorfizmu *CATHL2/HhaI* stwierdzono, że najwyższe parametry wydajności mlecznej, jak i zawartości białka w mleku występowały w przypadku krów o genotypie heterozygotycznym, a zawartość tłuszczu w mleku była najwyższa w przypadku zwierząt o genotypie *GG*. W odniesieniu do liczby komórek somatycznych można zauważyć, że najwyższą liczbą komórek zarówno w przypadku *CATHL2/DdeI*, jak i *CATHL2/HhaI*, cechowały się krowy o genotypach heterozygotycznych, odpowiednio *CT* i *CG*. W przypadku polimorfizmu *CATHL2/DdeI* najniższą liczbą komórek somatycznych charakteryzowały się osobniki o genotypie *TT*. W przypadku polimorfizmu *CATHL2/HhaI* zarówno krowy o genotypie *GG*, jak i *CC* odznaczały się zbliżoną liczbą komórek somatycznych, niższą niż zwierzęta o genotypie heterozygotycznym.

Produkcja mleka jest silnie związana ze stanem fizjologicznym zwierzęcia. W przypadku zaburzeń w obrębie wymienia istotne jest, aby w wyniku mechanizmów obronnych organizm szybko pozbył się czynnika powodującego stan zapalny. Wśród elementów stanowiących pierwszą linię obrony organizmu wymieniać można białka z rodziny katelicyn. Wykazują się one działaniem bakteriobójczym, przeciwwirusowym oraz przeciwwgrzybicznym. Badanie polimorfizmów w obrębie genu *CATHL2* może dostarczyć informacji o zwiększeniu lub obniżeniu roli katelicyn w przypadku krów mlecznych [17].

Ze względu na istotną rolę Bac-5 w procesie bakteriobójczym, istotnym aspektem jest określenie częstości występowania polimorfizmu w obrębie genu *CATHL2* i odniesienia w stosunku do cech użytkowości mlecznej [5]. Wykazano, że ekspresja genu *CATHL2* ma miejsce w zdrowych tkankach bydła, między innymi w gruczole mlekowym. Wskazuje to na działanie białka Bac-5 jako peptydu przeciwdrobnoustrojowego, który kontroluje

stan fizjologiczny w wymieniu. Również Whelehan i wsp. [17] przeprowadzili badania ekspresji genów kodujących białka z rodziny katelicydyn w przypadku występowania wysokiej liczby komórek somatycznych u krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. Wykazali, że wysoka liczba komórek somatycznych nie wpływa jednoznacznie na zwiększenie ekspresji genów. Jednocześnie nie można pomijać faktu, że ekspresja genów następuje również w przypadku zdrowych tkanek, więc stan zakażenia, który powoduje wzrost komórek somatycznych, nie musi jednocześnie wiązać się ze zwiększeniem ekspresji genów.

Fakt ten nie powinien pomniejszać znaczenia i roli katelicydyn wśród mechanizmów obronnych, aktywowanych podczas stanów chorobowych wymienia, a także jako mechanizmu zapobiegawczego, ze względu na obecność katelicydyn w zdrowych tkankach.

W badaniach Liao i wsp. [8] wykazano, że występowanie polimorfizmów w obrębie genów kodujących katelicydyny może mieć wpływ na parametry użytkowości bydła, a wyniki tych zależności mogą być wykorzystywane w programach selekcji.

Również Mei i wsp. [9] wykazali występowanie zależności pomiędzy polimorfizmami w obrębie genów kodujących białka z rodziny katelicydyn a parametrami użytkowości.

Przeprowadzono wiele badań skupionych na poszukiwaniu polimorfizmu w obrębie innych genów, które można by było wykorzystać jako znaczniki parametrów użytkowości bydła mlecznego. Pawar i wsp. [11] wykazali zależność pomiędzy polimorfizmem bydłęcego hormonu wzrostu (*GH*) a wyższym poziomem laktacji u krów mlecznych.

Polimorfizm genu *STAT5*, znanego również jako czynnik gruczołu mlekowego (MGF – mammary gland factor), był analizowany przez Brym i wsp. [2], a wyniki wskazały na występowanie zależności pomiędzy polimorfizmem a parametrami użytkowości.

Przeprowadzono wiele badań na temat zależności pomiędzy genotypami defensyn – należących do AMP, tak jak katelicydyny – a parametrami użytkowości mlecznej. Rynie-wicz i wsp. [12] badali związek pomiędzy polimorfizmem genu defensyny a parametrami użytkowości. Również Krzyżewski i wsp. [6] wykazali zależności pomiędzy genem bydłęcej β 4-defensyny a parametrami użytkowości mlecznej, co może być użyte jako marker w selekcji krów mlecznych.

Polimorfizm w obrębie genu *CATHL2* wskazuje, że w przypadku *CATHL2/DdeI* najlepsze parametry dla białka i tłuszczu, jak i najwyższą wydajność mleczną można było zaobserwować w przypadku homozygot. Inaczej wygląda sytuacja w odniesieniu do *CATHL2/HhaI* – tutaj najwyższa wydajność mleczna była obserwowana w przypadku heterozygoty, ale parametry dla białka i tłuszczu były najwyższe w przypadku homozygot.

Ważnym aspektem jest zwrócenie uwagi na liczbę komórek somatycznych – najwyższa liczba występowała w przypadku heterozygot, co może wskazywać, że w przypadku genotypów homozygotycznych ekspresja genu *CATHL2* kodującego białko Bac-5 przebiega w nieznacznie, ale jednak wyższym stopniu.

Badania dotyczące polimorfizmu w obrębie genów kodujących białka z rodziny katelicydyn mogą dostarczyć informacji na temat wpływu mutacji na użytkowość mleczną krów. Wiedza na temat zależności pomiędzy polimorfizmami genu *CATHL2* a parametrami użytkowości mlecznej i liczbą komórek somatycznych może być przydatna dla poprawienia programów selekcyjnych i hodowlanych bydła mlecznego.

PIŚMIENNICTWO

1. ALI A.K.A, SHOOK C.E., 1980 – An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. *Journal of Dairy Science* 63, 487-490 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(80)82959-6).
2. BRYM P., KAMIŃSKI S., RUŚĆ A., 2004 – New SSCP polymorphism within bovine STAT5A gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. *Journal of Applied Genetics* 45, 445-452.
3. FRANK R.W., GENNARO R., SCHNEIDER K., PRZYBYLSKI M., ROMEO D., 1990 – Amino acid sequences of two proline-rich bactericins. Antimicrobial peptides of bovine neutrophils. *Journal of Biological Chemistry* 265, 18871-18874.
4. GENNARO R., ZANETTI M., 2000 – Structural features and biological activities of the cathelicidin-derived antimicrobial peptides. *Biopolymers* 55, 31-49 (doi:10.1002/1097-0282(2000)55:1<31::AID-BIP40>3.0.CO;2-9).
5. GENNARO R., SKERLAVAJ B., ROMEO D., 1989 – Purification, composition and activity of two bactericins, antibacterial peptide of bovine neutrophils. *Infection and Immunity* 57, 3142-3146.
6. KRZYŻEWSKI J., BAGNICKA E., STRZAŁKOWSKA N., JÓŻWIK A., PYZEL B., ZWIERZCHOWSKI L., 2008 – Association between the polymorphism of bovine β 4-defensin gene and milk traits in Holstein-Friesian cows as computed for standard (305 days) and the whole lactation. *Animal Science Papers and Reports* 26 (3), 191-198.
7. LASSA H., KUBIAK J., MAŁKIŃSKA-HORODYSKA M., 2013 – Bakterie najczęściej izolowane z klinicznych postaci mastitis u krów oraz ich wrażliwość na antybiotyki. *Życie Weterynaryjne* 88 (8), 651-653.
8. LIAO X., PENG F., FORNI S., MCLAREN D., PLASTOW G., STOTHARD P., 2013 – Whole genome sequencing of Gir cattle for identifying polymorphisms and loci under selection. *Genome* 56-10, 592-598 (doi: 10.1139/gen-2013-0082).
9. MEI C., WANG H., LIAO Q., KHAN R., RAZA S.H.A., ZHAO C., WANG H., CHENG G., TIAN W., LI Y., ZAN L., 2018 – Genome-wide analysis reveals the effects of artificial selection on production and meat quality traits in Qinchuan cattle. *Genomics* (doi: 10.1016/j.ygeno.2018.09.021).
10. NAŁĘCZ-TARWACKA T., DEMBIŃSKA B., 2013 – Wpływ wybranych czynników na liczbę komórek somatycznych w mleku krów wysokomlecznych. *Przegląd Hodowlany* 81 (4), 3-5.
11. PAWAR R.S., TAJANE K.R., JOSHI C.G., RANK D.N., BRAMKSHTRI B.P., 2007 – Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. *Indian Journal of Animal Science* 77, 884-888.
12. RYNIEWICZ Z., ZWIERZCHOWSKI L., BAGNICKA E., FLISIKOWSKI K., MAJ A., KRZYŻEWSKI J., STRZAŁKOWSKA N., 2003 – Association of the polymorphism at defensin gene loci with dairy production traits and milk somatic cell count in Black-and-White cows. *Animal Science Papers and Reports* 21, 209-222.
13. SCHROEDER J.W., 2012 – Mastitis Control Programs. Bovine mastitis and milking management. NDSU Extension Service, AS1129, 1-16.
14. SCOCCHI M., WANG S., ZANETTI M., 1997 – Structural organization of the bovine cathelicidin gene family and identification of a novel member. *FEBS Letters* 417, 3142-3146 (doi: 10.1016/S0014-5793(97)01310-0).

15. SMULSKI S., 2014 – *Mastitis* u bydła mlecznego. Elamed Media Group, ISBN: 978-83-61190-58-5: 11-13.
16. STATSOFT INC., 2013 – STATISTICA (data analysis software system), version 12. (www.statsoft.com).
17. WHELEHAN C.J., BARRY-REIDY A., MEADE K.G., ECKERSALL D., CHAPWANYA A., NIARCIANDI F., LLOYD A.T., O'FARRELLY C., 2014 – Characterisation and expression profile of the bovine cathelicidin gene repertoire in mammary tissue. *BMC Genomics* 15, 128 (doi: 10.1186/1471-2164-15-128).

Sonia Hiller, Inga Kowalewska-Łuczak, Ewa Czerniawska-Piątkowska

CATHL2 gene polymorphism in relation to production traits in Holstein-Friesian cows

Summary

The aim of this study was to identify SNPs mutations in the *CATHL2* gene and determine their potential association with dairy performance traits in Polish Black-and-White Holstein-Friesian (phf) cows. Genotypes of individuals were identified by PCR-RFLP. The frequencies of *CATHL2/DdeI* alleles were *C* – 0.693 and *T* – 0.307, and for *CATHL2/HhaI* polymorphisms, *G* – 0.763 and *C* – 0.237. The statistical analysis showed that cows with the *CC* (*CATHL2/DdeI*) and *CG* (*CATHL2/HhaI*) genotype produced higher milk yield than the other cattle genotypes. In the case of *CATHL2/DdeI* and *CATHL2/HhaI* polymorphisms, the highest somatic cell count was found in heterozygous *CT* and *CG* cows.

KEY WORDS: cathelicidins / *CATHL2/DdeI* / *CATHL2/HhaI* / Holstein-Friesian cows