

*dr hab. Tomasz Sakowski prof. IGBZ  
Zakład Biotechnologii i Nutrigenomiki  
Instytut Genetyki i Biotechnologii Zwierząt PAN w Jastrzębcu  
05-552 Magdalenka*

Recenzja pracy doktorskiej mgr inż. Andrzeja Olszewskiego  
pt. „**Określenie wybranych czynników warunkujących długowieczność funkcjonalną u krów  
mlecznych**” wykonanej pod kierunkiem dr hab. Piotra Wójcika prof. IZ

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Andrzeja Olszewskiego dotyczy rozwiązania niezmiernie istotnego, z punktu widzenia hodowcy, problemu długości użytkowania krów mlecznych w stadzie. Prowadzona od niemal 50 lat jednostronna selekcja bywała w kierunku zwiększenia wydajności mlecznej krów doprowadziła w końcu do pogorszenia się cech zdrowotnych, motorycznych i użytkowości mięsnej w rasie pHF. Dwustronnie użytkowa rasa bywała nizinna czarno-biała, która dominowała na terenie Polski, w wyniku krzyżowania wypierającego z buhajami holsztyńsko-fryzyjskimi straciła swój pierwotny charakter. Używane w tym celu nasienie najlepszych, głównie amerykańskich, buhajów doprowadziło też do wzrostu inbredu w populacji bywała pHF w Polsce i konieczność wprowadzenia w wielu stadach programów kojarzeń. Carlin-M Ivanhoe Bell, buhaj urodzony w 1974 r. miał ponad 80 tys. potomstwa. Niestety, w latach 80. ubiegłego wieku było już wyraźnie widać, że poziom chowu wsobnego znacznie wzrósł. Na dodatek okazało się, że Star i jego syn Carlin-M Ivanhoe Bell byli nosicielami recesywnych genów, wywołujących defekty kręgosłupa (defekt określany jako CVM) i niedobory adhezji leukocytów (BLAD) u potomstwa. Niestety ujawniły się one dopiero po kilku pokoleniach. W 1950 r. jedna krowa mleczna produkowała około 2650 kg mleka rocznie. Dzisiaj przeciętny holsztyn produkuje średnio ponad 11 500 kg mleka. W 2017 nagrodzona krowa, Selz-Pralle Aftershock 3918, wyprodukowała 39 095 kg mleka czyli ponad 100 kg każdego dnia. Powstaje zatem pytanie, czy tak prowadzona hodowla zmierzająca do osiągnięcia coraz większych wydajności mlecznych i oparta na bliżej lub dalej spokrewnionych ze sobą osobnikach nie jest ślepym zaułkiem? Obecnie wiele związków hodowlanych podjęło walkę z tą niekorzystną tendencją, panującą w hodowli bywała. W stosowanych indeksach selekcyjnych coraz większe wagi ekonomiczne przypisuje się takim cechom użytkowym jak: długowieczność, płodność, budowa ciała sprzyjająca poprawie cech motorycznych i cech budowy wymienia. U ras dwustronnie-

użytkowych zwiększa się ponownie wagę cech użytkowości mięsnej lepiej skorelowanych z cechami zdrowotnymi bydła. W indeksie selekcyjnym bydła rasy simentalskiej w Austrii 38% stanowią cechy użytkowości mlecznej, 18% mięsnej, a 44% cechy związane z płodnością i zdrowiem. Praca mgr inż. Andrzeja Olszewskiego wychodzi na przeciw oczekiwaniom hodowców bydła. Nie można bowiem przejść do porządku dziennego nad tym, że średnia długość użytkowania krów mlecznych w stadzie waha się w okolicy 2,5 laktacji. Krowy z reguły brakowane są z powodu niepłodności, bądź klinicznych stanów zapalenia wymienia i wysokiego poziomu komórek somatycznych w mleku. W rezultacie w wyniku wysokiego brakowania w stadzie, często w okolicy 30%, hodowca nie może skutecznie prowadzić selekcji własnych zwierząt w pożądanym kierunku, gdyż ma ciągły deficyt jałówek z własnego chowu. W rezultacie zmuszony jest do zakupu zwierząt z innych hodowli, co nie jest najlepszym rozwiązaniem. W ten sposób zainfekowaliśmy nasze stada wirusami IBR, BVD i kto wie, czy nie wirusem Schmallerberg (SBV).

Cechy produkcyjne takie jak wydajność mleczna lub mięsna przynoszą zysk hodowcy. Jeśli chodzi o krowy mleczne, dopiero krowa w trzeciej laktacji zwraca rolnikowi nakłady na jej odchów od urodzenia do krowy pierwiastki. Dlatego coraz częściej cechą funkcjonalną jaką jest długowieczność włącza się do indeksów selekcyjnych i traktuje się z dużą uwagą. Wydajność życiowa, a zwłaszcza ta powyżej 100 000 kg mleka jest wizytówką hodowcy i jego stada. W tej kategorii rozgrywane są czempionaty. Żeby ją osiągnąć u rasy pHF potrzeba co najmniej 5 laktacji, a u ras mniej wydajnych około 10-12.

### **Charakterystyka pracy**

Na 136 stronach maszynopisu znajdziemy obszerny wstęp opisujący tło prowadzonych badań, cel pracy, materiał metody, wyniki i ich omówienie, podsumowanie, stwierdzenia i wnioski. W pracy zamieszczono 6 tabel z opisem materiału badawczego oraz 44 tabele z wynikami analiz statystycznych zebranego materiału. W pracy znajdziemy też 12 wykresów przedstawiających wartości cech użytkowych i funkcjonalnych krów z podziałem na grupy krów młodych (I – III laktacja) i starszych (IV – VIII laktacja) oraz krów ubytych ze stada w wieku do III laktacji i tych ubytych w późniejszym wieku. Załączono też 4 zdjęcia polimorficznych form genu Leptyny. Spis literatury zawiera 134 pozycje.

W obszernym wprowadzeniu doktorant omówił czynniki środowiskowe i funkcjonalne wpływające na długowieczność krów takie jak: żywienie, występowanie i przyczyny chorób,

wydajność mleczna, wskaźniki płodności, dobrostan oraz czynnik genetyczny jakim jest gen Leptyny warunkujący wydajność mleczną krów i długość ich użytkowania w stadzie. Powołując się na dane literaturowe doktorant wskazał na najistotniejsze przyczyny brakowania krów, ze względu na niskie wskaźniki płodności, słabe zdrowie, czy nieodpowiedni, niezgodny z zasadami dobrostanu zwierząt sposób utrzymania. Długość użytkowania krów zależy również od pokrycia ich zapotrzebowania na składniki pokarmowe. Błędy żywieniowe skutkują spadkiem wydajności, występowaniem chorób metabolicznych, pogorszeniem zdrowotności oraz obniżeniem wskaźników rozrodu. Doktorant wskazał też na zależność procentu brakowanych krów od liczebności zwierząt w stadzie. W odchowie cieląt popełnianych jest szereg istotnych błędów, których wynikiem jest niska odporność nowonarodzonych zwierząt i w ich efekcie około 10% upadków. Czynnikiem, który ma duży wpływ na skrócenie okresu użytkowania krów w stadzie, jest brak możliwości pokrycia deficytu energetycznego zwierząt w pierwszych 100 dniach laktacji. Prowadzi to często do ich szybszego brakowania ze względu na spadek wskaźników płodności bądź wystąpienie chorób metabolicznych. Doktorant zwrócił też uwagę na znaczenie wpływu wydajności mlecznej krów na długość ich użytkowania w stadzie. Wysoka wydajność szybko wyczerpuje zapasy energii w organizmie krowy, która chudnie i po zakończeniu laktacji może już nie być w stanie ich odbudować, a tym bardziej w pierwszej fazie kolejnej laktacji. Średni czas użytkowania krów w stadzie obniżył się na przestrzeni lat z 3,5 do obecnych 2,5 laktacji.

W warunkach naturalnych krowy mogą żyć ponad 20 lat. Intensyfikacja produkcji znacznie skróciła ten okres, gdyż nie zapewniła krowom właściwych warunków środowiskowych i żywieniowych. Dlatego poprawa dobrostanu zwierząt może w znacznym stopniu przyczynić się przedłużenia im okres użytkowania w stadzie. Doktorant zwrócił uwagę na fakt, że coraz więcej krów spędza całe życie w oborze, w której musi mieć zapewniony odpowiedni mikroklimat, czyli odpowiednią temperaturę, wilgotność względną, prędkość przepływu powietrza oraz eliminowanie zanieczyszczeń chemicznych i bakteriologicznych. Wysoka temperatura, która przekracza 24-27°C, powoduje stres cieplny negatywnie wpływający na samopoczucie krowy, zdrowie i parametry rozrodu. W ostatnim podrozdziale wprowadzenia doktorant opisuje znaczenie genu Leptyny, a zwłaszcza jego polimorficznej formy LEP R25C mającej związek z długością życia krów. Ma on wpływ na bilans energetyczny organizmu i tym samym na masę ciała poprzez regulację substancji zapasowych w organizmie

w postaci podskórnego tłuszczu. Leptyna poprzez regulację procesu lipogenezy może również wpływać na funkcjonowanie układu rozrodczego.

Celem przedstawionej do recenzji pracy było określenie genetycznych i środowiskowych czynników warunkujących zwiększenie długowieczności funkcjonalnej u bydła mlecznego i określenie możliwości wykorzystania w selekcji polimorficznych form genu Leptyny. Celem utylitarnym badań miało być wyszukanie w gospodarstwie krów o wysokich predyspozycjach do długowieczności, które mogłyby się w przyszłości stać początkiem linii matecznych takich zwierząt.

Badania przeprowadzono w ZD Instytutu Zootechniki PIB w Kołbaczu. Do analizy pobierano dane o próbnym udoju z SYMLEKU oraz używanego w gospodarstwie własnego programu AFIFARM zbierającego dane o dobowej, miesięcznej produkcji mleka od krowy z podziałem na doje poranny, południowy i wieczorny. Aktywność zwierząt mierzono za pomocą pedometrów. Zwierzęta utrzymywane były w systemie wolnostanowiskowym, a żywienie oparto o system TMR z podziałem na grupy żywieniowe. Dój odbywał się na hali udojowej typu bok w bok wyposażonej w system doju firmy AFIKIM i aparaty udojowe do mierzenia ilości wyprodukowanego mleka – AFILAB. W ciągu doby odbywały się trzy doje krów. Informacje o masie ciała krów były przekazywane codziennie za pomocą systemu AFIWEIGHT. Oceniano też pokrój zwierząt.

Na uwagę zasługuje zastosowanie nowoczesnych metod oceny wydajności mlecznej zwierząt połączonych z kontrolą masy ciała krów podczas udoju oraz ich aktywności ruchowej. Z pobranych próbek krwi izolowano DNA w celu określenia polimorfizmów w genie Leptyny. Do genotypowania wykorzystano metodę RFLP\_PCR.

Wyniki badań opracowano statystycznie za pomocą programu SAS w.9.3 z wykorzystaniem procedury GLM oraz porównano średnie przy pomocy procedury LSMEANS. W przedstawionych modelach statycznych wszystkie czynniki oznaczone były małymi literami. Dla większej przejrzystości byłoby lepiej czynniki losowe oznaczać literami małymi, a stałe dużymi.

Przeprowadzona analiza statystyczna zebranego materiału potwierdziła pewne prawidłowości panujące w produkcji mleka. Zawartość tłuszczu w mleku rosła wraz kolejną

laktacją, a zawartość białka utrzymywała się bez względu na numer laktacji na mniej więcej stałym poziomie, wykazując jedynie niewielkie sezonowe wahania. Wraz numerem laktacji rosła też liczba komórek somatycznych w mleku z 200 tysięcy w ml do 600 tysięcy. Krowy w laktacjach IV-VIII wykazywały się wyższą wydajnością mleczną od krów brakowanych w tych samych laktacjach. To samo dotyczyło laktacji I-III. Analiza użytkowości mlecznej krów została zaprezentowana i omówiona w tabelach 1 – 6, gdzie analizowano dane z systemu SYMLEK. Wynik analiz danych z systemu AFIFARM, uwzględniające poszczególne dzienne doje i masę ciała krów zaprezentowane zostały w tabelach 7- 9. W tabelach 10 – 12 przedstawione były i omówione wyniki aktywności ruchowej zwierząt z uwzględnieniem pory doju i stadium laktacji. W kolejnych tabelach 13 - 14 przedstawiona jest średnia dobową produkcja mleka z uwzględnieniem, aktywności oraz masy ciała krów. Tabele 15 – 16 prezentują te same dane, ale z podziałem na pory (sesje) doju. W tabeli 17-19 zaprezentowano i omówiono średnią dobową produkcję mleka z uwzględnieniem aktywności ruchowej krów w rozbiciu na poszczególne miesiące. W tabelach 20 – 22 pokazano średnie parametry aktywności ruchowej w wybranych miesiącach i sesjach doju dla grup krów w laktacjach I-III oraz IV- VIII oraz krów brakowanych.

Jedną z wątpliwości, która pojawiła podczas analizy danych jest spadek wydajności mlecznej w okresie maj - wrzesień, kiedy to z reguły krowy produkują więcej mleka. Czym można go uzasadnić? Może jest to specyfika ZD w Kołbaczu, a może są to wyjątkowo niekorzystne warunki klimatyczne?

Drugim znakiem zapytania, który pojawił się podczas analizy przedstawionych wyników była najniższa wydajność mleczna krów, które ubyły we wrześniu. Co było tego powodem? Odwrotnie było za to z ich masą ciała.

Analizując aktywność krów okazało się, że są one najbardziej aktywne w pierwszych 100 dniach laktacji. Aktywność krów spadała wraz z długością laktacji i kolejną laktacją, czyli z wiekiem krowy. Przed porannym udojem krowy wykazywały mniejszą aktywność niż przed udojami południowym i wieczornym, kiedy to były najbardziej aktywne. Aktywniejsze były krowy produkujące więcej mleka. Średni czas leżenia po jednorazowym położeniu wynosił 66 - 72 minut i gwarantował pozyskanie największej ilości mleka. Czas doju wzrastał wraz z kolejną laktacją. Krowy ubyte leżały dłużej na jedno położenie od krów pozostających w stadzie. Średnia aktywność dobową wynosiła 100 kroków/godzinę z uwzględnieniem numeru

laktacji i pory doju. Krowy dłużej odpoczywające pobierały mniej paszy. Powyżej IV laktacji średnia aktywność dobową krów zmniejszyła się do 87- 98 kroków /godzinę. Aktywność krów rosła w zależności od pory roku osiągając szczyt w sierpniu i wrześniu 129 – 134 kroków/godzinę. Czym było to spowodowane? Czas leżenia wydłużał w chłodnych miesiącach nawet o 81 minut. Zarówno przy niskiej jak i wyższej od przeciętnej temperaturze powietrza, krowy wykazywały większą aktywność. W temperaturze powyżej 26°C było to nawet 155 kroków/godzinę. Krowy w nocy na leżeniu spędzają 60% czasu, a w dzień 40%.

Zdaniem recenzenta prezentacja wyników analiz wydajności mlecznej i aktywności ruchowej zwierząt jest za obszerna i przez to staje się mniej przejrzysta. Można byłoby śmiało zrezygnować z prezentacji danych SYMLEK-owskich, bo nie są one w żaden sposób skorelowane z aktywnością ruchową zwierząt, która ma być wskaźnikiem stanu zdrowotnego krów, a tym samym zdolności do zapłodnienia i produkcji mleka w kolejnych laktacjach. Większość omawianych tabel przeczuciłbym do aneksu, a skoncentrowałbym się na omówieniu zaprezentowanych w dalszej części omówienia wyników wykresów 1 – 12. Co więcej spróbowałbym nałożyć na wykres przedstawiający wydajność mleczną dla poszczególnych grup zwierząt ich wykresy aktywności, co ułatwiłoby w znacznym stopniu interpretację wyników. Na przykład wykres 1 z wykresem 5 dla każdej z analizowanych grup zwierząt.

Ciekawe byłoby też połączenie uzyskanych wyników w indeks najlepiej dostosowanej do danych warunków produkcji krowy w stadzie, uwzględniający wiek pierwszego ocielenia z punktami dodatnimi za ocielenie poniżej i ujemnymi za ocielenie powyżej średniej stada, numer laktacji, sumaryczną wydajność mleczną, wskaźniki płodności takie jak: ilość inseminacji czy długość OMW. Oczywiście za odchylenia od średniej stada, bądź założonego celu hodowlanego przez zastosowanie odpowiednich wag, można dodawać lub odejmować punkty w indeksie każdej krowy. W ten sposób otrzymamy uszeregowanie krów od najlepszej do najgorszej w stadzie.

Wartości korelacji Spearmana wydają się potwierdzać zależności pomiędzy wydajnością mleczną a aktywnością ruchową zwierząt i ich wiekiem. Im krowy były starsze tym ich wydajność mleczna spadała, natomiast wiek pozytywnie skorelowany był z zawartością tłuszczu w mleku i niestety z wyższą LKS. Dłuższy odpoczynek sprzyjał produkcji mleka  $r=0,35$ . Starsze krowy odpoczywały dłużej  $r=0,2$ . Ciekawą wydaje się być korelacja pomiędzy

częstotliwością odpoczynku a średnim czasem leżenia dla krów w I-III laktacji. Młodsze krowy krócej odpoczywały, ale za to robiły to częściej  $r=-0,65$ . Może być to ciekawy wskaźnik określający stan zdrowotny zwierzęcia lub warunki utrzymania w oborze. Wymaga to jednak prowadzenia dalszych obserwacji i analiz.

Ważnym elementem oceny kondycji zwierząt, a tym samym ich zdolności do produkcji mleka i zdolności adaptacyjnych jest ocena pokroju. Z przedstawionych wyników badań można wnioskować, że brakowane krowy miały wyższe noty za budowę nóg i wymienia od tych pozostających w stadzie. Krowy ubyte charakteryzowały się również większym kalibrem, ale za to węższą klatką piersiową. Zatem powodem brakowania, jak zauważył doktorant, nie były z wyjątkiem budowy wymienia i krótkich strzyków wady budowy ciała, ale zakłócenia płodności oraz choroby, z których najczęściej wymieniano zaleganie łożyska, metritis i zapalenie macicy. Krowy starsze trudniej się zacielały zużywając średnio 3,5-5,5 porcji nasienia na jedno skuteczne zacielenie, a u krów ubytych wskaźnik ten osiągał nawet 11,5 porcji. Wraz z wiekiem krów spadała liczba trudnych porodów. Czy zatem obserwacja parametrów produkcyjnych, zdrowotnych i środowiskowych wystarczy, aby poprawić długowieczność krów w stadzie?

W przedstawionej do recenzji pracy doktorant przeanalizował mutacje genu Leptyny poszukując w populacji badanych krów tych z najkorzystniejszymi mutacjami z punktu widzenia długowieczności. Założeniem badań było sprawdzenie jak licznie występują one w stadzie i czy w związku z tym będzie można prowadzić genomową selekcję w tym kierunku?

Niemal wszystkie osobniki w stadzie posiadały genotyp AA, a tylko 0,33% genotyp AT genu Leptyny. Krowy o genotypie TT występującym najrzadziej, miały najwyższą wydajność mleka. Genotyp CC mutacji LEP R25C obniżał wydajność mleczną, za to CT był korzystniejszy z punktu widzenia długowieczności. W mutacji A80V genu Leptyny dominował polimorfizm CC (52%-66%). Osobniki z genotypem TT osiągały najwyższą wydajność, ale pozostałe genotypy również wykazywały dobre predyspozycje do produkcji mleka. Ostatnią przebadaną mutacją genu Leptyny była mutacja C(-963)T. W tym przypadku najwyższą wydajność mleczną miały krowy ze genotypem CC w I-III laktacji, a z genotypem TT w IV-VIII laktacji.

W toku zestawiania danych doktorant nie ustrzegł się jednak drobnych błędów w opisie tabel. W tabelach 42 i 44 brakuje oznaczenia III laktacji.

W podsumowaniu doktorant podkreślił, że pula genowa rasy HF w populacji polskiego bydła jest dominująca i związana była z długoletnią selekcją w kierunku wzrostu produkcji mleka. Niestety po drodze zapodziały się inne geny pozytywnie warunkujące długowieczność, a tym samym zdrowie. W dążeniu do poprawy długowieczności korzystny, jak wynika z przedstawionych badań, okazuje się genotyp CT w genie Leptyny zarówno w mutacji R25C jak i C(-963)T. Jednak te markery powinny występować w towarzystwie większej ilości SNP, jak to robią hodowcy w innych krajach, które wprowadziły u siebie genomową ocenę wartości hodowlanej. Na czipie Illuminy z 54001 SNP nanosi się DNA ocenianego osobnika i w ten sposób kwalifikuje się go dalszej hodowli, jeśli spełnia założenia programu hodowlanego. Poza selekcją genomową, pozostaje ocena wpływu środowiska na długowieczność, czemu w dużo większej części poświęcona jest ta praca doktorska. Potencjał genetyczny może się realizować tylko w sprzyjających warunkach środowiskowych. Wskaźnikami takiej realizacji są aktywność ruchowa zwierząt, zdrowie, w tym płodność, i wydajność mleczna. Wiek pierwszego ocielenia również istotnie wpływa na wskaźniki rozrodu. Nie do przecenienia jest też eliminacja wad budowy ciała, a zwłaszcza budowy nóg i wymienia.

Doktorant wykazał się bardzo dobrą znajomością badań innych autorów, na wyniki których powoływał się w przeglądzie literatury i w dyskusji. Brak numeracji w tekście pozycji cytowanej literatury utrudniał recenzentowi śledzenie zgodności cytowanych pozycji z zamieszczonym na końcu pracy spisem literatury.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska jest przeprowadzaną staranną analizą danych pochodzących z SYMLEKU i systemu AFIFARM grup krów młodszych i starszych oraz przyczyn ich brakowania w grupach krów ubytych młodszych i starszych. Analizę parametrów produkcyjnych poszerzono o analizę aktywności ruchowej zwierząt oraz ocenę pokroju. Duża liczba przeanalizowanych danych daje pogląd na stan zdrowotny stada w Kołbaczu. W oparciu o przeprowadzone analizy wypadałoby pójść krok dalej i opracować model matematyczny do wyliczenia indeksów dopasowania krów do warunków produkcyjnych w stadzie i na tej podstawie oceniać ich potencjalną długowieczność. Najlepsze krowy, tak jak założył w swojej pracy doktorant mogą stać się początkiem linii matczynek krów długowiecznych. Jest to zadanie ambitne, ale wykonalne. Wyniki badań w przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej mogą być pierwszym krokiem w realizacji tego celu. Praca doktorska ma duże walory poznawcze i może służyć jako przewodnik dla praktyków zajmujących się oceną cech



funkcjonalnych w stadach bydła mlecznego. Na uwagę zasługuje również poprawny, aczkolwiek trudny język tej pracy oraz staranna szata graficzna.

### **Wniosek końcowy**

Oceniając wysoko poziom naukowy i oryginalność uzyskanych wyników stwierdzam, że praca doktorska mgr inż. Andrzeja Olszewskiego pt. „**Określenie wybranych czynników warunkujących długowieczność funkcjonalną u krów mlecznych**” spełnia wymogi określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595 z późn. zmianami) oraz w przepisach wprowadzających ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669 z późn. Zmianami). Dlatego zgłaszam wniosek do Rady Naukowej Instytutu Zootechniki PIB w Balicach o przyjęcie pracy mgr inż. Andrzeja Olszewskiego i dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Tomasz Sadowski