

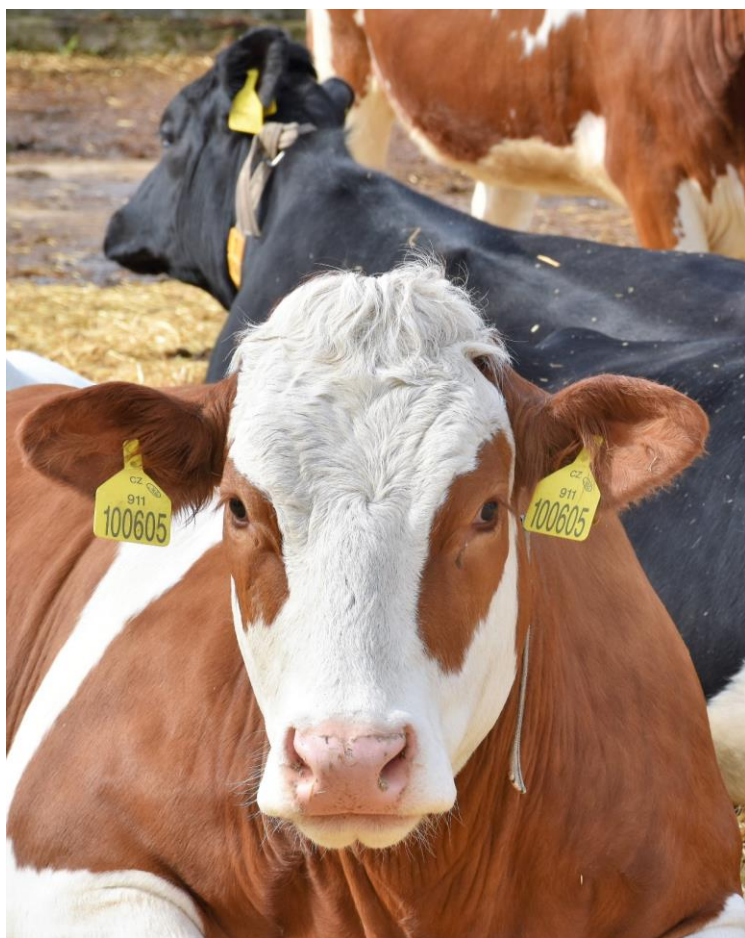
VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat



PŘÍSPĚVEK J. G. MENDELA KE ŠLECHTĚNÍ HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT

SBORNÍK ZE SEMINÁŘE



Praha Uhřetěves, 2022

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat

Vás zvou na seminář

Příspěvek J. G. Mendela ke šlechtění hospodářských zvířat



23. března 2022

od 9:30

Seminář se uskuteční ve Výzkumném ústavu živočišné výroby, v. v. i. v Praze Uhřetěvsi a současně na platformě Zoom. Každý registrovaný účastník obdrží odkaz na připojení. Odkaz bude k dispozici na stránkách VÚŽV.

PŘEDNÁŠKY

9.30 Tomáš Urban

Od Mendelových elementů k modernímu šlechtění zvířat

10.00 Karel Novák

Genetika modelu hrachu a důsledky pro živočišnou genetiku

10.30 Alexandra Novotná

Genetické vyhodnocení skokové výkonnosti a lineárního popisu ve sportovní populaci koní v České republice

11.00 Eva Kašná

Aktuální směry ve šlechtění dojeného skotu

11.30 Michal Milerski

Příspěvek šlechtění ovcí k práci J. G. Mendla a naopak

12.00 Eliška Žáková

Šlechtění prasat – kde jsme a kam směřujeme

12.30 Alena Svitáková, Zdenka Veselá

Aktuální směry ve šlechtění masného skotu

ORGANIZACE

Ing. Ludmila Zavadilová, CSc.

zavadilova.ludmila@vuzv.cz

Ing. Zdenka Veselá, Ph.D. vesela.zdenka@vuzv.cz

REGISTRACE (do 22. března)

Renata Prošková

proskova.renata@vuzv.cz



Editorky a organizátorky

Ing. Ludmila Zavadilová, CSc.

zavadilova.ludmila@vuzv.cz

Ing. Zdenka Veselá, Ph.D.

vesela.zdenka@vuzv.cz

Poděkování

*Seminář byl podpořen Ministerstvem zemědělství ČR, prostřednictvím
institucionální podpory MZE-RO0718.*

Obsah

Od Mendelových elementů k modernímu šlechtění zvířat

Tomáš Urban

6

Genetické vyhodnocení skokové výkonnosti a lineárního popisu ve sportovní populaci koní v České republice

Alexandra Novotná, Alena Svitáková

7

Odhad genetických parametrů pro věk prvního otelení a první mezidobí v populaci masného skotu v České republice

Brzáková Michaela, Svitáková Alena, Veselá Zdeňka

15

Vztah exteriéru, výskytu klinické mastitidy a somatických buněk u holštýnského skotu

Jan Vařeka, Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Miloslava Štípková, Luboš Vostrý

22

Genetické hodnocení poruch reprodukce u českého strakatého skotu

Eva Kašná, Ludmila Zavadilová, Soňa Šlosárková, Petr Fleischer, Josef Kučera

32

Molekulární charakterizace beta a kappa kazeinového lokusu u kôz chovaných v ČR

Zuzana Sztankóová, Ladislav Tichý, Kateřina Ječmínková-Jochová, Jitka Kyselová

38

Vliv inbrední deprese na mléčnou užitkovost u skotu

Hanka Vostrá-Vydrová, Michaela Brzáková, Nina Moravčíková, Radovan Kasarda, Daniela Fulínová, Barbora Hofmanová, Luboš Vostrý

45

Studium variability imunitních genů v populaci českého strakatého skotu

Ladislav Tichý, Karel Novák, Jitka Kyselová, Michaela Přibáňová, Zuzana Sztankóová, Luboš Vostrý

49

Genomické plemenné hodnoty pro klinickou mastitidu u holštýnského skotu, zdvojené genotypy v genomické referenční populaci

Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Anita Klímová

57

Od Mendelových elementů k modernímu šlechtění zvířat

Tomáš Urban

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

V letošním roce si připomínáme dvousté výročí narození Johanna Mendela. Řádové jméno Gregor získal po vstupu do řádu Augustiniánů. Jeho život není příliš dobře zdokumentován a existuje řada interpretací. Jednou z nich je datum narození. V matriční knize je uvedeno datum narození 20. 7. 1822 v Heizendorfu (dnes Hynčice). Mendel sám i jeho rodina slavila jeho narozeniny 22. 7. Tento druhý termín Mendel uváděl na všech oficiálních dokumentech. Udělal chybu pan farář při zápisu do matriční knihy, nebo si Mendelova rodina více vážila datumu, kdy byl patrně pokřtěn? Jestli ten důvod byl úplně jiný, to se asi nikdy nedovíme. Z pohledu významu Gregora Mendela pro moderní biologii je to však méně důležité.

Co Mendela nejvíce ovlivnilo? Byla to zejména jeho inteligence a zájem se učit nové věci, a nakonec i jeho pedagogická schopnost učit ostatní. Tyto jeho přednosti rozpoznali a rozvíjeli jeho učitelé, od základní školičky v Hynčicích až po univerzitní studia ve Vídni. Nicméně podstatná pro jeho rozhodnutí vstoupit do řádu augustiniánů a stát se knězem byla i jeho problematická materiální situace. V Mendelově životě hrály velkou roli i jeho nedostatky a neúspěchy – „díky“ své jakési psychosomatické chorobě byl nasměrován na pedagogickou dráhu a díky neúspěchu u závěrečných zkoušek na Vídeňské univerzitě se nakonec nestal plnohodnotným učitelem a jeho opat, Cyril Napp, jej pověřil výzkumnou činností.

Zabýval se tvorbou hybridů po několika generacích a pozoroval pravidelné vzory alternativních variant znaků mezi generacemi. V jeho práci se nikde neobjevuje výraz dědičnost (die Vererbung), píše jen o vývoji hybridů. Proto se vyskytují názory, že se Mendel dědičností nezabýval. Když se ale zamyslíme, o čem je křížení, a že navrhl model přenosu elementů (die Elementen) pomocí pohlavních buněk mezi generacemi, tedy co a jak se dědí, pak se ve své podstatě dědičností zabýval. Základem jeho teorie dědičnosti a variability je elementární, diskrétní model, který z pohledu současné genetiky plně vysvětluje teorie dědičnosti založená na přenosu genů, které jsou vymezenými úseky sekvencí nukleotidů v molekule DNA.

Tato elementarita, diskrétnost genů se stala také východí pro matematické vyhodnocování variability, což dalo základy genetiky populací a pak už byl jen krůček k matematickému hodnocení komplexních kvantitativních znaků, odhadům genetických parametrů a odhadům plemenných hodnot pomocí smíšených lineárních modelů. V éře masivního sekvenování genomů se odhaluje velká genetická variabilita SNP markerů v populacích a tyto informace se čím dál více využívají, např. na zpřesněný odhad genomické příbuznosti, genomické heritability, a nakonec i genomické plemenné hodnoty.

Ať tradiční nebo moderní šlechtění založené na genomických informacích, se od počátku pochopení principů genetiky v podstatě nemění. Pomocí příbuzenských vztahů, odhadů genetické variability a fenotypových rozdílů je cílem určit a vybrat geneticky „nadřazené“ jedince, kteří budou předávat své geny do dalších generací s očekávanou změnou genetického zisku. Genomický přístup je jen přesnější a efektivnější varianta. Současná doba však čím dál více musí řešit problematiku ztráty variability a udržitelnosti šlechtitelských procesů.

Jaká bude budoucnost šlechtění? Bude se posouvat od šlechtění populace pomocí selekce a hybridizace, ke šlechtění jedince pomocí neustále se vylepšující se metodě genetických nůžek (CRISPR Cas)? Budeme modifikovat či „opravovat“ konkrétní geny, abychom získali upravené složení tkání a orgánů zvířat pro zdravější potraviny? Je nutné vyřešit etické problémy. Nesmíme zapomenout na prostředí. Užitekosti jsou komplexní kvantitativní vlastnosti, a tedy je vždy nutné počítat s prostředím ($P = G + E$). Tato cesta rozhodně nebude snadná a snad i nemožná. Ať už bude budoucnost šlechtění jakákoliv, je stopa Mendelova objevu diskrétní dědičnosti, kdy se nedědí znaky ale informace o nich, trvalá.

Genetické vyhodnocení skokové výkonnosti a lineárního popisu ve sportovní populaci koní v České republice

Alexandra Novotná, Alena Svitáková

Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetíněves

Poděkování

Realizováno za podpory ministerstva zemědělství České republiky, institucionální podpora MZERO0718.

Souhrn

Tato studie se zabývá genetickým vyhodnocením sportovních koní v České republice. Jako podkladové údaje byly použity výsledky parkurových soutěží za období 1995 – 2021 a hodnocení lineárního popisu teplokrevných koní za roky 1996 – 2021. Pro sestavení matice příbuznosti byla použita rodokmenová databáze. Genetické vyhodnocení bylo vypočteno nejprve pro skokovou výkonnost a poté zvlášť pro lineární popis. U skokové výkonnosti výsledky ukazují, že plemenné hodnoty je vhodné předpovídat víceznakovým modelem. Bylo zjištěno, že genetická hodnota koně se zvyšuje se vzrůstající obtížností soutěže. U lineárního popisu bylo vyhodnoceno 22 znaků a 4 měřené znaky. Koeficienty dědivosti byly odhadnuty jednoznakovou analýzou, zatímco variance a kovariance mezi všemi znaky byly získány dvouznakovou analýzou. Odhadnuté genetické parametry naznačují, že lineární popis je cenným nástrojem pro hodnocení stavby těla. Selektční program sportovních koní v České republice tak může zahrnovat genetické hodnocení skokové výkonnosti i lineárního popisu.

Klíčová slova: lineární popis koní, skoková výkonnost, genetické hodnocení koní, genetické korelace

Summary

This study deals with the genetic evaluation of sport horses in the Czech Republic. As the underlying data were used show jumping competitions results for the period 1995 – 2021 and linear profiling evaluation of warmblood horses for the period 1996 – 2021. The pedigree database was used to create of the relationship matrix. Genetic evaluation was calculated first for show jumping performance and then separately for linear profiling. For show jumping performance the results show that it is appropriate to predict breeding values with multitrait model. It has been found that the genetic value of a horse increases with increasing difficulty of competition. For the linear profiling, 22 traits and 4 measured traits were evaluated. A single trait model was used for the estimation of heritabilities while two trait animal model was applied for the estimation of variances and covariances between all traits. The estimated genetic parameters suggest that a linear profiling is a valuable tool for evaluation conformation. The selection program of sport horses in the Czech Republic may include a genetic evaluation of show jumping performance and a linear profiling.

Klíčová slova: horse, linear profiling, jumping competitions results, genetic evaluation, genetic correlations

Úvod

Chov koní má v České republice dlouhodobou tradici. V posledních desetiletích je však zaznamenán prudký pokles zájmu využití koní k hospodářské činnosti a naproti tomu se zvyšuje zájem o koně pro sportovní jezdecké disciplíny a rekreační účely (Novotná, 2014). Tento trend určuje také hlavní cíle šlechtění jednotlivých plemen koní zaměřené na výkonnost a stavbu těla.

V současnosti jsou základem šlechtění všech hospodářských zvířat počítačově vedené databáze s údaji o původech, vlastnostech a všech ostatních ekonomicky důležitých vlastnostech. Selektční program tak může být díky tomu založen na genetických principech, jako jsou předpovědi plemenných hodnot. Aby však předpovědi plemenných hodnot byly přesné a objektivní, musí jim nejprve předcházet systematická testace a objektivní získávání informací.

Provéřit vlastní výkonnost nebo výkonnost potomstva u sportovních koní lze několika způsoby. Výkonnostní zkoušky bývají prvotní informací o sportovním potenciálu koně. Výsledky ze sportovních soutěží nebo speciální soutěže pro mladé koně jsou další důležitou formou testace. Při hodnocení kvality genetického založení koní však nelze vycházet jen z naměřené užitečnosti zvířat, protože všechna zvířata nemusí mít evidované sportovní výsledky. Tyto informace je potřeba spojit s informacemi o příbuzných jedincích a s informacemi o rodokmenu. Dobré výsledky konkrétního koně v soutěži nemusí být jen odrazem jeho výjimečného genetického založení, ale mohou být výrazem optimálního chovatelského prostředí a přípravy koně. Výkonnost zvířat je totiž podmíněná jak genetickými faktory, tak vnějšími efekty prostředí, které mají na výkonnost velký vliv.

Rovněž stavba těla hraje důležitou roli ve šlechtitelském programu neboť cílem je šlechtit koně ušlechtilé, lehce jezditelné, s dobrou mechanikou pohybu a pevným zdravím, vhodné pro všechny druhy jezdeckého sportu. Lineární popis u koní se začal používat v 80. - 90. letech nejprve u šetlandského ponyho (van Bergen and van Arendonk, 1993), holandského teplokrevního jezdeckého koně (Koenen et al., 1995) nebo haflinga (Miglior et al., 1998).

Cílem této studie bylo odhadnout genetické parametry skokové výkonnosti a lineárního popisu populace sportovních koní v České republice. Získané výsledky byly předány sportovním chovatelským organizacím, aby bylo možné předpovědi plemenných hodnot využívat rutinně.

Materiál a metody

Podkladové soubory pro vyhodnocení skokové výkonnosti byly získány od České jezdecké federace a od Ústřední evidence koní. Pro genetické vyhodnocení stavby těla byly použity databáze lineárního popisu od Ústřední evidence koní.

Genetické hodnocení skokových koní vychází z databáze výsledků skokových soutěží za období 1995 – 2021. Celkem bylo zaznamenáno 1008976 skokových výsledků od 26926 koní.

Databáze lineárního popisu obsahovala záznamy od 16927 koní z období 1996 - 2021. Někteří koně měly opakovaný záznam lineárního popisu. Pro výpočet genetických parametrů i předpovědi plemenných hodnot byly opakované záznamy vyřazeny a u každého koně byl ponechán pouze první pořizovaný záznam lineárního popisu.

K přípravě datových souborů a vyhodnocení výsledků jak u skokové výkonnosti, tak i u lineárního popisu byl použit program SAS (SAS, 2004). Pro výpočet genetických parametrů byl využit program AIREMLf90 (Misztal et al., 2002) a pro vlastní předpovědi plemenných hodnot program BLUPf90 (Misztal et al., 2002). Při zpracovávání databází a sestavování matice příbuznosti byl každému koni přiřazen jedinečný kód, díky němuž se vyloučily případné chyby záměnou shodných jmen koní. Pro stanovení komponent rozptylu byly podkladové databáze upraveny tak, aby v každé skupině byl dostatečný počet případů a vlivy jednotlivých činitelů, které ovlivňují výsledek, byly odhadnutelné.

Vstupní údaje sportovní výkonnosti vyjádřené trestnými body neměly normální rozdělení četností. Proto byla použita Blomova normalizační transformace (Blom, 1958), která zachycuje dosažené pořadí v soutěži, obtížnost i výšku soutěže jako relativní jednotku výkonnosti a po transformaci má již normální rozložení četností.

Pro stanovení genetických parametrů a předpovědi plemenných hodnot skokové výkonnosti byl použit dvouznakový model. Soutěže byly rozděleny do dvou skupin podle obtížnosti soutěže a každá skupina byla považována za jinou vlastnost. První skupina (SK1) zahrnovala skokové výsledky od 90 cm do 130 cm, druhá skupina (SK2) od 135 cm do 155 cm. Modelová rovnice byla následující:

$$y = \mu + \text{pohlaví} + \text{stáří koně} + \text{stáří koně}^2 + \text{soutěž} + \text{jezdec} + TP + GH + e$$

kde y je vyhodnocovaná veličina pro SK1 a SK2, μ je populační průměr, pohlaví je pevný efekt, stáří koně je lineární a kvadratická regrese na věk koně v letech, soutěž je náhodný efekt pro skupinu vrstevníků, jezdec je náhodný efekt, TP je náhodný efekt trvalého prostředí koně, GH je náhodný efekt aditivní genetické hodnoty koně a e je náhodný reziduální efekt.

U lineárního popisu bylo celkem vyhodnoceno 22 znaků, přičemž bodové hodnocení bylo v rozmezí 1 – 9 jako vyjádření biologických extrémů daného znaku. Rovněž byly vyhodnoceny čtyři znaky měření koní

vyjádřené v centimetrech, dohromady tedy 26 znaků. U lineárního popisu byl pro odhad dědivosti, genetických variancí použit jednoznakový animal model a pro odhad variancí a kovariancí mezi všemi znaky byl použit dvouznakový animal model:

$$y = \mu + \text{pohlaví} + \text{stáří koně} + \text{stáří koně}^2 + \text{hodnotitel} * \text{rok} * \text{místo} + GH + e$$

kde y jsou vyhodnocované vlastnosti, μ je populační průměr, pohlaví je pevný efekt, stáří koně je lineární a kvadratická regrese na věk koně v letech, hodnotitel*rok*místo je kombinace pevných efektů hodnotitel*rok*místo, GH je náhodný efekt aditivní genetické hodnoty koně a e je náhodný reziduální efekt. Aby byly získány u lineárního popisu pozitivně definitní variančně kovarianční matice, byly genotypové variančně kovarianční matice z dvouznakové analýzy upraveny metodou „bending“ podle Jorjani et al., 2003.

Podle vzoru jiných sportovních plemenných knih v zahraničí a pro lepší interpretaci chovatelské veřejnosti jsou plemenné hodnoty pro skokovou výkonnost nazývány skokovými indexy (SI). Tyto indexy jsou standardizovány k průměru 100, se směrodatnou odchylkou 20 bodů. Vynásobením -1 je hodnota převrácena, tudíž nejvyšší SI odpovídá nejnižšímu počtu trestných bodů podle následujícího vzorce:

$$SI = -1 * [(PH/SD_{PH}) * 20] + 100$$

Relativní plemenná hodnota (RPH) lineárního popisu byla vypočtena pro všechny sledované znaky a pro všechny koně v rodokmenu:

$$RPH = \mu + ((PH/SD_{PH}) * SD_D)$$

kde RPH je vypočtená relativní plemenná hodnota na relativním měřítku, μ je předpovězená PH v populaci s průměrem 100, PH je předpovězená plemenná hodnota, SD_{PH} je genetická standardní odchylka PH, SD_D je stanovená standardní odchylka na 20 bodů.

Spolehlivosti plemenných hodnot skokového indexu i lineárního popisu jsou stanoveny iteračně, podle výše uvedených modelových rovnic. Do výpočtů je zahrnut soubor s užitkovostmi a rodokmen. Pro vlastní předpovědi spolehlivosti plemenných hodnot byl použit program accf90 (Miszta et al., 2002).

Výsledky a diskuze

SKOKOVÁ VÝKONNOST

Dvouznakový model vykazoval vyšší koeficient dědivosti (Tabulka 1) s rostoucí obtížností soutěže. Genetické korelace mezi SK1 a SK2 byly 0,975. Viklund et al. (2011) a Quinn (2005) použili pro vyhodnocení skokové výkonnosti víceznakový model a rovněž shledali, že s rostoucí obtížností soutěže se zvyšuje i koeficient dědivosti. Ve víceznakovém modelu bývá lépe zohledněna genetická hodnota zvířete v jednotlivých obtížnostních skupinách, což dokazuje vyšší podíl genetické proměnlivosti na celkové fenotypové proměnlivosti. U SK1 se genetické schopnosti koní na dosaženém výsledku v soutěži podílejí z 6 % a u SK2 z 11 %. Snižuje se také náhodná reziduální chyba. Ducro (2011) k tomu dodává, že výhody víceznakového modelu jsou jednoznačné a doporučuje ho aplikovat na výsledky z jezdeckých soutěží pro genetické vyhodnocení koní. Další výhodou víceznakového modelu může být přiřazení určité váhy u jednotlivých obtížnostních skupin. To pak mohou lépe využít chovatelské organizace pro stanovení šlechtitelských cílů.

Vliv ostatních náhodných efektů na získaný počet trestných bodů koně v soutěži je různý. Efekt soutěže, který zahrnuje jednak skupinu vrstevníků, ale i technickou náročnost parkuru, místo konání, povrch kolbiště (tráva, písek), počet koní v soutěži a vlivy počasí, vysvětluje zhruba 11 % proměnlivosti u SK1 i SK2.

Jako velmi důležitý se jeví efekt jezdce, jež má daleko vyšší vliv u SK2 (8,4 %) než u SK1 (4,4 %). Nízké překážky může překonat i jezdec začátečník bez větších potíží či kolizí, ale vysoké překážky může překonat se svým koněm pouze dostatečně zkušený jezdec. Ten svým jezdeckým umem a znalostí přivede koně podle výšky překážky na optimální místo odskoku a v optimálním tempu. Tím je většinou zajištěno bezchybné překonání překážky, pokud kůň dostatečně skrčí nohy, aby překážku neshodil.

Trvalé prostředí koně, které v sobě zahrnuje zejména trénink, výživu a péči o koně, vysvětluje 5 % u SK1 a necelých 6 % u SK2.

Skokové indexy i spolehlivosti byly vypočteny pro všechny koně z rodokmenu. Na základě skokových indexů byl sestaven žebříček nejlepších plemenů (Tabulka 2). Čím vyšší SI plemeno získá, tím na vyšší pozici v žebříčku bude. Průměrná spolehlivost SI u plemenů je 0,67 se směrodatnou odchylkou 0,17. Plemenici, kteří byli intenzivně využíváni v plemenitbě i ve sportu, mají spolehlivost SI vyšší než 0,75.

Genetický trend u sledované populace koní byl vypočten z průměrů skokových indexů podle roku narození koní. Roky narození sportovních koní končí rokem 2017, protože do genetického trendu jsou zahrnuti koně od věku 4 let, což je povolený věk pro start v jezdeckých soutěžích. Na grafu 1 je vidět u celé populace i českého teplokrevníka pozitivní stoupající tendence křivek. Plemeno českého teplokrevníka zaujímá z celé populace sportovních koní necelých 53 %. Zajímavé výsledky genetického trendu byly získány u zahraničních sportovních plemen, která výrazně ovlivňují chov a sport v České republice. Jednalo se o plemena: hannoverský kůň, oldenburský kůň, holštýnský kůň, holandský teplokrevník, trakénský kůň a belgický teplokrevník. Tyto zahraniční plemena tvoří 16 % z celé populace sportujících koní. V roce 1998 jsou křivky zahraničních plemen posazeny o téměř 1,5 směrodatné odchylky výše než křivky českého teplokrevníka, který se za posledních 20 let posunul z průměru 80 bodů na průměr 122 bodů, což jsou 2 směrodatné odchylky za období 20 let. V roce 2017 je rozdíl mezi celou populací, českým teplokrevníkem a zahraničními plemeny jen 9 bodů.

LINEÁRNÍ POPIS

Základní popisná statistika hodnocených 26 znaků je uvedena v tabulce 3. Pouze u 11 znaků lineárního popisu byla použita celá škála bodového hodnocení 1 – 9. Nejčastěji udělované bodové hodnocení bylo 5 (u 16 znaků), ačkoliv průměrné bodové hodnocení bylo v rozmezí 4,8 (tvar hřbetu) $\pm$ 0,6 bodu a 6,5 $\pm$ 1,1 bodu (prostornost chodů). Použití celého rozsahu bodové stupnice je velmi důležité, protože zachycuje rozdíly mezi zvířaty v celé populaci. Důvodů, proč není použit celý rozsah stupnice může být několik. Jednak data mohou být často ovlivněna přeselekcí zvířat, neboť zvířata, která mají různé morfologické defekty často nejsou k zápisu předvedena (Vostrý et al. 2009). Také kvalita dat závisí do značné míry na zkušenostech a kvalitě hodnotitelů, neboť hodnotitelé musí být schopni rozlišit biologické extrémy vyskytující se v populaci. V zahraničí kladou velký důraz na vzdělávání hodnotitelů, neboť právě nedostatečné vzdělání může způsobovat rozdílné použití stupnice hodnocení. Větší uniformita hodnocení ze strany hodnotitelů může zvýšit koeficienty dědivosti jednotlivých hodnocených znaků (Koenen et al. 1995).

U znaků lineárního popisu se odhady dědivostí liší v závislosti na skupině znaků lineárního popisu. Odhady dědivosti pro celkový dojem se pohybují v rozmezí 0,14 (Vincente et al., 2014; Sánchez et al., 2013) a 0,34 (Rustin et al., 2009). V této studii byl koeficient dědivosti pro typ a ušlechtilost 0,21 a 0,32. Odhadnuté koeficienty pro skupiny znaků charakterizující předek koně, tělo a končetiny byly spíše na nižší úrovni, a to od 0,08 (lopatka) do 0,17 (šířka těla), což je ale pořád v souladu s jinými pracemi. Rustin et al. (2009) zjistil u belgického teplokrevního koně, že skupina znaků lineárního popisu charakterizující předek koně, tělo a končetiny jsou nízké až středně dědivé, podobné hodnoty uvádí i Koenen et al. (1995) u holandského teplokrevního koně. Odhady koeficientů dědivosti pro chody se liší. Někteří autoři uvádějí nižší odhady dědivosti pro krok a klus (Koenen et al., 1995; Gómez et al., 2016), jiní zase uvádějí chody jako středně dědivé znaky (Rustin et al., 2009). V naší studii byly odhady dědivosti pro prostornost v kroku a prostornost v klusu 0,18 a 0,20.

U měřených znaků je v zahraničních studiích nejčastěji vyhodnocovaný znak výška v kohoutku, obvod hrudníku a obvod holeně. Hodnoty získaných koeficientů dědivostí v naší studii (0,64; 0,58; 0,42) jsou obdobné jako našli Jönsson et al. (2014) u švédského teplokrevního koně pro výšku v kohoutku a obvod holeně (0,67; 0,55). Podstatně nižší odhady koeficientů dědivosti u měřených znaků uvedli ve svých studiích Stock and Distl (2006) nebo Rustin et al. (2009), většinou v rozmezí 0,21 – 0,49.

Genetické korelace znaků lineárního popisu se pohybovaly od -0,43 do 0,91 (Tabulka 4) a pro mnoho znaků byly nízké nebo se blížily k nule, což značí vlastně nezávislost znaků. Koenen et al. (1995) ve své studii vysvětluje nízké

korelace jejich nelineárním charakterem. Zároveň vysvětluje, že velmi vysoké nebo naopak velmi nízké korelace mezi některými znaky (například končetiny) mohou mít nepříznivý vliv na výkonnost koní v soutěžích.

U některých znaků byly ale získány střední a vysoké genetické korelace. Nejvyšší genetické korelace byly nalezeny mezi délkou beder a délkou hřbetu (0,91), délkou hřbetu a rámcem (0,74) a délkou beder a rámcem (0,74). Výše těchto genetických korelací je logická, neboť délka hřbetu a beder utváří rámec koně, což je dáno poměrem kohoutkové výšky k délce těla koně. Další vysoké genetické korelace byly nalezeny mezi předním a zadním kopytem (0,82) a mezi prostorností v kroku a klusu (0,76). Středně vysoké pozitivní genetické korelace byly nalezeny například mezi typem a chodý. Střední tělesný rámec je spojen s prostornějšími a delšími chodý, což znamená, že hodnocená populace spíše odpovídá koním se středním tělesným rámcem. Jak uvádí Rustin et al. (2009), nalezené korelace jsou logické, neboť jednotlivé hodnocené znaky se navzájem překrývají. Díky korelacím tak může selekce na jeden znak vyvolat nepřímou genetickou odezvu na znak jiný, a tím může být selekce například na jezditelnost poměrně efektivní.

U měřených znaků byly nalezeny velmi silné genetické korelace (0,77 – 0,99), zejména mezi výškou v kohoutku hůlkovou a výškou v kohoutku páskovou (0,99). Pásková míra je relativní výška, a přiložením míry na tělo přes plec se měří kohoutková výška, přičemž rozdíl mezi kohoutkovou výškou hůlkovou a páskovou dosahuje u teplokrevníků 8-13 cm, závisí na osvalení lopatky a šířce hrudníku. V zahraničí je běžně uváděná pouze výška hůlková a vypočtené, velmi vysoké genetické korelace ukazují, že měřením kohoutkové výšky páskové není přidána žádná nová informace. Na to upozorňují i Koenen et al. (1995) nebo Sánchez et al. (2013). Je tedy na zvážení chovatelskými svazy, zda je nutné i nadále kohoutkovou výšku páskovou měřit, neboť šířka hrudníku a osvalení lopatky, které pásková míra v sobě do určité míry zahrnuje, jsou zohledněny v jiném samostatném znaku – obvod hrudi.

Závěr

Genetické vyhodnocení sportovních koní je v posledním desetiletí začleňováno do šlechtitelských programů, a to zejména z důvodu vzájemných vztahů, které existují mezi stavbou těla a funkčními znaky. Zahrnutí vybraných znaků lineárního popisu do selekčního programu může do jisté míry předurčovat výkonnost koně. Definice šlechtitelských cílů tak není jednoduchým úkolem.

Celosvětově je vyvíjen velký tlak na přísnou selekci u hřebců, zejména těch sportovních. Tato studie poskytuje kompletní genetické vyhodnocení jak skokové výkonnosti, tak i lineárního popisu. Selekce hřebců v ČR tak může být postavena víceúčelově, tj. kromě stavby těla a chodů také na výkonnostní znaky.

Seznam použité literatury

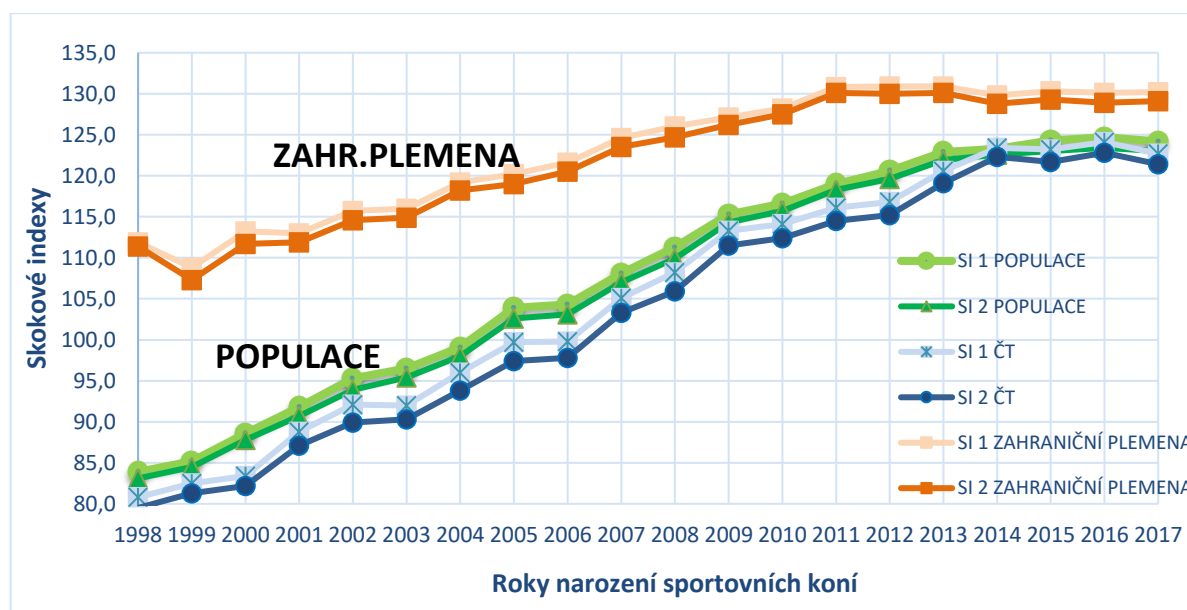
- Blom G. (1958): Statistical Elements and Transformed Beta Variables. Wiley. New York
- Ducro B. (2011): Relevance of test information in horse breeding. PhD thesis. Wageningen University. Wageningen. 170 p. ISBN 978-90-8585-855-3.
- Gómez M.M., Gama L.T., León J.M., Fernández J., Attalla S.A., Delgado J.V. (2016): Genetic parameters for harmony and gaits in Hispano-Arabe horses estimated by Bayesian methods and Restricted Maximum Likelihood. *Livestock Science*, 188, 159-165.
- Jönsson L., Näsholm A., Roepstorff L., Egenvall A., Dalin G., Philipsson J. (2014): Conformation traits and their genetic and phenotypic associations with health status in young Swedish warmblood riding horses. *Livestock Science*, 163, 12 – 25.
- Jornani H., Klei L., Emanuelson U. (2003): A Simple Method for Weighted Bending of Genetic (Co)variance Matrices. *J.Dairy Sci.*, 86, 677-679.
- Koenen E.P.C., van Veldhuizen A.E., Brascamp E.W. (1995): Genetic parameters of linear scored conformation traits and their relation with dressage and show-jumping in the Dutch Warmblood riding horse population. *Livestock Production Science*. 43, 85-94
- Miglior F., Pagnacco G., Samore A.B. (1998): A total merit index for the Italian Haflinger horse using breeding values predicted by a multi-trait animal model. *Proceedings of the 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. 24, 416-419.
- Misztal I., Tsuruta S., Strabel T., Auvray B., Druet T., Lee D. H. (2002): BLUPf90 and related programs (BGF90). 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, 19 – 23 August. Communication No. 28 – 07

- Misztal I., Tsuruta S., Strabel T., Auvray B., Druet T., Lee D. H. (2002): GIBBSf90 and related programs (BGF90). 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, 19 – 23 August. Communication No. 28 – 07
- Novotná A. (2014): Předpověď plemenných hodnot skokové výkonnosti u sportovních plemen koní. Disertační práce, 98 str.
- Quinn K.M. (2005): Genetic evaluation of show jumping horses in Ireland, Irish Horse Board. Department of Agriculture and Food. BlockB. Maynooth Business campus. Maynooth. Kildare. Ireland. 31 s.
- Rustin M., Jassens S., Buys N., Gengler N. (2009): Multi-trait animal model estimation of genetic parameters for linear type and gait traits in the Belgian warmblood horse. J.Anim.Breed.Genet. 126, 378-386.
- Sánchez M.J., Gómez M.D., Molina A., Valera M. (2013): Genetic analyses for linear conformation traits in Pura Raza Espanol horses. Livestock Science. 157, 57-64.
- SAS. (2004): The MIXED Procedure, The GLM Procedure. SAS/STAT Software, SAS Institute Inc
- Stock K.F., Distl O. (2006): Genetic correlations between conformation traits and radiographic findings in the limbs of German Warmblood riding horses. Genet.Sel.Evol. 38, 657-671.
- Van Bergen H.M.J.M, van Arendonk J.A.M. (1993): Genetic parameters for linear type traits in Shetland ponies. Livestock Production Science, 36, 273-284.
- Viklund A., Näsholm A., Strandberg E., Philipsson J. (2011): Genetic trends for performance of Swedish Warmblood horses. Livestock Science, 141. 113-122.
- Vincente A.A., Carolino N., Ralao-Duarte J., Gama L.T. (2014): Selection for morphology, gaits and functional traits in Lusitano horses: I. Genetic parameter estimates. Livestock Science, 164, 1-12.
- Vostrý L., Čapková Z., Andrejsová L., Mach K., Majzlík I. (2009): Linear type trait analysis in Coldblood breeds: Czech-Moravian Belgian horse and Silesian Noriker. Slovak J. Anim.Sci. 42, 99-106.

Tabulka 1: Relativní proměnlivost náhodných efektů, koeficient dědivosti a opakovatelnosti

Náhodná proměnná	SK1 v %	SK2 v %
Soutěž	11,7	11,3
Jezdec	4,4	8,4
Trvalé prostředí	5,0	5,8
Genetická hodnota	6,0	11,0
Náhodná chyba	72,9	63,5
Koeficient dědivosti h^2	0,06	0,11
Koeficient opakovatelnosti w^2	0,11	0,17

Graf 1: Genetický trend skokových koní dle skokových indexů 1, 2



Tabulka 2: Žebříček nejlepších plemeníků za rok 2021

Pořadí	Jméno koně	Rok nar.	Plemeno	Skokový index 1	Spol. SI 1	Skokový index 2	Spol. SI 2	Počet pot.
1	Manillon Rouge	2000	francouzský jezdecký kůň	167,0	94%	165,1	92%	99
2	Aristo Z	2001	Zangersheide	166,4	98%	166,1	97%	221
3	Quick Lauro Z	1994	Zangersheide	164,3	95%	165,0	93%	97
4	Cannavaro	2010	holštýnský kůň	164,1	86%	165,7	84%	31
5	Heartbreak ZH	2005	belgický teplokrevník (BWP)	162,8	91%	163,0	90%	40
6	Cachas	2004	holštýnský kůň	160,5	76%	161,3	76%	14
7	I'm Special de Muze	2008	belgický teplokrevník (BWP)	160,0	73%	159,4	72%	12
8	Crux	2007	holštýnský kůň	158,6	88%	155,5	87%	24
9	Catoki	1998	holštýnský kůň	158,4	85%	154,1	85%	29
10	Zirocco Blue VDL	2004	francouzský jezdecký kůň	157,7	84%	155,4	83%	29
11	Mylord Carthago	2000	francouzský jezdecký kůň	156,4	72%	157,0	72%	8
12	Lantino	2006	holštýnský kůň	156,0	79%	153,5	77%	24
13	Arezzo VDL	2005	holandský teplokrevník (KWPN)	155,6	67%	153,8	67%	10
14	Heartbreaker	1989	holandský teplokrevník (KWPN)	155,5	88%	158,0	88%	90
15	Christon	2008	holštýnský kůň	155,4	80%	154,2	78%	17
16	Carthago Z	1987	holštýnský kůň	155,3	94%	153,9	94%	163
17	Stakkato Gold	2001	hannoverský kůň	155,1	72%	155,9	71%	16
18	Pandrhola	2010	slovenský teplokrevník (CS)	154,6	83%	150,9	84%	7
19	Stakkato	1993	hannoverský kůň	154,5	90%	154,4	90%	68
20	Lord Weingard	2001	oldenburský kůň	154,0	81%	152,8	78%	33

Pozn. V žebříčku je uvedeno pouze prvních 20 nejlepších plemeníků.

Tabulka 3: Popisná statistika a koeficienty dědivosti (h^2)

	Znak	Průměr $\pm$ SD	Min-max	Modus	h^2
1.	Typ	6,3 $\pm$ 1,2	1 - 9	7	0,21
2.	Rámec	5,6 $\pm$ 1,0	1 - 9	5	0,09
3.	Ušlechtilost	6,0 $\pm$ 1,2	1 - 9	6	0,32
4.	Délka krku	5,4 $\pm$ 0,9	1 - 9	5	0,11
5.	Nasazení krku	4,9 $\pm$ 0,9	2 - 9	5	0,10
6.	Délka kohoutku	5,7 $\pm$ 0,9	2 - 9	6	0,10
7.	Délka hřbetu	5,5 $\pm$ 0,8	2 - 8	5	0,13
8.	Tvar hřbetu	4,8 $\pm$ 0,6	1 - 8	5	0,07
9.	Délka beder	5,6 $\pm$ 0,7	2 - 9	6	0,10
10.	Tvar beder	5,0 $\pm$ 0,7	1 - 9	5	0,07
11.	Délka zádě	5,1 $\pm$ 0,9	2 - 8	5	0,13
12.	Sklon zádě	5,5 $\pm$ 0,8	1 - 8	5	0,16
13.	Lopatka	5,3 $\pm$ 1,0	2 - 9	5	0,08
14.	Přední spěnka	5,0 $\pm$ 0,6	1 - 9	5	0,08
15.	Přední kopyto	4,9 $\pm$ 0,6	1 - 9	5	0,06
16.	Postoj zadních končetin	5,1 $\pm$ 0,8	1 - 9	5	0,19
17.	Zadní spěnka	5,0 $\pm$ 0,5	1 - 8	5	0,13
18.	Zadní kopyto	4,9 $\pm$ 0,4	3 - 8	5	0,07
19.	Šířka těla	5,3 $\pm$ 1,0	1 - 8	5	0,17
20.	Tvar zádě	5,3 $\pm$ 1,0	1 - 9	5	0,06
21.	Prostornost kroku	6,5 $\pm$ 1,1	1 - 9	7	0,18
22.	Prostornost klusu	6,5 $\pm$ 1,1	1 - 9	7	0,20
23.	Výška v kohoutku hůlková (cm)	164 $\pm$ 5	82 - 190	165	0,64
24.	Výška v kohoutku pásková (cm)	173 $\pm$ 5	92 - 201	170	0,65
25.	Obvod hrudi (cm)	192 $\pm$ 8	110 - 235	190	0,58
26.	Obvod holeně (cm)	21 $\pm$ 1	12 - 26,5	21	0,42

Tabulka 4: Odhadnuté genetické korelace získané dvouznačkovou analýzou pro lineární popis a měřené znaky

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1	1	-0,07	0,27	0,44	0,39	0,09	-0,19	0,29	-0,13	-0,07	0,3	-0,08	0,38	0,04	0,28	-0,13	0,09	0,31	0,3	0,32	0,52	0,62	0,57	0,57	0,39	0,47
2		1	-0,17	0,1	-0,04	0,19	0,74	-0,12	0,74	-0,19	0,26	-0,3	0,56	0,05	-0,02	0,06	0,05	0,18	0,23	0,19	-0,09	0	-0,07	-0,04	0,23	0,19
3			1	0,41	-0,03	0,22	-0,15	-0,14	-0,13	-0,2	0,09	0,15	0,23	-0,04	0,25	-0,19	0,12	0,06	-0,24	-0,14	0,23	0,24	-0,41	-0,43	-0,6	-0,5
4				1	0,29	0,23	0,16	-0,09	0,06	-0,28	0,24	-0,25	0,28	0,1	0,15	-0,11	0,11	0,11	0,05	0	0,17	0,27	0,26	0,27	0,03	0,08
5					1	-0,37	0,11	-0,28	0,14	-0,11	0,03	-0,29	-0,23	0,03	0,23	0,07	0,09	0,34	0,08	0,32	-0,06	0,09	0,29	0,33	0,2	0,29
6						1	-0,05	0,23	0,13	0,24	0,1	0,28	0,43	-0,01	-0,01	-0,02	-0,07	-0,17	-0,13	-0,2	0,36	0,43	0,26	0,22	0,06	-0,03
7							1	-0,3	0,91	-0,07	-0,09	-0,14	-0,01	0,01	-0,1	0,03	-0,03	0,28	-0,04	-0,11	-0,1	-0,18	0,03	0,01	0,2	-0,08
8								1	-0,12	0,62	-0,2	0,17	0,26	0,02	0,02	-0,08	-0,11	-0,2	-0,18	-0,16	0,18	0,2	0,34	0,28	0,2	0,09
9									1	0,18	-0,09	-0,16	0,2	0,02	0,03	0,06	0,07	0,31	-0,01	-0,17	-0,14	-0,1	0,26	0,24	0,36	0
10										1	-0,07	0,04	0,07	0,17	-0,08	-0,02	0,07	-0,23	-0,06	-0,03	0,12	0,11	0,32	0,28	0,25	0,17
11											1	-0,47	0,4	-0,07	0,07	0,03	-0,13	-0,01	0,43	0,5	0,39	0,39	0,07	0,09	0,23	0,19
12												1	-0,01	-0,28	-0,14	0,11	-0,26	-0,18	-0,2	-0,32	-0,03	-0,09	-0,1	-0,16	-0,12	-0,24
13													1	-0,17	-0,11	0,07	-0,19	-0,16	0,23	0,23	0,4	0,39	0,15	0,17	0,15	0,27
14														1	0,31	-0,04	0,63	0,28	-0,25	0,07	-0,21	-0,16	0,17	0,19	0,01	0,07
15															1	-0,02	0,16	0,82	-0,11	-0,04	0,2	-0,04	0,14	0,15	-0,04	-0,09
16																1	-0,09	-0,1	-0,16	-0,05	0,03	0,03	0,06	0,04	0,1	-0,03
17																	1	0,39	-0,07	0	-0,43	-0,2	0,01	0,08	0	0,05
18																		1	-0,07	0,09	-0,09	-0,02	0,11	0,09	0,04	0,08
19																			1	0,63	0,3	0,23	0,03	0,12	0,4	0,63
20																				1	0,26	0,2	-0,04	0,01	0,19	0,35
21																					1	0,76	0,26	0,29	0,24	0,22
22																						1	0,35	0,36	0,21	0,25
23																							1	0,99	0,77	0,77
24																								1	0,8	0,83
25																									1	0,77
26																										1

Odhad genetických parametrů pro věk prvního otelení a první mezidobí v populaci masného skotu v ČR

Brzáková Michaela, Svitáková Alena, Veselá Zdeňka

Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, projekt NAZV QK1910059 a institucionální podpora MZE-RO0718.

Souhrn

Cílem studie bylo odhadnout genetické parametry pro věk prvního otelení (VPO) a první mezidobí (MEZ). Genetické parametry byly stanoveny jak pro celou populaci, tak samostatně pro dvě nejpočetnější plemena – charolais a aberdeen angus. Pro odhad genetických parametrů byla použita databáze kontroly užitkovosti za roky 1991 a 2019, která obsahovala 83.788 jedinců 11-ti plemen. Po úpravě databáze obsahovala 33.533 krav, z nichž bylo 9.321 plemene charolais a 4.419 plemene aberdeen angus. Matice příbuznosti obsahovala 85.842 jedinců pro soubor zahrnující celou populaci, 24.248 jedinců pro plemeno charolais a 11.406 jedinců pro plemeno aberdeen angus. Odhad genetických parametrů byl proveden pomocí víceznakového-víceplemenného modelu jedince (BLUP-AM). Stanovené koeficienty dědivosti byly nízké až střední. Genetické korelace mezi vlastnostmi se lišily od kladných po záporné. Rozdíly mezi genetickými parametry jednotlivých plemen by měly být brány v úvahu před zahájením selekce na výše uvedené vlastnosti.

Klíčová slova: reprodukce; koeficient dědivosti; aberdeen angus; charolais; genetické korelace

Abstract

The objective of this study was to estimate genetic parameters for age at first calving (AFC) and first calving interval (FCI) for the entire beef cattle population and separately for the Charolais (CH) and Aberdeen Angus (AA) breeds in the Czech Republic. The database of performance testing between the years 1991 and 2019 was used. The total number of cows was 83,788 from 11 breeds. After editing, the data set contained 33,533 cows, including 9,321 and 4,419 CH and AA cows, respectively. The relationship matrix included 85,842 animals for the entire beef population and 24,248 and 11,406 animals for the CH and AA breeds, respectively. A multibreed multitrait animal model was applied. The estimated heritability was low to moderate. Genetic correlations between AFC and FCI varied depending on the breeds from positive to negative. Differences between variance components suggest that differences between breeds should be considered before selection and breeding strategy should be developed within a breed.

Key words: reproduction; heritability; Aberdeen Angus, Charolais; genetic correlation

Úvod

V současné době je celosvětově pozorována rostoucí tendence jednotlivých zemí zahrnout reprodukční ukazatele do svých selekčních programů. Ačkoli znaky reprodukce ovlivňují všechny produkční systémy, jejich ekonomický význam byl dlouho opomíjen (Krupová et al. 2020; Espinoza et al. 2016). Jedním z důvodů, proč tomu tak bylo, mohl být nízký koeficient dědivosti těchto vlastností, nebo obtížný sběr dat v systému chovu krav bez TPM (Buzanskas et al. 2017). Jednou z možností, jak zvýšit produkční potenciál masného skotu, je zkrácení neproduktivního období plemenice, a to např. snížením věku prvního otelení nebo časným zapuštěním plemenice po otelení (Burns et al. 2010). Věk prvního otelení (VPO) je nejčastěji hodnocenou vlastností. Jedná se o lehce dostupný záznam, neboť datum narození telat se zaznamenává ve všech

produkčních systémech. Navíc VPO je poměrně komplexní vlastností, která v sobě zahrnuje informaci o tom, že kráva musela projít pohlavním dospíváním (pubertou), byla schopna zabřeznout, odnosit a porodit tele (Bormann a Wilson, 2010). Vlastnost je ovlivněna mnoha faktory, největší vliv má plemeno a záměr chovatele (upřednostnění raného nebo pozdního telení). Druhým významným reprodukčním ukazatelem je délka mezidobí (Roughsedge et al. 2005; Gutiérrez et al. 2002). Jedná se o časový interval mezi dvěma po sobě následujícími oteleními. Jako ideální délka mezidobí se udává 365 dní, nicméně cílem selekce by mělo být získat od každé plemenice alespoň jedno tele ročně (López-Paredes et al. 2018). Délka prvního mezidobí je většinou delší než mezidobí následující. Důvodem je skutečnost, že prvotelky většinou ještě nemají ukončený vlastní růst a regenerace po otelení je pomalejší z důvodu probíhajících změn v tomto období (výživa plodu v průběhu březosti, nastupující laktace, obtížné telení, atd.). Délka prvního mezidobí tak odráží i genetický potenciál krav vypořádat se s proběhlým otelením, vlastním deficitem živin a opětovným nástupem říje. Uvádí se, že plemenice by i tak měly být schopné zabřeznout během 80-85 dnů po otelení (Werth et al. 1996). Z toho důvodu, jsou obecně upřednostňovány krávy s kratším mezidobím, neboť se u nich předpokládají lepší hodnoty reprodukčních ukazatelů. Mnoho autorů uvádí, že mezi vlastnostmi existuje genetická korelace (Cammack et al. 2009; Gutiérrez et al. 2002), a proto jsou zahrnuty do genetického hodnocení společně. Cílem této studie bylo odhadnout genetické parametry pro celou populaci masného skotu (samostatně pro raná a pozdní plemena) a posoudit rozdíly mezi nimi.

Materiál a metodika

DATABÁZE

Pro odhad genetických parametrů byla použita databáze kontroly užitečnosti s údaji za roky 1991 až 2019. Databáze obsahovala 463.269 záznamů jedinců 23 plemen včetně jejich kříženců. Věk prvního otelení byl definován jako počet dnů od narození krávy do jejího prvního otelení. Povolné rozmezí hodnot VPO bylo definováno v závislosti na jeho rozložení v rámci populace konkrétních plemen: pro raná plemena (aberdeen angus, masný simentál a hereford) bylo použito rozmezí 600 až 950 dní; pro plemena galloway, highland a piemontese bylo použito rozmezí 750 až 1200 dní a pro pozdní plemena (charolais, limousine, blonde d'aquitaine, gascone a salers) byl použit VPO vyšší než 880 dní. Hodnota prvního mezidobí byla definována jako interval od 290 do 500 dní. Ostatní hodnoty nebyly pro odhad genetických parametrů použity. Odstraněny byly rovněž nevěrohodné hodnoty, chybějící datumy narození a embryotransfery. Vyloučena byla i málopočetná plemena ($n < 400$ plemenic za plemeno), a to zejména kvůli slabé propojenosti mezi plemeny. Po prvotní úpravě se v databázi nacházelo 83.788 plemenic 11ti plemen a jejich kříženců (tab. 1). Databáze obsahující jen čistokrevné jedince obsahovala 16.532 jedinců plemene charolais a 7.444 jedinců plemene aberdeen angus. Tato dvě plemena reprezentují dvě nejčetnější plemena v ČR, a zároveň raná a pozdně se telící plemeno. Heterozní efekt byl definován dle Hickey et al. (2007):

$$\text{Heterozní efekt} = Pd(1-Ps) + Ps(1-Pd),$$

kde Ps a Pd jsou podíly genů hlavního plemene plemeníka a plemenice. Pokud byl jedinec čistokrevný, byla mu přiřazena 0, pokud byl 100% kříženec, jeho heterozní efekt měl hodnotu 1.

PROPOJENOST

K zajištění propojenosti byl použit sdružený efekt stádo-rok-období (SRO), a to konkrétně sdružený efekt stádo-rok-období narození (SROnar) a stádo-rok-období prvního otelení (SROotel). Efekt sdružuje společné vlivy prostředí, které na dané jedince v daný čas působily. Období byla vytvořena sloučením vždy 3 měsíců, a to následovně: prosinec až únor, březen až květen, červen až srpen, září až listopad. V každém SRO se nacházelo min. 5 plemenic, min. po 3 různých otcích. Pro AA a CH byly podmínky mírnější (z důvodu nižšího počtu), a to min. 5 plemenic po min. 2 různých otcích. Tyto podmínky snížily počet jedinců v databázi na 33.533 jedinců v rámci celé populace (Tab.1), 9.321 jedinců pro plemeno charolais a 4.419 jedinců pro plemeno aberdeen angus. Pro všechny tři připravené databáze byly vytvořeny 4generační rodokmeny

předků. Pokud byl předek jedince neznámý, byl nahrazen tzv. skupinou neznámých předků podle plemene posledního známého jedince (Quaas, 1988). Matice příbuznosti obsahovala následující počty jedinců: N=85.842 (celá populace), N=24.248 (charolais) a N=11.406 (aberdeen angus).

STATISTICKÝ MODEL

Vliv faktorů prostředí byl posouzen pomocí zobecněného lineárního modelu (procedura GLM) v softwaru SAS 9.4 (Cary, NC, USA) (20). Jako fixní efekty byly zvoleny sdružené efekty stádo-rok-období narození a prvního otelení, stádo prvního otelení, obtížnost prvního telení a heterózní efekt plemene. Zvolené efekty byly testovány na hladině průkaznosti ($p < 0.05$). Efekt plemene byl zohledněn za použití skupin neznámých předků.

Genetické parametry pro věk prvního otelení byly odhadovány pomocí následující modelové rovnice:

$$Y_{ijkl} = \text{SRONar}_i + \text{StádoPO}_j + b_k \text{Het} + \text{Jed}_l + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = Věk prvního otelení ve dnech

SRONar_i = Stádo-rok-otelení narození (sdružený efekt), fixní efekt ve třídách

StádoPO_j = Stádo prvního otelení, fixní efekt ve třídách

Het_k = heterózní efekt krávy, lineární regrese, fixní efekt (pouze pro celou populaci)

Jed_l = náhodný aditivně genetický efekt jedince (4 generace předků)

e_{ijkl} = náhodné reziduum

Pro vlastnost první mezidobí byla použita tato modelová rovnice:

$$Y_{ijkl} = \text{SROoteli}_i + b_j \text{Het} + \text{obt}_k + \text{Jed}_l + e_{ijkl}$$

Y_{ijkl} = První mezidobí ve dnech

SROoteli_i = Stádo-rok-otelení prvního telení (sdružený efekt), fixní efekt ve třídách

Het_j = heterózní efekt krávy, lineární regrese, fixní efekt (pouze pro celou populaci)

obt_k = obtížnost prvního telení, fixní efekt ve třídách

Jed_l = náhodný aditivně genetický efekt jedince (4 generace předků)

e_{ijkl} = náhodné reziduum

Samotný odhad genetických parametrů byl proveden pomocí softwaru AIREMLF90 (Misztal et al. 2002).

Výsledky a diskuze

V tabulce č. 2 jsou znázorněny popisné statistiky hodnocených vlastností. Nejnižších průměrných hodnot dosahuje rané plemeno AA, hodnota VPO pro plemeno CH převyšuje průměr populace. Většina masných plemen, včetně plemene CH, se poprvé telí ve věku tří let, plemeno AA je definováno jako rané, je u něj tedy upřednostňováno telení ve dvou letech. Věk prvního otelení je značně ovlivněn sezónním telením. K nejvyšší frekvenci telení dochází na jaře, a to konkrétně v období od ledna do dubna (tab. 3). K zajištění kontinuity sezónního telení je potřeba, aby se plemene každý rok otelila (Werth et al. 1996). Pokud by mezidobí bylo delší než 365 dní, k následujícímu telení by mohlo dojít mimo telící sezónu. V takovém případě většina chovatelů raději preferuje přesunutí telení do následující telící sezóny, i za cenu jedné sezóny bez telete, doprovázené významnou ekonomickou ztrátou. Průměrné mezidobí bylo 381 dní. Delší mezidobí u charolských plemen mohlo být způsobeno delší regenerací po prvním telení z důvodu vyššího výskytu obtížných porodů. Plemeno AA je obecně známo pro svou dobrou úroveň reprodukce, kterou potvrzuje i nejkratším mezidobím ze všech zohledněných plemen.

Odhadnuté genetické parametry jsou znázorněny v tabulce č. 4. Stanovené koeficienty dědivosti byly nízké až střední ($h^2 = 0,18-0,27$). K podobných hodnotám dospělo mnoho autorů. Martínez-Velázquez et al. (2003) a Lopez et al. (2019) publikovali koeficienty dědivosti pod hodnotu 0,1. Naše výsledky byly nejbližší těm, které zveřejnili následující autoři: Veselá et al. (2013) $h^2 = 0,23$; Buzanskas et al. (2017) $h^2 = 0,25$ nebo Berry a Evans (2014) $h^2 = 0,31$. Bormann a Wilson (2010) odhadnuli koeficient dědivosti $h^2 = 0,28$ pro plemeno AA a $h^2 = 0,17$ pro plemeno masný simentál. Vyšší koeficienty dědivosti publikovali Martínez-Velázquez et al. (2003), Bernades et al. (2015) nebo Uihôa et al. (2016).

Koeficient dědivosti pro první mezidobí byl 0,08. Tato hodnota je srovnatelná s hodnotou 0,085 uvedenou Yagüe et al. (2009). Koeficient dědivosti $h^2 = 0,02$ byl publikován autory Berry a Evans (2014) a Grossi et al. (2016). Lopez et al. (2018) a Van der Westhuizen et al. (2001) uvádí nižší hodnotu $h^2 = 0,01$. Vyšší koeficient dědivosti $h^2 = 0,227$ publikoval Cortes et al. (2015) a Veselá et al. (2013) ($h^2 = 0,39$). Gutierréz et al. (2007) publikoval hodnotu $h^2 = 0,12$. Rozmezí $h^2 = 0,04$ až 0,13 odhadl Roughsedge et al. (2005) pro čtyři různá plemena (aberdeen angus, limousine, masný simentál a south devon), přičemž koeficient dědivosti pro AA byl téměř shodný s našimi výsledky.

Rozdíly mezi odhadnutými koeficienty dědivosti mohou být způsobeny rozdílnou aditivně genetickou variancí mezi plemeny a rozdílnou interakcí genotypu s prostředím. Nízký koeficient dědivosti může být způsoben i nevysvětleným množstvím reziduální variance, které může být způsobeno jak neznámými faktory prostředí, tak i nevysvětlenou aditivní nebo neaditivní genetickou složkou (Veerkamp et al. 2007). Vzhledem k nízkému koeficientu dědivosti může být zlepšení výživy nebo managementu stáda mnohem efektivnějším nástrojem než selekce (Grossi et al. 2016), nicméně při podchycení všech důležitých aspektů je právě selekce na základě plemenných hodnot jedinou efektivní možností.

KORELACE MEZI VĚKEM PRVNÍHO OTELENÍ A PRVNÍM MEZIDOBÍM

Fenotypové korelace mezi VPO a MEZ byly nízké. Genetické korelace se lišily v závislosti na plemeni. Pro celou populaci, ve které byla zohledněna raná i pozdní plemena společně, byly genetické korelace téměř nulové. Pro plemeno charolais, byly záporné, tzn. nižší VPO má za příčinu vyšší MEZ. Tato negativní korelace může být způsobena nedostatečnou tělesnou hmotností a kondicí mladých charolských plemenic, což má za následek delší mezidobí, neboť tělesná kondice zvířat se odráží v nástupu říje (Buzanskas et al. 2017). Naopak, vyšší VPO je spojován s adekvátní tělesnou hmotností a následující období poporodní regenerace může být kratší z důvodu nižšího deficitu energie a živin. Negativní korelaci publikoval také Roughsedge et al. (2005), nicméně všechna zohledněná plemena byla definována jako raná. Pro rané plemeno AA byla genetická korelace mezi vlastnostmi 0,357, což znamená, že vyšší VPO prodlužuje MEZ. Plemenice, které se otelí později, mají pravděpodobně horší reprodukční ukazatele než plemenice otelené v nižším VPO. Vysoká korelace mezi VPO a MEZ byla publikována také Gutiérrezem et al. (2002). Kladnou genetickou korelaci publikoval Berry a Evans (2014) a Lopez et al. (2018), nicméně negativní korelace (-0,25) byla nalezena mezi VPO a MEZ v průběhu prvních 42 dní telící sezóny.

Závěr

Věk prvního otelení a první mezidobí jsou často používanými indikátory plodnosti u masného skotu. Koeficienty dědivosti těchto vlastností jsou nízké až střední. Aditivně genetická variance se lišila v závislosti na jednotlivých plemenech. Velká část vysvětlené proměnlivosti byla způsobena faktory prostředí, zejména sdruženými efekty stádo-rok-období. Pro věk prvního otelení byla genetická variance vyšší. Byly nalezeny rozdílné genetické korelace mezi věkem prvního otelení a prvním mezidobím pro pozdní plemeno charolais a rané plemeno aberdeen angus. Rozdíly mezi plemeny jsou způsobeny různými selekčními záměry plemen.

Literatura

- Bernades P, Grossi D, Savegnago RP, Buzanskas ME, Urbinati I, Bezerra L, Lôbo RB, Munari D. Estimates of genetic parameters and genetic trends for reproductive traits and weaning in Tabapuã cattle. *J. Anim. Sci.* **2015**; 93, 5175–5185. doi: 10.2527/jas.2015-9212
- Berry DP, Evans RD. Genetics of reproductive performance in seasonal calving beef cows and its association with performance traits. *J. Anim. Sci.* **2014**; 92, 1412–1422. doi:10.2527/jas.2013-6723
- Bormann JM, Wilson DE. Calving day and age at first calving in Angus heifers. *J. Anim. Sci.* **2010**; 88, 1947–1956. doi: 10.2527/jas.2009-2249
- Burns BM, Fordyce G, Holroyd RG. A review of factors that impact on the capacity of beef cattle females to conceive, maintain a pregnancy and wean a calf—Implications for reproductive efficiency in northern Australia. *Anim. Reprod. Sci.* **2010**; 122, 1–22. doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.04.010
- Buzanskas ME, Pires PS, Chud TCS, Bernardes PA, Rola LD, Savegnago RP, Lôbo RB, Munari DP. Parameters estimates for reproductive and carcass traits in Nelore beef cattle. *Theriogenology* **2017**; 92, 204–209. doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.09.057
- Cammack KM, Thomas MG, Enns RM. Review: Reproductive traits and their heritabilities in beef cattle. *PAS* **2009**; 25, 517–528. doi:10.15232/S1080-7446(15)30753-1
- Cortés O, Carleos C, Baro JA, Fernández MA, Villa J, Menéndez-Buxadera A, Cañon J. Realized genetic parameters of growth and reproductive traits after 25 years of selection in the Asturiana de los valles beef cattle breed. *AICA* **2015**; 5, 78–86.
- Espinoza JL, Peña DG, Espinoza AP, Ortega R, Guillén A. Genetic parameters of days open in Charolais cattle of Cuba. *Rev. Colomb. Cienc. Pecu.* **2016**; 29, 16–24. doi: 10.17533/udea.rccp.v29n1a02
- Grossi DA, Berton MP, Buzanskas ME, Chud TCS, Grupioni NV, Paro de Paz CC, Lôbo RB, Munari DP. Genetic analysis on accumulated productivity and calving intervals in Nelore cattle. *Trop. Anim. Health Prod.* **2016**; 48, 207–210. doi: 10.1007/s11250-015-0915-3
- Gutiérrez JP, Alvarez I, Fernández I, Royo LJ, Díez J, Goyache F. Genetic relationships between calving date, calving interval, age at first calving and type traits in beef cattle. *Livest. Prod. Sci.* **2002**; 78, 215–222. doi: 10.1016/S0301-6226(02)00100-8
- Gutiérrez JP, Goyache F, Fernandez I, Álvarez I, Royo LJ. Genetic relationships among calving ease, calving interval, birth weight, and weaning weight in the Asturiana de los Valles beef cattle breed. *Anim. Sci.* **2007**; 85, 69–75. doi: 10.2527/jas.2006-168
- Hickey JM, Keane MG, Kenny DA, Cromie AR, Veerkamp RF. Genetic parameters for EUROP carcass traits within different groups of cattle in Ireland. *J. Anim. Sci.* **2007**; 85, 314–321. doi: 10.2527/jas.2006-263
- Krupová Z, Krupa E, Wolfová M. Economic weights of current and new breeding objective traits in Aberdeen Angus. *J. Anim. Sci.* **2020**; 65, 77–85. doi: 10.17221/255/2019-CJAS
- Lopez BI, Son JH, Seo K, Lim D. Estimation of genetic parameters for reproductive traits in Hanwoo (Korean cattle). *Animals* **2019**; 9, 715. doi: 10.3390/ani9100715
- López-Paredes J, Pérez-Cabal MA, Jiménez-Montero JA, Alenda R. Influence of age at first calving in a continuous calving season on productive, functional, and economic performance in a Blonde d'Aquitaine beef population. *J. Anim. Sci.* **2018**; 96, 4015–4027. doi: 10.1093/jas/sky271
- Martínez-Vélázquez G, Gregory KE, Bennet GL, Van Vleck LD. Genetic relationship between scrotal circumference and female reproductive traits. *J. Anim. Sci.* **2003**; 81, 395–401. doi: 10.2527/2003.812395x
- Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T, Lee D. BLUPF90 and related programs (BGF90). In Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, 19–23 August 2002; pp. 743–744.
- Quaas, R.L. Additive genetic model with groups and relationships. *J. Dairy Sci.* **1988**, 71, 1310–1318.
- Roughsedge T, Amer PR, Thompson R, Simm G. Genetic parameters for maternal breeding goal in beef production. *J. Anim. Sci.* **2005**; 83, 2319–2329. doi: 10.2527/2005.83102319x
- SAS Institute Inc. *Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures*, 2nd ed.; Statistical Analysis System Institute Inc.: Cary, NC, USA, 2013.

- Ulhoa Magnabosco C, Brito Lopes F, de Magalhaes Rosa GJ, Sainz RD. Bayesian estimates of genetic parameters for reproductive traits in Nellore cows raised on pasture in tropical regions. *Rev. Colom. Cienc. Pecuari.* **2016**; 29, 119–129. doi: 10.17533/udea.rccp.v29n2a05
- Van der Westhuizen RR, Schoemann SJ, Jordaan GF, Van Wyk JB. Heritability estimates derived from threshold analyses for reproduction and stayability traits in beef cattle herd. *S. Afr. J. Anim. Sci.* **2001**; 31, 25–32. doi:10.4314/sajas.v31i1.3844
- Veerkamp RF, Breeda B. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology* **2007**; 68, 266–273. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.034
- Veselá Z, Vostrý L, Svitáková A. Genetic analysis of female fertility traits in beef cattle in the Czech republic. *Interbull Bulletin* **2013**; 47, 172–175.
- Werth LA, Azzam SM, Kinder JE. Calving intervals in beef cows at 2, 3, and 4 years of age when breeding is not restricted after calving. *J. Anim. Sci.* **1996**; 74, 593–596. doi: 10.2527/1996.743593x
- Yagüe G, Goyache F, Becerra J, Moreno C, Sánchez L, Altarriba J. Bayesian estimates of genetic parameters for pre-conception traits, gestation length and calving interval in beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* **2009**; 14, 72–80. doi: 10.1016/j.anireprosci.2008.09.015

Tabulka 1. Početní a procentuální (%) zastoupení jednotlivých plemen v databázi před (n) a po úpravě propojenosti (n_{EDIT}) a počet použitých užitkovostí pro odhad genetických parametrů

Plemeno	<i>n</i>	%	<i>n</i> _{EDIT}	%	VPO	MEZ
Charolais	24878	29.69	10254	30.58	9278	7156
Beef Simmental	14671	17.51	5313	15.84	5061	3499
Aberdeen Angus	13977	16.68	5671	16.91	3932	4536
Hereford	10483	12.51	5683	16.95	4957	3734
Limousine	8990	10.73	3318	9.89	2977	2335
Blonde d'Aquitaine	3250	3.88	1076	3.21	943	655
Piemontese	2740	3.27	737	2.20	666	500
Gasconne	1695	2.02	584	1.74	438	400
Galloway	1439	1.72	462	1.38	430	312
Highland	1152	1.37	284	0.85	222	190
Salers	513	0.61	151	0.45	143	100
Součet	83788	100%	33533	100%	29047	23417

VPO – věk prvního otelení, MEZ – první mezidobí

Tabulka 2. Popisná statistika pro věk prvního otelení a první mezidobí ve dnech

Tabulka 2.1. Původní statistika pro věk prvního otelení a první mezidobí ve dnech										
	Věk prvního otelení ve dnech				První mezidobí ve dnech					
	N	Průměr	SD	Min	Max	N	Průměr	SD	Min	Max
P	29047	996,70	148,267	600	1300	23417	380,96	38,729	290	500
CH	9321	1077,77	61,064	880	1300	6204	392,18	36,725	290	500
AA	4419	756,13	53,653	602	950	3232	370,42	36,539	291	499

P—celá populace, CH—charolais, AA—aberdeen angus.

Tabulka 3. Frekvence prvního telení dle měsíců v roce v průběhu let 1991–2019.

Měsíc	Celá populace		charolais		aberdeen angus	
	Frekvence	%	Frekvence	%	Frekvence	%
Leden	5802	17.30	2560	27.46	361	8.17
Únor	6661	19.86	1906	20.45	798	18.06
Březen	8468	25.25	1725	18.51	1343	30.39
Duben	4785	14.27	799	8.57	861	19.48
Květen	1995	5.95	253	2,71	421	9.53
Červen	1194	3.56	145	1.56	269	6.09
Červenec	574	1.71	75	0.80	128	2.90
Srpen	507	1.51	57	0.61	75	1.70
Září	319	0.95	49	0.53	52	1.18
Říjen	329	0.98	119	1.28	16	0.36
Listopad	924	2.76	451	4.84	27	0.61
Prosinec	1975	5.89	1182	12.68	68	1.54
Celkem	33533	100.00	9321	100.00	4419	100.00

Tabulka 4. Genetické parametry pro věk prvního otelení a první mezidobí pro celou populaci a populaci charolais a aberdeen angus.

Databáze	Vlastnost	σ^2_a (SE)	cov _{gen}	r _G	σ^2_e (SE)	cov _{rez}	r _{rez}	h ²
Celá populace	VPO	1337,9 (92,396)	-25,911 (30,654)	-0,074 (0,067)	3567,2 (74,266)	-297,76 (28,540)	-0,155	0,273
	MEZ	90,484 (16,920)			1036,4 (17,118)			0,080
charolais	VPO	569,57 (64,287)	-70,369 (24,851)	-0,314 (0,098)	1862,1 (55,380)	-357,72 (31,140)	-0,258	0,234
	MEZ	85,909 (24,851)			1035,6 (28,597)			0,077
aberdeen angus	VPO	347,34 (77,675)	64,297 (39,235)	0,357 (0,162)	1632,7 (69,907)	-437,48 (40,725)	-0,336	0,175
	MEZ	93,225 (36,979)			1039,6 (41,590)			0,082

VPO – věk prvního otelení, MEZ – první mezidobí, σ^2_a = aditivně genetická variance; cov_a = aditivně genetická kovariance; r_G = genetická korelace; σ^2_e = reziduální variance; cov_{rez} = reziduální kovariance; r_{rez} = reziduální korelace; h² = koeficient dědivosti ($h^2 = \sigma^2_a / (\sigma^2_a + \sigma^2_e)$).

Vztah exteriéru, výskytu klinické mastitidy a somatických buněk u holštýnského skotu

Jan Vařeka, Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Miloslava Štípková,
Luboš Vostrý

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves

Poděkování

Tato práce byla zpracovávána s podporou ministerstva zemědělství ČR, projektu NAZV QK1910320 a institucionální podpory MZE-RO0718.

Abstrakt

Mastitida je významné onemocnění v chovu skotu. Mastitidy se dělí na klinické a subklinické. Typickými příznaky klinické mastitidy (KM) je otok, zarudnutí a bolestivost mléčné žlázy, přítomnost vloček v mléce nebo mléku nepodobný sekret. Vyhodnocen byl fenotypový vliv hloubky vemene jako znaku exteriéru na výskyt KM a počet somatických buněk u holštýnského skotu. KM byla definována jako binární znak, přičemž 1 znamenala výskyt onemocnění a 0 bez výskytu KM během laktace. Počet somatických buněk (SCC) byl převeden na skóre somatických buněk (SCS) v zájmu normálního rozložení dat. Korelace naměřených údajů mezi sledovanými znaky se pohybovaly od -0,13 do 0,69. Tyto korelace byly označovány jako fenotypové. Byla navržena vhodná selekční kritéria výběru prvotetek. Optimální bodové hodnocení exteriéru z hlediska nízkého výskytu KM se většinou shodovalo s optimálním bodových hodnocením z hlediska nízkého SCS.

Klíčová slova: exteriér skotu, lineární popis, mastitida, somatické buňky, holštýnský skot

Summary

Mastitis is a significant disease in cattle breeding. Mastitis is divided into clinical and subclinical mastitis. Typical symptoms of clinical mastitis (KM) are swelling, redness, and soreness of the mammary gland, flakes in the milk, or milk-not-like secretion. The phenotypic relationships among Udder Depth as a conformation trait, the incidence of clinical mastitis, and somatic cells were analyzed in Czech Holstein cattle. The KM was considered an all-or-one trait with 0 (no KM case) and 1 (at least 1 KM case). The somatic cell count (SCC) was transformed into a somatic cell score (SCS) for normal data distribution. The phenotypic correlation of observed data for the characteristics ranged from -0.13 to 0.69. These correlations were referred to as phenotypic. There were proposed appropriate selection criteria for the selection of heifers. The optimal score of the conformation traits considering low incidence of KM mostly coincided with the optimal score of low SCS.

Keywords: exterior of cattle, linear evaluation of type traits, mastitis, somatic cell count, Holstein cows

Úvod

Původci KM, mezi které se řadí především bakterie, mohou způsobovat klinické onemocnění doprovázené smyslovými změnami mléka a vzestupem SCC (Heringstad et al., 2000). Typickými představiteli jsou *Escherichia Coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus*. Mezi faktory ovlivňující vznik KM se řadí technika a technologie dojení, krmení, ustájení, management, sezóna, pořadí laktace, stadium laktace, plemeno, exteriérové znaky vemene, velikost nádoje či rychlost spouštění mléka. Šlechtění proti výskytu KM lze provádět přímou cestou, která je účinnější. Vyhodnocení se většinou provádí pomocí víceznakového lineárního BLUP animal nebo sire modelu, který kombinuje data ze záznamů o SCS, KM a několika znaků exteriéru vemene (např.: Negussie et al., 2010; Johansson et al., 2006; Negussie et al., 2008). Současná selekce zvířat proti výskytu KM vyžaduje použití informací o molekulárních markerech (Sender et al., 2013), což plně koresponduje s využitím

genomické selekce (Georges et al., 2019). Se vzrůstající mléčnou užitkovostí, jež je geneticky podmíněna, lze očekávat mírný nárůst počtu mastitid. Děje se tak v důsledku vztahu mléčné produkce a výskytu mastitidy, kde se genetická korelace pohybuje okolo 0,2. Selektace a realizace šlechtění podporující zdravotní stav mléčné žlázy je do značné míry ztížena nízkou dědivostí. Výše dědivosti mastitidy se pohybuje od 0,01 až 0,09 (Martin et al., 2018). Lund et al. (1994) odhadli koeficient dědivosti pro SCS ve výši 0,18. U znaků exteriéru mléčné žlázy odhadli koeficient dědivosti 0,12 – 0,37 (Lund et al., 1994). Mastitida a léčení této nemoci má celospolečenský význam. Snížení výskytu mastitid by mohl mít v konečném důsledku pozitivní vliv na snižování spotřeby antibiotik a eliminaci jejich reziduí v potravinovém řetězci.

Cílem práce bylo vyhodnotit fenotypový vliv hloubky vemene jako znaku exteriéru u holštýnského skotu na počet somatických buněk v mléce a výskyt klinické mastitidy.

Materiál a metodika

Databázi pro analýzu poskytlo oddělení chovu skotu a oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat Výzkumného ústavu živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves a Českomoravská společnost chovatelů a.s. Výskyt KM byl sledován v sedmi obdobích laktace rozdělených po 50 dnech a za celou laktaci (0 – 500 dnů laktace). Každý záznam byl věnován jednotlivému případu onemocnění KM, charakterizované datem počátku a konce prodělané mastitidy, včetně údajů o krávě a laktaci, ve které se KM vyskytla. SCS bylo sledováno v 10 obdobích po 30 dnech a v průměru za celou laktaci. SCC bylo převedeno na SCS podle následujícího vzorce: $SCS = \text{LOG}_2 (SCC / 100) + 3$, kde hodnota SCC byla uváděna v tis./1 ml mléka. Data pocházela od 17 622 dojek na první laktaci. Data byla sbírána od roku 1997 do 2020 v 6 podnicích v rámci monitoringu zdraví mléčné žlázy. Byla vybrána zvířata holštýnského plemene a jejich kříženci s podílem nad 75 %. Shromažďování dat o exteriéru krav se řídilo metodikou vydanou Svazem chovatelů holštýnského skotu ČR, z.s. Jednalo se o krávy na první laktaci hodnocené ve dnech od 30 do 210 dnů po otelení. Lineární popis probíhal mezi lety 1993 a 2020 pracovníky Svazu chovatelů holštýnského skotu ČR, z.s. a pracovníky Českomoravské společnosti chovatelů a.s. Vzhledem k nízkému počtu jedinců ve stupních biologických extrémů byly provedeny některé úpravy. Pakliže se stupeň určitého znaku vyskytoval u méně než 1 % jedinců, došlo ke sjednocení se stupněm následujícím nebo předešlým. Do modelové rovnice byly zahrnuty pevné efekty stáda-roku-období, pevné efekty věku při prvním otelení a pevné efekty jednotlivých znaků exteriéru. Poměry šancí výskytu KM byly odhadnuty pomocí animal modelu (AM) s logistickou regresí. Byly odhadnuty vlivy pevných efektů pro SCS pomocí lineárního AM. Dále byly odhadnuty průměry nejmenších čtverců a fenotypové korelace pro výskyt KM a SCS v programu SAS 9.4® pomocí procedury GLM a CORR.

MODELOVÉ ROVNICE BYLY SESTAVENY NÁSLOVNĚ:

Klinická mastitida:

LSMEANS (metoda nejmenších čtverců):

$$Y_{ijk} = SRO_i + TŘÍDAVĚK_j + EXTERIÉR_k + e_{ijk}$$

Kde:

Y_{ijk} – výskyt KM

SRO_i – pevný efekt stáda-roku-období (pevný efekt vytvořený sloučením stáda, roku otelení (1993 – 2020) a období otelení, které bylo rozděleno do 4 kategorií dle měsíců, tj. leden – březen, duben – červen, červenec – září, říjen – prosinec)

$TŘÍDAVĚK_j$ – pevný efekt věku při prvním otelení (rozdělen do 6 kategorií po sto dnech od 550 do 1250 dnů)

$EXTERIÉR_k$ – HLVE = hloubka vemene

e_{ijk} – náhodná zbytková chyba

V této rovnici spuštěno 72 analýz.

Logistický AM:

$$\text{Log} \frac{\pi_{ijkl}}{1-\pi_{ijkl}} = SRO_i + TŘÍDAVĚK_j + EXTERIÉR_k + jedinec_l + e_{ijkl}$$

Kde:

π_{ijkl} – pravděpodobnost výskytu KM

$SRO_i, TŘÍDAVĚK_j, EXTERIÉR_k$ – viz modelová rovnice pro LSMEANS a KM

$jedinec_l$ – náhodný efekt jedince se zohledněním rodokmenu

e_{ijkl} – viz modelová rovnice pro LSMEANS a KM

Skóre somatických buněk:

LSMEANS (metoda nejmenších čtverců):

$$Y_{ijk} = SRO_i + TŘÍDAVĚK_j + EXTERIÉR_k + e_{ijk}$$

Kde:

Y_{ijk} – SCS

$SRO_i, TŘÍDAVĚK_j, EXTERIÉR_k, e_{ijk}$ – viz modelová rovnice pro LSMEANS a KM

V této rovnici bylo spuštěno 99 analýz.

BLUP AM:

$$Y_{ijkl} = SRO_i + TŘÍDAVĚK_j + EXTERIÉR_k + jedinec_l + e_{ijkl}$$

Kde:

Y_{ijkl} – SCS

$SRO_i, TŘÍDAVĚK_j, EXTERIÉR_k, jedinec_l, e_{ijkl}$ – viz modelová rovnice pro logistický AM

Výsledky a diskuze

Fenotypové korelace pro vlastnosti výskytu KM za celou laktaci a mezi jednotlivými obdobími se pohybovaly od -0,01 do 0,59 (tabulka 1). Tyto korelace znamenají, že pokud dojnice měly zvýšené SCS v kterékoliv fázi první laktace, měly pravděpodobně zvýšené SCS souhrnně za laktaci. Zároveň pokud dojnice měly zvýšené SCS v kterékoliv kontrole mléčné užitkovosti (KMU), měly nejspíše zvýšené SCS v kontrole následující. Pro znaky SCS se fenotypové korelace pohybovaly od 0,18 do 0,69 (tabulka 2). U znaků exteriéru se fenotypové korelace pohybovaly od -0,09 do 0,38 (obrázek 1). Znatelně vyšší hodnoty fenotypových korelací byly zaznamenány pro ukazatele výskytu KM za celou laktaci a skóre průměrného počtu somatických buněk za první laktaci. Fenotypové korelace výskytu KM a SCS se pohybovaly od 0,01 do 0,29 (obrázek 2). Nejvyšší hodnota korelačního koeficientu byla zaznamenána mezi výskytem KM za celou laktaci a skórem průměrného počtu somatických buněk za první laktaci. Z uvedeného vztahu šlo vyvodit, že KM mohla být doprovázena zvýšeným SCC, ale nebylo to pravidlem. Fenotypové korelace výskytu KM a vybraných znaků exteriéru poukazovaly na to, že krávy s vemeny pod úrovní hlezen měly předpoklady k výskytu KM (obrázek 3). Zde byla nejvyšší korelace zaznamenána pro výskyt KM v prvním období laktace. Byly odhadnuty průměry nejmenších čtverců pro ukazatele výskytu KM a hloubku vemene, které jsou uvedeny v tabulce 3. Výskyt KM byl nejvyšší na začátku laktace, od 51 – 100 dne laktace klesal, a poté byl stabilní nebo mírně vzrostl. Největší hodnoty výskytu KM jsou pro spojené bodové hodnocení 1 – 2 (spodina vemene pod úrovní hlezen). Nejvyšší hodnoty průměru nejmenších čtverců byly zaznamenány u výskytu KM za celou laktaci, a to 0,44. S přibývajícím stupni bodového hodnocení hodnoty výskytu KM klesaly pro všechny období laktace a za celou laktaci. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány pro bodové hodnocení 7 (spodní linie 15 cm nad úrovní hlezen) a spojené bodové hodnocení 8 a 9 (spodní linie vemene více než 21 cm nad úrovní hlezen). Nejnižší zaznamenaná hodnota výskytu KM byla 0,02 pro bodové hodnocení 7 a výskyt KM mezi 201 – 250 dny laktace. V tabulce 4 jsou uvedeny odhadnuté poměry šancí pro výskyt KM. Poměr šancí byl vysoký na počátku laktace a od 51 – 150 dne laktace klesal. Mezi 150 – 250 dnem laktace došlo k nárůstu poměru šancí výskytu KM, poté mezi 251 – 300 dnem laktace došlo k výraznému poklesu a v posledním hodnoceném úseku byl

zaznamenán opět vysoký výskyt KM, zejména pro spojené bodové hodnocení 1 – 2. S přibývajícími stupni bodového hodnocení docházelo k poklesu poměru šancí, to znamená, že s klesající hloubkou vemene klesala incidence KM. K vzestupu poměru šancí pro výskyt KM došlo v případě výskytu KM mezi 301 – 350 dny laktace a bodové hodnocení 6 a 7 (hloubka vemene 10 – 15 cm nad úrovní hlezen). Nejnižší poměr šancí byl zaznamenán pro bodové hodnocení 7 a výskyt KM mezi 201 – 250 dny laktace (0,83). Byly odhadnuty průměry nejmenších čtverců pro ukazatele SCS a hloubku vemene, které jsou uvedeny v tabulce 5. Odhadnutý průměr SCS byl vysoký na začátku laktace a poté klesal do KMU 90. den laktace. Poté průměr SCS stoupal do KMU 270. den laktace, kde došlo k výraznějšímu poklesu. V závěru laktace (KMU 300. den) byl zaznamenán vysoký průměr SCS. Nejvyšší zaznamenaná hodnota průměru SCS byla 2,47 pro bodové hodnocení 8 (spodní linie 18 cm nad úrovní hlezen) a KMU 90. den laktace. Nejvyšší zaznamenaná hodnota výskytu SCS jako průměr nejmenších čtverců byla 4,07 (skóre průměrného počtu somatických buněk za první laktaci). S přibývajícími stupni bodového hodnocení docházelo k poklesu průměru nejmenších čtverců pro ukazatele SCS pro všechny kontrolní dny i skóre průměrného počtu somatických buněk za první laktaci. V tabulce 6 jsou uvedeny hodnoty vlivu pevných efektů (hodnoty) pro ukazatele SCS. Na začátku laktace byly hodnoty nízké, poté do 240. dne laktace stoupaly. Došlo k mírnému poklesu hodnot pro KMU 180. a 210. dne laktace. K výraznému poklesu hodnot došlo 270. a 300. den laktace, přičemž hodnoty byly nižší, nebo porovnatelné s počátkem laktace. S přibývajícími stupni bodového hodnocení docházelo k poklesu hodnot. Nejvyšší zaznamenaná hodnota byla 0,718 pro spojené bodové hodnocení 1 – 2 a SCS 30. den laktace. Nejvyšší zaznamenaná hodnota byla 0,029 pro bodové hodnocení 7 a SCS 180. den laktace. Tato hodnota nebyla statisticky významná.

Negussie et al. (2010) odhadli fenotypové korelace pro výskyt KM, SCS a dva znaky exteriéru mléčné žlázy – přední upnutí vemene a hloubku vemene. K odhadu použili model s náhodnou regresí. Fenotypové korelace pro ukazatele SCS a KM se pohybovaly od 0,04 do 0,21 v závislosti na fázích laktace (Negussie et al., 2010). Korelace byly obecně silnější v počátečních fázích laktace ve srovnání s korelací v pozdějších fázích (Negussie et al., 2010). Stejný trend byl potvrzen v této práci. Fenotypové korelace mezi SCS a znaky exteriéru byly o něco nižší než korelace s ukazateli výskytu KM (Negussie et al., 2010). Hloubka vemene měla významný vliv na výskyt KM i SCS. Se vzrůstající hloubkou vemene se zvyšovalo riziko onemocnění KM a vysokého SCS. Odhady vlivu tříd exteriérových znaků hloubky vemene poukazovaly na nejvyšší výskyt KM a nejvyšší SCS u bodového hodnocení 1 – 2 (spodina vemene pod úrovní hlezen) pro všechny období laktace. Bodové hodnocení 1 – 2 mělo 4,27krát vyšší pravděpodobnost výskytu KM mezi 301 – 350 dny laktace oproti referenční hladině (spodní linie více než 21 cm nad úrovní hlezen). Ve všech sledovaných obdobích laktace mělo bodové hodnocení 1 – 2 nejvyšší hodnoty výskytu KM a SCS. U dojnic s vemeny pod úrovní hlezen byl zaznamenán nejvyšší výskyt KM a nejvyšší SCS. Příliš mělká vemena nejsou vhodným selekčním kritériem, protože tyto dojnice mají sklon k nízké užitkovosti. Na místě jsou metody negativní selekce a vyřazování krav s extrémním ohodnocením zevnějšku. Pérez-Cabal & Charfeddine (2013) ve své studii popsali, že pro nejvyšší výskyt KM byla vhodná mělká a dobře přichycená vemena. Rupp & Boichard (1999) na základě odhadu genetické korelace uvedli, že krávy s hlubokými vemeny a slabým předním upnutím vemene mají vyšší SCS a vysoké riziko vzniku KM. Stávající vyšetřování potvrzují, že mezi výskytem KM a vybranými znaky exteriéru krav existují genetické korelace. Navíc tyto vlastnosti mají vysokou dědivost, takže se zdá rozumné zahrnout tyto vlastnosti jako další informační zdroj v indexu odolnosti proti mastitidám (Sørensen et al., 2010).

Závěr

Cílem šlechtění a uplatnění šlechtitelského cíle je optimalizace s ohledem na další vlastnosti, mezi které patří na mléčná užitkovost a funkčnost dojení. Není vhodné upřednostňovat bodová hodnocení, kde byl zaznamenán nejvyšší výskyt KM a nejvyšší SCS. Česká republika je připravena na zavedení selekce proti výskytu KM. Při šlechtění nepřímou cestou se uplatňují informace z KMU (zej. SCC) a údaje o hodnocení exteriéru prvotetek, jež vykazují s výskytem KM zvýšenou korelaci. Přímé cestě předchází plošné sledování onemocnění, konkrétně v ČR využití dat o výskytu KM z webové aplikace Deníku nemocí a léčení.

Tabulky 1, 2 a obrázky 1, 2 a 3 obsahují hodnoty fenotypových korelací odhadnutých v této práci. Hodnoty nad 0,5 jsou zvýrazněny tučně. Hodnoty vztahující se k celé laktaci jsou zvýrazněny červeně. Tabulky 3, 4, 5 a 6 obsahují průměry nejmenších čtverců výskytu KM a SCS, poměry šancí výskytu KM a hodnoty vlivu pevných efektů pro ukazatele SCS odhadnutých v této práci.

Tabulka 1: Fenotypové korelace výskytu klinické mastitidy (uvedené hodnoty jsou průkazné na hladině 0,01; * $P < 0,05$; ns $P \geq 0,05$)

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	KML
V1	-	0,10	0,06	0,05	0,03	0,02	-0,01ns	0,59
V2		-	0,14	0,10	0,04	0,03	0,02ns	0,38
V3			-	0,14	0,08	0,09	0,03*	0,36
V4				-	0,15	0,08	0,05	0,35
V5					-	0,13	0,07	0,35
V6						-	0,13	0,34
V7							-	0,35
KML								-

V1 = výskyt mastitidy v prvních 50 dnech laktace, V2 = výskyt mastitidy mezi 51 – 100 dny laktace, V3 = výskyt mastitidy mezi 101 – 150 dny laktace, V4 = výskyt mastitidy mezi 151 – 200 dny laktace, V5 = výskyt mastitidy mezi 201 – 250 dny laktace, V6 = výskyt mastitidy mezi 251 – 300 dny laktace, V7 = výskyt mastitidy mezi 301 – 350 dny laktace, KML = výskyt mastitidy mezi 0 – 500 dnem laktace

Všechny korelace byly v tabulce 1 statisticky významně odlišné od 0 na hladině významnosti $P < 0,01$; kromě hodnot označených * a ns.

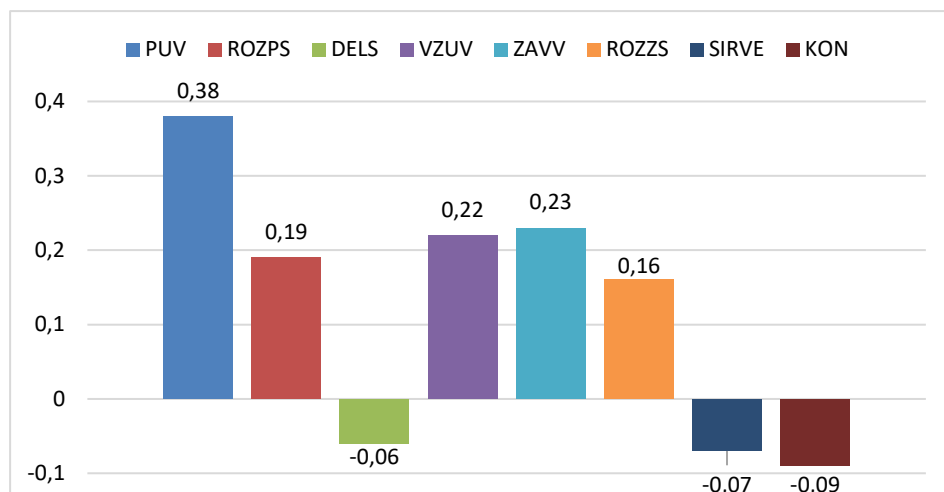
Tabulka 2: Fenotypové korelace pro SCS (uvedené hodnoty jsou průkazné na hladině 0,01)

	scs1	scs2	scs3	scs4	scs5	scs6	scs7	scs8	scs9	scs10	scsl
scs1	-	0,45	0,35	0,29	0,27	0,25	0,24	0,22	0,20	0,18	0,48
scs2		-	0,49	0,43	0,38	0,35	0,32	0,30	0,28	0,24	0,61
scs3			-	0,53	0,49	0,44	0,42	0,37	0,36	0,31	0,66
scs4				-	0,59	0,53	0,49	0,44	0,42	0,37	0,65
scs5					-	0,56	0,52	0,48	0,44	0,39	0,68
scs6						-	0,58	0,55	0,49	0,45	0,69
scs7							-	0,58	0,54	0,48	0,69
scs8								-	0,58	0,52	0,66
scs9									-	0,56	0,66
scs10										-	0,57
scsl											-

SCS = logaritmický přepočet SCC, který byl naměřen za jednotlivé KMU (SCS1 = 1. KMU, SCS2 = 2. KMU atd.), SCsl = skóre průměrného počtu somatických buněk za první laktaci

Všechny korelace byly v tabulce 2 statisticky významně odlišné od 0 na hladině významnosti $P < 0,01$.

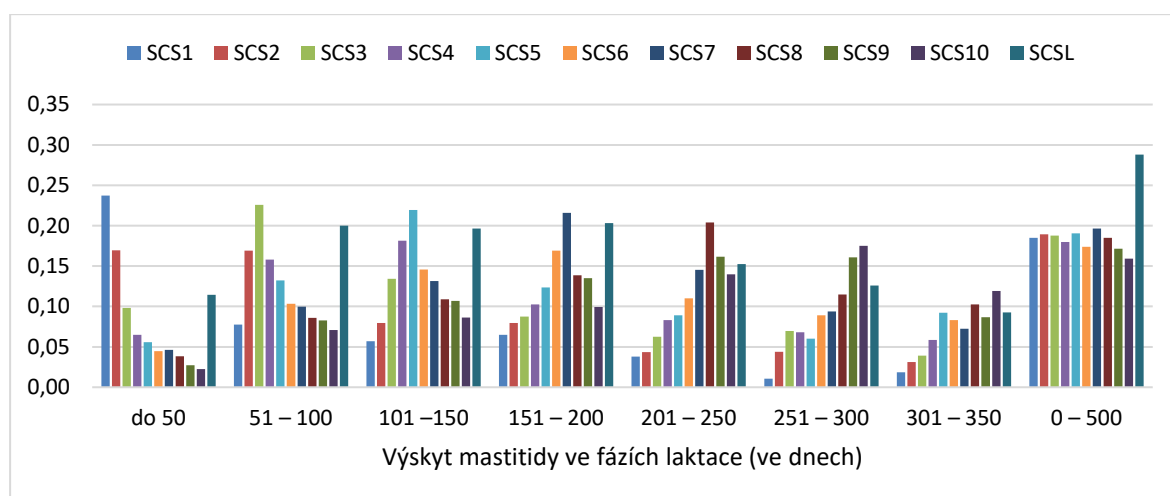
Obrázek 1: Fenotypové korelace vybraných znaků exteriéru dojníc s hloubkou vemene



PUV = přední upnutí vemene, ROZPS = rozmístění předních struků, DELS = délka struků, HLVEM = hloubka vemene, VZUV = výška zadního upnutí vemene, ZAVV = závěsný vaz, ROZZS = rozmístění zadních struků, SIRVE = šířka vemene, KON = tělesná kondice

Všechny korelace byly v obrázku 1 statisticky významně odlišné od 0 na hladině významnosti $P < 0,01$.

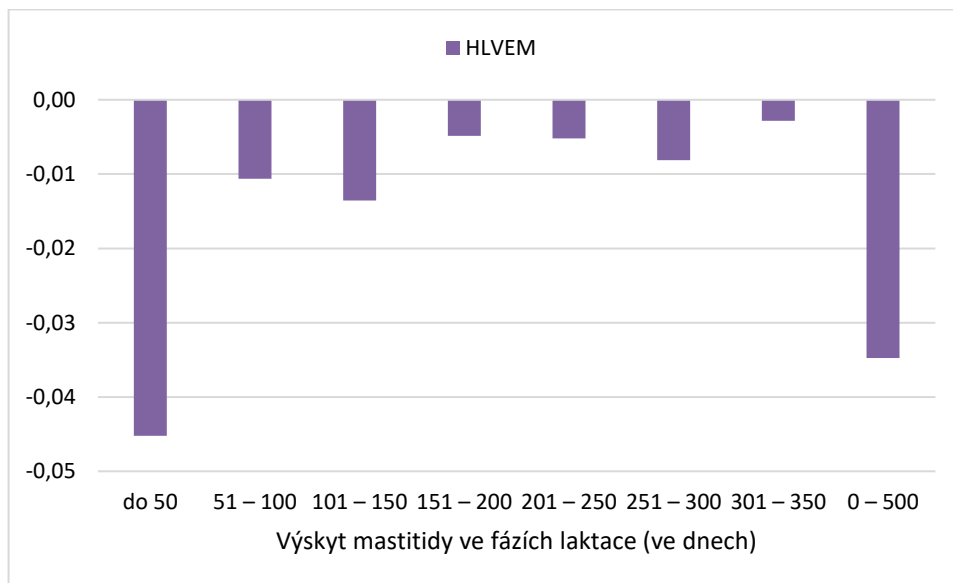
Obrázek 2: Fenotypové korelace mezi výskytem KM a SCS



SCS = logaritmický přepočet SCC, který byl naměřen za jednotlivé KMU (SCS1 = 1. KMU, SCS2 = 2. KMU atd.), SCSL = skóre průměrného počtu somatických buněk za první laktaci

Všechny korelace na obrázku 1 a na obrázku 2 byly statisticky významně odlišné od 0 na hladině významnosti $P < 0,01$; nebo $P < 0,05$; kromě většiny hodnot nižších než 0,02, které byly statisticky nevýznamné (respektive významné na hladině $P \geq 0,05$).

Obrázek 3: Fenotypové korelace mezi hloubkou vemene dojníc a výskytem KM do 350 dnů laktace



HLVEM = hloubka vemene

Tabulka 3: Průměry nejmenších čtverců pro ukazatele KM a hloubku vemene (uvedené hodnoty jsou průkazné na hladině 0,01)

		Výskyt mastitidy ve fázích laktace (ve dnech)															
		do 50		51 – 100		101 –150		151 –200		201 –250		251 –300		301 –350		0 – 500	
Hloubka vemene		LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE	LSM	SE
Bodové hodnocení	2	0,21	0,014	0,11	0,010	0,08	0,010	0,06	0,010	0,07	0,010	0,07	0,011	0,12	0,017	0,44	0,210
	3	0,14	0,010	0,07	0,007	0,04	0,007	0,06	0,007	0,06	0,007	0,05	0,008	0,08	0,013	0,32	0,015
	4	0,12	0,007	0,05	0,005	0,05	0,005	0,05	0,005	0,04	0,005	0,04	0,005	0,05	0,008	0,28	0,010
	5	0,10	0,005	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,006	0,24	0,007
	6	0,09	0,005	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,004	0,04	0,006	0,23	0,007
	7	0,08	0,006	0,03	0,004	0,03	0,004	0,03	0,004	0,02	0,004	0,03	0,005	0,05	0,007	0,20	0,008
	8	0,06	0,008	0,03	0,006	0,03	0,006	0,04	0,006	0,03	0,006	0,04	0,007	0,04	0,011	0,18	0,012

Bodové hodnocení 2: spodina vemene pod úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 1 a 2), bodové hodnocení 3: spodní linie 3 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 4: spodní linie 6 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 5: spodní linie 9 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 6: spodní linie 11,5 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 7: spodní linie 15 cm nad úrovní hlezen a bodové hodnocení 8: spodní linie více než 21 cm nad úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 8 a 9), SE: standardní chyba, LSM průměr nejmenších čtverců

Tabulka 4: Odhad pomocí logistického AM (ODDS ratio) pro výskyt KM a hloubku vemene (uvedené hodnoty nejsou průkazné, kromě hodnot označených: * P < 0,05), odhady jsou vztaženy k referenční hladině 8, tj. hodnocení 8 a 9

Výskyt mastitidy ve fázích laktace (ve dnech)																	
		do 50		51 – 100		101 –150		151 – 200		201 – 250		251 – 300		301 – 350		0 – 500	
Hloubka vemene		ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE	ODDS ratio	SE
Bodové hodnocení	2	1,72	0,200	1,71	0,223	1,33	0,231	1,47	0,349	2,67	0,345	1,54	0,390	4,27	0,455	2,56*	0,167
	3	1,47	0,158	1,26	0,175	1,04	0,176	1,41	0,272	2,05	0,270	1,16	0,310	2,13	0,389	1,73*	0,129
	4	1,50	0,123	1,16	0,138	1,13	0,135	1,20	0,222	1,45	0,225	1,05	0,250	1,50	0,331	1,65*	0,100
	5	1,43	0,110	1,05	0,123	1,07	0,120	1,18	0,194	1,28	0,199	1,09	0,218	0,98	0,306	1,40	0,088
	6	1,36	0,109	1,04	0,120	1,05	0,117	1,18	0,190	1,32	0,194	0,95	0,216	1,13	0,298	1,34	0,086
	7	1,30	0,110	1,02	0,122	1,04	0,117	0,94	0,197	0,83	0,204	0,84	0,222	1,18	0,304	1,17	0,087

Bodové hodnocení 2: spodina vemene pod úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 1 a 2), bodové hodnocení 3: spodní linie 3 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 4: spodní linie 6 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 5: spodní linie 9 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 6: spodní linie 11,5 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 7: spodní linie 15 cm nad úrovní hlezen a bodové hodnocení 8: spodní linie více než 21 cm nad úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 8 a 9), SE: standardní chyba, ODDS ratio: poměr šancí výskytu KM

Tabulka 5: Průměry nejmenších čtverců pro SCS a hloubku vemene (uvedené hodnoty jsou průkazné na hladině 0,01)

Den KMU												
	30. den	60. den	90. den	120. den	150. den	180. den	210. den	240. den	270. den	300. den	x̄ za laktaci	
Hloubka vemene	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE	LSM SE
Bodové hodnocení	2	3,66 0,12	3,41 0,11	3,30 0,11	3,53 0,12	3,57 0,11	3,57 0,10	3,68 0,10	3,70 0,10	3,47 0,10	3,72 0,10	4,07 0,09
	3	3,26 0,09	3,04 0,08	2,97 0,08	3,16 0,09	3,26 0,08	3,13 0,08	3,42 0,08	3,34 0,07	3,41 0,07	3,52 0,07	3,71 0,06
	4	3,06 0,06	2,83 0,05	2,82 0,05	3,00 0,05	3,03 0,05	3,06 0,05	3,06 0,05	3,15 0,05	3,24 0,05	3,42 0,05	3,57 0,04
	5	2,97 0,04	2,66 0,04	2,71 0,04	2,85 0,04	2,93 0,04	2,96 0,03	3,07 0,03	3,07 0,03	3,17 0,03	3,30 0,03	3,42 0,03
	6	2,87 0,04	2,55 0,04	2,64 0,04	2,74 0,04	2,81 0,04	2,89 0,03	2,96 0,03	2,99 0,03	3,09 0,03	3,21 0,04	3,31 0,03
	7	2,85 0,04	2,56 0,04	2,59 0,04	2,67 0,04	2,72 0,04	2,79 0,04	2,88 0,04	2,92 0,04	3,05 0,04	3,16 0,04	3,27 0,03
	8	2,78 0,06	2,51 0,06	2,47 0,06	2,59 0,06	2,64 0,05	2,77 0,05	2,83 0,05	2,84 0,05	2,97 0,05	3,10 0,05	3,19 0,04

Bodové hodnocení 2: spodina vemene pod úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 1 a 2), bodové hodnocení 3: spodní linie 3 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 4: spodní linie 6 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 5: spodní linie 9 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 6: spodní linie 11,5 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 7: spodní linie 15 cm nad úrovní hlezen a bodové hodnocení 8: spodní linie více než 21 cm nad úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 8 a 9), SE: standardní chyba, LSM průměry nejmenších čtverců

Tabulka 6: Odhad lineárním AM pro SCS a hloubku vemene (uvedené hodnoty jsou průkazné na hladině 0,01; * $P < 0,05$; ns $P \geq 0,05$), odhady jsou vztaženy k referenční hladině 8, tj. hodnocení 8 a 9

Den KMU	Bodové hodnocení											
	2		3		4		5		6		7	
	ODHAD	SE	ODHAD	SE	ODHAD	SE	ODHAD	SE	ODHAD	SE	ODHAD	SE
30. den	0,432	0,154	0,238*	0,110	0,214	0,081	0,149*	0,068	0,080ns	0,066	0,053ns	0,067
60. den	0,457	0,140	0,288	0,101	0,243	0,074	0,107*	0,063	0,024ns	0,061	0,052ns	0,061
90. den	0,501	0,135	0,310	0,098	0,284	0,072	0,196	0,061	0,147	0,059	0,111*	0,059
120. den	0,623	0,148	0,381	0,107	0,357	0,077	0,220	0,064	0,132*	0,063	0,078ns	0,063
150. den	0,718	0,134	0,505	0,096	0,360	0,070	0,253	0,060	0,146*	0,058	0,065ns	0,058
180. den	0,681	0,131	0,301	0,094	0,318	0,069	0,192	0,059	0,121*	0,057	0,029ns	0,057
210. den	0,657	0,130	0,478	0,095	0,233	0,069	0,226	0,058	0,116*	0,057	0,048ns	0,057
240. den	0,750	0,129	0,442	0,092	0,310	0,067	0,217	0,057	0,154	0,055	0,078ns	0,055
270. den	0,347	0,127	0,357	0,092	0,269	0,067	0,196	0,057	0,112*	0,055	0,078ns	0,055
300. den	0,458	0,131	0,329	0,095	0,300	0,071	0,178	0,061	0,099*	0,060	0,051ns	0,060
$\bar{x}$ za laktaci	0,624	0,109	0,345	0,078	0,326	0,058	0,182	0,049	0,098*	0,047	0,076ns	0,047

Bodové hodnocení 2: spodina vemene pod úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 1 a 2), bodové hodnocení 3: spodní linie 3 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 4: spodní linie 6 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 5: spodní linie 9 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 6: spodní linie 11,5 cm nad úrovní hlezen, bodové hodnocení 7: spodní linie 15 cm nad úrovní hlezen a bodové hodnocení 8: spodní linie více než 21 cm nad úrovní hlezen (spojené bodové hodnocení 8 a 9), SE: standardní chyba

Seznam literatury

- Georges M., Charlier C., Hayes, B. (2019): Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nat Rev Genet*, 20, 135–156. DOI:[10.1038/s41576-018-0082-2](https://doi.org/10.1038/s41576-018-0082-2)
- Heringstad B., Klemetsdal G., Ruane J. (2000): Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science*, 64, 95–106. DOI:[10.1016/S0301-6226\(99\)00128-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00128-1)
- Johansson K., Eriksson S., Pösö J., Toivonen M., Nielsen U.S., Eriksson J.-Å., Aamand G. P. (2006): Genetic evaluation of udder health traits for Denmark, Finland and Sweden. *Interbull Bulletin*, 35, 92–96.
- Lund T., Miglior F., Dekkers J.C.M., Burnside E.B. (1994): Genetic relationships between clinical mastitis, somatic cell count, and udder conformation in Danish Holsteins. *Livestock Production Science*, 39, 243–251. DOI: 10.1016/0301-6226(94)90203-8
- Martin P., Barkema H.W., Brito L.F., Narayana S.G., Miglior F. (2018): Symposium review: Novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 101, 2724–2736. DOI: [10.3168/jds.2017-13554](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13554)
- Negussie E., Strandén I. & Mäntysaari, E.A. (2008): Genetic association of Clinical mastitis with test-day somatic cell score and milk yield during first lactation Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1189–1197. DOI:[10.3168/jds.2010-3451](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3451)
- Negussie E., Lidauer M., Mäntysaari E.A., Strandén I., Pösö J., Nielsen U.S., Johansson K., Eriksson J.Å., Aamand G.P. (2010): Combining Test Day SCS with Clinical Mastitis and Udder Type Traits: A Random Regression Model for Joint Genetic Evaluation of Udder Health in Denmark, Finland and Sweden. *Interbull Bulletin* no., 42, 25–32.
- Pérez-Cabal M.A., Charfeddine N. (2013): Genetic Relationship between Clinical Mastitis and Several Traits of Interest in Spanish Holstein Dairy Cattle. *Interbull Bulletin*, 47, 77–81.
- Rupp R., Boichard D. (1999): Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Production, Udder Type Traits, and Milking Ease in First Lactation Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 82, 2198–2204. DOI:[10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75465-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75465-2)
- Sender G., Korwin-Kossakowska A., Pawlik A., Hameed K.G.A., Oprządek J. (2013): Genetic basis of mastitis resistance in dairy cattle a review. *Annals of Animal Science*, 13, 663–673. DOI: 10.2478/aoas-2013-0043

Genetické hodnocení poruch reprodukce u českého strakatého skotu

Eva Kašná¹, Ludmila Zavadilová¹, Soňa Šlosárková², Petr Fleischer²,
Josef Kučera³

¹Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha - Uhřetěves

²Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

³Českomoravská společnost chovatelů, a. s., Hradištko

Poděkování

Příspěvek vznikl s podporou MZe ČR, projektu NAZV QK1910320 a institucionální podpory MZE-RO0718.

Souhrn

Analýzovali jsme data o výskytu vybraných poruch reprodukce u dojníc českého strakatého skotu zadaná chovateli do Deníku nemocí v letech 2017-2021. U dojníc jsme v tomto období zjistili podíl laktací postižených danou diagnózou ze všech hodnocených laktací, tj. laktační incidenci 4 % u RP a EMET, 8 % u MET, 9 % u CYS a 10 % u souhrnného souboru pro MET a EMET. Koeficienty dědivosti se pohybovaly mezi 0,01 (RP a EMET) a 0,03 (MET), opakovatelnosti mezi 0,04 až 0,10. Odhadnuté plemenné hodnoty měly normální rozdělení, jejich spolehlivosti však byly nízké s maximy do 30 % u krav s vlastním fenotypem a do 90 % u býků s dcerami. Pořadové korelace mezi PH býků naznačily genetickou korelaci mezi RP a MET, RP a EMET či MET a EMET. PH pro CYS s ostatními vlastnostmi nebyly ve vazbě.

Klíčová slova: holštýnský skot; zadržení lůžka; metritida; syndrom ovariálních cyst

Abstract

We analysed the data on reproductive disorders incidence in Czech Fleckvieh recorded by breeders in web application Diary of Diseases and Medication in 2017-2021. We found a lactation incidence LI of 4% for retained placenta and endometritis, 8% for metritis, 9% for cystic ovarian disease and 10% for merged metritis-endometritis. The heritabilities ranged between 0.01 (retained placenta and endometritis) and 0.03 (metritis), while repeatability ranged from 0.04 to 0.10. Estimated breeding values had normal distribution; however, their mean reliabilities were low with maximum 30% for cows with phenotype and 90% for sires with daughters. Rank correlations between sires based on breeding values indicated a genetic correlation between retained placenta and metritis, metritis and endometritis, and retained placenta and endometritis. We found no association between cystic ovarian disease and other disorders.

Key words: Holstein cattle; retained placenta; metritis; cystic ovaries syndrom

Úvod

V současných podmínkách řešení otázek dopadů klimatické změny, zajištění dostatečného množství kvalitních a bezpečných potravin při současném demografickém růstu, dostupnosti zdrojů či druhové diverzity je prvořadým cílem udržitelnost zemědělství. Rozvoj intenzivních systémů chovu dojníc, zaměřených na vysokou produkci mléka jako zdroje kvalitních bílkovin, byl umožněn kromě rozvoje v oblasti technologií a výživy zejména vývojem a využitím moderních metod šlechtění a genetické selekce, které vedly k nárůstu užitkovosti. Současné chovné cíle se však rozšiřují, a kromě produkce se soustředí zejména na zdraví a welfare zvířat, jejich efektivitu ve vztahu k podmínkám prostředí (účinnost využití krmiva na jednotku produkce, produkce skleníkových plynů na jednotku produkce), klimatickou přizpůsobivost a další znaky, které by napomohly snižovat ekologickou stopu živočišné výroby (Brito a kol. 2021).

Také v České republice byly selekční indexy dojeného skotu postupně rozšiřovány o znaky fitness, jako je plodnost, dlouhověkost či obsah somatických buněk. Plemenářské využití znaků zdraví však nebylo dosud možné z důvodu nedostupnosti plošných údajů o výskytu nemocí a zdravotních poruch v populaci. Jako řešení byla ve spolupráci odborníků z Českomoravské společnosti chovatelů, a. s., v Hradištku (ČMSCH), Výzkumného ústavu veterinárního lékařství, v. v. i., v Brně (VÚVeL) a Výzkumného ústavu živočišné výroby, v. v. i., v Praze Uhřetěvsi (VÚŽV), navržena webová aplikace nazvaná „Deník nemocí a léčení“ (dále Deník). Aplikace umožňuje mj. přenos dat od chovatelů do centrální databáze, jejich ukládání, správu a průběžné vyhodnocování. Celý systém vznikl především v letech 2015-2018 v rámci řešení výzkumného projektu Ministerstva zemědělství ČR NAZV QJ1510217 „Návrh a uplatnění plošného systému sběru dat o nemocech skotu a jeho využití v managementu stád, šlechtění a pro racionální užívání antimikrobik“.

Pro zadávání či importování zdravotních dat do Deníku je velmi důležité sjednocení diagnóz. To se odvíjí od hierarchicky tříděného číselníku – Klíče diagnóz, který byl kolektivem VÚVeL vytvořen na základě doporučení Mezinárodního výboru pro kontrolu užitkovosti ICAR (certifikovaná metodika Zdravotní klíč strukturovaný k vedení databáze nemocí dojeného skotu, Šlosárková a kol. 2016). Deník byl otevřen v testovacím provozu v průběhu roku 2017. Dnes je dostupný po registraci všem chovatelům na stránkách ČMSCH (<https://www.cmsch.cz/>) v rámci Přihlášení k aplikacím – konkrétně v rámci Přístupu k datům z KU (MPD + deník nemocí). Na sběr dat navazuje v současné době pravidelný odhad plemenných hodnot (PH) pro klinickou mastitidu a nemoci paznehtů u holštýnského skotu.

Naším cílem bylo vyhodnotit využitelnost dat z Deníku pro odhad genetických parametrů a PH pro poruchy reprodukce u druhého nejpočetnějšího plemene chovaného pro produkci mléka v ČR, českého strakatého skotu.

Materiál a metodika

VSTUPNÍ DATA A JEJICH ÚPRAVA

Do hodnocení byly zařazeny údaje o zadržení lůžka (RP), metritidě (MET), endometritidě (EMET) a syndromu ovariálních cyst (CYS). Klíč diagnóz definuje zadržení lůžka jako nevypuzení plodových obalů do 24 hodin od vypuzení plodu. Tato zdravotní porucha může nastat pouze jedenkrát za laktaci a většinou by také jen jedenkrát za laktaci měla být zadána. Metritida (poporodní zánět dělohy) je zánět dělohy do 20 dnů po porodu; očistky vykazují hnisavý nebo hnilobný charakter. I tato porucha reprodukce může nastat pouze jedenkrát za laktaci. Endometritida (zánět jen sliznice dělohy) je charakterizována patologickým výtokem z dělohy (obvykle s obsahem hnisu) po 20. dnu od porodu. Je možné specifikovat, o jaký typ endometritidy se jedná (katarální, mukopurulentní, hnisavá endometritida, pyometra). Syndrom ovariálních cyst se vyznačuje hladkým, kulovitým útvarem na vaječníku/vaječnících o průměru nad 25 mm, který perzistuje více jak 10 dní bez přítomnosti žlutého tělíska.

Tabulka 1: Charakteristiky needitovaných záznamů poruch reprodukce v Deníku nemocí a léčení

Diagnóza	Počet záznamů	Počet krav	DIM průměr	DIM medián	DIM modus
RP	2 506	1 759	129	3	1
MET	4 777	2 786	61	13	11
EMET	2 134	1 294	57	28	21
MET+EMET	6 895	3 555	60	16	11
CYS	5 115	3 069	147	96	75

RP – zadržené lůžko; MET – metritida; EMET – endometritida; CYS – syndrom ovariálních cyst; DIM – den laktace, ke kterému byla diagnóza zapsána; medián – střední hodnota; modus – nejčastější hodnota

Protože ne všechny chovy zadávají souběžně všechny čtyři uvedené poruchy, byly pro hodnocení každé z nich vytvořeny samostatné soubory. Počty všech jejich záznamů zadaných v Deníku u dojnic českého strakatého plemene v letech 2017–2021 a charakteristiky dnů laktace (DIM), ke kterým byly zapsány, uvádí v přehledu Tab. 1. Deník umožňuje v téže laktaci zadat více záznamů s toutéž diagnózou, např. v souvislosti s pokračující či doplněnou léčebnou kúrou.

Z Tab. 1. je patrné, že primární vstupní data v některých případech nesplňovala podmínky dané definicí v Klíči, zejména pokud se jedná o dobu jejich výskytu a opakování v průběhu laktace. Do hodnocení základních diagnóz/znaků byly proto zařazeny jen záznamy RP zadané mezi 0. – 10. dnem laktace, MET mezi 0. – 20. dnem laktace, EMET mezi 21. – 305. dnem laktace a CYS mezi 30. – 305. DIM. Protože přibližně čtvrtina záznamů zadaných jako MET se vyskytovala po 20. DIM a přibližně čtvrtina údajů pro EMET spadala do 0. – 20. DIM, byly z hodnocení samostatných diagnóz vyřazeny. Pro oba znaky byl proto vytvořen společný soubor MET + EMET, který představoval zánět dělohy zaznamenaný mezi 0. – 305. DIM. Ke kravám se záznamy byly z kontroly užitečnosti doplněny jejich vrstevnice. Pro všechny znaky byl dále uvažován pouze první výskyt v laktaci, a následně vyjádřen jejich výskyt prostřednictvím laktační incidence (LI = podíl postižených laktací ze všech hodnocených laktací, v %). Do hodnocení byl zařazen každý chov s českými strakatými dojnicemi (podíl C genotypu nejméně 75 %), který splňoval podmínku minimálního výskytu znaku na úrovni 1 % LI za rok a chov. Pro odhad genetických parametrů bylo dále požadováno alespoň 5 vrstevnic na stádo-rok-období a 10 dcer na býka. Popis upravených souborů včetně LI poruch reprodukce uvádí Tab. 2.

Tabulka 2: Charakteristiky editovaných záznamů poruch reprodukce použitých v genetickém hodnocení

Diagnóza	Počet záznamů	Počet laktací	LI (%)	DIM průměr	DIM medián	DIM modus
RP	1 339	30 381	4,41	2 ± 2	2	1
MET	1 983	26 082	7,60	10 ± 5	10	7
EMET	806	20 155	4,00	52 ± 44	35	21
MET+EMET	3 257	33 540	9,70	24 ± 37	13	8
CYS	2 887	33 794	8,54	96 ± 51	81	57

RP – zadržené lůžko; MET – metritida; EMET – endometritida; CYS – syndrom ovariálních cyst; LI – laktační incidence znaku; DIM – den laktace, ke kterému byla diagnóza zapsána; medián – střední hodnota; modus – nejčastější hodnota

ODHAD GENETICKÝCH PARAMETRŮ A PLEMENNÝCH HODNOT

Znaky zdraví byly definovány jako binární s hodnotami 0-absence a 1-alespoň jeden výskyt dané poruchy na laktaci. Pro hodnocení byl zvolen jednoznakový animal model s opakovatelností a popsáný rovnicí ve tvaru:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{Z}_a\mathbf{a} + \mathbf{Z}_{pe}\mathbf{pe} + \mathbf{e},$$

kde $\mathbf{y}$ je vektor pozorování zdravotního znaku; $\boldsymbol{\beta}$ je vektor pevných efektů (společný vliv stáda-roku-období HYS, pořadí laktace krávy, pohlaví telete pro RP a MET); $\mathbf{a}$ je vektor náhodného vlivu jedince; $\mathbf{pe}$ je vektor trvalého prostředí dojnice; $\mathbf{e}$ je vektor náhodných reziduí; $\mathbf{X}$, $\mathbf{Z}_a$ a $\mathbf{Z}_{pe}$ jsou odpovídající matice výskytu. Pro náhodné efekty předpokládáme náhodné rozdělení dané jako

$$\text{Var} \begin{bmatrix} a \\ pe \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} A\sigma_a^2 & 0 & 0 \\ 0 & I\sigma_{pe}^2 & 0 \\ 0 & 0 & I\sigma_e^2 \end{bmatrix},$$

kde σ_a^2 , σ_{pe}^2 a σ_e^2 jsou variance podmíněné aditivně genetickým působením a , vlivem trvalého prostředí pe a reziduální proměnlivostí e , $\mathbf{A}$ je matice příbuznosti a $\mathbf{I}$ je jednotková matice.

Složky rozptylu byly odhadnuty s využitím restringované metody maximální věrohodnosti, jak je implementována v programu AIREMLF90. Ze složek rozptylu byly dopočteny dědivosti jako $h^2 = \sigma_a^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_{pe}^2 + \sigma_e^2)$ a opakovatelnosti jako $r_{op} = \sigma_{pe}^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_{pe}^2 + \sigma_e^2)$. Plemenné hodnoty byly odhadovány metodou nejlepší lineární nestranné předpovědi, jak je implementována v programu BLUPF90. Spolehlivosti R^2 plemenných hodnot

byly dopočteny aproximací diagonálních prvků levé strany soustavy rovnic po absorbování negenetických efektů pomocí programu ACCF90. Všechny jmenované programy jsou součástí programového balíku BLUPF90 (Misztal a kol. 2018). Pro úpravu a statistické hodnocení dat byl využit programový balík SAS v. 9.4.

Výsledky a diskuze

HODNOCENÍ PEVNÝCH EFEKTŮ

Hodnocení pevných efektů ukázalo (s výjimkou CYS) na sezónnost poruch reprodukce, a to s vyšším výskytem v zimních měsících (Tab. 3). Výskyt se také zvyšoval s pořadím laktace krávy, s výjimkou metritidy, která byla častější u prvotek (podobně Hossein-Zadeh a Ardalán M. 2011, Gernand a König 2017). Podle Jamrozika a kol. (2016), je rozdíl mezi první a ostatními laktacemi natolik významný, že by výskyt zdravotních poruch u prvotek měl být hodnocen jako samostatný, geneticky korelovaný znak. Vzhledem ke struktuře našeho souboru, dané relativně krátkým obdobím pozorování, kdy jen malý podíl dojnic má záznam z první a dalších laktací, jsme však pro hodnocení zvolili model s opakovatelností. Pro zadržení lůžka a metritidy byl dále významný vliv pohlaví telete s nejvyšším výskytem obou poruch po porodu dvojčat, zmetání a porodu mrtvého telete (podobně Hossein-Zadeh a Ardalán, 2011).

Tabulka 3: Popis pevných efektů: výskyt poruch reprodukce podle hladin pevných efektů a počet hladin pro stáda-roky-období a chovy v modelové rovnici

efekt	RP	MET	EMET	MET+EMET	CYS
Sezóna ¹					
I – IV	0,04	0,07	0,04	0,09	0,09
V - VIII		0,07	0,03	0,09	
IX – XII	0,05	0,09	0,05	0,11	0,09
Pořadí laktace					
1.	0,02	0,08	0,03	0,10	0,06
2.	0,04	0,07	0,03	0,09	0,09
3. a další	0,06	0,07	0,05	0,10	0,10
Pohlaví telete ²					
Býček	0,03	0,06	x	0,09	x
Jalovička	0,02	0,05	x	0,07	x
Dvojčata	0,22	0,22	x	0,25	x
Mrtvě narozené	0,10	0,11	x	0,14	x
Zmetání	0,21	0,22	x	0,16	x
Neznámé	0,05	0,11	x	0,11	x
Počty úrovní					
HYS ³	147	222	129	283	169
Chovy ³	39	40	24	47	39

RP – zadržené lůžko; MET – metritida; EMET – endometritida; CYS – syndrom ovariálních cyst; HYS – stáda-roky-období laktace.

¹ – pro efekty CYS a RP jsou vytvořeny pouze dvě sezóny: I – VI a VII – XII;

² – pro EMET a CYS nebyl vliv pohlaví telete hodnocen;

³ – v tabulce jsou uvedeny počty úrovní pro daný efekt.

Tabulka 4: Počty zvířat v genetickém hodnocení poruch reprodukce

	RP	MET	EMET	MET+EMET	CYS
Býci	494	431	341	498	522
Krávy s fenotypem	20 841	16 969	12 663	21 278	20 811
Zvířata v rodokmenu	49 467	41 736	31 371	50 983	48 693

RP – zadržené lůžko; MET – metritida; EMET – endometritida; CYS – syndrom ovariálních cyst

ODHAD GENETICKÝCH PARAMETRŮ

Počty zvířat vstupujících do genetického hodnocení znaků uvádí Tab. 4. Dědivosti a opakovatelnosti dopočtené z odhadnutých složek rozptylu jsou uvedeny v Tab. 5. Všechny dědivosti jsou nízké a srovnatelné s odhady získanými stejnou metodou pro tyto znaky v jiných populacích dojeného skotu, např. u rakouského Fleckvieh (Koeck a kol. 2010) nebo německého holštýnského skotu (Gernand a König, 2017). Odhady dědivostí z prahového modelu bývají vyšší, ale také zpravidla nepřesáhnou hranici 10 % (Heringstad a kol. 2010). U všech hodnocených znaků proměnlivost daná působením trvalého prostředí dojnice převýšila aditivní proměnlivost (podobně Vukasinovic a kol. 2017).

PLEMENNÉ HODNOTY PRO ZNAKY ZDRAVÍ

Základní charakteristiky odhadovaných plemenných hodnot uvádí Tab. 6. Plemenné hodnoty měly normální rozdělení s vyšší genetickou variabilitou u CYS a MET, což koresponduje s jejich vyšší dědivostí ve srovnání s EMET a RP. Spolehlivosti odhadů byly v průměru nízké, což je dáno větším podílem zvířat bez vlastního fenotypu v rodokmenu. U krav s vlastním fenotypem dosahovaly maximální spolehlivosti 30 %, u býků s větším počtem dcer až 90 % pro souhrnný znak MET + EMET. Zároveň však jen u přibližně 5 % býků dosáhly spolehlivosti hodnoty > 30 %, která bývá podmínkou jejich zveřejnění.

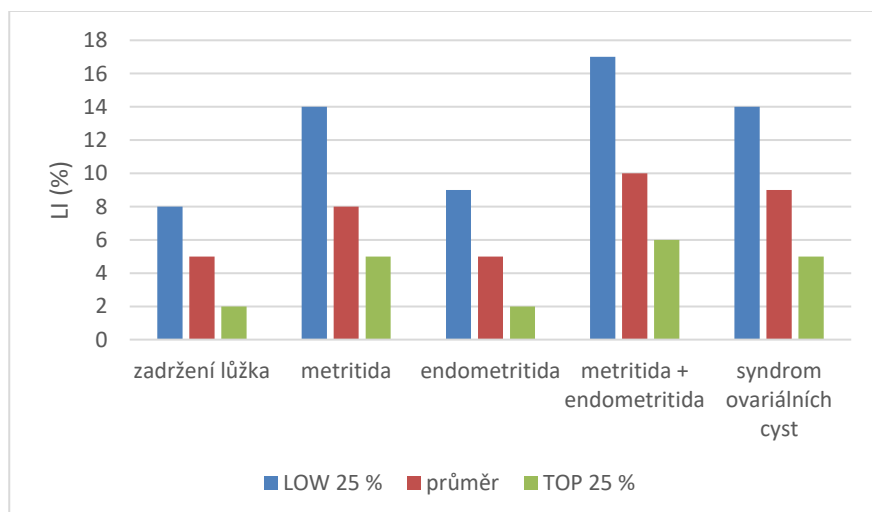
Tabulka 6: Odhadované heritability (h^2), opakovatelnosti (r_{op}), plemenné hodnoty (PH) a jejich průměrné a maximální spolehlivosti (r^2)

Znak	h^2 *	r_{op}	PH průměr	PH min	PH max	r^2
RP	0,01	0,03	$0,00 \pm 0,004$	-0,02	0,03	0,02 / 0,75
MET	0,03	0,04	$0,00 \pm 0,014$	-0,06	0,14	0,03 / 0,80
EMET	0,01	0,03	$0,00 \pm 0,004$	-0,02	0,04	0,01 / 0,79
MET+EMET	0,02	0,06	$0,00 \pm 0,013$	-0,06	0,16	0,04 / 0,90
CYS	0,02	0,06	$0,00 \pm 0,012$	-0,07	0,07	0,04 / 0,79

RP – zadržené lůžko; MET – metritida; EMET – endometritida; CYS – syndrom ovariálních cyst *standardní chyby odhadů heritability se pohybovaly na úrovni $1,6-2,9 \times 10^{-6}$

Spearmanův korelační koeficient pořadí býků podle PH pro MET a souhrnný znak MET + EMET dosáhl 80 %, mezi EMET a souhrnným znakem 55 %. Tyto korelace odrážejí rozložení dat ve prospěch MET, která počet EMET téměř dvojnásobně překračuje, a je tedy souhrnným znakem lépe reprezentována. Korelace pořadí mezi EMET a MET dosáhla 20 % a indikuje genetickou korelaci mezi oběma poruchami, stejně jako korelace 37 % mezi RP a MET. To odpovídá dřívějším zjištěním: např. Gernand a König (2017) uvádějí genetické korelace mezi RP a MET na úrovni 44,5 %, Jamrozik a kol. (2016) 55 %, Heringstad (2010) 64 %. Oproti tomu korelace mezi CYS a ostatní znaky se blíží 0 (Gernand a König, 2017, Koeck a kol. 2010, Heringstad, 2010).

Graf 1: Výskyt poruch reprodukce u dcer ve skupinách podle plemenných hodnot otců



LOW 25 % = laktační incidence poruch reprodukce u dcer 25 % nejhůře hodnocených otců; TOP 25 % = laktační incidence poruch reprodukce u dcer 25 % nejlépe hodnocených otců; průměr = laktační incidence poruch reprodukce v hodnocené populaci.

Pokud býky seřadíme podle plemenných hodnot, podíváme se na výskyt poruch reprodukce u jejich dcer a srovnáme průměry horních a dolních kvartilů (nejlépe a nejhůře hodnocených býků), zjistíme, že i při relativně nízké dědivosti a genetické variabilitě se v populaci nachází široký prostor pro selekci. Nejhorší a nejlepší skupiny se lišily ve výskytu v průměru o 7 % u endometritidy, o 9 % u metritidy a syndromu ovariálních cyst a o 6 % u zadržení lůžka (viz Graf 1).

Závěr

Data o výskytu poruch reprodukce, vkládaná chovateli do Deníku nemocí a léčení, jsou po úpravách využitelná pro odhad genetických parametrů a plemenných hodnot. Zjištěné podíly postižených laktací a heritability byly srovnatelné s výsledky zahraničních studií. Korelace býků podle pořadí založeném na jejich PH indikují genetické korelace mezi zadržením lůžka, metritidou a endometritidou, zatímco syndrom ovariálních cyst byl na ostatních znacích nezávislý. V populaci byla zaznamenána dostatečná variabilita využitelná pro šlechtění zaměřené na nižší výskyt poruch reprodukce u dojnic.

Literatura

- Brito L.F., Bedere N., Douhard F., Oliveira H.R., Amal M. a kol. (2021): Review: Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal*, 15, 100292. doi:10.1016/j.animal.2021.100292
- Gernand E. a König S. (2017): Genetic relationship among fertility disorders, female fertility traits and productivity of Holstein dairy cows in the early lactation period. *J Anim Breed Genet*, 134, 353–363. doi:10.1111/jbg.12274
- Heringstad B. (2010): Genetic analysis of fertility-related diseases and disorders in Norwegian Red cows. *J Dairy Sci*, 93, (6):2751–2756. doi:10.3168/jds.2009-2879
- Hossein-Zadeh N.G. a Ardalan M. (2011): Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Vet Res Commun*, 35, (6):345-354. doi:10.1007/s11259-011-9479-5
- Jamrozik J., Koeck A., Kistemaker G.J., Miglior F. (2016): Multiple-trait estimates of genetic parameters for metabolic disease traits, fertility disorders, and their predictors in Canadian Holsteins. *J Dairy Sci*, 99, (3):1990–1998. doi:10.3168/jds.2015-10505.
- Koeck A., Egger-Danner C., Fuerst B., Obritzhauser W., Fuerst-Waltl B. Genetic analysis of reproductive disorders and their relationship to fertility and milk yield in Austrian Fleckvieh dual-purpose cows. *J Dairy Sci*, 93, (5):2185–2194. doi:10.3168/jds.2009-2570.
- Misztal I., Tsuruta S., Lourenco D.A.L., Masuda Y., Aguilar I., a kol. (2018): Manual for BLUPF90 family programs. Univ. of Georgia. Available at: <http://nce.ads.uga.edu/wiki/doku.php?id=documentation>
- Vukasinovic N., Bacciu N., Przybyla C.A., Boddhireddy P., DeNise S.K. (2017): Development of genetic and genomic evaluation for wellness traits in US Holstein cows. *J Dairy Sci*, 100, (1):428–438. doi:10.3168/jds.2016-11520.
- Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., v Brně. Zdravotní klíč strukturovaný k vedení databáze nemocí dojeného skotu. Původci: Šlosárková S., Fleischer P., Pechová A., Staněk S., Skřivánek M., a kol. Certifikovaná metodika. 978-80-86895-86-4. 2016-12-20.

Molekulárna charakterizácia beta a kappa kazeínového lokusu u kôz chovaných v ČR

*Zuzana Sztankóová, Ladislav Tichý, Kateřina Ječmínková-Jochová,
Jitka Kyselová*

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Přátelství 815, Praha 104 00

PodĎakovanie

Štúdia bola podporená Ministerstvom zemědělství ČR (MZe), Institucionální podpora MZE-RO0718 (V006).

Abstrakt

Medzi kazeínové frakcie, má beta kazeín (CSN2) najhojnejšie zastúpenie, čo predstavuje až 50-55% z celkového obsahu kazeínu. Kappa kazeín (CSN3) predstavuje okolo 15% z celkového množstva kazeínov v mlieku. Obidve kazeínové frakcie sú kódované génmi CSN2 a CSN3, ktoré sú veľmi polymorfné, a ich variabilita má významný efekt na senzorické a technologické vlastnosti mlieka. Cieľom tejto štúdie bolo vyvinúť efektívnu a presnú metódu na detekciu genetických variant pre CSN2 lokus (exon 7 a 9); zistiť distribúciu variant pre CSN2 a CSN3 lokus u mliečnych plemien kôz chovaných v ČR. Do štúdie pre analýzu CSN2 lokusu bolo zaradených 408 vzorkov a pre CSN3 bolo zaradených 790 vzorkov. SNaPshot analýza sa použila na stanovenie genetických variant. U CSN2, prevládajúcou alelou bola C1 (0,41), nasledujúc alela A (0,35). Pre lokus CSN3 v sledovaných rokoch, alela B bola dominantná (0,50-0,65), oproti alele A (0,22-0,40). Alely C, D, F a G, mali nízku frekvenciu výskytu (pod 8%). Získané informácie o distribúcii alel pre CSN2 a CSN3 by mohli byť užitočné v šľachtiteľských programoch na udržanie biodiverzity ale aj na zlepšenie produkčných vlastností mliečnych plemien kôz zaradené do genetických zdrojov chované v ČR.

Klíčová slova: kozy, SNP, CSN2, CSN3, SNaPshot

Abstract

Beta casein (CSN2) is the most abundant protein among the casein fractions, representing up to 50-55% of the total casein content. Kappa casein (CSN3) represents about 15% of the whole casein in milk. Both casein fractions are encoded by the CSN2 and CSN3 genes, which are highly polymorphic, and their variability has a significant effect on milk's sensory and technological properties. This study aimed to develop an efficient and accurate method for detecting genetic variants for the CSN2 locus (exon 7 and 9); to find out the distribution of variants for CSN2 and CSN3 locus in dairy breeds of goats bred in the Czech Republic. Four hundred eight samples were included in the study for CSN2 locus analysis and had 790 samples for CSN3. SNaPshot analysis was used to determine genetic variants. In CSN2, the predominant allele was C1 (0.41), followed by allele A (0.35). For the CSN3 locus in the monitored years, allele B was more dominant (0.50-0.65) than allele A (0.22-0.40). Alleles C, D, F, and G, had a low frequency of occurrence (below 8%). The obtained information on the distribution of alleles for CSN2 and CSN3 could be helpful in breeding programs to maintain biodiversity and improve the production characteristics of dairy breeds of goats included in genetic resources bred in the Czech Republic.

Keyword: goat, SNP, CSN2, CSN3, SNaPshot

Úvod

Kazeín je hlavným proteínom obsiahnutým v mlieku. Jeho podiel činí v mlieku hospodárskych zvierat okolo 80% zo všetkých bielkovín. Kazeínové lokusy sú kódované štyrmi génmi: $\alpha S1$ (CSN1S1), $\alpha S2$ (CSN1S2), β (CSN2) a κ (CSN3), ktoré tvoria tzv. „cluster“ o veľkosti asi 250kb a sú lokalizované na nepohlavnom chromozóme 6. Vvyskytujú sa v rôznych genetických variantoch a mierne sa chemicky líšia (Selvaggi a kol., 2014).

Najviac zastúpená kazeínová frakcia v kozom mlieku je beta kazeín (CSN2), čo zodpovedá približne 50-55% z celkového obsahu mliečnych proteínov. CSN2 je kľúčový pre zrážanlivosť mlieka a pevnosť syreniny, teda ovplyvňuje technologické podmienky pri spracovaní mlieka. V súčasnosti genetický polymorfizmus CSN2 je charakterizovaný rozsiahlou variabilitou, je popísaný 10 autozomálnymi alelami, z toho 7 (A, A1, C, C1, E, O a O') je charakterizovaných na DNA úrovni (Rando a kol., 1996, Persuy a kol., 1998, Chessa a kol., 2005, Cosenza a kol., 2005). Alely B a D sú popísané na proteínovej úrovni (Tortorici a kol., 2014). Podľa literatúry, alela C je prevládajúcou variantou u väčšiny talianskych kôz (Selvaggi a kol., 2014).

Kappa kazeín (CSN3) predstavuje asi 15% z celkového množstva kazeínov v mlieku. Varianty CSN3 lokusu majú veľký vplyv na technologické a nutričné vlastnosti mlieka (percento proteínu a percento kazeínu), podieľajúci sa na tvorbe, stabilizácii a agregácii kazeinových micel. Locus je veľmi polymorfný a podľa doterajšej nomenklatúry (Prizenberg a kol., 2005) je charakterizovaný 21 variantami, z toho 18 alel sú detekovateľné na proteínovej úrovni a sú pomenované v abecednom poradí od A po R. Ďalšie 3 tiché mutácie označené: B', B'' a C' (Di Gerlando a kol., 2015), sú charakterizované na DNA úrovni. Zároveň podľa izoelektrického bodu (IP), tieto varianty sú rozdelené do 2 skupín: A^{IEF} (IP=5,29) (A, B, B', B'', C, C', F, G, H, I, J, L) a B^{IEF} (IP=5,66) (D, E, K, M, N, O, P, Q, R) (Dincel a kol., 2021). Vedecké štúdie indikujú, že alela A a B sú najfrekvencovanejšie varianty u španielskych, francúzskych, talianskych a egyptských plemien kôz (Selvaggi a kol., 2014).

Cieľom tejto štúdie bolo vyvinúť vhodnú, presnú a účinnú metódu detekcie variant u CSN2 lokusu, vyhodnotiť genetickú variabilitu u CSN2 (exon 7 a 9) a CSN3 (exon4) lokusoch u mliečnych plemien kôz chovaných v ČR a porovnať distribúciu variant v niekoľkých rokoch. Takto získané informácie o variabilite alel a genotypov by sa mohli do budúcnosti využiť v šľachtiteľských programoch zameraných na uchovanie biodiverzity plemena alebo využiť pre zlepšenie produkčných vlastností mliečnych kôz chovaných v ČR zaradených do genetických zdrojov.

Material a Metodika

VZORKY A DNA EXTRAKCIA

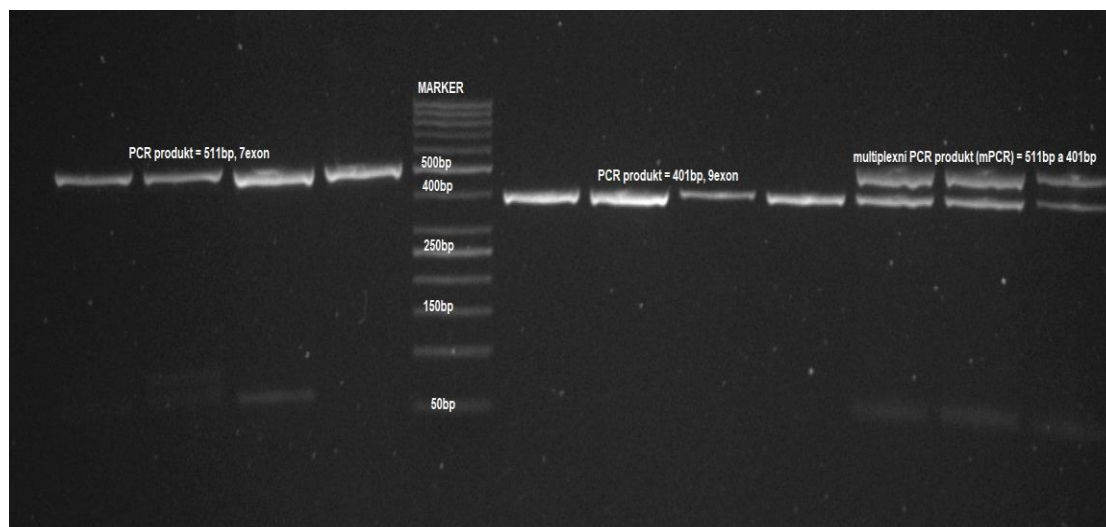
V rokoch 2008 a 2021 bolo celkovo 408 dojnych kôz analyzovaných na CSN2 v oblasti exonu 7 a exonu 9 (Tabuľka 1). Pre CSN3 lokus (exon 4), bolo analyzovaných celkom 790 vzorkov v jednotlivých rokoch: 2011, 2016, 2019 a 2021 (Tabuľka 2).

Genómová DNA bola extrahovaná z krvi pomocou kitu GeneAll, ExgeneTM a mini izolačnej súpravy Clinic SV (GeneAll Biotechnology cp., Ltd., Soul, Kórea; Bohemia Genetic Ltd., Praha, Česká republika) podľa protokolu doporučeného výrobcom.

GENOTYPIZÁCIA

CSN2 Exon 7 (511bp) a exon 9 (401bp) kozieho CSN2 lokusu bol multiplexne amplifikovaný polymerázovou reťazovou reakciou (mPCR) za pomoci navrhnutých primerov podľa sekvencie kozieho CSN2 lokusu vedené v databáze NCBI: GeneBank AJ011018.3, použitím Primer 3 software (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3>). PCR reakcia bola uskutočnená v celkovom objeme 20ul reakčnej zmesi, o zložení 2μl géomickej DNA (10–100 ng), 10 μl 1x PPP Master Mix (Top Bio Ltd., Prague, Czech Republic), a pár primerov 0.3 μl (exon 7: Forward 5' - TCCTTCTTTCCAggATgAACTCC-3', Reverse 5'-ACTTACAAGAATAgggAAgggTCC-3', a 0,5 μl (exon9 Forward 5'-ATgggggTgAgATgAAgAgT-3', Reverse 5'-ACAAGAAAACCTAAATATgCCTAagg-3') (koncentrácia primeru 10pmol/μl) a destilovaná voda pridaná do celkového objemu. Teplotné podmienky cyklera boli nasledovné: úvodná denaturácia bola pri teplote 95°C po dobu 4 min; nasledovalo 35 cyklov: 95°C po dobu 60 sec, 59°C (60 sec), 72°C (60 sec) s finálnou elongáciou pri teplote 72°C po dobu 5 min (Biometra Thermoblock: 050-801 TGradient 96, Biometra, Goettingen, Germany). Kvalita a veľkosť individuálnych PCR produktov (511bp a 401bp) a mPCR produktov bola overená na 3% agarózovom géle zafarbeným ethidium bromidom. (Obrázok 1).

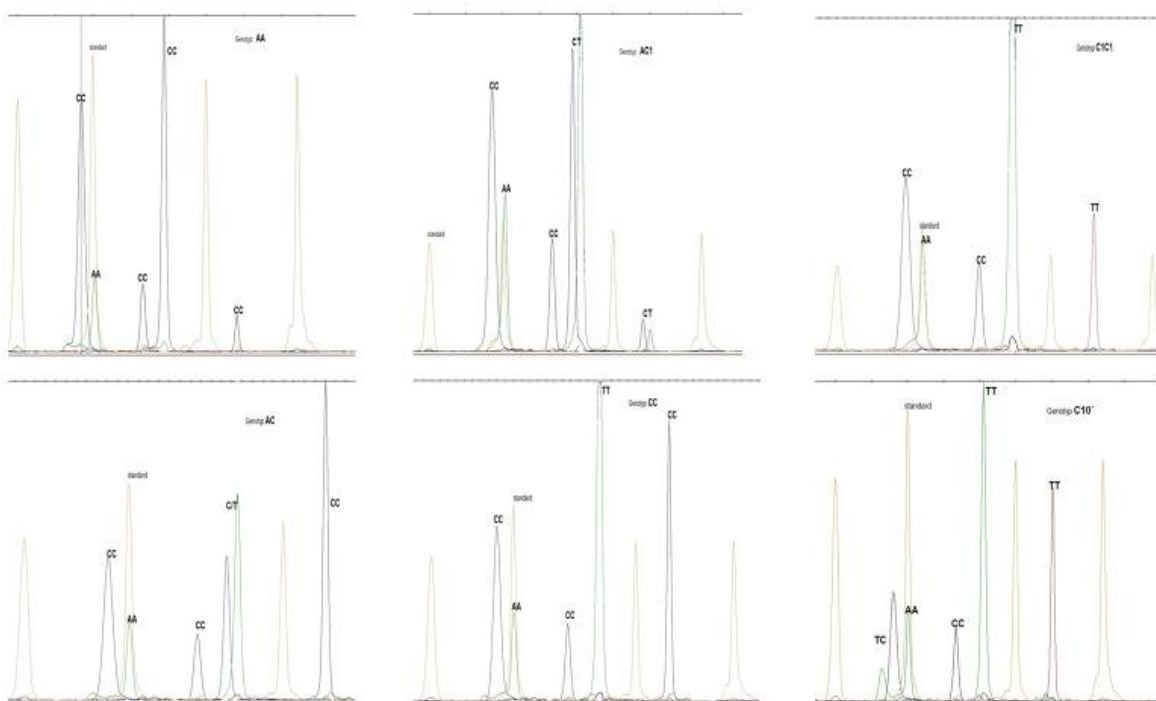
Obrázok 1 Vizualizácia individuálnych elektroforetických vzorov PCR produktu v oblasti exonu 7 (511bp) a exonu 9 (401bp) a mPCR CSN2 lokusu u kôz



Získaný mPCR produkt (2,5 µl) bol následne prečistený enzymatickou zmesou, pridaním 0,5 U FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphate a 10 U Exonuclease I (Fermentas Biogen, ČR), aby sa odstránili PCR primery a neinkorporované ddTPs pri 37°C na 1 hod, a následne prebehla enzymatická inaktivácia pri 85°C na 15min.

SNPs (jednonukleotidový polymorfizmus) na pozícii 8913bp, 8915bp, 8561bp, 8946bp (exon 7) a SNP na pozícii 10562bp (exon9) CSN2 lokusu (GeneBank AJ011018.3) boli stanovované na základe extenzie primeru (SBE – single base extension primer = extenzia/predĺženie primeru o jednu nukleotidovú bázu) s použitím komerčného kitu SNaPshot (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) s finálnym objemom 5,5 µl, obsahujúcim: 1,5 µl purifikovaného PCR produktu, 2,5 µl SNaPshot™ Multiplex Kitu - Ready Reaction Mix (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA), a extenčné primery (SBE): F1=0,5 µl, F2=0,3 µl, F3= 0,3 µl, F4=0,3 µl a F5=0,5 µl (v koncentrácii 10pmol/µl) (Tabuľka 2) a voda na doplnenie finálneho reakčného objemu. Teplotné podmienky cyklera (Biometra Thermoblock: 050-801 TGradient 96, Biometra, Goettingen, Germany), PCR reakcie boli nasledovné: 25 cyklov (96°C po dobu 10 sec, 50°C po dobu 5 sek, 60°C po dobu 30 sec). Po SNaPshot mPCR reakcii sa previedla opätovná enzýmová purifikácia 1 U (0,5 µl) enzýmu FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphate (Fermentas, Biogen, ČR) na 1hod pri 37 °C a následná na 15 minút pri 85 °C. Získaný PCR produkt (0,5 µl) bol potom primiešaný do zmesi s 10 µl Hi-Di formamidu (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA), 0,5 µl štandardu veľkostí fragmentu GeneScan-120 LIZ size standard (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA) a následne táto zmes bola denaturovaná pri 95°C po dobu 5 min. Takto pripravená zmes bola pripravená k fragmentačnej analýze – kapilárnej elektroforéze. Kapilárna gélová elektroforéza prebehla v automatickom sekvenátore ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA) s využitím matricového standardu E5 – Matrix Standard Set DS-02 (dR110, dRGG, dTAMRA, dROX, LIZ) a POP7 polymérom. Vyhodnotenie dát a stanovenie genotypu u CSN2 v oblasti exonu 7 a exonu 9 bolo prevedené softwarom GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA) (Obrázok 2).

Obrázok 2 Zobrazuje elektroforetogramy detekovaných 5 SNPs CSN2 lokusu (exon7 a exon9) a výsledný genotyp.



Tabuľka 1 Sekvencia extenzných primerov, veľkosť a číslo exonu

Pozícia SNP	Sekvencia primeru	Dĺžka primeru	Exon
FSBE1 (8913)	5' - (AT) ₉ TCCgTgCTgTCCCTTT - 3'	34bp	7
RSBE2 (8915)	5' - AggCagAACTTTgggCT - 3'	17bp	7
FSBE3 (8561)	5' - (AT) ₃ ggATgAACTCCAggATAAA - 3'	25bp	7
FSBE4 (8946)	5' - (AT) ₁₁ CATATCTCTCTggggCACT - 3'	41bp	7
FSBEF5 (10562)	5' - (AT) ₁₂ CCATATACTTTCAAAATgTTAATTCAA - 3'	51bp	9

F=forward primer; R=reverse primer

CSN3 Genotypizácia CSN3 lokusu v oblasti exon 4 bola prevedená metódou PCR a následne SNaPshot podľa štúdie Yahyaoui a kol. (2003), kde sa stanovovalo 7 genetických variant: A, B, C, D, E, F, G.

Výsledky a Diskusia

CSN2

Na základe molekulárnej analýzy v roku 2021 sme zistili, že prevládajúcou alelou pre kozí CSN2 bola alela C1, ktorá mala najvyššiu frekvenciu výskytu 41%, nasledovala alela A (35%) a alela C s frekvenciou výskytu 23% u sledovanej populácie mliečnych kôz. Analýzou sme nezistili výskyt ani alely E ani tzv. nulové alely, ktorá spôsobí výskyt predčasného stop kodónu a tak dochádza k absencii β-kazeínu v mlieku. V porovnaní s rokom 2008, sa zistilo, že sa nezaznamenala výrazná zmena vo frekvencii výskytu alel. Prevládajúcou alelou bola C alela s frekvenciou výskytu 68%, v porovnaní s alelou A (31%) (Tabuľka 2). Tieto výsledky sa zhodujú s výsledkami zistenými u niektorých talianskych a tureckých plemien kôz (Chessa a kol., 2005, 2008, Tortorici a kol., 2014). A naopak, alela A mala prevládajúcu frekvenciu výskytu u niektorých afrických a indických plemien kôz (Chessa a kol., 2008, Tortorici a kol., 2014). Okrem štúdií o distribúcii genetických variant CSN2 lokusu, sa uskutočnili aj vedecké práce zamerané na ich asociáciu k mliečnej produkcii. Výsledky dokumentujú, že prítomnosť nulovej alely má negatívny dopad na koagulačné vlastnosti a výťažnosť tj.

absencia β -kazeínu v mlieku, predlžuje sa doba zrážania, znižuje sa pevnosť syreniny, znižuje sa výťažnosť syra oproti ostatným variantom tj.: A, A1, B, C, C1, D a E, ktoré sú asociované s „normálnym“ obsahom β -kazeínu v mlieku.

Tabuľka 2 Vývoj frekvencií genetických variant beta kaseinového genu u GZ koz

Genotyp	Výskyt v roce 2021	Frekvence genotypu %	Frekvence alel %	Výskyt v roce 2008	Frekvence genotypu %	Frekvence alel %
AA	40	14,13	A = 35,16	16	12,8	A = 31,6
AC	32	11,31		47	37,6	
CC	25	8,83	C = 23,49	62	49,6	C = 68,4
C1C1	48	16,96				
AC1	87	30,74				
CC1	51	18,02	C1 = 41,34			
Celkem	283			125		

CSN3

Tabuľka 3 popisuje alelovú frekvenciu sledovaných alel u CSN3 lokusu. Prevládajúcimi variantmi CSN3 lokusu v jednotlivých rokoch sledovania boli alely B a A. Ich frekvencia výskytu sa pohybovala v rozmedzí B 0,50-0,65 a A 0,22-0,40 resp. Razantné až mierne je zníženie frekvencie výskytu alely A a zvýšenie frekvencie alely B v priebehu sledovaného obdobia. Ostatné alely C, D, F a G mali prakticky pomerne nízky výskyt pod 8%. Napriek tomu je viditeľný časový trend zníženia výskytu alely D a zvýšenia výskytu alely G. Rozdielne výsledky boli zaznamenané u talianskych plemien kôz (Sachi a kol., 2005), ale podľa štúdie Di Gerlando, u plemena Girgentana, sa výsledky zhodovali. Obdobné výsledky boli zaznamenané v štúdiu u európskych a afrických plemien kôz podľa Prinzenberg a kol. (2005), kde alela B mala prevládajúce zastúpenie. Táto alela B spolu s alelami: A, C, F a G patria do prvej skupiny A^{IEF} (IP=5,29) a D alela patri do druhej skupiny B^{IEF} (IP=5,66) podľa izoelektrického bodu. Ich asociácia bola vyhodnotená v práci Chiatti a kol. (2007), kde sa zistilo, že skupina B mala pozitívny efekt na obsah proteínu (%) a kazeínu (%), s uplatnením kodominancie v trende fenotypu: BB > AB > AA. Tento poznatok je možno zohľadniť pri šľachtení kôz na produkciu syra.

Tabuľka 3 Alelové frekvencie variant kappa kazeínu v percentách výskytu u dojných kôz v jednotlivých rokoch

2021	2019	2016	2011
A = 22,48	A = 31,13	A = 30,88	A = 40,51
B = 65,38	B = 56,62	B = 58,75	B = 50,39
C = 1,18	C = 2,98	C = 2,53	C = 0,79
D = 1,77	D = 2,65	D = 1,38	D = 7,71
F = 0	F = 0	F = 0	F = 0,59
G = 6,8	G = 6,62	G = 6,45	G = 0

Tabuľka 4 zobrazuje vývoj genotypovej frekvencie variant v jednotlivých rokoch u populácie českých dojných kôz. Analýzu genetických variantov v rokoch 2011, 2016, 2019 sme vykonali v rámci celej ČR u plemenných kôz a capov. V roku 2021 sme detegovali frekvenciu variant CSN3 kazeínu len u 2 faremných populácií dojných kôz. Podľa molekulárnej analýzy sme zistili celkovo 13 genotypových kombinácií, ktoré sa menili v jednotlivých rokoch kedy bola prevedená analýza. Potvrdilo sa, že genotyp BB mal prevládajúce zastúpenie a frekvencia výskytu sa pohybovala od 30-45% v závislosti od počtu zanalyzovaných zvierat v danom roku. Druhým najpočetnejším genotypom bol genotyp AB a jeho frekvencia výskytu sa pohybovala od 28-37%, nasledujúc genotyp AA (7-20%). Ostatné genotypy mali frekvenciu výskytu nižšiu ako 8%. Homozygotná forma genotypu FF a GG nebola potvrdená. Obdobná frekvencia výskytu genotypu bola zaznamenaná u italských plemien kôz (Di Gerlando a kol., 2015), kde prevládajúcim genotypom bol genotyp AB, nasledujúc genotyp AA a BB.

Tabulka 4 Vývoj frekvencií genetických variant kappa kaseinového lokusu u dojných kôz v jednotlivých rokoch

Genotyp	Rok 2021	Frekvence genotypu %	Rok 2019	Frekvence genotypu %	Rok 2016	Frekvence genotypu %	Rok 2011	Frekvence genotypu %
AA	12	7,1	12	7,9	25	11,5	51	20,2
AB	51	30,2	56	37,1	61	28,1	82	32,4
AC	1	0,6	1	0,7	4	1,8	2	0,8
AD	0	0	0	0	2	0,9	18	7,1
AF	0	0	0	0	0	0	1	0,1
AG	11	6,5	13	8,6	17	7,8	0	0
BB	76	45,0	50	33,1	89	41,0	77	30,4
BC	3	1,8	8	5,3	5	2,3	2	0,8
BD	0	0	0	0	0	0	15	5,9
BF	0	0	0	0	0	0	2	0,8
BG	12	7,1	7	4,6	11	5,1	0	0
CC	0	0	0	0	1	0,5	0	0
DD	3	1,8	4	2,6	2	0,9	3	1,2
Celkem	169		151		217		253	

Záver

Vyvinuli sme metódu, ktorá umožňuje rýchle, účinne a presne detegovať väčší počet genetických variant v jednej reakčnej PCR reakcii (multiplex) nezávisle na pohlaví, veku zvierat, plemena, génomické oblasti interusu (exon 7 a exon 9) u kozieho CSN2 lokusu. Táto metóda je užitočnou technikou pre veľký a rýchly skrining a cenným nástrojom pre rutinné simultánne genotypovanie zvierat. Molekulárna analýza potvrdila, že alela C1 je prevládajúca pre CSN2 lokus oproti alelám C a A pre dojné kozy chované v ČR. Nezistili sme výskyt E alely ani tzv. nulové alely. U CSN3 lokusu, je alela B prevládajúcou oproti alele A v jednotlivých rokoch sledovania. Došlo k markantnému zníženiu variant A, D a nárast varianty G v populácii dojných kôz. Získané poznatky sú užitočným nástrojom pre šľachtiteľský program pre uchovanie biodiverzity v rámci plemena a populácie, ale aj nástrojom pre zvýšenie produkčných vlastností kôz chovaných v ČR ako genetické zdroje.

Zoznam literatúry

- Caroli A., Chiatti F., Chessa S., Rignanese D., Bolla P., Pagnacco G. (2006): Focusing on the goat casein complex. *Journal of Dairy Science*, 89, 3178-3187. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72592-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72592-9).
- Caroli A., Chiatti F., Chessa S., Rignanese D., Ibeagha-Awemu E. M., Erhardt G. (2007): Characterization of the casein gene complex in West Africa goats and description of a new α S1-casein polymorphism. *Journal of Dairy Science*. 90, 2989-2996. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-674>
- Chessa S., Budelli E., Chiatti F., Cito A. M., Bolla P., Caroli A. (2005): Short communication: Predominance of beta casein (CSN2) C allele in goat breeds reared in Italy. *Journal of Dairy Science*, 88, 1878-1881. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72863-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72863-0).
- Chessa S., Rignanese D., Kupper J., Pagnacco G., Erhardt G., Caroli A. (2008): Short communication: The β -Casein (CSN2) silent allele C1 is highly spread in goat breeds. *Journal of Dairy Science*, 91, 4433-4436. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1228>
- Chiatti F., Chessa S., Bolla P., Cigalino G., Caroli A., Pagnacco G. (2007): Effect of κ -casein polymorphism on milks composition in the Orobica goat. *Journal of Dairy Science*, 90, 1962-1966. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-508>

- Cosenza G., Pauciullo A., Gallo D., Di Berardino D., Ramunno L. (2005): A Sspl PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat CSN2 locus. *Journal of Dairy Research*, 72, 456-459. <https://doi.org/10.1017/S0022029905001342>.
- Di Gerlando R., Tortorici L., Sardina M. T., Monteleone G., Mastrangelo S., Portolano B. (2015): Molecular characterisation of κ -casein gene in Girgentana dairy goat breed and identification of two new alleles. *Italian Journal of Animal Science*, 14, 2. DOI: 10.4081/ijas.2015.3464.
- Dincel D., Ardicli S., Samli H., Ogan M. M., Balci F. (2021): Evaluation of some environmental and genetic factors (CSN3 and AGPAT6 gene) on milk yield and composition in Saanen goats. *Veterinarski arhiv* 91, 19-30. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.0860>.
- Persuy M. A., Printz C., Medrano J. F., Mercier J. C. (1999): A single nucleotide deletion resulting in a premature stop codon is associated with marked reduction of transcripts from a goat beta-casein null allele. *Animal Genetics*, 30, 444-451. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1999.00547.x>.
- Prinzenberg E.-M., Gutscher K., Chessa S., Caroli A., Erhardt G. (2005): Caprine κ -Casein (CSN3) polymorphism: New developments in molecular knowledge. *Journal of Dairy Science*, 88, 1490-1498. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72817-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72817-4).
- Ramunno L., Mariani P., Pappalardo M., Rando A., Capuano M., Di Gregorio P., Cosenza G. (1995): Un gene ad effetto maggiore sul contenuto di caseina b nel latte di capra. XI Convegno ASPA, pages 185-186, Grado (GO) Italy.
- Rando A. M. (1998): Gen.Bank Accession no. AJ011018 (Capra hircus csn2 gene , exons 1 to 9 alleleA) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Accessed Feb. 21, 2005>.
- Rando, A. M., Pappalardo, M., Capuano, P., Di Gregorio, P., Rammuno, L. (1996): Two mutations might be responsible for the absence of β -casein in goat milk. *Animal Genetics*, 27, 31 (one page).
- Sacchi, P., S. Chessa, E. Budelli, P. Bolla, G. Ceriotti, and D. Soglia. (2005): Casein haplotype structure in five Italian goat breeds. *Journal of Dairy Science*, 88,1561-1568. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72825-3.
- Selvagi M., Laudadio V., Dario C., Tufarwlli V. (2014): Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. *Molekular Biology Reproduction* 41, 1035-1048. DOI: 10.1007/s11033-013-2949-9.
- Tortorici L., Di Gerlando R., Mastrangelo S., Sardina M. T., portolano B. (2014): Genetic characterization of CSN2 gene in Girgentana goat breed. *Italian Journal of Animal Science*, 13, 3414. DOI: 10.4081/ijas.2014.3414.

Vliv inbrední deprese na mléčnou užitkovost u skotu

Hanka Vostrá-Vydrová^{1,2}, Michaela Brzáková², Nina Moravčíková³,
Radovan Kasarda³, Daniela Fulínová⁴, Barbora Hofmanová¹,
Luboš Vostrý^{1,2}

¹Výzkumný ústav živočišné výroby v Praze, Přátelství 815, 104 00, Praha Uhřetěves, Česká republika

²Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 16500 Praha, Česká republika

³Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika

⁴Českomoravská společnost chovatelů, Benešovská 123, 252 09 Hradištko, Česká republika

Poděkování

Tato práce byla podpořena projekty QK1810253, LTAUSA19117 a APVV-17-0161.

Souhrn

Vlivu inbrední deprese na mléčnou užitkovost je významně studovaný fenomén. Využitím Bayesovského teorému byl analyzován vliv inbrední deprese na mléčnou užitkovost u 4749 krav holštýnského skotu na první laktaci s rodokmenovou i genomickou informací. V analýze byly použity tři rozdílné modely s rozdílnými odhady koeficientu příbuzenské plemenitby: rodokmenové, ROH>4Mb nebo ROH>8Mb. Statisticky průkazný vliv inbrední deprese byl zjištěn u všech třech testovaných typů koeficientu příbuzenské plemenitby (odhadnuté mediány: rodokmenový = -13,2 kg, ROH>4Mb = 30,0 kg a ROH>8Mb = -34,4 kg).

Klíčová slova: inbrední deprese, mléčná užitkovost, skot, genomická selekce

Abstract

Inbreeding depression in dairy production is an extensively studied phenomenon. Using Bayesian inference, we analysed inbreeding depression in milk yield (4749 Czech Holstein cows genotyped for >40,000 SNPs with milk yield in the first lactation). We used three models, each based on different estimated inbreeding coefficients (pedigree, ROH>4Mb, or ROH>8Mb). Significant inbreeding depression estimates were observed in all three models (medians; bF_{PED} = -13.2 kg, $bF_{ROH > 4Mb}$ = -30.0, and $bF_{ROH > 8Mb}$ = -34.4 kg).

Keywords: inbreeding depression, dairy, cattle, genomic selection

Úvod

Inbrední deprese je definována jako snížení populačního průměru pro kvantitativní vlastnosti jako jsou reprodukce, fitness, přežitelnost a další významné produkční vlastnosti (Leroy 2014; Doekes et al., 2021). V populaci s malou genetickou proměnlivostí se příbuzenské plemenitbě a s ní spojenou inbrední depresí není možné vyhnout, zvláště v populacích s velkým využitím umělé inseminace. Takovou populací je právě holštýnský skot, který sice patří mezi nejpočetnějšímu plemeni, ale jedná se o plemeno s velmi nízkou hodnotou genetické diverzity. Inbrední deprese odhadovaná na základě rodokmenových, či genomických informací (Curik et al., 2017) je velmi dobře zdokumentovaný fenomén u dojeného skotu (Miglior et al., 1995; Pryce et al. 2014; Doekes et al., 2019). Avšak zatím si nejsme vědomi žádné studie odhadu vlivu inbrední deprese na dojený skot v podmínkách České republiky stanovené na základě genomických dat.

Cílem této studie byl odhad inbrední deprese na mléčnou užitkovost holštýnského skotu na základě rodokmenových a genomických informací v podmínkách České republiky.

Materiál a metody

DATA

Do analýzy bylo zahrnuto 4749 prvních laktací krav holštejského skotu narozených v období 2018-2021. Celkový rodokmen obsahoval 54196 jedinců s celkovým průměrným ekvivalentem kompletních generací roven 12,3 (v rozmezí od 8,6 do 14,2). Většina jedinců (krav = 4478) byla genotypována na SNP chipu Illumina Bovine SNP50 (verze v3_A1), 205 jedinců byla genotypována na SNP chipu Illumina Bovine SNP50 (verze v2_A1) a 67 jedinců byla genotypována na SNP chipu EuroGMD Chip (EuroGenomics). Do analýzy byly použity pouze SNP se známou pozicí na autozomálních chromozomech. Kontrola kvality byla uskutečněna s využitím programu PLINK v 1.9 (Chang et al., 2015). Z analýzy byly vyloučeny všechny SNP s call rate < 90%. Po vyloučení jedinců s nižší hodnotou call rate < 95%, bylo do analýzy zahrnuto již uvedených 4749 jedinců. Informace o mléčné užitkovosti, rodokmenové a genomické informace potřebné pro tuto analýzu poskytla Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR a Českomoravská společnost chovatelů a.s..

ODHAD KOEFICIENTU PŘÍBUZENSKÉ PLEMENITBY

Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby (F_{ROD}) byl získán jako diagonální prvek rodokmenové matice příbuznosti A. Uvedená matice příbuznosti byla získána na základě vlastního programu. Genomický koeficient příbuzenské plemenitby pro každého jedince byl odhadnut na základě „run of homozygosity (ROH) s využitím R balíku "detectRUNS" (Biscarini et al., 2019) na základě následujících parametrů: maxgap = 2 Mb, minSNP = 15, s přípustností jednoho heterozygotního SNP a jednoho chybějícího SNP. Genomické koeficienty příbuzenské plemenitby byly odhadnuty pro intervaly ROH > 4Mb a ROH>8Mb s využitím přístupu popsaného v McQuillan et al. (2008) a Curik et al. (2014) – $F_{ROH>4Mb}$, $F_{ROH>8Mb}$.

ODHAD INBREDNÍ DEPRESE

Inbrední deprese byla odhadnuta s využitím následujícího modelu:

$$Y_{mléko} = SRM_i + b_1Věk + b_2F_x + jed_j + e, \quad (1)$$

kde SRM_i je fixní efekt stáda, roku a měsíce narození; $b_1Věk$ je regresní koeficient na věk jedince; b_2F_x je regresní koeficient koeficientu příbuzenské plemenitby (X je F_{ROD} , $F_{ROH>4Mb}$ nebo $F_{ROH>8Mb}$); jed_j je náhodný efekt jedince a e je náhodná chyba. Odhad byl uskutečněn pomocí Bayesovského přístupu s využitím programu gibbs2f90 software (Misztal, 2003) s dvěma paralelními běhy zahrnujícími 250,000 interakcí, jak popisuje Farkas et al. (2007). Konvergence Gibbs samplink řetězců byla ověřena s pomocí procedury ARIMA programového balíku SAS a následně ověřena pomocí Z-kritéria z Geweke analýzy (Geweke, 1992). Prvních 50000 iterací bylo zahořeno z důvodu autokorelace byla uvažováno každá 150 iterace.

Výsledky a diskuze

Popisné statistiky pro mléčnou užitkovost a odhady koeficienty příbuzenské plemenitby jsou uvedeny v tabulce 1. Odhady koeficientu příbuzenské plemenitby odhadnuté na základě molekulárně genetických dat ($F_{ROH>4Mb}$ a $F_{ROH>8Mb}$) vykazovaly vyšší střední hodnoty i hodnoty variability než hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby na základě rodokmenových dat.

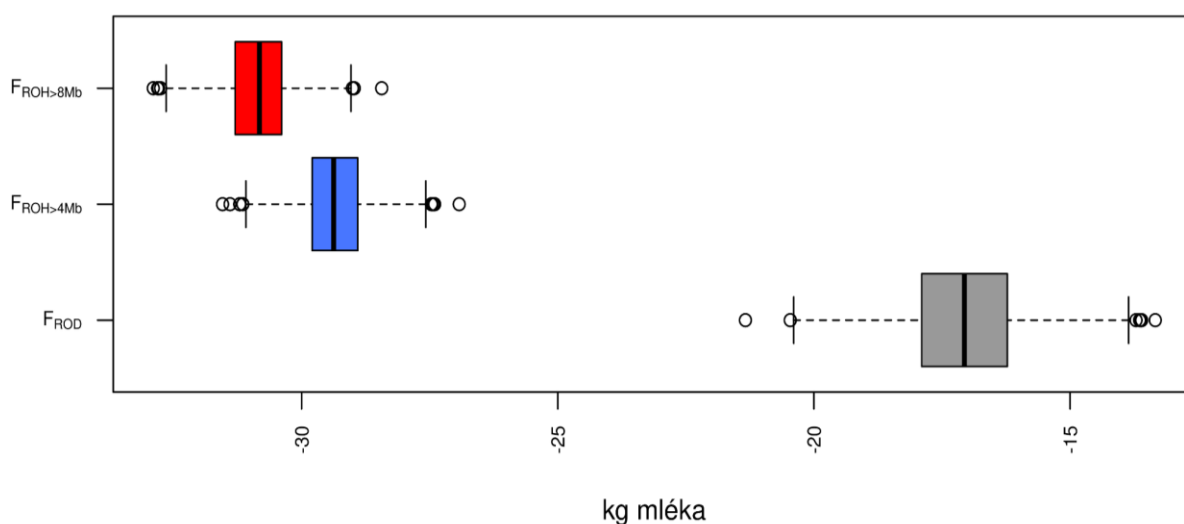
Mezi koeficienty příbuzenské plemenitby odhadnutými na bázi rodokmenových a genomických dat byly odhadnuty střední hodnoty korelace v rozmezí 0,52 – 0,56. Nižší hodnota korelace byla zjištěna mezi F_{ROD} a $F_{ROH>8Mb}$. Střední hodnoty korelací naznačují, že účinky koeficientu příbuzenské plemenitby odhadované z rodokmenových informací nezohledňuje veškeré škodlivé účinky alel, které může být přítomny v genotypu.

Tabulka 1. Popisné statistiky mléčné produkce a rozdílných koeficientů příbuzenské plemenitby

Proměnná	Medián	Průměr	Interval	SD ¹
Mléčná užitkovost (kg)	9 902	9925	4 852 - 15 315	1 768
F _{PED} (%)	6,1	6,3	0,9-23,1	1,8
F _{ROH>4Mb} (%)	10,5	10,7	0,2-28,7	3,0
F _{ROH>8Mb} (%)	6,8	7,1	0,0-8,7	2,7

¹SD – směrodatná odchylka

Obrázek 1. Box-plot rozdělení odhadů vlivu inbrední deprese na mléčnou užitkovost odhadnuté Bayesovským přístupem na základě třech rozdílných koeficientů příbuzenské plemenitby: i) rodokmen (F_{ROD}), ii) ROH>4Mb (F_{ROH>4Mb}) a iii) ROH>8 Mb (F_{ROH>8Mb}).



Rozdělení odhadů inbrední deprese získané pomocí uvedeného modelu, každý odhad byl založen na rozdílném stanovení koeficientu příbuzenské plemenitby, s využitím Bayesovského přístupu jsou uvedeny v obrázku 1.

Z obrázku 1 vyplývá statisticky průkazný vliv inbrední deprese na mléčnou užitkovost. Byl zjištěn u všech typů koeficientu příbuzenské plemenitby (mediány; $b_{F_{PED}} = -13,2$ kg, $b_{F_{ROH>4Mb}} = -30,0$, a $b_{F_{ROH>8Mb}} = -34,4$ kg), při nárůstu hodnoty F_x o 1%. Naproti tomu Hofmannová et al. (2019) uvádějí, že vliv koeficientu příbuzenské plemenitby není nutné zohledňovat při genetickém hodnocení plodnosti holštýnského skotu v České republice.

Výsledky této studie poukazují na skutečnost, že mléčná užitkovost holštýnského skotu v České republice je ovlivněna inbrední depresí. Hodnota genomického koeficientu příbuzenské plemenitby je ovlivňovala větší měrou mléčnou užitkovost jedinců. Z výsledků dále vyplývá, že současný koeficient příbuzenské plemenitby (F_{ROH>8Mb}) vykazoval vyšší vliv inbrední deprese. Tato skutečnost poukazuje na očišťování populace proti nežádoucím alelám v populaci pomocí selekce jedinců. Vlivu inbrední deprese na užitkovost holštýnského skotu by bylo vhodné se v budoucnu dále věnovat.

Použitá literatura

- Biscarini F., Cozzi P., Gaspa G., and Marras G. (2019): detectRUNS: DetectRuns of Homozygosity and Runs of Heterozygosity in Diploid Genomes. R package version 0.9.6. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=detectRUNS>
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S. M., Lee J. J. (2015): Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience* 4(1): s13742-015. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>
- Curik I., Ferencaković M., and Sölkner J. (2014): Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* 166: 26-34. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.05.034>
- Curik I., Ferencaković M., and Sölkner J. (2017): Genomic dissection of inbreeding depression: a gate to new opportunities. *Revista Brasileira de Zootecnia* 46: 773-782. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000900010>
- Doekes H. P., Veerkamp R. F., Bijma P., de Jong G., Hiemstra S. J., Windig J. J. (2019): Inbreeding depression due to recent and ancient inbreeding in Dutch Holstein–Friesian dairy cattle. *Genetics Selection Evolution* 51(1): 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0497-z>
- Doekes H.P., Bijma P., and Windig J.J. (2021) *Genes* 12(6): 926. <https://doi.org/10.3390/genes12060926>
- Farkas J., Curik I., Csató L., Csörnyei, Z., Baumungd R., Nagy I. (2007): Bayesian inference of inbreeding effects on litter size and gestation length in Hungarian Landrace and Hungarian Large White pigs. *Livestock Science* 112(1-2): 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.160>
- Geweke J. (1992). *Bayesian statistics* 4: 641-649.
- Hofmannová M., Přibyl J., Krupa E., Pešek P. (2019) Estimation of inbreeding effect on conception in Czech Holstein. *Czech J. Anim. Sci.*, 64 (7): 309-316. <https://doi.org/10.17221/154/2018-CJAS>
- Leroy G. (2014): Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Animal genetics* 45(5): 618-628. <https://doi.org/10.1111/age.12178>
- McQuillan R., Leutenegger A., Abdel-Rahman R., Franklin C. S., Pericic M., Barac-Lauc L., Smolej-Narancic N., Janicijevic B., Polasek O., Tenesa A., MacLeod A. K., Farrington S. M., Rudan P., Hayward C., Vitart V., Rudan I. Wild S. H., Dunlop M. G., Wright A. F., Campbell H., Wilson J. F. (2008): Runs of Homozygosity in European Populations. *American Journal of Human Genetics* 83(3): 359–372. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.08.007>
- Miglior F., Burnside E.B., Kennedy B.W. (1995): Production Traits Genetic Variance of Holstein Cattle: Estimation of Nonadditive Components and Inbreeding Depression. *Journal of Dairy Science* 78(5): 1174-1180. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76735-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76735-2)
- Misztal I., (2003) BLUPF90 Manual. Available at <http://nce.ads.uga.edu/~ignacy/newprograms.html>
- Pryce J.E., Haile-Mariam M., Goddard M.E., Hayes B.J. (2014): Identification of genomic regions associated with inbreeding depression in Holstein and Jersey dairy cattle. *Genetics Selection Evolution* 46(1): 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12711-014-0071-7>
- Tier B. (1990): Computing inbreeding coefficients quickly. *Genetics Selection Evolution* 22: 419–430. [doi: 10.1186/1297-9686-22-4-419](https://doi.org/10.1186/1297-9686-22-4-419)

Studium variability imunitních genů v populaci českého strakatého skotu

Ladislav Tichý^{1,2}, Karel Novák¹, Jitka Kyselová¹, Michaela Přibáňová³,
Zuzana Sztankóová¹, Luboš Vostrý^{1,2}

¹ Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha-Uhřetěves,

² Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha-Suchbát,

³ Českomoravská společnost chovatelů a.s., Hradištko.

Poděkování

Studie byla podpořena Ministerstvem zemědělství ČR, prostřednictvím institucionální koncepce rozvoje MZE-RO0718 (V006) a projektem QJ1610489 Národní agentury pro zemědělský výzkum s podporou SGS grantu: SV21-5-21360.

Studie byla provedena ve spolupráci s Českomoravskou společností chovatelů a.s.

Abstrakt

Hlavním cílem této studie bylo analyzovat variabilitu genů pro kinázy 1 a 4 asociované s receptorem pro interleukin 1 (*IRAK1*, *IRAK4*) a gen myelinového a lymfocytového proteinu (*MAL*) v populaci českého strakatého skotu (ČESTR). O těchto genech je známo velmi málo, obzvláště ve vztahu k infekční rezistenci, která může být klíčová pro šlechtění skotu. Genetická variabilita byla stanovena pomocí sekvenování nové generace (NGS) screeningem 164 býků ČESTR. Získané výsledky sekvenační technologie PacBio (Pac Bio RSII, Pacific Biosciences) byly zaznamenány a porovnány s databázovými údaji. V genu *IRAK1* bylo nalezeno 17 jednonukleotidových variant (SNV), v genu *IRAK4* byly nalezeny 3 delece a 12 bodových mutací. Gen *MAL* obsahoval pouze dva jednonukleotidové polymorfismy. Bioinformatická predikce funkčních dopadů polymorfismu nalezeného v populaci identifikovala pouze jednu nesynonymní mutaci 5131 A/G v genu *IRAK1*, která vede k aminokyselinové záměně. K determinaci populační variability byly použity tři genotypizační metody: Sangerovo sekvenování, DNA čipy (Illumina) a metoda extenze primeru (SNaPshot, Thermo Fisher Scientific). Ve spolupráci s Českomoravskou společností chovatelů (ČMSCH) bylo provedeno srovnání alelických frekvencí polymorfismu rs110533802 *IRAK1* populace ČESTR s populacemi ostatních plemen skotu. Na základě získaných dat lze konstatovat, že funkčně významná diverzita ve studované populaci ČESTR je v analyzovaných genech pravděpodobně omezená.

Klíčová slova: Toll-like receptory, diverzita, NGS, DNA čipy, genotypování

Abstract

The main objective of this study was to investigate the genetic polymorphism of the interleukin-1-receptor associated kinases 1 and 4 (*IRAK1*, *IRAK4*) and the myelin and lymphocyte protein gene (*MAL*) in the Czech Pied cattle (CP) population. Very little is known about the significance of these genes in cattle species, especially for infectious resistance, which may be crucial for breeding. Genetic variability was determined by next-generation sequencing (NGS) by a screening of 164 CP bulls. The obtained results of PacBio sequencing technology (Pac Bio RSII, Pacific Biosciences) were recorded and compared with database polymorphism. Seventeen single nucleotide variations (SNV) were found in the *IRAK1* gene, three deletions and 12 SNVs were found in the *IRAK4* gene. The *MAL* gene contained only two SNPs. Bioinformatics prediction of the functional impact of polymorphism found in the population identified only one non-synonymous 5131 A/G mutation in the *IRAK1* gene, which leads to amino acid substitution. To determine population variability three genotyping methods were used: the Sanger sequencing method, the DNA microarray method (Illumina), and

the primer extension method (SNaPshot, Thermo Fisher Scientific)., Comparison of the SNP rs110533802 allelic frequency between the CP and other commercial cattle breeds was performed in cooperation with the Czech-Moravian Society of Breeders. Based on the obtained data, the functionally significant variability of the examined genes can be considered rather limited in the investigated population of the CP.

Abstract: Toll-like receptors, diversity, NGS, DNA microarray, genotyping

Úvod

Imunitní systém savců využívá dvě různé složky obrany proti cizorodým organismům – specifickou a vrozenou složku imunity. Specifická imunita se zlepšuje po každé opakované infekci, kterou organismus prodělá. Vyvíjí se klonální selekcí z velkého výběru lymfocytů nesoucí antigen specifické receptory. Po aktivaci se buňky zmnožují a mění na paměťové B-lymfocyty, poté velká část dozrává v plazmatické buňky. U těchto buněk dochází následně k produkci protilátek (Parker 1993). Na druhé straně mechanismy vrozené imunity mají možnost reagovat okamžitě při prvním kontaktu s patogenem. Jakmile se molekula naváže na receptor, dochází k přenosu signálu v buňce, který vede k vylučování obranných látek (cytokiny), které do místa kontaktu přivolávají další imunitní buňky a vyvolávají zánět. Vrozená imunita se vyznačuje stejnou odpovědí a mechanismy při každém kontaktu s patogenem, přičemž zůstává neměnná a pevně určená v DNA z generaci na generaci (Delves & Roitt 2000).

Vrozený imunitní systém využívá k rozpoznání patogenů PRRs – pattern recognition receptors (vzory rozpoznávající receptory), které rozpoznávají molekuly typické pro daný patogen. Mezi tyto receptory patří rodina Toll-like receptorů (TLR), která zajišťuje rozpoznávání extracelulárních a endosomálních patogenních složek (Akira et al. 2006). V genetické informaci skotu se nachází 10 genů kódujících TLR receptory, které jsou lokalizovány v imunitních buňkách (makrofágy, B-lymfocyty, dendritické buňky). U mnoha z nich byla v minulosti přímo prokázána asociace s rezistencí k bakteriálním i virovým infekcím. Sharma et al. (2006) popisuje spojení mezi změnami plemenných hodnot pro perzistenci laktace a skóre somatických buněk a bodovými mutacemi v genu *TLR4*. V práci Goldammer et al. (2004) je popsána vysoká exprese genů *TLR2* a *TLR4* během mastitidy způsobené bakteriemi *Streptococcus uberis* a *Staphylococcus aureus*.

Po kontaktu patogenu s receptorem dochází ke spuštění různých signálních drah v závislosti na konkrétním receptoru. Dochází k interakci mezi velkým počtem signálních molekul, která vede až k aktivaci transkripčních faktorů – jaderný faktor κ B (NF- κ B) a aktivátorový protein 1 (AP-1), které spouští syntézu prozánětlivých cytokinů např. interleukinů IL6, IL8 a IL12 (Kawai & Akira 2007). Interleukin-1-receptor asociované kinázy 1 a 4 jsou serin/threoninové proteinové kinázy, které se účastní reakcí v signálních drahách TLR receptorů při iniciaci vrozené imunitní reakce. Molekuly jsou zapojeny do komplexů a podléhají řadě biochemických reakcí na jejichž konci dochází k aktivaci příslušných transkripčních faktorů (Hacker et al. 2006, Akira et al. 2006).

Geny přirozené imunity byly doplněny o gen *MAL*. Jedná se o gen, který hraje roli v oblasti získané imunity. Myelinový a lymfocytový protein, kódovaný genem (*MAL*), byl nalezen v endoplazmatickém retikulu T-buněk a jedná se o kandidátní gen transdukce T-lymfocytů. Tento protein se také nachází v myelinu a účastní se biogeneze a funkce myelinu (Zacchetti et al. 1995). Tyto tři geny byly v dosavadních studiích u skotu opomíjeny a byly vybrány převážně z důvodu minimální prostudovanosti. Cílem práce bylo analyzovat variabilitu genů *IRAK1* a *IRAK4* – článků signální dráhy Toll-like receptorů a genu *MAL* ve vybrané populaci ČESTR a následně charakterizovat případný vliv genetického polymorfismu na funkční změnu proteinu.

Materiál a metody

SBĚR VZORKŮ A IZOLACE GENOMICKÉ DNA

Do studie genové variability metodami NGS a Sangerovým sekvenováním bylo zahrnuto celkem 164 býků ČESTR. Genomická DNA (gDNA) byla izolována ze zmražených inseminačních dávek pomocí soupravy MagSep Tissue kit (Eppendorf, Hamburk, Německo) automatickým izolačním přístrojem EpMotion M5073 podle

doporučeného protokolu. Vzorky dodala chovatelská společnost Impuls. Technologii DNA čipů bylo analyzováno celkem 72 dojnic ČESTR z experimentální farmy Výzkumného ústavu živočišné výroby v Netlukách. V tomto případě byla gDNA izolována z chlupových cibulek pomocí sady GeneAll SV mini (GeneAll, Soul, Jižní Korea) podle doporučeného protokolu. Koncentrace a kvalita gDNA byla stanovena spektrometricky pomocí spektrofotometru NanoDrop1000 (Thermo Scientific, Německo). Ve spolupráci s laboratoří iGenetiky ČMSCH byly analyzovány genotypovací údaje z Illumina Bovine SNP_Chip_V3 u české (4954 dojnic) a maďarské (4268 dojnic) populace holštýnského skotu a masných plemen Limousine (365), Charolais (261), Simmental (281) a Aberdeen Angus (289).

NÁVRH PRIMERŮ A PCR AMPLIFIKACE

Pro design specifických oligonukleotidových primerů byl využit bovinní referenční genom UMD-3.1.1. z databáze National Center for Biotechnology Information (NCBI). Oblasti genů *IRAK1* a *IRAK4* byly kompletně pokryty nově navrženými primery. V případě genu *MAL* byla využita pouze sekvence exonů z důvodu velké délky genu – 25 218 párů bází. Pro gen *IRAK1* bylo použito pět párů primerů, pro gen *IRAK4* 20 párů primerů, pro gen *MAL* stačily k pokrytí exonových oblastí pouze 4 páry primerů. Primery byly syntetizovány a dodány v lyofilizované formě firmou Eurofins Genomics (Konstanz, Německo), následně byly naředěny deionizovanou vodou na koncentraci 10 pmol/μl.

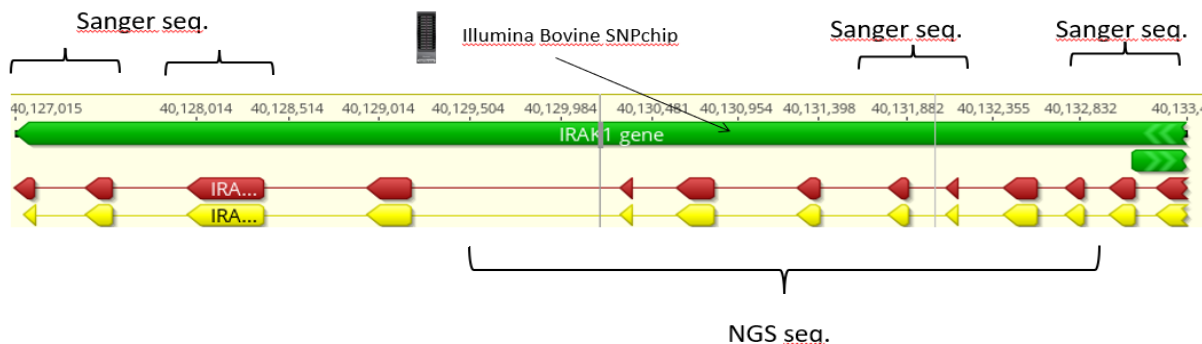
Amplifikace fragmentů byla provedena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) v zařízeních Biometra Thermocycler T gradient Thermoblock (Biometra Göttingen, Německo) a Eppendorf Mastercycler Gradient Thermal Cycler 96 (Eppendorf Hamburk, Německo) za pomoci směsi Basic PCR Master Mix (Generi Biotech, Hradec Králové, ČR). Reakční směs byla stanovena na 10 μl se složením: 3,9 μl PCR H₂O, 0,3 μl genomické DNA (50 ng/μl) a 0,4 μl každého primeru. Všechny 43 cyklů PCR bylo provedeno se stejným principem ve třech blocích s prvním blokem – denaturační teplota 95 °C po dobu 60 s. Druhý blok se skládal z 43 cyklů se 3 kroky: 1. Denaturace 95 °C po dobu 30 s, 2. Anelace 60 °C (30 s), 3. Elongace 72 °C (120 s). Třetí blok – prodloužená elongace 72 °C (360 s). Amplifikované fragmenty byly zkontrolovány pomocí horizontální elektroforézy Liberty (Biokeystone Company, El Monte, CA, USA) na 3 % agarózovém gelu s použitím fluorescenčního barviva Gel Red (Biotium, Fremont, USA).

NGS A SANGEROVO SEKVENOVÁNÍ

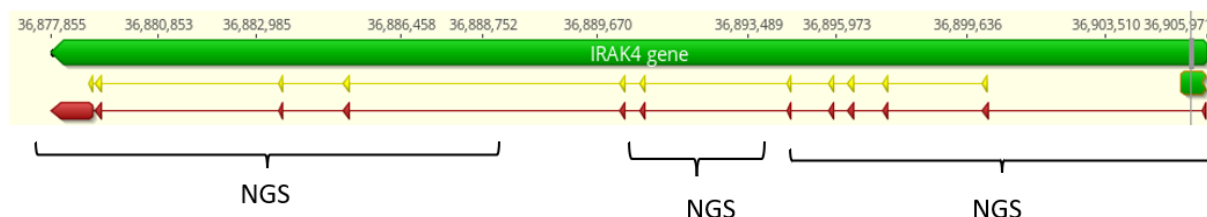
Pro sekvenování nové generace byla připravena směs gDNA složená z celé studované populace býků ČESTR v ekvimolární koncentraci. Směs fragmentů byla přečištěna sadou QIAquick PCR purification Kit (Qiagen, Venlo, Nizozemsko) podle protokolu výrobce. Směsný vzorek byl sekvenován pomocí sekvenačního zařízení PacBio RSII (Pacific Biosciences, Menlo Park, CA, USA) v servisní laboratoři Eurofins Genomics (Konstanz, Německo). Získané výsledky byly zpracovány bioinformatickým softwarem Geneious Prime (Biomatters, Nový Zéland) a mapovány na referenční sekvenci UMD_3.1.1. Funkce „Find Variant“ našla varianty, u kterých byla pravděpodobnost náhodného původu menší než 0,01. Výsledky byly podrobeny vizuální kontrole a byly vyloučeny varianty, které byly způsobeny charakteristickým typem chyby technologie NGS. Ostatní varianty byly porovnány s databází European Variation Archive (EVA) na serveru European Bioinformatics Institute (EBI, Cambridgeshire, Velká Británie) a byl předpovězen jejich funkční efekt pomocí nástroje VEP – Variant Effect Predictor (Ensembl, Santa Cruz, USA).

Sangerovo sekvenování bylo aplikováno k potvrzení výsledků NGS a pro resekvenování oblastí, které se nepodařilo analyzovat technologií NGS. NGS sekvenování nebylo úspěšné pro exony 1-4 a 13-14 genu *IRAK1*. Pro tyto oblasti byly proto navrženy 4 páry nových primerů (obrázek 1).

Obrázek 1. Strategie sekvenování genu *IRAK1*



Obrázek 2. Strategie sekvenování genu *IRAK4*



Primery byly syntetizovány společností Generi Biotech (Hradec Králové, ČR). PCR amplifikace byla provedena v reakční směsi 10 μ l obsahující 5 μ l Basic PCR Master Mix (Generi Biotech, Hradec Králové, ČR) 3,9 μ l PCR H₂O, 0,3 μ l 50 ng/ μ l gDNA a 0,4 μ l 10 pmol/l každého primeru. Program PCR (30 cyklů) byl složen z počáteční denaturační teploty 94 °C po dobu 30 s, anelační teploty 58 °C (30 sec) elongační teploty 72 °C (50 sec) a finální elongační teploty 72 °C (5 min). Amplikony byly po elektroforetické kontrole zaslány k Sangerovu sekvenování do Eurofins Genomics (Německo).

TECHNOLOGIE DNA ČIPŮ

Technologie Illumina Infinium HTS byla realizována ve spolupráci s laboratoří iGenetiky Českomoravské společnosti chovatelů (Hradištko, ČR). Byl použit DNA čip BovineSNP50 V3 Bead Chip (Illumina, San Diego, CA, USA), který obsahuje 53 218 SNP pravidelně rozložených po celém genomu skotu. Technologie byla použita k determinaci populační variability v polymorfismu v genu *IRAK1* na pozici 40 130 944 chromozómu X (rs110533802) u 72 dojnic ČESTR (Obrázek 1). Analýza byla provedena dle Infinium HTS Assay Reference Guide (Illumina, San Diego, CA, USA) a rozdělena do tří denní procedury. První den zahrnoval 2 kroky: amplifikaci a inkubaci DNA. Druhý den zahrnoval čtyři kroky: fragmentaci, precipitaci, resuspendaci a hybridizaci DNA na Illumina čip. Třetí den byly čipy promývány, barveny a skenovány zařízením iScan (Illumina, San Diego, CA, USA) a poté vyhodnoceny v programu Genome Studio.

SNAPSHOT GENOTYPOVÁNÍ

Ke stanovení potvrzených variant a odhad alelických frekvencí byla použita metoda extenze primeru (Hoogerdoorn et al. 1999) konkrétně komerční verze SNaPshot® (Life Technologies, Thermo Fisher Scientific, USA). Byly navrženy nové extenční primery, které hybridizovaly přesně k analyzovaným mutacím. Genotypizace variant byla provedena na 67 vzorcích DNA býků. Metoda SNaPshot a čištění amplifikačních produktů byly provedeny dle upraveného protokolu. Fragmentační analýza proběhla na kapilárním sekvenátoru ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems; Foster City, CA, USA). Výsledky byly analyzovány programem Peak Scanner (Thermo Fisher, USA).

Výsledky a diskuse

Analýza NGS odhalila přítomnost 17 bodových mutací v genu *IRAK1*, přičemž čtyři z nich byly vyhodnoceny jako exonové mutace. Verifikací s databází EBI bylo identifikováno pět již známých SNP (rs13438186,

rs20917093, rs11053380, rs21071095, rs21137936). Pouze jedna z mutací nacházejících se na pozici 40 132 145 v exonu 9 byla vyhodnocena jako nesynonymní a dle programu VEP vede ke záměně aminokyselin Valin252Alanin. Ostatní mutace v kódujících sekvencích byly vyhodnoceny jako synonymní.

Pro gen *IRAK4* bylo nalezeno 12 bodových variant a tři delece. Po vyhodnocení programem VEP byly čtyři mutace označeny jako exonové, ale nacházející se v 3' UTR oblasti. Při porovnání s databází EBI byl jeden SNP v 3' UTR oblasti identifikován jako již popsáný polymorfismus rs379546685. V intronech genu *IRAK4* byly dále identifikovány polymorfismy rs382209396, rs385218628, rs209992951, rs132981883, rs385762758 a delece rs380202447. Kódující sekvence genu *MAL* obsahovala dva SNP, které byly v databázi EBI identifikovány jako rs378642920 a rs43652348. Bodové mutace rs378642920 nacházející se na chromosomu 11 na pozici 1 846 145 se dle referenční sekvence a databázových údajů nachází v intronové oblasti. Polymorfismus rs43652348 ležící na chromosomu 11 na pozici 1 846 435 se nachází v 3' UTR oblasti. Funkční efekt obou mutací je odhadován jako zanedbatelný.

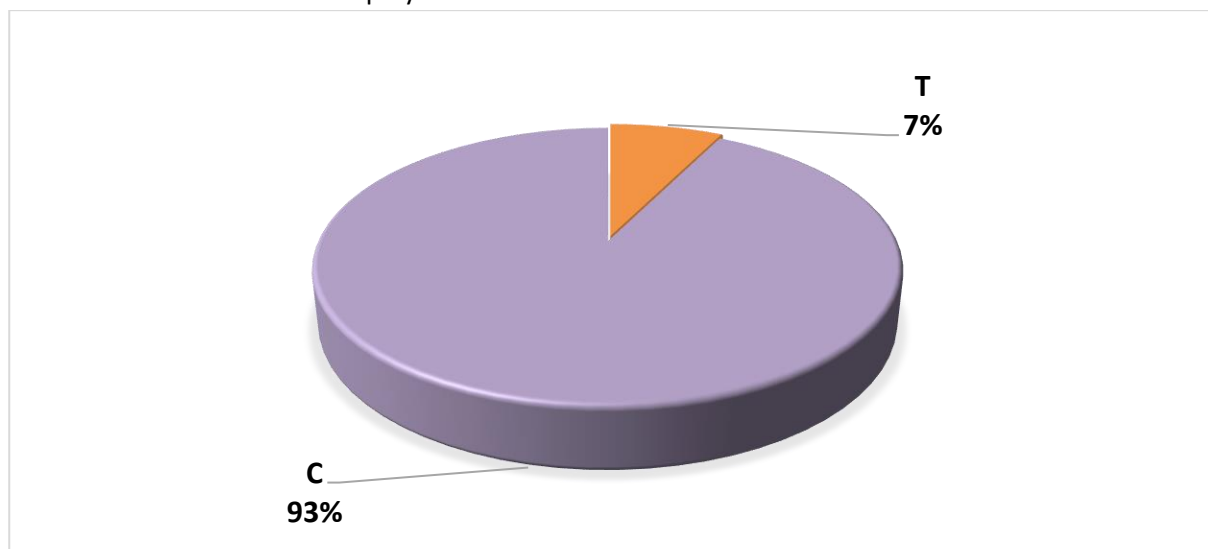
Sangerovo sekvenování zbývajících regionů neodhalilo další mutace nacházející se v kódující oblasti genu *IRAK1*. Byly nalezeny dva jednonukleotidové polymorfismy rs210710958 a rs48726521, u kterých byly stanoveny následující alelické frekvence (Tabulka 1) u 167 býků.

Tabulka 1 Alelická frekvence polymorfismů rs210710958 a rs48726521 v genu *IRAK1*

Označení polymorfismu	Referenční alela/frekvence	Mutovaná alela/Frekvence
rs210710958	C 87 %	G 13 %
rs48726521	C 92 %	G 8 %

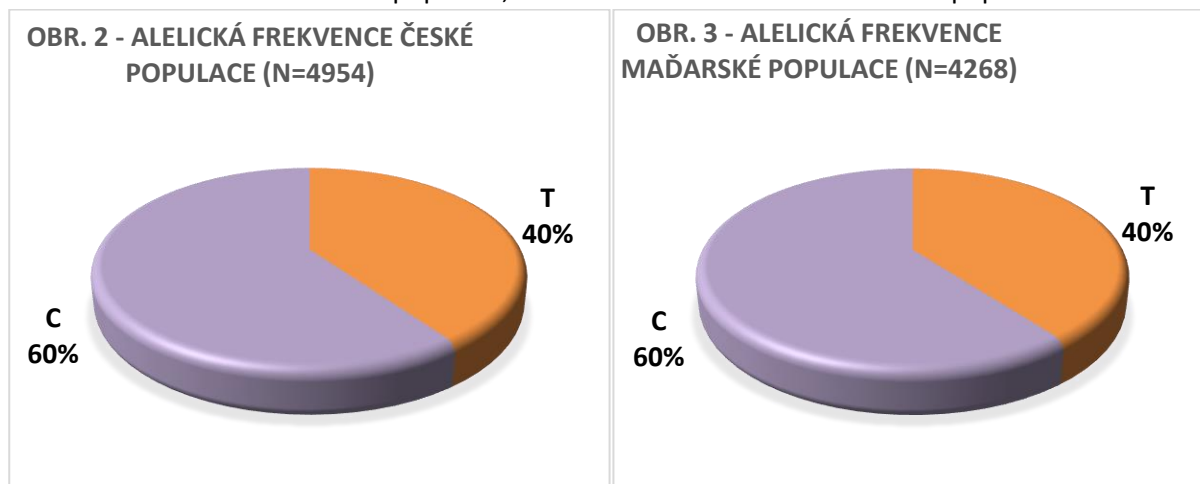
Data získaná z analýzy DNA čipů poskytla informace o alelických frekvencích polymorfismu rs110533802, který se nachází v intronu genu *IRAK1*. Mutovaná alela T byla nalezena u 74 dojnic s frekvencí 7 % (Obr. 1).

Obrázek 1. Alelická frekvence polymorfismu rs110533802



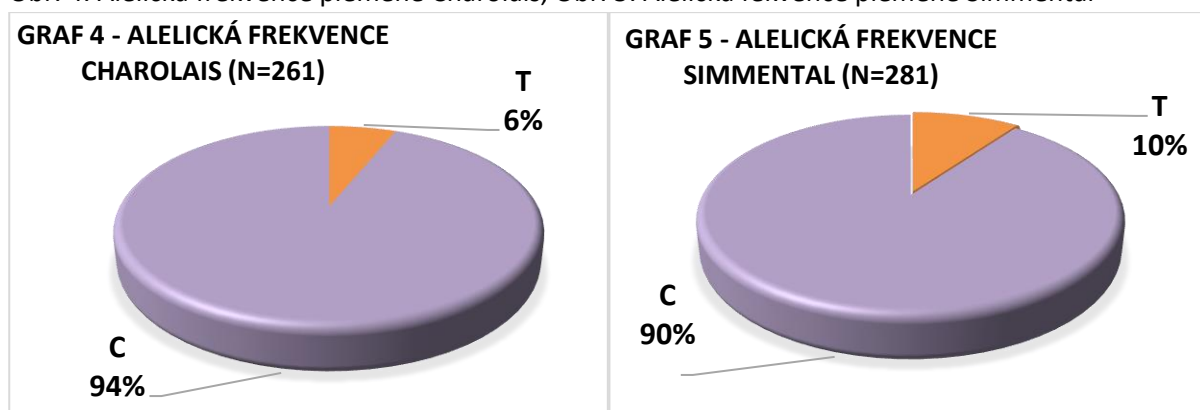
Na základě údajů, poskytnutých ČMSCH, bylo umožněno porovnání české a maďarské populace holštýnského skotu. U obou populací byla stanovena stejná frekvence mutované alely T 40 % (Obrázek 2, 3).

Obr. 2. Alelická frekvence české populace, Obr. 3. Alelická frekvence maďarské populace

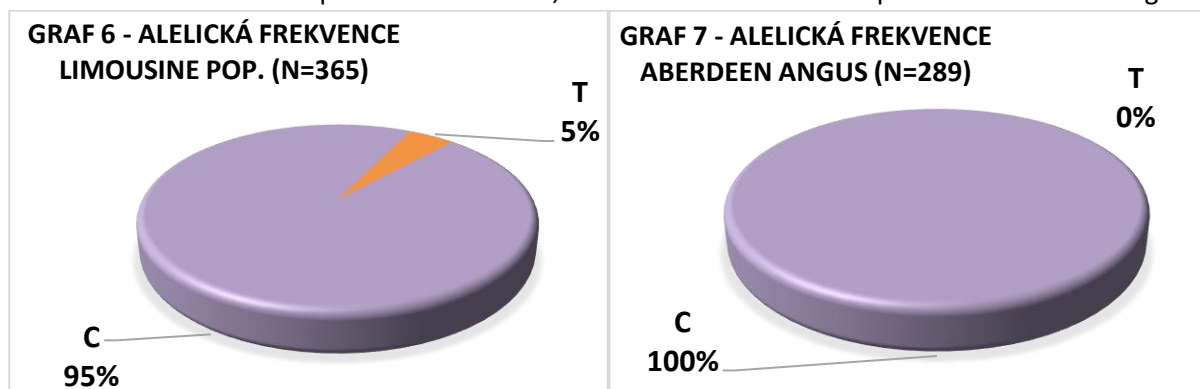


Alelické frekvence polymorfismu rs110533802 *IRAK1* byly rovněž na základě získaných dat od ČMSCH studovány u masných plemen skotu. Plemena Limousine (365 zvířat), Charolais (261 zvířat), Simmental (281 zvířat), Aberdeen Angus (289 zvířat) vykazovala nižší alelické frekvence mezi (0 – 10 %) (Obr. 4 – Obr 7). U plemena Aberdeen Angus nebyla mutovaná alela T přítomna.

Obr. 4. Alelická frekvence plemene Charolais, Obr. 5. Alelická frekvence plemene Simmental



Obr. 6. Alelická frekvence plemene Limousine, Obr. 7. Alelická frekvence plemene Aberdeen Angus



Metodou SNaPshot byla stanovena alelická frekvence u 67 zvířat v genech *IRAK1* a *IRAK4*. U delece rs380202447 v genu *IRAK4* byla deletovaná alela nalezena s četností 10 %. Polymorfismus rs211379365 byl nalezen s alelickou frekvencí mutované alely A 4 %. Metoda také odhalila nově vzniklý synonymní polymorfismus A/G v genu *IRAK1* na pozici 40 132 466.

V průběhu studie vzniklo a bylo optimalizováno velké množství metod, které mohou být využity ke studiu variability genů vrozené i získané imunity u ostatních plemen skotu. Mutace, které byly objeveny pouze pomocí metody NGS a zatím nebyly potvrzeny jinou molekulárně genetickou metodou je nutné brát jako potenciální. Vzhledem k faktu, že studium těchto genů signální dráhy je ve vědecké literatuře ojedinělé, není možné porovnat výsledky s jinými studiemi. Výsledky je možné porovnat se studiemi týkajícími se genů imunitních receptorů např. se studií Bilgen et al. (2016), která popisuje variabilitu v genech Toll-like receptorů. U deseti holštýnských dojnic bylo pro gen *TLR2* nalezeno 45 variant, pro gen *TLR6* 155 variant a pro gen *TLR4* 74 variant. Diverzita v signálních dráhách se oproti genům Toll-like receptorů proto jeví jako velmi omezená. I když lze brát v úvahu, že signální bílkoviny se nemusí přímo přizpůsobovat variabilitě mikrobiálních antigenů jako receptory, pro velký rozdíl v diverzitě u těchto dvou skupin genů zatím není zřejmé vysvětlení.

Velký důraz byl kladen na potvrzení jediné nesynonymní mutace G/A na pozici 40 132 145 v genu *IRAK1*, jelikož mutace v kódujících oblastech signálních molekul TLR receptorů mohou mít vliv na obranyschopnost organismu. Např. Capparelli et al. (2013) uvádí asociaci mezi genotypem AC v bodové mutaci A625C v genu *MYD88* a až 5násobně sníženým rizikem pulmonální tuberkulózy. Nová nesynonymní mutace v genu *IRAK1* zatím nebyla potvrzena přímým genotypováním.

Zajímavé výsledky přineslo porovnání variability v polymorfismu rs110533802 pomocí metody DNA mikročipů. Obě holštýnské populace vykazovaly četnost mutované alely 40 %, což by mohlo být způsobeno podobnými šlechtitelskými postupy a potenciálním vztahem mutace k funkčním znakům dojeného skotu. Protože signální molekuly Toll-like receptorů hrají roli nejen v oblasti vrozené imunity skotu, jak uvádí studie (Capparelli et al. 2013), ale také v neimunitních procesech. Výsledky studie Eberlein et al. 2011 přinesly poznatky o funkční důležitosti genu *IRAK1* v mnoha tkáních (játra, kosterní svalstvo, mléčná žláza). Oproti tomu masná plemena skotu vykazovala významně nižší frekvence mutované alely (0–10 %). Naše studovaná populace českého strakatého skotu měla alelickou frekvenci (7 %) podobnou spíše masným plemenům. Může to být spojeno s tradiční selekcí na kombinovanou užitkovost u tohoto plemene (Svaz chovatelů českého strakatého skotu 2012. Šlechtitelský program českého strakatého skotu dostupné na: <https://www.cestr.cz/>).

Závěr

V rámci studie byla odhadnuta variabilita genů *IRAK1*, *IRAK4* a *MAL* zapojených do mechanismů vrozené a získané imunity. Byly optimalizovány metody určené ke studiu těchto genů pro další populace a plemena skotu. Nízká diverzita značně kontrastuje s vysokou diverzitou uvedenou v databázi European Variation Archive (EBI). Výsledky studie je však třeba interpretovat obezřetně i s ohledem na omezený počet analyzovaných zvířat ČESTR. Jejich platnost v populaci by měla být ověřena i na rozsáhlejší souboru z různých stád. Přesto mohou být nalezené SNP využitelné pro navazující asociační studie, pakliže jsou v absolutní genové vazbě s jinou mutací s výraznějším efektem. Především význam mutace rs110533802 pro infekční rezistenci může být potvrzen asociační studií, jelikož naše studie přinesla poznatky o její vyšší variabilitě u dojných plemen.

Použitá literatura

- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. (2006): Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124, 783–801. DOI: 10.1007/s00109-006-0084-y
- Bilgen N., Kul CK., Offord V., Werling D., Ertugrul O. (2016): Determination of Genetic Variations of Toll-like receptor (TLR) 2, 4, and 6 with Next-Generation Sequencing in Native Cattle Breeds of Anatolia and Holstein Friesian. *Diversity*, 8. DOI: 10.3390/d8040023
- Capparelli R., De Chiara F., Nocerino N., Medaglia Ch., Di Constanzo R., Ramunno L., Capuano F., Casalnuovo F., Di Matteo A., Iannella D. (2013): Heterozygosity at the A625C Polymorphic Site of the MyD88 gene Is Associated with Mycobacterium bovis Infection in Cattle. *Infection and immunity*, 81, 2139–2144. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.01398-12>

- Delves PJ. and Roitt IM. (2000): The Immune system: Advances in Immunology. New England Journal of Medicine, 343, 37-49. DOI: 10.1056/NEJM200007133430207
- Eberlein A., Kalbe C., Goldammer T., Brunner RM., Kuehn C., Weikard R. (2011): Annotation of novel transcripts putatively relevant for bovine fat Metabolism. Molecular Biology Reports, 38, 2975–2986. DOI: 10.1007/s11033-010-9962-z
- Goldammer T., Zerbe H., Molennar A., Schuberth J., Brunner RM., Kata SR., Seyfert HM. (2004): Mastitis increases mammary mRNA abundance of A-Defensin 5, Toll-Like-Receptor 2 (TLR2) and TLR4 but not TLR9 in cattle. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunol, 11, 174-185. DOI: 10.1128/CDLI.11.1.174-185.2004
- Hacker H., Redecke V., Blagoev B., Kratchmarova I., Hsu LC., Wang GG., Kamps MP., Raz E., Wagner H., Hacker G., Mann M., Karin M. (2005): Specificity in Toll-like receptor signalling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6. Nature, 439, 204–207. DOI: 10.1038/nature04369
- Hoogendoorn B., Owen MJ., Oefner PJ., Williams N., Austin J., O'Donovan MC. (1999): Genotyping single nucleotide polymorphisms by primer extension and high performance liquid chromatography. Human Genetics, 104, 89–93. DOI: 10.1007/s004390050915.
- Kawai T & Akira S. (2007): TLR signaling. Seminars in immunology, 19, 24–32. DOI: 10.1016/j.smim.2006.12.004
- Parker DC. (1993): T cell-dependent B cell activation. Annual Review of Immunology, 11, 331-360. DOI: 10.1146/annurev.iy.11.040193.001555
- Sharma BS., Leyva I., Schenkel F., Karrow NA. (2006): Association of Toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation persistency in Holstein bulls. Journal of Dairy Science, 89, 3626–3635. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72402-X
- Zacchetti D., Peranen J., Murata M., Fiedler K., Simons K. (1995): VIP17/MAL, a proteolipid in apical transport vesicles. FEBS Letters, 377, 465–469. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)01396-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)01396-2)

Genomické plemenné hodnoty pro klinickou mastitidu u holštýnského skotu, zdvojené genotypy v genomické referenční populaci

Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Anita Klímová

Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, projekt NAZV QK1810253 a institucionální podpora MZE-RO0718.

Abstrakt

Článek se zabývá vyhodnocením genomického odhadu plemenných hodnot pro klinickou mastitidu u holštýnského skotu, kdy se zaměřujeme na vliv jedinců s pravděpodobně stejnými genomickými hodnotami. Počet krav pro odhad plemenných hodnot pro klinickou mastitidu byl 86 591. Laktační incidence byla u klinické mastitidy 19,14 %. K vyhodnocení byl použit jednoznakový lineární animal model s opakovatelností s pevnými efekty stáda, roku a období otelení, pořadí laktace v kombinaci se třídou věku při otelení. Pro odhad genomických plemenných hodnot byla použita jednokroková metoda genomického odhadu. Referenční populace byla v rozsahu 37 740 jedinců, býků 5 422, krav a jalovic 32 318. Konečný počet SNP byl 35 295. Počet efektivních jedinců 37 015. Mezi genomickými zvířaty bylo 115 zvířat, u nichž byla nalezena vysoká shoda genotypu s jiným jedincem. Jednalo se o 107 krav (narozených 2015 až 2021) a 8 býků (narozených 1990 až 2010). Dvojčata, samice, byla potvrzena u 27 párů, jednou se vyskytla trojčata. Byly provedeny tři výpočty, kdy byla z genomické matice odstraněna všechna zvířata s duplikovaným genotypem, případně ponechána jen ověřená dvojčata. Vliv na genomické plemenné hodnoty případně na jejich spolehlivost se nám nepodařilo prokázat. V použité referenční populaci jsme identifikovali jedince se sporným genotypem, které navrhuje odstranit, protože jsou zjevně chybné. Stejně tak jsme ukázali, že jeden z býků byl zapsán dvakrát, vždy pod jiným jménem.

Klíčová slova skot; genomická plemenná hodnota; klinická mastitida; genomická referenční populace

Abstract

The objective of paper was genomic evaluation for health traits in Holstein cattle. The breeding values and their reliability for clinical mastitis were predicted by single-trait linear animal model with repeatability. The number of cows in dataset was 86,591. The lactation incidence for clinical mastitis was 19.14%. Single-step genomic evaluation method was used to estimate genomic breeding values. The reference population ranged from 37 740 individuals, bulls 5 422, cows and heifers 32 318. The final number of SNPs was 35,295. Number of effective individuals 37,015. Among the genomic animals, 115 animals were suspected to have the same genotype as another individual. These were 107 cows (born 2015 to 2021) and 8 bulls (born 1990 to 2010). These animals were removed from the genomic matrix and the calculation was repeated. The effects on self-estimation were subsequently assessed. We have not been able to prove the impact on genomic breeding values or their reliability. In the reference population used, we identified individuals with a questionable genotype that we propose to remove because they are erroneous. Likewise, we have shown that one of the bulls has been registered twice, under two different names.

Keywords: dairy cattle; genomic breeding value; clinical mastitis; genomic relationship matrix

Úvod

Předkládaný příspěvek se věnuje vyhodnocení duplikovaných genotypů zařazených do genomické matice použité při výpočtu genomických plemenných hodnot. Ke zdvojení genotypů dochází např. chybnou identifikací vzorků DNA. Zdvojené genotypy vykazují, oprávněně, i dvojčata. Nalezené zdvojené genotypy při kontrole kvality genomických dat softwaru používanými k odhadu genomických plemenných hodnot mohou ale vnášet do rodokmenu chyby. Plemenné hodnoty představují odhad genetického založení jedince pro určitou vlastnost a jsou stanovovány na základě fenotypu a původu jedince, rodokmenu. Podle Lynche a Walshe (1998) jsou statistické metody jako je BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) založeny na podobnosti mezi příbuznými. Tato podobnost je daná genetickou složkou a je odvoditelná z rodokmenu (Mrode, 2005). Z toho plyne, že přesnost odhadu plemenných hodnot závisí na přesnosti rodokmenu. V literatuře se uvádí, že chyby v rodokmenu hospodářských zvířat se běžně vyskytují v rozsahu okolo 10 % (Banos et al., 2001; Visscher et al., 2002). To vede ke snížení přesnosti BLUP odhadů plemenných hodnot (Banos et al., 2001; Sanders et al., 2006) a následně k nižšímu selekčnímu pokroku, o 4.3 až 17 % jak zjistily např. Geldermann et al. (1986) nebo Israel and Weller (2000). Pro korekce rodokmenových chyb se používají molekulární markery (Bennewitz et al., 2002; Wiggans et al., 2010; Simeone et al., 2011). Na základě genomického vyhodnocení se stanoví přesný podíl genomu, který sdílí příbuzní jedinci (Powell et al., 2010). Yang et al. (2010) a Simeone et al. (2011) upozorňují na to, že provedená korekce rodokmenu zlepší vlastní odhad plemenných hodnot a zvýší selekční zisk. Při genomickém odhadu jako je jednokroková metoda (Aguilar et al. 2010), kterou využívá programový balík BLUPF90 (Misztal et al. 2020) se provádí kontrola kvality, která odhalí jedince s potenciálně stejnými genotypy. U těchto zvířat je pak potřeba provést kontrolu, zda nedošlo k záměně DNA či SNP vzorku, případně zda nedošlo k chybě v rodokmenu.

Cílem analýzy bylo vyhodnotit, zda jedinci s pravděpodobně stejnými genomickými hodnotami v genomické matici použité v odhadu plemenných hodnot pro výskyt klinické mastitidy u holštýnského skotu v ČR roku 2022 jsou zde oprávněně nebo se jedná o chyby při přiřazení genotypu a případně, zda se toto projevuje na hodnotách odhadu genomických plemenných hodnot.

Materiál a metodika

Plemenné hodnoty a jejich spolehlivosti byly odhadnuty pro klinickou mastitidu (CM). Byl použit jednoznačkový animal model s opakovatelností a jednokroková metoda genomického odhadu. Pro vlastní výpočet posloužil programový balík BLUPF90 (Misztal et al. 2020). Datový soubor byl vytvořen z údajů zadaných do Deníku nemocí a léčení.

METODA ODHADU A MODELOVÁ ROVNICE

Pro odhad genetických parametrů a plemenných hodnot (PH) pro klinickou mastitidu byl použit lineární animal model s opakovatelností:

$y_{ijklm} = \mu + PLve_{ki} + ST_j + RxM_k + pe_l + a_m + e_{ijklm} y_{ijklm}$ – klinická mastitida vyjádřená jako výskyt za laktaci ano/ne. Laktace je definována jako normovaná laktace v délce 240–305 dnů. Zasažená čtvrt nebyla brána do úvahy.

μ - průměr; $PLve_{ki}$ - pořadí laktace v kombinaci s věkem při otelení (5 hladin x 3 hladiny); ST_j – pevný efekt stáda (114 stád); RxM_k – pevný efekt roku a měsíce otelení (rok otelení 2017 až 2021); pe_l je náhodný efekt trvalého období jedince, odpovídající více laktacím krávy l (počet hladin viz Tab.1); a_m – náhodný aditivní efekt jedince spojený s rodokmenem (počet hladin viz Tab.1); e_{ijklm} je náhodný reziduální efekt.

GENOMICKÝ ODHAD

Genomické plemenné hodnoty byly odhadnuty jednokrokovou metodou (Aguilar et al. 2010) při využití fenotypové hodnot nejen genotypovaných, ale veškerých sledovaných jedinců se zahrnutím rodokmenu do 3 generace. Použitá genomická matice G zahrnovala 37 740 jedinců. Ke genomické příbuzenské matici G byla přičten podíl rodokmenové příbuzenské matice A podle rovnice $GA22 = 0,950 G + 0,050 A22$. Byly provedeny

tři odhady lišící se složením genomické referenční populace. První odhad byl proveden se všemi genotypovanými jedinci, druhý po vyřazení jedinců s identickými genotypy, třetí po vyřazení jedinců s podezřením na záměnu genotypu, ale s ponecháním vícečet. Počty použitých dat jsou v Tab. 1., popis genomické referenční populace v Tab.2., podrobnější popis duplikovaných jedinců v Tab. 3.

Výsledky a diskuze

Použitá genomická matice G (Tab. 2) zahrnovala 37 740 jedinců. Počet genomických býků byl 5 422, genomických samic 32 318. Počet SNP byl 54 609. Alelické frekvence byly v průměru 0,539; maximum 1; minimum 0 s variancí 0,107. Kontrola kvality vedla k odstranění 14 766 SNP s callrate pod 0,90; a také 13 338 SNP s MAF nižší 0,05. Odstraněných monomorfních SNP bylo 3 623. Počet odstraněných zvířat s call rate pod 0,90 byl 347. Alelické frekvence po kontrole kvality byly v průměru 0,525; maximum 0,950; minimum 0,050 s variancí 0,064. Korelace mimodiagonálních prvků GA_{22} byla v rozmezí 0,545-0,546 podle výpočtu. Počet párů jedinec otec 29 187; jedinec matka 7 045; trojic jedinec otec matka 5 910. Konečný počet efektivních SNP byl 35 295. Počet efektivních jedinců 37 015.

Mezi genomickými zvířaty bylo 115 zvířat, u nichž byla nalezena vysoká shoda genotypu s jiným jedincem (Tab.3.). Jednalo se o 107 krav (narozených 2015 až 2021) a 8 býků (narozených 1990 až 2010). Dvojčata, samice, byla potvrzena u 27 párů, jednou se vyskytla trojčata. U jednoho býka pravděpodobně došlo k dvojí registraci. Ostatní zvířata měla odlišné údaje jako je otec, matka nebo obojí, dále rozdílný datum narození a u býků rozdílná registrace. Tato zvířata byla odstraněna z genomické matice ve výpočtu 2 a 3.

Pokud porovnáme vstupy a výsledky podle výpočtů Tab. 1 a 2, tak při odstranění zvířat z genomické referenční populace se rodokmen výrazně nezkrátil. Protože šlo především o jalovice a krávy snížil se počet krav s užitkovostí, u kterých jsou sledovány zdravotní poruchy v tomto případě zastupující fenotyp.

V genomické matici se také změny týkaly především snížení počtu zvířat, zatímco ukazatele kvality týkající se SNP se neměnily Tab. 4. Zatímco počet efektivních SNP se nesnížil úměrně velikosti referenční populace se snížil počet efektivních jedinců. Nedošlo ani ke změně korelace mimodiagonálních prvků genomické (G) a rodokmenové (A) příbuzenské matice (GA_{22}). Tato korelace je poměrně nízká. Překračuje o něco málo hraniční hodnotu 0,5. Takováto hodnota ukazuje na nižší shodu mezi genomickou a rodokmenovou příbuzností (Masuda, 2019; Misztal et al. 2020), která může být způsobena chybným rodokmenem genomických zvířat.

Porovnáním průměrných plemenných hodnot z výpočtů 1, 2 a 3, jak jsou uvedeny v Tab. 4 jsme zjistili, že nedošlo k významné změně průměrných hodnot. Uvedeni jsou jen genotypovaní jedinci. Změny v průměrech se mohli vzniknout úbytkem počtu jedinců v referenční matici po odstranění duplikovaných genotypů. Vyšší podobnost je mezi 1. a 3. výpočtem, které se liší méně než 1. a 2., protože bylo ve výpočtu 3 bylo odstraněno méně jedinců. Porovnáme-li průměry dvojčat výpočty 1. a 3. jsou shodné. Rozdíl je mezi výpočtem 1 a 2, kde ve výpočtu 2 figurovaly dvojčata pouze na základě rodokmenu a nebyla zařazena do genomické matice. Podstatně se liší průměr plemenných hodnot a došlo k podstatnému poklesu spolehlivosti. Při vlastním výpočtu nebyly pozorovány rozdíly v rychlosti či konvergenci, avšak rozsah výpočtu je nízký a nemá velké nároky na výpočetní techniku. Proto jsou rozdíly v konvergenci, i kdyby se vyskytly, těžce stanovitelné.

Odhad genomických plemenných hodnot pro zvířata se stejným genotypem byl pro oba jedince z páru téměř stejný, stejně tak i spolehlivost, a to uvnitř výpočtu, tak mezi výpočty. Odlišnosti jsou mezi odhady, které se liší tím, že jedinec byl zahrnut či nebyl zahrnut do genomické matice. V tom případě je velmi nižší i spolehlivost odhadu.

Při tvorbě genomické příbuzenské matice je důležité provést kontrolu kvality údajů a následně se zaměřit na výsledky této kontroly. V případě nalezených možných duplikátů je v zájmu přesnosti odhadu provést kontrolu rodokmenových údajů, ověřit možnost dvojčat apod. (McClure et al., 2018). Podle výsledků této

kontroly z vyřadit ty jedince, u nichž mohlo dojít k záměně genotypových hodnot a podobně. Předešlo by se tak následnému hromadění chyb v příbuzenské referenční populaci a zlepšil by se kvalita odhadu genomických plemenných hodnot pro všechny vlastnosti využívající genomický odhad.

Závěr

Na základě uvedeného rozboru bylo zjištěno, že v genomické matici se nalézají mezi zvířaty s možným duplikovaným genotypem více páru dvojčat a trojčat. Tito jedinci mají stejný odhad genomické plemenné hodnoty, ale jak se postupně rozcházejí jejich životní osudy mohou se rozejít při stejném genotypu ale různém fenotypu i tyto odhady. Jejich zařazení do genomické matice při vlastním odhadu je ospravedlnitelné. Avšak u některých jedinců nelze dokázat shodu na základě sourozenectví. Vycházíme tedy z možné záměny vzorku DNA, chyby v rodokmenu a dalších možných chyb při označení genotypu. U býků je možná i dvojitá registrace. Tyto zjevné chyby by bylo potřeba opravit, i když nebylo zřejmé, že jejich vyřazení vedlo ke zlepšení výsledků odhadu jak v matici, tak ve zvýšení spolehlivosti plemenných hodnot. Aby nedocházelo k dlouhodobému hromadění chybných údajů v genomické matici navrhujeme, aby byl vytvořen kontrolní postup, který by tato zvířata zpracoval, opravil či vyřadil. Při současném zvyšování jedinců v referenčním genomickém souboru je třeba dbát i na to, aby se v něm nehromadily chyby. Větší množství chyb by bylo základem pro málo spolehlivý a málo účinný odhad genomických plemenných hodnot, což by se projevilo ve zbrzdění selekčního pokroku.

Seznam literatury

- Banos, G., G.R.Wiggans, and R.L.Powell. 2001. Impact of paternity errors in cow identification on genetic evaluations and international comparisons. *J. Dairy Sci.*84:2523–2529. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74703-0
- Bennewitz, J., N.Reinsch, and E.Kalm. 2002. Gencheck: A program for consistency checking and derivation of genotypes at co-dominant and dominant loci. *J. Anim. Breed. Genet.*119:350–360. doi:10.1046/j.1439-0388.2002.00357.
- Geldermann, H., U.Pieper, and W.Weber. 1986. Effect of mis-identification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. *J. Dairy Sci.*63:1759–1768.
- Munoz, P.R., Resende, M.F.R., Huber, D.A., Quesada, T., Resende, M.D.V., Neale, D.B., Wegrzyn, J.L., Kirst, M., Peter, G.F., 2014. Genomic Relationship Matrix for Correcting Pedigree Errors in Breeding Populations: Impact on Genetic Parameters and Genomic Selection Accuracy. *Crop Science* 54, 1115–1123.. doi:10.2135/cropsci2012.12.0673
- Israel, C., and J.I.Weller. 2000. Effect of misidentification on genetic gain and estimation of breeding value in dairy cattle populations. *J. Dairy Sci.*83:181–187. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74869-7
- Lynch, M., and B.Walsh. 1998. *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Masuda, Y. 2019. Practical genomic analysis: https://masuday.github.io/blupf90_tutorial/genomic_qc.html
- McClure MC, McCarthy J, Flynn P, McClure JC, Dair E, O'Connell DK and Kearney JF (2018) SNP Data Quality Control in a National Beef and Dairy Cattle System and Highly Accurate SNP Based Parentage Verification and Identification. *Front. Genet.* 9:84. doi: 10.3389/fgene.2018.00084
- Mrode, R.A. 2005. *Linear models for the prediction of animal breeding values*. 2nd ed. CABI Publishing Company, Cambridge, UK
- Sanders, K., J.Bennewitz, and E.Kalm. 2006. Wrong and missing sire information affects genetic gain in the Angeln dairy cattle population. *J. Dairy Sci.*89:7 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72096-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72096-3)

- Simeone, R., I.Misztal, I.Aguilar, and A.Legarra. 2011. Evaluation of the utility of diagonal elements of the genomic relationship matrix as a diagnostic tool to detect mislabelled genotyped animals in a broiler chicken population. *J. Anim. Breed. Genet.*128:386–393. doi:10.1111/j.1439- 0388.2011.0 0926.x
- Visscher, P. M., J.A.Woolliams, D.Smith, and J.L.Williams. 2002. Estimation of pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the impact on selection. *J. Dairy Sci.*85:2368–2375. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74317-8
- Wiggans, G.R., P. M. Van Raden, L.R.Bacheller, M.E.Tooker, J.L.Hutchison, T.A. Cooper, and T.S. Sonstegard. 2010. Selection and management of DNA markers for use in genomic evaluation. *J. Dairy Sci.*93:2287–2292. doi:10.3168/jds.2009-2773
- McClure MC, McCarthy J, Flynn P, McClure JC, Dair E, O’Connell DK and Kearney JF (2018) SNP Data Quality Control in a National Beef and Dairy Cattle System and Highly Accurate SNP Based Parentage Verification and Identification. *Front. Genet.* 9:84. doi: 10.3389/fgene.2018.00084

Tab. 1 Počty záznamů použitých ve výpočtech

Výpočet	Popis	Počet krav	Počet laktací	Počet stád	Rodokmen	Počet genomických jedinců
1	Bez omezení	86 591	148 322	114	221 761	37 740
2	Vyřazení všech zvířat s identickým genotypem	86 591	148 322	114	221 677	37 625
3	Vyřazení zvířat s podezřením na záměnu genotypu	86 591	148 322	114	221 719	37 684

Tab. 2 Popis referenční populace

Výpočet	Celkový počet	Počet býků	Počet krav a jalovic	Počet býků narozených 2019 až 2021	Počet krav a jalovic narozených 2019 až 2021	Počet genomických krav s užitkovostí	Počet genomických býků s dcerami se sledováním zdraví/s klinickou mastitidou
1	37 740	5 422	32 318	603	24 584	9 730	232/106
2	37 625	5 414	32 211	603	24 514	9 692	232/106
3	37 684	5 416	32 268	603	24 549	9 712	232/106

Tab. 3 Popis duplikovaných zvířat

Celkový počet	Počet párů + jeden triplet	Počet krav a jalovic / počet býků	Páry s různými rodiči	Páry s různou matkou	Páry se shodnými rodiči, včetně tripletu	Páry se shodným datem narození
115	56 + 1	107/8	4	19	36	31

Tab. 4 Popis genomické matice ze tří výpočtů

Parametr	Výpočet 1 – Bez omezení	Výpočet 2 – Vyřazení všech zvířat s identickým genotypem	Výpočet 3 – Vyřazení zvířat s podezřením na záměnu genotypu
Počet genotypovaných zvířat	37 740	37 625	37 684
Počet SNP	54 609	54 609	54 609
SNP s Call Rate < 0.90	14 766	14 766	14 766
SNP s MAF < 0.05	13 338	13 341	13 339
Monomorfnní SNP, odstraněny	3 624	3 624	3 624
Počet jedinců s < 0.90, odstranění	347	347	347
Počet možných zdvojených genotypů	59 dvojic	0 dvojic	30 dvojic + 1 trojice
Počet SNP s mendelovským rozporem	0	0	0
Počet rodič-potomek s mendelovským rozporem	432	428	429
Počet efektivních SNP po kontrole kvality	35 295	35 293	35 295
Počet efektivních jedinců po kontrole kvality	37 015	36 903	36 962
Korelace mimodiagonálních prvků G & A	0.545	0.546	0.546
Počet genotypů $G^{ii} < A^{22}{}^{ii}$	44	43	43

G – genomická příbuzenská matice

A – rodokmenová příbuzenská matice

Tab. 5 Genomické plemenné hodnoty a jejich spolehlivosti

Výpočet		Počet	Genomické plemenné hodnoty; průměr ± SD	Spolehlivosti; průměr ± SD
1	Všechni genomičtí jedinci	37 740	0.0109 ± 0.0573	0.27 ± 0.08
2		37 625	0.0107 ± 0.0572	0.28 ± 0.08
3		37 684	0.0111 ± 0.0573	0.28 ± 0.08
1	Býci narození 2019 až 2021	603	0.0020 ± 0.0542	0.23 ± 0.05
2		603	0.0018 ± 0.0543	0.23 ± 0.05
3		603	0.0021 ± 0.0542	0.23 ± 0.05
1	Krávy a jalovice narozené 2019 až 2021	24 584	0.0127 ± 0.0573	0.28 ± 0.05
2		24 514	0.0125 ± 0.0572	0.28 ± 0.05
3		24 549	0.0129 ± 0.0572	0.28 ± 0.05
1	Dvojčata, ověřená	62	0.0031 ± 0.0634	0.28 ± 0.05
2		0		
3		62	0.0032 ± 0.0632	0.28 ± 0.05
1	Dvojčata, ve výpočtu 2 nezařazená do genomické matice	44	0.0099 ± 0.0496	0.30 ± 0.10
2		44	0.0190 ± 0.0369	0.18 ± 0.12

Tab. 6 Výpis zdvojených jedinců v genomické matici, jejich genomických plemenných hodnot a spolehlivostí z různých výpočtů

pohlaví	Pár	Ověřená dvojčata = 1	1.	2.	3.	1.	2.	3.
			Genomické plemenné hodnoty			Spolehlivosti genomických plemenných hodnot		
M	1	1	-0,0126		-0,0130	0,12		0,12
M	1	1	-0,0106		-0,0110	0,12		0,12
M	2	0	-0,0177	-0,0220	-0,0218	0,09	0,06	0,06
M	2	0	-0,0178			0,17		,
M	3	0	-0,0076	0,0048	0,0044	0,21	0,12	0,13
M	3	0	-0,0068			0,22		,
M	4	0	0,0272	0,0459	0,0464	0,81	0,79	0,79
M	4	0	0,0282	0,0316	0,0306	0,52	0,43	0,43
F	5	1	-0,0103	0,0277	-0,0103	0,35	0,19	0,35
F	5	1	-0,0096		-0,0096	0,34		0,34
F	6	1	-0,0142	0,0626	-0,0136	0,29	0,14	0,29
F	6	1	-0,0127	0,0543	-0,0121	0,29	0,14	0,29
F	7	0	-0,0126	-0,0514	-0,0510	0,29	0,12	0,12
F	7	0	-0,0128	-0,0076	-0,0081	0,29	0,09	0,09
F	8	1	0,0412	0,0247	0,0407	0,37	0,25	0,37
F	8	1	0,0458		0,0451	0,38		0,38
F	9	0	-0,0418	0,0317	0,0301	0,21	0,12	0,12
F	9	0	-0,0425	-0,0279	-0,0271	0,20	0,11	0,11
F	10	0	-0,0398	-0,0053	-0,0045	0,28	0,14	0,14
F	10	0	-0,0409			0,28		
F	11	0	0,0310	0,0639	0,0648	0,28	0,13	0,13
F	11	0	0,0305	0,0347	0,0356	0,26	0,09	0,09
F	12	0	-0,0341	-0,0036	-0,0038	0,28	0,21	0,21
F	12	0	-0,0359			0,28		
F	13	0	0,0050	0,0121	0,0126	0,33	0,20	0,20
F	13	0	0,0052	0,0048	0,0050	0,32	0,19	0,19
F	14	0	0,0381	-0,0075	-0,0071	0,29	0,14	0,14
F	14	0	0,0384	0,0309	0,0319	0,26	0,11	0,11
F	15	1	0,0052		0,0050	0,28		0,28
F	15	1	0,0053		0,0050	0,28		0,28
F	16	0	0,0478			0,34		
F	16	0	0,0475			0,35		
F	17	0	-0,0052			0,38		
F	17	0	-0,0054			0,37		
F	18	0	-0,0260			0,23		
F	18	0	-0,0266			0,24		
F	19	0	0,0540			0,26		
F	19	0	0,0537			0,22		
F	20	0	-0,0711			0,27		
F	20	0	-0,0712			0,27		
F	21	0	-0,0397			0,25		
F	21	0	-0,0327			0,28		
F	22	1	0,0344	0,0364	0,0353	0,27	0,18	0,27
F	22	1	0,0326		0,0335	0,22		0,22
F	23	1	-0,0073		-0,0060	0,31		0,32
F	23	1	-0,0072		-0,0060	0,31		0,32
F	24	1	0,0161	0,0767	0,0171	0,29	0,14	0,29
F	24	1	0,0159		0,0169	0,29		0,29
F	25	0	-0,0150			0,31		
F	25	0	-0,0180			0,33		
F	26	0	0,0284	-0,0111	-0,0108	0,32	0,13	0,13

F	26	0	0,0302			0,31		
F	27	0	0,0840	0,0662	0,0673	0,33	0,23	0,23
F	27	0	0,0806	0,0745	0,0755	0,27	0,13	0,13
F	28	0	0,0032			0,20		
F	28	0	0,0025			0,22		
F	29	1	0,0660	0,0571	0,0666	0,34	0,24	0,34
F	29	1	0,0671	0,0628	0,0676	0,36	0,27	0,36
F	30	1	-0,0128	0,0008	-0,0131	0,24	0,14	0,25
F	30	1	-0,0127	0,0005	-0,0130	0,24	0,14	0,25
F	31	1	0,1743	0,0606	0,1723	0,22	0,10	0,22
F	31	1	0,1742		0,1722	0,22		0,22
F	32	1	-0,0127		-0,0130	0,28		0,28
F	32	1	-0,0132		-0,0135	0,28		0,28
F	33	0	-0,0364			0,28		
F	33	0	-0,0385			0,27		
F	34	1	-0,0070	-0,0350	-0,0076	0,30	0,16	0,30
F	34	1	-0,0070	-0,0145	-0,0076	0,30	0,16	0,30
F	35	0	0,0902			0,28		
F	35	0	0,0906			0,28		
F	36	1	0,0439		0,0452	0,26		0,26
F	36	1	0,0440		0,0453	0,26		0,26
F	37	1	0,0543	0,0990	0,0539	0,31	0,13	0,31
F	37	1	0,0547		0,0543	0,29		0,29
F	38	1	-0,0227		-0,0215	0,24		0,24
F	38	1	-0,0227		-0,0216	0,24		0,24
F	39	1	0,0070		0,0054	0,27		0,27
F	39	1	0,0073		0,0058	0,27		0,27
F	40	0	-0,0219	0,0125	0,0146	0,26	0,11	0,11
F	40	0	-0,0191			0,25		
F	41	1	-0,0132		-0,0123	0,38		0,38
F	41	1	-0,0125		-0,0115	0,38		0,38
F	42	1	-0,0381	-0,0116	-0,0378	0,31	0,25	0,31
F	42	1	-0,0386	-0,0272	-0,0383	0,30	0,23	0,30
F	43	1	0,0985	0,0496	0,0992	0,31	0,22	0,31
F	43	1	0,0987	0,0552	0,0994	0,31	0,22	0,31
F	44	1	-0,0170	-0,0394	-0,0179	0,26	0,11	0,26
F	44	1	-0,0167		-0,0176	0,26		0,26
F	45	1	-0,0877	0,0217	-0,0872	0,28	0,12	0,28
F	45	1	-0,0880		-0,0875	0,28		0,28
F	46	1	-0,0368	-0,0428	-0,0371	0,23	0,11	0,23
F	46	1	-0,0382		-0,0385	0,23		0,23
F	47	1	0,0425		0,0424	0,28		0,28
F	47	1	0,0398		0,0397	0,28		0,28
F	48	1	-0,0255		-0,0255	0,24		0,24
F	48	1	-0,0253		-0,0253	0,24		0,24
F	49	0	-0,0173			0,32		
F	49	0	-0,0138			0,32		
F	50	0	-0,0010	0,0385	0,0384	0,24	0,08	0,08
F	50	0	-0,0013			0,23		
F	51	1	0,0330		0,0339	0,24		0,24
F	51	1	0,0324		0,0333	0,24		0,24
F	52	0	-0,0407	0,0120	0,0118	0,31	0,17	0,17
F	52	0	-0,0459	-0,0103	-0,0108	0,31	0,19	0,19
F	53	0	0,0313			0,25		
F	53	0	0,0328			0,25		
F	54	1	0,0791		0,0790	0,29		0,30

F	54	1	0,0791		0,0790	0,29		0,30
F	55	0	0,0433			0,37		
F	55	0	0,0441			0,29		
F	56	1	0,0736		0,0739	0,29		0,30
F	56	1	0,0736		0,0740	0,29		0,30
F	57	1	-0,1191		-0,1185	0,28		0,28
F	57	1	-0,1191		-0,1185	0,28		0,28
F	58	1	-0,1191		-0,1185	0,28		0,28
F	58	1	-0,1194		-0,1188	0,28		0,28
F	59	1	-0,1191		-0,1185	0,28		0,28
F	59	1	-0,1194		-0,1188	0,28		0,28

1. – výpočet 1, se všemi zvířaty v genomické matici

2. – výpočet 2, kde jsou z genomické matice vyřazeny všechny zvířata s duplikovaným vzorkem Dna

3. – výpočet 3, kde jsou z genomické matice vyřazeny všechny zvířata, u nichž se nepodařilo ověřit, že pocházejí z vícečetných vrhů

Ve výpočtech 2. a 3. pro dvojčata označená 0 jsou uvedené plemenného hodnoty a jejich spolehlivosti vypočteny bez zohlednění těchto zvířat v genomické matici.

M – samec

F - samice



Název sborníku: PŘÍSPĚVEK J. G. MENDELA KE ŠLECHTĚNÍ HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT
Vydal: Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha Uhřetěves
Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat
ISBN: 978-80-7403-272-1

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

Přátelství 815

104 00 Praha 10

WWW.VUZV.CZ