VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat

Sborník ze semináře

GENERACE ZA GENERACÍ: ŠLECHTĚNÍ V NAŠICH CHOVECH

u příležitosti 90. narození prof. Václava Jakubce, DrSc.

Profesor Václav Jakubec po studiích na střední hospodářské škole v Plzni a vysoké škole zemědělské v Brně nastoupil do Výzkumného ústavu hospodaření v horských a podhorských oblastech v Jedlové v Orlických horách.

Po roce 1960 přešel do VÚŽV Uhříněves, kde byl spoluzakladatelem oddělení genetiky, zabýval se hybridizací hospodářských zvířat a uplatněním teoretických poznatků v zemědělském provozu. Vyučoval genetiku a šlechtění zvířat na zemědělských vysokých školách, především v Brně, Praze, ale také v Stuttgartu – Hohenheim.

Vychoval jak v České republice, tak v zahraničí, významné následovníky, kteří zastávají důležitá postavení ve šlechtění zvířat.

Praha, Česká republika

8. října 2020

ISBN 978-80-7403-236-3

„ZEMĚDĚLSTVÍ JE MATKOU A ŽIVITELKOU VŠECH OSTATNÍCH POVOLÁNÍ.“

Xenofón starověký řecký historik a filozof -430 - -354 př. n. l.

SBORNÍK BYL ODBORNĚ RECENZOVÁN.

SEZNAM RECENZENTŮ:

Prof. Ing. František Louda, DrSc. *FAPPZ ČZU Praha*

Doc Ing. Karel Mach, CSc. *FAPPZ ČZU Praha*

Prof. RNDr. Margetín Milan, PhD. *Výskumný ústav živočíšnej výroby Nitra*

Prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D. *Molekulární biologie a genetika živočichů MENDELU Brno*

Doc. Ing. Jiří Motyčka, CSc. *Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR, z.s. Svaz chovatelů holštýnského skotu ČR, z.s. Hradištko pod Medníkem*

Doc. Dr. Ing. Josef Kučera *Českomoravská společnost chovatelů, a.s. Hradištko pod Medníkem*

PODĚKOVÁNÍ

Sborník vznikl za podpory projektu MZE-RO0718 Ministerstva zemědělství

OBSAH

ŽIVOTOPIS PROFESORA VÁCLAVA JAKUBCE 6

Genetický polymorfizmus ve zlepšování mléčné užitkovosti včetně kvality mléka 7

Jindřich Čítek[1], Michaela Brzáková[2], Oto Hanuš[3], Miloslava Kavková[3], Eva Samková[1], Karolina Straková[1], Lucie Hasoňová[1] 7

Věnujeme dostatek pozornosti genetickému zdraví skotu? Rodokmenová analýza kongenitálního defektu. 16

Jindřich Čítek[1,2,4], Soňa Šlosárková[2], Ludmila Zavadilová[3], Daniela Schröffelová[4], Libor Večerek[1], Nikola Holubová[1] 16

Genetické hodnocení reprodukčních a metabolických poruch u holštýnských dojnic 22

Eva Kašná, Ludmila Zavadilová, Zuzana Krupová 22

Charakterizace genetické diverzity populací genetických zdrojů české červinky a českého strakatého skotu na základě genomické analýzy SNP markerů 30

Jitka Kyselová[1], Artur Gurgul[2,],Igor Jasielczuk[2], Zuzana Sztankóová[1], Michala Hofmannová[1], Kateřina Jochová[1], Ladislav Tichý[1,3] 30

Genetická diverzita lokálnych populácií koní na Slovensku 38

Nina Moravčíková[1], Radovan Kasarda[1], Juraj Candrák[1], Marko Halo[2], Anna Trakovická[1], Ondrej Kadlečík[1], Michal Horný[3], Silvia Mindeková[4], Lenka Neupane-Mlyneková[4] 38

Laboratoř IGenetiky ČMSCH a.s. a imputace mikrosatelitních markerů z genotypů SNP pro potřebu ověřování původu 47

Michaela Přibáňová, Daniela Schröffelová, David Lipovský, Josef Kučera, Vladimír Šteiger, Jarmila Hromádková, Lucie Němcová 47

Vliv plemeníka na četnost vrhu u ovcí 52

Jitka Schmidová, Michal Milerski 52

Beef cattle breeding in the Czech Republic 61

Veselá Zdenka, Brzáková Michaela, Svitáková Alena, Vostrý Luboš 61

Vliv inbrední deprese a efektu očištění populace na výskyt letní vyrážky u koní 66

Luboš Vostrý [1,2], Hana Vostrá-Vydrová[1,2], Michaela Brzáková[2], Barbora Hofmanová[1], Jana Rychtářová[2], Jindřich Čítek[3] 66

Plemenné hodnoty pro souhrnné znaky nemocí paznehtů a pro kulhání 72

Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Zuzana Krupová 72

Seznam přednášek semináře 79

ŽIVOTOPIS PROFESORA VÁCLAVA JAKUBCE

Pan profesor Václav Jakubec se narodil 1930 v Rozvadově. Vystudoval vyšší rolnickou školu v Plzni a Březnici (1951) a návazně vysokou školu zemědělskou, zootechnický obor, v Brně (1955). V roce 1962 obhájil vědeckou hodnost (CSc.) a v roce 1967 se habilitoval. V roce 1978 obhájil doktorský titul (Dr.Sc.) a v roce 1990 byl jmenován profesorem.

Během studií byl zaměstnán jako praktikant v Kolovratském lesním podniku, praktikant v Horském pastevním družstvu v Rozvadově, pomocná vědecká síla a instruktor na Vysoké škole v Brně. Po ukončení vysoké školy nastoupil na pracoviště České akademie zemědělských věd (ČSAZ), do Výzkumného ústavu chovu ovcí v Jedlové v Orlických horách. Při reorganizaci pracovišť ČSAZ, přešel v roce 1963 do Ústředního výzkumného ústavu živočišné výroby v Uhříněvsi. V Uhříněvsi pracoval až do roku 1993, kdy přešel na Českou zemědělskou univerzitu do Prahy a až do roku 2007 byl zapojen do výuky studentů.

Ve Výzkumném ústavu živočišné výroby (VÚŽV) v Praze Uhříněvsi byl spolu s doc. Šilerem, prof. Váchalem a prof. Hurníkem zakladatelem oddělení genetiky (genetika byla po roce 1948 z politických důvodů zakázána, prvé knihy a články o genetice se objevují až po roce 1960). Pracoviště se během poměrně krátké doby vypracovalo na světovou úroveň a vytvořilo u nás i v zahraničí uznávanou školu genetiky populací a genetiky kvantitativních znaků. Během zaměstnání ve VÚŽV vykonával prof. Jakubec funkci vedoucího oddělení a odboru genetiky a od roku 1990 ředitele VÚŽV.

V uvedeném období zastával vedoucí funkce v Akademii zemědělských věd Československé federativní republiky (AZV ČSFR) a České akademie zemědělských věd (ČAZV), byl vicepresidentem AZV ČSFR a presidentem ČAZV. Byl členem vědeckých rad vysokých škol a výzkumných ústavů, členem oborových rad doktorského studia, předsedou komisí pro obhajoby disertačních prací, sestavoval učební plány a podílel se na otevření nových studijních oborů na vysokých školách. Koordinoval celostátní výzkumné úkoly. Byl zapojen do mezinárodních vědeckých organizací, především Evropského společenství pro živočišnou výrobu (EAAP), kde byl dlouhodobě členem předsednictva. Zajišťoval spolupráci domácích pracovišť s vědeckými pracovišti v Evropě, USA a Kanadě. Pan profesor Jakubec obdržel celostátní ocenění, byl nositelem zlaté medaile České akademie věd a obdržel ocenění „Distinguished Service Award EAAP“.

Vyučoval genetiku a šlechtění zvířat na zemědělských vysokých školách, především v Brně, Praze a Stuttgart-Hohenheim. V letech 1995-2006 vedl pravidelné několikatýdenní semináře a výuku na Humboldtově universitě v Berlíně. Vychoval jak v České republice, tak v zahraničí, významné následovníky, kteří zastávají důležitá postavení v genetice a šlechtění zvířat.

Napsal se spoluautory řadu knih, které se staly základními učebnicemi, například: Odhad plemenné hodnoty hospodářských zvířat (1999); Teorie a praxe selekce hospodářských zvířat (2003); Šlechtění masných plemen skotu (1998); Šlechtění ovcí (2001); Šlechtění prasat (2002); Selekce-Inbríding-Hybridizace“ (2010); Šlechtění a management genetických zdrojů zvířat“ (2012).

Jeho vědecká práce byla zaměřena především na šlechtění ovcí a hybridizaci hospodářských zvířat, a uplatnění teoretických poznatků v zemědělském provozu. Jeho přínos v rozvoji teorie hybridizace je celosvětový. Vyvinul obecný model pro odhad parametrů křížení populací hospodářských zvířat a předpověď užitkovosti kříženců, které jsou základem pro optimalizace hybridizačních programů. V posledním období aktivního života se věnoval šlechtění nejcennějšího genetického zdroje, a to starokladrubského koně. V této oblasti vyvinul nové metodické přístupy.

GENETICKÝ POLYMORFIZMUS VE ZLEPŠOVÁNÍ MLÉČNÉ UŽITKOVOSTI VČETNĚ KVALITY MLÉKA

Polymorphisms in improving of milk productivity and quality

Jindřich Čítek[1], Michaela Brzáková[2], Oto Hanuš[3], Miloslava Kavková[3], Eva Samková[1], Karolina Straková[1], Lucie Hasoňová[1]

[1]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

[2]Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves

[3] Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

Abstrakt

Cílem práce bylo posoudit vliv polymorfizmů ve vybraných genech a dalších faktorů na ukazatele mléčné užitkovosti a technologické jakosti kravského mléka. Byly analyzovány polymorfizmy v genech *DGAT1*, *LEP*, *FASN*, *SCD1*, *CSN2*, *CSN3* a *LGB*. Genotyp *DGAT1 AA* byl asociován s produkcí mléka, tuku a bílkovin v kg. Genotyp *AA* kaseinu kappa byl asociován se zvýšenou dojivostí, *BB* s vyšším obsahem bílkovin. Rovněž u ostatních polymorfních genů byly nalezeny některé významné asociace k mléčné užitkovosti. Alely neměly výzamný vliv na technologické vlastnosti mléka. V genu pro *CSN2* byla pro genotyp *BB* zjištěna nejhorší syřitelnost, avšak nejlepší alkoholový test, genotyp A^1A^1 byl pozitivně asociován s jogurtovým testem. V genu *CSN3* byl s lepší technologickou jakostí asociován genotyp *BB*, genotypy s alelami *A* a *E* měly negativní efekt. Byl zjištěn klíčový efekt farmy na ukazatele produkce i technologickou jakost kravského mléka, tím byl efekt polymorfizmů poněkud rozostřen. Polymorfizmy v genech *DGAT1* a *CSN3* jsou využitelné ve šlechtění skotu na mléčnou užitkovost.

Klíčová slova: jogurtový test; syřitelnost; alkoholový test

Abstract

Our goal was the evaluation of the effect of polymorphic loci and other factors on milk performance and the technological properties of cow´s milk. *DGAT1*, *LEP*, *FASN*, *SCD1*, *CSN2*, *CSN3* and *LGB* genes were analysed. The *DGAT1 AA* genotype was associated with higher milk, protein and fat yields. In *CSN3*, the *AA* genotype was associated with a heigh milk yield, and *BB* genotype with a high protein content. Also in other genes, some significant associations with milk productivity were found. The alleles did not affected significantly the technological quality. In *CSN2* gene, *BB* genotype had the best alcohol test, and the worst renneting, A^1A^1 genotype had the best milk fermentation ability. *CSN3* genotypes affected the technological quality significantly, *BB* genotype positively, and genotypes with alleles *A* and *E* negatively. The essential importance of farms on milk yield, composition and technological quality was found, so effect of polymorphisms was somewhat blurred. The use of *DGAT1* and *CSN3* polymorphisms in the breeding is recommended.

Keywords: milk fermentation ability; renneting; ethanol test

Poděkování

Výzkum byl podpořen Ministerstvem zemědělství, projekty MZe NAZV KUS QJ1510339 a MZe-RO0718. Dále byl podpořen Grantovou agenturou Jihočeské univerzity, projekt 028/2019/Z.

Úvod

Ekonomiku chovu dojeného skotu podstatně ovlivňuje množství produkovaného mléka a obsah složek. Pro zpracovatele je kromě obsahu složek důležitá také technologická jakost. Ta determinuje možnosti zpracování mléka na kvalitní tvrdé sýry a další mléčné výrobky, trvanlivé mléko atd. Proto jsou analyzovány různé vlivy, působící na mléčnou užitkovost a technologickou jakost kravského mléka. Vedle důležitých vlivů chovatelského prostředí (výživa) jsou v centru zájmu polymorfní geny, v ČR např. Rychtářová (2012). Zajímavou a rozsáhlou studii genů *CSN2*, *CSN3* a *LGB* uskutečnili u českého strakatého plemene Kyselová et al. (2019). Zjistili, že genetické polymorfizmy ovlivňovaly jogurtový test, alkoholovou stabilitu, obsah P, Ca, pH jogurtu a počet laktobacilů. Navrhují detailní analýzu polymorfizmů a interakce genů v rozsáhlejším souboru k ověření jejich výsledků a nalezení rozdílů mezi plemeny.

Cílem práce bylo provést asociační analýzu polymorfizmů ve vybraných genech k ukazatelům mléčné užitkovosti a technologické jakosti kravského mléka. Byly také vyhodnoceny další možné vlivy na produkci, složení a technologickou jakost mléka. Byly vybrány geny mléčných proteinů kaseinu beta (*CSN2*), kaseinu kappa (*CSN3*) a laktoglobulinu beta (*LGB*). Analyzovány byly také polymorfizmy v genech acyl-CoA diacylgycerol transferase 1 (*DGAT1*), leptin (*LEP*), fatty acid synthase (*FASN*) a stearoyl CoA desaturase 1 (*SCD1*). Posledně jmenované geny byly dosud studovány ve vztahu k mléčné užitkovosti, avšak jejich efekt na technologické vlastnosti rozsáhleji analyzován nebyl.

Materiál a metody

Studie byla provedena u dojnic českého strakatého plemene a kříženek (n=390), holštýnského plemene a kříženek (n=358) v pěti chovech, ve volném ustájení. Krmná dávka se celoročně skládala z konzervovaných krmiv. Dojnice byly na 1. laktaci (n=748), z nich 660 ukončilo i 2. laktaci, telily se v letech 2015-17. Průměrná dojivost byla 8358 kg mléka, tučnost 4,12%, obsah bílkovin 3,47%, produkce tuku 343,0 kg, produkce bílkovin 287,2 kg za laktaci. Technologická jakost mléka byla zjišťována opakovaně u 242 dojnic, vzorky byly odebírány v průběhu celého roku.

Genotypizace byla provedena na genové úrovni technikou PCR/RFLP. V genu *DGAT1* byly genotypizovány alely *A* a *K* dle Kuhn et al. (2004), v genu *LEP* alely *M* a *W* (Buchanan et al., 2002), v genu *FASN* alely *A* a *G* (Roy et al., 2006), v genu *CSN2* alely *A* a *B* (Medrano, Sharrow, 1991) a A^1 a A^2 (Miluchová et al., 2013), v genu *CSN3* alely *A*, *B*, *C* a *E* (Barroso et al., 1998), v genu *LGB* alely *A* a *B* (Strzalkowska et al., 2002), v genu *SCD1* alely *C* a *T* (Inostroza et al., 2013).

Údaje o mléčné užitkovosti byly převzaty z chovatelských databází. Alkoholový test byl proveden titrací 5 ml mléka 96% etanolem do vytvoření prvních vloček. Jogurtový test byl proveden podle standardů českého mléčného průmyslu (ON 57 0534). Výsledek je udáván jako titrační kyselost jogurtu v ml NaOH. Syřitelnost byla stanovena klasickým postupem přidáním syřidla (1% obj.) do mléka zahřátého na 35°C,

udávána jako čas ve vteřinách do tvorby prvních vloček laktoproteinu. Dále byla zjišťována syřitelnost nefelometricky (NEF), udávaná jako čas koagulace mléka.

Statistické analýzy byly provedeny s použitím SAS (SAS 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA). Pro údaje o mléčné užitkovosti byla každá laktace samostatným vstupem, pokud dojnice ukončila dvě laktace, byla vložena dvakrát. Podobně pro technologickou jakost, pokud byl vzorek od dojnice odebrán opakovaně, bylo každé měření vloženo samostatně. Ke statistickému vyhodnocení byly použity smíšené lineární modely s opakovanými měřeními a metoda LSM (metoda nejmenších čtverců). Byly vyvinuty následující modely.

Pro ukazatele mléčné užitkovosti (mléko kg, tuk %, bílkoviny %, tuk kg, bílkoviny kg):

$Y_{ijk} = \mu + gen_i + lak_j + jedinec_k + e_{ijk}$

kde Y_{ijk} = ukazatel mléčné užitkovosti; μ = populační průměr; gen_i = pevný efekt genotypu (třída i=1, 2, 3); lak_j = pevný efekt pořadí laktace (třída j=1, 2); $jedinec_k$ = náhodný efekt jedince; e_{ijk} = náhodný reziduální efekt.

$Jogurt_{ijklmn} = \mu + gen_i + farma_j + bílkoviny_k + kasein_l + stadlak_m + jedinec_n + e_{ijklmn}$

kde $jogurt_{ijklmn}$ = hodnota jogurtového testu; μ = populační průměr; gen_i = pevný efekt genotypu (třída i=1, 2, 3); $farma_j$ = pevný efekt farmy (třída j=1, 2, 3, 4, 5); $bílkoviny_k$ = pev. efekt % bílkovin v mléce; $kasein_l$ = pev. efekt % kaseinu v mléce; $stadlak_m$ = pev. efekt dne laktace; $jedinec_n$ = náh. efekt jedince; e_{ijklmn} = náhodný reziduální efekt.

$Syřitelnost_{ijklmn} = \mu + gen_i + farma_j + bílkoviny_k + TPS_l + sezóna_m + jedinec_n + e_{ijklmn}$

kde $syřitelnost_{ijklmn}$ = syřitelnost měřená subjektivně nebo přístrojově; μ = populační průměr; gen_i = pevný efekt genotypu; $farma_j$ = pev. efekt farmy; $bílkoviny_k$ = pev. efekt % bílkovin v mléce; TPS_l = pev. efekt % tukuprosté sušiny; $sezóna_m$ = pev. efekt sezóny (třída m=1, 2, 3, 4); $jedinec_n$ = náh. efekt jedince; e_{ijklmn} = náhodný rezid. efekt.

$Alkohol_{ijk} = \mu + gen_i + farma_j + jedinec_k + e_{ijk}$

kde $alkohol_{ijk}$ = alkoholová stabilita; μ = populační průměr; gen_i = pevný efekt genotypu (třída i=1, 2, 3); $farma_j$ = pevný efekt farmy; $jedinec_k$ = náhodný efekt jedince; e_{ijk} = náhodný reziduální efekt.

Efekt alel na mléčnou užitkovost a technologickou jakost mléka byl hodnocen modelem:

$Y_{ij} = \mu + alela_i + jedinec_j + e_{ij}$

kde Y_{ij} = hodn. znak; μ = pop. prům.; $alela_i$ = pev. efekt alely (tř. i=1,2); $jedinec_j$ = náhodný efekt jedince; e_{ij} = náhodný reziduální efekt.

Pro párové testy byl použit Tukey-Kramer.

Výsledky a diskuze

Dojnice s genotypem *DGAT1 AA* měly statisticky významně vyšší produkci mléka, tuku a bílkovin v kg, alela *A* rovněž, avšak bez statistické významnosti (Tab. 1, 2). To je v souladu s našimi předchozími výsledky (Čítek et al., 2007; 2018) i výsledky jiných autorů, např. Kuhn et al. (2004). Důraz na produkci složek mléka vede v důsledku nepřímé selekce ke zvyšování frekvence alely *A* v populaci dojeného skotu, v naší skupině dojnic nebyl nalezen ani jeden homozygot *KK*.

V leptinovém genu (*LEP*) bylo u dojnic s homozygotním genotypem *MM* zjištěno nižší procento bílkovin, alela *W* ovlivnila jejich obsah pozitivně. Polymorfizmus genu *FASN* ovlivnil mléčnou užitkovost tak, že dojnice *GG* měly v mléce významně vyšší obsah bílkovin, i když rozdíl nebyl velký. Alela *A* pozitivně ovlivnila dojivost, což se odrazilo ve vyšší produkci bílkovin a tuku v kg. V genu *SCD1* měl genotyp *TT* významnou asociaci s nízkou dojivostí, produkcí bílkovin a tuku v kg a s vysokým obsahem bílkovin. Alela *T* naopak vykázala významný pozitivní vztah ke všem ukazatelům s výjimkou obsahu tuku. Rozdíly mezi genotypy naznačují intermediární dědičnost.

Rozdíly v užitkovosti mezi genotypy *CSN2* nebyly statisticky významné, alela *B* měla významně vyšší dojivost a v důsledku toho také produkci bílkovin. Rovněž efekt genotypů $A^1 – A^2$ nebyl významný. Alela A^2 měla statisticky významně vyšší produkci mléka, tuku a bílkovin.

U kappa kaseinového genu byl genotyp *AA* výzamně asociován s vysokou dojivostí, genotyp *BB* s obsahem bílkovin. Rovněž genotyp *BE*, 21 krav s celkem 40 laktacemi, měl vyšší obsah bílkovin než genotyp *AA*, u kterého byl statisticky významně nejnižší. Při vyhodnocení vlivu alel bylo zjištěno pořadí *E*>*B*>*A*. Genotyp *BB* však neměl vyšší produkci bílkovin v kg. Alela *B* a genotyp *BB* měly vyšší obsah tuku než *A* resp. *AA*, ale rozdíly v produkci tuku opět nebyly významné. Tyto výsledky se shodují se zjištěním jiných autorů (Bartoňová et al., 2012). Preference alely *B* resp. genotypu *BB* ve šlechtění dojených plemen skotu je bezpochyby opodstatněná. Genotyp *LGB AB* byl asociován s vyšší produkcí mléka, bílkovin a tuku, pořadí genotypů naznačuje vliv heteróze.

Byly testovány další možné vlivy na mléčnou užitkovost, a to farma, plemeno a pořadí laktace. Produkce mléka a tuku v kg a obsah bílkovin byly ovlivněny všemi uvedenými faktory, obsah tuku efektem farmy (výživa) a obsah bílkovin farmou a pořadím laktace.

Nejdůležitějším cílem analýzy byla kvantifikace efektů ovlivňujících technologickou jakost mléka. Efekt alel na ukazatele technologické jakosti byl s jedinou výjimkou statisticky nevýznamný (Tab. 2). Krávy s genotypem *KA* v genu *DGAT1* měly výzamně lepší jogurtový test (Tab. 3). Rozdíly mezi leptinovými genotypy v alkoholové stabilitě byly významné ($p<0,05$) mezi *MM* a *MW* vs. *WW* se stoupajícími hodnotami testu, což může mít význam pro produkci UHT mléka. Polymorfizmy v genu *FASN* neměly významný efekt, v *SCD1* genu mělo mléko dojnic s genotypem *TT* nejhorší syřitelnost.

V genu *CSN2* nelze na základě našich výsledků určit nejlepší genotyp s ohledem na technologickou jakost mléka. Genotyp *BB* měl statisticky významně nejlepší alkoholový test, avšak také nejhorší syřitelnost. Genotyp A^1A^1 se syřitelností a alkoholovým testem asociován nebyl, měl však nejlepší jogurtový test.

Genotyp *BC* měl z genotypů *CSN3* nejlepší syřitelnost stanovenou přístrojově, avšak zjištěnou z pouhých čtyř měření, výsledek je proto nutné interpretovat opatrně. Genotyp *BB* měl významně lepší syřitelnost ve srovnání s *AA*, avšak nikoli s *AB*. *BB* genotyp měl rovněž nejlepší výsledek v alkoholovém testu. Nejhorší syřitelnost měly prokazatelně genotypy s alelou *A* a *E* (*AE*, *AA*, *BE*). Negativní vliv alely *E* potvrzují Matějíček et al. (2008). Možným vysvětlením jsou změny v sekvenci aminokyselin. Varianta B

se od A liší ve dvou aminokyselinových pozicích, na 136. je nahrazen threonin isoleucinem, na 148. asparagin alaninem. Tyto substituce mohou interagovat pozitivně s účinkem syřidla, které začíná štěpit kaseinovou molekulu mezi 105. a 106. aminokyselinou. Významný vliv polymorfizmu *CSN3* byl zjištěn řadou autorů. Michalcová, Krupová (2007) potvrzují pozitivní vliv alely *B* na zkrácení doby syřitelnosti, avšak zjistily mírné zhoršení alkoholové stability.

Při kvantifikaci dalších vlivů bylo zjištěno, že efekt farmy byl významný u všech ukazatelů, přitom farma s nejlepším jogurtovým testem a syřitelností měla nejhorší alkoholový test. Obsah bílkovin ovlivnil jogurtový test a syřitelnost, obsah tuku alkoholový test, obsah TPS a počet somatických buněk syřitelnost. Obsah kaseinu, měsíc a sezóna otelení ovlivnily jogurtový test. Významný vliv pořadí laktace, fáze laktace a plemene nebyl zjištěn.

Závěr

Zjistili jsme pozitivní asociaci genotypu *AA* a alely *A* genu *DGAT1* s vyšší produkcí mléka, bílkovin a tuku v kg. Některé významné asociace k mléčné užitkovosti byly zjištěny i pro polymorfizmy v dalších genech. V genu *CSN3* byly alely *B* a *E* asociovány s vyšším obsahem bílkovin, alela *B* s obsahem tuku, genotyp *AA* s produkcí mléka. Genotyp *BB* genu *CSN3* byl nejlepší s ohledem na technologickou jakost mléka. Genotypy s alelami *A* a *E* byly asociovány se zhoršenými technologickými vlastnostmi. U ostatních genů nebyla jednoznačná interpretace vztahu k technologické jakosti možná. V poměrně rozsáhlém polním pokusu byl potvrzen klíčový vliv farmy jak na produkci a složení mléka, tak na technologické vlastnosti. Polymorfizmy v genech *DGAT1* a *CSN3* je možné využít v praktickém šlechtění českého strakatého a holštýnského skotu, u ostatních genů doporučujeme další asociační analýzy.

Seznam literatury

BARROSO A., DUNNER S., CAÑÓN J. (1998): Technical Note: Detection of Bovine Kappa-Casein Variants A, B, C, and E by Means of Polymerase Chain Reaction-Single Strand Conformation Polymorphism (PCR-SSCP). *Journal of Animal Science*, 76, s. 1535-1538.

BARTONOVA P., VRTKOVA I., KAPLANOVA K., URBAN T. (2012): Association between *CSN3* and *BCO2* gene polymorphisms and milk performance traits in the Czech Fleckvieh cattle breed. *Genetics and Molecular Research*, 11, s. 1058-1063.

BUCHANAN F. C., FITZSIMMONS C. J., VAN KESSEL A. G., THUE T. D., WINKELMAN-SIM D. C., SCHMUTZ S. M. (2002): Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genetics Selection Evolution*, 34, s. 105-116.

CITEK J., REHOUT V., HRADECKA E., VECEREK L., PANICKE L. (2007): The Breeding values of German Holstein Sires and the *DGAT1* Polymorphism. *Archives of Animal Breeding,* 50, s. 136-146.

ČÍTEK J., HANUSOVÁ L., BRZÁKOVÁ M., VEČEREK L., PANICKE L., LÍSKOVCOVÁ L. (2018): Associations between Gene Polymorphisms, Breeding Values, and Glucose Tolerance Test Parameters in German Holstein Sires. *Czech Journal of Animal Science*, 63, s. 167–173.

INOSTROZA K. B., SCHEUERMANN E. S., SEPULVEDA N. A. (2013): Stearoyl CoA desaturase and fatty acid synthase gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Chilean Black Friesian cows. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 26, s. 263-269.

KUHN C., THALLER G., WINTER A., BININDA-EMONDS O. R. P., KAUPE B., ERHARDT G., BENNEWITZ J., SCHWERIN M., FRIES R. (2004): Evidence for multiple alleles at the *DGAT1* locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics*, 167, s. 1873–1881.

KYSELOVÁ J., JEČMÍNKOVÁ K., MATĚJÍČKOVÁ J., HANUŠ O., KOTT T., ŠTÍPKOVÁ M., KREJČOVÁ M. (2019): Physiochemical characteristics and fermentation ability of milk from Czech Fleckvieh cows are related to genetic polymorphisms of ß-casein, κ-casein, and ß-lactoglobulin. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 32, s. 14-22.

MATĚJÍČEK A., MATĚJÍČKOVÁ J., ŠTÍPKOVÁ M., HANUŠ O., GENČUROVÁ V., KYSEĽOVÁ J., NĚMCOVÁ E., KOTT T., ŠEFROVÁ J., KREJČOVÁ M., MELČOVÁ S., HÖLZELOVÁ I., BOUŠKA J., FRELICH J. (2008): Joint effects of *CSN3* and *LGB* genes on milk quality and coagulation properties in Czech Fleckvieh. *Czech Journal of Animal Science*, 53, s 246-252.

MEDRANO J. F., SHARROW L. (1991): Genotyping of bovine beta-casein loci by restriction site modification of polymerase chain reaction (PCR) amplified DNA. *Journal of Dairy Science*, 74, s. 282.

MICHALCOVÁ A., KRUPOVÁ Z. (2007): Influence of composite κ-casein and β-lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed. *Czech Journal of Animal Science* , 52, s. 292-298.

MILUCHOVÁ M., GÁBOR M., TRAKOVICKÁ A. (2013): Analysis of Slovak Spotted breed for bovine beta casein A1 variant as risk factor for human health. *Acta Biochimica Polonica*, 60, s. 799-801.

ROY R., ORDOVAS L., ZARAGOSA P., ROMERO A., MORENO C., ALTARRIBA J., RODELLAR C. (1991): Assoc of polymorph in the bovine *FASN* gene with the milk fat content. *Anim Genet*, 37, s. 215-218.

RYCHTÁŘOVÁ J. (2012): Vliv genetického polymorfizmu vybraných kandidátních genů na parametry mléčné užitkovosti a plodnosti dojeného skotu. Disertační práce, Praha, ČZU, 77 l.

STRZALKOWSKA N., KRZYZEWSKI J., ZWIERZCHOWSKI L., RYNIEWICZ Z. (2002): Effects of κ-casein and β-lactoglobulin loci polymorphism, cows' age, stage of lactation and somatic cell count on daily milk yield and milk composition in Polish Black-and-White cattle. Animal Science Papers and Reports, 20, s. 21–35.

Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc., Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice, Česká republika, e-mail: citek@zf.jcu.cz

Tab. 1 Ukazatele mléčné užitkovosti v závislosti na genotypu

Gen	genotyp	Mléko kg			Bílkoviny %		Bílkoviny kg		Tuk %		Tuk kg	
		n	LSM±SE	p	LSM±SE	p	LSM±SE	p	LSM±SE	p	LSM±SE	p
DGAT1	*AA*	1344	8376±84^{a}	0,045*	3,46±0,01	0,548	287,9^{a}±2,6	0,027*	4,12±0,01	0,141	344,0^{a}±3,4	0,019*
	KA	60	7555±401^{b}		3,49±0,04		260,1^{b}±12,3		4,04±0,06		304,8^{b}±16,3	
LEP	*MM*	925	8412±101	0,156	3,45^{a}±0,01	0,038*	287,7±3,1	0,281	4,11±0,01	0,909	344,7±4,1	0,235
	MW	229	8138±203		3,50^{b}±0,02		282,7±6,3		4,13±0,03		335,1±8,3	
	WW	45	7667±450		3,51±0,04		266,4±13,9		4,11±0,06		317,5±18,4	
FASN	*AG*	378	8527±158	0,180	3,43^{a}±0,02	0,017*	290,5±4,9	0,371	4,13±0,02	0,562	349,8±6,4	0,177
	GG	1018	8277±97		3,48^{b}±0,01		285,4±3,0		4,11±0,01		339,6±3,9	
SCD1	*CC*	398	8549^{A}±154	0,001**	3,43^{Aa}±0,01	<0,001**	290,5^{A}±4,7	0,005**	4,10±0,02	0,606	348,4^{A}±6,2	0,001**
	TC	811	8426^{A}±107		3,47^{Ab}±0,01		290,0^{A}±3,3		4,12±0,02		346,9^{A}±4,3	
	TT	187	7608^{B}±222		3,53^{B}±0,02		266,4^{B}±6,8		4,12±0,03		312,1^{B}±9,0	
CSN2	*AA*	32	8143±535	0,541	3,41±0,05	0,133	276,6±16,4	0,254	4,23±0,08	0,201	344,0±21,8	0,442
	AB	220	8562±210		3,50±0,02		296,6±6,4		4,14±0,03		353,2±8,5	
	BB	1105	8326±93		3,46±0,01		286,0±2,8		4,11±0,01		341,2±3,8	
CSN2	*A^1A^1*	143	7883±254	0,163	3,48±0,02	0,539	273,0±7,8	0,190	4,15±0,04	0,491	327,7±10,3	0,253
	A^1A^2	501	8416±137		3,46±0,01		288,7±4,2		4,11±0,02		345,0±5,6	
	A^2A^2	675	8217±120		3,48±0,01		283,0±3,7		4,10±0,02		335,7±4,9	
CSN3	*AA*	646	8497^{a}±96	0,112	3,43^{A,3}±0,01	<0,001**	288,1±3,7	0,364	4,09^{a}±0,02	0,133	345,4±4,9	0,377
	AB	586	8267±101		3,50^{B,4}±0,01		287,0±3,9		4,13±0,02		341,1±5,2	
	BB	70	8355±291		3,54^{B}±0,03		292,3±11,5		4,20^{b}±0,05		349,8±15,2	
	BC	4	8140±1217		3,51±0,11		285,5±48,5		4,33±0,22		352,3±64,2	
	EE	3	5627^{b}±1406		3,79^{B,4}±0,13		199,2±50,8		4,24±0,23		221,8±67,1	
	AE	32	7594^{b}±430		3,47^{4}±0,04		258,0±16,2		4,20±0,06		311,8±21,4	
	BE	40	8139±385		3,51^{3,4}±0,04		282,4±15,1		4,06±0,07		328,8±20,0	
LGB	*AA*	30	6991^{A}±546	<0,001**	3,52±0,05	0,611	245,9^{A}±16,8	<0,001**	3,97±0,08	0,161	281,2^{A}±22,2	<0,001**
	AB	1222	8471^{B}±88		3,47±0,01		291,1^{B}±2,7		4,12±0,01		347,9^{B}±3,6	
	BB	103	7515^{A}±299		3,47±0,03		258,9^{A}±9,2		4,11±0,04		309,1^{A}±12,2	

n počet laktací krav s příslušným genotypem; LSM nejmenší průměrný čtverec; SE směrodatná odchylka; *významné p<0,05; **významné p<0,01; ^{a,b}různá písmena ve sloupci značí rozdíly významné p<0,05; ^{A,B}rozdíly významné p<0,01; ^{3}rozdíly mezi genotypy *CSN3 AA* a *BE* v procentu bílkovin jsou významné p<0,05; ^{4}rozdíly mezi genotypy *CSN3 EE* vs. *AB*, *AE*, *BE* v procentu bílkovin jsou významné p<0,05.

Tab. 2 Významnost rozdílů pro ukazatele mléčné užitkovosti a technologické jakosti mléka mezi alelami

Gen		Mléko kg	Bílkoviny %	Bílkoviny kg	Tuk %	Tuk kg	Jogurtový test, ml NaOH	Syřitelnost subjektivně, vteřiny	Syřitelnost přístrojově, vteřiny	Alkoholový test, ml alkoholu
DGAT1		0,861	0,255	0,753	0,308	0,628	0,064	0,528	0,354	0,659
LEP		0,999	0,023* W>M	0,701	0,835	0,904	0,446	0,823	0,642	0,077
FASN		0,008** A>G	0,896	0,009** A>G	0,610	0,007** A>G	0,142	0,906	0,555	0,536
SCD1		0,024* T>C	0,014* T>C	0,014* T>C	0,774	0,028*T>C	0,266	0,078	0,173	0,461
CSN2 (*A*, *B*)		0,031* B>A	0,390	0,042* B>A	0,319	0,055	0,002** B>A	0,083	0,086	0,242
CSN2 (A^1,A^2)		0,002**A^2>A^1	0,367	0,002** A^2>A^1	0,324	0,006**A^2>A^1	0,663	0,909	0,411	0,344
CSN3	*A:B*	0,187	<0,001**B>A	0,899	0,039*B>A	0,556	0,740	0,512	0,217	0,901
	A:E	0,046*A>E	0,314	0,055	0,111	0,099	0,817	0,240	0,914	0,526
	B:C	0,943	0,846	0,929	0,630	0,961	0,948	0,733	0,717	0,476
	B:E	0,068	0,010* E>B	0,074	0,815	0,062	0,091	0,980	0,322	0,440
LGB		<0,001**B>A	0,063	<0,001**B>A	0,736	<0,001**B>A	0,562	0,067	0,148	0,220

*významné na hladině p<0,05; **významné na hladině p<0,01

Tab. 3 Ukazatele technologické jakosti mléka podle genotypu polymorfních lokusů

Gen genotyp		Jogurtový test, ml NaOH			Syřitelnost subjektivně, vteřiny			Syřitelnost přístrojově, vteřiny			Alkoholový test, ml alkoholu		
		n	LSM±SE	p	n	LSM±SE	p	n	LSM±SE	p	n	LSM±SE	p
DGAT1	*AA*	435	$14{,}93^{A}$±0,25	<0,001**	470	523,16±16,70	0,781	438	318,13±9,48	0,538	445	0,913±0,053	0,518
	KA	25	$18{,}24^{B}$±0,87		31	507,79±53,79		23	338,64±32,64		25	1,052±0,204	
LEP	*MM*	288	15,09±0,33	0,709	315	510,28±18,78	0,609	289	314,68±10,54	0,654	293	$0{,}864^{a}$±0,057	0,070
	MW	81	15,58±0,64		92	544,2±32,57		84	330,11±17,64		83	$0{,}938^{a}$±0,105	
	WW	14	14,80±1,21		15	502,47±77,41		13	300,65±41,89		14	$1{,}445^{b}$±0,248	
FASN	*AG*	118	15,07±0,44	0,998	130	545,46±26,47	0,262	117	336,70±14,53	0,123	115	1,026±0,094	0,202
	GG	338	15,07±0,28		367	512,17±18,52		340	311,87±10,37		351	0,888±0,058	
SCD1	*CC*	135	15,01±0,41	0,553	148	$502{,}28^{a}$±25,10	0,029*	131	320,98±14,15	0,059	136	0,944±0,087	0,955
	TC	284	15,25±0,30		305	$513{,}78^{a}$±19,74		287	$309{,}75^{a}$±11,00		288	0,918±0,064	
	TT	41	14,54±0,67		48	$625{,}41^{b}$±41,88		43	$369{,}90^{b}$±24,21		46	0,898±0,151	
CSN2	*AA*	22	14,08±1,34	0,538	22	522,96±59,26	0,540	21	$271{,}44^{a}$±30,86	0,121	22	$0{,}448^{A}$±0,215	0,001**
	AB	171	15,39±0,45		187	498,54±26,77		172	304,21±14,68		176	$0{,}724^{A}$±0,082	
	BB	267	14,98±0,32		292	532,28±19,03		268	$329{,}06^{b}$±10,73		272	$1{,}058^{B}$±0,062	
CSN2	A^1A^1	42	$16{,}43^{Aa}$±0,60	0,022*	45	527,46±48,38	0,968	38	314,22±26,72	0,462	43	0,829±0,153	0,769
	A^1A^2	148	$14{,}60^{B}$±0,37		161	535,74±25,11		150	336,75±13,70		150	0,919±0,084	
	A^2A^2	224	$15{,}17^{b}$±0,33		249	528,31±22,05		227	317,65±12,1		230	0,950±0,069	
CSN3	*AA*	215	15,22±0,34	0,075	228	$552{,}38^{a}$±21,62	0,116	212	$337{,}29^{3}$±12,02	0,037*	220	$0{,}929^{A}$±0,070	0,109

	AB	191	15,04±0,37		216	504,38±22,32		196	299,82[3]±12,31		197	0,871[A]±0,073	
	BB	24	15,36±0,77		25	486,02±56,55		24	312,04±29,83		23	1,543[Ba]±0,206	
	BC	4	14,77±1,35		4	299,68[b]±122,34		4	229,11[4]±63,58		4	0,966±0,490	
	AE	13	14,97±1,00		15	454,31±68,79		13	331,77±39,04		13	0,701[b]±0,271	
	BE	12	12,89±1,93		12	616,24[a]±93,27		11	414,90[3,4]±49,35		12	0,990±0,285	
	AA	12	-	0,556	15	517,50±68,35	0,281	8	335,45±45,82	0,608	12	0,942±0,310	0,036[*]
LGB	*AB*	390	15,15±0,27		416	510,01±18,42		393	314,56±10,45		394	0,857[A]±0,058	
	BB	58	14,76±0,64		70	576,97±37,91		60	337,37±21,73		64	1,216[B]±0,123	

n počet laktací krav s příslušným genotypem; LSM nejmenší průměrný čtverec; SE směrodatná odchylka; [*]významné p<0,05; [**]významné p<0,01; [a,b]různá písmena ve sloupci značí rozdíly významné p<0,05; [A,B]rozdíly významné p<0,01; [3]rozdíly mezi genotypy *CSN3 AB* vs. *AA* a *BE* v syřitelnosti zjištěné přístrojově jsou významné p<0,05; [4]rozdíly mezi genotypy *CSN3 BE* a *BC* v syřitelnosti zjištěné přístrojově jsou významné p<0,05.

VĚNUJEME DOSTATEK POZORNOSTI GENETICKÉMU ZDRAVÍ SKOTU? RODOKMENOVÁ ANALÝZA KONGENITÁLNÍHO DEFEKTU.

Turning attention to genetic health of cattle: pedigree analysis of congenital defect

Jindřich Čítek[1,2,4], Soňa Šlosárková[2], Ludmila Zavadilová[3], Daniela Schröffelová[4], Libor Večerek[1], Nikola Holubová[1]

[1]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

[2]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00 Brno

[3]Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves

[4]Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Benešovská 123, 252 09 Hradištko

Abstrakt

V České republice byla zrušena kontrola dědičnosti zdraví. Na základě provedené analýzy výskytu jednoho kongenitálního defektu v populaci skotu v ČR, *atresia ani et recti*, je demonstrováno riziko tohoto postupu. Defekt je dědičný, býci s postiženým potomstvem by měli být vyřazováni z reprodukce. V opačném případě hrozí rozšíření nežádoucích alel v populaci.

Klíčová slova: holštýn; český strakatý skot; *atresia*; rodokmen

Abstract

In the Czech Republic, the control of genetic health was abolished. On the example of one congenital defect of cattle, *atresia ani et recti*, the risk of such approach is demonstrated. The defect is hereditary, and sires with affected offspring should be eliminated from reproduction. Carelessness results in the spread of undesirable alleles in the population.

Keywords: Holstein; Czech Simmental; *atresia*; pedigree

Poděkování

Výzkum byl podpořen Ministerstvem zemědělství, projekt MZe NAZV QK1910320 a Grantovou agenturou Jihočeské univerzity, projekt GAJU028/2019/Z.

Úvod

Cílem šlechtění jsou zvířata geneticky spojující vysokou užitkovost a pevné zdraví. Proto by kontrola dědičnosti zdraví (KDZ) měla být nedílnou součástí každého šlechtitelského programu.

Výskyt kongenitálních, vrozených defektů může být jedním z varovných příznaků zhoršujícího se genetického zdraví populace. Za kongenitální defekt označujeme anatomické, fyziologické a behaviorální poruchy, přítomné při narození telete. Jejich etiologie ovšem může být rozmanitá, genetická i environmentální (Rousseaux, 1994). Někdy může výskyt souviset s nežádoucím nárůstem inbreedingu, Hansen et al. (2005) uvádí u americké holštýnské populace nárůst inbreedingu konstantní rychlostí asi 0,1 % ročně, doporučovaná horní hranice pro komerční produkci mléka je přitom 6,25 %.

Omezování inbreedingu a důsledné sledování zdravotního stavu potomků každého býka je nutné zejména při využití inseminace mraženým spermatem (Jakubec et al., 2010). Rozsáhle používaný plemeník nemusí být nositelem pouze jedné skryté letální alely, může jich mít ve svém genotypu i více. Příkladem může být masívní rozšíření BLAD a CVM, za které byl převážně zodpovědný býk Carlin-M Ivanhoe Bell, heterozygotní přenašeč recesívních alel pro obě onemocnění. Pravděpodobnost, že se homozygotně recesívní genotyp projeví, se samozřejmě zvyšuje s nárůstem inbreedingu. Jako součást preventivních opatření je nutno zdůraznit pečlivost při sestavování připařovacích plánů a znalost podrobných údajů o využívaných býcích.

Intestinální atrézie jsou vrozeným defektem všech druhů domácích savců i člověka. Jakýkoliv střevní segment od dvanáctníku po řitní otvor může být atretický – neprůchodný (Gass, Tibboel, 1980). Intestinální atrézie je definována jako úplné uzavření střevního lumenu z důvodu anomálního vývoje střevní stěny, zahrnující konečník, tlusté střevo, kyčelník (Constable et al., 1989).

Příčina *atresia coli* nebyla jednoznačně vysvětlena, možné jsou i negenetické vlivy, avšak předpokládá se, že je způsobena autozomálně recesívní alelou (Martens et al., 1995; OMIA).

Je nutné upozornit, atrézie se může vyskytnout sekundárně během organogeneze v období 12. - 45. dne gestace po vaskulární insuficienci vyvíjejícího se tračníku u telat, časná diagnóza březosti před 42. dnem *per rectum* může poškodit fetální krevní zásobení a narušit organogenezi (Constable et al., 1989). Anderson, Rings (2009) uvádí výsledky izraelské analýzy u dvou stád dojnic, pravděpodobnost narození telete s atrézií byla 119,7 krát větší, pokud byla provedena rektální palpace před 42. dnem březosti. Holštýnský skot může být predisponován k *atresia coli* pravděpodobně proto, že jeho vyvíjející se tlusté střevo roste rychleji nebo ve větším rozsahu než u jiných plemen skotu (Constable et al., 1997). Mezinárodní analýza u deseti plemen prokázala, že 94 % hlášených případů *atresia coli* byla holštýnská telata (Anderson, Rings, 2009).

Časná diagnóza střevních malformací u telat s normálním řitním otvorem a konečníkem bývá obtížná. Střevo je roztažené, s neschopností průchodu výkalů, telata trpí nechutenstvím (Constable et al., 1999; Azizi et al., 2010). U telat s těmito příznaky jsou pro potvrzení diagnózy nezbytná fyzikální vyšetření a radiografické vyšetření. Definitivní diagnóza vrozených střevních abnormalit je prováděna průzkumnou laparotomií pravého boku. Defekt se vyskytuje rovněž u domácí kočky, prasete, kozy a ovce (OMIA).

U telat jsou nejčastěji hlášenými malformacemi atresie tlustého střeva a řiti (Gass, Tibboel, 1980). *Atresia ani* je u telat zřejmým klinickým nálezem, je snadno diagnostikována chovateli telat jeden nebo dva dny po porodu. Chirurgická léčba atrézie řiti prostřednictvím kruhového odstranění anální kůže má dobrou prognózu pro přežití. Anální atrézie postihuje samce a samice se stejnou frekvencí (Das, Hashim, 1996).

Cílem tohoto příspěvku bylo provedení analýzy výskytu *atresia ani et recti* v populaci skotu v České republice.

Materiál a metody

Byly použity údaje z kontroly dědičnosti zdraví, kterou prováděl Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno. Hodnocení plemenní býci byli narozeni v letech 1986-2001, novější údaje nejsou k dispozici, neboť KDZ byla zrušena. Postižení jedinci se narodili v letech 2000 – 2004, z toho devět případů spadalo do r. 2000.

Z informací o původu, které jsou k dispozici u firmy Plemdat, s. r. o., byly sestaveny rodokmeny postižených telat. U 21 postižených telat byli známi oba rodiče, u čtyř nebylo možné dohledat matku. Následně bylo provedeno srovnání a analýza zejména z hlediska výskytu společných předků telat postižených *atresia ani et recti*.

Výsledky a diskuze

Celkem bylo hlášeno narození 25 telat s *atresia ani et recti*. Otci defektních telat bylo 23 býků, jeden z nich zplodil tři postižená telata, u ostatních bylo hlášeno po jednom. Většinou se jednalo o čistokrevné holštýny (n=16), z toho ve dvou případech červené barvy, rok narození 1992 – 2000. Šest býků byli kříženci českého strakatého skotu s červeným holštýnem, resp. holštýnem a ayrshirským plemenem, jeden byl čistokrevný býk českého strakatého skotu, tito býci byli narozeni v letech 1990-2001. Matky postižených telat byly podobného plemenného zařazení, různého věku, žádná z nich nebyla prvotelkou, narozeny v letech 1990 - 2001. U 21 případů nebylo pohlaví zaznamenáno, 2x byli postiženi býčci, 2x jalovičky.

Rodokmeny některých postižených telat na obr. 1- 4 podporují genetickou etiologii s autozomálně recesívní dědičností. Určitý stupeň příbuznosti, společní předkové do páté generace byli zjištěni u 11 telat, což je polovina analyzovaných případů.

Obr. 1 ukazuje nejzajímavější případ. Blízký předek I/2 má pět případů postižených potomků (jedince V/2 – V/6). Jeden z jeho vnuků IV/3, měl se třemi plemenicemi tři telata s defektem. U postiženého telete V/4 je býk I/2 předkem z otcovské i mateřské strany, jde o potomka z úzkého inbreedingu.

Obr. 2 představuje další případ, postižená telata mají společného praotce. Podobný případ, s jednou generací navíc u jedince IV/1 je na obr. 3. Na obr. 4 je potom opět příklad úzkého inbreedingu.

U dalších postižených telat podobný stupeň inbreedingu nebyl zjištěn. Zde je ovšem nutné uvést, že společný předek defektního telete se může náhodně objevit, zejména pokud byl plemeník rozsáhle využíván. V naší analýze jde o býka III/7 na obr. 1. Celkem byl otcem 57577 telat, z toho 10 plemenných býků, v kontrole užitkovosti měl 19899 krav. Již výše zmíněný býk IV/4 v obr. 1 zplodil celkem 12766 telat, 14 plemenných býků, 4231 krav.

Etiologie *atresia ani et recti* může být definitivně objasněna nalezením příslušného genu, jeho sekvenováním a určením příčinné mutace. Nicméně dědičná příčina *atresia ani* je obecně považována za vysoce pravděpodobnou. Garrick, Ruvinsky (2015) ji řadí do skupiny dědičných defektů s prokázanou monogenní dědičností, avšak s dosud neodhalenou příčinnou mutací. *Atresia coli, atresia ilei* a *atresia intestinal* jsou řazeny do skupiny dědičných defektů, u nichž dosud není dostatek důkazů pro monogenní dědičnost. Proto je nanejvýš žádoucí býky s prokázaným výskytem postižených potomků nepoužívat na matky býků, nebo je raději úplně vyřadit. Tato pravidla se v České republice bohužel nedodržují. Kromě již zmíněných dvou býků s velkým počtem potomků vč. plemeníků jsou mezi býky s telaty s atrézií další otcové býků, jeden s 15 syny, další s 1, 5 a 14 syny. Navíc byly u některých býků, jejichž potomci trpěli *atresia ani et recti*, zaznamenány další kongenitální defekty. U osmi abort jejich potomka, u jednoho rozštěpová vada, dvě telata s atrézií měla zároveň polypodii, u jednoho nebyl vyvinut ocas (acaudia).

Jak již bylo uvedeno výše, KDZ byla v České republice zrušena, respektive je omezena pouze na sledování genotypu pro závažné monogenní dědičné choroby BLAD a CVM. Sledování výskytu kongenitálních vad

u narozených telat se však neprovádí. Takový postup lze z hlediska budoucího vývoje genetického zdraví populace skotu považovat za rizikový.

Seznam literatury

ANDERSON D. E., RINGS M. D. (2009): Current Veterinary Therapy - Food Animal Practice. 5th edition, Elsevier Health Sciences, 736 pp.

AZIZI S., MOHAMMADI R., MOHAMMADPOUR I. (2010): Surgical Repair and Management of Congenital Intestinal Atresia in 68 Calves. *Veterinary Surgery*, 39, s. 115-120.

CONSTABLE P. D., HUHN J. C., MORIN D. E., NELSON D. R. (1999): Atresia coli in calves: etiopathogenesis and surgical management. *The Bovine Practitioner,* 33, s. 70–73.

CONSTABLE P. D, SHANKS R. D, HUHN J., MORIN D. E. (1997): Evaluation of breed as a risk factor for atresia coli in cattle. *Theriogenology*, 48, s. 775-790.

CONSTABLE P. D., RINGS D. M., HULL B. L., HOFFSIS G. F., ROBERTSON J. T. (1989): Atresia coli in calves: 26 cases (1977–1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 195, s. 118-123.

DAS B. R., HASHIM M. A. (1996): Studies of surgical affections in calves. *Bangladesh Veterinary Journal,* 30, s. 26-33.

GASS VAN DEN I., TIBBOEL D. (1980): Intestinal atresia and stenosis in animals: a report of 34 cases. *Veterinary Pathology,* 17, s. 565-574.

HANSEN L., HEINS B., SEYKORA T. (2005): Is Crossbreeding the Answer for Reproductive Problems of Dairy Cattle? *Proc. Southwest Nutr. Conf.,* s. 113-118. Online cit. 20. 3. 2019 http:// www.dairyweb.ca /Resources/ USWebDocs/ Crossbreeding2.pdf

JAKUBEC V., BEZDÍČEK J., LOUDA F. (2010): Selekce – Inbríding - Hybridizace. Rapotín, Agrovýzkum Rapotín s.r.o., 382 ss.

MARTENS A., GASTHUYS F., STEENHAUT M., DE MOOR A. (1995): Surgical aspects of intestinal atresia in 58 calves. *Veterinary Record*, 136, s. 141-144.

NICHOLAS F. W. (2015): Genetics of Morphological Traits and Inherited Disorders. In: GARRICK D. J., RUVINSKY A. (eds.), The Genetics of Cattle. Wallingford, UK, New York, USA, CABI Publishing, 2nd Edition, p. 90-102.

OMIA, Online Mendelian Inheritance in Animals. Atresia ani in *Bos Taurus*. Dostupné z: https://omia.org/OMIA000083/9913/. Staženo 4. 7. 2019.

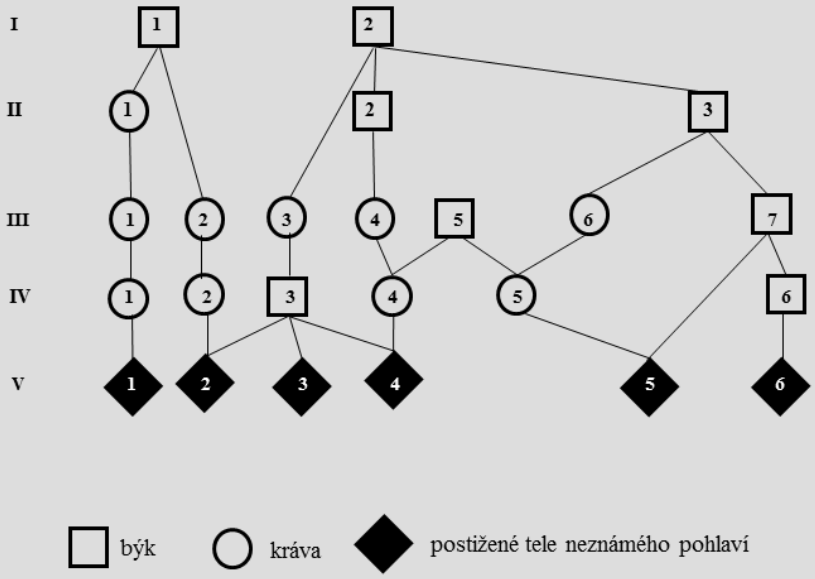
ROUSSEAUX C. G. (1994): Congenital defects as a cause of perinatal mortality of beef calves. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 10, s. 35-51.

Kontaktní adresa:

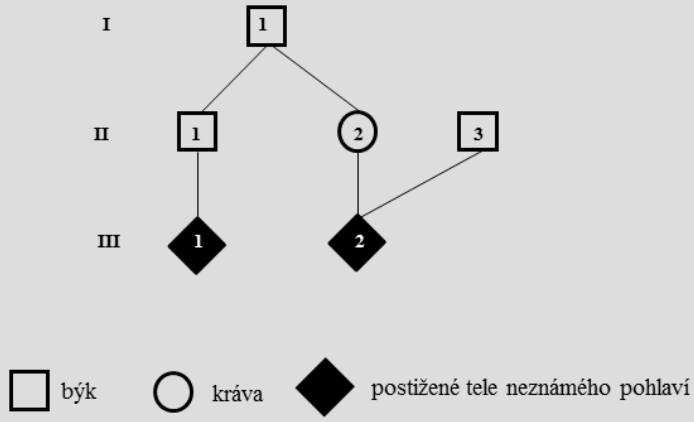
Prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc., Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, kat. genetiky a speciální produkce rostlinné, Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

Tel. 38 777 2591; e-mail: citek@zf.jcu.cz

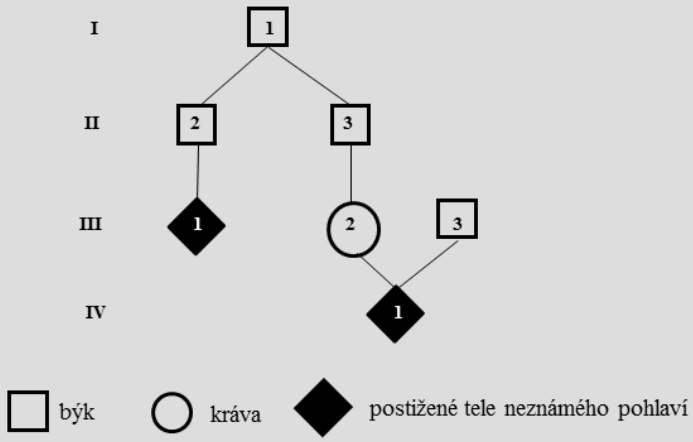
Obr. 1 Rodokmen telat postižených *atresia ani et recti*



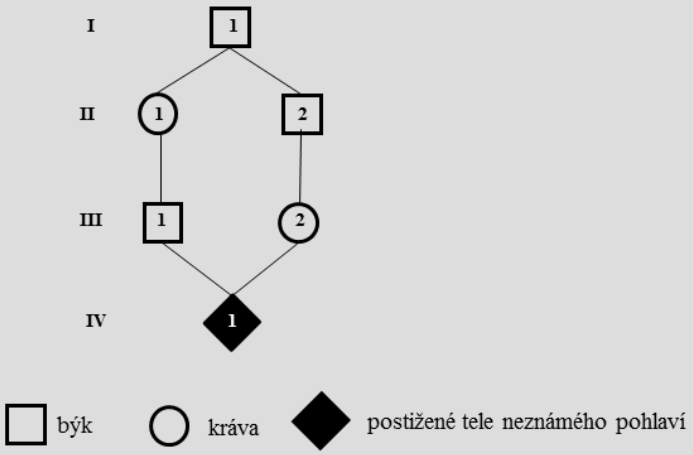
Obr. 2 Rodokmen telat postižených *atresia ani et recti*



Obr. 3 Rodokmen telat postižených *atresia ani et recti*



Obr. 4 Rodokmen telat postižených *atresia ani et recti*



GENETICKÉ HODNOCENÍ REPRODUKČNÍCH A METABOLICKÝCH PORUCH U HOLŠTÝNSKÝCH DOJNIC

Genetic analysis of reproductional and metabolical disorders in Holstein cows

Eva Kašná, Ludmila Zavadilová, Zuzana Krupová

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

Souhrn

Studie se zaměřuje na odhad genetických parametrů a plemenných hodnot pro odolnost vůči nemocem a zdravotním poruchám, které se nejčastěji objevují v první třetině laktace, a pro vybranou pomocnou vlastnost, kterou je podíl tuku a bílkovin v mléce, stanovený v prvním kontrolním dnu. Koeficienty dědivosti vybraných znaků zjištěné lineárním animal modelem byly nízké, v rozpětí od 0,01 (zadržení lůžka, paréza, ketóza) do 0,10 (T/B). Nejsilnější genetické korelace byly zjištěny mezi parézou a dislokací slezu (0.75±0.48), zadržením lůžka a metritidou (0.61±0.21), a mezi endometritidou a dislokací slezu (0.49±0.38). Hodnota T/B byla genotypově korelována s ketózou a dislokací slezu, další vazby byly nízké a nevýznamné.

Klíčová slova: nemoci dojnic; zadržení lůžka; metritida; ketóza; porodní paréza; dislokace slezu

Summary

The study focuses on estimating genetic parameters and breeding values for resistance to diseases and health disorders, most commonly found in the first third of lactation, and for the selected auxiliary trait, which is the milk fat:protein ratio, determined on the first control day. The heritabilities of selected traits estimated by the linear animal models were low, ranging from 0.01 (retained placenta, paresis, ketosis) to 0.10 (fat:protein ratio). The strongest genetic correlations were found between paresis and displaced abomasum (0.75±0.48), retained placenta and metritis (0.61±0.21), and between endometritis and displaced abomasum (0.49±0.38). The fat:protein ratio was genetically correlated with ketosis and displaced abomasum, and other relations were low and insignificant.

Keywords: dairy cows' diseases; retained placenta; metritis; ketosis; paresis; displaced abomasum

Poděkování:

Studie byla zpracována s podporou MZe ČR, projektů NAZV QK1910320 a MZE-RO0718.

Úvod

Zdraví hospodářských zvířat se aktuálně řadí k prioritním oblastem zemědělského výzkumu. Pouze zdravé dojnice jsou schopny udržitelné produkce kvalitního, zdravotně nezávadného mléka. Otelení a nástup laktace je přitom pro krávu nejrizikovějším obdobím. Zejména vysokoužitkové dojnice nejsou schopny příjmem krmiva pokrýt zvýšenou potřebu energie na záchovu, rostoucí produkci i pozdější reprodukci. Vzniká u nich těžká a dlouhodobá negativní energetická bilance (NEB), jež je zdravotním rizikem a pravděpodobnou příčinou pozitivní genetické korelace mezi mléčnou užitkovostí a vznikem nemocí (Martens, 2020). Kromě změn ve výživě, technologii chovu, léčbě a prevenci je odolnost zvířat vůči nemocem možné ovlivnit i selekcí, tj. změnou genetického založení (Heringstad a kol., 2007).

Základním předpokladem genetické selekce je znalost fenotypové proměnlivosti znaků a vlastností v populaci. Pokud se jedná o znaky zdraví, na úrovni populací skotu v České republice je sběr údajů na začátku. V rámci řešení projektu NAZV QJ1510217 byla navržena a v roce 2017 spuštěna do provozu národní databáze Deník nemocí a léčení (dále Deník), určená pro vedení záznamů o zdraví dojnic přímo v chovech, jejich uchovávání a další zpracování (Šlosárková a kol., 2016). Pro genetické hodnocení znaků zdraví jsou výpisy z Deníku pořizovány od srpna 2018, pravidelně jsou odhadovány plemenné hodnoty pro odolnost vůči klinické mastitidě a nemocem paznehtů (Zavadilová a kol., 2019 a, b).

U řady nemocí a zdravotních poruch (zejména metabolických) je však diagnostika obtížná a sběr dat v řadě případů nenaplňuje očekávání plošnosti, spolehlivosti a konzistence. Proto se výzkum zaměřuje na získání pomocných vlastností, které by byly objektivně měřitelné, relativně snadno dostupné, s vyšší dědivostí a úzkou genetickou korelací se znaky zdraví. Jejich zapojení do odhadu plemenných hodnot by vedlo k vyšší spolehlivosti, a tím i vyšší účinnosti selekce na lepší odolnost vůči nemocem. Stále intenzivněji jsou k tomuto účelu využívány údaje o složení mléka zjištěné kalibrovanou MIR-FT spektrometrií v rámci kontroly užitkovosti (např. Bastin a kol., 2016).

Materiál a metodika

Data potřebná ke genetickému hodnocení laskavě poskytli Svaz chovatelů holštýnského skotu a Českomoravská společnost chovatelů, a.s. Podklady byly průběžně získávány z národní databáze "Deník nemocí a léčení" (dále Deník) a doplňovány nezbytnými informacemi o původu krav, jejich věku a pořadí laktace, délce laktace a produkci z databáze celoživotní užitkovosti. Data byla pro výzkumné účely anonymizována.

Vyhodnoceny byly údaje o poměru tuku a bílkovin v mléce krav (dále T/B) zjištěné v rámci kontroly užitkovosti mezi 6. - 60. dnem laktace, a dále záznamy nemocí a zdravotních poruch obvykle se vyskytujících v první třetině laktace. Byly to: zadržení lůžka (0. -7. den laktace), metritida (0. – 20. den laktace), endometritida (21. – 100. den laktace), syndrom ovariálních cyst (20. – 100. den laktace), porodní paréza (paréza, 0. – 7. den laktace), primární klinická ketóza (ketóza, 0. - 100. den laktace) a dislokace slezu (0. – 100. den laktace). Každé laktaci bylo přiděleno skóre 1, pokud byl v uvedeném intervalu zaznamenán alespoň jeden případ dané nemoci, nebo 0 v opačném případě. Výskyt nemocí byl následně vyjádřen jako laktační incidence *Li*, tj. podíl „postižených" laktací (skóre 1) ze všech hodnocených. Vyhodnocení vlivu efektů vnějšího prostředí na výskyt nemocí byl proveden analýzou zobecněných lineárních modelů (GLM, SAS 9.4.). Pro odhad genetických parametrů a plemenných hodnot byl použit lineární animal model ve tvaru:

$$y = \mathbf{X}\beta + \mathbf{Z_a}a + e,$$

kde y je vektor pozorování (T/B a výskyt nemoci na laktaci vyjádřený jako 0 – bez nemoci, 1 – alespoň jeden případ nemoci v dané laktaci), β je vektor pevných efektů (vliv stáda, roku a sezóny otelení, pořadí otelení, případně věku při otelení v rámci pořadí otelení), a je vektor náhodných vlivů sledovaných krav a e je vektor náhodných reziduí; **X** a **Z** jsou odpovídající incidenční matice pevných a náhodných efektů. Vliv stáda má počet úrovní podle toho, které chovy zadávaly údaje o dané nemoci – konkrétní počty uvádí Tab. 1. Sloučený vliv roku a sezóny měl 9 tříd vytvořených kombinací 5 tříd roku otelení (2015–2019) a 2 sezón (1. prosinec–květen, 2. červen–listopad). Věk při otelení v měsících uvnitř 1. – 3. laktace byl rozdělen do 7 tříd na 1. laktaci (≤ 23, 24, 25, 26, 27, 28-29 a >29), do 7 tříd na 2. laktaci (≤ 35, 36, 37, 38, 39, 40-41, >41) a do 6 tříd na 3. laktaci (≤48, 49, 50-51, 52-54, 55-57, >57). Den laktace, na který připadla kontrola užitkovosti (DIM), měl 55 tříd (6. – 60. den). Pro náhodné vlivy bylo předpokládáno normální rozdělení s proměnlivostí

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

kde σ_a^2 a σ_e^2 jsou aditivně genetická a reziduální variance, ***A*** je matice příbuznosti, a ***I*** je jednotková matice. Koeficienty heritability h^2 pro všechny znaky byly stanoveny jako podíly aditivně genetické proměnlivosti z celkové fenotypové proměnlivosti $h^2 = \sigma_a^2 / (\sigma_a^2 + \sigma_e^2)$. Spolehlivosti odhadu plemenných hodnot byly vyjádřeny jako $r^2 = 1 - (PEV / \sigma_a^2)$, kde PEV je rozptyl chyb odhadu. Genetické korelace mezi hodnocenými vlastnostmi byly odhadnuty sadami dvojznakových lineárních modelů, protože jednotlivé chovy sledovaly různé skupiny nemocí, a víceznakový model tak nebylo možné aplikovat. Vlastní variačně-kovariační struktura náhodných efektů byla vyjádřena jako

$$Var\begin{bmatrix} a \\ e \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \boldsymbol{G_0} \otimes \boldsymbol{A} & 0 \\ 0 & \boldsymbol{R_0} \otimes \boldsymbol{I} \end{bmatrix},$$

kde

$$G_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{a1}^2 & \sigma_{a1a2}^2 \\ \sigma_{a1a2}^2 & \sigma_{a2}^2 \end{bmatrix}$$

je variačně-kovariační matice mezi znaky vlivem aditivně genetických efektů a

$$R_0 = \begin{bmatrix} \sigma_{e1}^2 & \sigma_{e1e2}^2 \\ \sigma_{e1e2}^2 & \sigma_{e2}^2 \end{bmatrix}$$

je reziduální variačně-kovariační matice.

Pro úpravu dat a základní statistické hodnocení (četnosti, průměry, proměnlivost, hodnocení významnosti pevných efektů pomocí smíšených lineárních modelů) byl využit software SAS 9.4., pro odhad genetických parametrů byl použit programový balík DMU v 6. (Madsen a Jensen, 2010).

Výsledky a diskuze

Proměnlivost sledovaných znaků

Poměr T/B byl samostatně hodnocen na základě hodnot zjištěných v prvním kontrolním dnu na téměř 450 tisících laktacích dojnic sledovaných v období 2015–2019. Průměrná hodnota T/B v našem souboru dosáhla 1,27±0,23. Proměnlivost T/B byla významně ovlivněna dnem laktace s vyššími hodnotami mezi 6. – 25. dnem (≥1,28) a pozvolným poklesem pod 1,28 ve 25. dnu (viz Graf 1). Podobně, rostoucí věk při otelení v rámci pořadí laktace se pojil s vyšším T/B, což může souviset s delším intervalem mezi otelením a zabřeznutím, nadměrnou tělesnou kondicí plemenic před otelením a následným zvýšeným odbouráváním tukových rezerv na počátku laktace. Proměnlivost T/B byla dále ovlivněna efektem stáda a sezóny s vyšší hodnotou v období prosinec-květen (1,29) ve srovnání s obdobím červen-listopad (1,25).

Záznamy o nemocech do Deníku pravidelně zadává přibližně 60 chovů. Chovatelé však zaznamenávají různé skupiny nemocí, a část jich nezadává konzistentně výskyt nemocí v každém měsíci. Situaci je třeba monitorovat a povzbuzovat aktivity vedoucí k plošnému a spolehlivému zadávání vytipovaných nemocí, které mají největší dopad na rentabilitu chovu, a odolnost vůči nim by bylo přínosné zohlednit při šlechtění populace. V našem souboru vykázala nejvyšší výskyt metritida s laktační incidencí 9,3 %, kterou zároveň zaznamenávalo nejvíce chovů (49). Nejnižší výskyt byl zjištěn u porodní parézy (Li = 1,9 %). Jako nejvýznamnější efekt ovlivňující výskyt nemocí byl vyhodnocen společný vliv stáda-roku-období otelení. Výskyt nemocí se (s výjimkou metritidy, u které byl nejvyšší na 1 laktaci *Li* = 10 %) významně zvyšoval s pořadím otelení (viz Graf 2), což je u dojnic typické, a výskyt nemocí u prvotelek a krav po dalších oteleních lze také hodnotit jako různé, geneticky korelované znaky (např. Heringstad a kol., 2005, Jamrozik a kol., 2016).

Genetické parametry sledovaných znaků: koeficienty dědivosti, fenotypové a genetické korelace

Odhadnuté koeficienty dědivosti znaků (Tab. 2) vesměs korespondovaly s odhady uváděnými v literatuře. U podílu T/B tato hodnota zpravidla překračuje 10 % (např. Bastin a kol., 2016), u nemocí jsou dědivosti obecně nízké (Koeck a kol., 2012, Pryce a kol., 2016). Pouze náš odhad koeficientu dědivosti pro porodní parézu se s ohledem na vysokou chybu odhadu prakticky nelišil od 0, což je jednak důsledkem malého objemu vstupních dat, ale i relativně nízkým výskytem nemoci u krav na prvních třech laktacích (Li<2). Vyšší hodnoty by bylo zřejmě možné získat, pokud by odhad složek rozptylu mohl využít i údaje starších dojnic. Jak uvádí ve své přehledové studii Pryce a kol. (2016), na základě 9 velkých národních studií dosahuje u holštýnského skotu medián výskytu porodní parézy 2,9 % a odpovídající hodnoty koeficientu dědivosti se pohybují v intervalu 0,01–0,08.

Fenotypové korelace mezi sledovanými znaky se ve většině případů blížily 0, s výjimkou nízkých kladných korelací mezi T/B a ketózou (0,06 ± 0,01) či dislokací slezu (0,10 ± 0,01) (podobně např. Koeck a kol., 2014), případně mezi metritidou a endometritidou (0,18 ± 0,01) a metritidou a dislokací slezu (0,10 ± 0,01).

Genetické korelace mezi T/B a znaky zdraví popisují např. Ederer a kol. (2012), Koeck a kol. (2014), Jamrozik a kol. (2016), či v souhrnu Bastin a kol. (2016). Námi zjištěné střední genetické vazby mezi T/B a ketózou či dislokací slezu korespondují s odhady Koeck a kol. (2014), případně Jamrozik a kol. (2016) provedenými v kanadské populaci holštýnských dojnic. Naše další odhady byly zatíženy poměrně vysokou chybou, a jejich hodnoty se významně nelišily od nuly. Jamrozik a kol. (2016) však popsali i významnou genetickou vazbu mezi T/B a metritidou u prvotelek (0,29 ± 0,11), která se však u starších dojnic vytrácela (0,04 ± 0,12).

Odhady genetických korelací mezi znaky zdraví byly v naší studii ovlivněny nízkou spolehlivostí odhadu aditivně genetické složky. Některé genetické korelace se tak nepodařilo odhadnout (viz Tab. 2), neboť jen část chovů zadávala potřebné údaje o výskytu. Genetické korelace ***mezi reprodukčními a metabolickými***

nemocemi a poruchami bývají zpravidla nízké až střední (Heringstad a kol., 2005, Neuenschwander a kol., 2011), a často se v důsledku vysoké chyby odhadu významně neliší od 0. V naší studii jsme zjistili střední genetickou vazbu mezi metritidou a dislokací slezu (0,41 ± 0,30). Střední genetickou vazbu mezi oběma vlastnostmi popsali také Jamrozik a kol. (2016), další studie uvádějí nižší hodnoty (Parker Gaddis a kol., 2014, Zwald a kol., 2004). Parker Gaddis a kol. (2014) zjistili nesignifikantní genetickou korelaci mezi metritidou a ketózou (0,22 ± 0,14), což se blíží našemu odhadu, který je však zatížen vyšší chybou (0,25 ± 0,45). Jednou z nejvyšších je v našem souboru hodnota genetické korelace mezi dislokací slezu a metritidou, která bývá i v literatuře odhadována jako střední a statisticky významná (Koeck a kol., 2012, Parker Gaddis a kol., 2014, Jamrozik a kol., 2016)

Ve skupině ***poruch reprodukce*** bývají nejvyšší hodnoty genetických korelací mezi zadržením lůžka a metritidou. Náš odhad střední genetické korelace (0,61 ± 0,21) je v souladu s dalšími studiemi, které definují genetickou vazbu mezi oběma znaky jako střední až silnou (Heringstad, 2010, Koeck a kol., 2012) a dávají prodloužení periody, po kterou je porodní kanál otevřený, do souvislosti s vystavením dělohy infekci, a tím pádem vyšší pravděpodobnosti vzniku zánětu (Neuenschwander a kol., 2011). Oproti tomu genetické korelace syndromu ovariálních cyst k zadržení lůžka či metritidě bývají nízké, zpravidla nevýznamné (Koeck a kol., 2012), v některých případech negativní (např. Parker Gaddis a kol. (2014) uvádějí genetickou korelaci -0,30 mezi metritidou a syndromem ovariálních cyst).

Ve skupině ***poruch metabolismu*** (porodní paréza, ketóza) společně s dislokací slezu, byly námi odhadnuté genetické korelace kladné, střední, avšak statisticky nevýznamné. V literatuře bývá nejsilnější genetická vazba zpravidla zaznamenaná mezi ketózou a dislokací slezu. Silnou (0,86 ± 0,52), i když statisticky nevýznamnou, genetickou korelaci mezi oběma znaky zjistili Koeck a kol. (2014), střední, avšak statisticky významnou korelaci odhadli Parker Gaddis a kol. (2014) či Neuenschwander a kol. (2012). Neodhadnutelné či blízké 0 byly v naší studii korelace porodní parézy s ostatními vlastnostmi s výjimkou silné genetické korelace s dislokací slezu. Střední hodnotu genetické korelace mezi těmito dvěma znaky (0,57 ± 0,02) odhadli Ederer et al. (2016). Tito autoři také zjistili střední genetickou korelaci mezi porodní parézou a ketózou (0,45 ± 0,09), nižší hodnotu (0,19 ± 0,12) pak uvádějí Heringstad a kol. (2005).

Plemenné hodnoty

Pro vybrané znaky zdraví byly odhadnuty plemenné hodnoty (PH). Tab. 3. uvádí, jaký byl počet býků s alespoň 30 dcerami, s jakou průměrnou spolehlivostí byly odhadnuty jejich PH, a také laktační incidence nemocí ve skupinách dcer 10 % nejlépe a nejhůře hodnocených býků. Nejvyšší spolehlivosti bylo dosaženo u znaků s nejvyšším objemem vstupních informací, tj. u metritidy a endometritidy, kde záznamy pořizovalo nejvíce chovů, a také byly odhadnuty nejvyšší koeficienty dědivosti. Skupiny dcer se přitom mezi sebou liší výskytem nemocí jen minimálně: lze předpokládat, že výběr býků jen podle fenotypu by nebyl příliš efektivní. Oproti tomu u znaků s malým objemem vstupních informací, kde byl odhadnut nižší koeficient dědivosti, byly PH stanoveny jen s nízkou spolehlivostí, a skupiny dcer se mezi sebou významně liší, což dává tušit, že fenotypová hodnota dcer býků při nízké zjištěné aditivně genetické proměnlivosti výrazně ovlivní výslednou PH. Na tomto srovnání lze sledovat naprosto klíčový význam kvalitních vstupních údajů o fenotypu (výskytu nemocí) zvířat pro veškeré postupy související s odhadem genetických parametrů, plemenných hodnot a následnou selekcí.

Závěr

Pro genetické hodnocení znaků je nejdůležitější kvalita vstupních fenotypových dat. Plošné sledování znaků zdraví je v ČR teprve na začátku, chovy zaznamenávají v různých obdobích různé skupiny nemocí, což prozatím znemožňuje současné hodnocení korelovaných znaků pomocí víceznakového modelu. Tato prvotní studie znaku naznačuje, přes aktuálně poměrně vysoké chyby odhadů genetických parametrů, využitelnost pomocné vlastnosti – podílu tuku a bílkovin v mléce – při genetickém hodnocení ketózy a dislokace slezu, neukázala však jeho genetické korelace k vybraným reprodukčním poruchám.

Seznam literatury

BASTIN, C., THÉRON, L., LAINÉ, A., GENGLER, N. 2016. On the role of mid-infrared predicted phenotypes in fertility and health dairy breeding programs. *J. Dairy Sci*., 99:4080-4094.

EDERER, S., EGGER-DANNER, C., ZOLLITSCH, W., FUERTS-WALTL, B. 2012. Metabolic disorderd and their relationship to milk production traits in Austrian Fleckvieh. 39th ICAR Conf., Berlin, Germany,

HERINGSTAD, B., CHANG, Y.M., GIANOLA, D., KLEMETSDAL, G. 2005. Genetic analysis of clinical mastitis, milk fever, ketosis and retained placenta in three lactations of Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci*., 88:3273-3281.

HERINGSTAD, B., KLEMETSDAL, G., STEINE, T. 2007. Selection responses for disease resistance in two selection experiments with Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.*, 90:2419-2426.

HERINGSTAD, B. 2010. Genetic analysis of fertility-related diseases and disorders in Norwegian Red cows. *J. Dairy Sci.*, 93:2751-2756.

JAMROZIK, J., KOECK, A., KISTEMAKER, G.J., MIGLIOR, F. 2016. Multiple-trait estimates of genotic parameters for metabolic disease traits, fertility disorders, and their predictors in Canadian Holstein. *J. Dairy Sci.*, 99:1990-1998.

KOECK, A., MIGLIOR, F., KELTON, D.F., SCHENKEL, F. 2012. Health recording in Canadian Holsteins: Data and genetic parameters. *J. Dairy Sci.,* 95:4099-4108.

KOECK, A., JAMROZIK, J., SCHENKEL, F. S., MOORE, R.K., LEFEBVRE, D.M., KELTON, D.F., MIGLIOR, F. 2014. Genetic analysis of milk β-hydroxybutyrate and its association with fat-to-protein ratio, body condition score, clinical ketosis, and displaced abomasum in early first lactation of Canadian Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 97:7286-7292.

MADSEN P., JENSEN J. 2010. DMU – a package for analysing multivariate mixed models, Version 6, release 5.0, Aarhus University, Foulum, Denmark.

MARTENS, H. 2020. Transition period of the dairy cow revisited: II. Homeorhetic stimulus and ketosis with implication for Fertility. *J. Agric. Sci*., 12(3): 2-54.

NEUENSCHWANDER, T.F.-O., MIGLIOR, F., JAMROZIK, J., BERKE, O., KELTON, D.F., SCHEFFER, L.R. 2011. Genetic parameters for producer-recorded health data in Canadian Holstein cattle. *Animal*, 6(4):571-578.

PARKER GADDIS, K.L., COLE, J.B., CLAY, J.S., MALTECCA, C. 2014. Genomic selection for producer-recorded health event data in US dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 97:3190-3199.

PRYCE, J.E., PARKER GADDIS, K.L., KOECK, A., BASTIN, C., ABDELSAYED, M., GENGLER, N., MIGLIOR, F., HERINGSTAD, B., EGGER-DANNER, C., STOCK, K.F., BRADLEY, A.J., COLE, J.B. *Invited review*: Opportunities for genetic improvement of metabolic diseases. *J. Dairy Sci.*, 99:6855-6873.

ŠLOSÁRKOVÁ, S., STANĚK, S., PECHOVÁ, A., FLEISCHER, P. 2016. Monitoring onemocnění skotu v České republice. *Veterinářství*, 11:859-865.

ZAVADILOVÁ, L., KAŠNÁ, E., KRUPOVÁ, Z. 2019 a. Genomic breeding values for claw diseases/ disorders in Czech Holstein cows. *Acta Universitatis Agriculturae et Sylviculturae Mendelianae Brunensis*, 67:1245-1251.

Zavadilová, L., Kašná, E., Krupová, Z. 2019 b. Šlechtění na zvýšení odolnosti vůči klinické mastitidě u holštýnského skotu. *Náš chov*, 79(9):25-29.

ZWALD, N.R., WEIGEL, K.A., CHANG, Y.M., WELPER, R.D., CLAY, J.S. 2004. Genetic selection for health traits using producer-recorded data. II. Genetic correlations, disease probabilities, and relationships with existing traits. *J. Dairy Sci.*, 87:4295-4302.

Tabulka 1: Popis hodnocených dat

Znak	Průměr nebo Li (%)	Počet pozorování	Počet stád
T/B	1,27 ± 0,23	449 916	680
Zadržení lůžka	4,7	24 981	45
Metritida	9,3	31 036	49
Endometritida	7,5	15 654	28
Syndrom ovariálních cyst	6,7	13 906	38
Porodní paréza	1,9	5 019	20
Ketóza	2,7	15 090	17
Dislokace slezu	2,7	7 584	13

Li – laktační incidence (podíl laktací s výskytem nemoci z celkového počtu hodnocených laktací)

Tabulka 2: Genetické parametry sledovaných znaků: koeficienty dědivosti na diagonále, genetické korelace nad a fenotypové korelace pod diagonálou tabulky

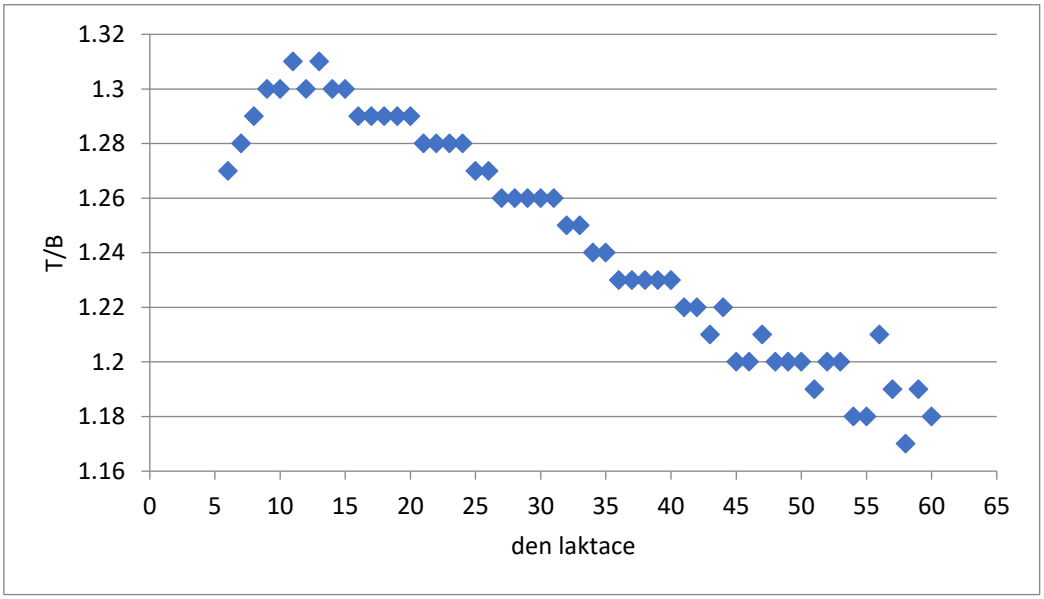
	T/B	ZL	MET	EMET	CYS	PAR	KET	DS
T/B	0,10 ±0,003	-0,15 ±0,15	0,03 ±0,08	0,04 ±0,12	0,10 ±0,16	-0,42 ±0,61	0,38 ±0,25	0,23 ±0,20
ZL	-0,02 ±0,01	0,01 ±0,005	0,61 ±0,21	-0,01 ±0,35	-0,04 ±0,27	X	x	x
MET	-0,01 ±0,01	0,00 ±0,01	0,04 ±0,006	0,45 ±0,20	-0,08 ±0,23	X	0,25 ±0,45	0,41 ±0,30
EMET	0,01 ±0,01	0,01 ±0,01	0,18 ±0,01	0,04 ±0,009	0,38 ±0,22	0,48 ±1,03	x	0,49 ±0,38
CYS	0,00 ±0,01	0,00 ±0,01	0,01 ±0,01	0,00 ±0,01	0,02 ±0,008	X	-0,65 ±0,73	0,16 ±0,48
PAR	0,00 ±0,01	x	x	0,00 ±0,01	x	0,01 ±0,010	x	0,75 ±0,48
KET	0,06 ±0,01*	x	0,00 ±0,01	x	-0,00 ±0,02	X	0,01 ±0,006	0,36 ±1,43
DS	0,10 ±0,02*	X	0,10* ±0,01	0,00 ±0,02	-0,00 ±0,02	0,01 ±0,03	0,04 ±0,01*	0,02 ±0,009

T/B – podíl tuku a bílkovin v mléce, ZL – zadržení lůžka, MET – metritida, EMET – endometritida, CYS – syndrom ovariálních cyst, PAR – porodní paréza, KET – primární klinická ketóza, DS – dislokace slezu; * Odhad korelace se liší od 0; x – na základě zadaných dat je hodnota neodhadnutelná

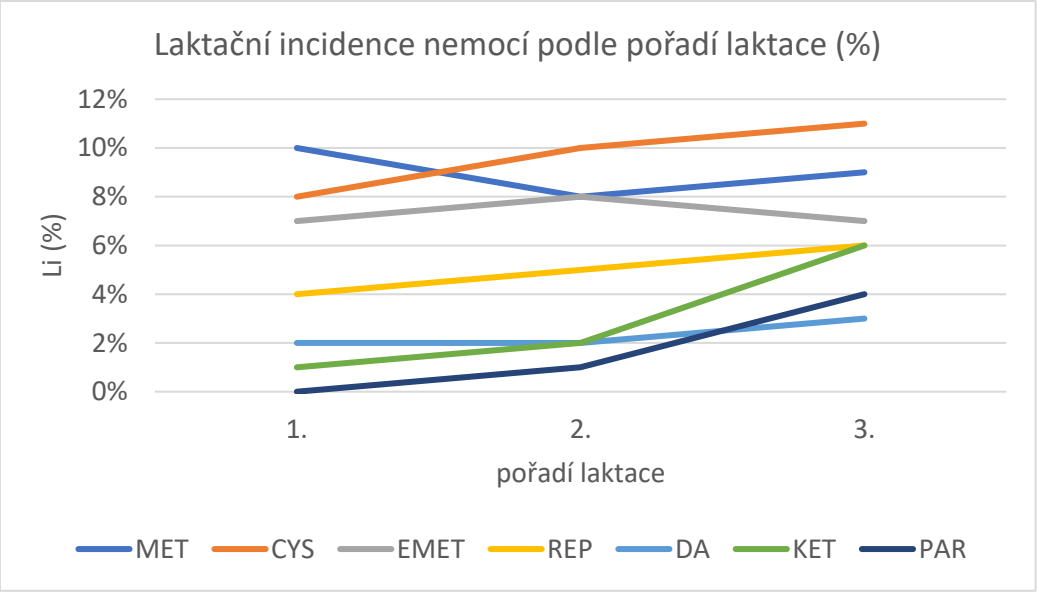
Tabulka 3: Průměrné laktační incidence dcer u 10 % nejlépe a nejhůře hodnocených býků (podle PH) s alespoň 10 dcerami

Znak	Počet otců	Průměrné laktační incidence u dcer (%)			Spolehlivost
		průměr	10 % nejlepších	10 % nejhorších	
Zadržené lůžko	320	4,38	3,80	4,19	32,03
Metritida	353	9,50	9,12	10,53	81,07
Endometritida	168	7,66	7,17	7,52	70,27
Syndrom ov. cyst	181	6,82	3,16	12,30	45,21
Porodní paréza	118	2,14	0,87	6,78	15,71
Ketóza	99	2,99	2,05	8,31	17,71
Dislokace slezu	72	2,82	0,18	9,88	28,76

Graf 1: Průměry poměru mléčného tuku a bílkovin v první KU v laktaci (1.T/B) podle dne laktace (6. – 60. den)



Graf 2: Laktační incidence nemocí podle pořadí otelení



CHARAKTERIZACE GENETICKÉ DIVERZITY POPULACÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ ČESKÉ ČERVINKY A ČESKÉHO STRAKATÉHO SKOTU NA ZÁKLADĚ GENOMICKÉ ANALÝZY SNP MARKERŮ

Characterization of genetic diversity in populations of genetic resources of Czech Red cattle and Czech Pied cattle based on genomic analysis of SNP markers

JITKA KYSELOVÁ[1], ARTUR GURGUL[2,],IGOR JASIELCZUK[2], ZUZANA SZTANKÓOVÁ[1], MICHALA HOFMANNOVÁ[1], KATEŘINA JOCHOVÁ[1], LADISLAV TICHÝ[1,3]

[1] Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves

[2] Instytut Zootechniki PIB, Krakowska 1, Balice, Polsko

[3] Česká zemědělská univerzita, FAPPZ, Praha

Abstrakt

Genetické zdroje (GZ) jsou unikátním a nenahraditelným zdrojem genů pro další zlepšování biologického a hospodářského potenciálu produkčních organismů v zemědělství. Zachování agrobiodiverzity umožňuje čelit změnám prostředí a klimatu, odolávat novým patogenům a rozšiřovat možnosti šlechtění. Cílem studie byl odhad parametrů genetické diverzity GZ české červinky a původního nezušlechtěného plemene českého strakatého skotu a dále porovnání původní české červinky s revitalizovanou populací červinky, která vznikla po převodném křížení s českým strakatým skotem. Genomická analýza SNP markerů a stanovení genotypů bylo provedeno pomocí hybridizace purifikované DNA na standartních bovinních 50K BeadChip miroarrays. Parametry genetické diverzity - heterozygotnost (H), koeficient inbreedingu (F_{IS}), fixační index (F_{ST}) a struktura genetické variability (PCA analýza) byly odhadnuty programem PLINK. Studie prokázala značný stupeň alelického polymorfismu (92,6 - 94,32 %) avšak nižší hodnoty průměrné heterozygotnosti jednotlivých subpopulací (0,362 – 0,377). Za velice pozitivní zjištění lze považovat nulové hodnoty průměrného koeficientu inbreedingu F_{IS}. Podle nízkých hodnot fixačního indexu F_{ST} a výsledku PCA analýzy nejsou mezi populacemi původní a revitalizované červinky významné genetické rozdíly. Získané poznatky byly poskytnuty Národnímu referenčnímu středisku pro genetické zdroje zvířat s ohledem na možné využití v cílené ochraně ohrožených genofondů původních plemen českého skotu.

Klíčová slova: genomika; marker; ochrana zvířat; SNP čip; struktura populace

Abstract

Genetic resources are a unique and unrecoverable source of genes for further improving the biological and economic potential of production organisms. Preserving agrobiodiversity makes it possible to tackle environmental and climate change, resist against new pathogens and expand breeding possibilities. The aim of the study was to estimate the parameters of genetic diversity of Czech Red cattle and the indigenous Czech Pied cattle and to compare the ancient Czech Red cattle with a revitalized population after a back crossbreeding with Czech Pied cattle. Genomic analysis of SNP markers and genotyping were performed by hybridization of purified DNA to the standard Illumina 50K BeadChip bovine

microarrays. Genetic diversity parameters - heterozygosity (H), inbreeding coefficient (F_{IS}), fixation index (F_{ST}) and structure of genetic variability (by means of PCA analysis) were estimated by PLINK. The study showed a significant degree of allelic polymorphism (92.6 - 94.32%), but lower values of the average heterozygosity of particular subpopulations (0.362 - 0.377). The zero values of the average inbreeding coefficients can be considered a very positive finding. According to the low values of the fixation index and the result of the PCA analysis, there are no significant genetic differences between the populations of the ancient and revitalized Czech Red cattle. The findings were provided to the National Reference Center for Animal Genetic Resources with regard to the possible use in the targeted protection of endangered gene pools of the indigenous Czech cattle breeds.
Keywords: animal protection; genomics; marker; population structure; SNP chip

Poděkování

Autoři příspěvku děkují především Ing. Věře Mátlové, koordinátorce Národního referenčního střediska pro genetické zdroje zvířat při VÚŽV a také jejím spolupracovníkům, Ing. Jitce Pikousové, Ing. Tomáši Kottovi, Ph.D. a paní Soně Melčové za všestrannou spolupráci a pomoc při výběru a poskytnutí individuálních vzorků červinky a českého strakatého skotu pro studii genetické diverzity.

Studie vznikla za podpory MZE, institucionální podpora MZE-RO0718.

Úvod

Charakterizace živočišných genetických zdrojů včetně genetické diverzity je považována za jednu ze strategických priorit Globálního akčního plánu FAO (Global Plan of Action for Animal Genetics Resources FAO, 2007). Monitorování genetické diverzity přispívá i k dlouhodobému zachování genetické proměnlivosti v chovech, a především k zavedení cílených opatření v ochraně, šlechtění a celkovém managementu GZ hospodářských zvířat (Zedek et al., 2017). Dlouhodobá snaha o záchranu genofondů národních plemen české červinky (CL) a původního nezušlechtěného typu českého strakatého skotu (C) včetně chovu in situ, vedla nakonec k jejich zařazení do prestižního Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů zvířat významných pro výživu a zemědělství (Národní program), jehož nástrojem jsou implementace metodik uchování genetického zdroje (Hřeben, 2015; Majzlík, 2015). V projektu regenerace ohrožených plemen Národního programu je vedle cíleného připařování využíván i kryokonzervovaný zárodečný materiál – embrya a inseminační dávky původních linií býků. Pozornost je věnována i vytváření depozitu dalších biologických vzorků včetně krve a DNA. Základní ukazatele genetické rozmanitosti, především početní trendy, podíl původních genů, resp. příměs jiných plemen (genetická introgrese) a vývoj koeficientu příbuznosti jsou průběžně aktualizovány podle rodokmenových údajů plemenných knih. Původní práce s poznatky o parametrech diverzity GZ červinky a českého strakatého skotu (ČESTR) jako jsou např. heterozygotnost, efektivní velikost populace a genetická diferenciace, odhadnuté na základě frekvencí genetických markerů, byly provedeny panelem 11, respektive 13 mikrosatelitů a vzájemným porovnáním s několika dalšími plemeny skotu střední Evropy (Czerneková et al., 2006; Čítek et al., 2006). V posledních 10 letech se staly téměř standartním přístupem pro stanovení populační diverzity na genomické úrovni SNP markery (jednonukleotidové záměny DNA) které se považují za geneticky stabilní a vhodné pro vysokokapacitní automatizované analýzy na hybridizujících mikročipech. Aktuální studie přináší vůbec poprvé výsledky získané genotypováním vysokého počtu SNP napříč celým autosomálním genomem u genových zdrojů skotu v ČR. Hlavním cílem studie byl odhad parametrů genetické diverzity a stanovení genetické

struktury ohrožené populace české červinky a kriticky ohrožené populace původního plemene ČESTR. Dalším cílem bylo porovnání české červinky s populací, která vznikala od počátku 90. let po převodném křížení červinky s českým strakatým skotem na Agronomické fakultě Jihočeské univerzity během projektu Regenerace a uchování genofondu českých červinek a jejich uplatnění v ekosystému Šumavy pro produkci kvalitních potravin (Řehout a Dvořák, 1997). Získané poznatky byly poskytnuty Národnímu referenčnímu středisku pro genetické zdroje zvířat při VÚŽV, pro využití v cílené ochraně ohrožených genofondů původních plemen českého skotu.

Materiál a metody

Populace GZ a purifikace DNA

Ke studii byly použity hluboce zmražené krevní vzorky krav (-80 °C) deponované v Genomické sbírce, genobance VÚŽV, v.v.i. Uhříněves a spermatické dávky býků ze spermobanky ČMSCH, a.s. na Hradištku z Národního programu. Analyzovaný soubor byl složen z původní populace červinek (n = 26), revitalizované populace vzniklé po několika generacích převodného křížení červinky s ČESTR (n = 27) a populace původního plemene ČESTR (n = 31). Vybraná zvířata pocházela z konzervačního nukleu VÚŽV a z dalších registrovaných chovů genových zdrojů v ČR a narodila se převážně v rozmezí let 2011–2016. Červinky byly potomky linií BRYLANT, LAD, POLAK, PPC a URAL, zástupci plemene ČESTR pocházely z šesti původních linií BROK, CESAR, FANFÁN, HUBERT, LUCIÁN a MENELÍK. Genomická DNA byla extrahována v laboratoři molekulární genetiky VÚŽV komerčním kolonkovým kitem Clinic SV mini GeneAll Exgene (GeneAll Biotechnology, Korea) podle návodu doporučeného výrobcem. Koncentrace a spektrofotometrická kvalita získané DNA byla stanovena fluorometrem Qubit 2.0 a případný stupeň fragmentace způsobený vlivem dlouhodobého skladování byl testován na 2% (w/v) agarózových gelech. Před samotnou hybridizací na mikročipech byla provedena normalizace koncentrace DNA na 35–50 ng/µl.

Genotypování, kontrola kvality SNP markerů

Genomická analýza DNA byla provedena ve spolupráci s polským Institutem zootechniky v Balicích u Krakova, oddělením Genomiky, na hybridním automatickém přístroji HiScan (Illumina, USA) s programem iScan control. Byl aplikován doporučený manuální protokol Infinium HTS assay bez modifikací a použity Bovine SNP50 v.3 BeadChip microarray (Illumina, USA), které obsahují více než 53 tis. vysoce informativních SNPs stejnoměrně distribuovaných přes celý genom u hlavních kulturních evropských plemen skotu (Matukumalli et al., 2009). Tyto čipy jsou považovány za zlatý standard pro většinu agrigenomických aplikací, používají se pro odhad genomických plemenných hodnot a genomové asociační QTL mapovací studie (GWAS). Nejprve byla provedena kontrola kvality hrubých genotypizačních dat SNP pomocí programu Genome Studio, v.2. Z další analýzy byly vyřazeny SNP markery s call rate < 0,97, bez identifikovatelné genomické pozice, s genotypovacími chybami mezi příbuznými jedinci a markery mitochondriální a na pohlavních chromozómech.

Filtrování dat, statistická analýza

Pro statistickou analýzu byly stanoveny pomocí programu PLINK ver. 1.09 (Purcell et al., 2007) markery s hodnotou MAF > 0,05 a ve shodě s Hardy-Weinbergerovým zákonem (p < 0,001). Současně byly vyjmuty markery, které chyběly u více než 20 % analyzovaných zvířat. Filtrovaná genotypizační data byla dále použita ke statistickému vyhodnocení, stanovení parametrů genetické diverzity heterozygotnosti

(H_e, H_o) koeficientu inbreedingu (F_{IS}) (http://www.cog-genomics.org/plink/1.9/basic_stats#ibc) genetické vzdálenosti mezi populacemi (F_{ST}) (Weir and Cockerham, 1984) a analýze struktury populací stanovením principiálních komponent celkové variability (PCA). Odhady parametrů byly provedeny automaticky sadou nástrojů programu PLINK ver. 1.09 pro analýzu genomu, při využití příbuzenské kovarianční matice.

Výsledky a diskuse

Kvalita DNA uložené v Genomické bance VÚŽV, v.v.i.

Průměrný celkový výtěžek DNA z 200 µl plné krve nebo spermatické dávky byl 8,5 µg a její koncentrace se pohybovala v rozsahu 35–60 ng/µl. Z přibližně 5 % krevních vzorků už nebylo možné izolovat kvalitní DNA, nebo byl její výtěžek extrémně nízký (< 10 ng/µl) a zcela nedostatečný pro molekulární analýzy. Tito jedinci proto nebyli genotypováni. Kvalita DNA měřená poměrem absorbancí nukleové kyseliny a kontaminující bílkoviny byla u většiny izolátů výborná, v rozsahu 1,8–2,0. Z vyhodnocení elektroforegramů purifikovaných vzorků DNA vyplynulo pozitivní zjištění, že ani několikaleté skladování zmražené krve zatím nezpůsobilo devastující fragmentaci DNA. Vzorky krve z genobanky Národního programu lze tudíž využít i pro výzkumné účely, včetně genetické charakterizace chráněných plemen, pokud neprodělaly více cyklů zmražení–rozmražení.

Kontrola kvality SNP markerů

Program PLINK vyřadil z dalšího stanovení 208 markerů s genotypovací chybou, 1173 markerů mitochondriálních nebo ležících na pohlavních chromozómech a 755 markerů, u kterých nebyla určena genomická pozice. Hodnotě MAF < 0,05 nevyhovělo 9 259 SNP, celkem pouze 49 SNP ve všech sledovaných populacích nebylo v souladu s HW zákonem a 76 SNP chybělo u více než 20 % genotypovaných zvířat. Finální dataset obsahoval genotypy pro 41 699 SNP markerů, jejichž alelické frekvence byly následně použity pro statistickou analýzu a stanovení parametrů genetické diverzity.

Základní parametry genetické diverzity

Genetická diverzita byla hodnocena na základě hodnot MAF (minor allele frequency) heterozygotnosti (H) a inbredního koeficientu (F_{IS}), výsledky jsou uvedeny v tabulce 1. Průměrná frekvence máločetných až vzácných variant přes všechny sledované lokusy je u jednotlivých populací blízko hodnotě 0,27. Podíl SNP markerů, které měly hodnotu MAF≥0,05 je vysoký, dosahuje u všech populací hodnot 92,6–94,3 %, což znamená, že naprostá většina analyzovaných lokusů je v dané populaci polymorfní.

Průměrná pozorovaná heterozygotnost (H_o) se pohybovala mezi 0,362 u původní populace červinky po 0,377 u ČESTR. Očekávaná heterozygotnost se nacházela v rozsahu 0,346–0,356. Rozdíl mezi očekávanou a pozorovanou heterozygotností nebyl významný. Nicméně hodnoty heterozygotnosti, jako ukazatele alelické variability, jsou ve sledovaných souborech zvířat této studie v porovnání se studií z roku 2006 (Czerneková et al., 2006) poměrně nízké. Autoři této studie uvádí průměrnou H_o = 0,789 u červinky a H_o = 0,779 u ČESTR. Aktuální výsledky jsou blíže hodnotám H_o = 0,403 a H_o = 0,506, které pro červinku, resp. ČESTR uvádí Čítek et al. (2006). Mohlo by se tedy zdát, že během posledních let došlo jak u červinky, tak u ČESTR k významné redukci heterozygotnosti a zhoršení genetické variability populace. Domníváme se však, že odhady H_o získané vyhodnocením omezeného počtu mikrosatelitů ve starší studii nemusí plně odpovídat reálné skutečnosti v analyzovaných populacích GZ. V zahraniční

literatuře se naproti tomu uvádí podobné hodnoty H_e, jaké jsme nyní odhadli my; pro evropská plemena skotu se jedná průměrně o hodnotu H_e = 0,3 (Gautier et al., 2007).

Snížení heterozygotnosti může být důsledkem např. malé velikosti efektivní populace, včetně nedostatečného počtu otců a příbuzenské plemenitby (inbreedingu). Případný negativní vliv inbreedingu se však v současné studii neprokázal. Naopak program PLINK vyhodnotil u 2 testovaných generací zvířat průměrný koeficient F_{IS} blízký nule. Pro odhad inbreedingu z dlouhodobého hlediska by však bylo třeba genotypovat více generací, což přesahovalo možnosti aktuální studie.

Tabulka 1 **Indikátory genetické diverzity**

Plemeno	n	MAF	% markerů s MAF ≥ 0,05	H_e	H_o	F_{IS}
CL pův	26	0,261	92,60	0,346	0,362	-0,045
CL pře	27	0,267	94,32	0,352	0,373	-0,057
CL	53	0,267	93,75	0,353	0,367	-0,042
C	31	0,270	92,71	0,356	0,377	-0,061

CL pův: původní populace červinky, CL pře: populace červinky z převodného křížení, CL celá populace červinky původní + z převodného křížení, C: populace českého strakatého skotu, MAF: frekvence minoritní alely, H_e: očekávaná heterozygotnost, H_o: pozorovaná heterozygotnost, F_{IS} koeficient inbreedingu. Záporné hodnoty jsou artefakty výpočetního postupu.

Genetická vzdálenost mezi plemeny a populacemi

Párové genetické vzdálenosti odhadnuté pomocí fixačního indexu F_{ST} mezi populacemi jsou uvedeny v tabulce 2. Genetické rozdíly způsobené mezipopulační variabilitou jsou velice malé, mezi původní populací červinky a populací vzniklou z převodného křížení jsou prakticky nulové (F_{ST} = -0,0006). Výsledky potvrzují stejný genetický základ u obou populací a jejich „genetickou identitu“. Revitalizovaná populace může být po několika generacích cíleného převodného křížení dnes považována z genetického hlediska za téměř rovnocennou k původní, sdílí spolu podstatnou část genetické diverzity. Dále je zde patrný i značný vliv společných předků a šlechtitelské provázanosti a genetická „blízkost“ červinky s ČESTR. Podle Čítek et al. (2006) je dokonce vzájemná genetická vzdálenost DA (Nei et al., 1983) mezi červinkou a ČESTR (0,056) menší než mezi fylogeneticky blízkými červenými středoevropskými plemeny, tj. českou, polskou a německou červinkou (0,072–0,085). Z nynější studie vyplývá, že pouze 7,79 % celkové genetické diferenciace může být přičítáno na vrub genetických rozdílů mezi původní populací červinky a ČESTR; podobně se jedná o 7,82 % mezi červinkou z převodného křížení a ČESTR a 7,55 % mezi celou populací červinky a ČESTR. Naopak Czerneková et al. (2006) uvádějí standartní vzdálenost podle Nei (1972) mezi GZ červinky a ČESTR až jako druhou nejnižší a geneticky „blíž“ je české červince spíše polská červinka. Fixační index není pouze měřítkem genetické vzdálenosti, ale má vztah také k variabilitě alelické frekvence v populaci. V případě české červinky se ukazuje, že alelické frekvence SNP markerů jsou u obou jejích populací velmi podobné. V porovnání s tím jsou rozdíly v alelických frekvencích mezi populacemi červinky a ČESTR podstatně větší.

Tabulka 2 **Genetická vzdálenost mezi populacemi, F_{ST}**

	F_{ST}			
Plemeno	CL pův	CL přev	CL celá	C
CL pův	x	-0,0003	x	0,0888
CL pře	-0,0006	x	x	0,0695
CL	x	x	x	0,0837
C	0,0779	0,0782	0,0755	x

CL pův: původní populace červinky, CL pře: populace červinky z převodného křížení, CL celá populace červinky původní + z převodného křížení, C: populace českého strakatého skotu. Průměr nad diagonálou, vážený průměr pod diagonálou. Záporné hodnoty jsou artefakty výpočetního postupu.

Genetická struktura populací

Genetické vztahy mezi populacemi byly stanoveny také analýzou principiálních komponent (PCA). Výsledky výpočtu PCA jsou přehledně znázorněny grafem na obrázku 1. Bylo odhadnuto celkem 10 principiálních komponent, přitom PCA1 představovala 28,1 % a PCA2 11,9 % z celkové variance. Graf představuje komplexní ilustraci struktury genetické variability v hodnocených populacích a také charakterizuje jejich divergenci. Každé jednotlivé zvíře je v něm reprezentováno na základě svých PCA koordinát. Populace ČESTR je jasně oddělena od obou populací české červinky a to jak originální tak i z převodného křížení. Tuto skutečnost potvrzují také vyšší hodnoty fixačního indexu F_{ST}. Populační skupina je geneticky mnohem kompaktnější, sevřenější a vztahy mezi jednotlivými zvířaty jsou těsnější, to odpovídá skutečnosti konzervačního nuklea a nižší genetické proměnlivosti. Je to však také důsledek menší velikosti hodnocené populace ČESTR a celkově nižšího počtu otců než u červinky. Dále graf znázorňuje i vzájemné prolínání a propojení mezi originální populací červinky a populací z převodného křížení a jejich genetickou blízkost po 4–5 proběhlých generacích. Uvnitř celé populační skupiny české červinky je na rozdíl od populace ČESTR patrná jasná disperze, rozvolnění klastrů a menší „genetická podobnost“ a větší genetická rozmanitost.

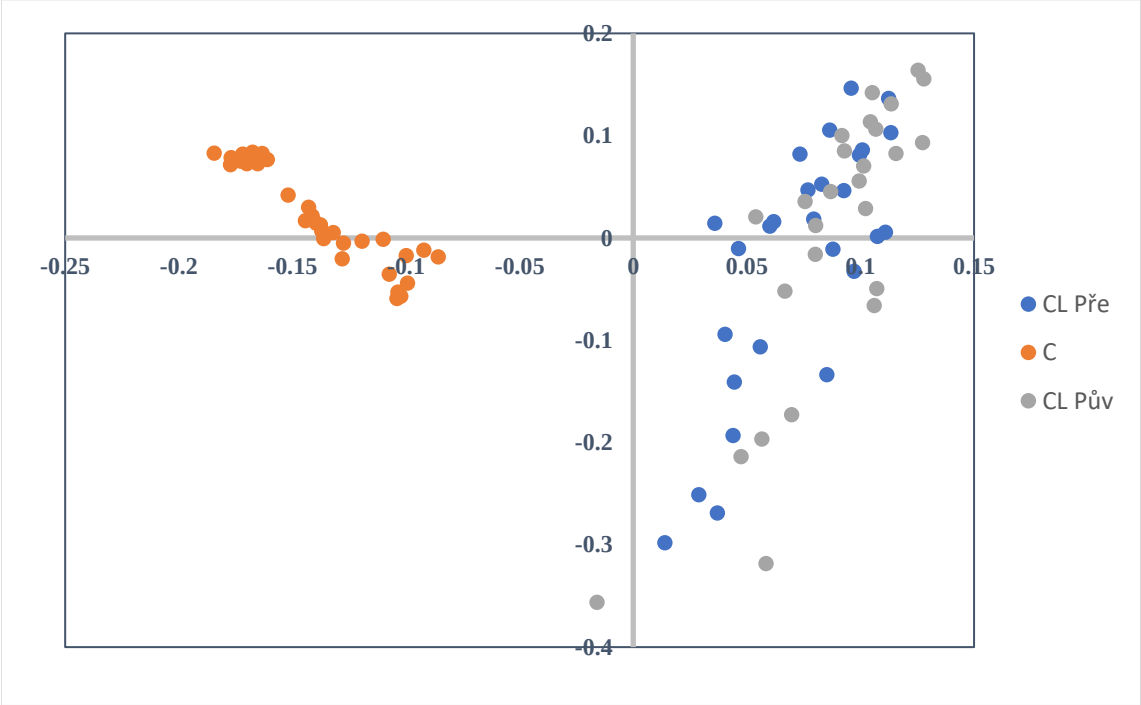
ZÁVĚR

Genomická charakterizace genetických zdrojů české červinky a původního českého strakatého skotu byla provedena vůbec poprvé pomocí vysokokapacitního genotypování SNP markerů na bovinních 50K Illumina mikročipech. Analýza ukázala vysoký stupeň genetického polymorfismu a na druhé straně spíše nižší hodnoty heterozygotnosti jako základního ukazatele genetické diverzity. Za velice pozitivní zjištění je možné považovat nulové hodnoty koeficientu inbreedingu u jednotlivých populací. Odhad genetické vzdálenosti a analýza PCA potvrdily, že mezi původní a revitalizovanou populací české červinky po převodném křížení nejsou významné genetické rozdíly, sdílí spolu podstatnou část genetické diverzity. Analýza také jasně oddělila populační skupiny podle jejich historického původu a potvrdila, že původní česká plemena skotu červinka a ČESTR jsou si geneticky velmi blízké.

Genetické zdroje a s nimi spojená genetická diverzita budou hrát stále větší roli při výzkumu, jehož výsledkem budou nové nebo odolnější odrůdy rostlin a plemena zvířat. Genetické zdroje se tak budou podílet na snaze o snižování vstupů agrochemikálií a energií do zemědělství, adaptaci zemědělství ke klimatickým změnám

a omezování jejich negativních dopadů. Genetické zdroje zvířat sdružené v systému Národního programu jsou také příspěvkem ČR v globálním úsilí o zachování biologické rozmanitosti a agrobiodiverzity.

Obrázek 1 Výsledky analýzy PCA alelických frekvencí 41699 SNP markerů, 84 zvířat ze 3 populací



CL Pře: populace červinky z převodného křížení, CL Pův: původní populace červinky, C: populace českého strakatého skotu

Seznam literatury

CITEK, J., PANICKE, L., REHOUT, V., PROCHAZKOVA, H. Study of genetic distances between cattle breeds of Central Europe. 2006. Czech J Anim Sci. 51; 10: 429-436.

CZERNEKOVA, V., KOTT, T., DUDKOVA, G., SZTANKOOVA, Z., SOLDAT, J. Genetic diversity between seven Central European cattle breeds as revealed by microsatellite analysis. 2006. Czech J Anim Sci. 51; 1:1-7.

GAUTIER, M., FARAUT, T. MOAZAMI-GOUDARZI, K. NAVRATIL, V. FOGFIO, M. ET AL. Genetic and haplotypic structure in 14 European and African cattle breeds. 2007. Genetics 177; 2: 1059-1070.

Global Plan of Action for Animal Genetics Resources and the Interlaken Declaration, FAO, Rome, Italy 2007.

HŘEBEN, F. Metodika uchování genetického zdroje zvířat. Plemeno: Český strakatý skot. 2015. VÚŽV, v.v.i. Metodika národního programu pro uchování živočišných genetických zdrojů.

MAJZLÍK, I. Metodika uchování genetického zdroje zvířat. Plemeno: Česká červinka. 2015. VÚŽV, v.v.i. Metodika národního programu pro uchování živočišných genetických zdrojů.

MATUKUMALLI L. K., LAWLEY, C. T., SCHNABEL, R. D., TAYLOR, J. F., ALLAN, M. F. ET AL. Development and Characterization of a High Density SNP Genotyping Assay for Cattle. 2009. Plos One 4; 4: e5350.

NEI, M. Genetic distances between populations. 1972. Am Natur 106, 283–292.

NEI, M., TAJIMA, F., TATENO, Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. 1983. J. Mol Evol 19, 153–17.

PURCELL, S., NEALE, B., TODD-BROWN, K., THOMAS, L., FERREIRA, M. A. R. ET AL. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. 2007. Am J Human Genetics 81; 3:559-575.

ŘEHOUT, V., DVOŘÁK, J. Výroční zpráva projektu NAZV EP0960006215 Projekt regenerace a uchování genofondu českých červinek a jejich uplatnění v ekosystému Šumavy pro produkci kvalitních potravin. 1997. JU ZF České Budějovice.

WEIR, B. S., COCKERHAM, C. C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population-Structure. 1984. Evolution 38; 6: 1358 – 1370.

ZEDEK, V., KŘÍŽKOVÁ, I., KOSOVÁ, M., HOLUBEC, V., MÁTLOVÁ, V., KOMÍNEK, P., PAPOUŠKOVÁ, L., NOVOTNÝ, D., JANOVSKÁ, D. Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství na období 2018 – 2022. Vydalo Ministerstvo zemědělství, Praha, Česká republika 2017.

GENETICKÁ DIVERZITA LOKÁLNYCH POPULÁCIÍ KONÍ NA SLOVENSKU

Nina Moravčíková[1], Radovan Kasarda[1], Juraj Candrák[1], Marko Halo[2], Anna Trakovická[1], Ondrej Kadlečík[1], Michal Horný[3], Silvia Mindeková[4], Lenka Neupane-Mlyneková[4]

[1]Katedra genetiky a plemenárskej biológie, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Slovenská republika

[2]Katedra špeciálnej zootechniky, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Slovenská republika

[3]Národný žrebčín Topoľčianky, š.p., Slovenská republika

[4]Plemenárske služby Slovenskej republiky, š.p.

Abstrakt

Cieľom tejto práce bolo sumarizovať poznatky viacerých štúdií zaoberajúcich sa genetickou diverzitou lokálnych plemien koní na Slovensku, ktoré sa radia medzi významné živočíšne genetické zdroje prispievajúce ku krajinotvorbe a kultúrnemu dedičstvu. V rámci teplokrvných plemien koní boli hodnotené populácie plemien furioso, nonius, lipican a slovenský teplokrvník. Z chladnokrvných plemien bola sledovaná populácia norika muránskeho. V rámci mikrosatelitných markerov boli s cieľom vyhodnotenia genetickej variability vypočítané priemerný počet alel, efektívny počet alel, heterozygotnosť, Shannonov informačný index a fixačné indexy. V prípade SNP markerov, boli tieto doplnené o genomický koeficient inbrídingu, efektívnu veľkosť populácie a stanovenie dopadu selekcie na genóm vybraných plemien koní. Vnútropopulačná fragmentácia bola testovaná prostredníctvom diskriminačnej analýzy základných komponentov. Zistená priemerná úroveň génovej diverzity (0,72) a heterozygotnosti (0,89) v rámci populácií poukazovala na prevahu heterozygotných jedincov a teda dobrú úroveň genetickej variability v rámci nich, čo potvrdila aj negatívna hodnota F_{IS} indexu (-0,25). Pri vzájomnom porovnávaní plemien bola vyššia genetická podobnosť zistená medzi plemenami nonius a furioso (D_a=0,16), čo vyplýva hlavne z pôvodu plemena furioso. Bližší pohľad na lipicanskú populáciu poukázal na vysoký podiel jedinečných alel najmä v prípade slovenskej subpopulácie. Analýza efektívnej veľkosti lipicanských subpopulácií (od 32,4 do 131,5) však preukázala nízky počet základných predkov a stratu genetickej variability v dôsledku náhodného genetického driftu. Najvyššia genetická podobnosť so slovenskou populáciou bola preukázaná v prípade maďarských lipicanov, čo potvrdila aj analýza intenzity migrácie medzi jednotlivými subpopuláciami. Možno konštatovať, že relatívne nízka efektívna veľkosť zistená nielen u plemena lipican je výsledkom poklesu počtu jedincov za posledné roky, podielu kobýl a žrebcov využívaných v aktívnej plemenitbe, pričom zároveň reflektuje intenzívnu šľachtiteľskú prácu s cieľom homogenizácie žiaducich fenotypov zadefinovaných v plemenných štandardoch.

Kľúčové slová: diverzita; genetický marker; kone; lokálne plemená

Abstract

This study aimed to summarise the results of several studies dealing with the genetic diversity of local horse breeds in Slovakia that are recognised as important animal genetic resources of small homelands and cultural heritage. From warmblood horses, populations of Furioso, Nonius, Lipizzan and Slovak warmblood horse were analysed. The Norik of Muran was evaluated as a representative of coldblood

horses. Concerning genetic diversity, a mean number of alleles, effective allele number, heterozygosity, Shannon's information index and fixation indexes were calculated based on microsatellite markers. In the case of SNP markers, these were supplemented by the genomic inbreeding coefficient, effective population size and the determination of the impact of selection on the genome of selected horse breeds. Intrapopulation fragmentation was tested by discriminant analysis of principal components. The observed average level of gene diversity (0.72) and heterozygosity (0.89) within each population showed the prevalence of heterozygotes, thus sufficient level of genetic diversity. This was confirmed by the negative value of F_{IS} index (-0.25). When comparing breeds, a higher genetic similarity was found between the Nonius and Furioso breeds (D_a = 0.16), which is mainly due to the origin of the Furioso. A closer look at the Lipizzan population pointed to a high proportion of unique alleles, especially in the case of the Slovak subpopulation. However, analysis of the effective size of the Lipizzan subpopulations (from 32.4 to 131.5) showed a low number of founders and a loss of genetic variability due to random genetic drift. Hungarian Lipizzaners showed the highest genetic similarity to the Slovak population, which was also confirmed by the analysis of migration rate between particular subpopulations. Generally, the relatively low effective population size found not only in the Lipizzan breed is the result of a decrease in the animals' number in recent years, the proportion of mares and stallions used in active breeding and reflecting intensive breeding work to homogenise the desired phenotypes defined in breeding standards of each population.

Keywords: diversity; genetic marker; horses; local breeds

Poďakovanie

Táto práca vznikla s podporou vedecko-výskumných projektov APVV-14-0054 a APVV-17-0060.

Úvod

Otázka uchovania genetickej diverzity lokálnych, častokrát málopočetných, populácií sa v posledných rokoch stala jednou z najvýznamnejších tém mnohých vedeckovýskumných pracovísk a to v globálnom meradle. Hlavným dôvodom je skutočnosť, že v dôsledku rapídneho zníženia genetickej diverzity dochádza postupne k strate schopnosti populácií prispôsobiť sa environmentálnym zmenám a tým pádom aj k zníženiu schopnosti ich dlhodobej prežiteľnosti. Z pohľadu málopočetných a najmä uzavretých populácií je preto dôležité uchovávať čo možno najvyššiu mieru biodiverzity reprezentovanú genetickou variabilitou, mierou príbuzenskej plemenitby a ich efektívnou veľkosťou. Predchádzajúce štúdie jasne poukázali na fakt, že genetické zlepšenie bez kontroly inbrídingu vedie k zníženiu genetickej variability a vzniku inbrédnej depresie, negatívne ovplyvňujúcej produkčné znaky a fitnes populácií (Pjontek et al., 2012; Vostrá-Vydrová et al., 2016; Vostrý et al., 2017). Spomalením nárastu inbrídingu resp. intenzity príbuzenskej plemenitby sa dá genetická diverzita zachovať alebo sa môže aspoň spomaliť aspoň jej strata, čo umožňuje v konečnom dôsledku dlhodobejšie uchovávanie genofondu lokálnych plemien. V rámci tradičných šľachtiteľských stratégií sa úroveň inbrídingu odhaduje primárne na základe genealogických informácií, avšak neúplná informácia o pôvode jedincov resp. nekorektné priradenie predkov k danému jedincovi vedie k nesprávnym odhadom miery príbuznosti a inbrídingu. Jedným zo spôsobov ako redukovať takéto nedostatky je aplikácia celogenómových SNP panelov, ktoré poskytujú sofistikovaný nástroj pre zvýšenie presnosti odhadu príslušnosti jedincov k plemenným líniám a rodinám ako aj miery inbrídingu a príbuznosti na celogenómovej úrovni. Väčšina molekulárno-genetických štúdií bola doposiaľ založená na testovaní mikrosatelitných markerov, ktoré sa vyznačujú určitými výhodami najmä v súvislosti s prípravou konzervačných stratégií

ohrozených populácií (Achmann et al., 2004; Dovc et al., 2006; Bordonaro et al., 2012). Avšak mikrosatelitné systémy sú postupne nahrádzané SNP markermi a to najmä genotypizačými mikročipmi analyzujúcimi súčasne veľké množstvo jednonukleotidových polymorfizmov (50000 a viac), ktoré pokrývajú na rozdiel od mikrosatelitných markerov celý genóm. Naviac súčasná relatívne dobrá finančná dostupnosť analýz založených na SNP mikročipoch umožňuje realizovať celogenómový skríning na omnoho väčšom počte zvierat ako tomu bolo v minulosti (Kukučková et al. 2017; Kasarda et al., 2019a; Moravčíková et al., 2019a).

Podľa odhadov Organizácie spojených národov pre výživu a poľnohospodárstvo (FAO) tvorí svetovú populáciu koní približne 60 miliónov jedincov. Bohužiaľ na Slovensku trend vývoja početnosti jednotlivých lokálnych populácií takýto pozitívny nie je. Rozvoj šľachtenia koní bol v našom regióne negatívne ovplyvnený najmä privatizáciou v 90. rokoch 20. storočia častokrát sprevádzanej bankrotom súkromných žrebčínov čistokrvných plemien. V súčasnosti populácia koní dosahuje podľa FAO okolo 6100 kusov zvierat, čo Slovensko radí na posledné miesto v rámci regiónu strednej Európy. Napriek nízkej efektívnej veľkosti jednotlivých populácií je variabilita plemien pomerne široká. Lisáková (2009) uviedla, že v roku 2008 bolo na Slovensku chovaných 11068 jedincov 27 rôznych plemien. Avšak vzhľadom na aktuálny stav početnosti jedincov zapísaných v plemenných knihách možno plemená ako furioso (25 žrebcov a 175 kobýl), nonius (7 žrebcov a 175 kobýl) alebo napríklad norik muránsky (23 žrebcov a 135 kobýl) považovať za významne ohrozené stratou genetickej diverzity. Podľa Zväzu chovateľov koní na Slovensku plemenná kniha slovanského teplokrvníka zahŕňa v súčasnosti 79 žrebcov a 1114 kobýl. U plemena lipican je v plemennej knihe evidovaných 307 žrebcov a 458 kobýl, pričom stádo lipicanov chovaných v Národnom žrebčíne v Topoľčiankach má v priemere 40 lipicanských kobýl, 3 – 4 kmeňové žrebce a dorast kobyliek a žrebčekov.

V minulých obdobiach boli analýzy genetickej diverzity a straty heterozygotnosti u plemien koní chovaných na Slovensku realizované takmer výlučne na základe genealogických informácií (Pjontek et al., 2012; Pavlík et al., 2014; Halo et al., 2018). V súčasnosti však najmä v dôsledku dostupnosti údajov z testovania paternity pomocou mikrosatelitných panelov, genotypizácie na základe SNP mikročipov a mtDNA bolo možné výskum v oblasti diverzity lokálnych populácií koní na Slovensku rozšíriť o molekulárno-genetické štúdie (Kasarda et al., 2016a,b; Kasarda et al., 2018; Moravčíková et al., 2017; Kasarda et al., 2019a,b; Moravčíková et al., 2019b,c; Moravčíková et al., 2020). Cieľom tejto práce je sumarizovať najvýznamnejšie poznatky týchto štúdií a priniesť celkový náhľad na stav genetickej diverzity plemien, ktoré sa radia medzi významné živočíšne genetické zdroje významnou mierou prispievajúce ku krajinotvorbe Slovenska.

Materiál a metodika

V rámci teplokrvných plemien koní boli hodnotené populácie plemien furioso, nonius, lipican a slovenský teplokrvník. Z chladnokrvných plemien bola sledovaná populácia norika muránskeho. Na základe údajov z paternitného testovania bola zostavená databáza celkovo 1411 zvierat, genotypovaných pre 17 mikrosatelitných systémov. Z výsledkov genotypizácie realizovanej na základe aplikácie 70k SNP panelu bola následne pre 120 zvierat zostavená databáza SNP markerov. Keďže získané genotypové informácie a to ako v prípade plemien koní tak aj dobytka sú kompatibilné nielen navzájom ale aj s voľne dostupnými databázami boli v rámci komparatívnych štúdií pripravené robustné databázy, pokrývajúce okrem primárne hodnotených plemien aj ďalšie európske populácie, ktoré sa podieľali na ich utváraní v minulosti.

Testovanie diverzity na základe mikrosatelitných markerov

Potenciálna strata genetickej diverzity v rámci testovaných populácií bola vyjadrená na základe priemerného počtu alel (*MNA*), efektívneho počtu alel (N_a), pozorovanej heterozygotnosti (H_o), génovej diverzity (H_e), Shannonovho indexu (*I*) a Wrigtovej F-štatistiky pomocou softvéru Genalex 6.1. Významnosť odchýlky od Hardy-Weinbergovej rovnováhy, poukazujúca na zvýšenie homozygotnosti resp. dopadu selekcie a zvýšenia inbrídingu, bola testovaný Chí-square testom. Hierarchická distribúcia molekulárnej variancie bola hodnotená pomocou analýzy molekulovej variancie (AMOVA) a softvéru Arlequine v3.5. Genetické vzťahy na vnútro a medzipopulačnej úrovni boli vyjadrené pomocou Neiových genetikých vzdialeností (D_a) a Wrightovho F_{ST} indexu. Genetická diferenciácia a vnútropopulačná fragmentácia bola testovaná pomocou diskriminačnej analýzy základných komponentov (DAPC) s využitím softvérového balíka Adegenet.

Testovanie diverzity na základe SNP mikročipov

V rámci genotypizácie SNP markerov (GGP Equine70k) boli testované jedince reprezentujúce nukleus plemien lipican, slovenský teplokrvník a norik muránsky. V prvej fáze analýz bola realizovaná pomocou programu PLINK v1.9 štandardná kontrola genotypových údajov (Moravčíková et al., 2019a) s cieľom selekcie autozomálnych lokusov s vysokou informatívnou hodnotou pre analýzu diverzity. Genomický koeficient inbrídingu (F_{ROH}) bol definovaný ako podiel genómu vyjadrený prostredníctvom homozygotných úsekov (ROH) s určitou minimálnou dĺžkou, ktorá je relatívna vzhľadom na celkový autozomálny genóm, pokrytý SNP markermi na čipe. Vplyv selekcie na štruktúru genómu testovaných plemien bol analyzovaný na základe úrovne väzbovej nerovnováhy (LD), integrovaného skóre haplotypov (iHS) a distribúcie homozygotných úsekov v genóme. Hodnoty LD pre všetky párové porovnania SNPs v rámci chromozómov boli počítané za úseky obsahujúce 50 markerov. Selekčné signály boli identifikované na základe výpočtu štandardizovaného varLD skóre (S_i'). Integrované skóre haplotypov bolo vypočítané pomocou softvérového balíka programu R rehh. Za oblasti najvýznamnejšie ovplyvnené selekciou boli považované regióny obsahujúce 99,999 % signálov v danom genomickom úseku. V skríningu genomickej distribúcie ROH úsekov boli za selekčné signály považované segmenty obsahujúce minimálne 15 po sebe nasledujúcich homozygotných SNP markerov, s veľkosťou > 4000 kbp, minimálnou hustotou 1 SNP na 100 kbp a maximálnou vzdialenosťou medzi markermi 1 Mbp. Signifikantné signály selekcie boli vyjadrené prostredníctvom SNP markerov, ktoré sa vyskytovali v rovnakých ROH segmentoch u viac ako 50 % hodnotených zvierat. Pre následnú funkčnú analýzu a detekciu proteín-kódujúcich génov nachádzajúcich sa vo vnútri identifikovaných oblastí bol využití program Biomart (referenčná sekvencia EquCab2.0).

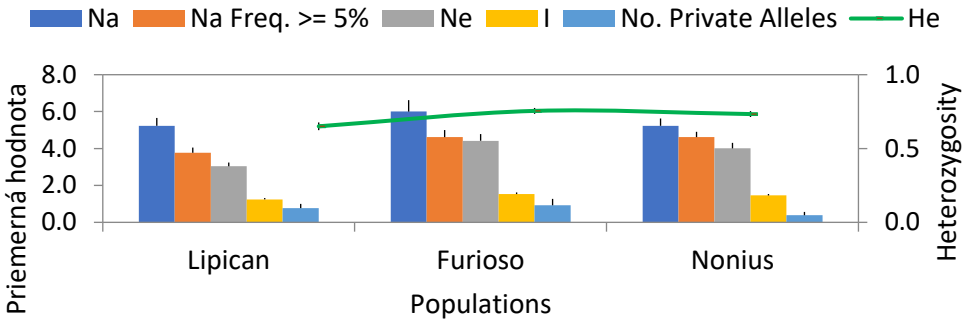
Výsledky a diskusia

Testovanie diverzity na základe mikrosatelitných markerov

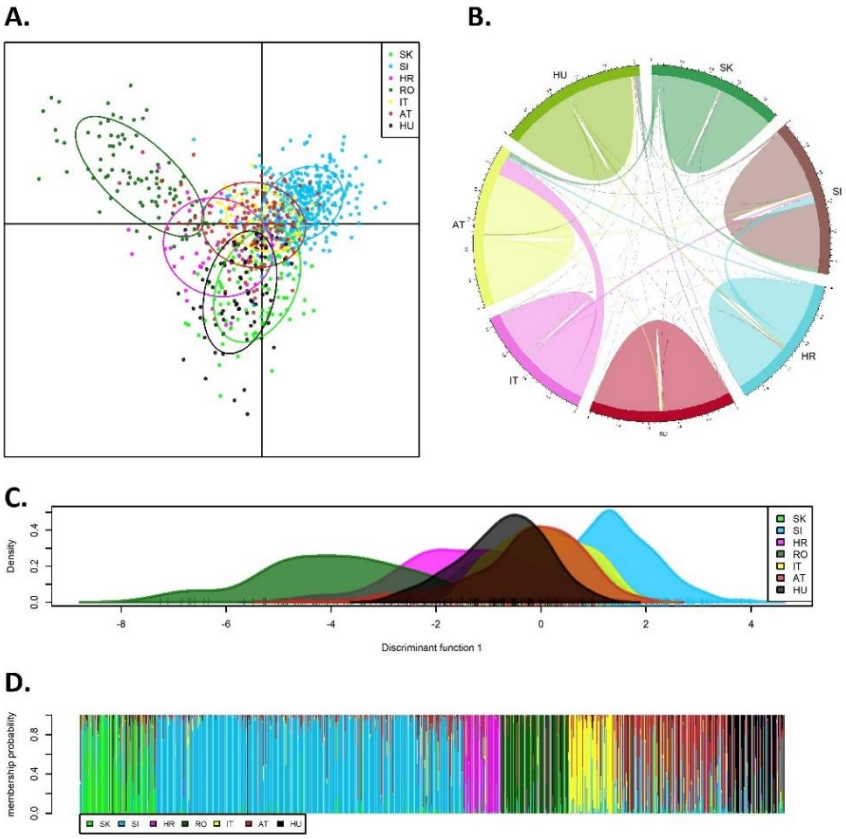
V rámci analýz boli použité jedince reprezentujúce genofond plemien lipican, furioso a nonius na Slovensku. Zistená úroveň génovej diverzity (0,72) a heterozygotnosti (0,89) v rámci populácií poukazovala na prevahu heterozygotných jedincov a teda dobrú úroveň genetickej variability v rámci nich. Túto skutočnosť potvrdila aj zistená negatívna hodnota F_{IS} indexu (-0,25) (Obr. 1). Z výsledkov chí-kvadrát testu vyplynulo, že populácie boli v Hardy-Weinbergovej rovnováhe a teda faktory ako selekcia, inbríding alebo migrácia nemali na ich genofond významnejší vplyv. Shannonov informačný index (I=1,41) potvrdil, že úroveň variability najmä s ohľadom na zachovanie súčasného stavu diverzity bola dobrá. Genetické vzdialenosti na vnútro a medzi populačnej úrovni jednoznačne indikovali distribúciu jedincov do 3 klastrov, korešpondujúcich s ich plemenným pôvodom. Pri vzájomnom porovnávaní plemien bola vyššia genetická podobnosť zistená medzi

plemenami nonius a furioso (D_a=0,16), čo vyplýva hlavne z pôvodu plemena furioso (niektoré kobyly podieľajúce sa na jeho utváraní patrili práve k plemenu nonius (Kasarda et al., 2018).

Pri bližšom pohľade na lipicanskú populáciu bola posudzovaná miera jej fragmentácie, úroveň diverzity, sila migrácie a efektívna veľkosť populácie s ohľadom na najvýznamnejšie európske žrebčíny (Obr. 2). Početná základňa jedincov s údajmi o genotype (951) poskytla veľmi precízny náhľad na genofond tohto plemena v celoeurópskom meradle. Indikátory genetickej diverzity signalizovali dostatočnú mieru genetickej diverzity v rámci jednotlivých subpopulácií, kedy očakávaná heterozygotnosť mala hodnotu od 0,63 (Taliansko) do 0,69 (Slovensko). Priemerná hodnota Shannonovho indexu (I=1,28) potvrdila vysokú úroveň medzipopulačnej genetickej diverzity (Kasarda et al., 2016; Moravčíková et al., 2017).



Obrázok 1. Genetická diverzita testovaných plemien na základe mikrosatelitných markerov (Na – priemerný počet alel, Ne Freq. >= 5% - priemerný počet alel s frekvenciou vyššou/rovnou ako 5%, Ne - efektívny počet alel, I – Shannonov informačný index, No. Private Alleles – priemerný počet jedinečných alel, He – génova diverzita) (Kasarda et al., 2018)



Obrázok 2. Genetická štruktúra lipicanskej populácie na základe DAPC analýzy (A.), intenzita migrácie medzi subpopuláciami (B.), genetické klastre na základe 1. diskriminačnej funkcie (C.) a podiel admixie medzi subpopuláciami (D.) (Moravčíková et al., 2017)

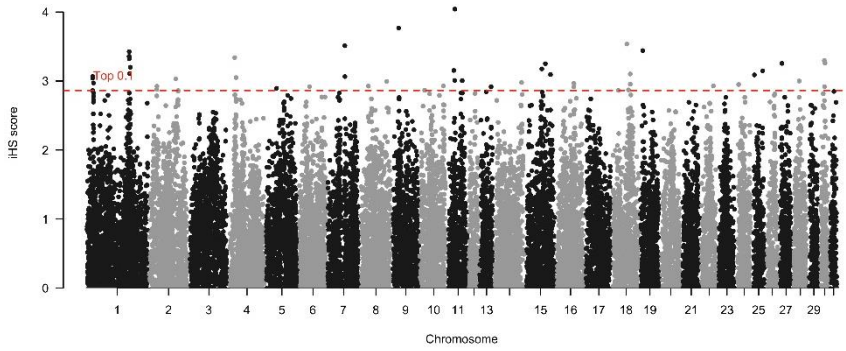
Počet jedinečných alel, typických pre tú ktorú populáciu, sa pohyboval od 0,62 (Slovensko) do 0,08 (Chorvátsko). Ani u jednej zo sledovaných populácií F_{IS} index nenaznačoval negatívny dopad inbrídingu. Avšak nízke odhady efektívnej veľkosti populácie (od 32,4 do 131,5) potvrdili nízky počet základných predkov a stratu genetickej variability v dôsledku náhodného genetického driftu. Preukazný vplyv bottleneck efektu nebol sledovaný ani u jednej z hodnotených populácií. Najvyššia genetická podobnosť so slovenskou populáciou bola preukázaná v prípade maďarských lipicanov, čo potvrdila aj analýza intenzity migrácie medzi jednotlivými subpopuláciami. Pochopenie vzťahov medzi fragmentovanými populáciami ako aj intenzity migrácie jedincov medzi nimi má veľký význam hlavne pre dlhodobé uchovávanie genofondu plemena lipican v európskom meradle (Moravčíková et al., 2017).

Testovanie diverzity na základe SNP mikročipov

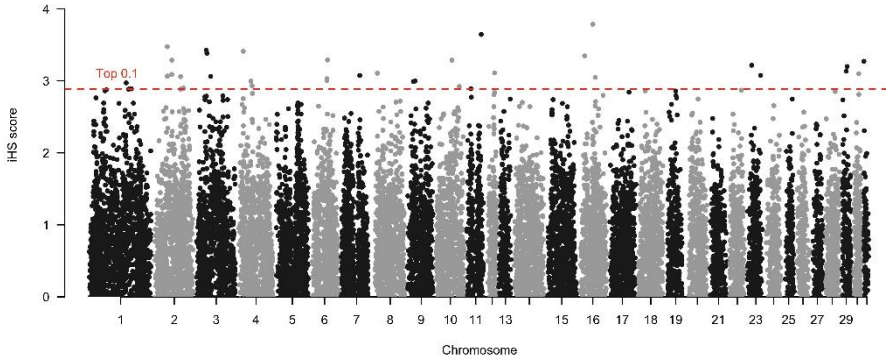
V genóme plemena lipican bolo zistených celkovo 8878 ROH úsekov. Ich počet však bol rozdielny v závislosti od dĺžky hodnotených ROH segmentov a jednotlivých autozómov. Súčasnú mieru inbrídingu reflektovalo 0,17 % z identifikovaných úsekov. Väčšinu teda tvorili ROH segmenty odvodené od autozomálneho genómu vzdialených predkov. Výsledky preukázali, že sa nárast inbrídingu za posledné generácie relatívne spomalil a celkový inbríding dosiahol hodnotu v priemere 6,26 %, čo potvrdzuje, že sa jedná o plemeno s uzavretou plemennou knihou (Kasarda et al., 2019a).

V genóme slovenského teplokrvníka analýza preukázala celkovo 8501 ROH segmentov pokrývajúcich v priemere 8,45 % (198,41 Mb) jeho genómu. Počet a priemerná dĺžka úsekov však nebola v rámci jednotlivých autozómov rovnaká podobne ako v prípade plemena lipican, kedy najväčší počet ROH segmentov bol zistený na chromozóme 1 (ECA1) a naopak najnižší na ECA31. Väčšina z identifikovaných segmentov bola odvodená od veľmi vzdialených predkov (85,42 %). Šľachtiteľskú históriu plemena na Slovensku reflektovali 4 % z identifikovaných úsekov (Moravčíková et al., 2020).

V genóme norika muránskeho boli podobne ako v prípade plemien lipican a slovenský teplokrvník počet a dĺžka identifikovaných ROH segmentov rôzne v závislosti od chromozómu a dĺžky hodnotených ROH segmentov. Najčastejšie sa v genóme vyskytovali úseky kratšie ako 1 Mb (88,96 %), pričom úseky dlhšie ako 16 Mb tvorili v priemere 0,06 % genómu tohto plemena. Následná analýza trendu vývoja genomického inbrídingu preukázala, že v súčasnej generácii možno očakávať inbríding na úrovni 0,11 %, čo z pohľadu genetickej premenlivosti reflektuje dostatočnú mieru variability v populácii (Kasarda et al., 2019b).

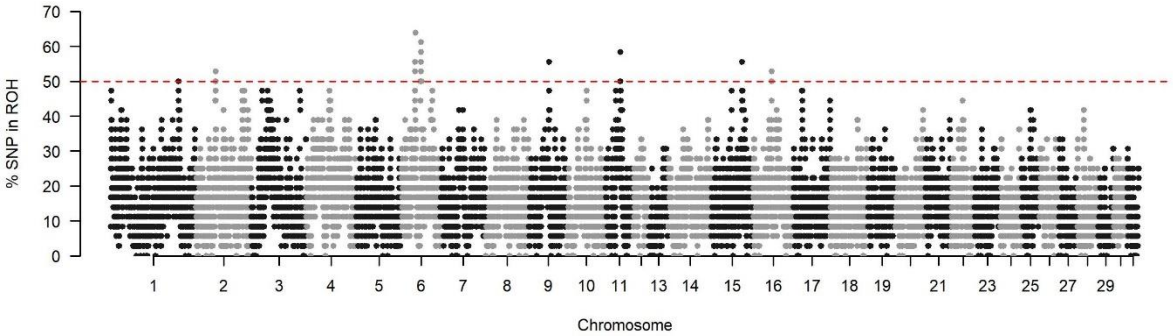


Obrázok 3. Distribúcia iHS skóre v genóme plemena lipican (červenou čiarou je znázornená hraničná hodnota definujúca SNP markery signifikantne ovplyvnené selekciou)



Obrázok 4. Distribúcia iHS skóre v genóme plemena norik muránsky (červenou čiarou je znázornená hraničná hodnota definujúca SNP markery signifikantne ovplyvnené selekciou)

Prvotná identifikácia selekčných signálov v genóme plemien lipican a norik muránsky vychádzala z predpokladu, že rozdielne šľachtiteľské programy týchto dvoch plemien sa prejavia jednak vo variabilite vo väzbovej nerovnováhe a zároveň v rozdielnej distribúcii haplotypov v ich genóme. Na analýzu platnosti týchto predpokladov bolo využitých celkovo 62730 SNP markerov a dva metodické prístupy a to determinácia úrovne väzbovej nerovnováhy v rámci a medzi plemenami a stanovenie integrovaného skóre haplotypov (iHS) pre každé plemeno samostatne. Na základe obidvoch prístupov bolo v genómoch plemien lipican a norik muránsky identifikovaných celkovo 25 oblastí v rámci 17 autozómov pod intenzívnym selekčným tlakom. Najdlhšia oblasť sa nachádzala na chromozóme 10 (25,185,746 bp - 30,023,465 bp) a obsahovala celkovo 170 proteín kódujúcich génov. Najkratšia oblasť sa nachádzala na chromozóme 3 (19,756,981 bp - 19,801,190 bp) v blízkosti 2 proteín kódujúcich génov. Celkovo bolo v rámci všetkých selekčných signálov v genóme lokalizovaných 415 proteín-kódujúcich génov. Detailná štúdia ich biologickej úlohy v organizme preukázala, že sa jedná o gény zapojené v genetickej kontrole imunity (napr. toll-like receptory), rastu a vývoja svalov, hmotnosti tela a reprodukcie (Obr. 3 a 4) (Moravčíková et al., 2019b).



Obrázok 5. Distribúcia ROH segmentov > 4Mbp v genóme plemena slovenský teplokrvník (červenou čiarou je znázornená hraničná hodnota definujúca SNP markery signifikantne ovplyvnené selekciou)

V prípade plemena slovenský teplokrvník bol vplyv selekcie testovaný na základe distribúcie ROH úsekov dlhších ako 4 Mbp. Za predpokladu, že selekčné signály vyjadrovali iba SNP markery vyskytujúce sa v rovnakých ROH segmentoch u minimálne 50 % hodnotených jedincov, analýza preukázala celkovo 8 oblastí pod signifikantným selekčným tlakom a to na autozómoch ECA1, ECA2, ECA6, ECA9, ECA11, ECA15 a ECA16 (Obr. 5). Najsilnejší selekčný signál vykazoval chromozóm 6 (ECA6: 41177353-42713648 bp) v oblasti viacerých génov, napr. *ADIPOR2*, *LRP6*, *GRPC5A* a *EMP1*, ktorých biologická úloha bola však preskúmaná iba u ľudí. Celkovo bolo vo vnútri oblastí pod selekčným tlakom v genóme slovenského teplokrvníka zistených 80 proteín-kódujúcich génov s rôznou biologickou a fyziologickou úlohou v organizme. Prevažne sa jednalo o gény zapojené v genetickej kontrole bunkového cyklu, imunitného systému a reprodukcie (Moravčíková et al., 2019c).

Záver

Doterajšie štúdie preukázali, že z pohľadu trendu inbrídingu testované populácie nie sú signifikantne ohrozené stratou genetickej variability, pretože väčšina homozygotných úsekov v genóme pochádzala od základných predkov pôsobiacich v plemenitbe počas šľachtenia plemien. Relatívne nízka efektívna veľkosť je výsledkom poklesu počtu jedincov za posledné roky, podielu kobýl a žrebcov využívaných v aktívnej plemenitbe, pričom zároveň reflektuje intenzívnu šľachtiteľskú prácu s cieľom homogenizácie žiaducich fenotypov zadefinovaných v plemenných štandardoch. Vzhľadom na to, že sa jedná o lokálne málopočetné populácie ďalšie analýzy budú orientované na testovanie rovnomernosti využívania predkov v plemenitbe ako aj vnútropopulačnej genetickej štruktúry vychádzajúcej z variability mtDNA.

Použitá literatúra

ACHMANN, R., CURIK, I., DOVC, P. et al. 2004. Microsatellite diversity, population subdivision and gene flow in the Lipizzan horse. Animal Genetics, 35: 285-292.

BORDONARO, S., GUASTELLA, A. M., CRISCIONE, A. et al. 2012. Genetic diversity and variability in endangered Pantesco and two other Sicilian donkey breeds assessed by microsatellite markers. Scientific World Journal, 648427.

DOVC, P., KAVAR, T., SÖLMNER, H. et al. 2006. Development of the Lipizzan Horse Breed. Reproduction in Domestic Animals, 41: 280-285.

HALO, M., MLYNEKOVÁ, E., HORNÁ, M. et al. 2018. Evaluation of Genetic Variability of the Breed Norik of Muran according to Pedigree Information. Czech J Anim Sci. 63: 195-200.

KASARDA R., MORAVČÍKOVÁ, N., HALO, M. et al. 2019a. Trend vývoja genomického inbrídingu v populácii plemena lipican. Aktuálne smerovanie v chove koní. Nitra: SPU, 32-36.

KASARDA R., MORAVČÍKOVÁ, N., KADLEČÍK, O. 2016b. Spatial structure of the Lipizzan horse gene pool based on microsatellite variations analysis. *AGROFOR,* 1: 125-132.

KASARDA, R., MORAVČÍKOVÁ, N., KADLEČÍK, O. 2018. Genetic structure of warmblood horses on molecular-genetic level. *Agriculture and Forestry,* 64: 7-13.

KASARDA, R., MORAVČÍKOVÁ, N., KADLEČÍK, O. et al. 2019b. Level of inbreeding in Norik of muran horse: Pedigree vs. Genomic data. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis,* 67: 1457-1463.

KASARDA, R., VOSTRÝ, L., MORAVČÍKOVÁ, N. et al. 2016a. Detailed insight into genetic diversity of the Old Kladruber horse substructure in comparison to the Lipizzan breed. *Acta agriculturae Scandinavica,* 66: 67-74.

KUKUČKOVÁ, V., MORAVČÍKOVÁ, N., FERENČAKOVIĆ, M. et al. 2017. Genomic characterization of Pinzgau cattle: genetic conservation and breeding perspectives. Conservation Genetics, 18: 893-910.

LISÁKOVÁ, B. 2009. Slovensko–krajina majestátnych koní. Farmár, 17: 28-31.

MORAVČÍKOVÁ, N., KASARDA, R., HALO, M. et al. 2019b. Selection sweeps through in linkage disequilibrium in horses. *Book of Abstracts of the 70th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science.* Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 106.

MORAVČÍKOVÁ, N., KASARDA, R., HALO, M. et al. 2020. Genome-wide distribution of autozygosity islands in Slovak warmblood horse. AGROFOR, 5: 77-84.

MORAVČÍKOVÁ, N., KASARDA, R., KADLEČÍK, O. 2017. Patterns of gene flow in the Slovak Lipizzan population. *68th annual meeting of the European Federation of Animal Science.* Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 352.

MORAVČÍKOVÁ, N., KASARDA, R., KADLEČÍK, O. et al. 2019c. Runs of homozygosity as footprints of selection in the norik of muran horse genome. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis.* 67: 1165-1170.

MORAVČÍKOVÁ, N., KASARDA, R., VOSTRÝ, L. et al. 2019a. Analysis of selection signatures in the beef cattle genome. Czech journal of animal science, 12: 491-503.

PAVLÍK, I., SCHUBERTOVÁ, Z., KADLEČÍK, O. et al. 2014. Pedigree analysis of Thoroughbred horses in Slovakia. Acta fytotechnica et zootechnica, 17: 122-126.

PJONTEK, J., KADLEČÍK, O., KASARDA, R., et al. 2012. Pedigree analysis in four Slovak endangered horse breeds. Czech J. Anim. Sci., 57(2): 54-64.

VOSTRÁ-VYDROVÁ, H., VOSTRÝ, L., HOFMANOVÁ, B. et al. 2016. Genetic diversity within and gene flow between three draught horse breeds using genealogical information. Czech J. Anim. Sci., 61(10): 462-472.

VOSTRÝ, L., VOSTRÁ-VYDROVÁ, H., HOFMANOVA, B. et al. 2017. Genetic diversity of Czech Sport Pony based of genealogical information. Acta fytotechn zootechn., 20(4): 84-89.

LABORATOŘ IGENETIKY ČMSCH A.S. A IMPUTACE MIKROSATELITNÍCH MARKERŮ Z GENOTYPŮ SNP PRO POTŘEBU OVĚŘOVÁNÍ PŮVODU

Michaela Přibáňová, Daniela Schröffelová, David Lipovský, Josef Kučera, Vladimír Šteiger, Jarmila Hromádková, Lucie Němcová

Českomoravská společnost chovatelů, a. s., Hradištko

Abstrakt

Dle zákona o plemenitbě je povinnost ověřovat oboustranně původy u všech býků narozených v ČR zařazovaných do plemenitby. Od roku 2018 postupně končí ověřování na základě polymorfismu mikrosatelitů a začínají se využívat vybrané SNP, které jsou součástí všech komerčně prodávaných i customerizovaných bovinních čipů. Abychom se vyhnuli nákladnému přetestovávání rodičovské generace v přechodném období, pokusili jsme se využít možnost imputace ISAGem doporučených mikrosatelitních markerů ze stanovených SNP. Potvrdili jsme, že tato metoda umožní ověřit původ až 87% zvířat bez nutnosti přetestovávání.

Klíčová slova: ověření původu; mikrosatelity; SNP; skot

Abstract

According to the Act on Breeding, it is necessary to verify parentity of all bulls, born in the Czech Republic, included in breeding. The verification based on polymorphism of microsatellites is gradually terminated since 2018, and selected SNPs, which are part of all commercial and customerized bovine chips, are being used. We tried to use the possibility of imputation ISAG recommended microsatellite markers from selected SNP's to avoid expensive retesting of the parental generation in the transitional period. We have confirmed that this method allows verificate parentity up to 87% of animals without the need for re-testing.

Keywords: Parentage verification; microsatellites; SNP; cattle

Poděkování

Tato práce vznikla v rámci řešení projektu QK1810253 financovaného Ministerstvem zemědělství

Úvod

Potřeba ověřování původů zvířat je pro šlechtitelskou práci neoddiskutovatelná. Na počátku 21. tisíciletí proběhla markantní změna v metodice, z původního ověřování podle krevních skupin a bílkovinného polymorfismu došlo k postupnému přechodu na ověřování na základě dědičnosti polymorfismu vybraných STR (short tandem repeats) neboli mikrosatelitů. Několik let bylo nutné udržovat obě metodiky, neboť jsou vzájemně neporovnatelné, mnoho zvířat bylo nutno testovat oběma metodami, bylo nutno přetestovat staré vzorky plemenných býků.

Od roku 2017 stojíme před výzvou změny metodiky znovu. Ve šlechtění začínají být intenzivně využívány metody NGS sekvenování, byly vytvořeny Bovinní čipy, různé hustoty, na kterých se testují desetitisíce SNP využitelných pro výpočty genomických plemenných hodnot, provádění populačních studií, ale také pro ověřování původů a detekci některých bodových mutací kódujících dědičné choroby, exteriérové a užitkové znaky. Pro potřeby ověřování původu bylo v rámci organizace ISAG (International Society of Animal Genetics) vybráno 200 SNP s prokazatelnou variabilitou. Opět však vyvstala otázka, zda dokážeme využít výsledky již dříve testovaných zvířat metodou stanovení STR. V letech 2012 a 2013 publikoval McClure et.al. rozsáhlé studie o imputaci mikrosatelitních alel pomocí haplotypů SNP. Na základě otestování více než 8000 zvířat 39 různých plemen skotu predikovali 9410 různých SNP haplotypů (s průměrným počtem 73 SNP na jeden haplotyp), podle kterých bylo možné predikovat hodnotu všech 12 mikrosatelitů. Část většinou vzácně se vyskytujících haplotypů byla plemenně specifická. Pokusili jsme se tuto metodu využít a v praxi ověřit použitelnost imputovaných mikrosatelitních alel.

Cíl práce

Podle zákona o plemenitbě musí mít každý v ČR narozený býk před zařazením do plemenitby oboustranně ověřený původ. V laboratoři IGenetiky je každoročně ověřován původ u více než 5 000 zvířat masných i dojených plemen. V polovině roku 2018 došlo k plošné změně ověřování původů podle polymorfismu mikrosatelitů na testování SNP na bovinním čipu Illumina BovineSNP50K BeadChip. Abychom byli schopní ověřovat původy i v případě, kdy oba rodiče mají pouze test mikrosatelitních markerů bez nutnosti jejich přetestování na microarrayích, bylo nutné dokázat z vybraných SNP imputovat hodnoty mikrosatelitních markerů.

Vzhledem k tomu, že výstup ze software Genome Studio, který je obecně využíván pro vyhodnocení bovinních čipů je interpretován abecedně (tedy u heterozygota vždy ve formátu AB), bylo nutno vytvořit program na sestavování haplotypů a jejich porovnávání s publikovanými výsledky. Následně pak vyhodnotit použití této metody k imputaci SNP na mikrosatelity a k ověřování původů. Správnost imputace byla ověřována především přímým otestováním mikrosatelitního panelu zvířat.

Materiál a metodika

V letech 2018-2020 jsme provedli test SNP u 48 636 zvířat, převážně pro účely výpočtu genomických plemenných hodnot. Většina byla genotypována na čipu Illumina BovineSNP50K BeadChip v3 (53 217 sond), část masné populace na GeneSeek GGP Bovine 150K array (138 973 sond). Tento typ čipu byl designován speciálně pro masná plemena, ale bohužel, jeho významná část obsahující QTL markery je pro komerční využití uzamčena. Přestože má téměř trojnásobnou hustotu než komerční 50K BeadChip, několik klíčových SNP pro imputaci na mikrosatelity chybí. Proto jsme od jeho používání hned v prvním roce testování upustili. Dalším používaným čipem je customerizovaný BovineSNP50K BeadChip pro simentálská plemena. Testování provádí výhradně partnerská laboratoř GeneControl GmbH v německém Grubu. Na čip

jsou přidány QTL speciálně pro plemeno Simentál, bohužel část SNP nehodících se pro výpočet GPH byla naopak odstraněna, včetně mnoha klíčových SNP pro imputace (v Německu probíhá ověřování původů stále ještě testováním mikrosatelitů) a bylo zjištěno, že z výsledků tohoto čipu není imputace možná.

Původ byl ověřován celkem u 10 074 jedinců, z toho u 923 dojených plemen a 9 151 masných plemen (viz tabulka č. 1). Do projektu byly zařazeny pouze výsledky s call rate vyšším než 90 %.

Tabulka 1.: Počet provedených ověření původů dle jednotlivých plemen

Plemeno	**Provedeno ověření původů**
Simentál	554
Holstein	342
Vosgienne	15
Česká červinka	10
Jersey	2
Cekem dojená	923
Charolais	2 132
Aberdeen angus	2 042
Limousine	1 781
Masný simentál	1 698
Highland	323
Blonde d' Aquitaine	296
Highland	240
Gasconne	174
Dexter	135
Salers	126
Parthenaise	93
Piemontesse	72
Belgické modré	22
Pinzgauer	7
Bazadais	5
Uckermärker	4
Aubrac	1
Celkem masná	9 151

U těchto zvířat jsme se pokusili imputovat mikrosatelitní markery doporučené ISAG pro ověřování původů skotu: *BM1818, BM1824, BM2113, ETH3, ETH10, ETH225, INRA023, TGLA53, TGLA122, TGLA126 a TGLA227.* Pro vytvoření haplotypů byly vybrány SNP které uvádí McClure et.al. (2013). SNP hodnoty byly pro zjednodušení převedeny na Illumina AB formát. Pro sestavení jednotlivých holotypů jsme nakonec využili program IGenetika sestavený přímo pro správu vzorků jednotlivých zvířat, jejich původů z ústřední evidence, genotypů a vlastního ověřování původů. Tento program byl vytvořen ve spolupráci s programátorskou firmou Favorlogic s.r.o. primárně k ověřování původů SNP – tedy porovnávání 200 vybraných mateřských

a otcovských SNP se SNP potomka. Dále program umí srovnáním dalších více než 700 vybraných SNP navrhout ze souboru všech zvířat v databázi potenciální rodiče.

Do programu byly zadány známé haplotypy společně s odpovídající hodnotou mikrosatelitu. Program automaticky porovná u kteréhokoliv zvířete v databázi všechny možné varianty haplotypů a vylučovací metodou vybere ty, které se shodují s haplotypy publikovanými.

Správnost imputovaných mikrosatelitů byla ověřována dvěma způsoby. Nepřímo porovnáním s genotypy rodičovského páru při samotném ověřování původů a přímým testem mikrosatelitních markerů a porovnáním s imputovanými hodnotami. Přímým testem byla validována cca třetina imputací.

Výsledky a diskuze

Z tabulky 2 je patrné, že ne u všech plemen se imputace dařila natolik, aby byl výsledek pro ověření původů použitelný. Jako hraniční kriterium jsme stanovili 85 % úspěšnost imputace. U plemen, kde je úspěšnost imputace velmi nízká jde ve většině případů o plemena chovaná u nás vzácně, výjimkou jsou plemena Highand a Dexter. Příčinou je pravděpodobně vyšší výskyt plemenně specifických haplotypů. V původní testované skupině, ze které vychází McClure et.al (2013) se vyskytovalo pouze malé procento jedinců plemen Bazadais (0,66 %), Piedmontesse (0,30 %), Gasconne (1,76 %). Plemena Dexter, Pinzgauer, Uckermärker a Highland se v původním souboru nevyskytují vůbec.

Dalším jevem, který má vliv na přesnost určení hodnoty mikrosatelitu je ten, že pouze 83,16 % haplotypů je spojeno pouze s jednou mikrosatelitní alelou, ostatní haplotypy jsou asociovány se dvěma i více alelami, většinou plemenně specifickými. Při imputaci je tak nutné brát v úvahu i plemennou příslušnost zvířete.

Nejlépe imputovatelným plemenem je holštýnské, pravděpodobně díky své prošlechtěnosti a menšímu výskytu vzácných mikrosatelitních alel obecně a také proto, že nejvíce používaný Illumina BovineSNP50K BeadChip v3 je designován přednostně pro toto plemeno.

Plemena Červenostrakatý skot a Česká červinka nebylo možno vyhodnotit, neboť zvířata jsou kompletně testována na customerizovaném německém čipu, kde chybí podstatná část imputačních SNP. Z jejich výsledků tedy nelze sestavit imputační haplotypy.

Tabulka 2.: úspěšnost imputace mikrosatelitních markerů v procentech

Plemeno	**% úspěšně imputovaných mikrsatelitů**
Holstein	98,2
Aberdeen angus	97,2
Limousine	95,4
Salers	94,8
Belgické modré	93,8
Masný simentál	93,6
Charolais	92,7
Vosgienne	89,7
Hereford	86,7
Blonde d‘ Aquitaine	86,4
Jersey	84,2
Parthenaise	83,7
Aubrac	72,7

Bazadais	68,2
Piedmontesse	65,5
Gasconne	41,8
Dexter	39,8
Pinzgauer	33,6
Uckermärker	31,6
Highland	22,7
Červenostrakatý skot	0
Česká červinka	0

Správnost imputace ovlivňuje také call rate - tedy počet určených SNP z celkového množství sond na čipu. Je-li call rate nižší než 90 %, je sestavení haplotypů problematické a procento úspěšně imputovaných mikrosatelitů se úměrně snižuje.

U zvířat, kde z imputovaných mikrosatelitů vyvstala pochybnost nesprávného původu, byl automaticky proveden i přímý test STR. V 72 % případů byl nesprávný původ potvrzen. Dále byly přímo testovány i případy, kde chyběly po imputaci více než 2 mikrosatelity a pro jistotu i zvířata pocházející z harémového připouštění nebo heterospermie. U heterospermie lze ve více než 50 % případů za pomoci imputovaného genotypu přiřadit správného otce, ale s počtem býků použitých v harému a jejich vzájemnou příbuzností tato možnost klesá.

Závěr

Metoda imputace mikrosatelitních markerů ze SNP je použitelná pro ověřování původů většiny běžně u nás chovaných plemen skotu, chovatelům tak odpadá velmi nákladný proces přetestování všech plemenných zvířat, případně platit pro potomka oba testy. Pro plemena jako Dexter nebo Highland bude nutné navrhnout vlastní haplotypy a přímým testem stanovit hodnoty jejich mikrosatelitních alel. Méně vhodná je tato metoda pro dohledání otců v případě harémového připouštění. Limitující je nutnost známé hodnoty všech imputačních SNP, neboť s každým chybějícím údajem klesá přesnost sestavení správného haplotypu.

V praktickém využití doporučujeme přetestovávat přímým testem mikrosatelitů zvířata v následujících případech: původ dle imputovaných mikrosatelitů se zdá nesouhlasný, je imputováno méně než 9 alel, v případě harémového připouštění a automaticky u plemen, kde procento úspěšnosti imputace je nižší než 80 %.

Seznam literatury

MCCLURE M., SONSTEGARD T., WIGGANS G., VAN TASSELL C.P. (2012): Imputation of microsatellite alleles from dense snp genotypes for parental verification. frontier in genetics 2012; 3: 140.

MCCLURE M., E.AL. (2013): Imputation of microsatellite alleles from dense SNP genotypes for parentage verification Gross multiple Bos taurus and Bos Indicus breed. Frontier in genetics 2013; 4: 176.

VLIV PLEMENÍKA NA ČETNOST VRHU U OVCÍ

Effects of service ram on litter size in sheep

Jitka Schmidová, Michal Milerski

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

Abstrakt

Cíly předkládaných studií bylo zkoumat efekty působící během připouštěcího období, vybrat vhodný model pro odhad genetických parametrů a tyto odhadnout pro četnost vrhu u tří plemen ovcí. Komponenty rozptylu a genetické parametry byly odhadnuty metodou BLUP animal model s opakovatelností. Základní modelová rovnice obsahovala pevný efekt věk bahnice a náhodné efekty stádo-rok-období, trvalé prostředí a přímý genetický aditivní efekt jedince. Rozšířené modely dále obsahovaly kombinace efektů spojených s připouštěcím obdobím (skupina bahnic přiřazená jednomu plemeníkovi – harém, aditivní genetický efekt plemeníka a trvalé prostředí).

Efekt plemenného berana se pohyboval v rozmezí mezi 0,01 – 0,02 fenotypové variance u šumavské ovce; 0,05 - 0,10 u romanovské ovce a 0,04 – 0,05 u ovcí plemene suffolk. Zařazení efektů spojených s připouštěcím obdobím do modelu snížilo DIC informační kritérium, což znamená, že tyto modely lépe vyhovují pro odhady genetických parametrů než model základní.

Výsledky předložených studií ukazují, že berani, jakožto otcové výsledných vrhů, mají sice malý, ale prokazatelný vliv na počet narozených jehňat. Odhady genetických parametrů naznačují, že selekce podle „paternálních“ plemenných hodnot by mohla být dalším selekčním kritériem, jak zlepšit četnost vrhu u ovcí.

Klíčová slova: genetické parametry; aditivní genetický efekt; koeficient dědivosti; plodnost; připařování

Abstract

The objectives of these studies were to investigate effects occurring during a mating season, select the proper model for genetic parameter estimation and to estimate genetic parameters for litter size in sheep. Variance components and genetic parameters for litter size were estimated using the BLUP animal model with repeatability. The basic model equation contained ewe age as a fixed effect and random effects of contemporary group, permanent environment and direct additive genetic effect of the animal. Modifications of the basic model were examined when various combinations of mating effects were included (contemporary group of ewes during mating (harem), additive genetic and permanent environmental effect of service ram).

The effect of service ram ranged from 0.01 to 0.02 of phenotypic variance in Šumava sheep, in Romanov sheep it was 0.05 – 0.10, and in Suffolk sheep it was 0.04 – 0.05. Including effects of mating (service sire, harem, and/or ram´s permanent environmental effect) in the model decreased deviance information criterion, what means that these models are more proper than the basic one.

Results from these studies demonstrate that the service rams have low but a clearly detectable influence on litter size of their mates. Genetic parameter estimates indicate that direct selection on the service ram effect could increase litter size and achieve genetic gain through ram selection.

Keywords: Genetic parameters; Additive genetic effect; Heritability; Reproduction; Fertility; Mating

Poděkování

Studie vznikla za podpory MZE, projektů QJ1510139 a QJ1310184 a institucionální podpory MZE-RO0718.

Úvod

V ČR je v současnosti hlavním užitkovým zaměřením chovu ovcí produkce jatečných jehňat. V tomto ohledu jsou důležitými užitkovými vlastnostmi růstová intenzita jehňat, plodnost a mateřské schopnosti bahnic. Ukazatelé spojené s jatečnou hodnotou jsou významné zejména u masných plemen používaných v otcovské pozici v rámci hybridizačních programů (Rada plemenných knih ovcí, 2013). Základním předpokladem efektivní produkce (a to nejen jehněčího a skopového masa, ale i mléka a dalších produktů), je však dobrá reprodukční schopnost. Plodnost patří k nejdůležitějším užitkovým vlastnostem všech hospodářských zvířat. Zároveň můžeme tvrdit, že plodnost je ze všech vlastností asi nejvíce ovlivňována přírodní selekcí (Jakubec a kol., 2001). Ze všech znaků reprodukce bývá nejčastěji využívaným selekčním kritériem četnost vrhu (počet všech jehňat narozených ve vrhu), (Rao et Notter, 2000).

V ČR jsou pro četnost vrhu u ovcí od roku 2003 předpovídány plemenné hodnoty a to metodou BLUP Animal model na základě jednotných komponent rozptylu pro různá plemena (Milerski, 2005). Dále je zveřejňován tzv. Index plodnosti, který zohledňuje věk bahnice, počet obahnění, počet narozených jehňat a počet odchovaných.

Četnost vrhu případně počet odchovaných jehňat se tradičně posuzuje jako znak bahnice. Vzhledem k tomu, že plodnost je komplexní znak, je předpoklad, že na četnost vrhu má vliv i plemeník – beran. Zařazení efektu plemenného berana do modelové rovnice pro odhad genetických parametrů pro četnost vrhu používá jen několik málo autorů (Hagger, 2002; Shorten et al., 2013).

Cíl práce

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem bylo cílem práce zkoumat a vyčíslit faktory působící během připouštěcího období (plemenný beran a "harém") na následující četnost vrhu a navrhnout modely pro případné zahrnutí těchto efektů do modelové rovnice pro odhad genetických parametrů.

Materiál a metodika

Analyzovány byly údaje z databází poskytnutých Svazem chovatelů ovcí a koz. Četnost vrhu byla zaznamenána v den bahnění jako počet všech narozených jehňat (živě i mrtvě). Pro odhad genetických parametrů byla z databáze vyřazena data dle následujících kritérií: bahnice s neznámým datem narození (neznámý věk), bahnice mladší 10 a starší 140 měsíců, bahnice s méně než 4 (polo)sestrami po otci.

Za účelem vytvoření skupin zvířat bahnících se za podobných podmínek byly záznamy o bahnění v rámci jednotlivých chovů nejprve srovnány podle data bahnění. Následně byl vytvořen efekt CG (contemporary group), kdy byly v jednom CG bahnice obahněné v intervalech 40 dní v daném chovu a roku. CG s méně než 7 bahnicemi nebyla do odhadů komponent rozptylu zařazena. Takto upravená databáze obsahovala údaje o 4 412 bahnění ovce romanovské, 11 311 bahnění ovcí plemene suffolk a 21 324 bahnění ovce šumavské. Přehled četností ukazuje Tab. 1.

Metodami GLM a MIXED v programu SAS byl zkoumán vliv efektů věk bahnice, pořadí vrhu, měsíc bahnění, rok bahnění, délka mezidobí, chov, CG. Vzhledem ke struktuře dat a situaci v chovu ovcí byl efekt CG ošetřen jako náhodný efekt.

Dále bylo na datech z kontroly užitkovosti ovce romanovské ověřeno 8 modelů zahrnující různé kombinace efektů přímo spojených s plemeníkem: harém, efekt berana bez vazby na rodokmen, aditivně genetický efekt berana, trvalé prostředí berana.

Model H: $LS_{ijkm} = A_i + CG_j + Har_m + Ew_k + Epe_k + e_{ijkm}$

Model R: $LS_{ijkl} = A_i + CG_j + Ew_k + Epe_k + S_l + e_{ijkl}$

Modely SG, SG-C: $LS_{ijkl} = A_i + CG_j + Ew_k + Epe_k + SG_l + e_{ijkl}$

Modely SP, SP-C: $LS_{ijkl} = A_i + CG_j + Ew_k + Epe_k + SG_l + Spe_l + e_{ijkl}$

Model SH: $LS_{ijklm} = A_i + CG_j + Har_m + Ew_k + Epe_k + SG_l + e_{ijklm}$

Model SPH: $LS_{ijklm} = A_i + CG_j + Har_m + Ew_k + Epe_k + SG_l + Spe_l + e_{ijklm}$

Kde:

LS_{ijk} – četnost vrhu

A_i – věk bahnice ve třídách

CG_j – sdružený efekt stáda, roku a období bahnění

Har_m – harém, sdružený efekt stáda, roku a berana

Ew_k – aditivně genetický efekt bahnice

Epe_k – trvalé prostředí bahnice

S_l – náhodný efekt berana bez vazby na matici příbuznosti

SG_l – aditivně genetický efekt berana

Spe_l – trvalé prostředí berana

e_{ijkl} – residuální chyba

Modely SG-C a SP-C jsou varianty modelů SG a SP, ve kterých byly zohledněny možné korelace mezi maternálním a paternálním genetickým efektem. Modely mezi sebou byly porovnávány na základě změn v podílech komponent rozptylu (Wolf et Wolfova, 2012) a na základě informačního kritéria DIC (Spiegelhalter et al., 2002).

Pro odhad genetických parametrů byly použity metody REML a Gibbs sampling (REMLF90, GIBBS1F90 program, Misztal et al., 2002), pro následnou předpověď plemenných hodnot dle vybraných modelů byla použita metoda BLUP animal model (BLUPF90 program, Misztal et al., 2002). Genetický trend byl odhadnut jako průměr plemenných hodnot dle roku narození zvířat.

Vybrané modely (R a SPH), byly dále aplikovány na data z kontroly užitkovosti ovce šumavské a ovcí plemene suffolk. Tato plemena byla zvolena kvůli nejvyšší (romanovská ovce) a nejnižší (šumavská ovce) variabilitě četnosti vrhu a nejpočetnějšímu zastoupení v kontrole užitkovosti (suffolk).

Výsledky a diskuse

Vliv plemeníka na četnost vrhu

V předkládaných studií byly navrženy různé možnosti hodnocení efektu plemeníka, včetně odhadu paternální aditivní genetické složky, pokud by byla četnost vrhu hodnocena jako znak s vlivem jak

bahnice, tak i berana. U ovce romanovské byl tento efekt odhadnut na 0,05 – 0,10 fenotypové variance (Tab. 2, Schmidová et al., 2016a), u ovce šumavské na 0,01 – 0,02 (Tab. 3, Schmidová et al., 2015), a u plemene suffolk 0,04 - 0,05 (Tab. 3, Schmidová et al., 2016b). Jak upozorňuje David et al. (2007), jakkoliv se může zdát tento podíl i podíl „maternální“ malý, rozpětí mezi zvířaty na obou koncích žebříčku plemenných hodnot může být značný. Také Sánchez-Dávila et al. (2015) uvádějí, že berani plemene Saint Croix hair sheep se mohou lišit v průměrné velikosti vrhu (fenotypově) i o jedno jehně. Taktéž Holler et al. (2014) pozorovali významné rozdíly mezi berany, a to jak u počtu narozených jehňat, tak i u přežitelnosti zárodků během březosti. Freking et al. (2019) zjistili rozdíly v počtu narozených i v počtu odstavených jehňat při použití čistokrevných beranů suffolk a užitkových kříženců. „Paternální“ variance může být způsobena genetickými rozdíly v kvalitě i množství spermatu, procentu oplodnění, vývoji zárodku potažmo plodu i jeho přežitelností (Hamann et al., 2004). Je známo, že berani se zdravotními problémy, např. hnilobou paznehtů, nebo s nedostatečnou produkcí spermatu mohou způsobit nižší oplodnění i velikost vrhu (Hagger, 2002).

Výběr vhodného modelu

Ve studii na populaci romanovských ovcí (Schmidová et al., 2016a) všechny modely, které zahrnují genetický efekt plemeníka, vykazují nepatrně nižší podíl reziduální variance (e^2 = 0,702-0,713) než model základní (Model B, e^2=0,716) nebo model rozšířený pouze o efekt harému (Model H, e^2=0,716) či efekt plemeníka bez vazby na matici příbuznosti (Model R, e^2=0,720), (Tab. 2).

Toto však nebylo potvrzeno ve studiích na populaci ovcí šumavských (Schmidová et al., 2015) ani u populace suffolka (Schmidová et al., 2016b), tab. 3. Wolf et Wolfova (2012) uvádějí, že při odhadování genetických parametrů pro četnost vrhu u prasat došlo ke snížení reziduální variance u modelů zahrnujících vliv plemeníka bez ohledu na to, zda se jednalo o efekt genetický či nikoli. Hagger (2002) udává, že po rozšíření modelu o efekt plemenného berana došlo ke snížení konečné hodnoty logaritmu věrohodnostní funkce, a tudíž došlo ke zlepšení modelu.

Z osmi modelů aplikovaných na datech kontroly užitkovosti romanovských ovcí, které zohledňovaly nějakou formu efektu plemeníka, vykazoval nejnižší informační kritérium DIC model zahrnující jak efekt harému, tak aditivní genetický efekt berana (Model SH, DIC = 10 749) a byl také modelem s druhým nejnižším podílem reziduální variance. Tento model by byl tedy doporučen pro zpřesnění předpovědi „maternálních“ plemenných hodnot pro četnost vrhu u romanovských ovcí. Nicméně pokud by bylo cílem předpovídat jak maternální tak i paternální plemenné hodnoty, byl by pro selekci bahnic i beranů vhodnější model SPH, který kromě efektu harému a aditivního genetického efektu berana ještě zohledňuje i vliv trvalého prostředí plemeníka. Tento model vykazuje nízké DIC (10 751), nejnižší podíl reziduální variance a ze zkoumaných modelů nejlépe zohledňuje genetické efekty i zdroje variability způsobené prostředím.

Stejný model byl ověřován i na populaci ovce šumavské a suffolka (Tab 3.) (Schmidova et al., 2015, Schmidova et al., 2016b), kdy u znaku četnost vrhu došlo taktéž ke snížení DIC, ale nedošlo ke snížení reziduální variance.

Porovnání plemenných hodnot

Zahrnutí efektu plemeníka a harému do modelu nepatrně ovlivnilo předpovědi maternálních plemenných hodnot. Korelace mezi plemennými hodnotami předpovězenými pomocí základního modelu a pomocí

modelů různým způsobem zohledňujících vliv plemeníka se pohybovaly v rozmezí od 0,964 do 0,984 (Schmidova et al, 2016a).

Poněkud překvapujícím se může zdát genetický trend u ovce romanovské (Schmidová et al., 2016a), který dosahoval hodnot 0,45 – 0,60 u maternálních plemenných hodnot a 0,55 – 0,59 u paternálních plemenných hodnot. To je více než trendy uváděné v literatuře (Boujenane et al., 2013; Hanford et al., 2006) a také než trend u populace suffolka, který činil 0,4 a 0,2 (Schmidová et al., 2016b). Mohlo to být způsobeno tím, že u romanovské ovce je ve šlechtitelském cíli kladen důraz na vysokou plodnost. Značný trend u paternálních plemenných hodnot by mohl být způsoben tím, že chovatelé dávají jednoznačně přednost plemeníkům, kteří jsou z vícečetných vrhů.

Závěr

Zlepšení reprodukčních znaků jakéhokoliv domestikovaného druhu zvířat, ovce nevyjímaje, získalo pozornost chovatelů, protože zvýšení četnosti vrhu může vést k významnému navýšení zisku. Znaky reprodukce jsou ale vázané na pohlaví a k jejich projevu dochází až v pozdějším věku, navíc to jsou znaky s nízkým koeficientem dědivosti čili z velké části ovlivnitelné prostředím. Z těchto důvodů je výběr jedinců pro efektivní genetické zlepšení reprodukčních vlastností pouze na základě fenotypu poměrně složitý a o to více nabývá u takovýchto znaků na významu právě předpověď plemenných hodnot.

Četnost vrhu je obecně považován za znak bahnice. Výsledky předložených studií však ukazují, že berani, jakožto otcové výsledných vrhů, mají sice malý, ale prokazatelný vliv na počet narozených jehňat. Odhady genetických parametrů ukazují, že selekce podle „paternálních“ plemenných hodnot by mohla být dalším selekčním kritériem, jak zlepšit četnost vrhu u ovcí. Tato aditivní genetická složka (otcovská) se zároveň nezdá býti protichůdná vůči maternální, nebyla ale nalezena ani pozitivní korelace. Nelze tedy předpokládat možnost nepřímé selekce dle plemenných hodnot pro plodnost tak, jak jsou předpovídány dnes.

Zjištěné aktuální genetické parametry pro jednotlivá plemena by se měly stát podkladem pro úpravy předpovědi plemenných hodnot pro četnost vrhu u ovcí a přispět tak k zpřesnění výběru zvířat do plemenitby a lepšímu využití genetického potenciálu šlechtěných populací. Otázkou může být, zda využít efekt plemeníka jen jako „efekt prostředí“ pro zpřesnění předpovědi plemenných hodnot velikosti vrhu jakožto mateřského znaku, či předpovídat i „paternální“ hodnotu. První možnost lze doporučit u plemen, kde není kladen nárok na zvyšování počtu narozených jehňat a plemenná hodnota pro plodnost je spíše doplňkovou informací. Naopak u plemen, u kterých se chovatelé více zaměřují na dosažení změny u četnosti vrhu, by bylo vhodné předpovídat jak maternální, tak i paternální plemennou hodnotu, a to nejen k neustálému zvyšování plodnosti, ale i k dosažení určitého optima.

Vzhledem k tomu, že se jedná o první studie zabývající se blíže genetickým efektem berana-plemeníka na četnost vrhu, bude zřejmě nutné provést další šetření ještě před tím, než bude předpověď otcovských plemenných hodnot moci být zavedena do praxe.

Seznam literatury

BOUJENANE, I., CHIKHI, A., SYLLA, M., IBNELBACHYR, M. 2013. Estimation of genetic parameters and genetic gains for reproductive traits and body weight of D'man ewes. Small Ruminant Research. 113. 40– 46

DAVID, I., BODIN, L., LAGRIFFOUL, G., LEYMARIE, C., MANFREDI, E., ROBERT-GRANIE, C. 2007. Genetic analysis of male and female fertility after artificial insemination in sheep: Comparison of single-trait and joint models. Journal of Dairy Science. 90 (8). 3917–3923.

FREKING, B. A., BENNETT, G. L. 2019. Rambouillet and Romanov reciprocal breed effects on survival and growth traits of F1 lambs and on reproductive traits of F1 ewes. Journal of Animal Science. 97, 578–586

HAGGER, C. 2002. Multitrait and repeatability estimates of random effects on litter size in sheep. Animal Science. 74. 209-216.

HAMANN, H., STEINHEUER, R., DISTL, O. 2004. Estimation of genetic parameters for litter size as a sow and boar trait in German herdbook Landrace and Pietrain swine. Livestock Production Science. 85. 201–207.

HANFORD, K. J., VAN VLECK, L. D., SNOWDER, G. D. 2006. Estimates of genetic parameters and genetic trend for reproduction, weight, and wool characteristics of Polypay sheep. Journal of Animal Science. 102. 72–82.

HOLLER, T. L., DEAN, M., TAYLOR, T., POOLE, D. H., THONNEY, M. L., THOMAS, D. L., PATE, J. L., WHITLEY, N., DAILEY, R. A., INSKEEP E. K. 2014. Effects of service sire on prenatal mortality and prolificacy in ewes. Journal of Animal Science. 92(7). 3108-3115.

JAKUBEC, V., ŘÍHA, J., GOLDA, J., MAJZLÍK, I. 2001. Šlechtění ovcí. Asociace chovatelů masných Plemen. Rapotín. 152 s. Bez ISBN.

MILERSKI, M. 2005. Metodika odhadu plemenných hodnot u ovcí. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha Uhříněves, 21 s. Bez ISBN.

MISZTAL, I., TSURUTA, S., STRABEL, T., AUVRAY, B., DRUET, T., LEE, D. 2002. BLUPF90 and related programs (BGF90). Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier. CD-ROM Communication 28:07.

RAO, S., NOTTER, D. R. 2000. Genetic analysis of litter size in Targhee, Suffolk, and Polypay sheep. Journal of Animal Science. 78. 2113-2120.

SÁNCHEZ-DÁVILA, F., BERNAL-BARRAGÁN, H., PADILLA-RIVAS, G., BOSQUE-GONZÁLEZ, A. S., VÁZQUEZ-ARMIJO, J. F., LEDEZMA-TORRES, R. A. 2015. Environmental factors and ram influence litter size, birth, and weaning weight in Saint Croix hair sheep under semi-arid conditions in Mexico. Tropical Animal Health and Production. 47 (5). 825-831.

SCHMIDOVA, J., MILERSKI, M., SVITAKOVA, A., VOSTRY, L. 2015. Genetic contribution of ram on litter size in Šumava sheep. Poljoprivreda. 21(1). 159-162.

SCHMIDOVÁ, J., MILERSKI, M., SVITÁKOVÁ, A., VOSTRÝ, L. 2016a. Effects of service ram on litter size in Romanov sheep. Small Ruminant Research. 141. 56-62.

SCHMIDOVA, J., MILERSKI, M., SVITAKOVA, A., NOVOTNA, A., VOSTRA VYDROVA, H., VOSTRY, L. 2016b. The influence of ram on litter size in Suffolk sheep. Acta agriculturae Slovenica, Suplement 5. 109-112.

SHORTEN, P. R., O'CONNELL, A. R., DEMMERS, K. J., EDWARDS, S. J., CULLEN, N. G., JUENGEL, J. L. 2013. Effect of age, weight, and sire on embryo and fetal survival in sheep. Journal of Animal Science. 91 (10). 4641-4653.

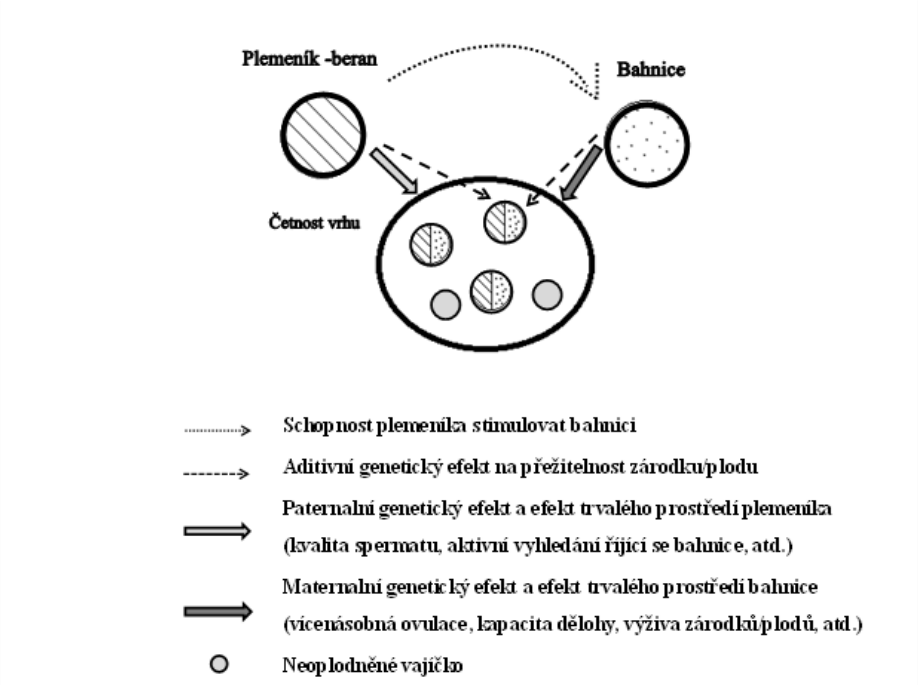
SPIEGELHALTER, D.J., BEST, N.G., CARLIN, B.P., VAN DER LINDE, A., 2002. Bayesian measures of model complexity and fit. J. R. Statist. Soc. B. 64 (4), 583-639.

WOLF, J., WOLFOVA, M., 2012. Effect of service sire on litter size traits in Czech Large White and Landrace pigs. Czech J. Anim. Sci., 57 (5), 220–230.

Elektronické zdroje

Rada plemenných knih ovcí. Šlechtitelský program. Svaz chovatelů ovcí a koz v ČR [online]. 2013 [citováno 2016-08-22]. Dostupné také z < http://www.schok.cz/slechteni-pk/slechtitelsky-program-v-chovu-ovci>.

Obrázek 1 Efekt plemeníka a bahnice na četnost vrhu



Tabulka 1. Distribuce četnosti jehňat v %

Četnost vrhu	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Romanovská ovce	12,80	39,59	35,33	10,62	1,50	0,15	0,01
Šumavská ovce	69,72	29,36	0,91	0,01			
Suffolk	37,69	55,22	6,93	0,16			

Tabulka 2. Komponenty rozptylu a genetické parametry odhadnuté pomocí různých modelů pro četnost vrhu romanovských ovcí

	e²	**h²**	r^2_{rep}	$\mathrm{Ew}^2_{\mathrm{pe}}$	**CG²**	**S²**	S^2_{pe}	**Har²**
Model B	0.716	0.092	0.110	0.018	0.174			
Model H	0.716	0.091	0.115	0.018	0.122			0.053
Model R	0.720	0.078	0.097	0.020	0.101	0.081*		
Model SG	0.710	0.080	0.098	0.018	0.092	0.100		
Model SP	0.710	0.081	0.097	0.017	0.091	0.065	0.036	
Model SH	0.703	0.082	0.101	0.016	0.070	0.100		0.029
Model SPH	0.702	0.080	0.100	0.016	0.067	0.073	0.032	0.029
Model SG-C	0.711	0.079	0.097	0.018	0.095	0.096		
Model SP-C	0.713	0.079	0.097	0.018	0.094	0.046	0.050	

Vysvětlivky: $e^2 = (\sigma^2_e / \sigma^2_P)$ = reziduální variance jako podíl z celkové fenotypové variance; $h^2 = (\sigma^2_{Ew} / \sigma^2_P)$ = maternální heritabilita; $r^2_{rep} = ((\sigma^2_{Ew} + \sigma^2_{Ewpe}) / \sigma^2_P)$ = maternální opakovatelnost; $\mathrm{Ew}^2_{\mathrm{pe}} = (\sigma^2_{Ewpe} / \sigma^2_P)$ = variance trvalého prostředí jako podíl z celkové fenotypové variance; $CG^2 = (\sigma^2_{CG} / \sigma^2_P)$ = variance sdruženého efektu stádo-rok-období bahnění; $S^2 = (\sigma^2_S / \sigma^2_P)$ = variance paternálního efektu jako podíl z celkové fenotypové variance (model R) resp. paternální heritabilita (ostatní); $S^2_{pe} = (\sigma^2_{Spe} / \sigma^2_P)$ = variance paternálního trvalého prostředí jako podíl z celkové fenotypové variance; $har^2 = (\sigma^2_{har} / \sigma^2_P)$ = variance sdruženého efektu stádo-rok-plemeník

Tabulka 3. Genetické parametry pro počet narozených jehňat ve vrhu pro plemena suffolk a šumavská ovce

		h^2	r^2_{rep}	Ew^2_{pe}	e^2	CG^2	S^2	S^2_{pe}	har^2
Suffolk	Model B	0.054	0.071	0.017	0.781	0.148			
	Model R	0.049	0.067	0.017	0.797	0.090	0.047		
	Model SPH	0.051	0.067	0.016	0.792	0.081	0.041	0.014	0.006
Šumavská ovce	Model B	0.061	0.080	0.019	0.825	0.096			
	Model R	0.057	0.078	0.021	0.827	0.075	0.02		
	Model SPH	0.058	0.078	0.020	0.826	0.072	0.009	0.013	0.002

Vysvětlivky: h^2 = (σ^2_{Ew} / σ^2_P) = maternální heritabilita; r^2_{rep} = ((σ^2_{Ew} + σ^2_{Ewpe})/ σ^2_P) = maternální opakovatelnost; Ew^2_{pe} = (σ^2_{Ewpe} / σ^2_P) = variance trvalého prostředí jako podíl z celkové fenotypové variance; e^2 = (σ^2_e/ σ^2_P) = reziduální variance jako podíl z celkové fenotypové variance; CG^2 = (σ^2_{CG}/ σ^2_P) = variance sdruženého efektu stádo-rok-období bahnění; S^2=(σ^2_S/ σ^2_P) = variance paternálního efektu jako podíl z celkové fenotypové variance (model R) resp. paternální heritabilita (model SPH); S^2_{pe}= (σ^2_{Spe}/ σ^2_P) = variance paternálního trvalého prostředí jako podíl z celkové fenotypové variance; har^2 = (σ^2_{har}/ σ^2_P) = variance sdruženého efektu stádo-rok-plemeník

BEEF CATTLE BREEDING IN THE CZECH REPUBLIC

Veselá Zdenka, Brzáková Michaela, Svitáková Alena, Vostrý Luboš

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

Abstract

The history of breeding of beef cattle in the Czech Republic started in the 1990s. In total, 25 beef cattle breeds and their crosses are kept in the Czech Republic. Performances are regularly recorded since 1991, and breeding values are estimated since 2000. Currently, there are routinely estimated 24 breeding values merged into four groups – field test (calving traits and growth), the growth of bulls at a performance test station, type traits (muscling), and carcass traits (SEUROP). The aim of further research is to introduce genomic evaluation for beef cattle in The Czech Republic. Genotyping of beef cattle in The Czech Republic started at the end of the year 2018.

Keywords: beef cattle; breeding values; Interbeef; genomic; economic weights

Abstrakt

Historie chovu masného skotu v České republice začala v devadesátých letech minulého století. V současnosti je v České republice chováno 25 plemen masného skotu a jejich kříženců. Kontrola užitkovosti je prováděna od roku 1991 a plemenné hodnoty jsou předpovídány od roku 2000. V současné době je rutinně předpovídáno 24 plemenných hodnot rozdělených do čtyř skupin – polní test (obtížnost telení a růst), vlastní růst v odchovnách plemenných býků, popis zevnějšku (osvalení) a SEUROP. Dalším cílem je vytvoření systému pro předpověď genomických plemenných hodnot. Genotypování masného skotu v České republice bylo zahájeno na konci roku 2018.

Klíčová slova: masný skot; plemenné hodnoty; Interbeef; genomika; ekonomické váhy

Acknowledgement

This study was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Projects QK1910059, LTAUSA19 and MZE-RO0718).

Since 2000 in the Czech Republic, the breeding value for field test (calving ease, birth weight, and live weight at 120, 210, and 365 days of age) has been estimated in beef cattle by a multi-trait animal model with maternal effect (Přibyl et al., 2003). In 2004 estimation of breeding value for the own growth of beef bulls at performance-test stations was introduced. Breeding values were estimated by the single-trait animal model (Přibylová et al., 2004). For an accurate evaluation of the growth ability of bulls, it is necessary to determine the significant effects influencing the growth of the bulls under study. Growth is a cumulative trait in which weight gain at a given moment is influenced by the history of the animal. It was demonstrated in several studies that the herd-of-origin effect was closely related to the growth ability of bulls (Přibylová et al., 2004; Schenkel et al., 2004; Nephawe et al., 2006). Different herd conditions lead to growth compensation in

animals, which should be distinguished from the effect of a genetic constitution (Vostrý et al., 2014). Therefore, the direct permanent environment is usually taken into consideration in repeated performance records (longitudinal data) (Přibyl et al., 2008a,b). Přibyl et al. (2008a,b) stated that weight gain in consecutive growth segments was a more suitable marker of growth than bodyweight because it allows the effects of fixed and random environments, which influence animal growth during particular periods, to be more clearly determined. Bulls undergo intense growth at performance test stations compared with those reared in grazing systems. After weaning, particular bulls are chosen to be moved to rearing facilities. Only those bulls that come from selected dams and sires and satisfy the conditions of the breeding program of a given breed are transferred to the rearing facilities. Standardized nutrition and management methods are used at the performance test stations. Therefore Vostrý et al. (2014) introduced a new method for estimation of breeding values for the growth of beef bulls at a performance test station using a multi-trait animal model. Breeding value estimated by the multi-trait model, which also included pre-weaning growth, showed a certain change in the rank of animals compared with the results of the original single-trait AM (Vostrý et al., 2014).

Since 2005 the breeding value for the type traits classification of young beef cattle has been estimated (Veselá et al., 2005). Evaluation of the type traits is an integral part of cattle breeding. Objective evaluation of the type in beef cattle is significantly related to the expression of meat performance. In the Czech Republic, beef cattle are evaluated according to methodical instructions for the description and evaluation of the type of beef breeds of cattle developed by The Czech Beef Breeders Association. Evaluation is based on the scoring of an evaluated trait by 1 (minimum) to 10 (maximum). The evaluation of the type involves ten traits: height at the sacrum, body length, live weight, front chest width, chest depth, pelvis, shoulder muscling, back muscling, rump muscling, and production type. Breeding values are estimated by a multi-trait multi-breed animal model.

An integral part of beef cattle breeding is the classification of carcass quality by the SEUROP method. Therefore in 2011, the estimation of breeding values for SEUROP was introduced in The Czech Republic by Veselá et al. (2011). The classification of carcass traits by the SEUROP method is based on three traits: (1) carcass weight, (2) carcass conformation score, and (3) carcass fatness score. Breeding values are estimated by the multi-trait animal model. The evaluation of meat quality is becoming the standard in the beef cattle industry. Ultrasonography is a very suitable method for evaluating of live animals. This method of identifying qualitative indicators allows young animals to engage in reproduction and thus in genetic progress. The most important traits are scanning mainly on musculus longissimus lumborum et thoracis (MLLT): eye muscle area, intramuscular fat, rib fat and rump fat. These traits are highly correlated with a classification of the carcass body (Svitáková et al., 2019). The pilot study started in February 2019 in The Czech Republic, where a total of 761 animals of the Aberdeen Angus breed were measured at the age of 6-24 months. Animals were measured in 19 farms and also on the four performance test stations for young breeding bulls. Four traits were measured according to Breedplan methodology: Eye muscle area (EMA) and Intramuscular fat (IMF) - at the 12/13th rib site; Rib fat- fat depth at the 12/13th rib site, and Rump fat - fat depth at the P8 rump site. Animal scanning will continue in the coming years to create a database suitable for the prediction of breeding values and selection based on the genetic potential of the animals (Svitáková et al., 2019).

Estimation for other traits such as longevity and female fertility is currently under development (Veselá et al., 2017; Brzáková et al., 2019). Longevity, the period from first to the last calving, is an economically important trait. An improvement in longevity reduces the annual production costs associated with

raising replacement heifers, reduces the number of involuntarily culled cows, and increases the number of high producing mature cows (Rogers et al. 2004). Krupová Z. et al. (2020) calculated the economic weight (EW) for the improvement of the cow productive lifetime of Aberdeen Angus in The Czech Republic €38.3 per year.

Another critical issue that is examined is the economic weights of a breeding objective with the aim of the construction of selection indexes. Breeding values estimated for growth, calving performance, and exterior traits are currently combined into simple selection indices. Three selection indexes were constructed for bulls of beef cattle: IM for terminal crossing (in dairy herds), IZ for the selection of foundation sires for the beef herd, and IS for the selection of bulls for the beef herd (Šafus et al., 2006). First economic weights (EW) for beef cattle in The Czech Republic have been calculated by Wolfová et al., 2005. The bio-economic model of the program package ECOWEIGHT applied for the calculation of EW of traits in cattle has been updated (Wolf et al. 2013) since the last calculation. The flexibility of the model was increased, taking into account calving seasons during the whole year, including more feeding seasons, muscularity classes, and calving scores and including the calculation of EW for RFI of cows, calves, heifers, and finished animals. Moreover, the production and economic conditions of local beef cattle have changed substantially since the last EW estimates. Therefore, new EW for all traits currently included in the breeding objectives as well as for new traits for Aberdeen Angus were calculated by Krupová et al. (2020). Weight gain of calves was confirmed as the most important trait, accounting for about 66% of the overall economic importance of all evaluated traits in the Czech AA breed. The productive lifetime of cows, with relative economic weight of 11%, is currently undergoing genetic evaluation, and this trait is a potential selection criterion for the future. The survival of calves from birth until weaning, with relative economic weight of about 11%, is the next candidate trait for selection (Krupová et. al., 2020).

Another important topic of beef cattle breeding is an international genetic evaluation. Efforts to create an international genetic evaluation for beef cattle started in 2001 with the EUropean BEeaf EVALuation project (EUBEEVAL). Phocas et al. (2005) suggested that the optimal model for beef cattle is an across-country animal model with maternal effect applied to raw phenotypes. Venot et al. (2006) performed the first pilot study and estimated across country genetic correlations for weaning weights between France (FRA), Ireland (IRL), and the United Kingdom (GBR) for Charolais (CHA) and Limousine (LIM) breeds. Three years later, genetic correlations were estimated for FRA, IRL, GBR, Sweden (SWE), and Denmark (DNK) (Venot et al., 2009). In 2008 Interbeef working group was established in ICAR, and the IDEA database at the Interbull center started to be used for pedigree and data exchange for beef cattle. Pabiou et al. (2014) estimated genetic correlations for weaning weight between eight-member countries of Interbeef for CHA and LIM. These genetic correlations were provided to Interbeef for tests and routine runs. Since then, Interbeef extended his service for more countries and breeds. The development of methods for international genetic evaluation for new traits, breeds, and countries is carried out in cooperation with research partners. The Czech Republic is responsible for the development of evaluation for calving traits (calving ease – CAE, birth weight – BWT). The first routine run for calving traits was held in 2018, and resulting international breeding values were distributed to member countries. By now, Interbeef provides international breeding values for weaning weight for five beef breeds (CHA, LIM, Beef Simmental, Aberdeen Angus, and Hereford) and calving traits (BWT and CAE) for three beef breeds (CHA, LIM, and Beef Simmental). Further research is focused on the development of international genetic evaluation for new traits (female fertility and carcass traits),

calving traits for Aberdeen Angus and Hereford, and estimation of genetic correlations for new member countries. (Veselá et al., 2019).

Genomic selection is becoming a world standard for dairy cattle, and in the last years, even for beef cattle. The first genomic selection in The Czech Republic was introduced for Holstein dairy cattle in 2012 using the Single-Step animal model (Přibyl et al., 2012). According to Berry et al. (2016) several factors contributed to the slower development and uptake of genomic evaluations in beef cattle relative to that achieved in dairy. Most notably, access to phenotypes (both the number of animals phenotyped and range of phenotypes) from which to generate genomic predictions and low-cost genotyping for widespread adoption of the genomic predictions. Within-breed genomic evaluations are, however, either already in place or are close to official implementation status. The aim of further research is to introduce genomic evaluation for beef cattle in The Czech Republic as well. Genotyping of beef cattle in The Czech Republic started at the and of the year 2018, and there were about 11 thousand animals of all beef breeds genotyped in May 2020 (personal communication with the Czech Beef Breeders Association).

References

BRZÁKOVÁ, M., SVITÁKOVÁ, A., ČÍTEK, J., VESELÁ, Z., VOSTRÝ, L. (2019): Genetic parameters of longevity for improving profitability of beef cattle. J. Anim. Sci. 97, 19-28.

KRUPOVÁ, Z., KRUPA, E., WOLFOVÁ, M. (2020): Economic weights of current and new breeding objective traits in Aberdeen Angus. Czech J. Anim. Sci. 65, 77-85.

NEPHAWE K.A., MAIWASHE A., THERON H.E., (2006) The effect of herd of origin by year on post-weaning traits of young beef bulls at centralized testing centres in South Africa. S. Afr. J. Anim. Sci. 36, 33–39.

PABIOU, T., NILFOROOSHAN, M., LALOE, D., HJERPE, E. & VENOT, E., (2014). Across-Country Genetic Parameters in Beef Cattle for Interbeef Weaning Weight Genetic Evaluation. Proceedings of the World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., vol. Species Breeding: Beef cattle (Posters), p. 731.

PHOCAS, F., DONOGHUE, K. & GRASER, H.U., (2005). Investigation of three strategies for an international genetic evaluation of beef cattle weaning weight. Gen. Sel. Evol. 37: 361-380.

PŘIBYL, J., HAMAN, J. , KOTT, T., PŘIBYLOVÁ, J., ŠIMEČKOVÁ, M., VOSTRÝ, L., ZAVADILOVÁ, L., ČERMÁK, V., RŮŽIČKA, Z., ŠPLÍCHAL, J., VERNER, M., MOTYČKA, J., VONDRÁŠEK, L. (2012). Single-step prediction of genomic breeding valuein a small dairy cattle population with strong importof foreign genes. Czech Journal of Animal Science. 57. 151-159.

PŘIBYL J., KREJČOVÁ H., PŘIBYLOVÁ J., MISZTAL I., TSURUTA S., MIELENZ N., (2008b). Models for evaluation of growth of performance tested bulls. Czech J. Anim. Sci. 53, 45–54

PŘIBYL J., MISZTAL I., PŘIBYLOVÁ J., ŠEBA K. (2003): Multiplebreed, Multiple-traits evaluation of beef cattle in the Czech Republic. Czech Journal of Animal Science, 48, 519–532.

PŘIBYL J., PŘIBYLOVÁ J., KREJČOVÁ H., MIELENZ N., (2008a). Comparison of different traits to evaluate the growth of bulls. Czech J. Anim Sci. 53, 273–283

PŘIBYLOVÁ J., VOSTRÝ L., VESELÁ Z., PŘIBYL J., BOHMANOVÁ J. (2004): Breeding value for own growth of beef bulls in performance-test station. Anim. Sci. Pap. Rep., 2, 97–103.

ROGERS, P. L., C. T. GASKINS, K. A. JOHNSON, AND M. D. MACNEIL. (2004). Evaluating longevity of composite beef females using survival analysis techniques. J. Anim. Sci. 82:860–866.

SAFUS P, PRIBYL J, VESELA Z, VOSTRY L, STIPKOVA M, STADNIK L. Selection indexes for bulls of beef cattle. Czech J Anim Sci. 51(7): 285-98.

SCHENKEL F.S., MILLER S.P., WILTON J.W., (2004). Herd of origin effect on weight gain of station-tested beef bulls. Livest. Prod. Sci. 86, 93–103.

SVITÁKOVÁ A., BRZÁKOVÁ M., NOVOTNÁ A., VESELÁ Z., VOSTRÁ VYDROVÁ H. (2019): Ultrasound measurement traits and selection of young animals of Aberdeen Angus cattle in the Czech Republic. In ASD 2019 – Book of Abstracts. 66-67.

VENOT, E., FOUILLOUX, M.N., FORABOSCO, F., FOGH, A., PABIOU, T., MOORE, K., ERIKSSON, J.A., RENAND, G. & LALOE, D., (2009). Beef without Borders: Genetic parameters for Charolais and Limousine Interbeef genetic evaluation of weaning weights. Interbull Bulletin. 40: 55-60.

VENOT, E., PABIOU, T., LALOE, D., WICKHAM, B., FOUILLOUX, M.N. & JOURNAUX, L., (2006). First steps towards a European joint genetic evaluation of the Limousine breed. Interbull Bulletin. 35: 141-145.

VESELÁ Z., BRZÁKOVÁ M., SVITÁKOVÁ A., VOSTRÝ L., BUCEK P. (2019): Interbeef international genetic evaluation for calving traits. ICAR Technical Series no. 24 – Proceedings of the ICAR Conference held in Prague, CZ, 17-21 June 2019, 49-54.

VESELÁ, Z., VOSTRÝ, L., SVITÁKOVÁ, A. (2013). Genetic Analysis of Female Fertility Traits in Beef Cattle in the Czech Republic. Interbull Bulletin. 47: 172-175.

VESELÁ, Z., VOSTRÝ, L., ŠAFUS, P. (2011). Linear and linear-threshold model for genetic parameters for SEUROP carcass traits in Czech beef cattle. Czech Journal of Animal Science.

VESELÁ, Z., PŘIBYL, J., ŠAFUS, P., VOSTRÝ, L., ŠEBA, K., ŠTOLC, L. (2005). Breeding value for type traits in beef cattle in the Czech Republic. Czech J Anim Sci. 50.

VOSTRÝ, L., VESELÁ, Z, KRUPA, E. (2014). Genetic evaluation of the growth of beef bulls at a performance test station. Journal of Animal and Feed Sciences. 23. 37-44.

WOLF J, WOLFOVA M, KRUPA E. User’s manual for the program package ECOWEIGHT (C programs for calculating economic weights in livestock), version 6.0.4. Part 1: Programs EWBC (version 3.0.4) and EWDC (version 2.2.3) for cattle [Internet]. Czech Republic: Institute of Animal Science Prague; 2013 (cited 2020 May 15). Available from: www.researchgate.net/publication/323497082.

WOLFOVA M, WOLF J, PRIBYL J, ZAHRADKOVA R, KICA J. (2005): Breeding objectives for beef cattle used in different production systems: 1. Model development. Livest Prod Sci. 95, 201-15.

VLIV INBREDNÍ DEPRESE A EFEKTU OČIŠTĚNÍ POPULACE NA VÝSKYT LETNÍ VYRÁŽKY U KONÍ

Inbreeding depression and purging in the occurrence of Insect bite hypersensitivity in horse.

Luboš Vostrý [1,2], Hana Vostrá-Vydrová[1,2], Michaela Brzáková[2], Barbora Hofmanová[1], Jana Rychtářová[2], Jindřich Čítek[3]

[1]Česká zemědělská univerzita v Praze

[2]Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves

[3]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt

Starokladrubský kůň je na území české republiky nepřetržitě chován více než 400 let. Vzhledem k tomu, že populace starokladrubského koně je malá a uzavřená, dochází u ní ke ztrátě genetické variability. Tato ztráta genetické diverzity způsobuje kumulaci škodlivých alel a inbrední depresi. Rozsáhlé rodokmenové záznamy a dostatečné fenotypové údaje umožňují studium vlivu inbrední deprese na výskyt letní vyrážky. Letní vyrážka patří mezi celosvětově nejběžnější alergické onemocnění, které se vyskytuje u koní. Vliv inbrední deprese a efekt očištění na výskyt letní vyrážky byl studován na 1295 pozorováních získaných od 536 jedinců. Klasický koeficient příbuzenské plemenitby, koeficient příbuzenské plemenitby předků a nový koeficient příbuzenské plemenitby byl odhadnut pro všechny jedince s fenotypovými záznamy. Statisticky průkazný efekt inbrední deprese byl zaznamenán pouze pro nový koeficient příbuzenské plemenitby. Tato práce poukazuje na skutečnost, že výskyt letní vyrážky je ovlivněn inbrední depresí.

Klíčová slova: genetická diverzita; zdraví; genetické zdroje

Abstract

Old Kladruber horse has been continually kept in the territory of the Czech Republic for more than four hundred years. Because the population is small and closed is treated by the loss of genetic variation which causes the accumulation of deleterious mutations, and inbreeding depression. The extensive pedigree and phenotypic information available for Old Kladruber horse provides a unique opportunity to examine the inbreeding and purging effect on Insect bite hypersensitivity which is the most common allergic disease affecting horses worldwide. Inbreeding depression and purging of inbreeding depression for occurrence of insect bite hypersensitivity (IBH) in the Old Kladruber horse were analysed on 1295 measurements taken from 536 horses. Classical, ancestral and new inbreeding coefficients were computed for all animals. Regression coefficients significantly different from zero were found for new inbreeding. This study show that occurrence of IBH is affected by inbreeding depresion.

Keywords: genetic diversity; health; inbreeding depression

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory grantů QK1910156 a MZE-RO0718.

Úvod

Příbuzenská plemenitba je jev, který se vyskytuje v malých uzavřených populacích. Výsledkem příbuzenské plemenitby je změna genotypových četností, kdy dochází k zvyšování frekvence homozygotních sestav genů na úkor heterozygotních. Tyto změny zvyšují frekvenci škodlivých homozygotních sestav, které způsobují inbrední depresi (Fernandez et al., 1995). Inbrední depresi je možno definovat jako snížení užitkovosti či fitness inbredních jedinců (Falconer and Mackey, 1996, Charlesworth and Willis, 2009).

Starokladrubský kůň je chován na území České republiky od roku 1579. Toto plemeno bylo vystaveno na základě importu starošpanělských a staroitalských koní. Starokladrubský kůň je zahrnut do genových zdrojů České republiky. Díky kvalitnímu kompletnímu rodokmenu a relativně vysoké hodnotě průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby se jedná o ideální model pro studium vlivu inbrední deprese.

Pro řízení malé populace je kromě odhadu rozsahu inbrední deprese také důležité snižovat negativní důsledky příbuzenské plemenitby. Je známo, že selekce, přírodní nebo umělá, může snížit negativní účinek příbuzenské plemenitby v důsledku snížení (eliminace) frekvence nepříznivých alel v populaci, což vede k očištění populace a následnému snížení genetické zátěže v populaci (Lacy and Ballou, 1998). Proces očištění je proces, při kterém byla z populace vybrána jako rodiče následné generace inbrední zvířata s velmi dobrou užitkovostí a dokonalým zdravotním stavem, zatímco zvířata se špatnou užitkovostí, nebo se zdravotními problémy byla vyřazena z reprodukce. Tímto procesem dochází k eliminaci škodlivých alel z populace.

Letní vyrážka je běžným alergickým onemocněním u většiny plemen koní na světě. Výskyt tohoto onemocnění způsobuje bodavé sání Culicoides spp. Welfare postižených zvířat je tímto negativně ovlivněn. Letní vyrážka patří mezi multifaktoriální onemocnění, u kterých hraje vliv prostředí významnou roli. Unkel et al. (1987) potvrdili polygenní model tohoto onemocnění. Do současné doby není mnoho známo o vlivu inbrední deprese na průběh tohoto onemocnění. Neprůkazný efekt inbrední deprese byl zjištěn u fríských koní (Schurink et al., 2011). Další výzkumy vlivu inbrední deprese na toto onemocnění nejsou dostupné.

Cílem této práce byla analýza vlivu inbrední deprese a efektu čištění na výskyt letní vyrážky u starokladrubského koně.

Materiál a metody

Uvedená analýza výskytu letní vyrážky byla uskutečněna na 1295 pozorováních od 536 starokladrubských koní chovaných v Národním hřebčíně Kladruby nad Labem. Data starokladrubských koní poskytla Plemenná kniha starokladrubského koně. Jedinci byly vizuálně hodnoceni dvakrát ročně (květen a říjen) v rozmezí 13 let od roku1996 do roku 2009. Výskyt letní vyrážky posuzoval jeden veterinární lékař na základě výskytu typických klinických příznaků.

Výskyt letní vyrážky vykazuje binární rozdělení: 0 – absence výskytu symptomů a 1 – klinické symptomy. Ve sledovaném souboru 63 % jedinců nevykazovalo žádné příznaky, a 37 % jedinců bylo postiženo. Koně během svého života byly posuzovány opakovaně. Více informací o datové struktuře je možné získat z Čítek et al. (2017).

Koeficienty příbuzenské plemenitby

Pro zjištění vlivu inbrední deprese a vlivu očištění na výskyt letní vyrážky byly odhadnuty jak klasický koeficient příbuzenské plemenitby (Wright, 1922; Malécot, 1948) tak koeficient příbuzenské plemenitby předků Ballou (1997). Uvedené koeficienty inbreedingu byly odhadnuty programem GRain (Baumung et al., 2015).

Ballou (1997) navrhl odhad koeficientu příbuzenské plemenitby předků dle následujícího vztahu:

$$F_{aB} = \frac{f_{a(s)} + \left(1 - f_{a(s)}\right)f_s + f_{a(d)} + \left(1 - f_{a(d)}\right)f_d}{2}$$

kde f a f_a jsou klasický koeficient příbuzenské plemenitby a koeficienty příbuzenské plemenitby předků a indexy s a d přestavují otce a matku.

V analýze byl také uvažován koeficient příbuzenské plemenitby, který byl odhadnut pouze se zohledněním 5 generací předků. Tento koeficient příbuzenské plemenitby byl považován za tzv. "nový" koeficient příbuzenské plemenitby vzniklý ze současné příbuzenské plemenitby a není ovlivněn příbuzenskou plemenitbou v minulých generacích. Tento koeficient příbuzenské plemenitby byl odhadnut pomocí programu ENDOG v4.8 (Gutiérrez a Goyache, 2005).

Statistická analýza

Vliv inbrední deprese a očištění populace byl odhadován za použití procedury GLIMIX programového balíku SAS se zohledněním opakovaného pozorování. Závisle proměnná (y_i) nabývá hodnot 1 s pravděpodobností π_i výskytu onemocnění nebo hodnotou 0 s pravděpodobností jevu opačného ($1-\pi_i$). Lineární logistický model s binární poměnou byl odvozen z práce Citek et al. (2017):

Model 1: $log\left(\frac{\pi_{ijkl}}{1-\pi_{ijkl}}\right) = RokHod_i + Věk_j + Pohlaví_k + bF_X + pe_l$

Model 2: $log\left(\frac{\pi_{ijkl}}{1-\pi_{ijkl}}\right) = RokHod_i + Věk_j + Pohlaví_k + bF_{X5} + pe_l$

kde závislá proměnná je výskyt letní vyrážky (0 – absence klinických symptomů a 1 – klinické symptomy), $RokHod_i$ je fixní efekt i-tého roku hodnocení (i=1996,…, 2009), *Věk* je fixní efekt j-tého věku při hodnocení (j=1,…,16), $Pohlaví_k$ je fixní efekt k-tého pohlaví (k=hřebec nebo klisna; valaši nebyli uvažováni), b je regresní koeficient, F_X je klasický koeficient příbuzenské plemenitby (Wright,1922), F_{X5} je nový koeficient příbuzenské plemenitby, pe_l je náhodný efekt trvalého prostředí jedince ~N(0,I_{pe} σ^2_{pe}), I_{pe} je matice plánu pokusu a σ^2_{pe} je rozptyl trvalého prostředí jedince.

Pro odhad efektu očištění byl použit modifikovaný model dle Ballou (1997):

$$log\left(\frac{\pi_{ijkl}}{1-\pi_{ijkl}}\right) = RokHod_i + Věk_j + Pohlaví_k + bF_X + b(F_X * F_{aB}) + pe_l$$

kde závislá proměnná, RokHod, Věk, Pohlaví, b a F_X představují shodné efekty jako v Modelu 1 F_X*F_{aB} isje interakce mezi klasickým koeficientem příbuzenské plemenitby a koeficientem příbuzenské plemenitby předků.

Vhodnost použitých modelů byla testována pomocí Akaikeho informačního kritéria korigovaného na velikost datového souboru:

$$AICc = -2 \log likelihood + 2k(k+1)/(n-k-1)$$

kde *k* je počet odhadovaných parametrů a *n* je počet pozorování. Model s nižší hodnotou AIC je běžně považován za model vhodnější. Dále byla vhodnost modelu testována pomocí likelihood ratio testu (-2 log likelihood) což je asymptotický chi-kvadrát test. Stupně volnosti spojené s likelihood ratio testem odpovídají rozdílu mezi počtem parametrů u plného a redukovaného modelu (model bez efektu inbrední deprese – nepublikováno).

Tabulka 1. Vliv sledovaných koeficientů příbuzenské plemenitby na výskyt letní vyrážky

Model	Koeficient inbreedingu	Regresní koeficient (SE)	Poměr šancí	P-hodnota	ΔAIC[3]	L. ratio
Model 1	F_X	0.022 (0.017)	1.022	0.196	4.19	0.0008
Model 2	F_{X5}	0.052 (0.024)	1.053	0.027	3.80	0.0007
Model 3	F_X	-0.048 (0.102)	0.953	0.634	0.00	0.0002
	F_X*F_{aB}	0.001 (0.002)	1.001	0.482		

F_X je klasický koeficient příbuzenské plemenitby, F_{aB} je koeficient příbuzenské plemenitby předků definovaný dle Ballou (1997), F_{X5} je nový koeficient příbuzenské plemenitby definovaný na základě 5 generací předků, FX*FaB je interakce mezi klasickým koeficientem příbuzenské plemenitby a koeficientem příbuzenské plemenitby předků definovaného dle Ballou (1997), ΔAICc je rozdíl v hodnotách Akaikeho informačního koeficientu mezi sledovanými modely, L.ratio je likelihood ratio test.

Výsledky

Výsledky z likelihood ratio testu indikují statisticky průkazné rozdíly mezi modely 1, 2, 3 a základním modelem bez efektu inbrední deprese. Na základě hodnot ΔAIC vykazoval největší vhodnost model 3. Odhady regresních koeficientů a poměry šancí pro všechny druhy testovaných inbredních depresí a efektu očištění jsou uvedeny v Tabulce 1. Statisticky průkazný negativní vliv na výskyt letní vyrážky byl prokázán u modelu 2. Z výsledků vyplývá, že zvýšením hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby vlivem příbuzenské plemenitby v současné populaci o 1 % dochází k zvýšení výskytu letní vyrážky 1,05 krát. Vliv klasického koeficientu příbuzenské plemenitby, který zahrnuje i vliv příbuzenské plemenitby, ke které došlo v minulosti, na výskyt letní vyrážky byl zjištěn jako statisticky neprůkazný. Také zahrnutí interakce mezi efekty příbuzenské plemenitby F_X a F_{aB} nevykazovalo statisticky průkazný vliv na výskyt letní vyrážky u starokladrubského koně.

Diskuze

Klasický přístup využívající regresní analýzu využívající koeficient příbuzenské plemenitby pro analýzu inbrední deprese u hospodářských zvířat byl použit v mnoha studiích (např. Curik et al. (2003), Leroy (2014), Vicente et al. (2014). Naopak, pouze několik studií zohledňovalo vliv koeficientu příbuzenské plemenitby předků na užitkové vlastnosti hospodářských zvířat. Například McParland et al. (2009) and Hinrichs et al., (2015) použili tuto metodu u skotu a Ragab et al. (2015) u králíků.

Na základě statistické průkaznosti F_{X5} byl potvrzen vliv inbrední deprese u výskytu letní vyrážky u starokladrubského koně. Vyšší signifikantně negativní vliv F_{X5} v porovnání s F_X poukazuje na výskyt efektu čištění v populaci starokladrubského koně (McParland et al., 2009). Vyšší negativní efekt FX5 v porovnání s FX dále poukazuje na skutečnost, že k výskytu škodlivých alel v homozygotním stavu vlivem příbuzenské plemenitby dochází v posledních generacích. Z toho lze usuzovat, že homozygotní sestavy škodlivých alel vzniklé příbuzenskou plemenitbou v minulých generacích byly vlivem selekce odstraněny z populace a populace byla o škodlivé alely očištěna. Efekt očištění by potvrzen i vyšší vhodností modelu 3, který vykazoval nejnižší hodnotu ΔAIC. I přes sledovanou nejvyšší vhodnost modelu, nevykazovaly u modelu 3 koeficienty příbuzenské plemenitby (F_X a F_{aB}) statistickou průkaznost. Tato statistická neprůkaznost však může být způsobena malou sílou testu, která je ovlivněna velikostí testované populace. Výrazné zvýšení počtu jedinců v této analýze není možné z důvodu, že plemeno starokladrubský kůň patří mezi málopočetná uzavřená plemena. Efekt očištění také může být ovlivněn nárůstem koeficientu příbuzenské plemenitby. Boakes a Wang (2005) uvádí, že populace s nízkým nárůstem koeficientu příbuzenské plemenitby mezi generacemi (ΔF) mají vyšší tendenci k efektu očištění než populace s vysokou hodnotou nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby. Plemeno starokladrubský kůň však patří právě do skupiny s vyšší hodnotou nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby (ΔF ≈ 1% - Vostrá-Vydrová et al. 2016). Z tohoto důvodu, nemusí být efekt očištění v populaci zřetelný.

Závěr

Efekt inbrední deprese statisticky průkazně ovlivňuje výskyt letní vyrážky u starokladrubského koně. Efekt očištění byl také zjištěn, avšak vlivem malé síly testu a možného velkého nárůstu hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby v populaci nebyla u tohoto efektu prokázána statistická průkaznost. Prokázání efektu očištění v populaci starokladrubského koně je v souladu se šlechtitelským cílem plemene starokladrubský kůň, kdy do plemenitby jsou používáni pouze jedinci, u kterých nebyly doposud detekovány symptomy letní vyrážky. Touto cestou dochází k eliminaci škodlivých alel způsobujících toto onemocnění z populace starokladrubského koně. Dále je předpoklad, že využití genomických informací v budoucnu povede k lepšímu pochopení genetické determinace a výskytu tohoto onemocnění.

Seznam literatury

BALLOU, J.D., 1997. Ancestral Inbreeding Only Minimally Affects Inbreeding Depression in Mammalian Populations. Journal of Heredity 88, 169–178. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a023085

BAUMUNG, R., FARKAS, J., BOICHARD, D., MÉSZÁROS, G., SÖLKNER, J., CURIK, I., 2015. GRAIN : a computer program to calculate ancestral and partial inbreeding coefficients using a gene dropping approach. Journal of Animal Breeding and Genetics 132, 100–108. https://doi.org/10.1111/jbg.12145

BOAKES, E., WANG, J., 2005. A simulation study on detecting purging of inbreeding depression in captive populations. Genetical Research 86, 139. https://doi.org/10.1017/S001667230500772X

BURNHAM, K.P., ANDERSON, D.R., 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach, 2nd ed. ed. Springer, New York.

CHARLESWORTH, D., WILLIS, J.H., 2009. The genetics of inbreeding depression. Nature Reviews Genetics 10, 783–796. https://doi.org/10.1038/nrg2664

CITEK, J., VOSTRY, L., VOSTRA-VYDROVA, H., BRZAKOVA, M., PRANTLOVA, V., 2017. Genetic parameters of insect bite hypersensitivity in the Old Grey Kladruber horse. Journal of Animal Science 95, 53. https://doi.org/10.2527/jas.2016.0745

CURIK, I., 2003. Inbreeding, Microsatellite Heterozygosity, and Morphological Traits in Lipizzan Horses. Journal of Heredity 94, 125–132. https://doi.org/10.1093/jhered/esg029

FALCONER, D.S., MACKAY, T.F.C., 2009. Introduction to quantitative genetics, 4. ed., [16. print.]. ed. Pearson, Prentice Hall, Harlow.

FERNÁNDEZ, A., TORO, M.A., LÓPEZ-FANJUL, C., 1995. The effect of inbreeding on the redistribution of genetic variance of fecundity and viability in Tribolium castaneum. Heredity 75, 376–381. https://doi.org/10.1038/hdy.1995.149

GUTIERREZ, J.P., GOYACHE, F., 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. Journal of Animal Breeding and Genetics 122, 172–176. https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2005.00512.x

LACY, R.C., BALLOU, J.D., 1998. Effectiveness of Selection in Reducing the Genetic Load in Populations of Peromyscus polionotus During Generations of Inbreeding. Evolution 52, 900. https://doi.org/10.2307/2411285

LEROY, G., 2014. Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. Animal Genetics 45, 618–628. https://doi.org/10.1111/age.12178

MACCLUER, J., W., BOYCE, A.J., DYKE, B., WEITKAMP, L.R., PFENNIG, D.W., PARSONS, C.J., 1983. Inbreeding and Pedigree Structure in Standardbred horses. Heredity 74, 394–399.

MALÉCOT, G., 1948. Les mathématiques de l'hérédité. Barnéoud frères.

MC PARLAND, S., KEARNEY, F., BERRY, D.P., 2009. Purging of inbreeding depression within the Irish Holstein-Friesian population. Genetics Selection Evolution 41, 16. https://doi.org/10.1186/1297-9686-41-16

RAGAB, M., SÁNCHEZ, J.P., BASELGA, M., 2015. Effective population size and inbreeding depression on litter size in rabbits. A case study. Journal of Animal Breeding and Genetics 132, 68–73. https://doi.org/10.1111/jbg.12110

SCHURINK, A., DUCRO, B.J., HEUVEN, H.C.M., VAN ARENDONK, J.A.M., 2011. Genetic parameters of insect bite hypersensitivity in Dutch Friesian broodmares. Journal of Animal Science 89, 1286–1293. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3222

VOSTRÁ-VYDROVÁ, H., VOSTRÝ, L., HOFMANOVÁ, B., KRUPA, E., ZAVADILOVÁ, L., 2016. Pedigree analysis of the endangered Old Kladruber horse population. Livestock Science 185, 17–23. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.01.001

WRIGHT, S., 1922. Coefficients of Inbreeding and Relationship. The American Naturalist 56, 330–338. https://doi.org/10.1086/279872

PLEMENNÉ HODNOTY PRO SOUHRNNÉ ZNAKY NEMOCÍ PAZNEHTŮ A PRO KULHÁNÍ

Breeding values for overall claw and horn diseases and lameness

Ludmila Zavadilová, Eva Kašná, Zuzana Krupová

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

Abstrakt

Cílem této práce bylo na základě vyhodnocení vztahů mezi odhady plemenných hodnot stanovených na základě nemocí paznehtů a kulhání posoudit vhodnost vzájemné kombinace onemocnění paznehtů a kulhání do jednoho znaku, využitelného pro šlechtění na odolnost vůči nemocem paznehtů. Nemoci a poruchy paznehtů byly sledovány u holštýnských dojnice (29 291 krav a 42 247 laktací) otelených v letech 2017-2020. Vyhodnocené znaky byly onemocnění paznehtů, kulhání, kombinace nemocí paznehtů a kulhání. Pro vlastní vyhodnocení byl použit lineární animal model s opakovatelností. Znaky byly definovány jako binární: výskyt ano/ne za laktaci. Byly odhadnuty genetické parametry a plemenné hodnoty. Genetické korelace byly aproximovány korelacemi mezi plemennými hodnotami. Koeficienty dědivosti pro kulhání byly 0,03, pro nemoci paznehtů 0,05 a pro jejich kombinaci 0,04. Relativní plemenné hodnoty se pohybovaly v rozmezí 31,57 až 136,93 %; jejich spolehlivosti dosahovaly až 0,95 pro kombinaci nemocí paznehtů byla průměrná spolehlivost 0,17. Korelace mezi plemennými hodnotami pro nemoci paznehtů a kulhání byla 48 % a to pro býky se spolehlivostí plemenných hodnot nad 0,5. Pro všechny jedince byla tato korelace 27 %. Na základě hodnoty této korelace, která je pouze střední, nedoporučujeme kombinovat kulhání s nemocemi paznehtů do jednoho znaku pro odhad plemenné hodnoty.

Klíčová slova: dojený skot; kulhání; nemoci paznehtů; plemenná hodnota; koeficient dědivosti

Abstract

This work aimed to assess the suitability of a combination of claw and horn disease and lameness into a trait for genetic evaluation for resistance to claw and horn disease. Claw and horn disorders were observed in Holstein cows (29,291 cows and 42,247 lactations) calved in 2017-2020. The analysed traits were claw diseases, lameness, a combination of claw diseases and lameness. A linear animal model with repeatability was employed. The traits were defined as binary: occurrence of yes/no during lactation. Genetic parameters and breeding values were estimated. Correlations between breeding values approximated genetic correlations. Heritability for lameness was 0.03, for claw diseases 0.05 and heritability for their combination was 0.04. Relative breeding values ranged from 31.57 to 136.93 %; their reliability ranged up to 0.95 for the combination of claw disease was average reliability of 0.17. The correlation between breeding values for claw diseases and lameness was 48%, and that was for bulls with a breeding value reliability above 0.5. For all animals, this correlation was 27%. Therefore, we do not recommend combining lameness with claw and horn diseases into one trait for genetic evaluation.

Keywords: dairy cow; lameness; claw and horn diseases; breeding values; heritability

Poděkování

Studie byla zpracována s podporou MZe ČR, projektů NAZV QJ1510144 a MZE-RO0718

Úvod

Snížení výskytu nemocí paznehtů potažmo kulhání u dojeného skotu jedním z hlavních chovatelských cílů z důvodů zachování užitkovosti, plodnosti i welfare zvířat (Huxley, 2013). Tento cíl může být dosažen jak zlepšením chovatelských opatření, tak šlechtěním skotu na zvýšení odolnosti vůči nemocem paznehtů. Základem šlechtění je definice znaků, na které se šlechtění zaměří, jejichž fenotypové hodnoty budou evidovány a následně bude pro tyto znaky stanovena plemenná hodnota, která se bude pro šlechtění používat.

Nemoci paznehtů skotu představují celou skupinu nemocí s různým projevem a důvody vzniku, jak dokumentuje např. Obrazový atlas patologických nálezů na paznehtech (ICAR Claw Health Atlas, ICAR Technical Series (ISSN: 92-95014-14-6 a ISBN: 92-95014-18) ke stažení na stránkách ICAR (www.icar.org/index.php/publications-technical-materials/technical-series-and-proceedings/atlas-claw-health-and-translations), v různých jazycích včetně češtiny. Jak uvádí Greenough (2017) nemoci paznehtů dělí podle etiologie se na infekční nemoci a na poruchy rohového pouzdra nazývané také neinfekční nemoci paznehtů. K infekčním nemocem paznehtů se obvykle řadí digitální a interdigitální dermatitida, nekrobacilóza a hniloba rohoviny patek. Poruchy rohového pouzdra mají podle Greenougha (2017) prvotní příčinu v laminitidě a řadí se k nim vředy, krváceniny, praskliny, poruchy bílé čáry a další. Nespecifické poruchy paznehtů jsou tylom a otok. Mezi infekčními nemocemi a poruchami rohového pouzdra je slabší genetický vztah (van der Waaij et al., 2005; van der Speck et al., 2013; Malchiodi et al., 2017). Kulhání není nemocí, ale je základním symptomem onemocnění paznehtů jak infekčních, tak neinfekčních (Green et al., 2002; Van Der Waaij et al., 2005; Bicalho and Oikonomou, 2013), jako jsou např. vřed, porucha bílé čáry, krváceniny v chodidle, tylom. Kulhání lze použít jako znak indikátor nemocí a poruch paznehtů (Laursen et al., 2009; Weber et al., 2013). Jako další indikátorové znaky lze využít také lineární popis exteriéru končetin (van der Waaij et al., 2005; van der Linde et al., 2010).

Šlechtění dojeného skotu na zvýšení odolnosti vůči onemocnění paznehtů se zaměřuje na jednotlivé nemoci, vytváření se skupiny nemocí nebo se používá kulhání jako zástupný znak. Genetickou složku výskytu nemocí paznehtů se podařilo potvrdit, i když vlastní koeficienty dědivosti jsou nízké. Johansson et al. (2011) vyhodnotili v severských zemích jako podklad pro index zdraví paznehtů sedm nemocí a poruch paznehtů setříděných do tří skupin: první zahrnovala infekční nemoci: interdigitální a digitální dermatitidu, hnilobu rohoviny patek a tylom; druhou skupinu tvořily poruchy spojené s výživou zvířat jako je chodidlový vřed, nemoc bílé čáry, krváceniny v chodidle a třetí skupina zahrnovala malformace paznehtu. Van der Linde et al. (2010) vyhodnotili a genetickou variabilitu pro jednotlivé nemoci paznehtů a kombinovaný znak nemocí paznehtů, který zohledňoval výskyt některé z vybraných nemocí: krváceniny v chodidle, digitální dermatitida, interdigitální dermatitida, stěnový vřed, chodidlový vřed, tylom, nemoc bílé čáry. Peréz-Cabal a Charfeddine (2015) zahrnuli do genetického hodnocení interdigitální a digitální dermatitidu, chodidlový vřed, nekrobacilózu, tylom, poruchu bílé čáry a chronickou laminitidu. Znak celková nemoc paznehtů byl definován jako výskyt alespoň některé z výše uvedených nemocí.

U kulhání potvrdili genetickou složku umožňující využití ve šlechtění Boettcher et al. (1998). Nalezli heritabilitu ve výši 0,10 až 0,22 při využití lineárního či prahového modelu a potvrdili tak možnost využití kulhání jako selekčního znaku pro zvýšení odolnosti vůči nemocem paznehtů. Stejně tek Weber et al. (2013) potvrdili, že kulhání je dobrý indikátor pro emoci paznehtů. Ring et al. (2018) došli k závěru, že při využití informací pro vybrané nemoci paznehtů lze získat vyšší genetický zisk než jen při použití informací o kulhání dojnic.

Cílem této práce je na základě vyhodnocení vztahů mezi odhady plemenných hodnot stanovených na základě nemocí paznehtů a kulhání posoudit vhodnost vzájemné kombinace onemocnění paznehtů a kulhání do jednoho znaku, využitelného pro šlechtění na odolnost vůči nemocem paznehtů.

Materiál a metodika

U holštýnských dojnic otelených v letech 2017-2020 proběhlo sledování výskytu nemocí paznehtů a kulhání v průběhu normovaných laktací. Zdrojem informací o diagnózách byl Deník nemocí a léčení. Databáze „Deník nemocí a léčení“ (dále Deník) určená pro záznam a uchovávání záznamů zdravotních událostí v chovech dojeného skotu v ČR byla uvedena do testovacího provozu v roce 2017. Od srpna 2018 jsou z Deníku pravidelně začátkem každého měsíce vypisována data pro statistické zpracování. Data potřebná ke genetickému hodnocení laskavě poskytli Svaz chovatelů holštýnského skotu a Českomoravská společnost chovatelů, a.s. Z databáze diagnóz a dalších poskytnutých souborů byly vytvořeny tři soubory viz Tab. 1, s informacemi o laktacích krav s výskytem nebo bez výskytu nemoci paznehtů či kulhání, případně kombinací těchto informací. Podrobnější informace o využitých laktacích jsou uvedeny v Tab. 2.

Tab. 1 Počty a laktační incidence podle znaků

	Nemoci paznehtů, OCD	Kulhání, KULH	Kombinace nemocí paznehtů a kulhání, OCDkulh
Laktace	37 462	30 104	42 247
Kráva	26 760	21 624	29 291
Rodokmen	67 320	56 117	71 636
Laktační incidence (LIR)	18,92 %	9,82 %	19,63 %

Tab. 2 Počty laktací podle pořadí

Pořadí laktace	Nemoci paznehtů, OCD	Kulhání, KULH	Kombinace nemocí paznehtů a kulhání, OCDkulh
1	12 865	10 434	14 642
2	10 519	8 205	11 827
3	7 230	5 762	8 155
4	4181	3 318	4 673
5	1 943	1 663	2 152
6	724	722	798
celkem	37 462	30 104	42 247

Tab. 3 Počty nejvíce zastoupených nemocí a poruch paznehtů a kulhání využitých při analýze

Nemoc/porucha paznehtu; kulhání	Počet nálezů
Hniloba rohoviny patek	189
Hnisavě dutá stěna	1176
Interdigitální / povrchová dermatitida	904
Trhlina bílé čáry	201
Akutní laminitida	152
Digitální dermatitida	5779
Dvojité chodidlo	127
Krváceniny v chodidle	7
KULH	6183
Laminární oddělování rohoviny stěny paznehtu od pod ní ležící škáry	21
Laminitida – schvácení paznehtů	23
Nekrobacilóza meziprstí	3576
Nemoc bílé čáry	114
Otok	131
Trhlina paznehtu	255
Tylom	1035
Vřed paznehtu	9058

Pro vlastní vyhodnocení byl použit lineární animal model s opakovatelností.

Modelová rovnice:

y_{ijklm}=pořadí_věk$_i$ + stádo$_j$ + rok_měsíc$_k$ + pe$_l$ + a$_m$ + e$_{ijklm}$

y_{ijklm} – závislá proměnná definovaná jako znak pro odhad plemenné hodnoty: onemocnění paznehtů (OCD); kulhání (KULH); kombinace nemocí paznehtů a kulhání (OCDkulh). Použité nemoci paznehtů včetně počtu diagnóz (nálezů) jsou uvedeny v Tab. 3. Znaky byly definovány jako výskyt za laktaci, a to jako binární proměnná, tj. výskyt ano/ne. Laktace je definována jako normovaná laktace v délce 240–305 dnů, kdy 5. a 6. laktace jsou spojeny do jedné kategorie, a ne všechna zvířata mají první laktaci. Sběr údajů o onemocnění a byl průběžně prováděn zootechniky, ošetřovateli i pracovníky paznehtářských firem při úpravách paznehtů; pořadí_věk$_i$ – pořadí laktace kombinovaný s věkem při otelení (15; 15; 15 hladin); *stádo$_j$* – pevný efekt stáda (53; 46; 53 hladin); rok_měsíc$_k$ – pevný efekt roku a měsíce otelení (35; 35; 35 hladin); *pe$_l$* je náhodný efekt trvalého období jedince, odpovídající více laktacím krávy; a$_m$ – náhodný aditivní efekt jedince spojený s rodokmenem; *e$_{ijklm}$* je náhodný reziduální efekt.

Model byl použit pro odhad genetických parametrů a pro odhad konvenčních plemenných hodnot. Vlastní výpočet byl proveden programovým balíkem BLUPF90 (Misztal et al., 2018). Relativní plemenné hodnoty byly vypočteny na základě průměru plemenných hodnot býků narozených v roce 2010. Tento průměr sloužil jako 100 % a za směrodatnou odchylku byla použita hodnota 5.

Výsledky a diskuze

Odhady rozptylů, koeficientu dědivosti a opakovatelnosti pro tři hodnocené znaky jsou uvedeny v Tab. 4. Odhady jsou odlišné pro KULH, zatímco u OCD a OCDkulh jsou velmi podobné.

Koeficienty dědivosti pro KULH i OCD a OCDkulh byly opět nízké a odpovídaly běžně publikovaným výsledkům. Ring et al. (2018) uvádí hodnotu koeficientu dědivosti pro kulhání 0,05. Boettcher et al. (1998) nalezli koeficient dědivosti pro kulhání 0,10. Peréz-Cabal a Charfeddine (2015) zjistili pro kombinovaný znak nemoci paznehtů koeficient dědivosti 0,05; pro jednotlivé nemoci paznehtů byly hodnoty koeficientu dědivosti nižší. Van Der Waaij et al. (2005) nalezli koeficienty dědivosti pro nemoci paznehtů od 0,01 do 0,10. Weber et al. (2013) zjistili pro kulhání koeficient dědivosti 0,15 až 0,22, ovšem při použití prahového modelu. Pro souhrnný znak nemoci paznehtů Weber et al. (2013) odhadli prahovým modelem koeficient dědivosti 0,22 až 0,24. Tyto hodnoty jsou vyšší než námi zjištěné, neboť u prahových modelů ve srovnání s lineárními jsou odhady heritability vyšší. Koeficienty opakovatelnosti byly téměř třikrát vyšší pro OCD a OCDkulh ve srovnání se samostatným KULH.

Tab. 4 Odhady variancí, koeficientu dědivosti (h^2) a opakovatelnosti (r^2) pro hodnocené znaky

Variance a koeficienty	Nemoci paznehtů	KULH	Kombinace nemocí paznehtů a KULH
Aditivní	0,0058±0,00129	0,0024±0,00054	0,0056±0,00125
Trvalého efektu Prostředí	0,0094±0,00084	0,0024±0,00098	0,0086±0,00080
Zbytková	0,1104±0,00132	0,0810±0,00108	0,1186±0,00130
Celková	0,1256	0,0855	0,1326
h^2	0,05	0,03	0,04
r^2	0,14	0,06	0,12

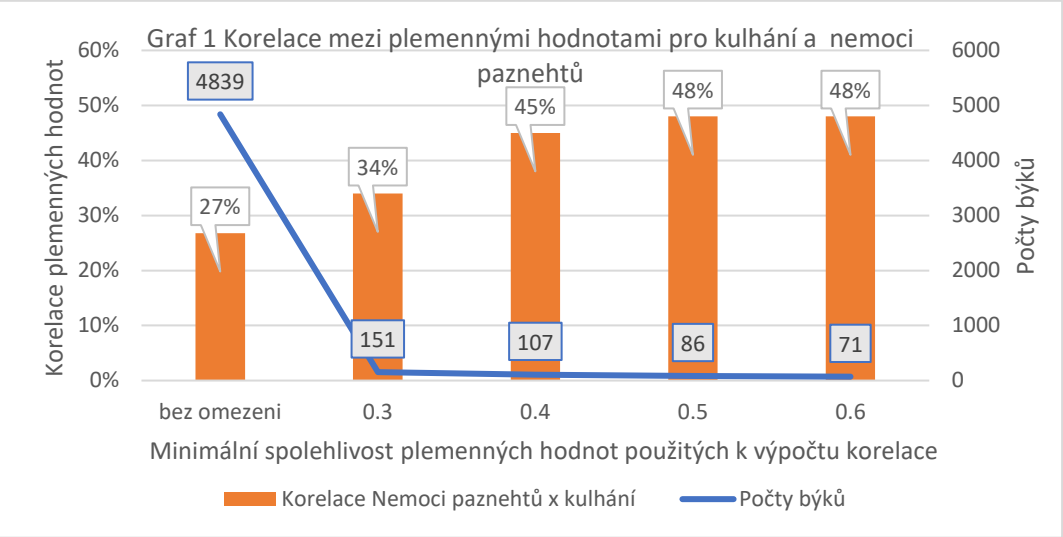
Průměry relativních plemenných hodnot a jejich spolehlivostí jsou uvedeny v Tab. 5. Opět je zřejmé, že KULH se odlišuje svými hodnotami pro relativní plemenné hodnoty od ostatních uvedených znaků. Plemenné hodnoty pro KULH mají nižší směrodatnou odchylku, vyšší minimum a nižší maximum. Spolehlivost plemenných hodnot rozhodně stoupala u kombinovaného znaku OCDkulh. Můžeme to přičíst vyššímu počtu informací o fenotypech, vstupujících do výpočtu.

Tab. 5 Průměry odhadu plemenných hodnot, relativních plemenných hodnot a spolehlivostí plemenných hodnot pro znaky

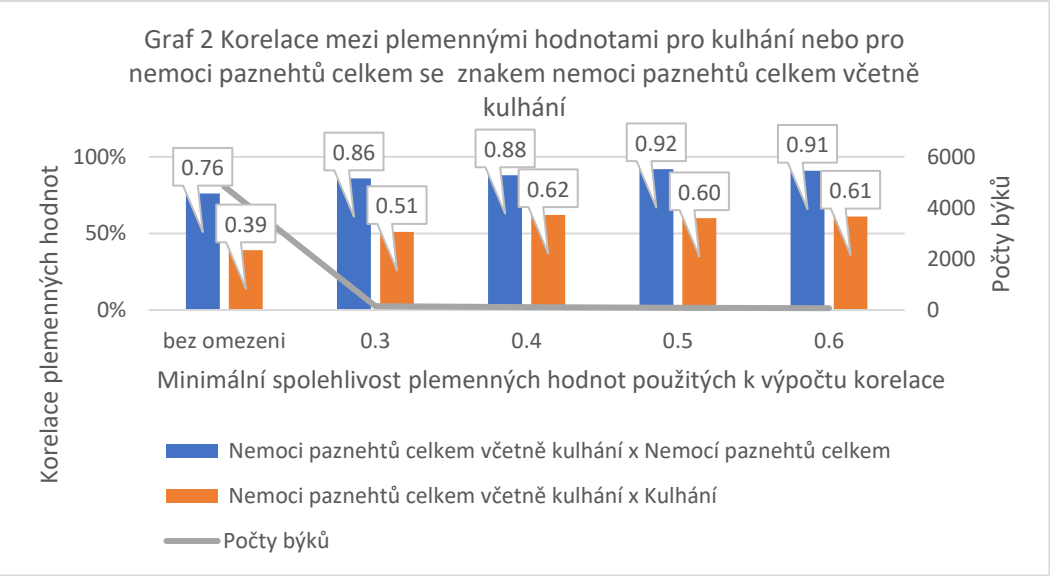
	Počet	Průměr ± SD	Minimum	Maximum
Relativní plemenné hodnoty				
Nemoci paznehtů	67 320	94.74±7.52	31.57	135.56
Kulhání	56 117	97.33±4.94	61.95	122.75
Kombinace nemocí paznehtů a KULH	71 636	96.01±8.88	46.77	136.93
Spolehlivosti odhadu plemenných hodnot				
Nemoci paznehtů	67 320	0.08±0.07	0.00	0.84
Kulhání	56 117	0.07±0.06	0.00	0.84
Kombinace nemocí paznehtů a kulhání	71 636	0.17±0.14	0.00	0.95

Byly vyhodnoceny korelace mezi plemennými hodnotami pro OCD, KULH a OCDkulh. Tyto korelace pouze aproximují genetické korelace mezi znaky. Nejsou s nimi identické. Korelace mezi plemennými hodnotami pro KULH a OCD na základě 30 178 zvířat dosahovala 26,8 %. Korelace pro KULH a OCD mezi plemennými

býky s dcerami s užitkovostí byla 26,7 %, jednalo se 4 839 býků. Ring et al. (2018) zjistili genetickou korelaci mezi nemocemi paznehtů a kulháním 1 % až 48 %, kdy se jednalo o tři vybrané nemoci přerostlý pazneht, poruchu bílé čáry a krváceniny v chodidle. Weber et al. (2013) pak uvádí genetickou korelaci mezi kulháním a nemocemi paznehtů mezi 60 a 72 %, přičemž nemoci paznehtů jsou brány souhrnně, jednou se zahrnutím digitální dermatitidy a podruhé bez zahrnutí této nemoci. Aproximace genetických korelací pomocí korelací plemenných hodnot mezi KULH a OCD je uvedena v Grafu 1. Hodnoty korelací byly vypočteny na základě plemenných hodnot býků s různou minimální spolehlivostí. Síla korelací se pohybuje od 27 % do 48 % a roste úměrně spolehlivosti použitých plemenných hodnot, avšak od 0,5 spolehlivosti se již nemění.



V Grafu 2 jsou uvedeny korelace mezi plemennými hodnotami býků pro KULH nebo pro OCD k plemenným hodnotám pro OCDkulh. Pro KULH jsou hodnoty těchto korelací jsou poloviční ve srovnání s korelací pro OCD. Kromě geneticky odlišného řízení kulhání a nemocí paznehtů padá rozdíl mezi korelacemi na vrub složení souboru použitého pro výpočet plemenných hodnot. Při tvorbě souboru pro odhad plemenných hodnot pro kombinovaný znak OCDkulh převažovaly informace o nemocech paznehtů nad kulháním, jak je zřejmé z Tab. 1., i když se nejednalo o velký rozdíl. Síla korelací opět stoupá s výší spolehlivostí plemenných hodnot použitých k výpočtu až dosáhne 91 % pro OCD a 60 % pro KULH.



Závěr

Předkládané vyhodnocení tedy ukázalo, že mezi nemocemi paznehtů a kulháním existuje zásadní genetických vztah. Vzhledem k tomu, že poruchy paznehtů zapříčiňují kulhání zvířat, i když to není jediný důvod, jeví se genetické založení pro kulhání shodné s genetickým základem pro nemoci paznehtů. Avšak aproximativní genetická korelace nedosáhla v této studii ani 50 %. Poruchy a nemoci paznehtů jsou velmi rozličné a jednotlivé druhy nemocí a poruch paznehtů zapříčiňují kulhání v různé míře. Při vlastním odhadu plemenných hodnot pak kulhání vystupuje jako indikátorový znak ukazující na možnost výskytu nemoci paznehtů. Na základě této střední hodnoty korelace pak můžeme konstatovat, že je to podstatný důvod proti kombinaci nemocí paznehtů a kulhání do jednoho znaku, který by se používal pro odhad plemenné hodnoty a následně pro šlechtění.

Seznam literatury

BICALHO, R. C., OIKONOMOU, G. (2013). Control and prevention of lameness associated with claw lesions in dairy cows. Liv. Sci. 156, 96–105.

BOETTCHER, P. J., DEKKERS, J. C. M., WARNICK, L. D., WELLS, S. J. (1998). Genetic analysis of clinical lameness in dairy cattle. J. Dairy Sci. 81, 1148-1156.

HUXLEY, J. N. (2013). Impact of lameness and claw lesions in cows on health and production. Liv. Sci. 156, 64–70.

JOHANSSON, K., ERIKSSON, J.-A., NIELSEN, U. S., POSO, J., AAMAND, G. P. (2011). Genetic evaluation of claw health in Denmark, Finland and Sweden. Interbull Bull. 44:224–228.

KOENIG, S., SHARIFI, A. R., WENTROT, H., LANDMANN, D., EISE, M., SIMIANER, H. (2005). Genetic parameters of claw and foot disorders estimated with logistic models. J. Dairy Sci. 88, 3316–3325.

LAURSEN, M. V., BOELLING, D., MARK, T. (2009). Genetic parameters for claw and leg health, foot and leg conformation, and locomotion in Danish Holsteins. J. Dairy Sci. 92, 1770–1777.

PÉREZ-CABAL, M. A, CHARFEDDINE, N. (2015). Models for genetic evaluations of claw health traits in Spanish dairy cattle. J. Dairy Sci. 98, 8186–8194

RING, S.C., TWOMEY, A.J., BYRNE, N., KELLEHER, M.M., PABIOU, T., DOHERTY, M.L., ET AL. (2018) Genetic selection for hoof health traits and cow mobility scores can accelerate the rate of genetic gain in producer-scored lameness in dairy cows. J Dairy Sci. 101,10034–10047.

VAN DER LINDE, C., DE JONG, G., KOENEN, E. P., EDING, H. (2010). Claw health index for Dutch dairy cattle based on claw trimming and conformation data. J. Dairy Sci. 93, 4883–4891.

VAN DER SPEK, D., VAN ARENDONK, J. A., VALLEE, A. A., BOVENHUIS, H. (2013). Genetic parameters for claw disorders and the effect of preselecting cows for trimming. J. Dairy Sci. 96, 6070–6078.

VAN DER WAAIJ, E. H., HOLZHAUER, M., ELLEN, E., KAMPHUIS, C., DE JONG, G. (2005). Genetic parameters for claw disorders in Dutch dairy cattle and correlations with conformation traits. J. Dairy Sci. 88, 3672–3678.

WEBER, A., STAMER, E., JUNGE, W., THALLER, G. (2013). Genetic parameters for lameness and claw and leg diseases in dairy cows. J. Dairy Sci. 96, 3310–3318.

SEZNAM PŘEDNÁŠEK SEMINÁŘE

1) doc. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D., ČZU Praha, VÚŽV Uhříněves. "Organizace a vývoj genetického hodnocení hospodářských zvířat".

2) Ing. Vít Škaryd, Ph.D., MZe ČR Praha. "Úloha státu ve šlechtění hospodářských zvířat".

3) Ing. Michaela Přibáňová, Ph.D., ČMSCH Hradištko pod Medníkem. "Laboratoř iGenetiky ČMSCH a.s. a imputace mikrosatelitních markerů z genotypů SNP pro potřebu ověřování původu".

4) Ing. Josef Šlejtr., NATURAL s.r.o. Hradištko pod Medníkem. "Představení šlechtitelského programu firmy Natural spol. s r.o.".

5) RNDr. Milan Tyller, H. Tyllerová Landová, V. Anderle, L. Pachar, M. Hruška, L. Zita. Dominant CZ, Voleč. "Šlechtitelský program DOMINANT CZ – historie a současnost".

6) Ing. Jan Stibal, SCHP z.s. Praha. "Současný stav šlechtění prasat".

7) Ing. Zdeňka Veselá, Ph.D., VÚŽV Uhříněves. "Mezinárodní genetické hodnocení masného skotu".

8) Ing. Ludmila Zavadilová, CSc., VÚŽV Uhříněves. "Klíčové prvky šlechtění holštýnského skotu v ČR s důrazem na odolnost vůči nemocem".

9) doc. Ing. Jiří Bezdíček, Ph.D., Přírodovědecká fakulta UP Olomouc. "Vybrané faktory ovlivňující reprodukci skotu: teplotní stres a inbríding".

10) doc. Ing. Juraj Candrák, Ph.D., Ing. Michal Gábor, Ph.D., prof. Ing. Radovan Kasarda, Ph.D., Ing Nina Moravčíková, Ph.D., SPU Nitra. "Genetické hodnotenie koní v Slovenskej republike".

11) Ing. Michal Milerski, Ph.D., VÚŽV Uhříněves. "Ovce byly první".

ISBN 978-80-7403-236-3

Vydáno bez jazykové úpravy.

V Praze 8. října 2020.

Sborník byl vydán v rámci řešení Dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace MZE-RO0718 Ministerstva zemědělství ČR.

© Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhříněves