

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat



AKTUÁLNÍ SMĚRY VE ŠLECHTĚNÍ HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT

Sborník ze semináře

Praha Uhřetěves

2021

ISBN 978-80-7403-249-3

Obsah

Jak to bylo u nás ve VÚŽV s genetikou a šlechtěním hospodářských zvířat	4
Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat	
Krátký souhrn historie výzkumné práce.....	8
Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat	
v roce 2020	13
Seznam řešených projektů v roce 2020.....	15
Kyselina citrónová v mléce jako indikátor metabolického stavu pro šlechtění dojníc.....	16
<i>Kašná Eva¹, Pechová Alena², Fleischer Petr³, Zavadilová Ludmila¹, Šlosárková Soňa³, Lipovský David⁴</i>	
Vliv četnosti vrhu na celkovou produkci jehňat u plemene romney.....	25
<i>Milerski Michal¹, Černá Michaela¹, Schmidová Jitka¹</i>	
Spolehlivost genomických plemenných hodnot pro znaky zdraví u holštýnských dojníc	29
<i>Zavadilová Ludmila¹, Kašná Eva¹, Klímová Anita¹</i>	
Studie diferenciální genové exprese u ovcí infikovaných bakterií <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	39
<i>Jitka Kyselová¹, Zuzana Sztanková¹, Ladislav Tichý^{1,2}, Jiřina Marková³, Radka Dziejzinská³</i>	
Pozvánka na seminář.....	50
Program semináře	51

Jak to bylo u nás ve VÚŽV s genetikou a šlechtěním hospodářských zvířat

Příbyl Josef, Příbylová Jana, Pulkrábek Jan, Teslík Václav, Volek Jaroslav

¹*Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves*

Naše země byly dlouhodobě střediskem rozvoje věd. Žijeme z tohoto dědictví a od svých předchůdců přebíráme znalosti a zkušenosti.

Ve vztahu k biologii a dnešnímu chápání genetiky byla významná především Morava s odbornými spolky, které se pravidelně scházely a podporovaly rozvoj jak poznání, tak výroby. Morava byla v rámci Rakouska-Uherska chovatelskou komorou. *Pravidelná kontrola dědičnosti*, jako důležité chovatelské opatření, byla používána *poprvé na světě právě na Moravě*, a to ve šlechtění ovcí. Prošlechtěná zvířata vítězila po Evropě na výstavách (Ferdinand Geisslern, Hoštice, 1751-1824). F. Geisslern proslul jako vynikající hospodář. Zabýval se šlechtěním ovcí, pěstováním jetele i ovocnářstvím a z hoštického statku učinil vzorové hospodářství napodobované nejen na Moravě.

Střediskem vzdělávání byl augustiniánský klášter v Brně, s významnými osobnostmi, který ovlivňoval rozvoj zemědělství, šlechtění, biologie, národního hospodářství i obecného a technického školství. Opat kláštera, Cyril František Napp (1792-1867), byl činný v práci zmíněných odborných a národohospodářských spolků. Do tohoto prostředí přišel Johann Gregor Mendel (1822-1884). C. F. Napp ho nasměroval na univerzitní studium biologických věd, včetně matematiky a statistiky a podporoval ho v pokusech se šlechtěním rostlin. J. G. Mendel byl rovněž zapojen do činnosti odborných spolků. Své poznatky o šlechtění uveřejnil poprvé 1864 právě na jednání Přírodovědného spolku v Brně, – *Základy celosvětové genetiky byly položeny na Moravě*.

Ve vzniklém Československu působila v oblasti chovu zvířat, plemenitby a šlechtění řada osobností. Připomeňme pouze prof. Josefa Taufera (1869-1940), který působil na vysoké škole zemědělské v Brně a prof. Františka Bílka (1885-1972), který působil na vysoké škole zemědělské v Praze. Ve vztahu ke genetice a zemědělskému výzkumnictví, byl významný doc. Jaroslav Kříženecký (1896-1964). Na rozdíl od svých vrstevníků, kteří měli napojení na vědecká pracoviště v Evropě, byl napojen na pracoviště v USA, která byla na vyšší metodické úrovni. Později založil Genetické oddělení Gregora Mendela v Moravském muzeu v Brně.

Po roce 1948 byla z politických důvodů genetika v Československu zakázána a plemenářské podniky měly nařizeno zničit plemenářské doklady. Doc. Kříženecký, protože učení J. G. Mendela obhajoval, byl odsouzen a v letech 1958-59 vězněn. Nově se prvé knihy a články o genetice začaly u nás objevovat až od roku 1960. Prof. Jakubec projednával jeden ze svých prvních článků o genetice s doc. Kříženeckým, který poznamenal: „Je dobře, že se již mohou takovéto věci uveřejňovat“.

Ve VÚŽV Uhřetěves připravovali doc. Rudolf Šiler (1926-1988) a prof. Jan Váchal (1926-2009) založení útvaru genetiky. Prvý ředitel VÚŽV, prof. Karel Koubek (1902-1974), který později učil zootechniku a šlechtění zvířat na VŠ v Českých Budějovicích, byl tomu nakloněn, ale politické poměry to neumožňovaly. Oddělení genetiky bylo založeno 1962 za druhého ředitele VÚŽV doc. Miroslava Dvořáčka (1920-1990). Bylo to odvážné, neboť politické poměry stále nebyly příznivé. Spoluzakladatelé a vedoucí pracovních skupin, byli prof. Jaromír Humík (1932-2018) - šlechtění drůbeže, prof. Václav

Jakubec (1930-2020) - hybridizace a šlechtění ovcí, doc. Rudolf Šiler - šlechtění prasat a prof. Jan Váchal - šlechtění skotu. Uvedené členění dalo základ pozdějším samostatným oddělením v rámci odboru genetiky. Počátkem 90. let vznikl útvar molekulární genetiky. Prvým vedoucím oddělení genetiky byl doc. Šiler, který prošel postgraduálem u Dr. Alana Robertsona (1920-1989) v Edinburghu.

Všichni výše jmenovaní se podíleli na sepsání a vydání odborných knih, které se staly základem pro výuku několika generací zootechniků. Byli zároveň zapojeni do výchovy nových generací. Doc. Šiler vyučoval populační genetiku na VŠZ v Praze, prof. Váchal vyučoval na VŠZ a VŠV v Brně a na univerzitách v Havaně na Kubě a Méridě v Mexiku, prof. Jakubec na VŠZ v Brně a Praze a na Univ. Stuttgart-Hohenheim a Humboldtově univerzitě v Berlíně. Prof. Hurník odešel v roce 1968 do Kanady a na Univ. Guelph založil obor etologie. VÚŽV byl školicím pracovištěm pro dizertace, určoval školitele a sestavoval komise pro obhajoby. O tuto významnou činnost po roce 1990 VÚŽV přišel.

Pro rozvoj každého oboru je nutná spolupráce s jinými pracovišti a odborníky z dalších oborů. V součinnosti s VÚŽV byly proto na Přírodovědecké fakultě UK u RNDr. Bohumíra Knížete (1927-1992) a na Matematickém ústavu ČSAV u akademika Josefa Nováka (1905-1999) pořádány společné semináře s celostátní účastí. Hlavním přednášejícím na matematických seminářích byl RNDr. Otto Fischer (1909-1975). Především matematické semináře přetrvaly až do osmdesátých let. Pod hlavičkou Československé akademie zemědělských věd byly ustanoveny „Komise genetiky“ a „Biometrická komise“, které sdružovaly zájemce o obor na celostátní úrovni a vytvářely prostor pro důležité třibení názorů. Zasedání se konala několikrát do roka. Součástí práce komisí byla organizace pravidelných mezinárodních konferencí „Genetické dny“ a „Letní škola biometriky“, které se konají dodnes. Genetických dnů se ve velkém počtu zúčastňovali pracovníci plemenářských podniků. Pro účinnou práci útvaru je nezbytná spolupráce s chovatelským provozem a trvalá osvěta chovatelské veřejnosti. Několikrát do roka se uskutečňovaly úžeji zaměřené semináře pro chovatelskou veřejnost, kterých se zúčastňovalo několik desítek lidí.

V oddělení pracovala řada dalších osobností, z nichž mnozí současně učili na VŠ:

doc. Bora Čumlivski - regenerace šumavské ovce, šlechtění ovcí,
 RNDr. Jaromír Fiedler - šlechtění prasat,
 Ing. Lubor Houška – ekonomické hodnoty ve šlechtění prasat,
 RNDr. Jaromír Hyánek – matematik-metodik, teorie populační a kvantitativní genetiky,
 RNDr. Ludmila Hyánková – růstové křivky a šlechtění drůbeže,
 RNDr. Bohumír Kníže – růst a šlechtění drůbeže,
 RNDr. Helena Knížetová – růst a šlechtění drůbeže,
 Ing. Jaromír Křížek – hybridizace a šlechtění ovcí,
 Ing. Václav Moskal – regenerace přeštického prasete, šlechtění prasat,
 Ing. Svatomír Mydlarčík – masná užitkovost a křížení skotu,
 Ing. Stela Nedělová – plemenná hodnota skotu,
 Ing. Josef Pazdera – molekulární genetika,
 prof. Zdeněk Poděbradský – ekonomika šlechtění hospodářských zvířat,
 Ing. Jan Příbyl – zásady chovu a šlechtění, vztah interiéru k užitkovým vlastnostem,
 prof. Josef Příbyl – optimalizace selekčních programů, stanovení plemenné hodnoty,
 Ing. Jana Příbylová – ziskové funkce ve šlechtění drůbeže,
 doc. Jan Pulkrábek – masná užitkovost prasat a skotu,
 Ing. Olga Slaná – šlechtění ovcí,

Ing. Zdeňka Soukupová – šlechtění drůbeže,

Ing. Václav Teslík – plodnost, masná užitkovost a chov masných plemen skotu,

RNDr. Jochen Wolf – hybridizace a plemenná hodnota u prasat,

Ing. Marie Wolfová – bioekonomické modely ve šlechtění hospodářských zvířat.,

Mimo útvar genetiky působili ve VÚŽV v genetice a šlechtění doc. Miroslav Dvořáček, doc. František Urban, Ing. Jaroslav Volek a doc. Josef Bouška, kteří byli zaměřeni na křížení a zavedení chovu černostrakatého skotu. Ing. Aleš Filouš, byl jedním z prvních organizátorů inseminačních stanic skotu a inseminace v Československu, později pracoval v knihovně VÚŽV.

Od založení byl útvar genetiky úzce propojen s chovatelskými organizacemi (Státní plemenářské podniky, svazy chovatelů, Hradištko/Plemdat). Výzkumné úkoly byly většinou řešeny po vzájemné dohodě a ve vzájemné spolupráci, s přímým uplatněním výsledků jak na celostátní úrovni, tak u chovatelů.

V chovatelství všeobecně, jsou naše země dlouhodobě velmi úspěšné. Je to výsledek společné práce chovatelů, podniků služeb pro chovatele, vzdělávání, osvěty a pracovišť vývoje. Aníž si to uvědomujeme, všichni jsme v této tradici od svých předchůdců po generace vychovávaní. Měřítkem úspěšnosti je především uplatnění v provozu. Novodobá úroveň našeho chovatelství je doložena například skutečnostmi:

- Holandsko po druhé světové válce obnovovalo své zničené chovy prasat dovozy z Československa.
- Holanďani v 70. až 80. letech dvacátého století nově organizovali své celostátní plemenářské služby podle vzoru Státních plemenářských podniků Hradištka, kam jezdili na rady.
- V roce 1984 jsme byli jednou z prvních zemí na světě, která se zapojila do Interbullu, naši chovatele využívají přes tuto nadnárodní organizaci celosvětové údaje.
- Slovensko, které pochází ze stejné líhně, jako první na světě zavedlo 1997 pro mléčnou užitkovost test-day-model s náhodnou regresí.
- Jsme jednou z prvních zemí zapojených do Interbeefu, máme pro naše chovatele masného skotu věrohodné mezinárodní srovnání a naši pracovníci jsou zapojeni do mezinárodních komisí.
- ČR, jako první na světě validovala na Interbullu 2015 tehdy nejdokonalejší jednokrokovou metodu stanovení celostátní genomické plemenné hodnoty, tato metoda se pravidelně používá.
- V mléčné užitkovosti holštýnského skotu je ČR přibližně na 6. místě na světě, podle výkupu mléka do mlékáren v průměru na dojnici, bez ohledu na plemeno, přibližně na 8. místě na světě.
- Ve šlechtění nosné drůbeže (Dominant), dodáváme jedince do kmenových chovů v 60zemích světa (přibližně 1 % světového trhu).
- Chováme více jak 400 let jedinečné plemeno starokladrubských koní.
- Máme nejvyšší hustotu včelstev na plochu na světě, veliký počet včelařů a zvládnuté složité postupy chovu a šlechtění, včetně umělé inseminace včel. Včelařské spolky jsou u nás od počátku 19. století.

Výše popsané zkušenosti z naší vzdálené i blízké minulosti a zkušenosti ze zahraničí ukazují, že jedním ze základů úspěšné práce je, mimo vlastního trvalého studia a pracovního nasazení, trvalé třibení názorů, přijímání a předávání nových podnětů. Začíná to každodenní odbornou rozpravou

u kafe na pracovišti a pokračuje odborným spolkovým životem, zahrnujícím i poměrně odlišné odbornosti. Jak upozorňoval prof. Váchal, čím jsme na vyšší odborné úrovni, tím více podnětů získáváme právě od jiných odborností. V odborných čínských spolcích by měli být zapojeni všichni, co ve vědě a vývoji pracují. Stojí to čas a námahu, ale pro rozvoj odbornosti, jak osobní, tak celospolečenské, to je naprosto nutné, uveřejněné články nestačí. Uzavřený osamocený pracovník je ztracen a nepřináší užitek – nezískává podněty od jiných a sám nikoho dalšího neovlivní (peloton je na dlouhých tratích významně rychlejší, než osamocení jezdci a právě peloton vyveze významné jezdce na výsluní, kam by se sami nikdy nedostali).

Zásadní je výchova nových generací a trvalý příchod mladých lidí do útvaru, kde nastoupí ke zkušenějším starším spolupracovníkům, se kterými jsou v každodenním styku. Některé pracovní dovednosti bez dlouhodobého osobního předávání ani získat nelze. Plynulé mezigenerační předávání zkušeností je nenahraditelné. Mladý vědecký pracovník po ukončení doktorského studia by měl být schopen se ucházet o výzkumné úkoly a vybudovat vlastní pracovní skupinu. Úplné odborné dozrání však trvá od ukončení VŠ dalších 10 let. Úkolem vedení odborných útvarů, vedení podniků a jejich zřizovatelů, je vytvořit podmínky, aby mladí lidé se k tomuto plnému uplatnění dopracovali.

Tradice má hodnotu a přináší ponaučení. Bez usilovné práce nástupců se však vytratí. Přejeme našim současným následovníkům i příštím generacím mnoho zdaru a aby drželi a rozvíjeli vysokou úroveň národního chovatelství.

*Jako déšť a sníh padá z nebe a nevrací se tam, ale svlažuje zem a působí,
že může rodit a rašit, ona pak obdařuje semenem rozsévače a chlebem toho, kdo jí,
rádi bychom, aby se tak stalo i s našimi slovy, nebyla bez účinku,
ale vykonala a zdařilo se, k čemu byla poslána.*

(přizpůsobeno podle Iz 55,11)

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat

Krátký souhrn historie výzkumné práce

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat bylo založeno 1962. V krátké době se vypracovalo na mezinárodně rozpoznatelnou školu populační a kvantitativní genetiky. Je jediným pracovištěm tohoto zaměření v ČR. Po roce 1990 se přidala molekulární genetiky. Pracoviště je úzce provázáno s chovatelskými organizacemi a pracovišti Hradištka pod Medníkem a Plemdat. Výsledky výzkumu jsou těmito organizacemi bezprostředně zaváděny do provozu. Aniž si to chovatelé uvědomují, každý z nich jako samozřejmost, využívá každodenně ve své práci postupy vyvinuté na genetice v Uhříněvsi. Jedná se o nutný trvalý vývoj, aby domácí, v provozu používané metody, byly celosvětově uznávané a výsledky našich chovatelů považovány mezinárodně za věrohodné. Oddělení je nedílnou součástí celostátního systému šlechtění. Výsledky jsou uveřejňovány v širokém záběru vědeckých a odborných časopisů. Postupně se vyměňují generace výzkumníků, které si provázaně předávají nezaměnitelné pracovní zkušenosti a školí své nástupce. Základní vzdělání nastupujících pracovníků probíhá především ve speciálních předmětech na ČZU Praha. Útvar je dlouhodobě zapojen do mezinárodních pracovních skupin ICAR, Interbeef, Interbull a ISAG. Práce je zaměřena na všechny základní druhy hospodářských zvířat. Těžištěm je trvalý vývoj genetického hodnocení (předpověď plemenné hodnoty), které bylo zavedeno do provozu na celostátní úrovni u všech druhů hospodářských zvířat a průběžné doplňování o nově hodnocené vlastnosti.

Ekonomické hodnocení ve šlechtění

Cílem šlechtění je hospodárný chov s ekonomickým přínosem pro chovatele. Od sedmdesátých let se v oddělení rozvíjely „ziskové funkce“ pro čistokrevná plemena a jejich křížence podle souhrnu ekonomicky důležitých vlastností a to včetně efektů křížení. Ekonomické hodnocení je základem pro optimalizace a návrhy organizace selekčních a hybridizačních programů. Ziskové funkce se uplatnily především u prasat, ovcí a drůbeže. Tyto postupy jsou rozpracovány do obsáhlých „bio-ekonomických modelů“, které jsou základem pro směřování šlechtění na souhrn ukazatelů. V současnosti jde o dlouhodobý vývoj nových a průběžné úpravy stávajících modelů a software programového balíku ECOWEIGHT. Jedná se o obecný postup umožňující výpočet ekonomických vah pro široký rozsah znaků se zohledněním produkčních systémů a marketingových strategií. Lze ho využít pro ekonomická porovnání odlišných výrobních systémů a ekonomická porovnání odlišných plemen. Počet hodnocených znaků se v programech neustále zvyšuje a vypovídá o stále obsáhlejší a věrohodnější pohledu na šlechtění. Zahrnuje dojená a masná plemena skotu, ovcí a koz, prasat a králíků. Vyvinutý program je po našem proškolení využíván i na zahraničních pracovištích. Výsledkem jsou selekční indexy, které jsou konstruovány s ohledem na udržitelnost, zdravotní bezpečnost a welfare chovu. Např. selekční index domácího holštýnské skotu je postupně od svého vzniku před 20 lety upravován (naposled v roce 2020). Kromě toho byl pro tuto populaci v roce 2018 vyvinut index zdraví. Podobně byl konstruován index pro plemena masného skotu a ovcí. Indexy prasat byly v roce 2017 doplněny o selekční index zahrnující 4 reprodukční znaky mateřských plemen prasat a do budoucna se předpokládá vytvoření indexů zahrnujících funkční znaky.

Lokusy na molekulárně-genetické úrovni

Laboratorní genetika je zaměřena na určení genetických lokusů významných pro projev určité vlastnosti. V posledním období především ukazatelů zdraví a odolnosti. Dále určení genetických proměnlivostí uvnitř plemen a vzdáleností mezi plemeny na úrovni genomu. V posledním období nastal v této oblasti průlom přechodem na genotypování velkého počtu SNP lokusů pomocí „genomických čipů“. To vede ke změnám provozních metodik v potvrzování původů zvířat, sjednocení s postupy jiných zemí, aby byly celosvětově porovnatelné a zahrnutí velkého počtu genetických lokusů do „genomické plemenné hodnoty“.

Laboratoř molekulární genetiky vznikla původně jako samostatné oddělení ve druhé polovině 90. let na půdorysu oddělení biologie reprodukce. Součástí oddělení genetiky a šlechtění se stala až v roce 2015. Po skromných začátcích a nákupu prvního přístroje pro in vitro amplifikaci nukleových kyselin (PCR) získal nevelký tým (3 lidé) brzy své vlastní výzkumné projekty a první doktorandy. Odborné zaměření spočívalo ve studiu nukleotidového polymorfismu tzv. kandidátních genů – major genů, které mají efekt především na mléčnou užitkovost a kvalitu mléka a mléčných produktů, růstové schopnosti a kvalitu masa skotu.

Začátek nového milénia přinesl personální a přístrojový rozvoj, širokou spolupráci a servisní zázemí pro výzkumné projekty řešené i na jiných odděleních. Pořízení automatického sekvenátoru DNA a cyklérů PCR v reálném čase pak znamenalo značný, nejen metodický posun v oblasti základního inovativního výzkumu. Neustálý vývoj genotypovacích technik postupně vyústil v přijetí několika desítek užžitných vzorů a patentů. Dalším nosným směrem se stala interpretace projevu genů - genová exprese. Cenné publikační výstupy přinášely studie exprese markerů kmenových buněk a procesů buněčného stárnutí u prasete. Oddělení molekulární genetiky mohlo vyjít vstříc i novým požadavkům při řešení ochrany genových zdrojů. Členové týmu se aktivně zapojili do spolupráce s Národním centrem ochrany při VÚŽV a stáli i u zrodu Genobanky DNA a konzervačního programu biologických tkání. Analýzy repetitivního polymorfismu mikrosatelitů se staly základem populačních studií včetně genetické charakterizace a odhadu úrovně diverzity u našich plemen skotu, ovcí, koz, drůbeže, králíků, ryb a včel. V dalším období umožnil rostoucí zájem o kvalitu potravin řešit vůbec první projekty, zaměřené na vztah mezi variabilitou genů mléčných bílkovin a lipogenních enzymů a kvalitativními a technologickými vlastnostmi mléka malých přežvýkavců, ovcí a koz. Byly také získány unikátní údaje o expresi a polymorfismu genů, kódujících růstové faktory pro vývoj svalových vláken a enzymy ovlivňující složení nenasycených mastných kyselin v hovězím mase. Účast na mezioborovém Projektu kvality a bezpečnosti produktů genových zdrojů prasat, drůbeže, králíků a nutrií pak přinesla především důležitou podporu pro chov národních plemen.

V minulé dekádě nastal odklon od šlechtění pouze na užitkové znaky a začal se prosazovat komplexní pohled na zvířata včetně jejich zdraví a pohody. Ačkoliv personální stav laboratoře v této době postupně stále klesal, tým se snažil zachytit rychlý vývoj genomických technologií. Díky nově řešeným projektům se podařilo generovat unikátní poznatky o polymorfismu TLR receptorů a dalších genů přirozené odolnosti u skotu a malých přežvýkavců. V blízké budoucnosti půjde o jejich využití nejen v celogenomových asociačních studiích (GWAS) ale především o strukturální a funkční anotace genů ze zapojených signálních a metabolických drah. Probíhající transkriptomická studie odolnosti malých přežvýkavců vůči bakteriálním nákazám je celosvětově jedna z prvních, která řeší na nejhlubší úrovni interakci genomu hostitele s patogenem. Genotypizace jednobodového

polymorfismu pomocí mikročipů umožnila vůbec první odhady parametrů diverzity a zjištění vlivu selekce u genových zdrojů červinky a českého strakatého skotu na úrovni celého jejich genomu.

V aplikační oblasti se tým věnoval jak stanovení kandidátních genů pro chovatele, tak praktické spolupráci s mnoha subjekty z chovatelské i akademické sféry, jako např. ČMSCH, SCHOK, Svaz chovatelů ČESTR, ČZU Praha, JU České Budějovice, MENDELU Brno, VÚ mlékárenský Praha, VÚVeL Brno a další. Za jednu z nejplodnějších spoluprací s oddělením biologie reprodukce lze považovat účast na studiu exprese prasečího kalcineurinu a vlivu hormonálních disruptorů s využitím v reprodukčních biotechnologiích.

Ani v budoucnosti se šlechtění bez poznatků molekulární genetiky a biologie neobejde a stále více se bude muset opírat o integraci víceúrovňových makromolekulárních a fenotypových dat. Pokračování v tradici nás zavazuje, abychom i přes složité podmínky zemědělského výzkumu nadále drželi krok s aktuálními poznatky v živočišné molekulární genetice. Dlouhodobá stabilizace týmu, výchova mladých vědeckých pracovníků a širší mezinárodní spolupráce jsou hlavními výzvami, které před námi nyní stojí.

Dojený skot

V šedesátých letech byl našim pracovištěm zaveden do celostátní působnosti výpočet plemenné hodnoty metodou CC-test. Ten byl v souladu s celosvětovým vývojem, především počítačů, postupně nahrazen v oddělení ověřenou metodou BLUP a „Animal Model“. Pro mléčnou užitkovost a obsah somatických buněk byl návazně vyvinut test-day-model s náhodnou regresí. Pro hodnocení dlouhověkosti byl navržen, na základě metody hazardních funkcí, nelineární postup analýzy přežitelnosti. V současnosti jsou pro tuto vlastnost ověřovány víceznakové modely. Se všemi ověřovanými postupy souvisí věrohodné stanovení populačně-genetických parametrů, které se jako „předem známé“ dosazují do předpovědi plemenných hodnot. Přelom představoval přechod na „genomické plemenné hodnoty“. Na základě našeho ověření byla ČR prvou zemí na světě, která v roce 2015 zavedla jako celostátní postup a na Interbullu validovala tehdy nejdokonalejší „jednokrokovou metodu genomického hodnocení“ ssGBLUP. Ostatní země na tento postup přechází s 5-letým zpožděním. V metodě je stěžejní částí práce s velkým počtem SNP genetických markerů získaných přes genomické čipy. S tím souvisí nutnost úpravy „omických“ výsledků z molekulárně-genetických laboratoří, což je na našem pracovišti řešeno „imputačními postupy“ a vede k přesnějšímu stanovení „realizované genomické matice příbuznosti“. Další naší světovou prvotinou byl postup včlenění celosvětových Interbullových plemenných hodnot do soustav rovnic národního genomického hodnocení, které významně upřesnily spolehlivost hodnocení. Pro holštýnský skot byl navržen víceznakový postup genomické plemenné hodnoty pro znaky zevnějšku. Pro zvýšení resistance vůči nemocem byl vyvinut postup předpovědi genomických plemenných hodnot pro výskyt klinické mastitidy a nemocí paznehtů u holštýnského skotu včetně indexu zdraví.

Masný skot

Vývoj systému genetického hodnocení masného započal v devadesátých letech. Společným úsilím VÚŽV a Českého svazu chovatelů masného skotu byly v roce 2000 zavedeny do praxe plemenné hodnoty pro výsledky polního testu (průběh porodu, porodní hmotnost, hmotnost ve věku 120, 210 a 365 dnů) víceznakovým animal modelem s přímým a maternálním genetickým efektem a efektem trvalého prostředí matky. V roce 2004 byla zavedena předpověď plemenné hodnoty pro vlastní růst býků v odchovnách, kterou následovaly plemenné hodnoty pro hodnocení zevnějšku mladých zvířat

v roce 2005. V roce 2011 byly poprvé předpovězeny plemenné hodnoty pro SEUROP a v roce 2020 plemenné hodnoty pro vlastnosti mateřské plodnosti (věk při prvním otelení, mezidobí a dlouhověkost). Nedílnou součástí naší práce je mezinárodní spolupráce. V oblasti šlechtění masného skotu jsme zapojeni do projektu mezinárodního genetického hodnocení masného skotu Interbeef. Česká republika byla jednou z prvních členských zemí zapojujících se do tohoto projektu, VÚŽV je jedním z výzkumných partnerů Interbeefu a pracovníci našeho oddělení se aktivně podílejí na vývoji mezinárodního genetického hodnocení pro vlastnosti telení masného skotu.

I v současné době pokračuje spolupráce s ČSCHMS a Interbeefem. Pozornost je věnována především sběru genomických informací s cílem předpovědi genomických plemenných hodnot. Dalším cílem je rozšíření genetického hodnocení o další užitkové vlastnosti (např. hodnocení MLLT, temperamentu, končetin a utváření vemene).

Hrabavá drůbež

V oddělení byl vyvinut a do provozu šlechtění hrabavé drůbeže DOMINANT zaveden postup stanovení plemenné hodnoty metodou BLUP-Animal Model, který se používá ve šlechtění výchozích linií doposud. Přímo na pracovišti oddělení byly prováděny mnogogenerační selekční pokusy na růst drůbeže, které ukázaly na biologické zákonitosti a na chyby, kterých se dopouštějí šlechtitelé ve světových firmách. Byl doložen vliv selekce na růst na tvar růstové křivky a inflexní bod, jakož na ukazatele reprodukce a líhnivosti a ukládání tuku v těle zvířat, které zhoršuje jatečnou hodnotu.

Koně

Jsme jednou z mála zemí na světě, která vyvinula a zavedla do pravidelného chovatelského hodnocení plemenné hodnoty pro skokovou výkonnost a zevnějšek sportovních koní. Výsledky skokových soutěží jsou velmi dobře využitelné, neboť u každého koně jsou známy výsledky z více soutěží. Jako první byly předpovídány plemenné hodnoty pro skokovou výkonnost jednoznačným BLUP Animal modelem. Výkonnost sportovních koní se v posledním desetiletí celosvětově rapidně zvyšuje. V souladu s tímto vývojem byl v roce 2019 model aktualizován a pro výpočet plemenných hodnot skokové výkonnosti je využíván víceznačkový BLUP Animal model. Stavba těla a zevnějšek koně jsou velmi úzce spojeny s jeho výkonností, přičemž korektní stavba těla umožňuje jedincům podat kvalitní sportovní výkony. V současnosti je pro tyto vlastnosti používán rovněž víceznačkový model, který pracuje se znaky zevnějšku jako s vícerozměrnou veličinou.

Plemenné hodnoty zevnějšku byly vyvinuty i pro chladnokrevná plemena a starokladrubského koně. U těchto plemen byly rovněž stanoveny genetické vzdálenosti a několika metodickými přístupy stanoveny koeficienty příbuzenské plemenitby a příbuznosti. K tomu byly použity mnogogenerační záznamy rodokmenů a „genomické příbuznosti“ na základě genomických čipů.

Ovce

Stanovení celostátní plemenné hodnoty bylo u nás zavedeno metodou CC-test v šedesátých letech u ovcí dříve než u ostatních druhů, a to pro vlnářskou užitkovost. Později však bylo od něj upuštěno. V 90-tých letech došlo v chovu ovcí u nás k přechodu z převažujícího vlnářského zaměření na jehněčí maso a v menší míře i ovčí mléko. V souvislosti s tím byl výzkum zaměřen na změnu šlechtitelských postupů a programů. Byly ověřeny a od roku 1999 zavedeny do provozu způsoby hodnocení zmasilosti a protučnělosti jehňat na základě ultrazvukové techniky, které se staly součástí kontroly užitkovosti u masných plemen ovcí a do dnešní doby byla ultrasonografie provedena u více jak 135

tis. jedinců. Podle metodik vypracovaných v oddělení byly v roce 2003 zavedeny do praxe odhady plemenných hodnot ovcí pomocí metody BLUP - Animal Model a selekční indexy navržené na základě ekonomických hodnot jednotlivých užitkových vlastností. V dalším období byla pozornost věnována i mateřským populacím ovcí. Sledovány byly parametry plodnosti včetně zhodnocení vlivu plemeníka, mateřské chování či přežitelnost jehňat. Na základě využití majorgenu FecB (Booroola) byla vytvořena plodná linie merinolandschaf (PLiM). Ve šlechtění dojných ovcí byl vypracován systém genetického hodnocení vlastností mléčné užitkovosti test-day-modelem a navržena metodika hodnocení morfologických vlastností vemen. V poslední době je pozornost věnována využití genomických informací, zatím zejména pro ověřování rodičovství, hodnocení genetické proměnlivosti uvnitř populací ovcí a genetických vzdáleností mezi nimi, s výhledem využití v oblasti předpovědi genomických plemenných hodnot a následné selekce zvířat.

Prasata

Vývoj metod genetického hodnocení probíhá na oddělení od počátku 90. let, kdy v roce 1990 bylo uveřejněno BLUP vyhodnocení kontroly dědičnosti prasat. První metodika pro hodnocení produkčních znaků byla předána Svazu chovatelů v roce 1997, za dva roky následovala metodika pro plemenné hodnoty produkčních a reprodukčních znaků mateřských plemen a pro jejich užití v celkové plemenné hodnotě. V roce 2008 byla vyvinuta předpověď plemenných hodnot znaků spermatu a v roce 2012 pro plemenné hodnoty mezidobí. Průběžně docházelo k úpravám stávajících postupů pro produkční a reprodukční znaky u otcovských i mateřských plemen a zpřesňování jejich významu v celkové plemenné hodnotě (v letech 2006, 2010, 2014). Byly vyvinuty postupy pro předpověď plemenné hodnoty počtu struků u mateřských plemen (2018) a pro znaky spotřeby krmiva z dat zjištěných automatickými krmnými systémy (2020). V současné době se soustředujeme na vývoj genomického hodnocení prostřednictvím SNP čipů společně s výzkumem využití dostupných zdravotních údajů.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat

v roce 2020

V roce 2020 se pracovníci oddělení museli utkat nejen s požadavky výzkumu a praxe, ale i s dalšími výzvami kladenými na ně koronavirovou pandemií, která vypukla s nástupem jara a trvala s letní přestávkou až do konce roku. Zatímco ještě v lednu jsme se mohli zúčastnit mezinárodní konference na téma funkční genomiky hospodářských zvířat zde v Praze na přírodovědecké fakultě, následovalo období rušení významných mezinárodních konferencí jako je ICAR či EAAP nebo ASD. Vědecká veřejnost včetně našeho oddělení se však této výzvě postavila čelem a většina konferencí se uskutečnila ve virtuálním prostoru. Osobní setkávání, prezentace přednášek i posterů, schůzky oddělení a nejrůznější webináře, vše probíhalo přes webové kamery a internetové aplikace. Takto jsme představili naše výsledky na virtuálním EAAP a na konferenci Animal Science Days, kde prof. Luboš Vostrý, Ph. D. je jedním z organizátorů. Mohli jsme se ale také zúčastnit a načerpat mnoho poznatků na mezinárodní konferenci The 6th International Conference of Quantitative Genetics, která se měla původně konat v Austrálii, a tak by pro nás byla nedostupná. Takto jsem měli možnost po dva týdny sledovat celosvětový výzkum v oblasti kvantitativní genetiky a nasbírat tak množství inspirativních poznatků. Kolegové zabývající šlechtění masného skotu a spolupracující na vývoji mezinárodního genetického hodnocení Ing. Zdeňka Veselá, Ph.D., Ing. Alena Svitáková, Ph.D. a prof. Luboš Vostrý, Ph.D. se již před pandemií v rámci pracovní skupiny Interbeef účastnili pracovních schůzek na platformě Zoom. Proto se dalo říci, že se cítili ve virtuálním světě jako ryba ve vodě a dále zdatně pokračovali ve svém výzkumu. Je pravda, že osobní setkávání bylo omezeno na nejnnutnější schůzky, ale dále jsme neúnavně pracovali na našich projektech. Ing. Anita Klímová, Ph.D. (Kranjčevićová) dokončila úspěšně, jak své doktorské studium, tak software pro imputace genomických údajů, který slouží pro zlepšení odhadů genomických plemenných hodnot holštýnského skotu. Pro holštýnský skot dále vyvíjíme odhad genomických hodnot pro znaky zdraví u holštýnského skotu: klinická mastitida a nemoci paznehtů. Pro sběr údajů o nemocech skotu využíváme Deník nemocí a léčení, internetovou aplikaci, které je provozována ČMSCH, a.s. Náš výzkum podporuje rozvoj této aplikace a využití získaných informací pro chov a šlechtění skotu. V roce 2020 se zvýšil zájem o evidenci zdraví i u chovatelů českého strakatého skotu.

V oblasti šlechtění masného skotu pokračujeme ve spolupráce s Českým svazem chovatelů masného skotu a Interbeefem. V minulém roce byl vytvořen systém pro předpověď plemenných hodnot vlastností mateřské plodnosti. Dále byla vytvořena metodika přípravy dat a zpracování výsledků mezinárodního genetického hodnocení masného skotu a pokračováno na vývoji mezinárodního genetického hodnocení ve spolupráci s Interbeefem. Ve spolupráci s ČSCHMS úspěšně pokračovaly sběry dat započaté v předminulém roce (MLLT, temperament, porodní hmotnosti). Mnoho z nich se stává součástí rutinního hodnocení a přesouvají se do další fáze - vytvoření systému pro jejich rutinní zápis do databáze kontroly užitkovosti. V roce 2020 započal pilotní sběr dat pro hodnocení vemene u plemenic a byla navržena metodika pro lineární hodnocení končetin býků a plemenic se zahájením v únoru 2021. Pokračuje také genomické testování a zvyšuje se podíl zvířat testovaných na QTL znaky (bezrohost, dvojí osvalení a nově i progresivní ataxie u plemene charolais).

Byly navrženy a následně, na základě schválení chovatelského svazu, aplikovány do praxe změny v selekčním indexu tuzemské populace holštýnského skotu. Byl uskutečněn upgrade stávajících modelů programového balíku ECOWEIGHT o nové znaky, čím se ještě zvýšila jejich univerzálnost a široké uplatnění. Svědčí o tom i loňský zájem 7 kolegů o zaslání těchto programů do zahraničí (např. do Itálie, Nizozemí, Kanady a Brazílie). Poprvé byly počítány a ve vědecké literatuře

publikovány ekonomické váhy pro počet funkčních struků prasnic mateřské populace prasat, které nabývají na chovatelském významu. Tyto spolu s ekonomickými váhami znaků kvality spermatu u otcovské populace prasat byly následně schválené chovatelským svazem a budou zapracovány do šlechtění tuzemské populace prasat v příštím období. Nově vytvořený program EWRAB byl aplikován při výpočtu EV znaků u tuzemské populace králíků.

Současně byl vypracován a do praxe zaveden systém odhadu plemenných hodnot znaků příjmu krmiva prasat z dat automatických krmných stanic, které představují cenný zdroj informací pro efektivní selekci a šlechtění. Současně jsme se zaměřili na vytvoření systému sběru a uchování dat o zdravotních znacích prasat. Systém je volně dostupný chovatelům registrovaným v národním programu CzePig. V rámci snahy o využití zdravotních dat v genomickém hodnocení byla rovněž zaevidována a následně vyhodnocena další historická evidence k průběhu vrhů prasnic a jejich léčení.

U prasat, v úzké spolupráci se Svazem chovatelů prasat, pokračovaly v minulém roce práce na vytvoření systému genomického hodnocení znaků v kontrole užitekosti. Na základě zpracované metodiky byly mezi stávající selekční kritéria prasat zahrnuty i znaky individuálního příjmu krmiva. Zájem šlechtitelů o zvyšování zdraví chovů jsme podpořili vývojem metodiky pro sběr dat o vrozených vývojových vadách narozených selat.

Uvedené výsledky byly prezentovány chovatelským svazům (online a osobní účastí na zasedání komisí svazu), dále na mezinárodních online konferencích, ve formě certifikovaných metodik přijatých chovatelskými svazy, odborných článků pro chovatelskou veřejnost, vědeckých článků a prostřednictvím výuky studentů na univerzitách.

V oblasti chovu a šlechtění ovcí byla činnost oddělení zaměřená zejména na optimalizace odhadů plemenných hodnot, jejich zveřejňování a prezentaci chovatelům. Byly zkoumány efekty křížení různých plemen ovcí. V rámci institucionálního i individuálního poradenství byly kromě problematiky šlechtění řešeny i otázky spojené například s ochranou stád malých přežvýkavců před velkými šelmami, výstavbou pastevních areálů, protiparazitárními opatřeními, možnostmi zpracování skopového masa či možnými dopady zákazu používání strangulačních gumiček pro kastrace a kupírování ocásků u jehňat.

Stanovení genomové diverzity české červinky a českého strakatého skotu (ČESTR) umožnilo první, částečný vhled do struktury populací a vlivu dlouhodobého způsobu chovu a selekčních opatření u genových zdrojů (GZ) skotu. Obě sledované populace vykazovaly vysoký stupeň polymorfismu SNP markerů a příznivé střední hodnoty koeficientů heterozygotnosti. Také vliv příbuzenské plemenitby v rámci dvou hodnocených generací nebyl prokázán. Dlouhodobější odhady koeficientu inbreedingu z komplexnějších rodokmenových údajů v Programu ochrany GZ, však především u červinky bohužel ukazují jeho zvyšování. Historicky starší linie ČESTR, s vysokým podílem původních genů, měly v naší studii omezenou genetickou variabilitu, nežli tomu bylo u jedinců z obou subpopulací červinky a to jak z originální, tak i revitalizované. Pozitivní bylo především zjištění, že koeficient celkové genetické vzdálenosti mezi revitalizovanou a původní červinkou byl nulový a potvrdila se genetická podobnost subpopulací. V genomu červinky byly nalezeny až na 6 chromozómech pozoruhodné oblasti vysokého selekčního signálu a s omezenou genetickou variabilitou markerů, které pravděpodobně souvisí s dlouhodobým šlechtěním na dvojstrannou užitekost u společných předků z plemene ČESTR.

Poznatky o variabilitě genů imunitního systému vedoucí k různé efektivitě imunitní odpovědi a individuální odolnosti sledujeme v rámci řešení Projektu o nakažlivých zoonózách v chovech MP. Srovnávací genomické analýzy nemocných nebo zdravých ovcí zasažených plíživou nákazou kaseózní lymfadenitidou („pseudotuberkulóza“ ovcí a koz) neboli CLA na základě vysokokapacitního sekvenování

celkového transkriptomu, poskytly první poznatky o interakci hostitele s příčinným patogenem – bakterií *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*Cps*). U nemocných jedinců byla patrná zvýšená regulace značného množství biologických procesů; je pravděpodobné, že onemocnění negativně zasahuje do transkripčního aparátu buněk hostitele. Odolná zvířata naproti tomu více exprimovala geny, které remodelují či nově vytváří síť krevních kapilár v poškozeném či změněném ložisku tkáně. Právě lymfatická tkáň a některé vnitřní orgány jsou u nemocných zvířat postiženy zpočátku intenzivním, později postupně postupujícím chronickým zánětem. Celkově lze konstatovat, že klasifikační systém mezinárodní databáze Panther identifikoval u nemocných 32 metabolických drah, které byly ovlivněny nákazou bakterií *Cps* a onemocněním CLA. Přitom až 21 z nich je součástí imunitního systému včetně signálních drah T lymfocytů, TLR (tool like) receptorů a TGF (transformujícího růstového faktoru). Analýzy transkriptomu, které odhadují souvislosti globální exprese, umožňují také identifikovat geny imunitního systému, potencionálně nejvíce asociované s průběhem onemocnění a otevírají další, nové možnosti pro šlechtění na přirozenou odolnost intenzivně chovaných zvířat.

Seznam řešených projektů v roce 2020

VZ_VUZV_001 Vývoj selekčních programů a genetického hodnocení hospodářských zvířat	Ing. Zdeňka Veselá, Ph. D.
VZ_VUZV_002 Vývoj postupů stanovení genetické rozmanitosti a hodnocení efektů křížení	Ing. Michal Milerski, Ph.D.
VZ_VUZV_003 Vývoj systémů ekonomického hodnocení jedinců a populací	Ing. Zuzana Krupová, Ph.D.
VZ_VUZV_006 Funkční genetika a genomika užitkových a zdravotních znaků v populacích hospodářských zvířat	Dr. Ing. Jitka Kyselová
LTAUSA19 Ověřování genomických postupů v malých populacích	Ing. Michaela Brzáková, Ph.D.
QK1910082 Řešení problematiky výskytu bakteriálních, protozoárních a virových zoonotických agens v chovech MP	Dr. Ing. Jitka Kyselová
QK1910059 Využití genomických údajů a optimalizace šlechtitelských postupů u masného skotu	Ing. Zdeňka Veselá, Ph. D.
QK1810253 Navýšení spolehlivosti celostátního genomického hodnocení dojeného skotu zařazením krav s domácí užitkovostí do genotypované referenční populace	Ing. Eva Kašná, Ph.D.
QK1910320 Výzkum postupů šlechtění dojeného skotu s cílem zvýšit odolnost k nemocem využitím genomických plemenných hodnot, rozvoje systému sběru zdravotních dat a cílené genotypizace skotu	Ing. Ludmila Zavidilova, CSc.
TP01010047 dílčí projekt IGA VÚŽV (TA ČR GAMA) "Kotelnice – ohrada pro zimní ustájení a období bahnění ovcí." -	Ing. Michal Milerski, Ph.D.
QJ1910217 Vytvoření referenční populace a vývoj postupů pro odhad genomických plemenných hodnot znaků prasat zařazených do Českého národního šlechtitelského programu	Ing. Emil Krupa, Ph.D.
Projekt EIP: Individuální evidence spotřeby krmiva u prasat a odhad plemenné hodnoty	Ing. Emil Krupa, Ph.D.

Kyselina citrónová v mléce jako indikátor metabolického stavu pro šlechtění dojníc

Kašná Eva¹, Pechová Alena², Fleischer Petr³, Zavadilová Ludmila¹, Šlosárková Soňa³,
Lipovský David⁴

¹Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves

²VFU Brno

³Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno

⁴Českomoravská společnost chovatelů, a. s., Hradištka pod Medníkem

Abstract

We estimated the genetic parameters of citric acid content in milk of Holstein primiparous cows in first test-day, up to 40 days in milk. Its content was the highest after calving and decreased as the lactation progressed. Citrate content was significantly affected also by the age of cow at first calving (higher in older cows) and by the season (higher in January–June compare to July–December). The heritability estimate was $h^2 = 0.26$. We found positive phenotypic and genetic correlations between citrate and acetone ($r_{G \times G_y} = 0.40$; $r_{P \times P_y} = 0.45$) and β -hydroxybutyrate ($r_{G \times G_y} = 0.09$; $r_{P \times P_y} = 0.17$). Higher content of citrate was accompanied with higher fat content ($r_{P \times P_y} = 0.23$), and with higher fat to protein ($r_{P \times P_y} = 0.31$) and fat to lactose ($r_{P \times P_y} = 0.23$) ratios. The association with fat content was not confirmed on the genetic level ($r_{G \times G_y} = -0.07$) indicating different genetic predisposition of both traits. Negative phenotypic and genetic correlations were estimated between citrate and protein content ($r_{P \times P_y} = -0.20$; $r_{G \times G_y} = -0.18$) and between citrate and body condition score ($r_{P \times P_y} = -0.10$; $r_{G \times G_y} = -0.17$). Our results confirmed that citrate is a good biomarker of energy balance, and its employment could be beneficial for the genetic evaluation and selection of dairy cattle for resistance to ketosis.

Key words: cattle; negative energy balance; milk components; citric acid; ketone bodies; BCS; genetic and phenotypic correlations

Souhrn

Odhadli jsme genetické parametry pro obsah kyseliny citrónové v mléce holštýnských prvotetek v prvním kontrolním dnu provedeném do 40. dne laktace. Obsah citrátu byl nejvyšší po otelení a s postupující laktací klesal. Obsah citrátu byl významně ovlivněn věkem krávy při prvním otelení (vyšší hodnota u starších prvotetek) a sezónou otelení (vyšší hodnota během ledna–června ve srovnání s obdobím červenec–prosinec). Odhad dědivosti dosáhl hodnoty $h^2 = 0.26$. Byly zjištěny kladné fenotypové i genetické korelace mezi obsahem citrátu a acetonu v mléce ($r_{G \times G_y} = 0,40$ a $r_{P \times P_y} = 0,45$) a mezi obsahem citrátu a β -hydroxybutyrátu ($r_{G \times G_y} = 0,09$ a $r_{P \times P_y} = 0,17$). Vyšší obsah citrátu byl doprovázen vyšším obsahem tuku (fenotypová korelace 0,23) i vyššími podíly tuk/bílkovina ($r_{P \times P_y} = 0,31$) a tuk/laktóza ($r_{P \times P_y} = 0,23$). Vazba k obsahu tuku v mléce se však nepotvrdila na genetické úrovni ($r_{G \times G_y} = -0.07$), kde nízká hodnota korelace indikuje odlišné genetické založení obou znaků. Negativní fenotypové a genetické korelace byly odhadnuty mezi obsahem citrátu a bílkovin v mléce ($r_{P \times P_y} = -0,20$ a $r_{G \times G_y} = -0,18$) a mezi obsahem citrátu a skóre tělesné kondice ($r_{P \times P_y} = -0,10$ a $r_{G \times G_y} = -0,17$). Naše výsledky potvrdily, že citrát je dobrým

biomarkerem energetické bilance, a jeho využití by mohlo být přínosné při genetickém hodnocení a selekci dojeného skotu na odolnost vůči ketóze.

Klíčová slova: skot; negativní energetická bilance; složky mléka; kyselina citronová; ketolátky; BCS; genetické a fenotypové korelace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, projekt NAZV QK1910320 a institucionální podpora MZE-RO0718.

Úvod

V minulých desetiletích bylo možné u dojeného skotu sledovat nepříznivý genetický vývoj ve znacích zdraví, plodnosti a fitness, který je důsledkem jejich negativní korelace s produkčními znaky. Zlepšování plodnosti, zdraví vemene či metabolického zdraví lze dosáhnout nejen zlepšením prevence, výživy či managementu stáda, ale také prostřednictvím šlechtění. Moderní selekční programy zahrnují desítky znaků a snaží se produkční ukazatele vyvážit s neprodukčními. Problémem však bývá dostupnost dostatečného množství spolehlivých informací o projevu a výskytu zdravotních znaků ve šlechtěné populaci. Významným zdrojem informací se tak stává složení mléka, které je pravidelně analyzováno v rámci rutinní kontroly užitkovosti (KU) (Negussie et al. 2013; Koeck et al 2014; Bastin et al. 2016; Gengler et al. 2016).

V České republice byla v roce 2018 spuštěna webová aplikace určená pro sběr, uchovávání a zpracování zdravotních událostí. Tento „Deník nemocí a léčení“ (Deník) je zdarma k dispozici registrovaným chovatelům na webu Českomoravské společnosti chovatelů, a. s. Data z Deníku jsou pravidelně vypisována pro odhady genomických plemenných hodnot odolnosti vůči klinické mastitidě a nemocem paznehtů. Metabolické poruchy a nemoci prozatím hodnoceny nejsou, protože informací o jejich výskytu je jen málo (Kašná et al., 2019). V rámci KU je však u dojnic do 100. dne laktace na základě vybraných složek mléka (resp. pěti parametrů, kterými jsou poměry tuk/bílkovina a tuk/laktóza, kyselina citronová, aceton a β -hydroxybutyrát) stanovována „Váha podezření na subklinickou ketózu“. U kyseliny citronové jsou přitom v této „Váze“ za indikátor energetického deficitu považovány hodnoty $\leq 0,16$ %. Tyto parametry, rutinně stanovované v rámci KU, byly ČMSCH, a.s., poskytnuty pro genetické hodnocení s cílem vybrat vhodné indikátory pro šlechtění na dobrý metabolický stav dojnice v rané fázi laktace. Předběžně již byla vyhodnocena genetická proměnlivost podílu mléčného tuku a bílkoviny (T/B) (Kašná et al., 2020a), β -hydroxybutyrátu (BHB) (Kašná et al., 2020b) a celkového skóre vyjadřujícího váhu podezření na ketózu (Kašná et al., 2020c).

Tento příspěvek se věnuje dalšímu ukazateli mléka využitelnému k posouzení metabolického stavu, kterým je kyselina citronová. Ta hraje v celém těle významnou úlohu v rámci Krebsova cyklu, a různé studie (Bjerre-Harpøth et al., 2012, Yang et al., 2019, Xu et al. 2020) doporučují citrát (CIT) jako dobrý indikátor energetické bilance dojnic. Cílem bylo vyhodnocení fenotypových a genetických parametrů CIT v mléce na základě dat z KU, včetně jeho vazby s ketolátkami v mléce, hlavními složkami mléka a se skóre tělesné kondice (BCS).

Materiál a metodika

Pro hodnocení byly využity údaje o obsahu CIT (%) v mléce prvotetek holštýnského skotu (H100 a R100) v první KU po porodu, která se uskutečnila do 40. dne laktace. K dispozici byly výsledky hodnocení vzorků 168 447 prvotetek zpracovaných v letech 2016–2019. Obsah CIT a dalších složek byl stanoven v Laboratoři pro rozbor mléka ČMSCH, a.s., nepřímou metodou infračervené spektroskopie s Fourierovými transformacemi (MIR-FT). K hodnocení znaku byl využit jednoznakový animal model:

$$\text{CIT} = \text{SRO} + \text{DIM} + \text{Věk} + a + e,$$

kde CIT je obsah citrátu stanovený v první KU provedené nejdéle do 40. dne laktace; SRO je pevný efekt tvořený současným působením stáda, roku a sezóny otelení (4 904 tříd); DIM je pevný efekt dne laktace (34 tříd); Věk je pevný efekt věku prvotelky při otelení v měsících (7 tříd: do 21 měsíce, 22, 23, 24, 25–26, 27, 28 a více měsíců); a je náhodný aditivní genetický vliv jedince (530 tis. jedinců v rodokmenu do 4. generace) a e je reziduum. Sadou dvouznakových animal modelů byly odhadnuty genetické a fenotypové vazby CIT k dalším složkám mléka (ketolátky, bílkovina, laktóza, tuk, podíly tuk/bílkovina T/B, tuk/laktóza T/L), a také k BCS. Pro BCS byly k dispozici příslušné záznamy u 115 838 prvotetek, které byly posouzeny v rámci lineárního popisu a hodnocení zevnějšku krav holštýnského plemene na desetibodové stupnici v období 30–200 dní po otelení. Pro odhad byl použit model z rutinního hodnocení:

$$\text{BCS} = \text{HYSC} + \text{CL} + \alpha \cdot \text{VEKOT} + \alpha \cdot \text{VEKOT}^2 + \beta \cdot \text{DNY} + \beta \cdot \text{DNY}^2 + a + e$$

kde HYSC je pevný efekt interakce stádo*rok, měsíc hodnocení*klasifikátor, CL je pevný vliv klasifikátora, VEKOT je věk prvotelky při otelení ve dnech, DNY je počet dnů od otelení do hodnocení, α a β jsou regresní koeficienty, a je náhodný vliv zvířete a e je reziduum.

Pro odhad složek rozptylu byl použit programový balík DMU v. 6 (Madsen a Jensen, 2013), metoda AI-REML (Average Information Restricted Maximum Likelihood).

Výsledky a diskuze

Kontrola užítkovosti v hodnoceném souboru byla omezena horní hranicí 40 dnů po otelení, medián dosáhl 22 DIM, dolní kvartil 14 DIM a horní kvartil 30 DIM. Věk při otelení byl omezen na 20–40 měsíců s mediánem 24 měsíců, dolním kvantilem 22 a horním kvantilem 25 měsíců. Skóre tělesné kondice bylo charakterizováno mediánem 5 bodů, s dolním kvantilem 4 a horním kvantilem 6 bodů.

Obsah CIT měl v populaci holštýnských prvotetek rozdělení blízké normálnímu (obr. 1) s průměrem 0,18 %, mediánem 0,18 %, směrodatnou odchylkou 0,036 % a extrémními hodnotami 0,01–0,40 %. Např. Grelet et al. (2016) uvádějí rozmezí 3,88–16,12 mmol/L s průměrem 9,04 mmol/l, což při převodu s konstantou 53,49 odpovídá užšímu rozpětí 0,07–0,30 % a podobnému průměru 0,17 %. Podle Hanuše a kol. (2009) se CIT přirozeně vyskytuje v syrovém mléce v koncentracích od 0,15 do 0,19 %, přičemž nízký obsah (< 0,11 %) má signalizovat energetický nedostatek a naopak zvýšená koncentrace (> 0,22 %) má ukazovat na energetický přebytek. Obsah CIT souvisí se zdravotním stavem dojnice, a např. Bastin et al. (2016) odhadli silnou genetickou závislost (0,77) mezi variabilitou CIT v průběhu laktace a zvýšeným rizikem onemocnění mastitidou.

Vyhodnocení metodou nejmenších čtverců ukázalo, že proměnlivost obsahu CIT v našich datech byla významně ovlivněna dnem laktace, interakcí chovu, měsíce a roku otelení a věkem krávy při prvním otelení. Obsah CIT v mléce byl nejvyšší na počátku laktace a během sledovaných 40 dnů postupně klesal v souvislosti s tím, jak se u prvotetek po otelení vyrovnává energetická bilance (obr. 2). Nejvyšší obsah citrátu v mléce na počátku laktace, jeho pokles na minimum 40. den po otelení a následný vzestup na maximálně 30 % původní hodnoty v dalších dnech zjistili Baticz et al. (2002). Garnsworthy et al. (2006) potvrdili hypotézu, že pokles hladiny citrátu v mléce v různých fázích laktace souvisí s nárůstem *de novo* syntézy mastných kyselin, a to nezávisle na výživě či na úrovni produkce mléka. Naopak hladina citrátu v mléce roste společně s mobilizací tělesného tuku, který může být využit pro syntézu mléčného tuku, což nastává především v poporodním období, kdy jsou zjišťovány nejvyšší koncentrace citrátu v mléce. V dalších fázích laktace pak mohou být vztahy již odlišné. Jak dále uvádějí Garnsworthy et al. (2006), epitel mléčné žlázy je pro citrát v obou směrech nepropustný, takže jeho koncentrace v mléce odráží spíše vlastní aktivitu mléčné žlázy než obecný metabolismus dojnice.

Pozitivní vliv lipomobilizace na CIT v mléce publikovali rovněž Bjerre-Harpøth et al. (2012), kteří sledovali vliv fáze laktace a produkce mléka na metabolickou a produkční odezvu krav při krátkodobé restrikci živin a umělém navození fyziologické nerovnováhy. Autoři uvádějí, že u krav ve všech fázích laktace po dobu restrikce poklesl obsah glukózy v plasmě, u krav na začátku laktace vzrostl obsah BHB, zatímco u krav v pozdější fázi laktace se zvýšil obsah NEFA. Nejvyšší nárůst během restrikce u všech krav vykázal obsah citrátu (až o 58 %), který tak byl vytipován jako nejslibnější biomarker pro sledování fyziologické nerovnováhy krav na farmách.

Obsah CIT významně kolísal v závislosti na sezóně s nejvyššími hodnotami mezi lednem–květnem, s postupným poklesem v období červen–září a opětovným nárůstem z minima v září na mírně vyšší hodnoty blížíící se průměru v říjnu–prosinci (obr. 3). Významný vliv na obsah CIT měl věk prvotelky při prvním otelení s nižšími hodnotami u mladších zvířat (obr. 4). Vyšší obsah CIT u starších prvotetek může souviset s jejich vyšší tělesnou kondicí resp. BCS v období otelení a následným intenzivnějším odbouráváním tělesného tuku na počátku laktace. Skóre tělesné kondice je běžně využíváno jako jeden ze základních indikátorů energetické bilance dojnic.

Dědivost obsahu CIT v mléce

Dědivost obsahu CIT stejně jako její proměnlivost významně závisí na fázi laktace a věkové kategorii krav, od kterých máme k dispozici fenotypové údaje. Odhad v naší studii ($0,25 \pm 0,005$) založený na údajích z KU do 40. dne laktace u prvotetek, je zhruba poloviční ve srovnání s hodnotou uvedenou Buitenhuisem et al. (2013), kteří odhadli dědivost obsahu kyseliny citrónové s pomocí SNP genotypů jako $0,45 \pm 0,19$. Je však třeba poznamenat, že jejich studie byla provedena jen na 456 kravách na 1.–3. laktaci a vzorcích mléka získaných během 4 měsíců jednoho roku, takže je jejich odhad zatížen vyšší chybou. Vyšší odhad ($0,37$) uvádějí i Bastin et al. (2016), a to na základě obsahu citrátu měřeného 5. den laktace.

Fenotypové a genetické korelace

Odhadované fenotypové a genetické korelace obsahu CIT se složkami mléka, podíly T/B a T/L, a se skóre tělesné kondice BCS znázorňuje obr. 5. Všechny hodnoty byly nízké, s výjimkou korelací CIT

s acetonem, které lze považovat za střední. Mezi CIT a oběma ketolátkami (aceton, β -hydroxybutyrát) byly zjištěny kladné korelace. Naše výsledky tak ukazují zvýšené hodnoty kyseliny citronové v mléce při energetickém deficitu u dojnic, i když vztahy mezi citrátem a různými typy ketolátek nejsou jednoznačné. Oxidované ketolátky (aceton, acetoacetát) jsou citlivějšími ukazateli energetického deficitu než redukované (BHB). Koncentrace BHB je ovlivňována rovněž dietou a bachorovou fermentací, protože BHB vzniká při absorpci kyseliny máselné v bachorové stěně. Tento výsledek je v souladu s výsledky dalších autorů, kteří sledovali faktory ovlivňující koncentraci kyseliny citronové v mléce. Baticz et al. (2002) zjistili u krav s vyšší koncentrací acetonu + acetoacetátu v krvi (většina těchto krav 0–30 DIM) pozitivní korelace CIT s acetonem + acetoacetátem (0,469), ale naopak negativní korelaci s BHB (-0,579). Tento rozdíl vyplýval z odlišné dynamiky ketolátek, protože BHB se postupně zvyšoval v průběhu prvního měsíce po porodu, zatímco aceton klesal, obdobně jako koncentrace citrátu. Prakticky stejnou dynamiku citrátu jsme zjistili i v naší práci.

Kladné byly i odhady fenotypových korelací s oběma podíly (T/B, T/L), v případě genetické korelace však byly zatíženy vysokou chybou, a nelze říci, že by se významně lišily od 0. Fenotypová korelace CIT a obsahu tuku byla kladná a společně s korelací s T/L třetí nejvyšší ze sledovaných fenotypových korelací u hlavních složek mléka. Vyšší obsah obou složek na počátku laktace uvádějí např. Xu et al. (2020), kteří studovali změny metabolických drah v buňkách mléčné žlázy ve vztahu k energetické bilanci (EB). Tito autoři zjistili, že CIT negativně koreluje s EB (-0,71). Citrát je významným metabolitem zapojeným do energetického metabolismu buňky. V mitochondriích je meziproduktem cyklu trikarboxylových kyselin (TCA), kde může být izomerizován na cis-akonitát, který rovněž koreloval s EB (-0,74). Vzhledem k tomu, že další meziprodukty TCA vykazovaly odlišné vztahy k EB je zřejmé, že CIT je využíván především extramitochondriálně jako zdroj acetylCoA pro syntézu mastných kyselin. V této citované studii produkce mléčného tuku negativně korelovala s EB (-0,78) ale pozitivně s citrátem (0,53), což ukazuje, že citrát je využíván pro syntézu mléčného tuku u krav s negativní energetickou bilancí. Oproti tomu námi zjištěná nízká záporná genetická korelace mezi CIT a tukem byla na hranici významnosti, a lze vyvodit, že obsah tuku a CIT v mléce jsou ovládány různými skupinami genů.

Nízké a záporné byly odhady fenotypové a genetické korelace s obsahem laktózy. Nejvyšší záporné korelace byly odhadnuty mezi obsahem CIT a bílkovin v mléce. K podobnému výsledku došli Yang et al. (2019) kteří shrnují, že typickými znaky krav s ketózou jsou vysoká koncentrace BHB a NEFA v krevní plazmě, vysoký obsah tuku a citrátu v mléce (citrát doporučují za raný indikátor ketózy) a nízký obsah bílkovin a laktózy v mléce.

Významné byly negativní odhady obou korelací s BCS. Negativní fenotypová korelace odpovídá situaci, kdy vyšší obsah CIT byl v mléce dojnic, které později měly nižší BCS, obojí patrně v důsledku vyšší mobilizace tukových zásob a výraznějšího zhubnutí. BCS je využíváno jako jeden z indikátorů při genetickém hodnocení odolnosti vůči klinické ketóze např. v Kanadě. Koeck et al. (2014) popsali genetické a fenotypové korelace BCS k ostatním indikátorům, kterými jsou obsah BHB ($-0,35 \pm 0,14$; $-0,13 \pm NA$) a T/B ($-0,32 \pm 0,14$; $-0,11 \pm NA$). Tyto negativní korelace jsou v souladu s našimi výsledky.

Závěr

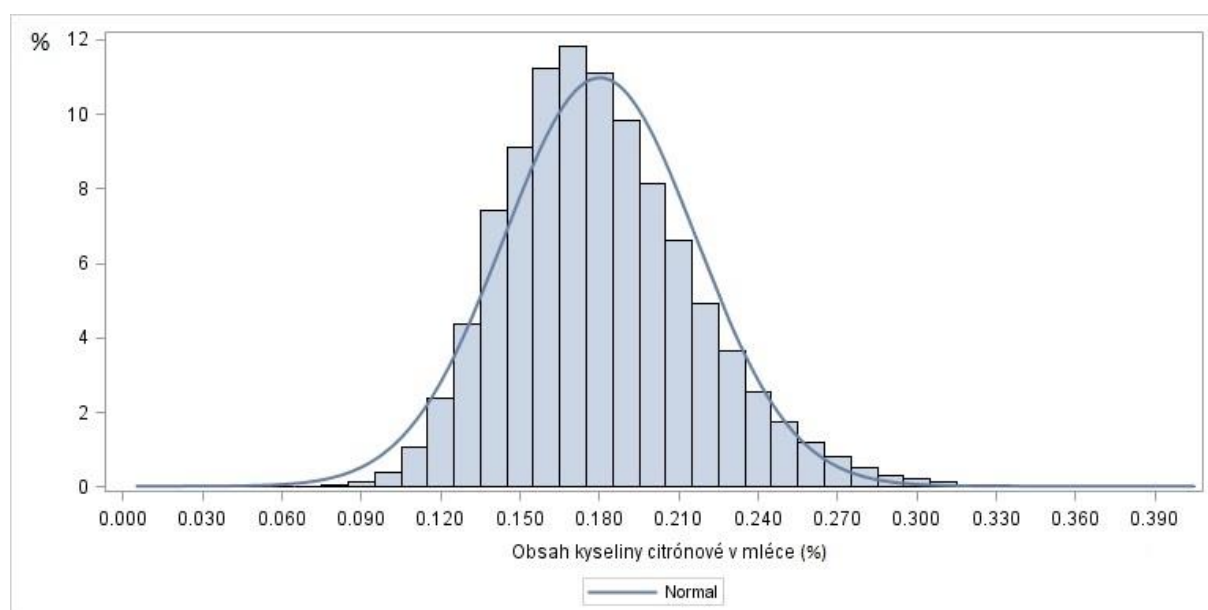
Na základě našich výsledků a citovaných zahraničních prací lze usoudit, že obsah CIT v mléce prvotetek je vyšší, pokud v poporodním období dochází k velmi významnému nedostatku energie, resp. výrazně negativní energetické bilanci a silně zvýšenému odbourávání tukových rezerv. Obsah CIT v mléce tedy lze využít jako indikátor výrazné negativní energetické bilance na počátku laktace. Odhadovaná dědivost obsahu CIT je nízká až střední, avšak až desetkrát vyšší než řada odhadů dědivosti pro vlastní odolnost vůči ketóze. Zohlednění obsahu CIT by mohlo napomoci zpřesnění odhadu plemenných hodnot pro odolnost vůči ketóze. Obsah CIT byl záporně geneticky korelován se skóre tělesné kondice a obsahem bílkovin v mléce, naopak kladná byla vazba s obsahem acetonu a β -hydroxybutyrátu v mléce v prvních 40 dnech laktace. Vzhledem ke zjištěným výsledkům naší studie, a i k výsledkům zahraničních prací publikovaných v posledních letech, bude zřejmě potřeba přehodnotit tuzemské využití sledování koncentrace kyseliny citronové v mléce ve vztahu k diagnostice ketóz z dat KU, kdy je snížení koncentrace CIT pod prahovou hodnotu 0,16 % hodnoceno jako indikátor energetického deficitu. Zjištěné údaje jsou předpokladem k přesnějšimu zakomponování CIT do celkové váhy, používané k identifikaci dojnic postižených na počátku laktace výrazně negativní energetickou bilancí a ohrožených rozvojem ketózy, a k dalšímu využití tohoto znaku při šlechtění na lepší odolnost vůči metabolickým poruchám.

Literatura

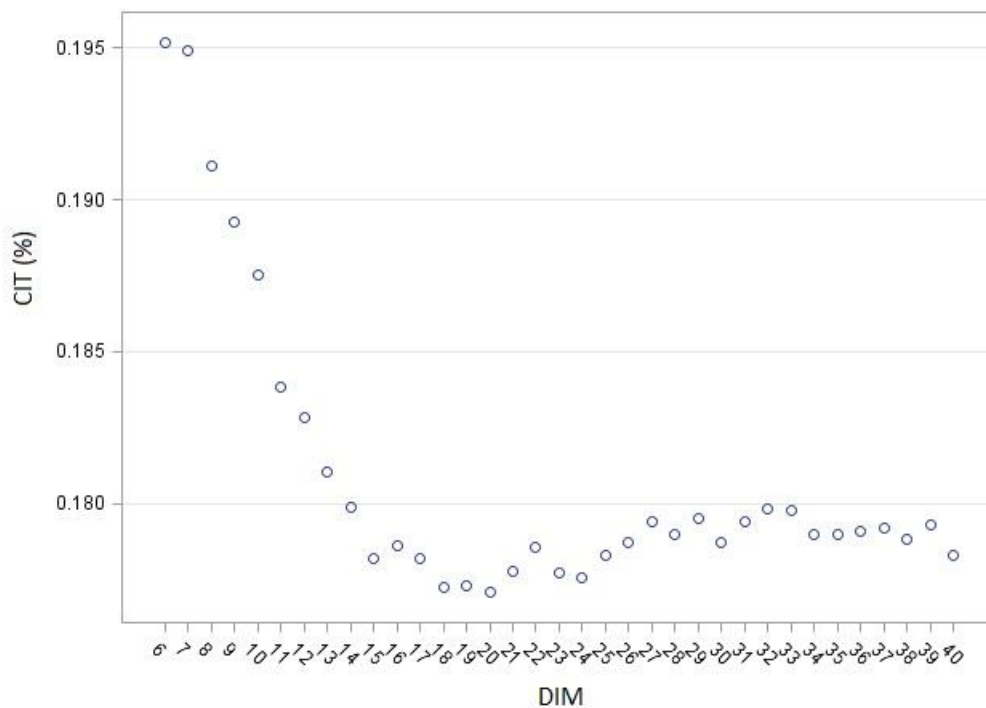
1. Bastin C, Théron L, Lainé A, Gengler A. On the role of mid-infrared predicted phenotypes in fertility and health dairy breeding programs. *J. Dairy Sci.* 2016; 99:4080–4094. doi:10.3168/jds.2015-10087
2. Baticz O, Tömösközi S, Vida L, Gaál T. Relationship between concentration of citrate and ketone bodies in cow's milk. *Acta Vet Hungarica.* 2002;50(3):253–261.
3. Bjerre-Harpøth V, Friggens NC, Thorup VM, Larsen T, Damgaard BM, Ingvarsten KL, Moyes KM. 2012. Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J Dairy Sci.* 2012; 95:2362–2380. doi:10.3168/jds.2011-4419
4. Buitenhuis AJ, Sundekilde UK, Poulsen NA, Bertram HC, Larsen LB, Sørensen P. Estimation of genetic parameters and detection of quantitative trait loci for metabolites in Danish Holstein milk. *J Dairy Sci.* 2013; 96:3285–3295. doi:10.3168/jds.2012-5914
5. Garnsworthy PC, Masson LL, Lock AL, Mottram TT. 2006. Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2006; 89:1604–1612. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72227-5
6. Gengler N, Soyeurt H, Dehareng F, Bastin C, Colinet F, Hammami H, Vanrobays M-L, Lainé A, Vanderick S, Grelet C, Vanlierde A, Froidmont E, Dardenne F. Capitalizing on fine milk composition for breeding and management of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2016; 99:4071–4079. doi:10.3168/jds.2015-10140
7. Grelet C, Bastin C, Gelé M, Davière J-B, Johan M, Werner A, Reding R, Fernandez Pierna JA, Colinet FG, Dardenne P, Gengler N, Soyeurt H, Dehareng F. Development of Fourier transform mid-infrared calibrations to predict acetone, β -hydroxybutyrate, and citrate contents in bovine milk through a European dairy network. *J Dairy Sci.* 2016; 99:4816–4825. doi:10.3168/jds.2015-10477

8. Kašná E, Fleischer P, Zavadilová L, Šlosárková S. Poměr tuku a bílkovin v mléce, genetické vazby s nemocemi. *Náš chov*. 2020a; 80(2):32-36.
9. Kašná E. a Zavadilová L. Genetické hodnocení obsahu β -hydroxybutyrátu v mléce holštýnských dojnic. *Chovatelské listy*. 2020b; 2:12-15.
10. Kašná E, Zavadilová L, Lipovský D. Evaluation of score for subclinical ketosis risk in Czech Holstein cows. *Acta fytotechnica et Zootechnica*. 2020c; 23:250-257. DOI:10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.250-257
11. Klein S-L, Scheper C, May K, König S. Genetic and nongenetic profiling of milk β -hydroxybutyrate and acetone and their associations with ketosis in Holstein cows. *J Dairy Sci*. 2020; 103(11):10332–10346. doi:10.3168/jds.2020-18339
12. Koeck A, Jamrozik J, Schenkel FS, Moore RK, Lefebvre DM, Kelton DF, Miglior F. 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*. 2014; 97:7286–7292. doi:10.3168/jds.2014-8405
13. Madsen P. a Jensen J. (2013) A User's Guide to DMU. Retrieved June 25, 2020 from https://dmu.ghpc.au.dk/DMU/Doc/Current/dmuv6_guide.5.2.pdf
14. Negussie E, Strandén I, Mäntysaari EA. Genetic associations of test-day fat:protein ratio with milk yield, fertility, and udder health traits in Nordic Red cattle. *J. Dairy Sci*. 2013; 96:1237–1250. doi:10.3168/jds.2012-5720
15. Yang W, Zhang B, Xu C, Zhang H, Xia C. 2019. Effect of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. *J Vet Res*. 2019; 63:555–560. doi:10.2478/jvetres-2019-0059
16. Xu W, van Knegsel A, Saccenti E, van Hoeij R, Kemp B, Vervoort J. Metabolomics of milk reflects a negative energy balance in cows. *J. Proteome Res*. 2020; 19:2942–2949. doi:10.1021/acs.jproteome.9b00706

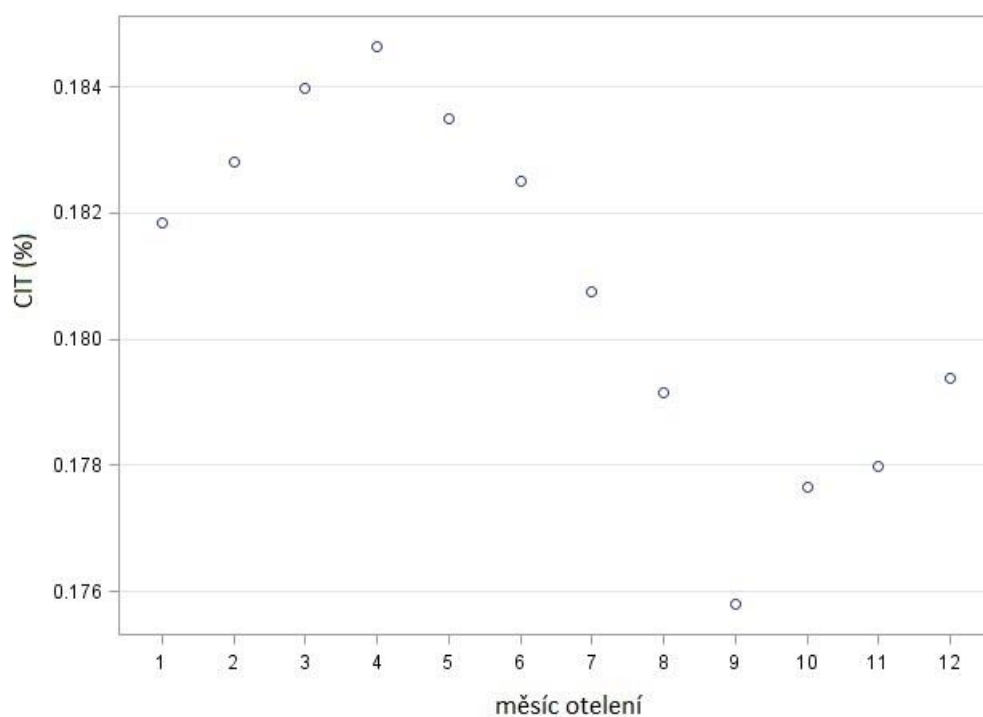
Obr. 1. Distribuce obsahu (%) kyseliny citrónové v mléce prvotek holštýnského skotu do 40. dne laktace



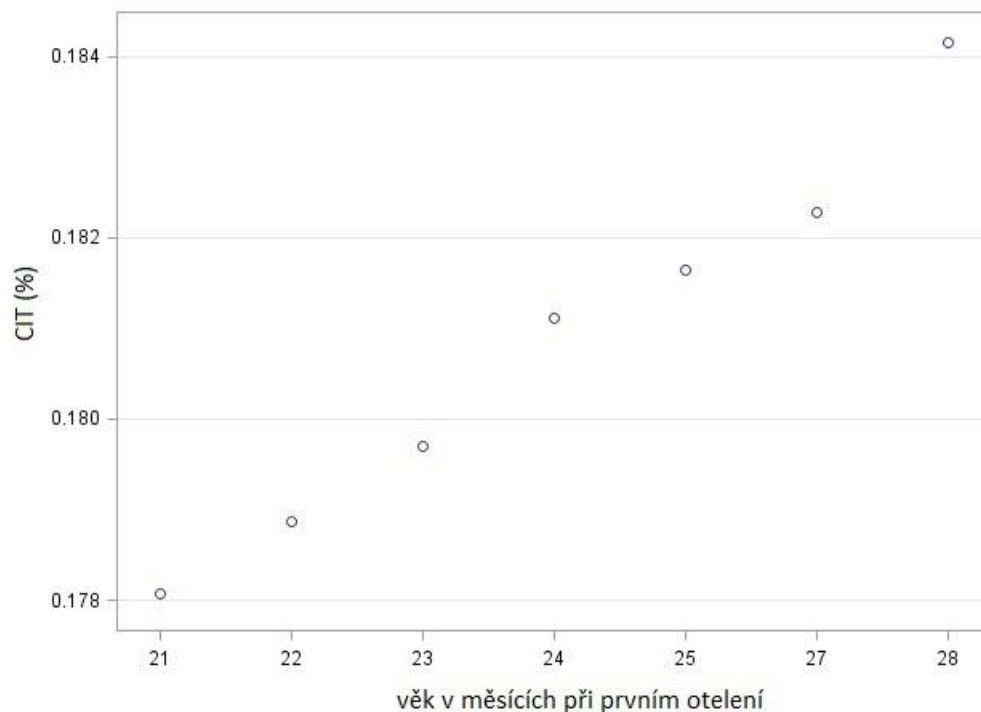
Obr. 2. Vyhodnocení vlivu dne laktace (DIM) na obsah kyseliny citronové v mléce holštýnských prvotek metodou nejmenších čtverců



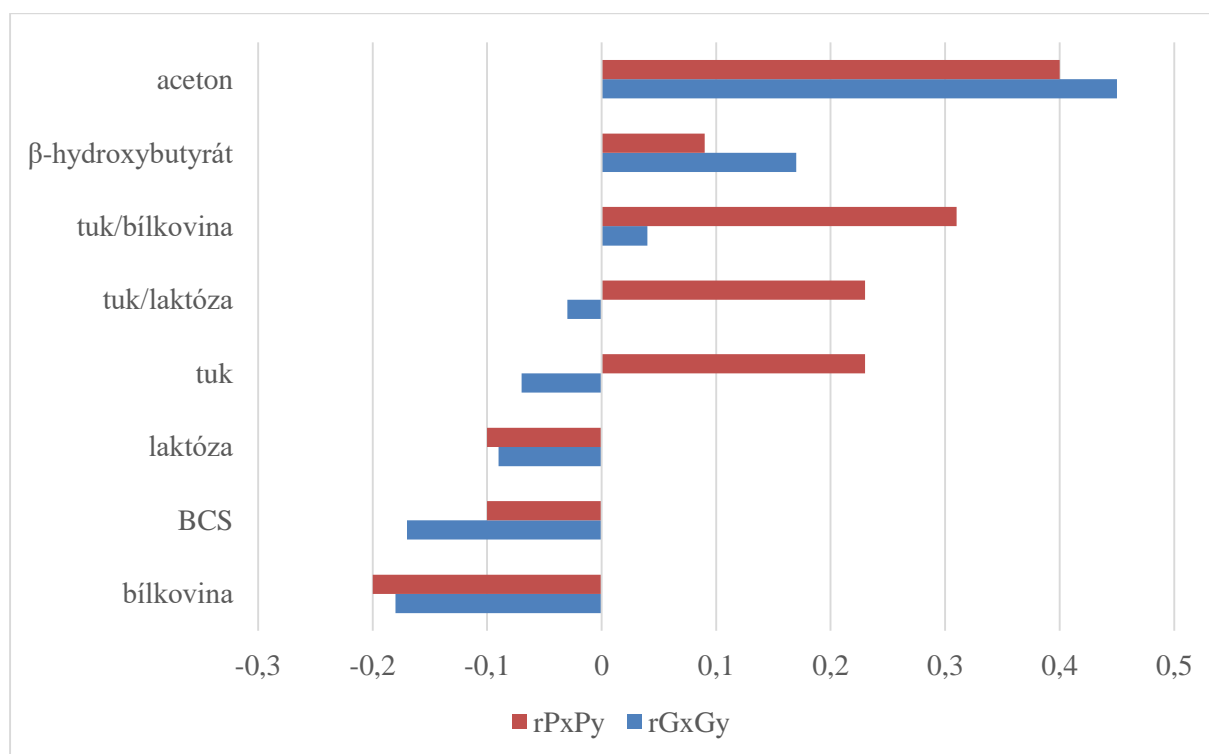
Obr. 3. Vyhodnocení vlivu měsíce otelení na obsah kyseliny citronové v mléce holštýnských prvotek metodou nejmenších čtverců



Obr. 4. Vyhodnocení věku při otelení na obsah kyseliny citronové v mléce holštýnských prvotetek metodou nejmenších čtverců



Obr. 5: Genetické (r_{GxGy}) a fenotypové (r_{PxPy}) korelace mezi obsahem citrátu a dalšími znaky (složky mléka do 40. dne laktace, skóre tělesné kondice (BCS)) u holštýnských prvotetek



Vliv četnosti vrhu na celkovou produkci jehňat u plemene romney

Milerski Michal¹, Černá Michaela¹, Schmidová Jitka¹

¹Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves

Abstract

This paper presents the analysis of 19394 reproduction records of 5856 Romney ewes from 11 flocks during the years 2010-2020. Effects of litter size on overall ewe production traits were analysed. Despite higher rate of lamb losses (LSMs: 21,84% for singletons; 26,16% for twins; 36,42% for triplets and 37,20% for quadruplets, resp.) multiple litters led to significantly ($P < 0.05$) higher number of weighed lambs per litter (LSMs: 0,767; 1,481; 1,926; 2,513, resp.) and higher total weight of whole litter at the age of 100 days (LSMs: 28,26 kg; 42,58 kg; 48,72 kg; 60,81 kg, resp.). Moreover ewes with higher litter size showed significant tendency to repeat higher prolificacy and higher lamb production also in the successive lambing season.

Key words: sheep, lambing, prolificacy, lamb losses

Souhrn

Príspevek prezentuje vyhodnocení 19394 záznamů o bahnění 5856 bahnic plemene romney z 11 stád v průběhu let 2010-2020. Byl hodnocen vliv četnosti vrhu na celkovou produkční výkonnost bahnic. Navzdory vyšším ztrátám jehňat od narození do doby oficiálního vážení v rámci kontroly užitkovosti (LSMs: 21,84% pro jedináčky; 26,16% pro dvojčata; 36,42% pro trojčata a 37,20% pro čtyřčata, resp.) byly vícečetné vrhy významně ($P < 0.05$) spojeny s vyšším počtem zvážených jehňat ve vrhu (LSMs: 0,767; 1,481; 1,926; 2,513, resp.) i vyšší celkovou hmotností jehňat ve vrhu přepočtenou na 100 dní věku (LSMs: 28,26 kg; 42,58 kg; 48,72 kg; 60,81 kg, resp.). Navíc bahnice s vícečetnými vrhy vykazovaly tendenci opakování vyšší plodnosti i celkové produkce jehňat rovněž v následujícím roce bahnění.

Klíčová slova: ovce, bahnění, plodnost, ztráty jehňat

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, institucionální podpora MZE-RO0718.

Úvod

Počet jehňat ve vrhu je jednou ze základních užitkových vlastností u ovcí. V rámci ČR tento znak vstupuje do selekčních indexů CPH pro všechna plemena ovcí, pro něž jsou odhadovány plemenné hodnoty. Ne jinak je tomu u kombinovaného plemene romney, které co do početnosti populace v kontrole užitkovosti zaujímá po plemeni suffolk druhé místo s počtem 2 464 kontrolovaných bahnic za rok 2020. Toto plemeno je u nás chováno v převážné míře v rámci extenzivních produkčních systémů založených na celoročním pobytu zvířat na pastvině a využitím jarních termínů bahnění. Jehňata se rodí zpravidla volně na pastvině a pro jejich přežití je klíčová péče matky. Tento systém chovu značně omezuje možnosti individuální péče o jednotlivá zvířata a jejich příkrmu koncentrovanými krmivy. V tomto ohledu se řadě chovatelů tohoto plemene jeví jako problematický výskyt troj- a vícečetných vrhů, který dle jejich mínění vede k nepřiměřeným ztrátám jehňat, komplikacím u porodů či vyšší pravděpodobnosti vzniku ketóz u matek. Tito chovatelé pak apelují

na zmírnění selekčního tlaku na plodnost, aby dále nevzrůstal počet trojčat a čtyřčat v chovu, případně na uplatnění stabilizační selekce na optimální počet 2 jehňat ve vrhu. Cílem této práce bylo na základě dat z kontroly užítkovosti zhodnotit skutečný vliv vícečetných vrhů na ztráty jehňat a celkovou produkci bahnic u plemene romney v podmínkách ČR.

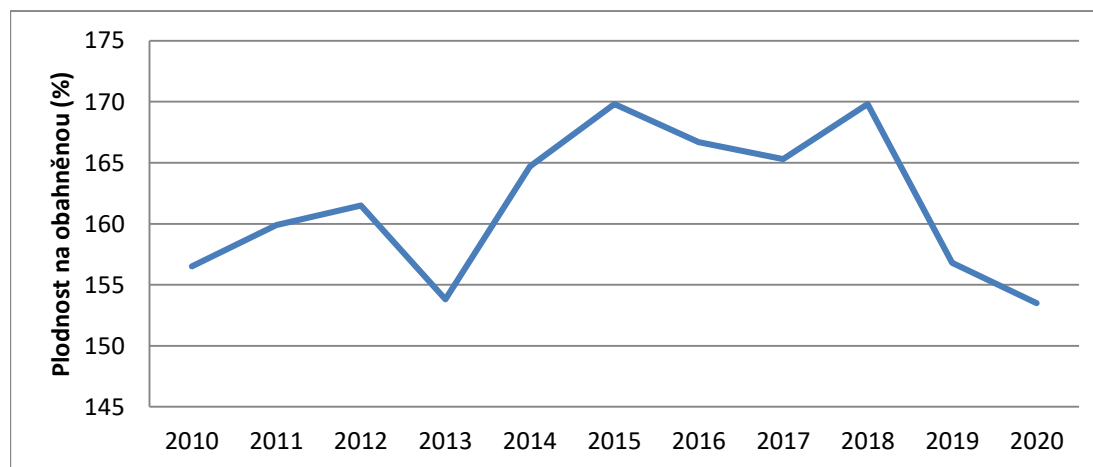
Materiál a metodika

Do výpočtového souboru byly zahrnuty údaje o bahnění u plemene romney v letech 2010-2020 v rámci 11 vybraných chovů uplatňujících extenzivní pastevní produkční systém. 3 úrovně efektu chov-rok, v rámci kterých úhyny jehňat přesáhly v průměru 50% byly z dalšího šetření vyřazeny. Celkem bylo analyzováno 19 394 vrhů od 5 856 bahnic. Průměrná četnost vrhu dosahovala za celé zkoumané období 162,6 %. Vývoj průměrné plodnosti v jednotlivých letech graficky znázorňuje Obr 1. Průměrný odchov dosahoval podle záznamů kontroly užítkovosti 146,4%, ale počet skutečně zvážených jehňat ve věku 100 dní byl 1,231 jehněte na vrh, což potom odpovídá celkovým ztrátám jehňat od narození do vážení 22,99 %. Průměrná hmotnost celého vrhu po přepočtu na 100 dní věku dosahovala 38,9 kg. Průměrné ukazatele produkce jehňat v závislosti na četnosti vrhu při narození jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Základní statistické charakteristiky produkce jehňat ve vrhu u plemene romney podle četnosti vrhu

Četnost vrhu	jedináčci n=8583		dvojčata n=9960		trojčata n=1153		čtyřčata n=26	
	\bar{x}	<i>S.od.</i>	\bar{x}	<i>S.od.</i>	\bar{x}	<i>S.od.</i>	\bar{x}	<i>S.od.</i>
Zvážených jehňat ve vrhu	0,792	0,406	1,492	0,737	1,930	0,959	2,500	1,104
% ztrát jehňat	20,80	40,59	25,39	36,85	35,68	31,96	37,50	27,61
Hmotnost vrhu ve věku 100 dní	26,81	14,90	45,41	23,24	54,52	27,09	69,05	31,63

Obr 1: Vývoj průměrné plodnosti na obahněnou ve sledovaných stádech



Pro statistické vyhodnocení byl použit model se smíšenými efekty, kde náhodným vlivem byla bahnice a pevnými vlivy efekt stáda a roku (107 úrovní), věkové kategorie matky (9 úrovní), četnosti vrhu (4 úrovně) a v případě celkové hmotnosti vrhu i věku při vážení, jako regrese. Kromě počtu

jehňat ve vrhu, která se dožila oficiálního vážení v rámci kontroly užitečnosti, procenta ztrát jehňat od narození do vážení a celkové hmotnosti jehňat ve vrhu po přepočtu na 100 dní věku v daném roce, byly vyhodnocovány i hodnoty dosažené v následujícím roce: podíl obahněných, četnost vrhu a celková hmotnost vrhu ve věku 100 dní.

Výsledky a diskuze

Z obrázku 1 je patrné, že fenotypový nárůst plodnosti lze zaznamenat do roku 2018, v posledních dvou letech došlo ve sledovaných chovech k výraznému poklesu četnosti vrhu. Zjištěna úroveň plodnosti dosahuje úrovně běžně uváděné pro toto plemeno ve světě. Bhuiyan et Curran (1993) uvádějí průměrnou četnost v kontrolní populaci plemene romney 1,63 jehněte, avšak v populaci záměrně šlechtěné na plodnost 1,87 jehněte. Davis et al. (1998) uvádějí jako průměrnou četnost vrhu u plemene romney 1,80 jehněte. Podíl vícečetných vrhů dosahoval ve sledované populaci hodnoty 6%, z toho čtyřčata tvořila pouze nepatrnou část (0,13% všech vrhů). Jak je patrné z údajů uvedených v tabulce 2 byly ztráty jehňat v případě troj- a čtyřčetných vrhů významně vyšší než u dvojčat či jedináčku, nicméně nebyly tak vysoké aby úplně eliminovaly efekt navíc narozeného jehněte.

Tabulka 2: Vyhodnocení vlivu četnosti vrhu na další reprodukční a produkční ukazatele u plemene romney

Četnost vrhu	jedinácci		dvojčata		trojčata		čtyřčata	
	LSM	<i>St.err.</i>	LSM	<i>St.err.</i>	LSM	<i>St.err.</i>	LSM	<i>St.err.</i>
Zvážených jehňat ve vrhu ($R^2=0,329$)	0,767	0,012	1,481	0,012	1,926	0,021	2,513	0,119
% ztrát jehňat ($R^2=0,076$)	21,84 a	0,71	26,19 b	0,71	36,42 c	1,25	37,20 bc	7,17
Hmotnost vrhu ve věku 100 dní ($R^2=0,716$)	28,26 a	0,23	42,58 b	0,23	48,72 c	0,41	60,81 d	2,36
Obahnění v dalším roce ($R^2=0,492$)	0,607 a	0,007	0,619 b	0,007	0,622 ab	0,012	0,658 ab	0,069
Četnost vrhu v dalším roce ($R^2=0,198$)	1,571 a	0,015	1,623 b	0,015	1,736 c	0,023	1,828 bc	0,123
Hmotnost vrhu v dalším roce ($R^2=0,252$)	43,99 a	0,40	45,59 b	0,39	46,39 b	0,61	51,61 b	3,23

Poznámka: Údaje v řádcích označené různými písmeny se vzájemně statisticky liší na hladině významnosti $P \leq 0,05$

Nižší úroveň ztrát jehňat u plemene romney v podmínkách Nového Zélandu lze usuzovat dle výsledků sdělení Wuliji et al. (1999), kteří referují o poměru mezi odstavenými a narozenými jehňaty v rozmezí hodnot 0,84 – 0,88. Z ekonomického i zootechnického hlediska je velkou ztrátou v chovu, pokud bahnice v dané sezóně neodchová ani jednoho potomka. V případě vrhů jedináčků tak neučinilo kolem 20 % bahnic, v případě porodů dvojčat to bylo 13,5% a u trojčat necelých 10%. I přes nižší růstovou intenzitu jehňat z vícečetných vrhů a jejich vyšší ztráty byla celková hmotnost vrhu při přepočtu na 100 dní věku statisticky významně příznivější u vícečetných vrhů. Někteří chovatelé plemene romney rovněž poukazují na to, že trojčata či čtyřčata vedou k přílišnému vyčerpávání organismu matky, což vede například k vyšší incidenci ketóz. Z dat, které byly

k dispozici, nebylo možné přímo posuzovat vztah kondice matky a četnosti vrhu, proto byl zkoumán alespoň vliv četnosti vrhu na užitkovost bahnice v následujícím roce. To, jestli bahnice v dalším roce porodila, bylo četností vrhu ovlivněno pouze minimálně, nicméně statisticky vyšší šanci poskytnou další potomstvo měly matky dvojčat oproti matkám jedináčků. Ani u vícečetných vrhů nebyla patrná tendence zvyšování rizika vyřazení či jalovosti bahnice, spíše naopak. Bahnice, které měly vícečetné vrhy vykazovaly statisticky významně vyšší četnost vrhu i celkovou hmotnost jehňat ve vrhu i v následující sezóně. To ukazuje na skutečnost, že vyšší četnosti vrhu opakovaně dosahují bahnice silnější a užitkovější, které jsou schopny poskytnout živinové rezervy pro vývin a odchov většího počtu jehňat a tyto rezervy následně úspěšně doplnit před další sezónou.

Závěr

Vícečetné vrhy jistě představují výraznou fyziologickou zátěž pro organizmus bahnice i jisté organizační zatížení pro chovatele. Nicméně počet jehňat ve vrhu je zároveň základním intenzifikačním faktorem v systémech chovu zaměřených na produkci jehněčího masa. Získané výsledky ukázaly, že u extenzivně chovaného plemene ovcí romney přes vyšší procento ztrát je u vícečetných vrhů dosahováno vyššího počtu zvážených jehňat ve vrhu, vyšší celkové hmotnosti vrhu při přepočtu na sto dní i vyšší plodnosti a produkce jehňat v další sezóně. Snaha o zvyšování plodnost by tedy měla zůstat nedílnou součástí šlechtitelských strategií pro plemeno romney. Chovatelům lze doporučit vyšší využití možnosti stanovení počtu vyvíjejících se plodů pomocí ultrazvukové techniky s návazným oddělením bahnice nesoucích vícečetné vrhy a poskytnutím jim vyšší úrovně péče. Variabilita v četnosti vrhu je přirozená a je potřeba s ní počítat. Určitou snahu o stabilizační selekci na optimální četnost vrhu lze vyvinout pomocí postupů navržených Schmidovou a Milerskim (2017). Bez ohledu na četnost vrhu je procento ztrát jehňat ve sledovaném souboru značné. Vekou roli v tom určitě hrají povětrnostní podmínky, predační tlak či chování matek. Snižování mortality jehňat vyžaduje komplexní přístup.

Literatura

1. Bhuiyan A.K.F.H., Curran M.K., 1993. Genetic trends of prolificacy and litter size in Romney Marsh sheep. *Small Rumin. Res.*, 12 (3), 315-320.
2. Bhuiyan A.K.F.H., Curran M.K., 1995. Selection for prolificacy in Romney sheep II. Correlated responses. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 8(1), 29-35. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.1995.29>
3. Davis G.H., Morris C, Dodds K., 1998. Genetic studies on prolificacy in New Zealand sheep. *Animal Science*, 67 (2), 289-297. DOI: 10.1017/S1357729800010055
4. Schmidová J., Milerski M., 2017 Alternative breeding values for litter size in Romney sheep. In *EAAP – 68th Annual Meeting, Tallinn 2017*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, s. 162.
5. Wuliji T., Dodds K.G., Anrews R.N., Turner P.R., Wheeler R. 1999. Effect of selection for fleece weight on liveweight, reproductive performance and wool characteristics in mixed age Romney ewes. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 59, 27-29.

Spolehlivost genomických plemenných hodnot pro znaky zdraví u holštýnských dojnic

Zavadilová Ludmila¹, Kašná Eva¹, Klímová Anita¹

¹Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha – Uhřetěves

Abstract

The article deals with the reliability of udder breeding values and the foot and claw disorders in Holstein cattle. Breeding values and their reliability have been estimated for clinical mastitis, foot and claw infection diseases, non-infectious foot and claw disorders, foot and claw disorders, including lameness, and foot and claw disorders and lameness alone. A single-trait linear animal model with repeatability was used for evaluation. The most extensive dataset of 97,674 cows was used to estimate breeding values for foot and claw diseases, including lameness. The smallest dataset of 21,552 cows was used for non-infectious foot and claw disorders. A single-step genomic estimation method was used to estimate genomic breeding values. The reference population was in the range of 25,458 animals, bulls 5,107, cows and heifers 20 351. The final number of SNPs was 35,934. The lactation incidence was highest in clinical mastitis at 23.55 %, the lowest in lameness at 10.61 %. Heritabilities were in the range of 3.13 % for lameness and 5.48 % for infectious foot and claw diseases. The genomic evaluation positively increased the reliability of breeding values in genotyped individuals by 11 pp to 12 pp. If there is another factor at play to improve reliability, its effect may exceed the genotyped animal's genomic estimation effect. In bulls, sires with daughters in datasets, there was a lower increase in reliability than for genomic cows and heifers (increase from 12 pp to 13 pp), on average only by 8 pp. In conclusion, the use of genomic selection is essential to improve reliability in young animals.

Key words: dairy cattle; genomic breeding value; clinical mastitis; foot and claw disorders; lameness

Souhrn

Článek se zabývá spolehlivostí plemenných hodnot pro znaky zdraví vemene a paznehtů u holštýnského skotu. Byl proveden odhad plemenných hodnot a jejich spolehlivostí pro klinickou mastitidu, infekční nemoci paznehtů, neinfekční nemoci paznehtů, nemoci paznehtů včetně kulhání a nemoci paznehtů a kulhání samostatně. K vyhodnocení byl použit jednoznakový lineární animal model s opakovatelností. Nejvíce krav bylo použito pro odhad plemenných hodnot pro nemoci paznehtů včetně kulhání, 97 674 krav a nejméně pro neinfekční nemoci paznehtů 21 552. Pro odhad genomických plemenných hodnot byla použita jednokroková metoda genomického odhadu. Referenční populace byla v rozsahu 25 458 jedinců, býků 5 107, krav a jalovic 20 351. Konečný počet SNP byl 35 934. Laktační incidence byla nejvyšší u klinické mastitidy 23,55 %, nejnižší u kulhání 10,61 %. Koeficienty dědivosti byly v rozsahu 3,13 % u kulhání a 5,48 % u infekčních nemocí paznehtů. Použití genomického odhadu plemenné hodnoty se kladně projevilo na zvýšení spolehlivosti predikce plemenných hodnot u genotypovaných jedinců a to o 11 p. b. až 12 p. b.. Ukázalo se, že pokud je ve hře ještě další faktor působící zvýšení spolehlivosti, pak jeho vliv může

převýšit vliv genomického odhadu u genotypovaného zvířete. U býků, otců dcer v datových souborech došlo v srovnání zejména s genomickými kravami a jalovicemi (nárůst spolehlivosti 12 p. b. až 13 p. b.) k nižšímu vzestupu spolehlivosti, v průměru pouze o 8 p. b.. Závěrem můžeme konstatovat, že použití genomické selekce je zásadní pro zvýšení spolehlivosti u mladých zvířat.

Klíčová slova: skot; genomická plemenná hodnota; klinická mastitida; nemoci paznehtů; kulhání

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

Úvod

V minulých desetiletích bylo možné u dojeného skotu sledovat nepříznivý genetický vývoj ve znacích zdraví, který je důsledkem jejich negativní korelace s produkčními znaky. Stejně tak jako zvýšení produkce i zlepšení zdraví dojnic lze dosáhnout prostřednictvím šlechtění, a to velmi efektivně při použití genomické selekce (Georges et al. 2019). Genomická selekce umožňuje výrazně zrychlit selekční pokrok u níže dědivých znaků jako je např. počet somatických buněk v mléce, které slouží jako ukazatele zdraví vemene, a to až o 300–400 %, jak se ukázalo při vyhodnocení dopadu sedmi let genomické selekce na dojený skot v USA (Garcia- Ruiz et al. 2016). Základem genomické selekce je skupina genotypovaných jedinců, referenční populace, jejichž genom je popsán high-density DNA čipy (tedy čipy s vysokou hustotou markerů), jež identifikují desítky až stovky tisíc SNP napříč genomem. Při použití jedнокrokové metody genomické selekce (Aguilar et al. 2010) se využívají fenotypové hodnoty nejen genotypovaných, ale veškerých příbuzných zvířat a při výpočtu se bere do úvahy veškerý rodokmen. Dosahuje se tak dalšího zvýšení přesnosti selekce. Příbyl et al. (2012) navrhl využití jedнокrokové metody genomického odhadu u holštýnského skotu v ČR pro produkční znaky.

Při použití nových znaků ve šlechtění, které jsou v současné době představovány v ČR znaky zdraví vemene a končetin, je zavedení genomické selekce podmíněno existencí referenční populace s dostatečným množstvím fenotypů nových znaků. Sběr údajů o nemocech u dojeného skotu v ČR závisí na chovatelských organizacích a je dobrovolnou činností chovatelů. V České republice byla v roce 2018 spuštěna webová aplikace určená pro sběr, uchovávání a zpracování zdravotních událostí. Tento „Deník nemocí a léčení“ (Deník) je zdarma k dispozici registrovaným chovatelům na webu Českomoravské společnosti chovatelů, a. s. Data z Deníku jsou pravidelně vypisována pro odhady genomických plemenných hodnot odolnosti vůči klinické mastitidě a nemocem paznehtů.

Předkládaný příspěvek se věnuje přesnosti odhadu genomických plemenných hodnot pro klinickou mastitidu, nemoci paznehtů a kulhání u holštýnského skotu v ČR u jedinců zahrnutých v genomické referenční populaci.

Materiál a metodika

Plemenné hodnoty a jejich spolehlivosti byly odhadnuty pro klinickou mastitidu (CM), infekční nemoci paznehtů (IP), neinfekční nemoci paznehtů (NIP) a nemoci paznehtů celkem včetně kulhání (NPK), nemoci paznehtů (NP), kulhání (K). Byl použit jednoznakový animal modelem s opakovatelností a jedнокroková metoda genomického odhadu. Byl použit programový balík BLUPF90 (Misztal et al. 2020). Výsledné plemenné hodnoty byly použity pro stanovení indexu zdraví (Krupa et al. 2018).

Datové soubory byly vytvořeny z údajů zadaných do Deníku nemocí a léčení. Počty pozorování pro vyhodnocované znaky zdraví jsou v Tab. 1. Soubor s nejvyšším počtem případů byl pro NPK, potom následoval soubor pro výskyt CM. Nejnižší počet krav i laktací byl pro NIP. Z důvodu samostatného výpočtu pro znaky NPK byl následně proveden i samostatný výpočet pro tyto dva doposud kombinované znaky. Pro K jako samostatný znak bylo vyhodnoceno méně krav, stád i laktací než pro NP, přibližně 60 % pokud počty pro NP představují 100 %.

Metoda odhadu a modelová rovnice

Pro odhad genetických parametrů a plemenných hodnot (PH) pro znaky zdraví CM, IP, NIP a NPK, NP, K byl použit lineární animal model s opakovatelností:

$$y_{ijklm} = \mu + PLvek_i + ST_j + RxM_k + pe_l + a_m + e_{ijklm},$$

y_{ijklm} – vybraný znak zdraví vyjádřený jako výskyt za laktaci ano/ne. Laktace je definována jako normovaná laktace v délce 240–305 dnů. Zasažená čtvrt' nebyla brána do úvahy.

μ – průměr; $PLvek_i$ – pořadí laktace v kombinaci s věkem při otelení (5 hladin x 3 hladiny); ST_j – pevný efekt stáda (počet hladin viz Tab.1); RxM_k – pevný efekt roku a měsíce otelení (rok otelení 2015 až 2020); PE_l je náhodný efekt trvalého období jedince, odpovídající více laktacím krávy l (počet hladin viz Tab.1); a_m – náhodný aditivní efekt jedince spojený s rodokmenem (počet hladin viz Tab.1); e_{ijklm} je náhodný reziduální efekt.

Genomický odhad

Genomické plemenné hodnoty byly odhadnuty jedнокrokovou metodou (Aguilar et al. 2010) při využití fenotypové hodnot nejen genotypovaných, ale veškerých sledovaných jedinců se zahrnutím rodokmenu do 4 generace.

Použitá **genomická matice** G zahrnovala 25 458 jedinců. Počet genomických býků byl 5 107, genomických krav 20 351. Počet SNP byl 54 609. Alelické frekvence byly v průměru 0,539; maximum 1; minimum 0 s variancí 0,106. Kontrola kvality vedla k odstranění 14 294 SNP s callrate pod 0,90; a také 13 058 SNP s MAF nižší 0,05. Odstraněných monomorfních SNP bylo 3 655. Počet odstraněných zvířat s call rate pod 0,90 byl 321. Konečný počet SNP byl 35 934. Alelické frekvence po kontrole kvality byly v průměru 0,525; maximum 0,950; minimum 0,050 s variancí 0,064. Ke genomické příbuzenské matici G byl přičten podíl rodokmenové příbuzenské matice A podle rovnice $G_{A22} = 0,950 G + 0,050 A_{22}$. Korelace mimodiagonálních prvků G_{A22} byla v rozmezí 0,569 až 0,575 podle analyzovaného znaku. Počet párů jedinec otec 18 605; jedinec matka 2 800; trojic jedinec otec matka 2 074.

Výsledky a diskuze

Datové soubory použité pro stanovení znaků pro odhad plemenných hodnot pro zdraví měly rozdílnou velikost, viz Tab. 1. Nejvíce krav (97 674) i stád (172) bylo použito pro odhad NPK.. Poté následovala NP s 71 218 kravami a 118 stády. Data pro IP a NIP byly k dispozici nejméně, stejně tak pro K. NP a NPK pak vlivem kombinace do jednoho znaku zahrnovaly více informací než IP a NIP. Důvodem k rozdílu mezi velikostmi souborů je nejednotnost ve sledování nemocí dojnic mezi chovateli. Doposud také není sledovaná celá populace holštýnského skotu. Stáda zapojená do sledování mají různou velikost.

Laktační incidence (LIR) tj. podíl laktací s nemocí (%) viz Tab. 2 byla nejvyšší u CM 23,55 %. Nejnižší LIR vykázalo K 10,61 %. Ostatní nemoci měly LIR okolo 15 %. LIR na první laktaci byla

opět nejvyšší u CM 20,43 % nejnižší u NIP 11,95 % a u K 12,85 %. Příčinou je pravděpodobně vyšší výskyt NIP na dalších laktacích, protože celková LIR pro NIP byla vyšší 15,30 %. Vyšší výskyt vředů, nemoci bílé čáry a chronické laminitidy (Barker et al. 2009) a i kulhání ve vyšších laktacích uvádějí např. Perez-Cabal and Alenda (2014). Ovšem na rozdíl od Perez-Cabal and Alenda, (2014) byla u K naopak celková LIR 10,61 % nižší než LIR na první laktaci. Z toho plyne nižší výskyt K na dalších laktacích. Nízká LIR pro K v našem sledování je nejspíše dána nedostatečným sledováním dat. Vyšší LIR našli Krpálková et al. (2019), kteří publikovali pro NP LIR nad 50 %. Také Zavadilová et al. (2018) vyhodnotili vyšší LIR, než byla nalezena v těchto datech: LIR 28,61 % pro IP 27,15 % pro NIP a 52,56 % pro NPK. Sice se jednalo také o český holštýnský skot, ale datový soubor byl omezen na méně stád a sběr probíhal přes 20 let. Naopak je shoda se Zavadilová et al. (2019), kteří zjistili 8,24 % pro IP; 11,76 % pro NIP a 10,00 % pro NPK, kdy zdrojem údajů o nemocech byl také Deník nemocí. Rozdíl mezi procentickým výskytem nemocí paznehtů je dán především způsobem získání údajů např. Laursen et al. (2009) našel velmi nízkou míru výskytu nemocí paznehtů 3,52 %, nejspíše proto, že údaje byly získány pouze pro prvotelky a tvořeny převážně nekróbacilozou. Naopak van der Linde et al. (2010) našel, že u 69 % krav se vyskytla alespoň 1x nemoc paznehtů. O určitém zkreslení datových souborů vypovídá i podíl prvních laktací (%) ze všech laktací, který je odlišný pro jednotlivé znaky. Především vyniká nižší podíl u CM a NIP. Při řádném sledování celé populace by podíl prvních laktací musel být shodný u všech znaků. Koeficienty dědivosti (viz Tab. 3) odhadnuté při hodnocení byly nízké. Nejvyšší hodnotu vykázala dědivost IP 5,48 % nejnižší pak NPK 2,89 %. Vyšší koeficient dědivosti byl důsledkem vyšší aditivních variancí, případně u NIP hrála roli i nižší celková variance. Vysoký koeficient opakovatelnosti nacházíme u IP a NIP, především vlivem vyšší variance trvalého prostředí. Nejnižší koeficient opakovatelnosti i všechny ostatní variance a koeficienty byly nejnižší pro kulhání. Odhady koeficientů dědivosti se shodují s publikovanými odhady. Pro CM případně K u kanadského holštýnského skotu Koeck et al. (2012) a Neuenschwander et al. (2012) uvádějí hodnoty koeficientu dědivosti do 5 %. Zwald et al. (2004) uvádí heritabilitu pro CM do 10 %. Zavadilová et al. (2020) uvádějí pro CM nižší dědivost 2,10 % do 2,72 %, opět datový soubor vytvořený na základě Deníku. Pro NP Perez-Cabal and Charfeddine (2015) našli koeficient dědivosti u španělského holštýnského skotu 5 %. Van der Speck et al. (2015) zjistili u holštýnského skotu heritabilitu pro infekční nemoci paznehtů 4 % v první a 6 % v dalších laktacích. Pro holštýnský skot Dhakal et al. (2015) uvádějí u infekčních nemocí 8 % a u neinfekčních nemocí 11 %, o něco vyšší odhady než heritability zjištěné námi.

Následně by bylo možné předpokládat, že výše spolehlivosti u genomických PH bude úměrná počtu pozorování zahrnutých do výpočtu a vyniknou rozdíly mezi hodnocenými znaky. Jak se ukázalo, nejnižší průměrnou spolehlivostí plemenných hodnot u genomických PH viz Tab. 4 opravdu vykázaly neinfekční nemoci paznehtů jak konvenční, tak genomické. Přesto tento vliv byl nízký. Rozdíl mezi genomickou a konvenční spolehlivostí byl přibližně 11 až 12 procentních bodů (p. b.) ve prospěch genomické spolehlivosti, a to u všech znaků. Přitom směrodatná odchylka u konvenčních i genomických odhadů spolehlivosti byla téměř shodná viz Tab. 4. Stejně tak maximální hodnota spolehlivosti u konvenčních i genomických spolehlivosti měla podobnou hodnotu. Nárůst genomické spolehlivosti lze jednoznačně přičíst genotypování zvířat. Jak je vidět na Grafu 1, kde je pro ilustraci uvedeno porovnání konvenční a genomické spolehlivosti pro CM u různých skupiny jedinců, nárůst genomické spolehlivosti ve srovnání s konvenční spolehlivostí se projevil pouze u genotypovaných zvířat. K podobným závěrům dospěli i Zavadilová et al. (2020). Ti uvádějí nárůst spolehlivosti vlivem

genomického výpočtu u krav v datových souborech 1 p. b. a pro býky s 10 dcerami a více o 3 p. b. . V dalších grafech jsou představeny průměry spolehlivosti konvenční i genomické PH pro všechny hodnocené znaky, a to u různých skupin zvířat. Všechny grafy mají stejný rozsah stupnice, kromě Grafu 6 pro jalovice, kde je o něco vyšší maximální hodnota svislé osy. Lze tedy provést i intuitivní srovnání pohledem mezi grafy navzájem.

Spolehlivost genomické plemenné hodnoty byla vyšší u všech skupin genotypovaných zvířat i u všech hodnocených vlastností. Nejnižší průměr genomických spolehlivostí byl nalezen u NIP a K, a to u všech kategorií genomických zvířat s výjimkou genomických býků s dcerami v datových souborech, viz Graf 4, kde NIP průměr vykázal poměrně vysokou hodnotu. Průměr genomické spolehlivosti u genomických býků, viz Graf 2, byl o něco nižší než průměr u genomických krav a jalovic viz Graf 3. Genomičtí býci s dcerami v datových souborech, viz Graf 4, dosáhli nejvyššího průměru spolehlivosti. Ukázalo se, že počet dcer býka v datovém souboru je faktor působící sám o sobě zvýšení spolehlivosti PH. V Grafu 4 je i průměr spolehlivosti konvenční PH vyšší než v Grafech 2, 3, 5 a 6. U býků, otců dcer v datových souborech došlo v srovnání zejména s kravami a jalovicemi k nižšímu vzestupu spolehlivosti vlivem genotypování. U mladých genomických býků viz Graf 5, kdy se jedná o holštýnské býky narozené v letech 2019 a 2020, celkem 303 býků, došlo ke zvýšení spolehlivosti genomickým odhadem o 12 p. b., maximální hodnoty genomické spolehlivosti byly mezi 30 % až 35 %. U genomických jalovic, opět H100, rozených v letech 2019 a 2020 (12 286), bez vlastní užitkovosti, byly hodnoty spolehlivosti v průměru vyšší než u mladých býků. Zvýšení spolehlivosti bylo o 12 p. b. až 15 p. b.. Maximální spolehlivost u této skupiny byla 38 % až 45 %.

Závěr

Ukázali jsme, že použití genomického odhadu plemenné hodnoty se kladně projeví na zvýšení spolehlivosti predikce PH. Toto zvýšení se především projeví u genotypovaných jedinců. Ukázalo se, že pokud je ve hře ještě další faktor působící zvýšení spolehlivosti PH, pak jeho vliv může převýšit vliv genomického odhadu u genotypovaného zvířete. V našem případě tomu tak bylo u býků, otců dcer v datových souborech. U těchto býků došlo v srovnání zejména s kravami a jalovicemi k nižšímu vzestupu spolehlivosti. Pokud se projevil rozdíl mezi znaky připadlo vysvětlení na rozsah datového souboru než na např. dědivost znaku.

Literatura

1. Aguilar I, Misztal I, Johnson DL, Legarra A, Tsuruta S, Lawlor TJ. Hot topic: A unified approach to utilize phenotypic, full pedigree, and genomic information for genetic evaluation of Holstein final score. *J. Dairy Sci.* 2010; 93, 743–752. doi:10.3168/jds.2009-2730.
2. Barker ZE, Amory JR, Wright JL, Mason SA, Bloweyand RW, Green LE. Risk factors for increased rates of sole ulcers, white line disease, and digital dermatitis in dairy cattle from twenty-seven farms in England and Wales. *J. Dairy Sci.* 2009; 92, 1971–1978. doi:10.3168/jds.2008-1590
3. Dhakal K, Tiezzi F, Clay JS, Maltecca C. Short communication: Genomic selection for hoof lesions in first-parity US Holsteins. *J. Dairy Sci.* 2015; 98:3502–3507. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8830>
4. García-Ruiz A, Cole JB., Vanraden PM, Wiggans GR, Ruiz-López FJ, Van Tassell CP. Changes in genetic selection differentials and generation intervals in US Holstein dairy cattle

- as a result of genomic selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016: 113, E3995–E4004. doi:10.1073/pnas.1519061113
5. Georges M, Charlier C, Hayes B. Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nat Rev Genet*. 2019; 20: 135–156. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0082-2>
 6. Koeck A, Miglior F, Kelton DF, Schenkel FS. Health recording in Canadian Holsteins: Data and genetic parameters. *J Dairy Sci*. 2012; 95(7): 4099–4108. doi: 10.3168/jds.2011-5127
 7. Krupa E, Krupová Z, Zavadilová L. IZdraK verze 1.0.0.0 Index Zdraví Krav. Software. 2018
 8. Neuenschwander TF-O, Miglior F, Jamrozik J, Berke O, Kelton DF, Schaeffer LR. Genetic parameters for producer-recorded health data in Canadian Holstein cattle. *Animal*; 2012; 6(4):571–578. doi:10.1017/S1751731111002059
 9. Misztal I, Tsuruta S, Strabel T, Auvray B, Druet T, Lee DH. BLUPF90 and related programs (BGF90). In the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP), 19–23 August 2002, Montpellier, France
 10. Perez-Cabal MA, Charfeddine N. Models for genetic evaluations of claw health traits in Spanish dairy cattle. *J Dairy Sci*. 2015; 98(11): 8186–8194. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9562>
 11. Perez-Cabal MA, Alenda R. Clinical lameness and risk factors in a Spanish Holstein population. *Livest. Sci*. 2014;164:168–174. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.03.012>
 12. Příbyl J, Haman J, Kott T, Příbylová J, Šimečková M, Vostrý L, Zavadilová L, Čermák V, Růžička Z, Šplíchal J, Verner M, Motyčka J, Vondrášek L. Single-step prediction of genomic breeding value in a small dairy cattle population with strong import of foreign genes. *Czech J. Anim. Sci*. 2012; 57(4): 151–159 <https://doi.org/10.17221/5890-CJAS>.
 13. van der Spek D, van Arendonk JAM, Bovenhuis H. Genetic relationships between claw health traits of dairy cows in different parities, lactation stages, and herds with different claw disorder frequencies. *J. Dairy Sci*. 2015; 98:6564–6571. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9561>.
 14. Zavadilová L, Kašná E, Krupová Z. Genomic breeding values for claw diseases/disorders in Czech Holstein cows. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2019, 67, 1245-1251. <https://doi.org/10.11118/actaun201967051245>
 15. Zavadilová L, Kašná E, Krupová Z, Kranjčevićová A. Breeding values prediction for clinical mastitis in Czech Holstein cattle. *Acta fytotechn zootechn*. 2020; 23, (Monothematic Issue :: Future Perspectives in Animal Production), 233-240. <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.233-240>
 16. Zavadilová L, Kašná E, Krupová Z, Brzáková, M. Genetic parameters for clinical mastitis in Czech Holstein cattle. *Czech J. Anim. Sci.*, 2020, 65, 463-472. <https://doi.org/10.17221/151/2020-CJAS>
 17. Zavadilová L, Štípková M, Svitaková A, Krupová Z, Kašná E. Genetic parameters for clinical mastitis, fertility and somatic cell score in Czech Holstein cattle. *Ann Anim Sci*. 2017; 17(4): 1007-1018. <https://doi.org/10.1515/aoas-2017-0006>
 18. Zwald NR, Weigel KA, Chang YM, Welper RD, Clay JS. Genetic selection for health traits using producer recorded data I Incidence rates heritability estimates and sire breeding values *J Dairy Sci*. 2004; 87(12): 4287–4294. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73573-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73573-0)

Tab. 1: Počty záznamů pro hodnocené znaky ve výpočtu

Hodnocený znak	Počet krav ve sledování	Počet laktací	Počet stád	Rodokmen	Počet genomických krav s užitkovostí	Počet genomických býků s dcerami s užitkovostí
Klinická mastitida	65 551	109 981	113	175 679	3 508	1 591
Infekční nemoci paznehtů	37 842	60 002	67	129 373	2 165	1 273
Neinfekční nemoci paznehtů	21 552	36 175	42	102 125	1 872	1 075
Nemoci paznehtů celkem včetně kulhání	97 674	146 620	172	259 314	3 477	1 741
Nemoci paznehtů celkem	71 218	101 989	118	203 583	2 582	1 639
Kulhání	40 790	61 455	72	147 644	1 748	1 421

Tab. 2: Laktační incidence (LIR), podíl laktací s nemocí (%) pro znaky ve výpočtu

Hodnocený znak	Podíl laktací s nemocí (%)	Podíl prvních laktací s nemocí (%)	Podíl prvních laktací (%) ze všech laktací
Klinická mastitida	23,55	20,43	31,61
Infekční nemoci paznehtů	14,63	15,88	39,35
Neinfekční nemoci paznehtů	15,30	11,95	27,29
Nemoci paznehtů celkem včetně kulhání	14,85	15,87	34,88
Nemoci paznehtů celkem	16,14	17,85	38,16
Kulhání	10,61	12,85	41,28

Tab. 3: Odhadnuté variance, koeficient dědivosti a opakovatelnosti pro hodnocené znaky

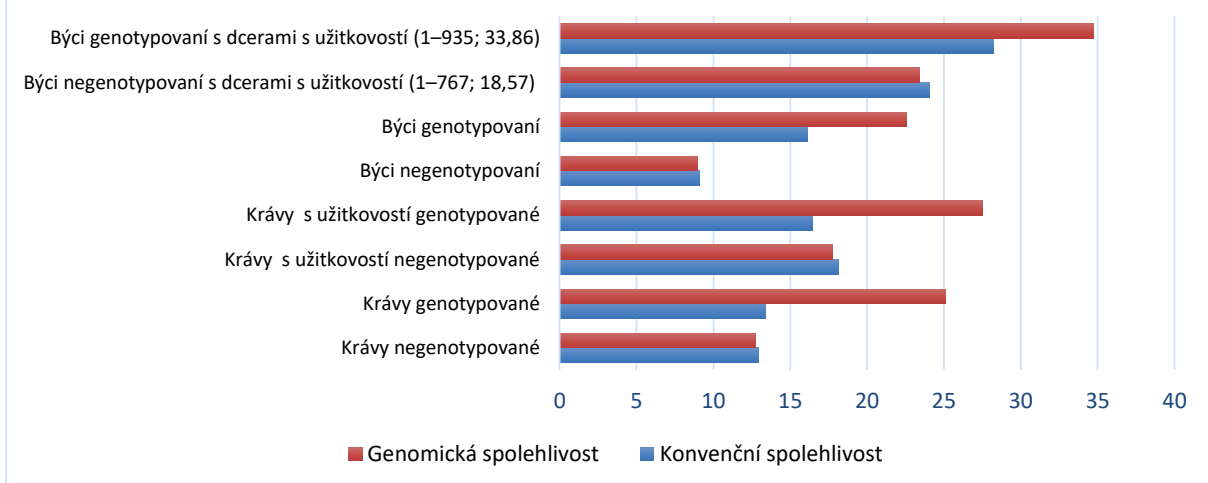
	Klinická mastitida	Infekční nemoci paznehtů	Neinfekční nemoci paznehtů	Nemoci paznehtů celkem včetně kulhání	Nemoci paznehtů celkem	Kulhání
Aditivní variance	0,0077	0,0062	0,0045	0,0032	0,0040	0,0028
Variance trvalého prostředí	0,0081	0,0173	0,0258	0,0064	0,0083	0,0019
Reziduální variance	0,1432	0,0896	0,0743	0,1029	0,1007	0,0857
Celková variance	0,1590	0,1131	0,1045	0,1125	0,1130	0,0904
Koeficient dědivosti	4,87 %	5,48 %	4,30 %	2,89 %	3,51 %	3,13 %
Koeficient opakovatelnosti	9,94 %	20,75 %	28,97 %	8,55 %	10,84 %	5,20 %

Barevné škály použity pro srovnání hodnot v řádcích, mezi znaky.

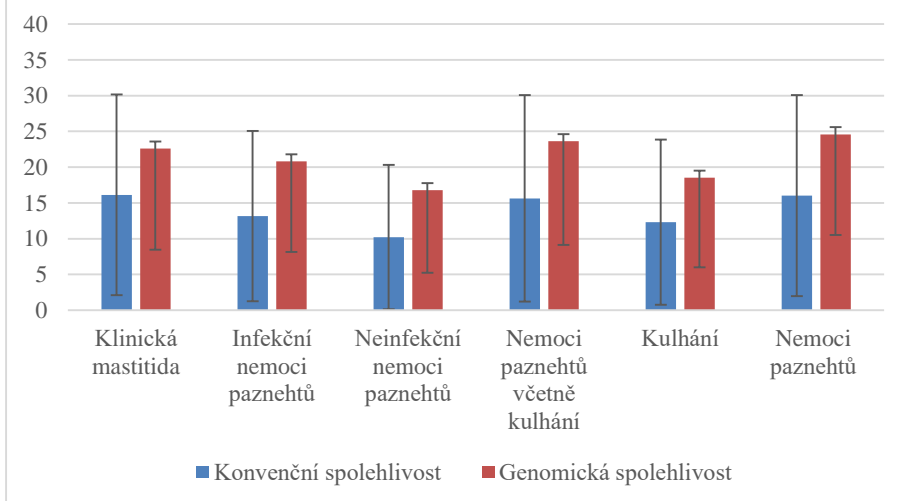
Tab. 4: Spolehlivosti plemenných hodnot pro genomická zvířata (25 458)

Vlastnost	Průměr	SD	Maximum	Průměr	SD	Maximum
	Spolehlivost konvenčních plemenných hodnot v %			Spolehlivost genomických plemenných hodnot v %		
Klinická mastitida	13,93	8,27	88,58	24,59	8,15	88,70
Infekční nemoci paznehtů	12,32	7,33	84,85	23,98	7,66	85,30
Neinfekční nemoci paznehtů	9,68	6,64	85,11	20,25	7,43	85,53
Nemoci paznehtů celkem včetně kulhání	13,33	8,66	91,62	25,64	8,25	91,80
Nemoci paznehtů celkem	13,40	8,41	90,01	26,42	7,98	90,29
Kulhání	10,91	7,11	89,39	21,17	7,55	89,56

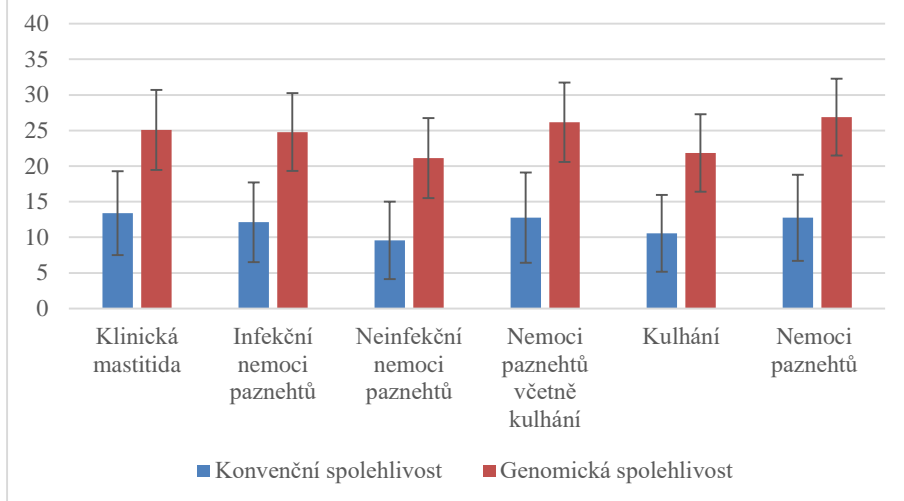
Graf 1: Spolehlivost plemenných hodnot pro klinickou mastitidu, porovnání průměrů pro genomické a konvenční u různých skupin



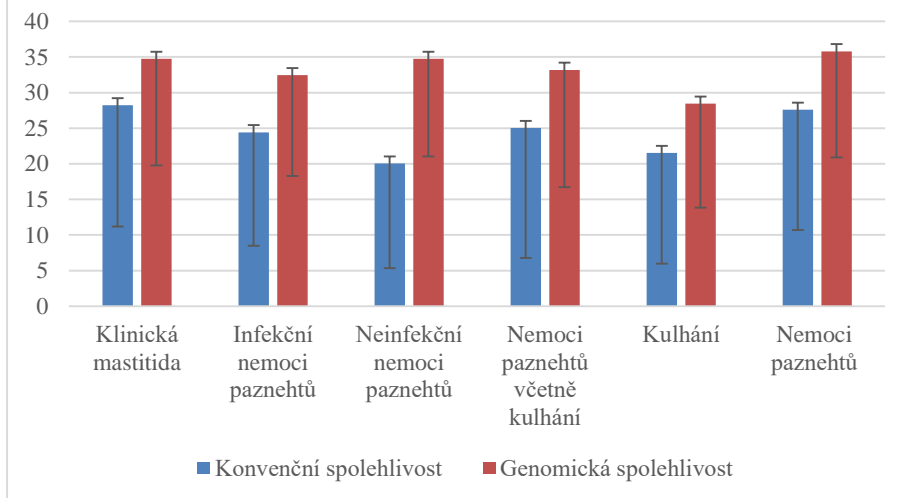
Graf 2: Průměr spolehlivosti plemenných hodnot u genomických býků (5 107)



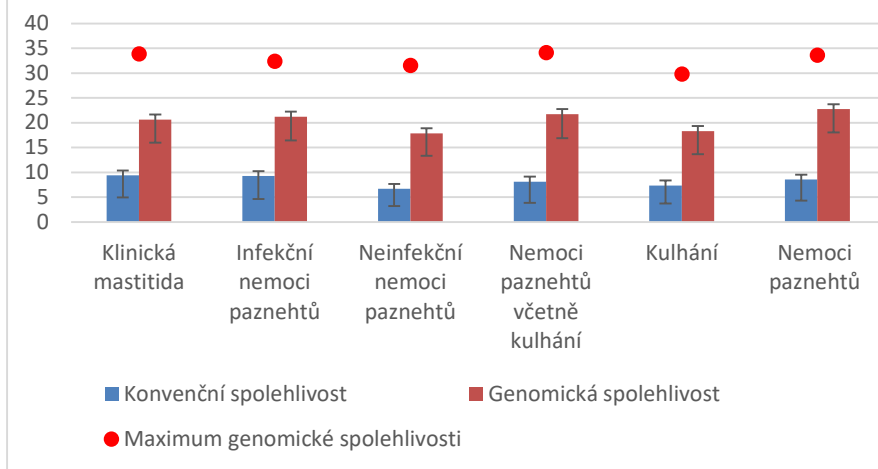
Graf 3: Průměr spolehlivosti plemenných hodnot pro genotypované krávy a jalovice (20 351)



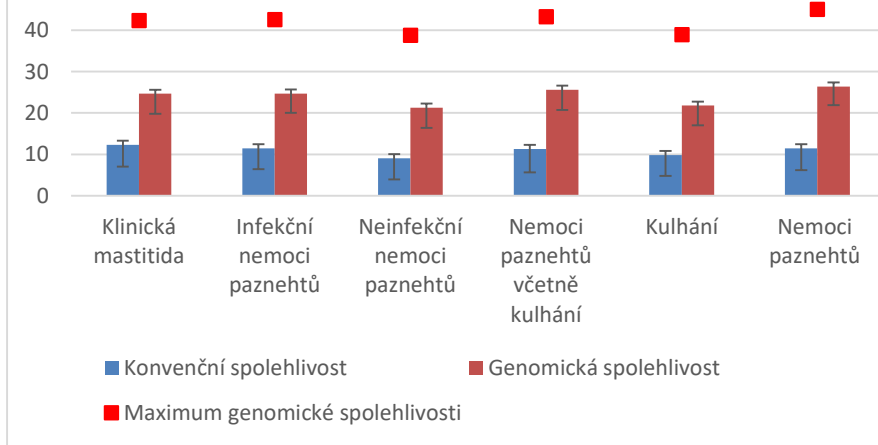
Graf 4: Spolehlivosti plemenných hodnot pro genomické býky s dcerami v datovém souboru (počet viz Tab.1)



Graf 5: Průměr spolehlivosti plemenných hodnot pro mladé genomické býky H100, rozené v letech 2019 a 2020 (303)



Graf 6: Průměr spolehlivosti plemenných hodnot pro genomické jalovice H100, rozené v letech 2019 a 2020 (12 286)



Studie diferenciální genové exprese u ovcí infikovaných bakterií *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Předběžné výsledky

Differential gene expression associated with *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep

Preliminary results

Jitka Kyselová¹, Zuzana Sztankóvá¹, Ladislav Tichý^{1,2}, Jiřina Marková³, Radka Dziedzinská³

¹VÚŽV, Práteleství 815, Uhřetěves, Praha 10

²ČZU, FAPPZ, Kamýcká 129, Suchdol, Praha 6

³VÚVeL, Hudcova 70, Brno

Abstract

Caseous lymphadenitis is a chronic disease caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* (*C.pseudotuberculosis*) which causes great economic waste in the small ruminants industry. In order to obtain detailed information about the pathogenesis and host immune response in naturally infected sheep, the gene expression difference was analyzed by high-throughput sequencing. An average of 26 796 transcripts were detected, representing 63% of all known sheep transcripts. Of the approximately 32 million sequences analyzed, 55-58% of reads were unambiguously mapped to the sheep reference genome. Resistant ewes from the affected herd had a total of 245 differentially expressed genes (DEG) compared to control, healthy females. A total of 195 DEG was evaluated in sick ewes. *Cps* infection has been the cause of increased regulation of 57 biological processes, mainly cell cycle, mitosis, meiosis, segregation of chromosomes and organelles, including control of these processes. Differentially expressed genes were classified into 54 different metabolic and signaling biochemical pathways that were affected by *Cps* infection and CLA disease. A total of 21 involved signaling pathways can be considered as controlling the immune response and maintaining homeostasis of a healthy organism.

Key words: gene ontology; immune system; pseudotuberculosis; RNASeq; signal pathway; transcriptom.

Souhrn

Corynebacterium pseudotuberculosis (*C. pseudotuberculosis*) je bakteriální původce chronického onemocnění kaseózní lymfadenitida, které způsobuje v chovech malých přežvýkavců značné ekonomické ztráty. Cílem této studie bylo získat detailní informace o patogenezi onemocnění a imunitní odpovědi hostitele u nakažených ovcí analýzou globální genové exprese metodou vysokokapacitního sekvenování. Bylo detekováno průměrně 26 796 transkriptů, to představuje 63% ze všech známých transkriptů ovce. Z přibližně 32 mil. analyzovaných sekvencí bylo 55 – 58 % readů jednoznačně namapováno na referenční genom ovce. Odolné bahnice ze zasaženého chovu měly celkem 245 diferenciálně exprimovaných genů (DEG) oproti kontrolním, zdravým samicím.

U nemocných bahnic bylo vyhodnoceno celkem 195 DEG. Nákaza *Cps* byla příčinou zvýšené regulace 57 biologických procesů, především buněčného cyklu, mitózy, meioze, segregace chromozómů a organel, včetně kontroly těchto procesů. Diferenciálně exprimované geny byly klasifikovány do 54 různých metabolických a signálních biochemických drah, které byly ovlivněny nákazou bakterií *Cps* a onemocněním CLA. Celkem 21 zapojených signálních drah je možno považovat za součást řízení imunitní odezvy a udržení homeostáze zdravého organismu.

Klíčová slova: genová ontologie; imunitní systém; pseudotuberkulóza; RNA Seq; signální dráha; transkriptom.

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství ČR, projekt NAZV QK1910082 a institucionální podpora MZE RO0718.

Úvod

Corynebacterium pseudotuberculosis (původně *C. ovis*) *Cps*, je fakultativně anaerobní, gram pozitivní, pleiomorfní bakterie, způsobující vysoce nakažlivá chronická onemocnění, především kaseózní lymfadenitidu (CLA) ovcí a koz (biovar *ovis*) a ulcerózní lymfadenitidu koní (biovar *equi*) (Biberstein et al. 1971; Lan et al. 1998; Miers a Ley 1980). Klinickým obrazem choroby je postupující rozvoj zánětlivých granulomů (pyogranulomů) neboli abscesů v lymfatické tkáni podkoží (superficiální forma) nebo některých vnitřních orgánů (viscerální forma). Typicky se nalézají hlavně v plicích, játrech, slezině, méně často v mléčné žláze, srdci a šourku. Rozvoj vnitřních pyogranulomů je někdy spojen i s chronickým chřadnutím, syndromem „slabých“ ovcí a zvýšenou mortalitou (Pepin a Paton 2010). Nemocná zvířata s abscesy v plicích šíří bakterii kapénkami a při ruptuře povrchových abscesů dochází k masivnímu rozšíření agens a kontaminaci stájového prostředí a pastvin včetně vody, podestýlky a krmiva (Ellis et al. 1987). Možný je i přímý přenos během fyzického kontaktu ve stáji, při přesunu nebo nákupu infikovaných zvířat a povrchovými zraněními např. při střížích vlny (Fontaine a Baird 2008). Důsledky zhoršeného zdravotního stavu zvířat se kumulují ve snížení užitkovosti a plodnosti, přímé ekonomické ztráty jsou způsobené nižší produkcí masa, mléka a vlny a znehodnocením jatečného trupu (Paton et al. 1994; Trost et al. 2010). Míra morbidit ve stádě se pohybuje mezi 15-50% (Kazatelová et al. 2016).

Kaseózní lymfadenitida, také pseudotuberkulóza, byla diagnostikována ve většině zemí s intenzivním chovem ovcí a koz, především v Argentině, Austrálii, Brazílii, Francii a Mexiku, Nizozemí, Novém Zélandě, Norsku, USA, Velké Británii a Saudské Arábii (Pepin a Paton 2010; Souza et al. 2011). Nejvyšší průměrná prevalence ve stádech byla popsána v Austrálii (43%) a v USA (37%) (Axmann 2010). První případy výskytu v ČR byly zjištěny u ovcí v roce 1993, sérologická pozitivita u několika koz (2/148) byla dokumentována o pět let později (Skalka a Literak 1994; Skalka et al. 1998). V aktuální tuzemské studii byly protilátky proti CLA prokázány již ve 35% ze 40 testovaných chovů malých přežvýkavců (14/40). Poměr pozitivně reagujících zvířat na farmách byl v průměru 19% (Dziedzinská a Koudela 2020). Onemocnění je dnes považováno za endemické, vnímavými hostiteli jsou také skot, prasata, jeleni, velbloudi, klokani, lidoopi a další zvířata (Kim 1976; Pan et al. 2019; Saeed a Alhabri 2014). Sporadicky se může nakazit i člověk, především při manipulaci se zvířaty

(Trost et al. 2010). Zoonotický potenciál infekce je zdůrazněn i možnou kontaminací mléka a masa (Bastos a Portela 2012).

C. pseudotuberculosis je klasifikována jako fakultativní intracelulární parazit vybavený dvěma virulentními faktory, které jsou pro patogenezi onemocnění a iniciaci imunitní odpovědi hostitele zásadní: lipidovou vrstvou na vnější straně bakteriální stěny a exotoxinem - specifickou fosfolipázou D (PDL) (Stefanska et al. 2007). PDL je klíčový virulentní faktor (Baird a Fontaine 2007; McNamara et al. 1994) který umožňuje šíření bakterie *Cps* drobnými kapilárami z místa infekce do celého těla (Soares et al. 2013). Exotoxin PLD je imunodominantním antigenem, proti kterému produkuje protilátky IgG 100% infikovaných koz a 70% infikovaných ovcí (Hoelzle et al. 2013). Nepropustná lipidová vrstva bakterie, odolává působení neutrofilů a lysozómů uvnitř makrofágů jako složek vrozeného imunitního mechanismu (Reboucas et al. 2020; Stefanska et al. 2007). Bakterie se replikují uvnitř makrofágů, po jejichž destrukci se uvolní do vnitřního prostředí (Habus et al. 2015; Syame et al. 2018).

Velice brzy po infekci vznikají v přilehlých lymfatických uzlinách ohraničené mikroabscesy a případně další zánětlivá ložiska v různých částech těla. Přibližně v době od dvou do šesti měsíců jsou nekrotizující kožní pyogranulomy klinicky detekovatelné (Baird a Fontaine 2007). Chronická fáze onemocnění je charakteristická postupně rostoucími i značně velkými pyogranulomy s cibulovitou strukturou a typickou kaseózní - sýrovitou konzistencí (Pepin et al. 1993).

Rezistence k infekci způsobené *Corynebacterium ps.* je komplexní proces zahrnující nespecifickou i specifickou odpověď hostitele a synergickou spolupráci buněčné a protilátkové odpovědi (Syame et al. 2018). Předpokládá se, že existuje různá individuální odolnost zvířat proti onemocnění CLA (Kazatelová et al. 2016) a značná vnitrodruhová variabilita genů imunitního systému (IR geny, immune-responsive genes) které zodpovídají za různou úroveň imunitní odpovědi (Pal a Chakravarty 2020). Poznatky o genetických markerech vnímavosti k CLA u malých přežvýkavců jsou velmi omezené a identifikace příčinných genů imunitního systému je zatím nepřímá, a vychází z popsání rozdílů v genové expresi (Fu et al. 2020). Genomická analýza klasickým 50K SNP čipem u koz přinesla první informace o asociaci několika oblastí na chromozómech 5, 7, 8 a 11 s možnou zvýšenou citlivostí k nákaze CLA (Minozzi et al. 2017).

Vakcinace, antibiotická léčba a systémová opatření k eradikaci nakažlivých onemocnění zvířat jsou tradičními metodami léčby a prevence, které mají nicméně své limity. Genomická selekce a technologie vysokokapacitního sekvenování poskytují chovatelům možnost omezit výskyt onemocnění šlechtěním na znaky zdraví a odolnosti (tolerance, rezistence a imunitní odpověď) (Hu et al. 2020). Analýza transkriptomu RNA Seq je robustní metoda funkční genomiky, která se v poslední době používá především pro studium interakce hostitele s intracelulární infekcí (Casey et al. 2015).

Cílem studie bylo posoudit rozdíly v expresi genů u potencionálně odolných a nemocných ovcí metodou vysokokapacitního sekvenování jejich krevního transkriptomu a popsat změny, ke kterým dochází při interakci bakterie *Cps* s genomem hostitele při onemocnění kaseózní lymfadenitidou.

Materiál a metodika

Do studie byly zahrnuty samice plemene východofřízkého a kříženky s plemenem laucane narozené v letech 2016 a 2017. Experimentální skupiny obsahovaly bahnice z chovu zasaženého pseudotuberkulózou, kde neléčená nákaza byla prokázána rok před aktuální studií a mnozí jedinci se nacházeli v chronické fázi CLA. První skupinu představovaly bahnice vystavené nákaze, které neonemocněly, a proto byly pokládány pravděpodobně za odolnější vůči infekci *Cps*. Druhou skupinu tvořily nemocné bahnice s klinickými příznaky onemocnění CLA. Třetí, kontrolní skupina zahrnovala zdravé samice z jiného, infekcí nezasaženého chovu. U všech zvířat byl proveden sérologický test na průkaz protilátek IgG proti antigenu exotoxinu PLD Elitestem CLA (Hyphen Biomed) a u nemocných navíc také kultivace hnisu z abscesů, při které se prokázala přítomnost bakterie *Cps*. Celková RNA (tRNA) pro analýzu a kvantifikaci transkriptomu byla izolována z periferních krevních monocytů a purifikována kitem Tempus™ Spin RNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific). Pro přípravu mRNA knihoven byl použit NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit pro Illumina podle návodu výrobce. Kontrola kvality a koncentrace připravených knihoven proběhla na zařízení Agilent Bioanalyzer 2100 pomocí High sensitivity RNA Kitu a KAPA Library Quantification Kitu pro Illumina. Sekvenování mRNA transkriptů bylo provedeno jako paired-end, s délkou readů 150b metodou RNASeq na automatickém sekvenátoru NGS NextSeq (Illumina, USA).

Základní zpracování hrubých sekvenačních dat proběhlo automaticky v cloudovém rozhraní Basespace Illumina v základním nastavení, software bcl2fastq v2.20.0.422. Následná analýza dat se skládala ze 2 navazujících fází, nejdříve byla provedena predikce nových transkriptů, na kterou navázala samotná analýza diferenciální genové exprese. Pro mapování readů byla použita referenční sekvence GCF_002742125.1_*Oar_rambouillet_v1.0_rna.fna* z databáze NCBI. Data byla rozdělena do tří skupin podle zdravotního statusu zvířat a použita pro diferenciální analýzu exprese programem DESeq2 (v 1.26.0). Zvolený postup zamezuje potencionálnímu zkreslení ve výpočtu způsobenému velikostí knihoven a složení mRNA, ke kterému může dojít například v případě, že pouze malý počet genů je vysoce exprimován za různých podmínek. Pro korekci p hodnot byla použita metoda Benjamini Hochberg. Transkripty, které měly parametr \log_2 fold menší než -1,5 nebo větší než 1,5 a $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významně rozdílně exprimovány. Skupiny více (over) a méně (under) exprimovaných genů byly vyhodnoceny pomocí mezinárodního systému ontologických termínů Gene Ontology (program WebGestalt, Liao et al., 2019) a KEGG Encyklopedie (<https://www.genome.jp/kegg/>). Diferenciálně exprimované geny byly klasifikovány podle jejich zapojení do biologických procesů a buněčné lokalizace. To umožnilo zjištění tzv. obohacených biologických procesů a buněčných struktur u analyzovaných zvířat. Pro funkční klasifikaci genů a zapojených signálních drah a dalších metabolických cest byla aplikována databáze Panther (<http://www.pantherdb.org>).

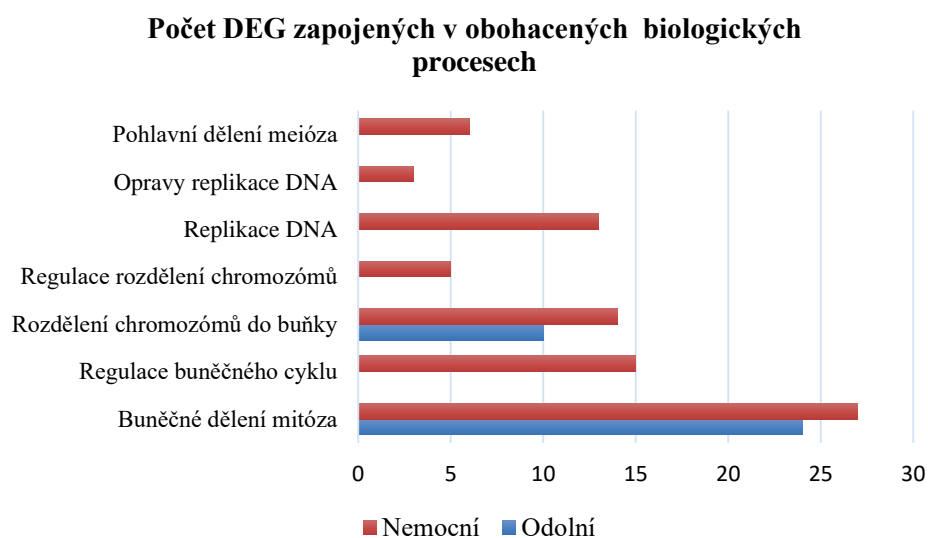
Výsledky a diskuse

Genom ovce obsahuje aktuálně 28 162 genů podle databáze NCBI (USA). Celkový počet dosud známých mRNA transkriptů v referenční databázi *Ovis aries* je přitom 42 377 (některé geny mají více různých transkriptů). V této studii jsme u analyzovaných zvířat detekovali v průměru 26 796 transkriptů, tj. 63% ze všech známých transkriptů. U jednotlivých vzorků se podařilo 55 – 58 % readů

z průměrně 32 mil. analyzovaných sekvencí na jedince jednoznačně namapovat na referenční genom ovce. Odolní jedinci ze zasaženého chovu měli celkem 245 diferenciálně exprimovaných genů (DEG) oproti kontrolním, zdravým jedincům. Z tohoto počtu bylo 160 genů over exprimovaných a 85 under exprimovaných. U nemocných jedinců jsme vyhodnotili celkem 195 DEG; 113 genů bylo over a 82 genů under exprimovaných oproti zdravé kontrole. V transkriptomové studii vzorků sleziny experimentálně bakterií *Cps* nakažených koz bylo identifikováno celkem 448 over regulovaných a 519 under regulovaných genů (Fu et al. 2020). Autoři použili asi 10x větší hloubku pokrytí sekvenování transkriptomu, které bylo navíc provedeno přímo se vzorky zasažené tkáně a v iniciační fázi rozvoje onemocnění. Domníváme se, že vyšší počet DEG může být pravděpodobně způsoben i aktivní účastí sleziny na imunitních procesech ovce.

Ontologická klasifikace DEG a identifikace obohacených biologických procesů a buněčných organel byla založena na aplikaci databáze Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Výsledky potvrdily některé dosavadní informace o patogenezi onemocnění CLA a současně byly dosaženy i nové poznatky o interakci hostitelského genomu ovce s bakterií *Cps*. Porovnání počtu diferenciálně exprimovaných genů v obohacených biologických procesech je znázorněno na grafu 1.

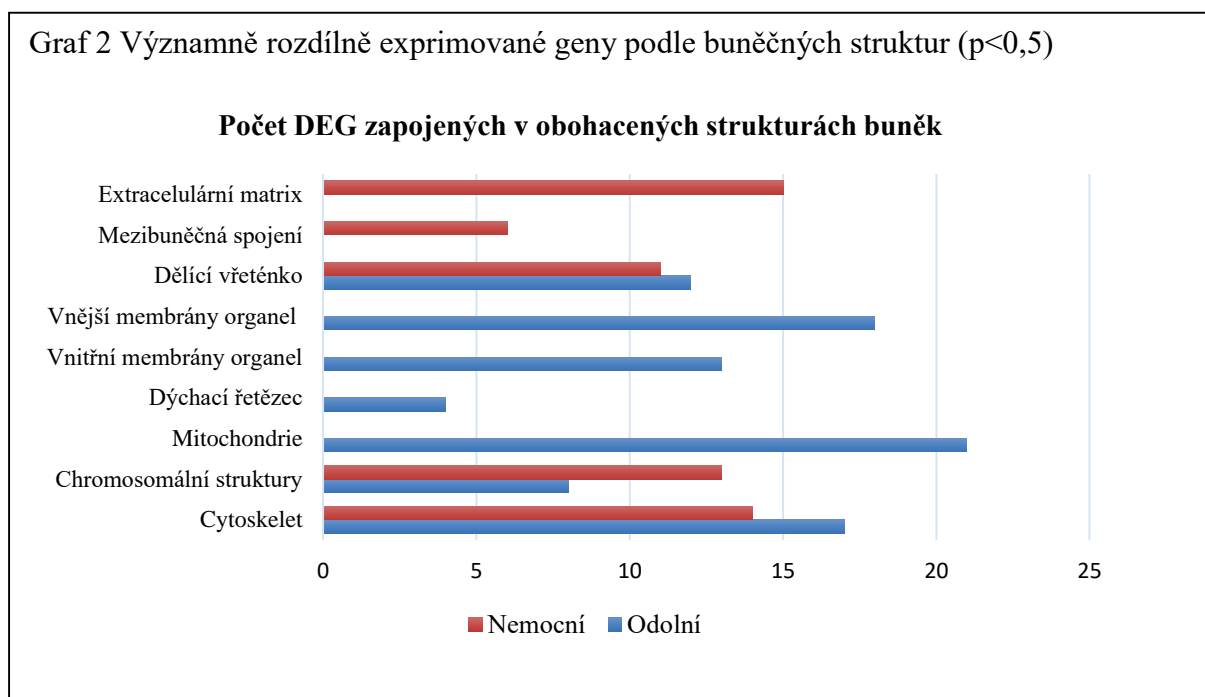
Graf 1 Významně rozdílně exprimované geny podle biologických procesů ($p < 0,5$)



U nemocných jedinců docházelo ke zvýšené regulaci 57 procesů, především buněčného cyklu, mitózy, segregace chromozómů a organel, včetně kontroly těchto procesů. Zvýšená exprese byla zjištěna u genů zapojených v procesu meioze a také u jaderných enzymů, opravujících chybnou syntézu DNA. Je tedy pravděpodobné, že onemocnění může negativně zasahovat do transkripčního aparátu buněk hostitele. Naproti tomu odolnější zvířata statisticky významně více exprimovala geny zapojené pouze v 8 biologických procesech, které souvisí především s mitózou. Jiná situace než u biologických procesů, byla pozorována při vyhodnocení úrovně exprese v buněčných strukturách. Nemocné bahnice exprimovali intenzivněji geny v celkem v 21 strukturách buňky, zatímco u odolnějších zvířat se více exprimované geny vyskytovaly až ve 34 strukturách. Jak je patrné z grafu 2, odolnější bahnice vykazovaly intenzivní expresi genů v mitochondriích a komplexech dýchacího

a energetického metabolismu. Také v biochemicky aktivních membránách organel se geny těchto jedinců transkribovaly ve vyšší míře. Odolnější i nemocné ovce měly značně zvýšenou expresi v cytoskeletu a dělicím vřeténku, což korespondovalo i s výsledky ontologické klasifikace biologických procesů. U nemocných ovcí jsme zjistili vyšší expresi genů chromozomálních struktur, extracelulární hmoty a buněčných spojení. Předpokládáme, že toto zjištění by mohlo odpovídat i pravděpodobným četnějším kontaktům mezi imunologicky aktivními buňkami. O velice intenzivním metabolismu jak u nemocných, tak odolnějších bahníc vystavených infekčnímu tlaku však svědčí fakt, že jsme u nich nenalezli žádné významně obohacené biologické procesy ani buněčné struktury, ve kterých by docházelo k nižší expresi genů, než jakou měli zdraví jedinci z kontrolního chovu.

Graf 2 Významně rozdílně exprimované geny podle buněčných struktur ($p < 0,5$)



Ontologický systém PANTHER umožňuje funkční klasifikaci proteinů a genů podle evoluční příbuznosti druhů. Celkem 245 DEG u odolných a 195 DEG u nemocných bahníc bylo klasifikováno do 54 různých metabolických a signálních biochemických drah, které byly ovlivněny nákazou bakterií *Cps* a onemocněním CLA. Až 21 z nich je součástí řízení imunitní odezvy a udržení homeostázy zdravého organismu včetně signálních drah T lymfocytů, (P00053) TLR receptorů (P00054) a TGF transformujícího růstového faktoru (P00052) viz tabulka 1. Předběžné výsledky analýzy transkriptomu u ovcí nemocných kaseózní lymfadenitidou v této studii potvrdily některé předchozí poznatky o patogenezi onemocnění, známé jak ze modelových studií u myši tak u přirozeně infikovaných ovcí (Hoelzle et al., 2013, Lan et al., 1999; Santos 2016).

Signální dráha chemokinů a cytokinů (00031) jako základních mediátorů buněčné imunity, které indukují přenos, adhezi a shlukování lymfocytů v místě zánětu, byla neaktivnější drahou u nemocných zvířat (31DEG; 23,8% signální dráhy). Nicméně také odolné bahnice významně rozdílně exprimovaly asi 8% genů, které jsou součástí dráhy kontroly zánětlivého procesu. Je tedy pravděpodobné, že i sérologicky negativní bahnice, tj. ve studii považované za odolné, se aktivně bránily naze a infekčnímu tlaku v prostředí, kde byly obklopeny vysoce virulentní bakterií *Cps* a projevy onemocnění CLA. Chemokiny a cytokiny jsou permanentně produkovány buňkami

pyogranulomů ve stabilizační fázi onemocnění a udržují chronický zánět, který je součástí vrozené imunitní odpovědi proti CLA (Bastos et al. 2013; Pepin a Paton 2010). Podněcují enkapsulaci zasažených makrofágů spolu s adherovanými T a B lymfocyty kolagenní vrstvou a omezují šíření bakterie (Pepin et al. 1997). Převážně u odolnějších bahnic byly významně exprimovány dráhy proteinů Wnt (P00057) p53 (P00059) cadherinu (P00012) a angiogeneze (P00005) které vytváří společnou regulační síť se zpětnovazebnými smyčkami. Jsou zapojeny do mnoha biologických procesů, jako je vývoj a adheze buněk, zánět a buněčná proliferace. Deregulace exprese cadherinu a proteinu p53, který kóduje tumor supresorový protein, vede k iniciaci tumorigenize u zvířat i člověka (Munday et al. 2006; Piccolo et al. 2020). Dráha p53 je tvořena sítí genů, které reagují na vnitřní avnější stresové signály, udržují homeostázi a řídí program buněčného stárnutí včetně apoptózy (Farkas et al. 2021; Shi et al. 2015). Transkripce genů iniciovaná p53 produkuje proteiny, které interagují s mnoha dalšími signálními transdukčními drahami, včetně zmíněné dráhy proteinu Wnt. Signální dráha proteinu Wnt, která byla vůbec nejvíce exprimovaná u odolných bahnic (20 % zapojených genů) kontroluje především buněčnou proliferaci a diferenciaci a její deregulace vede k nekontrolovanému rakovinovému bujení (Evangelisti et al. 2020; Munday et al. 2006).

Odolnější i nemocné bahnice exprimovaly významně také geny, které remodelují či nově vytváří síť krevních kapilár v poškozeném či změněném ložisku tkáně v procesu angiogeneze. Angiogeneze je nezbytnou součástí při procesech hojení ran a veškeré traumatizované, či nekrotickou postižené tkáně (např. srdeční infarkt) při zánětlivých procesech a také při vzniku a vývoji nádorů. U odolných bahnic docházelo také k významné expresi specifických membránových receptorů z rodiny integrinů, které udržují vnitřní homeostázi, umožňují vazby mezi buňkami a migraci buněk imunitního systému (signální dráha P00034), DEG představovaly 10% podíl celé integrinové dráhy (Camponeschi et al., 2019).

Tabulka 1 Metabolické a signální dráhy zapojené do řízení imunitního systému – počet diferenciaciálně exprimovaných genů (DEG) celkem a jejich podíl (%) v dané třídě P (PANTHER)

Metabolické a signální dráhy (P)	Odolní		Nemocní CLA	
	DEG	%	DEG	%
Wnt signální dráha (P00057)	25	20,0	12	10,9
Integrin signální dráha (P00034)	20	10,0	8	5,6
Signální dráha zánětu chemokiny, cytokiny (P00031)	16	8,0	31	23,8
Angiogeneze (P00005)	16	8,0	8	6,8
p53 metabolická dráha (P00059)	16	10,3	8	6,8
Cadherin signální dráha (P00012)	13	14,0	8	6,8
Parkinsonova choroba(P00049)	8	8,6	8	6,8
Huntingtonova choroba(P00029)	8	6,3	4	4,0
PDGF signální dráha (P00047)	8	6,3	0	0
Signální dráha apoptózy (P00006)	5	5,4	5	5,1
Ubiquitin proteazóm metabolická dráha (P00060)	5	2,5	4	4,0
Aktivace B buněk (P00010)	4	4,3	8	8,1
CCKR signální mapa (P06959)	4	4,3	8	5,6
Ras metabolická dráha (P04393)	4	2,0	0	0
Odezva na oxidativní stres (P00046)	4	2,0	4	2,8
TGF-beta signální dráha (P00052)	4	2,0	1	0,7

Alzheimer presenilin metabolická cesta (P00004)	1	1,1	5	3,8
Interleukinová signální dráha (P00036)	0	0	4	4,0
Notch signální dráha (P00045)	0	0	4	4,0
Aktivace T buněk (P00053)	0	0	4	4,0
Toll receptor signální dráha (P00054)	0	0	4	4,0

U obou skupin bahnic byla ovlivněna exprese u procesů spojených s apoptózou buněk, programovanou buněčnou smrtí (P00006). U dospělého jedince je obvykle množství buněk v průběhu času relativně neměnné, a právě rovnováhu mezi buněčnou smrtí a buněčným dělením zajišťuje apoptóza. Apoptóza se jako proces uplatňuje například v likvidaci poškozených buněk, buněk napadených patogenem a podílí se tím na normální homeostázi. Je úzce propojena i s dalšími signálními drahami, jako jsou také např. v této studii identifikované obohacené dráhy transmembránových proteinů Notch (P00045) které zprostředkovávají lokální mezibuněčnou komunikaci a dráha pro reakci na oxidativní stres (P00046) (Siebel a Lendahl 2017).

Cytokiny IFN gama a TNF alfa jsou považovány za důležité imunomodulátory, které řídí imunitní odezvu na akutní a chronickou fázi zánětlivé infekce ovcí (Hacariz et al., 2009). Expresi a regulaci těchto cytokinů ovlivňuje signální dráha transformujícího růstového faktoru TGF (P00052) který zde byl exprimován především u odolných bahnic. Naproti tomu pouze nemocné bahnice měly ovlivněnu expresi genů buněčné imunitní odpovědi na infekci: signální dráhy T lymfocytů, (P00053) TLR tool like receptorů (P00054) a interleukinu (P00036). Také u myši bylo prokázáno, že infekce virulentními kmeny *Cps* indukuje T lymfocytární buněčnou odpověď a produkci IFN-gamma a TNF-alfa a dalších interleukinů (Vale et al., 2016). Bahnice s nákazou CLA také více transkribovaly geny pro signální cestu aktivace imunitních B buněk, které se později specializují na tvorbu protilátek proti *Cps*. (P00010). (Bastos a Portela 2012; Bastos et al. 2013).

Závěr

Získané poznatky jsou vůbec prvními známými výsledky analýzy transkriptomu ovcí, které byly nakaženy bakterií *Corynebacterium pseudotuberculosis* a onemocněly kaseózní lymfadenitidou. Studie prokázala, že infekce *Cps* je spojena se změnami exprese genů imunitní odpovědi hostitele, především její buněčné složky. V zapojených biologických procesech a buněčných strukturách nemocných i tzv. rezistentních ovcí vystavených nákaze byla zaznamenána vyšší genová exprese než u zdravých jedinců z kontrolního chovu. Při interakci příčinného patogenního agens s genomem hostitele byly významně potencionovány především signální dráhy vedoucí k udržení vnitřní homeostáze a související se zánětem, stresovou reakcí a buněčnou programovou smrtí.

Měření exprese genů je důležité pro studium různých fyziologických stavů organismu a dovoluje lépe porozumět průběhu onemocnění a vyvinout efektivní vakcinační strategie. Metoda RNASeq dále umožňuje identifikovat genetické markery asociované s nemocí a popsat příčinné varianty a kandidátní geny. Tím se také otevírají nové možnosti ve šlechtění hospodářských zvířat na vyšší přirozenou odolnost.

Literatura

1. Axmann R. Kaseózní lymfadenitida ovcí a koz (CLA, Cheesy Gland, pseudotuberkulóza). *Náš chov* 2015; 75(9):34-36

2. Baird GJ, Fontainet MC. *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. *J Compar Pathol.* 2007 Nov;137(4):179-210.
3. Bastos BL, Loureiro D, Raynal JT, Guedes MT, Vale VLC, Moura-Costa LF, Guimaraes JE, Azevedo V, Portela RW, Meyer, R. Association between haptoglobin and IgM levels and the clinical progression of caseous lymphadenitis in sheep. *Bmc Vet Res.* 2013 Dec; 254:7.
4. Bastos BL, Portela RWD. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: Immunological Responses in Animal Models and Zoonotic Potential. *J Clinic Cell Immunol.* 2012; S4:005.
5. Biberstein EL, Knight HD, Jang S. 2 Biotypes of *Corynebacterium Pseudotuberculosis*. *Vet Rec.* 1971 89(26): 691.
6. Camponeschi A, Gerasimcik N, Wang Y, Fredriksson T, Chen D, Farroni C, Thorarinsdottir K, Sjokvist O, Aranburu A, Cardell S, Carsetti R, Gjertsson I, Martensson IL, Grimsholm O. Dissecting Integrin Expression and Function on Memory B Cells in Mice and Humans in Autoimmunity. *Front Immunol.* 2019 Mar;21(10):534.
7. Casey ME, Meade KG, Nalpas NC, Taraktsoglou M, Browne JA, Killick KE, Park SDE, Gormley E, Hokamp K, Magee DA, MacHugh DE. Analysis of the bovine monocyte-derived macrophage response to *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis infection using RNA-seq. *Front Immunol.* 2015 Feb;6 (4):p23
8. Dziejzinska R, Koudela B. Paratuberkulóza, pseudotuberkulóza a parazitární infekce v chovech malých přežvýkavců. *Zpravodaj SCHOK 2020*; 2:57-59
9. Ellis TM, Sutherland SS, Wilkinson FC, Mercy AR, Paton MW. The Role of *Corynebacterium-Pseudotuberculosis* Lung Lesions in the Transmission of this Bacterium to other Sheep. *Aus Vet J.* 1987 Sep;64(9):261-263.
10. Evangelisti C, Chiarini F, Cappellini A, Paganelli F, Fini M, Santi S, Martelli AM, Neri LM, Evangelisti C. Targeting Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt/mTOR pathways in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *J Cell Physiol.* 2020 Jun;235(6):5431-5428.
11. Farkas M, Hashimoto H, Bi Y, Davuluri RV, Resnick-Silverman L, Manfredi JJ, Debler EW, McMahon SB. Distinct mechanisms control genome recognition by p53 at its target genes linked to different cell fates. *Nat Commun.* 2021 Jan;12(1):484.
12. Fontaine MC, Baird GJ. Caseous lymphadenitis. *Small Ruminant Res.* 2008 Apr;76(1-2):42-48.
13. Fu MZ, Su H, Su ZQ, Yin Z, Jin J, Wang LX, Zhang Q, Xu XG. Transcriptome analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis*-infected spleen of dairy goats. *Microb Pathog.* 2020 Oct;147:104370.
14. Habus J, Matanovic K, Majetic ZS, Rukavina T, Coric A, Milas Z, Staresina V, Martinec BS, Turk N. Comparison of the epizootiological and clinical features of caseous lymphadenitis and Morel's disease in goats. *Vet Arh.* 2015 Mar-Apr;85(2):163-173.
15. Hacariz O, Sayers G, Flynn RJ, Lejeune A, Mulcahy G. IL-10 and TGF-beta1 are associated with variations in fluke burdens following experimental fasciolosis in sheep. *Parasite Immunol.* 2009 Oct;31(10):613-622.
16. Hoelzle LE, Scherrer T, Muntwyler J, Wittenbrink MM, Philipp W, Hoelzle K. Differences in the antigen structures of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and the induced humoral immune response in sheep and goats. *Vet Microbiol.* 2013 Jun;164(3-4):359-365.
17. Hu GY, Do DN, Gray J, Miar Y. Selection for Favorable Health Traits: A Potential Approach to Cope with Diseases in Farm Animals. *Animals* 2020 Sep;10(9):1717.

18. Kazatelová Z, Šimková I, Illek J. Kaseózní lymfadenitida u koz – kazuistika. *Veterinářství* 2016; 67(1):50-53.
19. Kim JCS. *Corynebacterium-Pseudotuberculosis* as a cause of Subacute Interstitial Nephritis in a Chimpanzee. *Vet Med Small Anim Clinic.* 1976; 71(8):1093-1095.
20. Lan DTB, Makino S, Shirahata T, Yamada M, Nakane A. Tumor necrosis factor alpha and gamma interferon are required for the development of protective immunity to secondary *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. *J Vet Medic Sci* 1999 Nov;61(11):1203-1208.
21. Lan DTB, Taniguchi S, Makino S, Shirahata T, Nakane A. Role of endogenous tumor necrosis factor alpha and gamma interferon in resistance to *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in mice. *Microbiol Immunol.* 1998; 42(12):863-870.
22. Liao YX, Wang J, Jaehnig EJ, Shi ZA, Zhang B. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucl Aci Res.* 2019 Jul; 47(W1):199-205.
23. McNamara PJ, Bradley GA, Songer JG. Targeted mutagenesis of the Phospholipase-D gene results in decreased virulence of *Corynebacterium-Pseudotuberculosis*. *Molec Microbiol.* 1994 Jun;12(6):921-930.
24. Miers KC, Ley WB. *Corynebacterium-pseudotuberculosis* infection in the horse - study of 117 clinical cases and consideration of etiopathogenesis. *J Am Vet Med Assoc.* 1980; 177(3):250-253.
25. Minozzi G, Mattiello S, Grosso L, Crepaldi P, Chessa S, Pagnaco G. First insights in the genetics of caseous lymphadenitis in goats. *Ital J Ani Sci.* 2017; 16(1):31-38
26. Munday JS, Brennan MM, Kiupel M. Altered expression of beta-catenin, E-cadherin, cyclooxygenase-2, and p53 protein by ovine intestinal adenocarcinoma cells. *Vet Pathol.* 2006 Sep;43(5):613-621.
27. Pal A, Chakravarty AK. *Genetics and Breeding for Disease Resistance of Livestock.* Elsevier Inc. London 2020. ISBN 978-0-12-816406-8
28. Pan ZH, Liu D, Li MR, Fei RM. cute Death of Kangaroos in a Zoo Due to Highly Pathogenic *Corynebacterium pseudotuberculosis* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *Acta Scien Vet.* 2019; 47(5):461.
29. Paton MW, Rose IR, Hart RA, Sutherland SS, Mercy AR, Ellis TM, Dhaliwal JA. New infection with *Corynebacterium-pseudotuberculosis* reduces wool production. *Aus Vet J.* 1994 Feb;71(2):47-49.
30. Pepin M, Pardon P, Marly J, Lantier F, Arrigo JL. Acquired-immunity after primary caseous-lymphadenitis in sheep. *Am J Vet Res.* 1993 Jun;54(6):873-877
31. Pepin M, Paton M. Caseous lymphadenitis in sheep and goats. In: *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock.* 2010 Chapter 86:1151-1163 Pub: LAVOISIER, Ed: Lefevre PCh, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G. ISBN: 978-2-7430-0872-7.
32. Pepin M, Seow HR, Corner L, Rothel JS, Hodgson ALM Wood PR. Cytokine gene expression in sheep following experimental infection with various strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis* differing in virulence. *Vet Res.* 1997; 28(2):149-163.
33. Piccolo G, Zanghi A, Di Vita M, Bisagni P, Lecchi F, Cavallaro A, Cardi F, Lo Menzo E, Cappellani A. The role of E-cadherin expression in the treatment of western undifferentiated early gastric cancer: Can a biological factor predict lymph node metastasis? *PLoS One* 2020; 15(4):e0232429

34. Reboucas MF, Loureiro D, Barral TD, Seyffert N, Raynal JT, Sousa TJ, Figueiredo HCP, Azevedo V, Meyer R, Portela RW. Cell wall glycolipids from *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains with different virulences differ in terms of composition and immune recognition. *Braz J Microbiol.* 2020 Jul; 25: s42770-020-00343-9.
35. Saeed EMA, Alharbi K. Morel's Disease and Caseous Lymphadenitis: a Literature Review with Special Reference to Saudi Arabia. *J Agricul Vet Sci.* 2014.
36. Santos EMS. Antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis* with promising potential for caseous lymphadenitis vaccine development: a literature review. *Cad Ciênc Agrá.* 2016; 8(2):90-99.
37. Shi H, Fu Q, Li G, Ren Y, Hu S, Ni W, Guo F, Shi M, Meng L, Zhang H, Qiao J, Guo Z, Chen C. Roles of p53 and ASF1A in the Reprogramming of Sheep Kidney Cells to Pluripotent Cells. *Cell Reprog.* 2015; 17(6):441-452
38. Siebel C, Lendhal U. Notch Signaling in Development, Tissue Homeostasis, and Disease. *Physiol Rev.* 2017 Oct;97(4):1235-1294.
39. Skalka B, Literak I. Serodiagnosis of caseous-lymphadenitis (pseudotuberculosis) of sheep. *Vet Med.* 1994; 39(9):533-539
40. Skalka B, Literak I, Michalik I, Skrivanek M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in goats in the Czech Republic. *J Vet Med Ser B.* 1998 Feb;45(1):31-35.
41. Soares SC, Silva A, Trost E, Blom J, Ramos R, Carneiro A, Ali A, santos AR, pinto AC, Diniz C, Barbosa EGV, Dorella FA, Aburjaile F, Rocha FS, Nascimento KKF, Guimaraes LC, Almeida S, Hassan SS, Bakhtiar SM, pereira UP, Abreu VAC, Schneider MPC, Miyoshi A, Tauch A, Azevedo V. The Pan-Genome of the Animal Pathogen *Corynebacterium pseudotuberculosis* Reveals Differences in Genome Plasticity between the Biovar ovis and equi Strains. *PLoS One* 2013 Jan;8(1):e53818.
42. Souza MD, de Carvalho AQ, Garino F, Riet-Correa F. Caseous lymphadenitis in slaughtered hair sheep in northeastern Brazil. *Pesq Vet Brasil.* 2011 Mar;31(3):224-230.
43. Stefanska I, Rzewuska M, Binek M. *Corynebacterium pseudotuberculosis* - pathogenic processes in animals. *Post Mikrobiol.* 2007; 46(2):101-112.
44. Syame SM, Abuelnaga ASM, Ibrahim ES, Hakim AS. Evaluation of specific and non-specific immune response of four vaccines for caseous lymphadenitis in sheep challenged. *Vet World.* 2018 Sep;11(9):1272-1276.
45. Trost E, Ott L, Schneider J, Schroder J, Jaenicke S, Goesmann A, Husemann P, Stoye J, Dorella FA, Rocha FS, de Castro Soares S, D'Afonseca V, Miyoshi A, Ruiz J, Silva A, Azevedo V, Burkovski A, Guiso N, Join-Lambert OF, Kayal S, Tauch A. The complete genome sequence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* FRC41 isolated from a 12-year-old girl with necrotizing lymphadenitis reveals insights into gene-regulatory networks contributing to virulence. *BMC Genomics.* 2010; 11(1): p728
46. Vale VLC, Silva MC, de Souza AP, Trindade SC, de Moura-Costa LF, dos Santos-Lima EKN, Nascimento ILO, Cardoso HSP, Marques EJ, Paule BJA, Nascimento RJM. Humoral and cellular immune responses in mice against secreted and somatic antigens from a *Corynebacterium pseudotuberculosis* attenuated strain: Immune response against a *C. pseudotuberculosis* strain. *BMC Vet Res.* 2016; 12(1):195

Pozvánka na seminář

VÝZKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ VÝROBY, v. v. i.

Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat

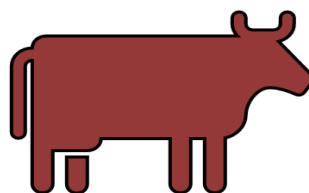
Vás zve na seminář

Aktuální směry ve šlechtění hospodářských zvířat

který se uskuteční

ve čtvrtek 25. března 2021

od 9:30



..VIRTUÁLNĚ ..

Seminář představí široké veřejnosti současné výsledky výzkumu oddělení genetiky a šlechtění VÚŽV s návazností na využití v zemědělské praxi.

ORGANIZACE

Ing. Ludmila Zavadilová, CSc.
Ing. Zdenka Veselá, Ph.D.

zavadilova.ludmila@vuzv.cz
vesela.zdenka@vuzv.cz

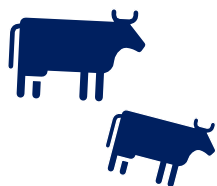
REGISTRACE

Renata Prošková

proskova.renata@vuzv.cz

Seminář se uskuteční na platformě Zoom.
Každý registrovaný účastník obdrží odkaz na připojení.

Program semináře:



Genomická selekce aktuálně

Prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D.



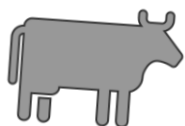
Využití genomické selekce
v rutinním odhadu
plemenných hodnot

Ing. Jiří Šplíchal, Ph.D.
Ing. Jiří Bauer, Ph.D.

Ekonomika šlechtění a program
Ecoweight



Ing. Zuzana Krupová, Ph.D.



Nové znaky ve šlechtění
holštýnského skotu v ČR

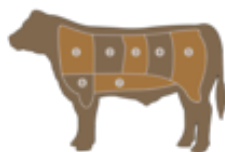
Ing. Ludmila Zavadilová, CSc
Ing. Eva Kašná, Ph.D.



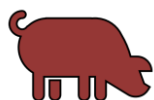
Aplikace metod funkční
genomiky s ohledem na
rezistenci vůči nákazám u
malých přežvýkavců

Dr. Ing. Jitka Kyselová

Novinky ve šlechtění
masného skotu



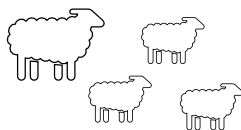
Ing. Alena Svitáková, Ph.D.



Současnost a perspektivy
genetického hodnocení
prasat v ČR

Ing. Eliška Žáková, Ph.D.
Ing. Emil Krupa, Ph.D.

Šlechtění ovcí v ČR - status
praesens



Ing. Michaela Černá

Název sborníku: Aktuální směry ve šlechtění hospodářských zvířat
Vydal: Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha Uhřetěves
Oddělení genetiky a šlechtění hospodářských zvířat
ISBN: 978-80-7403-249-3