

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Habilitační práce

2019

Ing. Lenka Hanusová, Ph.D.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

**Možnosti využití molekulárně
genetických analýz v chovu a šlechtění
skotu**

Habilitační práce

Ing. Lenka Hanusová, Ph.D.

České Budějovice 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem habilitační práci na téma „**Využití molekulárně genetických analýz v chovu a šlechtění skotu**“ zpracovala samostatně a za využití uvedených literárních zdrojů.

Ing. Lenka Hanusová, Ph.D.

V Českých Budějovicích, dne 17. 2. 2019

Abstrakt

Hanusová, L. *Využití molekulárně genetických analýz v chovu a šlechtění skotu*. Habilitační práce, ZF JU v Českých Budějovicích, 2019.

Habilitační práce se zaměřuje na možnosti využití molekulárně genetických analýz v chovu a šlechtění skotu. Pomocí původních vědeckých prací autorka demonstruje jednotlivé oblasti, kterým slouží molekulárně genetické analýzy jako nástroj pro dosažení chovatelských a šlechtitelských cílů. Celkem jsou do práce zahrnuty 3 klíčové oblasti. Jedná se o oblast šlechtění na užitkové vlastnosti, dále o oblast studia dědičných chorob a možného genetického pozadí dalších chorob skotu a poslední oblast představuje studium původních plemen skotu. Výsledky analýz, uvedených v zahrnutých pracích, jsou porovnány s výsledky obdobných studií jiných autorů a okomentovány případné rozdílnosti. Na závěr je zhodnocena role molekulárně genetických analýz ve zmiňovaných oblastech zájmu a současně naznačen možný směr dalšího výzkumu.

Abstract

Hanusová, L. *The utilization of molecular genetic analyses in cattle breeding*. Habilitation thesis, ZF JU v Českých Budějovicích, 2019.

The habilitation thesis is focused on possibilities of utilization of molecular genetic analyses in cattle breeding. Via the original scientific papers, author demonstrated individual fields, which apply molecular genetic analyses as a tool for achievement of production and breeding goals. The thesis includes 3 key fields. These are breeding on productive traits, then study of inherited diseases and possible genetic background of other bovine diseases and the last field represents a study of original cattle breeds. The results of analyses, presented in included papers, are compared to results of similar studies of other authors and potential differences are annotated. In conclusion, the role of molecular genetic analyses in mentioned fields of interest is evaluated and also possible trend of further research is suggested.

Obsah

1. Úvod	6
2. Molekulárně genetické analýzy jako nástroj v chovu a šlechtění skotu	7
3. Studium vlivu genetického založení jedince ve vybraných lokusech na parametry užítkovosti u skotu	9
3.1. Studium lokusů s potenciálním vztahem k mléčné užítkovosti skotu.....	10
3.1.1. Studium markeru <i>DGATI</i> ve vybraných populacích skotu.....	10
3.1.2. Studium lokusů pro růstový hormon (<i>GHI</i>) a receptor růstového hormonu (<i>GHR</i>) 13	
3.1.3. Metabolický přístup ve šlechtění na mléčnou užítkovost	17
3.2. Studium lokusů s potenciálním vztahem k masné užítkovosti skotu	19
3.2.1. Studium lokusu <i>CAPN530</i> ve vztahu ke kvalitativním ukazatelům masa	19
3.2.2. Studium vztahu mezi lokusem <i>MSTN</i> a vybranými ukazateli masné užítkovosti	21
4. Využití výsledků molekulárně-genetických analýz ve studiu vybraných chorob skotu	23
4.1. Studium výskytu deficience faktoru XI v populaci holštýnského skotu v ČR.....	24
4.2. Studium potenciálního genetického založení bovinní spongiformní encefalopatie	26
4.3. Studium možného vlivu v lokusu <i>CGIL4</i> na míru náchylosti k mastitidě	28
5. Využití molekulárně genetických analýz pro studium původních plemen skotu	31
6. Původní práce autorky a kolektivu	34
7. Závěr	101
8. Seznam použité literatury	104

1. Úvod

Chov skotu patří k význačným odvětvím zemědělství. Od jeho domestikace před 10 tisíci lety došlo k výraznému nárůstu světové populace skotu. Podle statistických údajů FAO je ve světě chován přibližně 1 bilion kusů skotu (1.). Přestože se tento údaj zdá ohromující, nárůst lidské populace ve světě klade stále vyšší požadavky na zajištění kvalitní a dostatečné produkce mléka a masa pro výživu lidí.

Mléčná produkce zaznamenala v posledních 3 desetiletích nárůst o 50 procent. V roce 1983 se celosvětově vyprodukovalo 500 milionů tun mléka. V roce 2013 byla produkce mléka již na úrovni 769 milionů tun (2). Trend zvyšování přetrvává i nadále. Za rok 2017 přesáhla produkce mléka hranici 800 milionů tun (3). Podobný trend nárůstu se týká i produkce masa. Za posledních 50 let se produkce masa zvýšila téměř čtyřnásobně, z 84 milionů tun v roce 1965 na 330 milionů tun v roce 2017 (4). Z tohoto množství představovala produkce hovězího masa cca 21,5 %, tj. 70,8 milionů (5.).

Potřebu stále se zvyšující produkce mléka a masa není možné pokrýt výrazným zvýšením stavů skotu. Výrazné zvýšení stavů skotu ve světě limitují podmínky životního prostředí a nutnost zajistit trvale udržitelný systém zemědělské produkce pro další generace. Chov skotu s sebou přináší značné požadavky na zemědělskou půdu, dodávky vody a vysokou energetickou zátěž. S tím ruku v ruce některé negativní environmentální vlivy (Capper et al., 2009).

Jako vhodné řešení se tedy nabízí zvýšení produkce na úrovni jedince. Kromě správného managementu chovu slouží k dosažení tohoto cíle především vhodně zvolený šlechtitelský program. V současné době se šlechtitelské programy zaměřují na využití informací o genetickém založení jedince. Zde se uplatňují molekulárně genetické analýzy. Díky nim jsou šlechtitelé schopni stanovit nejen přesné genotypy ve vybraných lokusech u daného jedince, ale i stanovit možné vztahy mezi genetickou informací jedince a konečnou užitkovostí. Současně se tyto metody využívají i v dalších aspektech chovu skotu, jako je studium výskytu dědičných chorob s následnou možností eliminace postižených jedinců z chovu. Předkládaná práce se zaměřuje na možnosti využití molekulárně genetických analýz ve vybraných oblastech chovu a šlechtění skotu. Tyto možnosti jsou uvedeny ve formě komentáře dříve dosažených výsledků v této oblasti, publikovaných v odborných vědeckých časopisech.

2. Molekulárně genetické analýzy jako nástroj v chovu a šlechtění skotu

Hlavní motiv všech vědeckých prací, které jsou uvedeny a okomentovány v tomto souboru prací, představuje využití molekulární genetiky jako nástroje pro studium genetického založení a vlivu faktorů na vybrané vlastnosti u skotu.

Genetické založení jedince může hrát významnou roli u celé řady vlastností. Škála vlastností, u nichž se genetické založení sleduje, zahrnuje od vlastností kvantitativní stránky produkce (např. množství mléka v kg, denní přírůstek a další) přes vlastnosti kvalitativní stránky produkce (např. obsah jednotlivých složek v mléce, křehkost masa či vaznost) po sekundární vlastnosti, zahrnující dlouhověkost, reprodukční schopnosti či samostatnou kapitolu zdraví a dědičných chorob. U každé z výše uvedených skupin vlastností je role genetického založení jinak významná v závislosti na dědivosti jednotlivých vlastností. Vliv genetického založení jedince je tedy nezbytné zhodnotit u každé sledované vlastnosti a následně střízlivě posoudit možné využití poznatků o genetickém založení pro další chov a šlechtění k dosažení optimálního výsledku.

Molekulární genetiky v současné době tvoří neodmyslitelnou součást celé řady projektů, majících za cíl změnu či zlepšení vlastností hospodářských zvířat. Pro dosažení vytýčených cílů v jednotlivých odvětvích chovu hospodářských zvířat, ať v oblasti zdraví či v oblasti produkce, potažmo sekundárních vlastností, je nezbytné mít alespoň základní poznatky o genetickém pozadí vybraného znaku, o možnostech jeho ovlivnění prostředím či dalšími geny či o potenciální možnosti jeho modifikace v populaci.

V současnosti dochází v oblasti výzkumu genetického založení hospodářských zvířat k zásadním změnám v přístupu a aplikaci molekulárně-genetických metod. Po stanovení kompletního genomu u většiny hospodářských zvířat se pomalu přechází od klasických molekulárně-genetických metod a jejich aplikace pro stanovení genetického založení vybraných vlastností u daného jedince ke stanovování kompletního genetického založení a využití těchto komplexních informací na stanovení tzv. genetické hodnoty jedince. Přes mohutný rozvoj této metody však zůstává celá řada otázek ohledně interpretace konečného výsledku podobné analýzy, a to jak ze stran odborníků, tak ze stran chovatelské veřejnosti.

Existuje však celá řada oblastí, která stojí na využití základních molekulárně genetických metod. Sem lze zahrnout studium genetického založení dědičných chorob či

již zmiňovaných sekundárních vlastností. Jedná se tedy o oblasti, ve kterých se kromě genetického založení jedince velkou měrou na konečném projevu znaku podílí prostředí a především přístup chovatele k jedincům v jeho chovu.

Z hlediska výše uvedeného patří vědecké články, zahrnuté do této práce, k článkům sledujícím genetické pozadí širšího spektra vlastností. Bylo sem zahrnuto nejen studium vlivu genetických markerů na vybrané vlastnosti u skotu, jakož i možné využití genetiky při zachování původních plemen skotu.

Vzhledem k naznačené šíři tématu byla práce rozčleněna do 3 okruhů. První okruh tvoří práce, v nichž byla pozornost věnována využití molekulárně genetických analýz ve stanovení vztahu mezi genetickým založením jedince ve vybraných lokusech a produkčními vlastnostmi skotu. Ve druhém okruhu jsou začleněny práce, které měly za cíl ověřit potenciální vztah mezi genetickým založením jedince a jeho výsledným zdravím. Třetí okruh se zaměřuje na využití genetiky jako nástroje pro studium původních plemen skotu a jejich zachování pro další využití v chovu a šlechtění.

3. Studium vlivu genetického založení jedince ve vybraných lokusech na parametry užitkovosti u skotu

Primárním účelem chovu skotu, jakožto i dalších druhů hospodářských zvířat, je získání dostatečného množství produktů vhodných pro výživu lidí a pro pokrytí jejich dalších životně důležitých potřeb. K nejstarším šlechtitelským cílům v chovu hospodářských zvířat proto patří zvýšení jejich produkčních vlastností. Rozvoj genetiky a jejich metod (zejména molekulárně-genetických) znamenal výrazný průlom ve studiu těchto vlastností.

U skotu se šlechtitelská činnost prvořadě soustředila na užitkové vlastnosti. Například za posledních padesát let lze zaznamenat prudký nárůst mléčné užitkovosti (Butler a Smith; 1989; Washburn *et al.*, 2002; Hill *et al.*, 2016). Jedním z klíčových faktorů, ovlivňujícím užitkovost, je genetické založení jedince. Rozvoj molekulárně genetických metod umožnil důkladné studium vztahu mezi genotypem jedince a výslednou produkcí. Jako velmi významné byly v tomto shledány především lokusy pro kvantitativní znaky (quantitative traits loci, QTL) (Dekkers, 2012). Existuje nepřeberné množství rozličných studií, které se zabývají tímto tématem. Bylo prozkoumáno obrovské množství potenciálních genetických markerů s možným vztahem ke kvantitativní, potažmo i kvalitativní stránce mléčné užitkovosti. Velmi podobný trend lze vysledovat i v případě masné užitkovosti. U celé řady těchto markerů byl vztah následně prokázán a výsledky byly později použity ve šlechtitelském procesu (Ogorevc *et al.*, 2009).

Některé země potom výsledky molekulárně-genetických studií implementovaly do svých šlechtitelských programů nebo do systémů odhadu genetické hodnoty jedince (Raschia *et al.*, 2018). Takzvaná marker asistovaná selekce, fungující na uvedeném principu zařazení výsledků analýzy genetického založení jedince ve vybraných lokusech, je základem šlechtitelského programu dojeného skotu například ve Francii (Boichard *et al.*, 2000), Německu (Bennewitz *et al.*, 2003) a na Novém Zélandu (Spelman, 2002). Weller *et al.* (2017) rozšiřuje řadu zemí s implementovaným genomickým přístupem do šlechtitelského procesu o Spojené státy, Kanadu, Velkou Británii, Irsko, Austrálii, Nizozemí a skandinávské země.

Molekulárně-genetický přístup ke šlechtění na užitkovost se zakládá na využití lokusů, u nichž byl prokázán vztah mezi genotypem v daném lokusu a nějakou užitkovou či jinou vlastností. Existuje celá řada takovýchto lokusů. Řadí se mezi ně i lokusy, které byly

studovány na našem pracovišti. Konkrétně se jedná o lokus pro enzym acylCoA-diacylglycerol acyltransferázu 1 (acylCoA-diacylglycerol acyltransferase 1, *DGATI*), lokus pro růstový hormon (growth hormon, *GHI*), lokus pro receptor růstového hormonu (growth hormon receptor, *GHR*), lokus pro calpain (*CAPNI*), lokus pro myostatin (*MSTN*) a celou řadu dalších.

3.1. Studium lokusů s potenciálním vztahem k mléčné užitkovosti skotu

Genetické založení mléčné užitkovosti a jejich jednotlivých ukazatelů představuje klíčovou oblast v rámci chovu dojeného skotu po celém světě. Na toto téma bylo zaměřeno nespočet studií a výzkumných prací s více či méně přelomovými výsledky. Do předkládaného souboru prací jsou zařazeny práce, jež měly za cíl prostudovat vliv vybraných genetických markerů na ukazatele mléčné užitkovosti u vybraných populací skotu.

3.1.1. Studium markeru *DGATI* ve vybraných populacích skotu

Prvním studovaným markerem je lokus pro acylCoA-diacylglycerol acyltransferázu 1 (acylCoA-diacylglycerol acyltransferase 1, *DGATI*). Uvedený lokus kóduje enzym diacyl O- acetyltransferázu 1, která působí jako katalyzátor konečného kroku syntézy triglyceridů (Sanders *et al.*, 2006). Tento krok je klíčový v metabolismu tuků. Genotyp v *DGATI* může podstatně ovlivňovat nejen obsah tuků v mléce, ale i další parametry mléčné užitkovosti. *DGATI* je tedy velmi podstatným markerem pro mléčnou užitkovost.

Výsledky studie vztahu mezi tímto lokusem a hodnotami odhadu plemenné hodnoty byly publikovány ve dvou pracích. První práce se zaměřila na studium vztahu mezi polymorfismy v lokusu *DGATI* a odhadovanými plemennými hodnotami (estimated breeding value, EBV) pro znaky mléčné užitkovosti v populaci německých holštýnských býků. Práce s názvem „The relation of *GHI*, *GHR* and *DGATI* polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires“ (Hradecká, E., Čítek, J., Panicke, L., Řehout, V., Hanusová, L.) byla publikována v roce 2008 v Czech Journal of Animal Science. Druhá studie, zaměřená na vztah mezi genotypem v *DGATI* a EBV u populace českého strakatého skotu, byla publikována v témže periodiku roce 2014 pod názvem „Effect of *DGATI* polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires“ (Hanusová, L., Míková, A., Večerek, L., Schröffelová, D., Řehout, V., Tothová, L., Vernerová, K., Hosnedlová, B., Čítek, J.).

V rámci studií byla provedena genotypizace u panelu 315 býků německého holštýnského skotu a 191 býků českého strakatého skotu. U obou studovaných populací lze vysledovat především výraznou odlišnost v alelických a genotypových frekvencích. Zatímco u populace býků německého holštýnského skotu byla frekvence alel na úrovni přibližně dvojnásobně vyššího zastoupení alely *A* (frekvence 0,660) oproti alele *K* (0,340), populace býků českého strakatého skotu vykazovala velmi výraznou dominanci alely *A* (frekvence 0,945) nad alelou *K* (frekvence 0,055). Důvodem zřejmě může být skutečnost, že zmiňovaná populace německých býků v sobě obsahovala jedince, kteří měli v rodokmenu jedince plemene jersey. Podobně lze výraznou převahu alely *A* v populaci českého strakatého skotu považovat za výsledek možné nepřímé selekce jako následek preference vysokého obsahu proteinu v mléce u tohoto skotu. Výrazná frekvence alely *A* byla zjištěna i u populace dojnic na první laktaci, která byla sledována v jiném projektu a výsledky byly částečně publikovány v roce 2018 v Mlékařských listech v práci „Frekvence polymorfismů v genech *DGATI*, *FASN*, *LEP* a *SCD1* v dojené populaci skotu v České republice“ (Hanusová, L., Čítek, J., Samková, E., Kala, R., Křížová, Z., Hanuš, O.) Zde se jednalo o populaci 743 dojnic plemen českého strakatého skotu, holštýnského skotu a kříženek. Výsledek genotypizace odhalil v této populaci naprostou převahu alely *A* (frekvence 0,98) nad alelou *K* (frekvence 0,02). Tyto výsledky by mohly odkazovat na vysokou prošlechtěnost studované populace v lokusu *DGATI*. Shodnou alelickou frekvenci u alely *A* (tj. 0,98) popsali Conte *et al.* (2010). Carvajal *et al.* (2016) provedli v rámci své studie genotypizaci v lokusu *DGATI* u 5 odlišných plemen skotu. Alela *A* byla převažující alelou u 4 z nich. Konkrétně se jednalo o plemena frison negro (0,97), montbeliarde (0,96), overo colorado (0,73) a holštýn (frekvence 0,66). Oproti tomu u plemene jersey byla dominující alela *K* (0,72). Frekvence u plemen holštýnský skot, jerseyký skot a montbeliarde odpovídají frekvencím, stanoveným v dřívějších studiích (Spelmann, 2002; Schenink *et al.*, 2008; Berry *et al.*, 2010). Podobné výsledky popsali i Li *et al.* (2013) u populace skotu ve Švédsku či Pannier *et al.* (2010) u býků masných plemen. Je nutné zmínit, že frekvence obou alel se výrazně liší i u jiných prací. Například Weller *et al.* (2003) uváděli frekvenci alely *K* u izraelských býků v hodnotě 0,16 a práce Thaller *et al.* (2003) naopak uváděla frekvenci stejné alely u populace německých holštýnských býků 0,548. Alela *K* je považována za původní alelu a je u ní uvažováno o možném vlivu selekce na výslednou frekvenci (Grisart *et al.*, 2002; Gautier *et al.*, 2007). I ve studiích Oikonomou *et al.* (2008), Szyda a Komisarek (2007) a Kaupe *et al.* (2007)

byla jako četnější stanovena alela *K*. Její frekvence se pohybovala v jednotlivých studiích mezi 0,62 a 0,54. Všechny tři výše uvedené studie byly prováděny na populacích holštýnského skotu.

V rámci studie na býcích českého strakatého skotu byly provedeny i analýzy výskytu jednotlivých genotypů ve vybraných lokusech v rámci promotoru lokusu *DGATI*. U polymorfismu *SA* byla ve studované populaci býků českého strakatého skotu jako nejčastější zjištěna alela *B* (0,478) a jako nejméně četné alely *A* a *E* (shodně 0,005). Tyto výsledky jsou v částečném rozporu s výsledky v práci Sanders *et al.* (2006), u nichž byla alela *E* nejčastější. Shoda zde panuje u alely *A*, která byla v obou studiích stanovena jako ta nejméně četná. I u polymorfismu *KU* se výsledky naší studie lišily od výsledků původní studie Kühn *et al.* (2004). Studie se shodují na nejméně četné alele, kterou byla v obou případech alela *B*. Jako nejčastější alelu jsme zjistili v populaci býků českého strakatého skotu alelu *C*, zatímco v práci Kühn *et al.* (2004) se jednalo o alelu *D*. Důkladnějším porovnáním obou zmiňovaných prací (Kühn *et al.*, 2004; Sanders *et al.*, 2006) jsme následně došli k názoru, že oba polymorfismy jsou vlastně jeden a tentýž, pouze odlišně popsány polymorfismus. Rozdíly ve frekvencích lze vysvětlit odlišným plemenem, z něhož pocházely jednotlivé studované populace.

Po stanovení genotypů v jednotlivých lokusech byl analyzován vztah mezi zjištěnými genotypovými a alelickými frekvencemi a EBV pro znaky mléčné produkce. Konkrétně se jednalo o EBV pro nádoj za období 305 dnů (kg), obsah mléčného tuku (%), množství mléčného tuku (kg), obsah mléčných bílkovin (%) a množství mléčných bílkovin (kg). Posledním zahrnutým parametrem byla relativní plemenná hodnota pro mléčnou užitkovost (RBMV).

Výsledky první uváděné studie na německých holštýnských býcích potvrdily již dříve publikovaný silný vztah mezi polymorfismem *DGATI K232A* a EBV pro mléčnou užitkovost. Přítomnost alely *K* byla spojena s vyšším EBV pro množství mléčného tuku, vyšším EBV pro tučnost a vyšším EBV pro obsah mléčných bílkovin. Oproti tomu výskyt alely *A* měl za následek vyšší EBV pro celkový nádoj a vyšší EBV pro množství mléčných bílkovin. Podobné výsledky byly popsány v celé řadě studií. Namátkou lze jmenovat například práci Grisart *et al.* (2002) či Kühn *et al.* (2004). Zde je uváděn efekt alely *K* na pokles celkového nádoje a množství mléčných bílkovin za současného nárůstu množství mléčného tuku. Tato vlastnost alely *K* naznačuje možnou pozitivní genetickou korelaci

mezi zmíněnými třemi kvantitativními ukazateli mléčné užitkovosti. Ve studované populaci českého strakatého skotu bylo nalezeno několik asociací mezi genotypem v jednotlivých lokusech a EBV. U polymorfismu *K232A* byl zjištěn významný vztah mezi genotypem a EBV pro obsah tuku v mléce. Sice byly nalezeny další pozitivní i negativní asociace mezi genotypem a EBV pro jednotlivé ukazatele mléčné užitkovosti, ale žádná další asociace nebyla statisticky významná. U polymorfismu *KU* (potažmo *SA*) byl shledán významný pozitivní efekt genotypu *CC* na výši celkového nádoje. Současně je však tento genotyp statisticky významně asociován s nižší EBV pro procentický podíl tuku v mléce. Jako poměrně nadějně z hlediska šlechtění se jeví kombinace genotypů *DGATI/KU AACC*. Tato diploidní kombinace vykazovala významnou asociaci k obsahu tuku v mléce (%). Zjištěné výsledky jsou v souladu s celou řadou prací, publikovaných na toto téma.

Vliv genotypů v lokusu *DGATI* na ukazatele mléčné produkce potvrzují i studie Winter *et al.* (2002), Signorelli *et al.* (2009), Berry *et al.* (2010), Mao *et al.* (2012), Kadlecová *et al.* (2014) či Hill *et al.* (2016). Závěrem lze říci, že díky opakovaným studiím u odlišných plemen je možné potvrdit důležitou roli oblasti na chromozomu BTA14, v níž se gen pro *DGATI* vyskytuje, v genetické kontrole mléčné užitkovosti.

3.1.2. Studium lokusů pro růstový hormon (*GHI*) a receptor růstového hormonu (*GHR*)

Dalšími lokusy, u nichž byl v průběhu let na našem pracovišti studován možný vztah mezi genotypy a parametry mléčné užitkovosti (respektive plemennými hodnotami pro ukazatele mléčné užitkovosti), byly lokusy pro růstový hormon (growth hormone, *GHI*) a receptor růstového hormonu (growth hormone 1 receptor, *GHR*).

Růstový hormon (*GHI*) svým působením v organismu jedince přímo i nepřímo ovlivňuje celou řadu vlastností, a to včetně parametrů laktace. Důvodem je především jeho role v rozdělování živin v organismu. Působení *GH* v rámci mléčné produkce bylo potvrzeno i prací Bauman (1999), který popsal výrazný nárůst nádoje v hodnotě 10 – 15 % u krav, kterým byl v krmivu podáván rekombinantní bovinní GH. Aktivita růstového hormonu v organismu je modifikována pomocí změn ve funkčních strukturách receptoru růstového hormonu (*GHR*) (Argetsinger a Carter-Su, 1996).

Výsledky vlastní studie, zaměřené na vliv polymorfismů v lokusech *GHI* a *GHR* na mléčnou užitkovost byly publikovány spolu s lokusem *DGATI* v již uvedené práci „The

relation of *GH1*, *GHR* and *DGAT1* polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires“ (Hradecká, E., Čítek, J., Panicke, L., Řehout, V., Hanusová, L., 2008).

V rámci studované populace 315 plemenných býků německého holštýnského skotu byly zjištěny alelické a genotypové frekvence. U obou lokusů se zjistila výrazná převaha jedné dominantní alely nad druhou. U lokusu *GHI* alela *L* dominovala s frekvencí 0,957 nad alelou *V* (frekvence 0,043). Tyto výsledky jsou v souladu s pracemi Lucy *et al.* (1993), Lee *et al.* (1996), Lechniak *et al.* (2002), Sorensen *et al.* (2002), Balogh *et al.* (2009) či Kiyici *et al.* (2018). Oproti tomu v práci Hadi *et al.* (2015) byl výskyt alel v populaci iránských holštýnských dojnic vyrovnanější. Četnější alela *L* se vyskytovala u 69 % krav v populaci, alela *V* tedy u zbývajících 31 % jedinců. Podobně vyrovnané byly alelické frekvence i v populaci, studované v práci Schlee *et al.* (1994), kde četnější alela *L* měla frekvenci 0,68 a alela *V* frekvenci 0,32. Tato práce však na rozdíl od předchozích byla dělána na populaci býků simentálského plemene. Již uvedená práce Lucy *et al.* (1993) dává do souvislosti frekvence jednotlivých alel a tělesný rámec plemene. Dle výsledků uváděné práce převažuje alela *L* u dojených plemen s větším tělesným rámcem (například holštýnský či hnědý švýcarský skot), zatímco alela *V* je převažující u dojených plemen s menším tělesným rámcem (například jerseyký či ayshirský skot). Tuto hypotézu by mohly částečně potvrdit i výsledky studie na našem pracovišti.

Frekvence jednotlivých genotypů v lokusu *GHI* v rámci populace vykazovaly podobný trend. S frekvencí 0,914 výrazně převládal genotyp *LL*. Genotyp *VV* nebyl nalezen ani u 1 jedince. Tyto výsledky zcela korespondují s výsledky prací Balogh *et al.* (2009), Hadi *et al.* (2015) a Kiyici *et al.* (2018). Vyrovnanější genotypové frekvence byly zaznamenány v práci Lee *et al.* (1996), kde byly frekvence genotypu *LL* 0,733 a genotypu *LV* 0,26. V jimi studované populaci 150 krav holštýnského plemene se vyskytl 1 genotyp *VV*, což odpovídá genotypové frekvenci 0,007. Vyšší výskyt genotypu *VV* zaznamenali Dario *et al.* (2008). Ti studovali populaci krav plemene Jersey. V jejich populaci byl na rozdíl od naší nejčetnějším genotypem genotyp *LV* (frekvence 0,61), následován genotypem *LL* (0,22) a genotypem *VV* (0,17). S ohledem na výsledky naší práce i výsledky podobných, výše citovaných studií lze předpokládat, že výrazný pokles výskytu genotypu *VV* a současně i alely *V* je možné dát do souvislosti se selekcí v rámci šlechtění holštýnského skotu na vyšší mléčnou užitkovost. Jak zcela správně zmiňuje

Kiyici *et al.* (2018), naštěstí nedošlo doposud k úplnému vytěsnění alely V z populací díky její přítomnosti v genotypu LV.

Podobně nevyrovnané alelické frekvence ve studované populaci vykazoval i lokus *GHR*. Zde dominantnější alela *A* vykazovala frekvenci 0,951 oproti frekvenci alely *G* 0,049. Podobné alelické frekvence je možné nalézt v práci Viitala *et al.* (2006) či Oikonomou *et al.* (2008). Většina prací však operuje s vyšším zastoupením alely *G* v jednotlivých studovaných populacích. Její frekvence se pohybuje od 0,26 (Shirasuna *et al.*, 2011) přes 0,51 (Di Stasio *et al.*, 2005) po 0,63 (Aggrey *et al.*, 1999). Poslední uvedená práce se zaměřila na studium 2 populací býků holštýnského skotu, rozdělených dle data narození. V první populaci byli zařazeni býci s datem narození v letech 1950 až 1970. V této populaci byla alela *G* stanovena jako dominující s frekvencí 0,63. U populace býků narozených v letech 1980 až 1990 byl zjištěn značný pokles frekvence alely *G* na úroveň 0,42. Tento pokles dávají Aggrey *et al.* (1999) do souvislosti s nepřímou selekcí na užitkovost. Podobný výrazný rozdíl v alelických frekvencích pak popsali i Hax *et al.* (2017), a to mezi populací krav chovaných semiextenzivním způsobem chovu a populací krav v intenzivním chovu. Zde byly frekvence alely *G* 0,6 (semiextenzivní chov) a 0,4 (intenzivní chov). Autoři vyslovili domněnku, že daný rozdíl může být způsobem adaptací zvířat na daný způsob chovu. Dle mého názoru by vhodnější hypotézou byla úvaha o možné nepřímé selekci na užitkové vlastnosti.

Z hlediska genotypových frekvencí byl v naší studované populaci býků německého holštýnského skotu jako nejčetnější v lokusu *GHR* stanoven genotyp *AA* s frekvencí 0,914, druhý nejčetnější genotyp *AG* pak s frekvencí 0,073. Nejméně četný byl genotyp *GG* s frekvencí 0,013. Podobné výsledky lze nalézt i v práci Shirasuna *et al.* (2011), kde jsou však genotypové frekvence mírně posunuty ve prospěch genotypů *AG* a *GG*. Nejčetnější genotyp *AA* se ve studované populaci vysokoprodukčních krav vyskytoval s frekvencí 0,55. Genotyp *AG* pak měl frekvenci 0,36 a nejméně četný genotyp *GG* 0,083. V další práci lze nalézt odlišné výsledky. V práci Hax *et al.* (2017) byl u populace s intenzivním způsobem chovu nejčetnějším též genotyp *AA*, ovšem s výrazně nižší frekvencí (pouze 0,46) oproti naší populaci. Oproti tomu, populace se semiextenzivním chovu studovaná v téže práci vykazovala výrazně jiné frekvence genotypů. Jako nejčetnější zde byl zjištěn genotyp *AG* (0,567), následovaný genotypem *GG* (0,286) a *AA* (0,147). Podobné frekvence potvrdila i práce Shirasuna *et al.* (2011). Genotyp *AG* stanovili jako nejčetnější (frekvence 0,55) rovněž Schneider *et al.* (2013) u populace krav

holštýnského plemene. Jako druhý nejčetnější ovšem stanovili genotyp *GG* (0,36), což se vymyká ostatním citovaným pracím. Jeho frekvence je dokonce několikanásobně vyšší než u námi publikovaných výsledků. Je třeba zmínit, že v některých pracích (například Hax *et al.*, 2017) nebyly genotypové frekvence v Hardy-Weinbergově rovnováze. Tento problém se vyskytl i v námi publikované práci Hradecká *et al.* (2008). Zde bylo zastoupení genotypů, potažmo alel, v populaci německých holštýnských býků velmi nerovnoměrné. To se ukázalo jako problematické při dalším statistickém vyhodnocení.

U obou lokusů, spojených s produkcí a regulací produkce růstového hormonu, byly ověřovány možné vztahy mezi genotypy a EBV pro mléčnou produkci u studované populace býků německého holštýnského skotu. V rámci naší studie nebyl, kromě jediné výjimky, nalezen žádný statisticky významný vztah mezi genotypem v daných lokusech a odhadovanými plemennými hodnotami (EBV) pro parametry mléčné produkce. Stejně výsledky, to jest žádný vliv genotypu v lokusu *GH1* či *GHR* na parametry mléčné užitkovosti, popsali i Schlee *et al.* (1994), Lechniak *et al.* (2002), Molee *et al.* (2015). Oproti tomu stojí celá řada prací, v nichž jsou popsány statisticky významné vztahy mezi genotypy v lokusech *GH* či *GHR* a parametry mléčné užitkovosti. Jedná se například o práci Sun *et al.* (2009), kteří potvrdili vztah mezi vyšším nádojem a výskytem alely *A* v lokusu pro *GHR*. Heidari *et al.* (2012) potom popsali vliv alely *L* v lokusu *GH* na výši celkového nádoje, kdy nejvyššího nádoje dosahovali jedinci s homozygotním genotypem *LL*. To potvrdili ve své práci i Akyüz *et al.* (2015). Oproti tomu Balogh *et al.* (2009) a Kiyici *et al.* (2018) však popsali nejvyšší nádoj u heterozygotních jedinců *LV*.

V naší studii byl potvrzen jediný statisticky významný vztah mezi genotypem ve vybraných lokusech a EBV pro vlastnosti mléčné užitkovosti. Jednalo se o vztah mezi genotypem v lokusu *GHR* a EBV pro množství mléčného tuku. Tato EBV byla výrazně nižší v případě homozygotního genotypu *GG* oproti genotypům *AG* a *AA*. Aggrey *et al.* (1999) rovněž ve své práci popsali statisticky významný vztah mezi stejným EBV a genotypem v lokusu *GHR*. V jimi studované populaci býků holštýnského plemene vykazovali výrazně vyšší hodnotu EBV pro množství tuku jedinci s genotypem *AA* oproti jedincům, nesoucím genotypy *AG* a *GG*. Smaragdov (2012) též zjistil vliv genotypu *AA* na vyšší procentický obsah tuku a vyšší nádoj a současně vliv na nižší podíl bílkovin.

Porovnáme-li tedy jednotlivé zjištěné výsledky v rámci naší a dalších citovaných studií, jeví se využití daných polymorfismů v lokusu pro růstový hormon a lokusu pro

receptor růstového hormonu jako potenciálních markerů pro šlechtění na parametry mléčné užitkovosti jako značně nejisté. Problematické je především zjištění, že v odlišných populacích lze nalézt jiné statisticky významné vztahy mezi genotypy a odhady plemenných hodnot, viz výše citované práce.

3.1.3. Metabolický přístup ve šlechtění na mléčnou užitkovost

Zvýšení mléčné produkce se postupem času začalo odrážet na zhoršeném zdravotním stavu dojnic. Cílem šlechtění se tedy stalo získat jedince s vysokou produktivitou a současně s dobrým zdravotním stavem. Postupem času se jako slibný nástroj ke splnění vytýčeného cíle začal jevit metabolický přístup, jak byl popsán v práci Fontanesi *et al.* (2016). Tento nástroj byl použit i v případě dvou na sebe navazujících prací, kterými se zabývalo naše pracoviště. První práce s názvem „Analysis of glucose metabolism capability and breeding value of Holstein cattle“ (Hanusová, L., Brzáková, M., Míková, A., Večerek, L., Hosnedlová, B., Tothová, L., Čítek, J., 2016) si kladla za cíl odhadnout možné asociace mezi schopností metabolizovat glukózu (měřeno glukozovým tolerančním testem, GTT) a odhadovanými plemennými hodnotami (EBV) pro jednotlivé ukazatele mléčné užitkovosti u býků německého holštýnského skotu. Celá práce vycházela z předpokladu, že schopnost metabolizovat glukózu hraje významnou roli v energetickém metabolismu jedince a v konečném důsledku by tedy mohla mít významný vliv na mléčnou užitkovost (Panicke *et al.*, 2001; Fiedorowicz *et al.*, 2008).

Tato práce byla následně rozšířena o studium vztahů mezi výše uvedenými vlastnostmi (tj. mezi schopností metabolizovat glukózu a odhady plemenných hodnot) a polymorfismy ve vybraných lokusech. Výsledky této širší studie byly potom publikovány v roce 2018 v práci „Associations between Gene Polymorphisms, Breeding Values, and Glucose Tolerance Test Parameters in German Holstein Sires“ (Čítek, J., Hanusová, L., Brzáková, M., Večerek, L., Panicke, L., Lískovcová, L.)

Základem studií bylo provedení glukózového tolerančního testu u celkem 542 býků německého holštýnského skotu. Jednalo se o býky s ročníky narození 1993 a 1998 až 2003. Výsledky testu byly vyhodnocovány vždy v rámci skupiny býků se stejným ročníkem narození. Získané výsledky byly následně spolu s EBV statisticky analyzovány pomocí lineárního modelu a MIXED procedury. Současně byly pomocí Pearsonových korelací vypočteny fenotypové korelace mezi GTT a EBV pro mléčnou užitkovost, a to pro každou skupinu býků samostatně. U skupiny býků, narozených v roce 1993, byla

většina korelací nevýznamných ($P > 0,05$). Významné ($P < 0,01$) negativní korelace byly zjištěny pouze mezi GTT a EBV pro celkový nádoj a rovněž mezi GTT a EBV pro množství mléčných bílkovin. U skupin býků s ročníky narození 1998 – 2003 byly výsledkem stejných korelačních analýz nevýznamné a velmi nízké koeficienty. I zde se našlo několik výjimek. Jednalo se o korelace mezi GTT a množstvím mléčných bílkovin (ročník 2000), procentickým obsahem bílkovin (ročník 2003), procentickým obsahem tuku (ročník 2002) a celkovým nádojem (rovněž ročník 2002). Výsledky korelačních analýz podporují závěry práce Panicke *et al.* (2001), jenž uvádí významnou závislost síly korelace mezi GTT a EBV na věku jedince, v němž se test provádí.

V navazující studii byl ověřen možný vliv polymorfismů v lokusech *DGATI*, *GHI*, *GHR*, *FASN*, *ORLI* a *ABCG2* na výsledky glukózového tolerančního testu a na hodnoty odhadovaných plemenných hodnot v téže populaci plemenných býků německého holštýnského skotu. Po provedení genotypizací byl z dalších analýz vyloučen lokus *ABCG2*, který byl monomorfní a výskytem výhradně genotypu AA. To indikuje, že alela A je v populaci fixována a lokus je pro další šlechtitelský proces nepoužitelný. Co se týče možného vlivu genotypů v jednotlivých genech na výsledky GTT (přesněji na rozdíly ve výsledcích provedeného GTT), byly rozdíly v GTT mezi jednotlivými genotypy v genech pouze minimální a nevýznamné. Pokud byly polymorfní geny zahrnuty do analýzy společně, byl jejich společný vliv na rozdíly v GTT rovněž nevýznamný.

Pro posouzení možnosti využití GTT jako potencionálního nástroje ve šlechtění skotu, je nutné zvážit i jeho ovlivnění genetickými a negenetickými faktory. Panicke *et al.* (2001) odhadli dědivost GTT na nízkou s rozpětím 0,12-0,20. Existuje však i studie, jenž je s tímto zjištěním v rozporu. Jedná se o práci Pieper *et al.* (2016). Ti pomocí opakovaných analýz stanovili dědivost na úrovni 0,43 pro ekvivalent glukózového rozmezí a na úrovni 0,40 pro poločas rozpadu glukózy. Vezmeme-li v úvahu vyšší zjištěné hodnoty dědivosti, mohl by GTT sloužit jako vhodný nástroj v metabolickém přístupu ke šlechtění, ale pouze za předpokladu, že budou nalezeny vhodné polymorfismy, které tuto roli GTT podpoří. Námi studované polymorfismy nemají, jak již bylo uvedeno, žádný vliv na vlastnosti GTT a jsou tedy pro daný účel zcela nevhodné.

3.2. Studium lokusů s potenciálním vztahem k masné užitkovosti skotu

Masná užitkovost je druhou významnou produkční stránkou chovu skotu. Cílem šlechtitelů již není pouze šlechtění na kvantitativní stránku produkce masa, ale postupně dochází k přechodu na šlechtění na kvalitativní ukazatele. Tento trend je důsledkem změny spotřebitelského chování. Existuje celá řada prací, zaměřených na stanovení vlivů jednotlivých polymorfismů na vybrané kvalitativní parametry masné užitkovosti. I na našem pracovišti vzniklo několik prací na toto téma, avšak není to primární oblastí našeho výzkumného zájmu. Proto patří práce zařazené do tohoto souboru k pracím pouze recenzovaným. Nejedná se tedy o práce s impakt faktorem. Přesto je nutné zmínit i tuto stránku šlechtění.

3.2.1. Studium lokusu *CAPN530* ve vztahu ke kvalitativním ukazatelům masa

Jedním z lokusů, studovaných na našem pracovišti v souvislosti s kvalitou hovězího masa, byl lokus pro calpain. Konkrétně se jednalo o polymorfismus označovaný jako *CAPN530*. Jedná se jednonukleotidový polymorfismus na pozici 4558. nukleotidu s výslednou záměnou aminokyseliny izoleucin za valin na pozici 530. aminokyseliny. U tohoto polymorfismu je v celé řadě prací uvažováno o možném vztahu ke křehkosti masa, potažmo síle stříhu jako veličině umožňující kvantifikaci křehkosti. Důvodem je zapojení calpainového systému do procesu *post mortem* proteolýzy funkčně relevantních strukturních proteinů, jako jsou myofibrilární proteiny (Bhat *et al.*, 2018).

První prací, která byla na dané téma naším pracovištěm publikována, byla v roce 2010 práce „Vybrané faktory ve vztahu ke kvalitě hovězího masa“ (Voříšková, J., Dufek, A., Hanusová, L., Šubrt, J., Homola, M.). Tato studie byla následně rozšířena a konečné výsledky byly publikovány v práci „Association study of bovine candidate loci to meat quality“ (Tothová, L., Čítek, J., Večerek, L., Hanusová, L., Voříšková, J., Beneš, K.; 2016). Celkem bylo v obou studiích provedena genotypizace 258 býků plemene českého strakatého skotu v lokusu *CAPN530* a současně bylo provedeno měření síly stříhu u vzorků *musculus longissimus lumborum et thoracis*, pocházejícího ze stejných býků po porážce. Síla stříhu byla měřena 1., 14. a 21. den po porážce u syrového a grilovaného masa. Následně byl statisticky vyhodnocen možný vliv genotypu v markeru *CAPN530* na sílu stříhu.

Ve studované populaci byla zjištěna výrazná převaha alely *G* (frekvence 0,622) nad alelou *A* (0,378). Rovněž v rámci genotypů byla zřetelná převaha jednoho z nich. Konkrétně se jednalo o heterozygotní genotyp *AG* s frekvencí 0,523. Druhým nejčastějším byl potom genotyp *GG* (0,361) a nejméně četný genotyp *AA* se vyskytoval s frekvencí 0,116. Výrazná převaha alely *G* nad alelou *A* ve studované populaci je plně v souladu s pracemi Barendse *et al.* (2002), Page *et al.* (2004), White *et al.* (2005), Allais *et al.* (2011), Lee *et al.* (2014) či Carvalho *et al.* (2017). Casas *et al.* (2006) dokonce uvádí, že alela *G* je v jimi studované populaci bráhmanského skotu fixována a alela *A* se nevyskytuje.

Konečné statistické vyhodnocení vztahu polymorfismu v markeru *CAPN530* na sílu stříhu u syrového a grilovaného masa 1., 14. a 21. den po porážce prokázalo statisticky významný vliv mezi jednotlivými genotypy a silou stříhu u syrového a grilovaného masa 1. den po porážce a současně stejný vliv mezi genotypy a silou stříhu u grilovaného masa 14. a 21 den po porážce. Nejvyšší hodnota síly stříhu byla ve všech případech naměřena u vzorků, pocházejících z jedinců s homozygotním genotypem *AA*. Naše výsledky potvrdili i Page *et al.* (2002). Ti uvedli, že nejnižší sílu stříhu našli u jedinců s homozygotním genotypem *GG*, jejichž maso bylo tedy hodnoceno jako nejkřehčí.

V případě alel nebyl u námi studované populace býků českého strakatého skotu prokázán žádný statisticky významný vztah mezi alelami a silou stříhu. Tyto výsledky jsou v rozporu s výsledky Page *et al.* (2004), White *et al.* (2005) či Allais *et al.* (2011). Ti ve svých pracích našli významné vztahy mezi alelami a silami stříhu u jimi studovaných populací skotu. Page *et al.* (2004) a Allais *et al.* (2011) popsali jako alelu s nižší silou stříhu alelu *G*, oproti tomu White *et al.* (2005) popisuje nižší sílu stříhu u alely *A*. V této souvislosti je vhodné zmínit i práci Lee *et al.* (2014). Ti provedli podobnou studii na populaci býků plemene Hanwoo. Zjistili, že SNP *CAPN530* má sice vliv na křehkost a šťavnatost masa u tohoto plemene, ale nenalezli žádný vliv na sílu stříhu.

Jak je z výše uvedených výsledků a prací jasné, studovaný marker *CAPN530* patří k těm, jejichž využití v marker asistované selekci a šlechtitelském procesu, majícím za cíl získání jedinců s vhodnou kvalitou masa a spotřebitelsky hodnotnými vlastnostmi, je více než vhodné. Přestože v podstatě všechny práce potvrzují vliv tohoto SNP na kvalitu masa, je nutné brát v potaz i další faktory, které mohou fungování výsledného genového produktu ovlivnit, včetně vlivu ostatních členů calpainového systému.

3.2.2. Studium vztahu mezi lokusem *MSTN* a vybranými ukazateli masné užitkovosti

V rámci výzkumu byl na našem pracovišti studován i možný vliv mezi lokusem pro myostatin (*MSTN*) a vybranými vlastnosti masné užitkovosti. Známa mutace v tomto lokusu způsobuje hyperplasii/hypertrofii svalových vláken. Následkem je vznik takzvaného dvojího osvalení. To je charakteristické nárůstem svalové hmoty ve vybraných partiích až o 20 % (Grobet *et al.*, 1997). Kromě vlivu na kvantitativní stránku produkce se u tohoto lokusu uvažuje i o jeho vlivu na vybrané kvalitativní parametry.

V našem případě jsme se zaměřili na vztah mezi genotypem a silou stříhu a v druhém případě na vztah mezi genotypem a schopností vázat vodu. Výsledky jsme publikovali ve formě krátkého sdělení, v již citované práci „Association study of bovine candidate loci to meat quality“ (Tothová, L., Čítek, J., Večerek, L., Hanusová, L., Voříšková, J., Beneš, K., 2016). Studie proběhla na vzorku 228 býků českého strakatého skotu. Jak již je uvedeno výše, od všech býků byl po porážce odebrán vzorek musculus longissimus lumborum et thoracis, u něhož byla stanovena síla stříhu a schopnost vázat vodu. Tato měření proběhla vždy 1., 14. a 21. den po porážce. U všech jedinců byla rovněž provedena genotypizace v uvedeném lokusu.

Zastoupení jednotlivých genotypů v populaci bylo zcela nerovnoměrné. V populaci velmi výrazně převažoval genotyp *AA*, který se vyskytoval s frekvencí 0,729. Druhý nejčastější genotyp *AB* měl frekvenci výskytu 0,258. Genotyp *BB* jsme zjistili pouze u 3 jedinců (frekvence 0,013). Z těchto výsledků vyplývá naprostá dominance alely *A* (0,858) nad alelou *B* (0,142). Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky studie Zhang *et al.* (2007), prováděné na 3 plemenech čínského skotu. Uvedení autoři u těchto plemen dokonce zjistili ještě výraznější převahu genotypu *AA*, a to v rozmezí 0,910 až 0,946.

Z hlediska možného vztahu mezi genotypem a vybranými vlastnostmi jsme našli statisticky významný vztah pouze mezi genotypem v lokusu *MSTN* a schopností vázat přidanou vodu. Tato asociace byla potvrzena jak u vzorků, měřených 1. den po porážce, tak u vzorků 14. dní po porážce. Byl zde zjištěn pozitivní vliv alely *A*. Při posuzování uvedených skutečností je však potřeba brát do úvahy fakt, že populace vykazovala velmi nerovnovážné zastoupené genotypů a alel. Proto není možné z námi získaných výsledků vyvozovat obecnější závěry a porovnávat je s výsledky jiných, podobně zaměřených

studií. Je nutné poukázat i na skutečnost, že literatura věnující se námi studovanému problému, není velmi obsáhlá.

Obecně lze říci, že je poměrně dobře prostudován možný vliv lokusu *MSTN* na kvantitativní stránku masné produkce a v této oblasti je i vhodně zakomponován do šlechtitelského procesu. To se týká především využití mutace, podmiňující vznik dvojitého osvalení. Využití této mutace v chovu je typickým příkladem začlenění výsledků molekulárně genetických analýz do šlechtění a následně do chovu skotu. Využití polymorfismů v lokusu *MSTN* ve šlechtění na kvalitativní parametry masné užitkovosti však doposud uniká většímu zájmu šlechtitelů.

4. Využití výsledků molekulárně-genetických analýz ve studiu vybraných chorob skotu

Choroby představují v chovu skotu velký problém. Nejde jen o jejich působení na kondici a celkový stav jedince, ale jejich výskyt může ovlivnit celou řadu faktorů, spojených s užitkovostí, ať masnou či mléčnou. Choroby mohou působit nejen na kvantitativní stránku, ale ovlivňují rozhodujícím způsobem i kvalitativní parametry konečného produktu – potraviny. Velmi problematický pak může být i možný přenos choroby ze zvířete na člověka. V neposlední řadě je nutné zmínit i ekonomickou stránku, kdy kromě nižších zisků hrají podstatnou roli i zvýšené náklady na veterinární péči. Z výše uvedených důvodů vyplývá nezbytnost znalostí o možnostech ovlivnění výskytu jednotlivých chorob, a to i na genetické úrovni.

V současné době existují již i webové databáze, shromažďující informace o možném genetickém založení celé řady chorob u rozdílných druhů hospodářských i dalších domácích zvířat (6). Záznamy o výskytu nemocí proto fungují na národních úrovních v celé řadě zemí, namátkou lze jmenovat Norsko (Houe *et al.*, 2011; Epetvedt *et al.*, 2012). Skot patří z hlediska množství informací o genetickém pozadí známých chorob k nejprostudovanějším druhům. Jsou popsány i meziplemenné odlišnosti z hlediska výskytu jednotlivých chorob. Některá plemena jsou k výskytu určitých chorob výrazně náchylnější než jiná. Tento trend lze vysledovat především u prošlechtěnějších plemen skotu, jako je holštýnský skot (Curone *et al.*, 2018).

Prohlubování znalostí o genetickém pozadí chorob a zdokonalování molekulárně-genetických metod a jejich výraznější aplikace v praxi by v budoucnu mohla vyústit ve výrazně zdravější populace nejen skotu, ale i dalších druhů hospodářských zvířat. V ruku v ruce s dosažením tohoto významného šlechtitelského cíle pak dojde i k výraznému zlepšení ekonomických parametrů chovu, které mohou být v některých případech limitujícím faktorem.

Choroby skotu lze z hlediska jejich dědičného založení velmi zjednodušeně rozdělit do několika skupin. První skupinu představují choroby a poruchy s jasným genetickým pozadím. U těchto chorob závisí výskyt a intenzita projevu dané choroby plně na genetickém založení jedince. Zde se plně uplatňují molekulárně-genetické metody k odhalení nositelů vloh pro danou chorobu, což umožní následnou eliminaci či alespoň

omezení využití daného jedince v chovu. Druhou skupinu tvoří choroby, které nejsou přímo způsobeny vlastním genetickým založením jedince. Mezi takové patří různá nakažlivá onemocnění, způsobovaná parazity či jinými patogeny. I u těchto chorob lze však účinně využít molekulárně genetických metod. Jedná se především o studium genetického založení obranyschopnosti nebo rezistence organismu vůči takovým patogenům, případně o využití pro jednoznačnou identifikaci patogenů. Poslední skupinu, s níž se může setkat, pak představují choroby s předpokládaným genetickým původem choroby, u nichž jsou pak vlastní výskyt či intenzita projevů výrazným způsobem podmíněny vnějšími podmínkami. U této skupiny se molekulárně genetické metody uplatní při hledání možného genetického založení náchylnosti nebo odolnosti k dané chorobě.

4.1. Studium výskytu deficiencie faktoru XI v populaci holštýnského skotu v ČR

V současné době již byla popsána celá řada chorob skotu, u kterých máme přesně známou příčinnou mutaci. Některé z těchto chorob pak vykazují analogické znaky s dědičnými chorobami vyskytujícími se u jiných živočišných druhů včetně člověka. Mezi takové patří i poruchy srážlivosti krve. Poruchy krevní srážlivosti geneticky podmiňují mutace v genech, kódujících jednotlivé krevní faktory. Krevní faktory jsou zahrnuty do kaskády krevní srážlivosti. Nedostatek jakéhokoliv krevního faktoru z této kaskády má za následek problémy s krevní srážlivostí. Jedním typem dědičné poruchy srážlivosti krve se zabývá i další práce z oblasti využití genetiky ve šlechtění skotu, zařazená do tohoto souboru prací. Jedná se o práci s názvem „Sporadic incidence of factor XI deficiency in Holstein cattle“ (Čítek, J., Řehout, V., Hanusová, L., Vrabcová, P., 2008).

Uvedená práce se zabývá poruchou srážlivosti způsobenou nedostatkem krevního faktoru XI. Tento faktor je ve své aktivované formě zodpovědný za konverzi faktoru X na aktivovanou formu, jež následně iniciuje konverzi protrombinu na trombin. Konečným důsledkem je přeměna rozpustného fibrinogenu na nerozpustnou fibrinovou sraženinu (Brush *et al.*, 1987).

U několika živočišných druhů včetně člověka, psa a skotu byla zjištěna vrozená porucha krevní srážlivosti, jež spočívá v deficienci již zmiňovaného faktoru XI (Gentry *et al.*, 1975). Původní předpoklad, že choroba je způsobena úplnou absencí proteinu FXI, byl následnými studii vyvrácen. Protein FXI je v těle postiženého jedince sice

přítomen, ovšem nikoliv ve své původní velikosti a funkčnosti. Doposud byly popsány 2 zásadní mutace. Vlivem inserce 76 bp dlouhého úseku do exonu 12 genu pro daný faktor dochází k předčasnému ukončení translace genového produktu. Protein vzniklý podle této změněné genetické informace postrádá serinovou doménu, která je u nemutovaného genu kódována exony 13 – 15 (Asakai *et al.*, 1987). Druhá popsaná mutace spočívá v inserci 15 bp dlouhé sekvence do exonu 9. Tato inserce zapříčiňuje substituci aminokyseliny fenylalaninu do čtvrté domény proteinu (Kunieda *et al.*, 2005).

V publikované studii byla provedena analýza výskytu obou výše zmiňovaných polymorfismů v populacích skotu. V případě polymorfismu v exonu 12 byla studovaná populace tvořena 309 jedinci, z nichž absolutní většinu 279 jedinců tvořili býci a krávy holštýnského plemene, pocházející z České republiky a Německa. Zbylých 30 jedinců představovali býci českého strakatého skotu. Polymorfismus v exonu 9 byl studován u 152 býků holštýnského (100 jedinců) a českého strakatého (52 jedinců) plemene. I v tomto případě pocházeli býci jak z České republiky, tak z Německa.

Po provedení potřebných molekulárně-genetických analýz byly stanoveny frekvence výskytu mutovaných alel v populacích. V panelu analyzovaném na přítomnost mutace v exonu 12 byl nalezen mezi všemi 279 jedinci pouze jediný heterozygot, tedy přenašeč recesivní alely pro danou chorobu. U populace, v níž byla zjišťována možná přítomnost inzertovaného úseku DNA v exonu 9, nedošlo k žádnému zachycení mutované alely. Všechna zvířata tedy byla nositeli homozygotního genotypu původního nemutovaného typu.

Uvedené výsledky ukázaly nízký výskyt *FXI* mutantních alel. V obou případech jsou tyto výsledky v souladu s výsledky jiných studií. U exonu 12 došel k podobnému výsledku ve své studii například Mukhopadhyaya *et al.* (2006), který v podobně veliké populaci 309 jedinců nenalezl ani jediný výskyt mutované alely. Výskyt mutované alely v tomto exonu popsali ve svých pracích Marron *et al.* (2004) a Meydan *et al.* (2009). Ti frekvenci výskytu mutované alely stanovili v jimi sledovaných populacích krav a býků holštýnského plemene na úrovni 0,012, respektive 0,009. Někteří autoři vytvořili hypotézu, že výskyt mutantní alely v exonu 12 může být závislý na linii daného plemene. Toto tvrzení se opírá o výsledky studií Gentry *et al.* (1980) a Gentry *et al.* (1993), kde autoři došli u dvou odlišných populací k výrazně rozdílným frekvencím výskytu mutované alely. Tento rozdíl vysvětlují tím, že v případě jedné populace pocházeli

testování jedinci z úzké geografické oblasti a s vysokou pravděpodobností tedy náleželi k jedné linii.

U exonu 9 je situace poměrně jednodušší. Do současné doby byla mutovaná alela nalezena pouze u jedinců japonského černého skotu (Kunieda *et al.*, 2005). Mutace se tedy jeví jako plemenně specifická. Japonský černý skot má vysoký výskyt mutované alely ve své populaci. Ohba *et al.* (2012) zjistil i frekvenci mutované alely na úrovni 0,264 v populaci býků a krav tohoto plemene. V případě samostatného vyhodnocení populace plemenných býků se frekvence dokonce snížila na úroveň 0,333. K podobným údajům dospěli i Watanabe *et al.* (2006). Vzhledem k takto vysokému výskytu mutované alely není možné z dalšího chovu vyřadit jedince, kteří jsou jejími nositeli. To může vést k razantnímu rozšíření dané alely do populace.

Ani nízký výskyt mutovaných alel ve studované populaci však neznamena, že deficiencie faktoru XI nepředstavuje pro chov skotu žádné nebezpečí. Vzhledem k faktu, že stále převládá praxe, kdy je k chovu používána úzká skupina elitních plemeníků, existuje zde poměrně vyšší nebezpečí rozšíření jakékoliv dědičné choroby do populací. Zde je na místě připomenout již proběhlé rozšíření dědičné choroby, označované jako deficiencie adhezní schopnosti leukocytů (BLAD), jež byla v populaci holštýnského skotu rozšířena právě díky vysokému poměru využití jednoho plemeníka v chovu.

4.2. Studium potenciálního genetického založení bovinní spongiformní encefalopatie

Bovinní spongiformní encefalopatie (BSE) vstoupila do povědomí nejen chovatelů, ale i širší veřejnosti na koncem minulého století. Tato choroba s možným přenosem na člověka byla medializována jako takzvaná nemoc šílených krav. Přestože první epidemie této nemoci byla ve Velké Británii zaznamenána již v roce 1985, větší pozornosti se jí dostalo až v roce 1996, kdy byla poprvé zaznamenána nová varianta Creutzfeldt-Jakobovy nemoci jako lidské varianty BSE. BSE byla následně zařazena jako infekční choroba s možným přenosem na člověka potravním řetězcem (Murdoch a Murdoch, 2015).

Původní teorie o virovém původu BSE byly vyvráceny. Podle nejnovějších teorií je bovinní spongiformní encefalopatie, podobně jako další fatální neurodegenerativní

onemocnění, způsobována priony – dříve neznámými infekčními patogeny. Existuje široce přijímaná teorie o schopnosti prionů překonávat druhovou bariéru a způsobovat tak nákazu jiných nepříbuzných organismů například potravou (Casalone *et al.*, 2004).

Díky výše uvedeným teoriím se další práce zaměřily na prostudování genetických aspektů dané choroby. Po analýze sekvence genu prionového proteinu (*PRNP*) bylo nalezeno 338 polymorfismů v rámci 25.2 kb genomu (Clawson *et al.*, 2006). Z tohoto množství bylo vytipováno několik polymorfismů, u nichž se předpokládala korelace s výskytem BSE. Silná korelace se potvrdila u 23-*bp* indel polymorfismu v promotoru a u 12-*bp* indel polymorfismu v intronu 1 *PRNP* genu (Sander *et al.*, 2005; Juling *et al.*, 2006, Haase *et al.*, 2007).

Genetickým aspektům této nemoci je věnována i práce zařazená do tohoto souboru. Jedná se o práci Vernerová, K., Tothová, L., Míková, A., Vodrážka, P., Šimek, B., Hanusová, L. a Čítek, J. (2014): BSE-associated polymorphisms in the prion protein gene: an investigation.

V rámci předkládané práce byla provedena studie výskytu 23-*bp* indel polymorfismu v promotoru a 12-*bp* indel polymorfismu v intronu 1 *PRNP* genu u celkové populace 107 jedinců. Z tohoto počtu bylo 81 jedinců negativních na nákazu BSE. Tito jedinci byli rozděleni do 3 skupin. První dvě skupiny tvořili býci, používaní v České republice v inseminaci. Jednalo se o skupinu býků českého strakatého skotu (25 jedinců) a skupinu býků holštýnského skotu (30 jedinců). Zbývajících 26 negativních krav a býků, tvořících samostatnou skupinu, pocházelo z původního plemene česká červinka. Pozitivní kontrolní skupinu představovalo 26 jedinců s prokázanou nákazou BSE.

Po provedení genetických analýz byly porovnány genotypové a alelické frekvence mezi jednotlivými skupinami. U 12-*bp* indel polymorfismu byla frekvence výskytu této mutace podobná u všech sledovaných skupin. Významnější rozdíl lze nalézt pouze mezi skupinou zvířat s BSE a jednotlivými kontrolními (negativními) skupinami. Zahrneme-li všechna zvířata negativní na BSE do jedné negativní kontrolní skupiny a porovnáme frekvence výskytu 12-*bp* indel mutace v této kombinované negativní skupině s frekvencí u pozitivní kontroly, dojdeme překvapivě ke zjištění, že mezi frekvencemi u obou skupin není významný rozdíl.

U 23-*bp* indel polymorfismu byla diference mezi kombinovanou negativní kontrolní skupinou a pozitivní skupinou výrazná především u výskytu genotypu *+/+* (*insins*).

Skupina zvířat s BSE vykazovala podstatně nižší výskyt tohoto genotypu a samotné + alely ve srovnání s negativní kontrolní skupinou. V případě genotypu -/-, což je homozygotní genotyp pro výskyt mutace, bylo zjištěno, že tento genotyp se u zvířat s BSE nevyskytuje nikterak výrazně častěji než v negativní kontrolní skupině.

Provedená analýza frekvencí diplotypů rovněž prokázala, že frekvence genotypu obou delecí --/-- nebyla ve skupině zvířat s BSE výrazně vyšší než u negativní kontroly. Toto zjištění však nemůže sloužit jako podklad ke konečnému tvrzení, a to s ohledem na poměrně malé množství zvířat zahrnutých do této studie.

Výše uvedené výsledky naznačují, že oba indel polymorfismy by mohly mít odlišnou míru vlivu na výskyt BSE choroby u jedince. Výsledek regresní analýzy tento předpoklad podpořil. U 12-*bp* indel polymorfismu narůstá riziko výskytu BSE s faktorem 1,55 (respektive o 55 %) s každou – alelou. Pro 23-*bp* indel polymorfismus je uvedený faktor 2,1. V případě zahrnutí obou indel polymorfismů do analýzy, je faktor nárůstu rizika BSE na úrovni 1,54 na jednu – alelu. Zjištění vyplývající z provedené studie jsou v rozporu s poznatky Juling *et al.* (2006), který ve své práci došel k závěru, že existuje silná asociace mezi oběma polymorfismy a výskytem BSE. Jako nejrizikovější uvádí diplotyp --/--. Jako výrazně vlivnější potom označuje 12-*bp* indel polymorfismus. Naše výsledky přitom jako rizikovější udávají výskyt 23-*bp* indel polymorfismu. Podobný názor vyslovili ve své práci i Haase *et al.* (2007) či Un *et al.* (2008). Jak uvádí Brunelle *et al.* (2008), nelze jednoznačně určit, který ze studovaných polymorfismů má vyšší vliv na výskyt BSE. Naše studie tedy nenapomohla vyřešení otázky, který z polymorfismů by mohl být tím určujícím pro výskyt BSE. Sice se ze získaných výsledků zdá, že větší význam byl nalezen u 23-*bp* indel polymorfismu, avšak velikost námi studované populace byla příliš malá pro utvoření definitivního závěru.

4.3. Studium možného vlivu v lokusu *CGIL4* na míru náchylosti k mastitidě

Kromě chorob, majících původ jednoznačně v genetickém založení jedince, se v chovu skotu vyskytují i choroby, jejichž výskyt je z velké části podmíněn vnějšími podmínkami. Avšak i u takovýchto chorob hraje určitou roli genetické založení jedince. Mezi nejtypičtější představitele této skupiny chorob patří mastitida. Podle starší studie autorského kolektivu Klastrup *et al.* (1987) lze náchylnost k mastitidě považovat z 25 % za výsledek působení podmínek prostředí, z 25 % za výsledek genetických faktorů a z 50 % se na něm podílí management stáda. Nízkou dědivost mastitidy potvrzují o práce

Heringstad *et al.* (2000), Carlén *et al.* (2004) či Nordberg *et al.* (2009). Mastitidu je tedy možné považovat za komplexní vlastnost.

Mastitida představuje významný šlechtitelský cíl, a to i s ohledem na svou ekonomickou náročnost. Z tohoto důvodu existuje velké množství studií, které se zaměřují na možnost nalezení markeru pro odolnost vůči této chorobě. Jmenujme například několik prací, například Wang *et al.* (2007), Ogorevc *et al.* (2009), Carvajal *et al.* (2013), Kadri *et al.* (2015), Bhattarai *et al.* (2017) či Elmaghraby *et al.* (2018).

V době, kdy se naše pracoviště zaměřilo na možnost studia role genetického založení jedince v náchylnosti či odolnosti vůči mastitidě, se jako perspektivní jevila práce Sharma *et al.* (2006). Ti popsali potenciální marker, označovaný jako *CGIL4*, u něhož byla významná odlišnost v alelické frekvenci mezi kravami s vysokou náchylností a kravami s vysokou odolností vůči mastitidě. Ve skupině krav s vysokou klinicky prokázanou odolností byla popsána vyšší frekvence alely *A*. Z této studie jms vycházeli při zpracování práce „Polymorphism in *CGIL4*, breeding value for somatic cell count and resistance to mastitis“ (Čítek, J., Řehout, V., Hanusová, L., Míková, A., Jašková, I., 2011). V této studii byl u panelu býků českého strakatého a německého holštýnského skotu analyzován vztah mezi genotypem ve zmiňovaném markeru a plemennou hodnotou pro počet somatických buněk (somatic cell count, SCC) jako ukazatele náchylnosti k mastitidám.

Celkově bylo genotypizováno 104 býků německého holštýnského skotu a 110 býků českého strakatého skotu, používaných v inseminaci. U obou populací výrazně převládal heterozygotní genotyp AG. Frekvence heterozygotů v panelu býků českého strakatého skotu byla 0,791, u německých holštýnských býků pak byla frekvence ve výši 0,731. Frekvence obou alel však byla u obou populací vyrovnaná, variovala kolem 0,50. Nebyl prokázán žádný významný vztah mezi genotypem ve studovaném markeru a plemennou hodnotou pro SCC ani u jedné z populací. Výsledky provedené studie tedy nepotvrdily možný vliv markeru *CGIL4* na výskyt mastitidy.

Odhlédneme-li od výsledku provedené studie, je nutné konstatovat, že stanovení možného genetického založení mastitidy zůstává nadále jedním z klíčových cílů genetiky v chovu hospodářských zvířat. V současné době se studium potenciálních genetických markerů pro odolnost k mastitidě soustředí na geny spojené s imunologickou odpovědí na patogeny (Carvajal *et al.*, 2013). Sem patří například interleukiny (Pokorska *et al.*,

2016), geny pro toll-like receptory (Elmaghraby *et al.*, 2018) a celá řada dalších (Liu *et al.*, 2012; Nani *et al.*, 2015; Usman *et al.*, 2015; Bagheri *et al.*, 2016; Pokorska *et al.*, 2018). Výzkum mastitidy a jejího možného genetického založení tedy představuje velmi významnou otázkou v oblasti chovu a šlechtění skotu a její vyřešení by mohlo přinést celou řadu benefitů.

5. Využití molekulárně genetických analýz pro studium původních plemen skotu

Skot byl domestikován v období před 10 tisíci lety. Z center domestikace se postupně rozšířil do všech kontinentů. Výsledkem byl vznik mnoha populací, které se postupně adaptovaly na podmínky svého prostředí (Taberlet *et al.*, 2011). Po velmi dlouhém období relativně jednoduché selekce došlo před několika staletími ke změně přístupu chovatelů. Vzhledem k postupnému nutnému nárůstu produkce pro zajištění dostatku potravin pro stále se zvyšující lidské populace došlo k výraznému zvýšení selekčního tlaku v populacích skotu. To v konečném výsledku vedlo ke vzniku vysokoprodukčních plemen. Dalším, vedlejším následkem, pak bylo výrazné snížení diverzity v populacích skotu. Současně došlo k poklesu zájmu farmářů o původní plemena skotu pro jejich již nedostačující užítkovost. Food and Agriculture Organisation (FAO) odhaduje, že za posledních 20 let vymizelo 300 z celkového počtu 6000 plemen skotu (Taberlet *et al.*, 2007). Jednou z cest, jak zabránit takto výraznému postupnému snižování diverzity, je i zmapování genetického potenciálu jednotlivých původních plemen a případná konzervace unikátních genetických polymorfismů.

Původním plemenem skotu v České republice je plemeno česká červinka. První zmínky o jejím chovu lze nalézt již ve 2. až 4. století našeho letopočtu. Největšího rozšíření v našich zemích dosáhla v polovině 18. století. Od konce 18. století pak počet jedinců tohoto plemene v českých zemích klesal. Důvodem byl dovoz zvířat ze zahraničí, která byla dovážena za účelem rychlejšího dosažení zvýšené produkce masa a mléka (Košťanec *et al.*, 1993). Jako přelomové pak lze jmenovat období 30. až 40. let 19. století. V tomto období začalo docházet k výraznému dovozu jedinců simentálského plemene ze zahraničí. Postupně byla tato zvířata křížena s jedinci plemene česká červinka, což mělo za následek téměř úplné vymizení čistokrevných jedinců tohoto plemene. V průběhu 20. století bylo zaznamenáno několik snah o regeneraci plemene česká červinka, ovšem ty skončily neúspěšně. V roce 1991 bylo nalezeno pouze 35 čistokrevných českých červinek na území České republiky. V témže roce byl zahájen program na regeneraci a uchování plemene česká červinka. O rok později, v roce 1992, se plemeno česká červinka stalo genetickým zdroje České republiky (Řehout *et al.*, 2007).

Do programu na uchování plemene česká červinka se výrazným způsobem zapojila i Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. V rámci tohoto

programu provádělo naše pracoviště celou řadu molekulárně genetických analýz s cílem prostudovat genetickou strukturu této populace. Z výsledků byla zpracována celá řada studií. Z prací, na nichž jsem se podílela, je nejvýznačnější recenzovaná publikace „Genetic characteristic of Czech Red cattle“ (Řehout, V., Filistowicz, A., Hanusová, L., Čítek, J., Košvanec, K., Hosnedlová, B., 2009). Tato práce shrnuje všechny dosažené výsledky genotypizací, proběhlých za dobu let od zahájení programu do roku 2007. V rámci této práce byla provedena genotypizace u 194 vzorků jedinců plemene česká červinka. Metodou PCR/RFLP byly stanoveny genotypy u celkem 12 lokusů (*DGAT1*, *GH*, κ -kasein *CSN3*, β -laktoglobulin β -*LGB*, prolaktin *PRL*, insulinu podobný růstový faktor vázající protein 3 *IGF BP3*, leptin *LEP*, pituitární transkripční faktor *PIT1*, β -kasein *CSN2* (alely *A,B*), β -kasein *CSN2* (alely *A1A2*), β -kasein *CSN2* (alely *A,C*) a *SI*-kaseinu). Kromě toho bylo u vybraných vzorků stanoveno celkem 17 mikrosatelitů. Rovněž bylo provedeno u 72 jedinců vyšetření genomu na přítomnost vloh pro bovinní leukocytární adhesní deficienci (BLAD), citrulinémii a deficienci uridin aminofosfát syntázy (DUMPS).

Po vyhodnocení alelických a genotypových frekvencí lze říci, že byly frekvence alel a genotypů velmi podobné frekvencím vyskytujícím se v komerčních populacích. Příkladem takového lokusu je v této práci již okomentovaný lokus *DGAT1*. U studované populace české červinky byla výrazně četnější alelou alela *A* s frekvencí 0,931. Alela *K* (označovaná v tomto případě jako *L*) pak měla frekvenci 0,06. Tyto výsledky jsou zcela v souladu nejen s našimi pracemi, provedenými na populacích plemenných býků českého strakatého a německého holštýnského skotu (Hradecká *et al.*, 2008; Hanusová *et al.*, 2014), ale i s celou řadou dalších (Spelmann, 2002; Schenink *et al.*, 2008; Berry *et al.*, 2010; Conte *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2013; Carvajal *et al.*, 2016). Podobné výsledky popsali i Näslund *et al.* (2008) u švédského červeného skotu.

Výsledky genotypizací prokázaly, že studovaná populace plemene česká červinka má genotypové a alelické frekvence ve vybraných lokusech velmi podobné komerčním populacím. Důvodem takového zjištění může být fakt, že se práce zaměřila na běžně studované lokusy, u nichž byl prokázán vztah k ukazatelům především mléčné užitkovosti.

Ukazatele mléčné užitkovosti patří ke znakům, na něž se šlechtí již opravdu dlouhou dobu, a tudíž i u plemene česká červinka proběhla pravděpodobně v minulosti selekce na

tyto znaky. Tím mohlo dojít k ovlivnění zastoupení jednotlivých alel a genotypů vybraných lokusů v rámci plemene.

Ačkoliv výsledky jmenované studie neukázaly na žádnou výjimečnost plemene česká červinka z pohledu nejčastěji studovaných lokusů, přesto patří toto plemeno k plemenům, o jejichž zachování je nutné usilovat. Česká červinka bývá označována za plemeno houževnaté. Bylo by tedy velmi vhodné provést analýzu možného genetického pozadí terciárních vlastností, jako je dlouhověkost či potenciální odolnost vůči chorobám.

6. Původní práce autorky

V habilitační práci jsou na stránkách 35 až 100 vloženy původní práce autorky v následujícím pořadí:

1. Hradecká, E., Čítek, J., Panicke, L., Řehout, V., Hanusová, L. (2008): The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (6): 238 – 247.
2. Hanusová, L., Míková, A., Večerek, L., Schröffelová, D., Řehout, V., Tothová, L., Vernerová, K., Hosnedlová, B., Čítek, J. (2014): Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. *Czech Journal of Animal Science*, 59 (8): 365 – 373.
3. Hanusová, L., Čítek, J., Samková, E., Kala, R., Křížová, Z., Hanuš, O. (2018): Frekvence polymorfismů v genech DGAT1, FASN, LEP a SCD1 v dojené populaci skotu v České republice. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 29 (5), 31 – 34.
4. Hanusová, L., Brzáková, M., Míková, A., Večerek, L., Hosnedlová, B., Tothová, L., Čítek, J. (2016): Analysis of glucose metabolism capability and breeding values of Holstein cattle. *Livestock Science*, 193: 92 – 94.
5. Čítek, J., Hanusová, L., Brzáková, M., Večerek, L., Panicke, L., Lískovcová, L. (2018): Association between Gene Polymorphisms, Breeding Values, and Glucose Tolerance Test Parameters in German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 63(5): 167 – 173.
6. Voříšková, J., Dufak, A., Hanusová, L., Šubrt, J., Homola, M. (2010): Vybrané faktory ve vztahu ke kvalitě masa. *Výzkum v chovu skotu*, 52(4): 85 – 97.
7. Čítek, J., Řehout V., Hanusová, L., Vrabcová, P. (2008): Sporadic incidence of factor XI deficiency in Holstein cattle. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 88 (12): 2069 – 2072.
8. Vernerová, K., Tothová, L., Míková, A., Vodrážka, P., Šimek, B., Hanusová, L., Čítek, J. (2014): BSE-associated polymorphisms in the prion protein gene: an investigation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 131(5): 104 – 108.
9. Čítek, J., Řehout, V., Hanusová, L., Míková, A., Jašková, I. (2011): Polymorphism in CGIL4, breeding values for somatic cell count and resistance to mastitis. *Czech Journal of Animal Science*, 56 (7): 301 – 304.
10. Řehout, V., Filistowicz, A., Hanusová, L., Čítek, J., Košvanec, K., Hosnedlová, B. (2009): Genetic characteristic of Czech Red cattle. *Journal of Agrobiology*, 26(1): 25 – 30.

7. Závěr

Jak vyplývá z výše okomentovaných prací, molekulárně genetické analýzy v současné době zasahují do celé řady oblastí v chovu a šlechtění skotu. Jejich využití se zvyšuje díky stále narůstajícímu tlaku na zvýšení užitkovosti skotu, detailnější znalosti genomu skotu a technickému pokroku v oblasti molekulární genetiky.

Výsledky molekulárně genetických analýz dnes využívají především šlechtitelé ve snaze získat co nejpřesnější údaje o vybraných jedincích, které by jim umožnili maximalizovat přesnost odhadu plemenné hodnoty daného jedince. Přesné údaje o plemenné hodnotě následně umožní výběr nejvhodnějších zvířat pro šlechtění na danou vlastnost. Díky tomu by mohlo dojít k dosažení požadovaného šlechtitelského cíle za minimální dobu. Tohoto postupu se hojně využívá především u šlechtění na užitkové vlastnosti. Za tímto účelem jsou prováděny genotypizace v lokusech s potenciálním vztahem k vybrané užitkové vlastnosti či odhadu plemenné hodnoty pro danou vlastnost. Z předkládaných prací a komentářů vyplývá, že tato metodika má však své limity. Je třeba brát v úvahu především skutečnost, že vztah mezi genotypem a danou vlastností (respektive plemennou hodnotou pro danou vlastnost) se vždy ověřuje u vybrané populace. I my jsme prokázali, že zatímco v jedné populaci genotyp ve vybraném lokusu (v našem případě *DGATI*) vykazuje statisticky významný vztah k odhadu plemenné hodnoty pro vlastnosti mléčné užitkovosti (v našem případě nádoji) a je tedy možné využít jej jako markeru pro danou vlastnost, u druhé populace tento vztah neplatí. Takto rozporuplných výsledků lze nalézt v literatuře celou řadu. Proto je nezbytné zjištěné výsledky vždy vztahovat k původní populaci, a to zejména v případě, že se jedná o populace plemenných býků, kdy do odhadu plemenné hodnoty pro užitkové vlastnosti nevstupuje vlastní užitkovost, nýbrž údaje o užitkovosti potomstva.

Přestože se zdá, že je oblast genomu, spojená s užitkovými vlastnostmi skotu, již zcela probádána, není tomu tak. Doposud existuje celá řada míst v rámci genomu, u kterých lze uvažovat o jejich potenciálním vztahu k některé užitkové vlastnosti. Proto se část vědců stále ubírá cestou studií potenciálních markerů pro dané vlastnosti. Další část pak svou pozornost zaměřila spíše na analýzu genetické informace jedince jako celku a celkového působení na fenotypový projev – užitkovost. Oba přístupy mají své klady i zápory. Jako ideální se jeví propojení obou přístupů, kdy bude stále detailnější znalost genomu a vztahu

jednotlivých jeho částí k užítkovosti sloužit jako podklad pro přesnější využití robustnějších metod.

Asi nejednoznačnějších výsledků při použití molekulárně genetických analýz lze dosáhnout při odhalování nositelů alel, podmiňujících vznik nějakého dědičného onemocnění. Stanovení genotypů nám u takového onemocnění umožní oddělit nositele takové alely od jedinců, kteří nemají alelu, podmiňující vznik onemocnění, ve svém genofondu. Následnými chovatelskými zásahy (vyřazením takových jedinců z chovu či sestavením přípařovacích plánů s ohledem na výsledky analýz) lze potlačit či zcela eliminovat výskyt dané choroby v chovu. Bohužel však choroby s jasně daným genetickým pozadím tvoří pouze menší část chorob, vyskytujících se u skotu.

U většiny chorob se na konečném projevu podílí i vnější prostředí. I u takových chorob však mohou být využity molekulárně genetické metody. Výsledkem tímto směrem zaměřených studií je potom soubor možných lokusů, ovlivňujících výskyt a projevy takové choroby. Typický příklad představuje v této práci studium možného genetického pozadí náchylnosti, respektive odolnosti vůči mastitidě. Po prostudování celé řady prací k danému tématu lze konstatovat, že při studiu genetického pozadí mastitidy nalézáme podstatný problém. Tím je skutečnost, že u mastitidy, stejně jako u celé řady podobných chorob, je nutná opravdu důkladná a dlouhotrvající práce s ohledem na nutnost prostudování obrovského množství lokusů, u nichž předpokládáme nějaký vztah k dané chorobě či náchylnosti/odolnosti k ní. Ovšem v případě, že bude lokus, ovlivňující výskyt dané choroby, nalezen, lze očekávat výrazné zlepšení zdravotního stavu populace skotu a současně zvýšení ekonomického zisku díky minimalizaci nákladů, spojených s výskytem dané choroby v chovu. Studium genetického založení náchylnosti k mastitidám a následné využití poznatků ve šlechtění skotu představuje tedy vhodnou oblast dalšího směřování práce našeho autorského kolektivu.

Molekulárně genetické analýzy hrají rovněž podstatnou roli v ochraně původních plemen skotu. Lze je využít pro získání informací o genomu původních plemen. Jako velmi perspektivní se jeví studium genetické informace jedinců původních plemen pro získání možných polymorfismů, ovlivňujících některé terciární vlastnosti, jako je ranost, dlouhověkost či odolnost k vnějším podmínkám, či vlastnosti, které u komerčních plemen potřebujeme zlepšit. Jak jsme prokázali provedením analýz nejběžněji studovaných lokusů populaci české červinky, je nezbytné zaměřit se spíše na méně prozkoumané

oblasti genomu a hledat možné odlišnosti mezi původními a komerčními plemeny, které mohly být v důsledku šlechtění potlačeny a jež by mohly být zdrojem pro zlepšení zdravotního stavu, snížení dopadu některých negativních jevů, souvisejících se šlechtěním či ke zvýšení produkce bez negativních dopadů na jedince. Uvedené možnosti využití předurčují tuto oblast aplikace molekulární genetiky k postupnému získání větší pozornosti odborníků.

8. Seznam použité literatury

Aggrey, S.E., Yao, J., Sabour, M.P., Lin, C.Y., Zadworny, D., Hayes, J.F., Kuhnlein, U. (1999). Markers Within the Regulatory Region of the Growth Hormone Receptor Gene and their Association with Milk –Related Traits in Holsteins. *Journal of Heredity*, 90(1): 148-151.

Akyüz, B., Ağaoğlu, Ö. K., Akçay, A., Ağaoğlu, A.R. (2015). Effects of DGAT1 and GH1 polymorphism on milk yield in Holstein cows reared in Turkey. *Slovak Veterinary Research*, 15(4), 185-191.

Allais, S., Journax, L., Levéziel, H., Payet-Duprat, N., Raynaud, P., Hocquette, J. F., Lepetit, J., Rousset, S., Denoyelle, C., Bernard-Capel, C., Renand, G. (2011). Effects of polymorphisms in the calpastatin and μ -calpain genes on meat tenderness in 3 French beef breeds. *Journal of Animal Science*, 89: 1-11.

Argetsinger, L.S., Carter-Su, C- (1996). Mechanism of signalling by growth hormone receptor. *Physiological Review*, 76: 1089-1107.

Asakai, R., Davie, E.W., Chung, D.W. (1987). Organization of the gene for human factor XI. *Biochemistry*, 26:7221 – 7228.

Bagheri, M., Moradi-Sharhrbabak, M., Miraie-Ashtiano, R., Sfdari-Shahroudi, M., Abdollahi-Arpanahi, R. (2016). Case-control approach application for finding a relationship between candidate genes and clinical mastitis in Holstein dairy cattle. *Journal of Apply Genetics*, 57(1): 107-112.

Balogh O, Kovács K, Kulcsár M, Gáspárdy A, Zsolnai A, Kátai L, Pécsi A, Fésüs L, Butler WR, Huszenicza G. (2009): AluI polymorphism of the bovine growth hormone (GH) gene, resumption of ovarian cyclicity, milk production and loss of body condition at the onset of lactation in dairy cows. *Theriogenology*. 71(4):553-5599

Barendse, W. (2002). DNA markers for meat tenderness. International patent application No. PCT/AU02/00122. World Intellectual Property Org. Int. Publication No. WO 02/064820 A1.

Bauman, D.E. (1999). Bovine somatotropin and lactation: from the science to commercial application. *Domestic Animal Endocrinology*, 17: 101-116.

Bennewitz J, Reinsch N, Thomsen H, Szyda J, Reinhardt F, Kühn C, Tuchscherer A, Schwerin M, Weimann C, Erhardt G, Kalm E. Marker Assisted Selection in German Holstein Dairy Cattle Breeding: Outline of the Program and Marker Assisted Breeding Value Estimation. In: 54th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 31 August to 3 2003, Rome, Italy, Session G1.9.

Berry D.P., Howard, D., O'Boyle, P., Naters, S, Kearney, J.F., McCabe, M. (2010): Association between the K232A polymorphism in the diacylglycerol_O-acyltransferase 1 (DGAT1) gene and performance in Irish Holstein-Friesian dairy cattle, *Irish Journal of Agriculture and Food Research*, 49: 1-9.

Berry, D. P., Howard, D., O'Boyle, P., Waters, S., Kearney, J.F., McCabe, M. (2010). Association between the K232A polymorphism in the diacylglycerol-O-transferase 1 (DGAT1) gene and performance in Irish Holstein- Friesian dairy cattle. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 49, 1-9.

Bhat, Z.F., Morton, J.D., Mason, S.L., Bekhit, A.E. –D. A. (2018). Role of calpain system in meat tenderness: A review. *Food Science and Human Wellness*, 7: 196-204.

Bhattarai, D., Chen, X., Ur Rehman, Z., Hao, X., Ullah, F., Dad, R., Talpur, H.S., Kadariya, I., Cui, L., Fan, M., Zhang, S. (2017). Association of MAP4K4 gene single nucleotide polymorphism with mastitis and milk traits in Chinese holstein cattle. *Journal of Dairy Research*, 84(1): 76-79.

Boichard D, Fritz S, Rossignol MN, Boscher MY, Malafosse A, Colleau JJ. (2002). Implementation of Marker Assisted Selection in French Dairy Cattle Breeding. In: Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, vol. 22. France, Session: Montpellier; 2002. p. 22.03.

Brunelle, B.W., Greenlee, J.J., Seabury, Ch.M., Brown, E.B. II, Nicholson E.M. (2008). Frequencies of polymorphisms associated with BSE resistance differ significantly between *Bos taurus*, *Bos indicus*, and composite cattle. *BMC Veterinary Research*, 4, Article ID:34.

Butler, W.R., Smith, R.D. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 72: 767-783

Capper, J.L., Cady, R.A., Bauman, D.E. (2009). The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *Journal of Animal Science*, 87(6): 2160-2167.

Carlén, E., Strandberg, E., Roth, A. (2004). Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score and production in the first three lactations of Swedish Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 302-3070.

Carvajal, A.M., Huircan, P., Dezamour, J.M., Subiabre, I., Kerr, B., Moralez, R., Ungerfeld, E.M. (2016). Milk fatty acid profile is modulated by DGAT1 and SCD1 genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation. *Genetics and Molecular Research*, 15(2): 1-12.

Carvajal, A.M., Huircan, P., Lepori, A. (2013). Single nucleotide polymorphisms in immunity-related genes and their association with mastitis in Chilean dairy cattle. *Genetics and Molecular Research*, 12(3): 2702-2711.

Carvalho, M.E., Eler, J.P., Bonin, M.N., Resende, F.M., Biase, F.H., Meirello, F.V., Regitano, L.C., Cintinho, L.L., Balieiro, J.C. Ferraz, J.B. (2017). genotyping and allelic frequencies of gene polymorphisms associated with meat tenderness in Nellore beef cattle. *Genetics and Molecular Research*, 16(1).

Casalone, C., Zanusso, G., Acutis, P., Ferrari, S., Capucci, L., Tagliavini, F., Monaco, S., Caramelli, M. (2004). Identification of a second bovine amyloidotic spongi- form encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *PNAS*, 101: 3065-3070.

Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C.C. Jr, Johnson, D.D, Smith, T.P.L. (2006). Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, 84: 520–525.

Clawson, M.L., Heaton, M.P., Keele, J.W., Smith, T.P.L., Harhay, G.P., Laegreid, W.W. (2006). Prion gene haplotypes of US cattle. *BMC Genetics*, 7, Article ID: 51.

Conte, G., Mele, M., Chessa, S., Castiglioni, B., Serra, A., Pagnacco, G., Secchiari, P. (2010). Diacylglycerol-acyltransferase 1, stearoyl – CoA desaturase 1, and sterol regulatory element binding protein 1 gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Italian Brown cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(2): 753-763.

Curone, G., Felipe, J., Cremonesi, P. Trevisi, E., Amadori, M., Pollera, C., Castiglioni, B., Turin, L., Tedde, V., Vigo, D., Moroni, P., Minuti, G., Bronso, V., Addis, M.F., Riva,

F. (2018). What we have lost: Mastitis resistance in Holstein Friesians and in local cattle breed. *Research in Veterinary Sciences*, 116: 88-98.

Čítek, J., Hanusová, L., Brzákova, M., Večerek, L., Panicke, L., Lískovcová, L. (20158). Associations between Gene Polymorphisms, Breeding Values, and Glucose Tolerance Test Parameters in German Holstein Sires. *Czech Journal of Animal Science* , 63(5): 167-173.

Čítek, J., Řehout, V., Hanusová, L., Míková, A., Jašková, I. (2011). Polymorphisms in CGIL4, breeding value for somatic cell count and resistance to mastitis. *Czech Journal of Animal Science*, 56(7): 301-304.

Čítek, J., Řehout, V., Hanusová, L., Vrabcová, P. (2008). Sporadic incidence of factor XI deficiency in Holstein cattle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (12): 2069-2072.

Dario, C., Carnicella, D., Ciotola, F., Peretti, V., Bufano, G. (2008). Polymorphism of Growth Hormone GH1-AluI in Jersey Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 21(1): 1-5

Dekkers, J.C.M. (2012). Applications of genomics tools to animal breeding. *Current Genomics*, 13: 207-212.

Elmaghraby, M.M., El.Nahas, A.F., Fathala, M.M., Sahwan, F.M., Tag El-Dien, M.A: (2018) Association of toll-like receptors 2 and 6 polymorphism with clinical mastitis and production traits in Holstein cattle. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 19(3): 202-207.

Esptvedt, M.N., Wolff, C., Rintakoski, S., Lindt, A., Østerås, O. (2012). Completeness of metabolic disease recordings in Nordic national databases for dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 105(1-2): 25-37.

Fiedorowicz, S., Strzalkowska, N., Bagnicka, E., Jozwik, A., Krzyzewski, J., Reklewski, Z., (2008). Relationship between certain parameters included in the glucose tolerance test in young heifers and their milk production traits in forthcoming lactation *Italian Animal. Scientific Papers and Reports*, 26, 97–105.

Fontanesi L. (2016): Metabolomics and livestock genomics: insights into a phenotyping frontier and its applications in animal breeding. *Animal Frontiers*, 6, 73–79.

Gautier, M., Capitan, A., Fritz, S., Eggen, A., Boichard, D., Druet, T. (2007). Characterization of the DGAT1 K232A and the variable number of tandem repeat polymorphisms in French dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90: 2980-2988.

Gentry, P.A., Black, W.D. (1980). Prevalence and inheritance of factor XI (Plasma Thromboplastin Antecedent) deficiency in cattle. *Journal of Dairy Science*, 63:616-620.

Gentry, P.A., Crane, S., Lotz, F. (1975). Factor XI (plasma thrombo-plastin antecedent) deficiency in cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 16: 160-163.

Gentry, P.A., Ross, M.L. (1993). Coagulation factor XI deficiency in Holstein cattle: expression and distribution of factor XI activity. *Canadian Veterinary Journal*, 57:242 – 247 (1993).

Grisart, B., Coppieters, W., Farmin, F., Karim, K., Ford, C., Cambisano, N., Mni, M., Reid, S., Spelman, R., Georges, M., Snell, R. (2002). Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Research*, 12: 222-231.

Grobet, L., Martin, L.J.R., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riquet, J., Schoeberlein, A., Dunner, S., Menissier, F., Massabanda, J., Fries, R., Hanset, R., Georges, M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 17: 71-74.

Haase, B., Doherr, M.G., Seuberlick, T., Drögemüller, C., Dolf, G., Nicken, P., Schiebel, K., Ziegler, U., Groschup, M.H., Zhrbriggen, A., Leeb, T. (2007) PRNP promoter polymorphisms are associated with BSE susceptibility in Swiss and German cattle. *BMC Genetics*, 8:15.

Hadi, Z., Atashi, H., Dadpasand, M., Derakhshandeh, A., Ghahramani Seno, M.M. (2015): The relationship between growth hormone polymorphism and growth hormone receptor genes with milk yield and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 16 (3): 244-248.

Hanusová, L., Brzáková, M., Míková, A., Večerek, L., Hosnedlová, B., Tothová, L., Čítek, J. (2016). Analysis of glucose metabolism capability and breeding value of Holstein sires. *Livestock Science*, 193: 92-94.

Hanusová, L., Čítek, J., Samková, E., Kala, R., Křížová, Z., Hanuš, O. (2018). Frekvence polymorfismů v genech DGAT1, FASN, LEP a SCD1 v dojené populaci skotu v České republice. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 29 (5): 31-34.

Hanusová, L., Míková, A., Večerek, L., Schröffelová, D., Řehout, V., Tothová, L., Vernerová, K., Hosnedlová, B., Čítek, J. (2014) Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. *Czech Journal of Animal Science*, 59 (8): 365-373.

Hax, L.T., Schneider, A., Besselhok Jacomato, C., Mattei, P., da Silva, T.C., Farina, G., Correa, N.C. (2017). Association between polymorphism in somatotrophic axis genes and fertility of Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 88: 67-72.

Heidari, M., Azari, M.A., Kasani, S., Khanahmadi, A., Zerehdaran, S. (2012). Effect of polymorphic variant of GH, Pit-1 and beta-LG genes on milk production of Holstein cows. *Genetika*, 48(4): 503-507.

Heringstadt, B., Klemetsdal, G., Ruane, J. (2000). Selection for mastitis resistance in dairy cattle: A review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science*, 64: 95-106.

Hill, R., Canal, A., Bondioli, K., Morell, R., Garcia, M.D. (2016): Molecular markers located on the DGAT1, CAST, and LEPR gene and their associations with milk production and fertility traits in Holstein cattle. *Genetics and Molecular Research*, 15(1): 1-8.

Houe, H., Gardner, I.A., Nielsen, A. (2011). Use of information on disease diagnoses from databases for animal health economic, welfare and food safety purposes: strengths and limitations of recordings. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53 (Suppl 1): S7.

Hradecká, E., Čítek, J., Panicke, L., Řehout, V., Hanusová, L. (2008). The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (6): 238 - 245.

Juling, K., Schwarzenbacher, H., Williams, J.L., Fries, R. (2006). A major genetic component of BSE susceptibility. *BMC Biology*, 4, Article ID: 33.

Kadlecová, V., Němečková, D., Ječmínková, K., Stádník, L. (2014). Association of bovine DGAT1 and leptin genes polymorphisms with milk production traits and energy balance indicators in primiparous Holstein cows. *Mljekarstvo*, 64(1): 19-26.

Kadri, N.K., Guldbrandtsen, B., Lund, M.S., Salvana, G. (2015). Genetic dissection of milk traits and mastitis resistance quantitative trait loci on chromosome 20 in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 98(12): 9015-9025.

Kaupe, B., Brandt, H., Prinzenberg, E.M., Erhardt, G. (2007): Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science*, 85, s. 11-21.

Kiyici, J.M., Arslan, K., Akyüz, B., Kaliber, M., Aksel, A.G., Çinar, M.U. (2018). Relationships between polymorphisms of growth hormone, leptin and myogenic factor 5 genes with some milk yield traits in Holstein dairy cows. *International Journal of Dairy Technology*, 72(1): 1-7.

Klastrup, O., Bakken, G., Bramley, J., Bushnell, R. (1987). Environmental influences on bovine mastitis. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 217: 37.

Košvanec, K., Řehout, V., Hajič, F., Čítek, J., Šoch, M. (1993). Chov českých červinek v českých zemích. Vědecký sborník ZF JU v Českých Budějovicích, 1/X, řada ZOO, 97-112.

Kühn, C., Thaller, G., Winter, A., Bininda-Emonds, O.R.P., Kaupe, B., Erhardt G., Bennewitz, J., Schwerin, M., Fries, R. (2004). Evidence for multiple alleles at the *DGAT1* locus better explains a quantitative trait locus with major effect on milk fat content in cattle. *Genetics*, 167, s. 1873-1881.

Kunieda, M., Tsuji, T., Abbasi, A.R., Khalaj, M., Ikeda, M., Miyadera, K., Ogawa, H., Kunieda, T. (2005). An insertion mutation of the bovine F11 gene is responsible for factor XI deficiency in Japanese black cattle. *Mammalian Genome*, 16:383 – 386.

Lee, B.K., Liu, G.F., Crooker, B.A., Murtaugh, M.P., Hansen, L.B., Chester-Jones, H. (1996). Association of somatotropin (BST) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 13(4): 373-381.

Lee, S.H., Kim, S.C., Chai, H.H., Cho, S.H., Kim, H.C., Lim, D., Choi, B.H., Dang, C.G., Sharma, A., Gondro, C., Yang, B.S., Hong, S.K. (2014). Mutations in calpastatin and μ -calpain are associated with meat tenderness, flavor and juiciness in Hanwoo (Korean cattle): molecular modeling of the effects of substitutions in the calpastatin/ μ -calpain complex. *Meat Science*, 96(4): 1501-1508.

Lechniak, D., Strabel, T., Przybyła, D., Machnik, G., Switoński, M. (2002). GH and CSN3 gene polymorphisms and their impact on milk traits in cattle. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 11: 39-45.

Li, X., Ekerljung, M., Lundström, K., Lundén, A. (2013). Association of polymorphisms of DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1, and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Science*, 94: 153-158.

Liu, Y.X., Xu, Ch., Gao, T.Y., Sun, Y. (2012). Polymorphisms of ATP1A1 gene associated with mastitis in dairy cattle. *Genetics and Molecular Research*, 11(1):651-660.

Lucy, M.C., Hauser, S., Eppard, P., Krivi, G., Clark, J., Bauman, D., Collier, R. (1993): Variants of somatotropin in cattle gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 10: 325-333.

Mao, Y.J., Chen, R.J., Chang, L.L., Chen, Y., Ji, D.J., Wu, X.X., Shi, X.K., Wu, H.T., Zhang, M.R., Yang, Z.P., König, S., Yang, L.G. (2012): Effects of SDC1- and DGAT1- genes on production traits of Chinese Holstein cows located in Delta Region of Yangtze River. *Livestock Science* 145, 280-286.

Marron, B., Robinson, J.L., Gentry, B.A., Beever B.E. (2004). Identification of a mutation associated with factor XI deficiency in Holstein cattle. *Animal Genetics*, 35(6): 454-456.

Masuda, Y., Kida, K., Matsui, M., Shimizu, T., Miyamoto, A. (2011). Relationships Between the First Ovulation Postpartum and Polymorphism in Genes Relating to Function of Immunity Metabolism and Reproduction in High Productivity Dairy Cows. *Journal of Reproduction and Development*, 57(1):135-142.

Meydan, H., Yidiiz, M.A., Ozdil, F., Gedic, Y., Ozbeyaz, C. (2009). Identification of factor XI deficiency in Holstein cattle in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51:5.

Molee, A., Poompramum, C., Mernkrathoke, P. (2015): Effects of casein genes – beta-LG, DGAT1, and GHR – on milk production and milk compustion traits in crossbred Holsteins. *Genetics and Molecular Research*, 14(1): 2561-2571.

Mukhopadhyaya, P.N., Jha, M., Muraleedharan, P., Gupta, R.R., Rathod, R.N., Mehta, H.H., Khoda, V.K. (2006). Simulation of normal, carrier and affected controls for large-scale genotyping of cattle for factor XI deficiency. *Genetics and Molecular Research*, 5: 323 – 332.

Murdoch, B.M., Clawson, M.L., Yue, S., Basu, U., McKay, S., Settles, M., Capoperi, R., Lazgreid, V., Williams J.L., Moore, S.S. (2010). PRNP haplotypes associated with classical BSE incidence in European Holstein cattle. *PLOS One*, 15 (9), pii:e12786.

Murdoch, B.M., Murdoch, G.K. (2015). Genetics of Prion Disease in Cattle. *Bioinformatics and Biology Insights*, 9 (Suppl. 4): 1-10.

Nani, J.P., Raschia, M.A., Carignano, H., Poli, M.A., Calvinho, L.F., Amadio, A.F. (2015), Single nucleotide polymorphisms in candidate genes and their relation with somatic cell scores in Argentinean dairy cattle. *Journal of Apply Genetics*, 56(4): 505-513.

Näslund, J., Fikse, W.F., Pielberg, G.R., Lundén, A. (2008). Frequency and effect of the bovine acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) K232A polymorphism in Swedish dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(5): 2127-2135.

Nordberg, E., Madson, P., Pedersen, J. (2009). A multi-trait genetic analysis of protein yield, udder health, and fertility in the first lactation Danish Holstein, Danish Red, and Danish Jersey using an animal model. *Acta Agriculturae Scandinavica Section A – Animal Sceince*, 59, 197 – 203.

Ogorevc, J., Kunej, T., Raspet, A., Dovc, P. (2009). Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. *Animal Genetics*, 40(6): 832-851.

Ohba, Y., Takasu, M., Nishii, N., Takeda E., Maeda, S., Kunieda, T., Kitagawa, H. (2008). Pedigree analysis for factor XI deficiency in Japanese black cattle. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, 68(12): 297-299.

Oikonomou, G., Angelopolou, K., Arsenos, G., Zygoyiannis. B., Banos, G. (2008). The effect of polymorphisms in the DGAT, leptin and growth hormone receptor gene loci

on body energy, blood metabolic and reproductive traits of Holstein cows. *Animal Genetics*, 40: 10-17.

Page, B.T., Casas, E., Heaton, M.P., Cullen, N.G., Hyndman, D.L., Morris, C.A., Crawford, A.M., Wheeler, T.L., Koohmaraie, M., Keele, J.W., Smith, T.P. (2002). Evaluation of single nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science*, 80: 3077-3085.

Page, B.T., Casas, E., Quaas, R.L., Thallman, R.M., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., White, S.N., Bennett, G.L., Keele, J.W., Dikeman, M.E., Smith, T.P. (2004). Association of markers in the bovine CAPN1 gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *Journal of Animal Science*, 82, 3474-3481.

Panicke L., Staufenbiel R., Fischer E. (2001): Relationship between parameters of the glucose tolerance test (GTT) in young sires and their estimated breeding value (EBV). *Czech Journal of Animal Science*, 46, 145–151.

Panicke, L., Staufenbiel, R., Burkert, O., Fischer, E., Reinhardt, F.,(2001). Relationships between parameters of the glucose tolerance test by young sires and estimated their breeding values (in German). *Arch. Tierz. – Arch. Anim. Breed.* 43, 231–239.

Pannier, L., Mullen, A.M., Hamill, R.M., Stapleton, P.C., Sweeney, T. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, 85(3): 515-518.

Pieper L., Staufenbiel R., Christ J., Panicke L., Muller U., Brockmann G.A. (2016): Heritability of metabolic response to the intravenous glucose tolerance test in German Holstein Friesian bulls. *Journal of Dairy Science*, 99, 7240–7246.

Pokorska, J., Dusza, M., Kułaj, D., Żukowski, K., Makulska, J. (2016). Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. *Genetics and Molecular Research*, 15(2): gmr15027247.

Pokorska, J., Kułaj, D., Dusza, M., Ochrem, A., Makulska, J. (2018). The influence of BOLA-DRB3 alleles on incidence of clinical mastitis, cystic ovary disease and milk

traits in Holstein Friesian cattle. *Molecular Biology Research*:2011 Jul 10, doi:10.1007/S11033-018-4238-0 [Epub ahead of print]

Raschia, M.A., Nani, J.P., Maison, D.O., Beribe, M.J., Amadio, A.F., Poli, M.A. (2018). Single nucleotide polymorphisms in candidate genes associated with milk yield in Argentinean Holsteins and Holstein X Jersey cows. *Journal of Animal Science and Technology*, 60:31-40.

Řehout, V., Filistowicz, A., Hanusová, L., Čítek, J., Košvanec, K., Hosnedlová, B. (2009). Genetic characteristics of Czech Red cattle. *Journal of Agrobiology*, 26 (1): 25-30.

Řehout, V., Košvanec, K., Hradecká, E., Čítek, J., Hanusová, L. (2007). Problémy a perspektivy chovu genové rezervy českých červinek. *Agromagazín*, 2: 42-45.

Sander, P., Hamann, H., Drögemüller, C., Kashkevich, K., Schiebel, K., Leeb, T. (2005) Bovine prion protein gene (PRNP) promoter polymorphisms modulate PRNP expression and may be responsible for differences in bovine spongiform encephalopathy susceptibility. *Journal of Biochemistry and Chemistry*, 280: 37408-37414.

Sanders, K., Bennewitz, J., Reinsch, N., Thaller, G., Prinzenberg, E.-M., Kühn, C., Kalm, E. (2006). Characterization of the DGAT1 mutations and the CSN1S1 promotes in the German Angeln dairy cattle population. *Journal of Dairy Science*, 89(8): 3164-3174.

Shirasuna K, Chio K, Chiaki M, Yuka A, Masuda Y, Kida K, Matsui M, Shimizu T, Miyamoto A. (2011). Relationships between the first ovulation postpartum and polymorphism in gene relating to function of immunity, metabolism and reproduction in high-producing dairy cows. *Journal of Reproduction. Dev.* 57: 135-142.

Schenkel, F., Miller, S., Jiang, Z., Mandell, I., Ye, X., Li, H., Wilton, J. W. (2006). Association of single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84(2): 291-299.

Schennink, A., Heck, J.M., Bovenhuis, H., Visker, M.H., van Valenberg, H.J., van Arendok, J.A. (2008). Milk fatty unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acylCoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1). *Journal of Dairy Science*, 91(5): 2135-2143.

Schennink, A., Heck, J.M., Bovenhuis, H., Visker, M.H., van Valenberg, H.J., van Arendonk, J.A. (2008). Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1). *Journal of Dairy Science*, 91(5):2135-2143

Schlee, P., Granul, R., Rottmann, O., Pirchner, F. (1994). Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of Simmental bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 111: 253-256.

Schneider, A., Correa, M.N., Butler, W.R. (2013). Association between growth hormone receptor AluI polymorphism and fertility of Holstein cows. *Theriogenology*, 80:1061-1066.

Signorelli, F., Orru, L., Napolitano, F., De Matteis, G., Scata, C.M., Catillo, G., Marchitelli, C., Moiola, B. (2009): Exploring polymorphisms and effects on milk traits of the *DGAT1*, *SCD1* and *GHR* genes in four cattle breeds. *Livestock Science* 125, 74-79.

Smaragdov, M.G. (2012). Study of the association between alleles of the growth hormone receptor and prolactin receptor genes of bulls and the milk productivity of their daughters. *Genetika*, 48(9): 1085-1090.

Sorensen, P., Grochowska, R., Holm, L., Henryon, M., Lovendahl, P. (2002): Polymorphism in the bovine growth hormone gene affects endocrine release in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 85: 1887-1893.

Spelman, R. J. (2002). Utilisation of molecular information in dairy cattle breeding. In: Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, 2002, Montpellier, France, Session 22, 22.02.

Sun, D., Jia, J., Ma, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Yu, Y., Zhang, Y. (2009). Effects of *DGAT1* and *GHR* on milk yield and milk composition in the Chinese dairy population. *Animal Genetics*, 40(6):997-1000.

Szyda, J., Komisarek, J. (2007): Statistical modeling of candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90, s. 2971-2979.

Taberlet, P., Valentini, A., Rezaei, H.R., Naderi, S., Pompanon, F., Negrini, R., Ajmone-Marsan, P. (2007). Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology*, 17(1): 275-284.

Taberlet, P., Coissac, E., Pansu, J., Pompanon, F. (2011). Conservation genetics of cattle, sheep and goats. *Comptes Rendus Biologies*, 334(3): 247-254.

Thaller, G., Krämer, W., Winter, A., Kaupe, B., Erhardt, G., Fries, R. (2003): Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science*, 81(8): 1911-1918.

Un, C., Oztabak, K., Ozdemir, N., Tesfaye, D., Mengi, A., Schellander, K. (2018). Detection of bovine spongiform encephalopathy – related prion protein gene promoter polymorphisms in local Turkish cattle. *Biochemics and Genetics*, 46 (11-12): 820-827.

Usman, T., Wang, Y., Liu, C., Wang, X., Zhang Y., Yu Y. (2015). Association study of single nucleotide polymorphisms in *JAK2* and *STAT5B* genes and their differential mRNA expression with mastitis susceptibility in Chinese Holstein cattle. *Animal Genetics*, 46(4): 371-380.

Vernerová, K., Tothová, K., Míková, A., Vodrážka, P., Šimek, B., Hanusová, L., Čítek, J. (2014). BSE-associated polymorphisms in the prion protein gene: an investigation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 131(5):104-108.

Viitala S., Szyda J., Blott S., Schulman N., Lidauer M., Maki-Tanila A., Georges M., Vilkki J. (2006): The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. *Genetics*, 173: 2151–2164.

Voříšková, J., Dufek, A., Hanusová, L., Šubrt, J., Homola, M. (2010) Vybrané faktory ve vztahu ke kvalitě hovězího masa.. *Výzkum v chovu skotu*, 52 (4): 85-97.

Wang, X., Xu, S., Gao, X., Ren, H., Chn, J. (2007). Genetic polymorphism of TLR4 gene and correlation with mastitis in cattle. *Journal of Genetics and Genomics*, 34(5): 406-412.

Washburn, S.P., Silvia W.J., Brown C.H., McDaniel B.T., McAllister, A.J. (2002). Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *Journal of Dairy Science*, 85: 244-251.

Watanabe, D., Hirano, T., Sugimoto, Y., Ogata, Y., Abe, S., Ando, T., Ohtsuka, H., Kunieda, T., Kawamura, S. (2016). Carrier rate of Factor XI deficiency in stunted Japanese black cattle. *Journal of Veterinary Medicine and Science*, 68(12): 1251-1255.

Weller, J. I., Ezra, E., Ron, N. (2017). Invited review: a perspective on the future of genomic selection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 100:1–12.

Weller, J.I., Golik, M., Serocussi, E., Ezra, E., Ron, M. (2003). Population-wide analysis of a QTL affecting milk fat production in the Israeli Holstein population. *Journal of Dairy Science*, 86: 2219-2227.

White, S. N., Casas, E., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C.C. Jr, Johnson, D.D., Keele, J.W., Smith, T.P.L. (2005). A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *Journal of Animal Science*. 83: 2001–2008.

Winter, A., Krämer, W., Werner F.A.O., Kollers, S., Kata, S., Durstewitz, G., Buitkamp, J., Womack, J.E., Thaller, G., Fries, R. (2002). Association of lysine232alanine polymorphism in bovine gene encoding acylCoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *PNAS*, 99: 9300-9305.

Zhang, R.F., Chen, H., Lei, C.Z., Zhang, C.L., Lan, X.Y., Zhang, Y.D., Zhang, H.J., Bao, B., Niu, H., Wang, X.Z. (2007). Association between Polymorphisms of MSTN and MYF5 Genes and Growth Traits in Three Chinese Cattle Breeds. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, 20: 1798-1804. ěš

Internetové zdroje

1. <https://www.statista.com/statistics/263979/global-cattle-population-since-1990/> (staženo 14.2.2019, 21:35)
2. <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/en/> (staženo 31. 1. 2019, 12:31)
3. www.fao.org/3/I9210EN/i9210en.pdf (staženo 31. 1. 2019, 12:55)
4. <https://www.globalagriculture.org/report-topics/meat-and-animal-feed.html> (staženo 31. 1. 2019, 13:10)
5. www.fao.org/3/I9286EN/i9286en.pdf (Staženo 31. 1. 2019, 13:08)
6. https://rgd.mcw.edu/rgdweb/ontology/view.html?acc_id=DOID:9004723 (staženo 10.11.2018, 23:12)