ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA AGROBIOLOGIE, POTRAVINOVÝCH A PŘÍRODNÍCH ZDROJŮ

KATEDRA GENETIKY A ŠLECHTĚNÍ

Kamýcká 129, 165 21 Praha 6-Suchdol, tel.: +420 224384571, fax: +420 234381801; e-mail: Majzlik@af.czu.cz

Č.j.:

V Praze, dne 14.6.2007

OPONENTSKÝ POSUDEK

na doktorskou disertační práci Ing. Aleše Matějíčka

„Analýza vztahů genů mléčných proteinů k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka u českého strakatého skotu"

Předložená práce řeší aktuální téma využití poznatků molekulární genetiky aplikací u skotu k zpřesnění selekce na množství a kvalitu mléka u českého strakatého skotu. Disertační práce je sepsána na 87 stránkách členěných do obvyklých 11 kapitol, práce obsahuje 32 tabulek a 5 grafů. V seznamu literatury je uvedeno 105 aktuálních pramenů převážně zahraniční provenience.

Literární přehled je zpracován v rozsahu 24 stran - je zaměřena na problematiku zvyšování kvality mléka pomocí cíleného šlechtění na základě známé genové výbavy pro produkci hlavních mléčných proteinů (kasein, laktalbumin, laktglobulin). Jsou uvedeny známé efekty v současnosti známých alel uvedených lokusů na kvalitu a množství mléka z dosavadního výzkumu u jednotlivých plemen s ohledem na využití a zpracování mléka. Přehled je doplněn o další markery související s produkcí mléka (prolaktin, růstový hormon ap.). Tato část práce je kvalitně zpracována, ukazuje na dobrou orientaci doktoranda v problematice a je dobrým východiskem k formulování tezí a cílů disertace následně uvedených.

Kapitola Materiál a metodika v adekvátním rozsahu uvádí použité pracovní postupy v laboratoři i postupy vyhodnocení výsledků.

Kapitola Výsledky a diskuze charakterizuje výsledky vlastní práce s ohledem na dílčí cíle práce, které byly naplněny a porovnává je údaji studované literatury. Vzhledem k získaným poznatkům jsou dosažené výsledky práce přínosem po stránce teoretické i metodické. Práce představuje vzhledem k četnosti souboru kvalitní modelovou studii, která se zabývá nejen genetickými aspekty a z nich vyplývajícími možnostmi šlechtění, ale i vyhodnocením kvality produktů.

Byly stanoveny alelické i genotypové frekvence na lokusech sledovaného souboru dojnic pro CSN, LGB.Dále byly vyhodnoceny vztahy genotypů lokusů ke kvantitativním parametrům mléčné užitkovosti za zkrácené laktace a vliv genotypů na parametry technologické kvality – zváště tato část práce je cenná. Na základě efektů genotypů je pak vyvozen i závěr pro šlechtění českého strakatého skotu s ohledem na dané vlastnosti.

Předložená disertační práce je po stránce formální pečlivě a přehledně zpracovaná a splňuje plně požadavky kladené na tento druh prací, jen doporučuji zvážit dle kontextu používání pojmu lokus, gen,(alela) – viz např str.71.

K autorovi práce mám následující dotazy:

- Jaká byla proměnlivost technologických parametrů mléka u jednotlivých genotypů?

- Byla technologická šetření provedena jen u individuálních vzorků nebo i u směsných vzorků?

- Jaké bylo schéma výběru zvířat českého strakatého skotu do šetření?

- Jaký směr experimentální činnosti ve sledované problematice lze v budoucnu předpokládat s ohledem na využití v selekčních programech pro skot?

Závěr:
Předložená disertační práce prokazuje, že ing. Aleš Matějíček má dobré znalosti v oboru molekulární genetiky, zvládá práci s vědeckou literaturou a je schopen realizovat a vyhodnotit náročné vědecké experimenty. Výsledky jeho práce rozšiřují možnosti aplikace poznatků molekulární genetiky ve šlechtění skotu, mají význam pro rozvoj oboru a jsou následně východiskem v další experimentální práci. Autor výsledky své práce publikuje v impaktovaném tisku.
Na základě všech výše uvedných skutečností souhlasím, aby disertační práce ing. Aleše Matějíčka byla přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení byl ing. Matějíčkovi udělen akademický titul „Doktor" (PhD).

V Praze 14.6.2007

doc. Ing. Ivan Majzlík, CSc
ČZU v Praze

Oponentský posudek disertační práce Ing.Aleše Matějíčka zpracované na téma „Analýza vztahů genů mléčných proteinů k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka u českého strakatého skotu“

Předložená disertační práce je zpracována v rozsahu 87 stran včetně 32 tabulek a 5 grafů. Pro zpracování práce, ale i pro celkovou orientaci v řešené problematice, využil autor 104 literárních pramenů tuzemských i zahraničních autorů souvisejících s tématem. Pozitivně hodnotím zejména vysoký podíl prací pocházejících z posledního pětiletého období. Rozdělení literárního přehledu do čtyř základních částí (geny mléčných bílkovin, další markery, metody stanovování genetických markerů a stručná charakteristika českého strakatého plemene) a odborná úroveň jeho zpracování, dokládá vysoké teoretické znalosti autora o řešené problematice. Dokladem odborné erudice je i široká vlastní publikační činnost autora (19 prací, z toho 4 vědecké publikace a ve 2 případech jako první autor).

Zvolené téma „Využití genetických markerů ke zvyšování kvality mléka“ u českého strakatého plemene je vysoce aktuální a zároveň potřebné jak z vědeckého, tak i praktického hlediska. Markery podporovaná selekce (MAS) kombinuje genotypové a fenotypové informace o jedinci s cílem zvýšit přesnost a intenzitu selekce, a to již v raném stadiu života (u telat) a tím zkrátit genetický interval a ještě uspořit testační kapacity (nemusíme plošně testovat vlastní užitkovost), a to vede ke snížení finančních nákladů na realizaci šlechtitelských programů. V práci je zcela správně uvedeno, že některé státy již genetické markery ve šlechtění dojeného skotu používají. Autor ale poukazuje na skutečnost, že křížením resp. využíváním zahraničních plemeníků mohou být ustálené vazby genů uvnitř populace porušeny. Z této skutečnosti vyplývá, že zahraniční poznatky naznačují směr, ale vlastní identifikace genů se musí provést i u tuzemských populací dojeného skotu. Vlastní práce přináší řadu teoretických i praktických poznatků, které mohou být využity při šlechtění českého strakatého skotu s důrazem na kvalitu mléka. Vyšší obsah mléčných složek je prioritou před zvyšováním dojivosti.

Cílem práce bylo ve sledované populaci prvotelek českého strakatého skotu stanovit alelické a genotypové četnosti genů mléčných bílkovin, analyzovat vztahy genů mléčných bílkovin k parametrům technologické kvality mléka. Dále pak zjistit společné efekty dvojic genů na všechny sledované parametry. Na základě zjištěných výsledků navrhnout možnost uplatnění v populaci českého strakatého plemene.

Na cíl práce navazuje kapitola „Materiál a metodika", která podrobně a naprosto srozumitelně popisuje jednotlivé kroky potřebné k naplnění náročného cíle, tj. charakteristiku sledovaného souboru, detekci polymorfismů sledovaných genů, stanovení parametrů kvality mléka a způsob statistického vyhodnocení. Vybrané ukazatele, metody a postupy hodnocení byly zvoleny správně a odpovídají současným vědeckým poznatkům z pohledu evropského i světového stupně poznání.

Na základě celkového posouzení práce je možno jednoznačně konstatovat, že zvolený, vysoce náročný cíl byl naplněn, i když je potřeba připomenout jeho složitost v teoretické oblasti, kterou autor zvládl velmi dobře. Při této příležitosti jde jen o to, aby autor v řešení dané problematiky pokračoval i v dalším období, nejlépe pak jako vědecký pracovník ve výzkumném ústavu či na univerzitě. Mohu konstatovat, že mladých schopných vědeckých pracovníků v oblasti genetických markerů určitě nemáme mnoho.

Předložená práce, v návaznosti na cíl a zpracovanou metodiku, přináší řadu nových teoretických poznatků, z nichž část může najít i praktické uplatnění při volbě strategie šlechtění českého strakatého plemene. Analýzou vztahů genů mléčných bílkovin k parametrům mléčné užitkovosti a technologické kvality mléka byl prokázán největší vliv genů CSN3, a to jak v samostatných analýzách, tak ve společném testování dvojice genů. Částečný vliv (pouze na některé složky) byl zjištěn u genů LGB a CSN2. Pouze gen CSN1S1 nebyl statisticky významný ve vztahu k žádnému ze sledovaných parametrů. V závěru práce doporučuje autor na základě zjištěných výsledků u 311 prvotelek ze čtyř vysokoprodukčních stád (dojivost na úrovni 6900 až 7600 kg) využít gen CSN3 pro účely šlechtění českého strakatého skotu, neboť v souladu s evropskými požadavky umožní zlepšit technologickou kvaltu mléka.

K předložené práci mám následující otázky resp. připomínky:

1. Vzhledem k náročnosti práce, zejména laboratorní, považuji pro doktorskou disertační práci 311 prvotelek za plně dostačující. Vzhledem k variabilitě sledovaných zvířat (např. rozdíl ve věku při I. otelení až 1 rok) dává analyzovaný soubor obecný přehled o populaci prvotelek českého strakatého plemene nebo je potřeba provést další šetření a analýzy?
2. Je-li správně uvedena spolupráce s laboratoří VÚCHS Rapotín, nemělo být v metodice uvedeno i to, kdo poskytl údaje z databáze KU?
3. Nejvyšší parametry mléčné užitkovosti byly zjištěny u prvotelek v chovu 1 a 4, vyšší kvalita sýřeniny pak v chovech 3 a 4. Lze na základě analyzovaných výsledků uvést, že jde o vliv chovu či jinou četnost alel a genotypů genů chovaných zvířat v jednotlivých podnicích.

Závěr:

Předložená doktorské disertační práce Ing. Aleše Matějíčka je zpracována na vysoké úrovni jak po obsahové, tak i formální stránce. Práce řeší velmi aktuální, ale zároveň i značně složitou problematiku a přesto se autorovi podařilo splnit náročný cíl. Práce na základě celé řady získaných výsledků přináší nejen originální poznatky, ale vyústila i v konkrétní návrh do šlechtění českého strakatého plemene.

Na základě celkového pozitivního hodnocení doporučuji práci k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení doporučuji, aby byl Ing. Aleši Matějíčkovi udělen akademický titul

„ d o k t o r“

V Praze 9.června 2007

Prof.Ing. Jaroslav Pytloun, DrSc.

Oponentský posudek

disertační práce

„Analýza vztahů genů mléčných proteinů k parametrům mléčné užitkovosti a kvality mléka u českého strakatého skotu“

Autor: Ing. Aleš Matějíček
Školitel: prof. Ing. Jan Frelich, CSc.
Oponent: doc. Ing. Josef Bouška, CSc.

Předložená doktorská disertační práce se zabývá velmi aktuální problematikou chovu skotu. Zlepšování nutriční, technologické a zdraví lidí prospěšné kvality mléka, využitím molekulárně genetických metod ve šlechtění, je jednou z reálných možností zlepšení konkurenceschopnosti chovu našeho dojeného skotu v evropském měřítku. Zdařilým příspěvkem k řešení tohoto problému je i tato předložená práce, která je velmi přehledně zpracována v rozsahu 87 stran včetně tabulek a grafů.

V práci je potřebné ocenit velmi podrobný literární přehled obsahující nejnovější publikované údaje o řešené problematice. Tato část práce svědčí o velmi dobré teoretické přípravě doktoranda řešit zadané téma. Pozitivně v této části rovněž hodnotím přehled nejvýznamnějších metod stanovení genetických markerů, tedy metod, které v dalším období významně ovlivní genetický pokrok v populacích hospodářských zvířat u ekonomicky rozhodujících vlastností a znaků.

Velmi vhodně jsou stanoveny postupné cíle disertační práce. Ty na sebe logicky navazují a to zcela v souladu s předpokládaným postupem řešení. Vlastní metodika je zpracována pečlivě a nemám k ní závažnější připomínky. Do sledování bylo zařazeno 331 prvotelek českého strakatého skotu. Kladem výběru analyzovaných prvotelek je skutečnost, že úroveň průměrné mléčné užitkovosti ve 4 sledovaných chovech se za 1. normovanou laktaci pohybovala v rozmezí 6 900 kg až 7 600 kg mléka. Jde tedy o špičkové chovy českého strakatého plemene. Z toho lze logicky odvodit, že následné výsledky dávají poměrně objektivní obraz o současném stavu i možnostech dalšího řešení šlechtitelských postupů u českého strakatého skotu. Pro vlastní statistická vyhodnocení výsledků práce byly zvoleny vhodné postupy a modely. K této části mám však malou připomínku. Na str. 32 je uvedeno třídění souboru prvotelek podle „podílu krve českého strakatého skotu“. I když tento výraz používají i jiní autoři, přesto považuji za správný termín označení: „genetický podíl českého strakatého skotu“.

Vlastní výsledky práce jsou presentovány velmi přehledně a účelně, včetně jejich konfrontace se závěry ostatních autorů. Je poměrně potěšitelným zjištěním četný výskyt alely A^2 genu CSN2 a následné zastoupení žádoucího genotypu A^2A^2 v rozmezí podílu zvířat na úrovni 22,1 % až 45,1 % podle jednotlivých chovů. Poměrně velmi příznivé četnosti genotypů

v kombinaci genů CSN2 + CSN3 na úrovni podílu zastoupení A^2A^2AB – 16,6 %; A^2A^2BB – 2,6 %; A^1A^2AB – 18,4 %; A^1A^2 – 5,1 %, považuji za velmi nadějné v souvislosti s dalším uplatněním českého strakatého skotu v systémech dojeného skotu u nás. Zjištění, že plných 42,7 % prvotelek z hodnoceného souboru je v kombinaci genů CSN2 + CSN3 nositeli příznivých alel u obou genů a to z hlediska nutriční a technologické kvality mléka i jeho zdravotní vhodnosti konsumu, je pro budoucnost tohoto plemene důležité a velmi nadějné.

U analýzy vztahů genů mléčných bílkovin k užitkovosti za 100 a 200 denní úseky laktace je významné zjištění, že pouze v případě genu CSN3 byl statisticky prokázán vztah genotypu k ukazatelům mléčné užitkovosti a to obsahu bílkovin v mléce. Práce v tomto směru potvrdila, že genotypy obsahující alelu B v tomto genu, vykazují vyšší obsah bílkovin, což je v plném souladu se zjištěními ostatních autorů.

Při hodnocení vztahu mezi ukazateli mléčné užitkovosti a jednotlivými genotypy podle genu CSN2, je podle mého názoru potřebné hodnotit nejlepší skupiny (A^1B; BB) velmi zdrženlivě s ohledem na velmi nízký počet hodnocených jedinců.

Předností doktorské disertační práce jsou i provedené analýzy společného efektu genotypů různé kombinace genů. Výsledky této části jsou však zřejmě ovlivněny významně se lišícími četnostmi hodnocených genotypů, zejména z pohledu posouzení statistické významnosti rozdílů mezi skupinami. Tyto rozdílné četnosti jsou objektivně dány podílem v zastoupení jednotlivých alel u vybraného souboru prvotelek a autor správně upozorňuje na informativní charakter těchto výsledků. Přesto si myslím, že práce přináší i v tomto směru velmi zajímavé závěry a pro zlepšení kvality šlechtění českého strakatého skotu u nás je na této problematice potřebné dále intenzívně pracovat.

I když nebylo cílem práce stanovit alelické a genotypové četnosti genů mléčných bílkovin u jednotlivých skupin prvotelek tříděných podle genetického podílu českého strakatého plemene, přesto si myslím, že výsledky této analýzy měly být v práci uvedeny. Analýza vlivu genetického podílu českého strakatého skotu na frekvenci analyzovaných alel resp. genů by jistě přinesla poznatky související se změnou těchto četností zapříčiněnou imigrací genů jiných plemen do populace českého strakatého skotu. Vyhodnocení tohoto vlivu mohlo přinést jeden ze závěrů resp. doporučení pro další šlechtění tohoto plemene.

K vlastní práci mám následující dotazy:

- V práci je uvedeno, že MAS kombinuje genotypové a fenotypové informace o jedinci s cílem zvýšit přesnost a intenzitu selekce. Jak je možné zvýšit intenzitu selekce uplatněním MAS?
- Jak se mění četnosti alel resp. genotypů podle genu CSN2 a CSN3 resp. při jejich kombinaci u skupin prvotelek tříděných podle genetického podílu českého strakatého skotu? Jaká doporučení je možné z této analýzy učinit pro další šlechtění českého strakatého skotu.
- Jak si autor vysvětluje poměrně velké rozdíly v podílu genotypů A^2A^2 u genu CSN2 podle jednotlivých chovů v rozmezí 22,1 % až 45,1 %, u genu CSN3 u genotypu BB v rozmezí 5,6 % až 14,5 %.

Závěr:

Doktorská disertační práce ing. Aleše Matějíčka je zpracována na vysoké odborné úrovni. Plně odpovídá nárokům na tento druh prací jak po stránce formální, tak i obsahové. Autor splnil zadané cíle a vlastní výsledky přinášejí nové poznatky velmi dobře využitelné v praxi. V tomto směru lze konstatovat, že výsledky doktorské disertační práce jsou velmi dobrým příspěvkem pro určení směrů šlechtění v systému regulované produkce mléka. Zlepšování kvalitativních parametrů produkce je nezbytné pro zachování konkurenceschopnosti prvovýroby, ale i zpracovatelů mléka v evropském měřítku. Uchování a zlepšení cenných vlastností českého strakatého skotu, geneticky fixovaných, je jednou z cest k naplnění tohoto záměru.

Ing. Aleš Matějíček prokázal potřebnou odbornou erudici i schopnost vědecky pracovat. Doporučuji jeho doktorskou disertační práci k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení doporučuji, aby jmenovanému byl udělen vědecko-akademický titul „doktor“ ve zkratce Ph.D.

doc. Ing. Josef Bouška, CSc.

V Praze 13.6.2007