



ZÁPIS O OBHAJOBĚ DIZERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Ing. Jitka KAUTSKÁ
Narozen(a): 5. 11. 1970 v Teplicích
Studijní program: Zootechnika
Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat
Forma studia: Prezenční
Školící pracoviště: KZVE FZT JU v Č. Budějovicích

Datum a místo konání zkoušky: 23. 6. 2022, FZT JU

Zkušební termín č.: 1

Název dizertační práce:

Úroveň energetického metabolismu dojníc a složení mléčného tuku

Výsledek obhajoby

Prospěl(a)

Neprospěl(a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	Doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček.; Mendelova univerzita v Brně, AF	
Členové	prof. Ing. Eva Straková, Ph.D.; VFU Brno, FVHE (oponentka)	
	prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Helena Chaloupková, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ	
	doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně, AF (oponent)	ONLINE
	doc. Ing. Roman Konečný, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích (oponent)	
Školitel:	prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.; FZT JU v Č. Budějovicích	



OBHAJOBA DIZERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: Ing. Jitka KAUTSKÁ
Narozen(a): 5. 11. 1970 v Teplicích
Studijní program: Zootechnika
Studijní obor: Zoohygiena a prevence chorob hospodářských zvířat
Forma studia: Prezenční

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 10

Počet platných hlasů: 10

Počet neplatných hlasů: 0

Počet přítomných členů komise: 9 + 1 online

Kladných: 10

Záporných: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	Doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček.; Mendelova univerzita v Brně, AF	
Členové	prof. Ing. Eva Straková, Ph.D.; VFU Brno, FVHE (oponentka)	
	prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Helena Chaloupková, Ph.D.; ČZU v Praze, FAPPZ	
	doc. Ing. Naděžda Kernerová, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně, AF (oponent)	ONLINE
	doc. Ing. Roman Konečný, Ph.D.; FZT JU v Č. Budějovicích	
	doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.; FZT JU v Českých Budějovicích (oponent)	

OBHAJOBA DIZERTAČNÍ PRÁCE ING. JITKA KAUTSKÁ

V Českých Budějovicích dne 23.6.2022

1. Oponentský posudek prof. Ing. Eva Straková, Ph.D.

Formální náležitosti k předložené práci

- 1. V metodické části práce by měly být jednoznačně uvedeny počty sledovaných zvířat, tento údaj je uveden až ve výsledkové části práce jako součást tabulek.**

Ano, v metodické části údaje o počtech zvířat chybí, jsou uvedeny pouze ve výsledkové. Počet dojnic zařazených do sledování vlivu laktace a obsahu ketolátek v mléce na zastoupení mastných kyselin v mléce byl 462. Počet dojnic v experimentech s intraruminálním inzertem monenzinu byl celkem 158.

- 2. Mělo by být zmíněno kritérium, podle kterého byla zvířata rozdělena na skupinu kontrolní a pokusnou. V jakém ročním období bylo pokusné sledování realizováno**

Pro hodnocení vztahu mezi parametry energetického metabolismu a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku byly vybrány dojnice ze čtyř kontrol užítkovosti, a to z října a listopadu 2015 a června a července 2016. Dojnice byly rozděleny, tak jak je uvedeno ve výsledkových tabulkách, do 3 skupin: 1. skupina do 30 dnů laktace (n 123), 2. skupina 31-60 dnů (n 129) a 3. skupina 61-100 dní laktace (n 210)

Hodnocení účinku monenzinu na energetický metabolismus proběhlo ve 2 pokusech: 1. od 26.10.2016 do 25.4. 2017. 2 pokus od 4.10.2017 do 23.11.2017.

Dojnice do pokusné a kontrolní skupiny vybírány tak, aby se neodlišovaly v užítkovosti; takže například předcházející 100denní laktace u dojnic kontrolní skupiny byla $3637,0 \pm 566,0$ kg mléka a u pokusné skupiny $3623,0 \pm 944,0$ kg mléka a průměrný denní nádoj v předcházející laktaci byl 36,3 kg u kontrolní 36,2 kg u pokusné skupiny.

- 3. V metodické části práce by měly být uvedeny statistické metody, matematicko-statistické charakteristiky a hladiny významnosti, které byly použity pro zpracování, vyhodnocení a interpretaci dosažených výsledků doktorské práce.**

Ano, statistické metody, matematicko-statistické charakteristiky a hladiny významnosti v metodické části chybí, jsou uvedeny ve výsledkové části práce, jsou opět uvedeny v opravném listu k dizertační práci:

Pro statistické vyhodnocení výsledků byly zvoleny programy Microsoft Office Excel a Statistica (StatSoft CR s.r.o).

Pro analýzu nezávislých proměnných byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA), v případě rozdílů bylo následné porovnání mezi skupinami provedeno pomocí Tukeyova HSD testu pro nestejný počet N. Homogenita rozptylu souborů byla ověřena pomocí Levenova testu. Statistická významnost byla vyhodnocena při obvyklých hladinách významnosti ($p < 0,05$; $0,01$; $0,001$).

Pomocí korelační analýzy byla hodnocena závislost mezi obsahem ketolátů v mléce nebo hormonů štítné žlázy a mastnými kyselinami.

- 4. V metodické části práce by mělo být uvedeno, jak byl získán biologický materiál, resp. blíže specifikovat například odběr krve, moči, mléka. Jaké ukazatele byly sledovány v krevní plazmě a krevním séru. V jakou denní dobu byly například vzorky mléka odebírány apod.**

Ano, v metodické části chybí metoda získání biologického materiálu.

Analýza mléka

Analýzy mléka probíhaly v LRM Buštěhrad a v laboratoři katedry Zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Krev a moč byla analyzována v laboratoři katedry Zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Pro analýzu základního složení mléka a zastoupení mastných kyselin v mléce byla zvolena metoda infračervené spektroskopie ve středové oblasti s využitím Fourierových informací (MIR-FT).

Ve vzorcích mléka byly výše uvedenou metodou stanoveny následující ukazatele:

1. složení mléka – mléčný tuk, bílkovina, laktóza, poměr tuk/bílkovina (T/B), aceton, kyselina beta hydroxymáselná (BHB), močovina
2. obsah mastných kyselin a jejich skupin v mléce (g/100 g mléka) – mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA), mastné kyseliny se střední délkou řetězce (MCFA), mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA), nasycené mastné kyseliny (SFA), mono-(MUFA) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), nenasycené mastné kyseliny (UFA), *trans* mastné kyseliny (TFA), kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina olejová.

Ve vzorcích mléka byly dále stanoveny v laboratoři FZT JU tyto parametry:

1. obsah mědi (Cu) a zinku (Zn) atomovou absorpční spektrometrií (AAS)
2. obsah jódu spalovací alkalickou metodou dle Sandell-Kollthofa

Analýza krve

Všechny analýzy krve včetně stanovení obsahu mědi, zinku a jódu v mléce dojnic byly provedeny v hematologické a biochemické laboratoři FZT JU, jednotlivé metody, resp. přístroje jsou uvedeny v závorce.

Ve vzorcích krve (krevní plazmy, krevního séra) byly stanoveny:

1. parametry energetického metabolismu: kyselina β -hydroxymáselná, neesterifikované mastné kyseliny, glukóza, cholesterol, triacylglyceroly, bílkoviny krevní plazmy, močovina, jaterní enzymy, (biochemický analyzátor Ellipse, spektroskopické metody)
2. hormony štítné žlázy T3, T4: krevní sérum, krevní plazma, RIA metoda, testy od firmy Beckman Coulter Praha
3. TSH byl stanoven metodou ELISA (sendvičová metoda) z krevního séra, testy od firmy SEDIUM Research and Development Pardubice

5. Chybí údaje o uchování a úpravě biologického materiálu před vlastní analýzou

Stanovení hematologických parametrů se provádělo z plné krve ještě v den odběru, tedy asi do 6 h. po odběru. Biochemické parametry z krevní plazmy nejpozději následující den odběru. Pro analýzy TSH a hormonů štítné žlázy T4 a T3 se krevní sérum, resp. krevní plazma uchovávaly do vlastní analýzy (většinou do 1 měsíce) při -20° , obdobně i vzorky mléka případně moči pro stanovení minerálních látek. Acidobazický výluček moče se stanovoval v den odběru moče. Vzorky mléka pro stanovení mastných kyselin v mléčném tuku byly rovněž do analýzy uchovány při -20° .

6. Mělo by být uvedeno, na jakém pracovišti byl biologický materiál analyzován

Analýzy mléka probíhaly v LRM Buštěhrad a v laboratoři Katedry zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Krev a moč byla analyzovaná v laboratoři Katedry zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

7. Metodická část práce neuvádí přehled sledovaných mastných kyselin, resp. které mastné kyseliny reprezentovaly skupinu nasycených mastných kyselin a skupinu MUFA a PUFA. Obdobně není definovaná skupina mastných kyselin s krátkým, středně dlouhým a dlouhým uhlíkatým řetězcem, Ve výsledkové části je zmíněná pouze kyselina palmitová, stearová a olejová

Metoda stanovení mastných kyselin (MK) v mléčném tuku užívaná v Laboratoři pro rozbor mléka v Buštěhradu umožňuje stanovení kromě kyselin palmitové, stearové a olejové, pouze komplexy kyselin, tak jak je v práci uvedeno.

Skupinu MK s krátkým řetězcem představují MK s méně než 6 atomy uhlíku v řetězci, MK se středně dlouhým řetězcem, pak kyseliny s 6-12 atomy uhlíku a MK s dlouhým řetězcem MK se 14 až 20 uhlíky v řetězci.

Skupinu MK nasycených (SAFA) reprezentují kyseliny neobsahující dvojné vazby, jsou to například kyseliny: máselná (C4), kaprilová (C8), kaprinová (C10), laurová (C12), miristová (C14), palmitová (C16), stearová (C18) a arachidová (C20)

Skupinu mononenasycených MK (MUFA) představují zejména k. palmitoolejová (C16:1n7), k. olejová (C18:1n9) a skupinu polynenasycené mastné kyseliny (PUFA): linolová, k. linolenová, k. arachidonová

8. Metodická část práce uvádí přehled ukazatelů, které budou sledovány v moči. Výsledky tohoto sledování se v práci ztrácejí, požádám o jejich interpretaci při obhajobě

Při hodnocení metabolického dopadu monenzinu se posuzovaly i parametry moče, a to obsah makroprvků, obsah močoviny a acidobazický stav a orientačně aceton. Acidobazický výluček byl stanoven titračně, makroprvky a močovina biochemickým analyzátozem Ellipse.

Rozdíly mezi skupinami nebyly významné. Ve srovnání s fyziologickým rozmezím se, jak makroprvky, tak obsah močoviny nacházely ve spodní polovině rozmezí, v případě fosforu na spodní úrovni. Pro fosfor v moči se referenční rozmezí uvádí 0,32-5,17 mmol/litr, dílčí průměry u pokusné skupiny byly v rozmezí 0,75-1,76 mmol/l a u kontrolní 0,79 – 2,09 mmol/l. Trvale byl vysoký bazický výluček, který přesahoval 200 mmo/l. Vzhledem k nevýrazným rozdílům mezi skupinami jsem tyto výsledky do práce nezařadila, ale v metodice jsem odkaz na vyšetření bohužel ponechala.

9. Určité informace uvedené v kapitole Výsledky a diskuze patří spíše do metodické části práce

Náměty do diskuze k předložené práci

- 1. Monenzin je označení pro účinnou látku, která se pozvolna uvolňuje v organismu zvířete. Jsou známe údaje o přibližném denním množství uvolněného monenzinu a době trvání jeho účinnosti? Jaký přípravek na bázi monenzinu byl v doktorské práci použitý resp. Pod jakým obchodním názvem.**

V práci byl použitý přípravek s obchodním názvem KEXXTONE firmy ELANCO. Každý intraruminální inzert obsahuje 12 podjednotek, přičemž každá obsahuje 2,7 g Monensinum, celkem tedy 32,4 g monenzinu. Výrobce garantuje účinek bolusu 95 dní. Za tohoto předpokladu se tedy uvolňuje denně do bachoru v průměru 335 mg monenzinu.

- 2. Doktorská práce pojednává o pozitivním vlivu monensinu na metabolismus dojnic. Existují i rizikové faktory použití této účinné látky?**

Monenzin patří do farmakoterapeutické skupiny polyéterových ionoforů, speciálně do karboxylové podskupiny. Ty jsou produktem přirozené fermentace *Streptomyces cinnamomensis*. Interakce s dalšími léčivými přípravky podle výrobce není známa. Ve vzácných případech mohou vznikat zažívací problémy (průjem, žaludeční potíže). Může dojít také k předávkování zvířete účinnou látkou v případě náhodného podání více než jednoho intraruminálního bolusu.

- 3. Existují ochranné lhůty vůči bezpečnému použití mléka, případně masa, od jedinců, u nichž byla účinná látka monenzin použita?**

Přípravek Kexxtone nemá ochranné lhůty ani na maso, ani na mléko. Mléko a maso zvířat ošetřených tímto přípravkem lze uvádět do oběhu bez omezení. Monenzin stabilizuje pouze bachorovou mikroflóru, podporuje růst bakterií produkující kyselinu propionovou a potlačuje konkurenční bakterie. Tento fakt uvádí i v příbalovém letáku výrobce produktu. Výrobce uvádí, že výrobek splňuje maximální legální limity reziduí.

- 4. V daném zemědělském podniku byl monenzin aplikován pouze v rámci experimentální práce nebo byl v daném zemědělském podniku, kde biologické sledování probíhalo, využíván a zemědělský podnik má s touto účinnou látkou zkušenosti?**

Přípravek KEXXTONE byl v minulosti v zemědělském podniku používán jako prevence u zvířat s predispozičními faktory pro vznik ketóz po porodu (vyšší hodnocení BCS, dojnice na 3 a vyšší laktaci, dojnice, u kterých již ketóza byla zaznamenána v předchozí laktaci). V současnosti se zemědělský podnik snaží jít cestou prevence ve smyslu precizně vyvážené a optimální krmné dávky, udržení optimální kondice dojníc v jednotlivých fázích laktace a celkově dobrého zdravotního stavu. S ohledem na příznivé účinky aplikace monenzinu však zvažujeme jeho opětovné zařazení do preventivního programu

- 5. Požádám doktorandku o vyjádření, jestli na základě získaných výsledků zemědělský podnik, kde se pokusné sledování uskutečnilo, upravoval výživu dojníc nebo zasahoval do managementu chovu dojníc, resp. využil výsledky doktorské práce.**

Výsledky práce byly poskytnuty poradci na výživu, který působí v zemědělském podniku, kde probíhalo sledování. Ke změnám v krmné dávce, po dohodě s výživářským poradcem, došlo. Došlo k úpravě krmné dávky u dojníc v tzv. rozdoji a u suchostojných krav.

- 6. Je možné na základě získaných výsledků stručně formulovat doporučení pro zemědělskou praxi?**

Na základě výsledků bych formulovala doporučení pro praxi takto:

1. Použití monenzinu jako prevence vzniku ketóz se potvrdilo jako účinné
 2. Jeho použití bych zvolila v případě nezvládnutého managementu výživy vysokoprodukčních dojníc, nebo u dojníc u nichž se v minulosti ketóza po porodu vyskytla, jako preventivní opatření (např. nedostatečně optimalizovaná krmná dávka – ztučnění krav před porodem)
 3. V rámci plošného použití, jako prevence ketóz, je v dnešní situaci nutné zohlednit i ekonomickou stránku
- 7. Požádám doktorandku o úvahu, jak může předložená doktorská práce přispět k rozvoji vědy, kam by v budoucnu chtěla v oblasti vědecko-výzkumné dále směřovat.**

Domnívám se, že by na práci mohly navázat další obdobné studie, ve kterých by mléko plnilo funkci nejen potraviny, ale bylo by odrazem vnitřního prostředí dojníc. Od roku 2021 do roku 2025 patříme (Agropodnik Košetice) mezi spolupracující organizace při řešení projektu NAZV zaměřeného na studium funkčního stavu dojníc a vylučování přirozených a kontaminujících inhibičních látek mlékem. Nositel grantu je FZT JU v Č. Budějovicích.

Myslím si, že práce je pro mě i motivací k hledání další forem spolupráce s vývojovými a výzkumnými organizacemi nebo školami za účelem zvyšování odolnosti, užitkovosti dojnic a kvality mléka. Např. byly na našem pracovišti zpracovávány dvě diplomové práce, jedna se zaměřením na zdravotní a produkční účinek imunomodulačního preparátu Imrestoru, druhá se týkala dynamiky metabolických parametrů u dojnic s laktací 14 000 kg mléka.

2. Oponentský posudek doc. Ing. Petr sláma, Ph.D.

Formální náležitosti k předložené práci

1. V kapitole Materiál a metodika chybí způsob odběrů krve, moči a mléka

Krev byla odebírána z ocasní žíly, pro získání séra do sterilní odběrové soupravy HEMOS-01 případně skleněných zkumavek, pro získání krevní plazmy do zkumavek s heparinem a pro vyšetření hematologických parametrů do zkumavek s antikoagulačním prostředkem EDTA. Po odběru byla krev uložena do termoboxu a převezena do laboratoře FZT JU. Ve stejný den byly katetrizací odebírány vzorky moče. Vzorky byly odebírány v dopoledních hodinách. Individuální vzorky mléka (průměrné vzorky) byly odebírány v rámci kontroly užitkovosti, ve stejný den jako vzorky krve. Biologický materiál byl do doby zpracování uchováván při teplotě -20 °C (podle typu materiálu od 1 do 6 měsíců).

Náměty do diskuze k předložené práci

1. Jaké byly použity RIA metody a jaká ELISA při stanovení hormonů štítné žlázy a tyreotropinu?

Všechny analýzy krve včetně stanovení obsahu jódu v mléce dojníc byly provedeny v hematologické a biochemické laboratoři katedry zootechnických věd ZF JU v Českých Budějovicích.

Stanovení celkového T4 a T3

- Celkový tyroxin a trijódtyronin byl stanoven z krevního séra RIA (radioimunologicky) metodou pomocí testů firmy Beckman Coulter ČR s.r.o. Radioimunologické metody se vyznačují vysokou specifitou a citlivostí. Vázané frakce se stanovují tak, že se neznámý vzorek a kalibrátor inkubuje spolu s ^{125}I – tyroxinem jako radioindikátorem ve zkumavkách, které jsou potažené protilátkou. Po inkubaci se obsah zkumavky odsaje a navázaná aktivita se změří gama – měřičem. Následně se sestrojí kalibrační křivka a z ní se odečítají koncentrace T4 a T3 v neznámém vzorku

Stanovení celkového TSH

- Koncentrace TSH v krevním séru byla stanovena imunoanalytickou metodou s fotometrickou detekcí (ELISA test). Tato metoda má řadu variant. Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky, přičemž na jednoho z těchto partnerů je kovalentně navázán enzym (nejčastěji peroxidáza nebo alkalická fosfatáza). Enzym katalyzuje chemickou přeměnu substrátu, který je přidán do reakční směsi, na produkt, který je barevný. Stanovuje se spektrofotometricky, nebo na základě fluorescence (fluorimetrické stanovení). Koncentrace produktu je úměrná koncentraci antigenu nebo protilátky ve vzorku.

2. Která stanovení, analýzy a odběry vzorků byly provedeny samotnou autorkou práce, které byly provedeny ve spolupráci s jinými osobami?

Veškeré odběry vzorků jsem prováděla v zemědělském podniku Košetice v součinnosti s Veškeré odběry vzorků jsem prováděla v zemědělském podniku Košetice v součinnosti s veterinárním lékařem. Analýzy vzorků probíhaly jednak v Laboratoři pro rozbor mléka v Buštěhradě a další analýzy v laboratoři katedry FZT JU. Následně jsem veškerá data editovala a zpracovávala.

3. Kdyby autorka měla pokračovat v práci na daném tématu, kam by zaměřila svůj zájem a výzkum?

Jak jsem již uvedla na dotaz prof. Strakové, ráda bych pokračovala ve spolupráci se zemědělskou a technologickou fakultou JU na jejich výzkumných projektech, ale i s jinými vývojovými pracovišti. Spolupráce umožňuje využít metabolických vyšetření, hodnocení kvality produktu, ověřování léčebných nebo preventivních preparátů, například Imrestor.

Na základě výsledků práce, se uvedené formy spolupráce odrazily v posílení zdraví dojníc a kvality produkce. Aktuálně se jeví spolupráce na sledování vlivu kondice zvířat na vylučování přirozených, ale zejména kontaminujících (například antibiotik) do mléka.

4. Jsou výsledky prakticky využitelné? Využívá je podnik, kde byly odebírány vzorky?

Na základě výsledků práce proběhly v součinnosti s poradcem na výživu úpravy v krmné dávce dojníc. V současnosti zvažujeme s ohledem na dosavadní výsledky opětovné zavedení preventivního podávání přípravku Kexxtone dojnícím s predispozicemi ke ketózám.

3. Oponentský posudek doc. Ing. Jan Beran, Ph. D.

Formální náležitosti k předložené práci

1. **Kapitola Materiál a metodika:** Chybí počty sledovaných zvířat, postupy jednotlivých experimentů (informace, jak byl získán biologický materiál, kde a jakými metodami byly vzorky vyhodnoceny). Chybí způsob vyhodnocení výsledků (matematicko-statistické metody, hodnocené statistické charakteristiky).

Odběry vzorků krve, mléka a moče

Krev byla odebírána z ocasní žíly, pro získání séra do sterilní odběrové soupravy HEMOS-01 případně skleněných zkumavek, pro získání krevní plazmy do zkumavek s heparinem a pro vyšetření hematologických parametrů do zkumavek s antikoagulačním prostředkem EDTA. Po odběru byla krev uložena do termoboxu a převezena do laboratoře FZT JU. Ve stejný den byly katetrizací odebírány vzorky moče. Vzorky byly odebírány v dopoledních hodinách. Individuální vzorky mléka (průměrné vzorky) byly odebírány v rámci kontroly užitkovosti, ve stejný den jako vzorky krve. Biologický materiál byl do doby zpracování uchováván při teplotě -20 °C (podle typu materiálu od 1 do 6 měsíců).

Stanovení hematologických parametrů se provádělo z plné krve ještě v den odběru, tedy asi do 6 h. po odběru. Biochemické parametry z krevní plazmy nejpozději následující den odběru. Pro analýzy TSH a hormonů štítné žlázy T4 a T3 se krevní sérum, resp. krevní plazma uchovávaly do vlastní analýzy (většinou do 1 měsíce) při -20 °, obdobně i vzorky mléka případně moči pro stanovení minerálních látek. Acidobazický výluček moče se stanovoval v den odběru moče. Vzorky mléka pro stanovení mastných kyselin v mléčném tuku byly rovněž do analýzy uchovány při -20 °.

Aplikace monenzinu dojnícím a jeho působení

Monensin byl dojnícím/jalovicím podáván ve formě bolusu – intraruminálního inzertu s obsahem monensinu 32,4 g s kontinuálním uvolňováním v součinnosti s veterinárním lékařem. Inzert je válcovitého tvaru, tělo inzertu je opatřeno křídélky, a označený unikátním číslem. Inzert obsahuje 12 podjednotek, každá z podjednotek obsahuje 2,7 g monensinu, po dobu asi 95 dnů dochází k uvolňování průměrně 335 mg monensinu za den. Inzert byl dojnícím podáván 3 týdny před předpokládaným otelením. Po podání inzertu byly dojnice drženy v uzavřených prostorách po dobu 1 hodiny po podání, aby bylo možné sledovat neúspěšné polknutí nebo regurgitaci. Pokud k nim dojde, je možné nepoškozený inzert znovu podat. Nelze opětovně podávat poškozený inzert. V průběhu dalších 4 dní, byly dojnice kontrolovány, zda nevykazují

příznaky uvíznutí intraruminálního inzertu v jícnu. Po podání intraruminálního inzertu je mléko i maso bez ochranných lhůt

Analýza vzorků

Analýza mléka

Analýzy mléka probíhaly v LRM Buštěhrad a v laboratoři katedry Zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Krev a moč byla analyzovaná v laboratoři katedry Zootechnických věd, Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích. Pro analýzu základního složení mléka a zastoupení mastných kyselin v mléce byla zvolena metoda infračervené spektroskopie ve středové oblasti s využitím Fourierových informací (MIR-FT). Jedná se o metodu nepřímého (rutinního) stanovení zastoupení mastných kyselin. Pro tento účel bylo využito zařízení CombiFoss FT+ (Foss Analytical A/S, Denmark) sestávající z kombinace přístrojů MilkoScan FT+ 76150 a Fossomatic FC 79910. Kapacita tohoto zařízení umožňuje zpracovat 500 vzorků za hodinu.

Ve vzorcích mléka byly výše uvedenou metodou stanoveny následující ukazatele:

3. složení mléka – mléčný tuk, bílkovina, laktóza, poměr tuk/bílkovina (T/B), aceton, kyselina beta hydroxymáselná (BHB), močovina
4. obsah mastných kyselin a jejich skupin v mléce (g/100 g mléka) – mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA), mastné kyseliny se střední délkou řetězce (MCFA), mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA), nasycené mastné kyseliny (SFA), mono-(MUFA) a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA), nenasycené mastné kyseliny (UFA), *trans* mastné kyseliny (TFA), kyselina palmitová, kyselina stearová, kyselina olejová.

Skupinu MK s krátkým řetězcem představují MK s méně než 6 atomy uhlíku v řetězci, MK se středně dlouhým řetězcem, pak kyseliny s 6-12 atomy uhlíku a MK s dlouhým řetězcem MK se 14 až 20 uhlíky v řetězci.

Skupinu MK nasycených (SAFA) reprezentují kyseliny neobsahující dvojné vazby, jsou to například kyseliny: máselná (C4), kaprilová (C8), kaprinová (C10), laurová (C12), miristová (C14), palmitová (C16), stearová (C18) a arachidová (C20)

Skupinu mononenasycených MK (MUFA) představují zejména k. palmitoolejová (C16:1n7), k. olejová (C18:1n9) a skupinu polynenasycené mastné kyseliny (PUFA): linolová, k. linolenová, k. arachidonová

Ve vzorcích mléka byly dále stanoveny v laboratoři FZT JU tyto parametry:

3. obsah mědi (Cu) a zinku (Zn) atomovou absorpční spektrometrií (AAS)
4. obsah jódu spalovací alkalickou metodou dle Sandell-Kollthofa

Analýza krve

Všechny analýzy krve včetně stanovení obsahu mědi, zinku a jódu v mléce dojníc byly provedeny v hematologické a biochemické laboratoři FZT JU, jednotlivé metody, resp. přístroje jsou uvedeny v závorce.

Ve vzorcích krve (krevní plazmy, krevního séra) byly stanoveny:

4. parametry energetického metabolismu: kyselina β -hydroxymáselná, neesterifikované mastné kyseliny, glukóza, cholesterol, triacylglyceroly, bílkoviny krevní plazmy, močovina, jaterní enzymy, (biochemický analyzátor Ellipse, spektroskopické metody)
5. hormony štítné žlázy T3, T4: krevní sérum, krevní plazma, RIA metoda, testy od firmy Beckman Coulter Praha
6. TSH byl stanoven metodou ELISA (sendvičová metoda) z krevního séra, testy od firmy SEDIUM Research and Development Pardubice

Pro statistické vyhodnocení byl zvolen program Statistica (StatSoft CR s.r.o.) a dále Microsoft Office Excel. Pro analýzu nezávislých proměnných byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA), v případě rozdílů bylo následné porovnání mezi skupinami provedeno pomocí Tukeyova HSD testu pro nestejný počet N. Homogenita rozptylu souborů byla ověřena pomocí Levenova testu. Statistická významnost byla vyhodnocena při obvyklých hladinách významnosti ($p < 0,05$; 0,01; 0,001).

2. Chybné odkazy na tabulky a obrázky

Chybný odkaz na tabulku strana 29

Chybné odkazy na obrázky strana 29

Chybný odkaz na tabulku v textu, strana 36 a 41

Bude opraveno v opravném listu práce

Náměty do diskuze k předložené práci

- 1. V textu na straně 32 autorka uvádí, že k preventivním koupelím končetin se používá formalín, hypermangan nebo modrá skalice. Na základě čeho se pak volí konkrétní použitý preparát?**

Preparáty na koupání paznehtů střídáme. Pro pravidelné koupání paznehtů (2x týdně) v průchozích vanách využíváme v současnosti především modrou skalici ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) v koncentraci 5–10 % a bílou skalici ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) v koncentraci 5–20 %.

Formaldehyd je karcinogenní a mutagenní a je účinný pouze při teplotách nad 12 °C. Proto formaldehyd používáme ke koupelím 1x měsíčně (3–5% roztok) ve stacionárních vanách, které jsou umístěné ve vnějších prostorách, abychom neohrožovali zdraví pracovníků a zvířat.

Pro pravidelné koupání paznehtů (2x týdně) v průchozích vanách využíváme v současnosti především modrou skalici (CuSO_4) v koncentraci 5–10 % a bílou skalici (ZnSO_4) v koncentraci 5–20 %.

Modrá skalice má antibakteriální účinek a vytvrzuje rohovinu. Nevýhodou modré skalice je nadměrné zatížení životního prostředí, pro maximální účinnost musí dojnice do koupele vstupovat s paznehty očištěnými od hrubých nečistot.

Bílá skalice má také antibakteriální účinky a vytvrzuje rohovinu, avšak je obtížně rozpustná ve vodě.

Koupele ve formaldehydu tedy volíme při teplotách nad 12 °C a pouze ve stacionárních vanách, ostatní koupele probíhají pravidelně v průchozích vanách

- 2. Na základě jakých kritérií byly dojnice zařazeny do kontrolní a pokusné skupiny?**

Dojnice do pokusné a kontrolní skupiny vybírány tak, aby se neodlišovaly v užitkovosti, takže například předcházející 100denní laktace u dojnic kontrolní skupiny byla $3637,0 \pm 566,0$ kg mléka a u pokusné skupiny $3623,0 \pm 944,0$ kg mléka a průměrný denní nádoj v předcházející laktaci byl 36,3 kg u kontrolní 36,2 kg u pokusné skupiny.

- 3. Jaký byl vlastní podíl doktorandky na jednotlivých experimentech?**

Veškeré odběry vzorků jsem prováděla v zemědělském podniku Košetice v součinnosti s veterinárním lékařem. Analýzy vzorků probíhaly jednak v Laboratoři pro rozbor mléka (LRM)

v Buštěhradě a další analýzy v laboratoři FZT JU. Následně jsem veškerá data editovala a zpracovala.

4. Lze na základě výsledků dizertační práce formulovat doporučení pro sledovaný podnik?

Na základě výsledků lze formulovat doporučení takto:

Negativní důsledky NEB lze minimalizovat precizním managementem výživy, především u suchostojných krav a u dojnic v počátku laktace. Dojnice s predispozicí ketóz je vhodné energeticky podpořit, například přidavkem propylenglykolu v období časně laktace

Zápis z obhajoby disertační práce Ing. Jitky Kautské ze dne 23.6.2022

Téma disertační práce: Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku.

Členové komise: doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček (předseda), prof. Ing. Eva Straková, Ph.D., prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc., prof. Ing. Martin Kváč, Ph.D., doc. Ing. Helena Chaloupková, Ph.D., doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D., doc. Ing. Naďa Kernerová, Ph.D., doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D. (on line), doc. Ing. Jan Beran, Ph.D., doc. Ing. Roman Konečný, Ph.D.

Oponenti: prof. Ing. Eva Straková, Ph.D., doc. MVDr. Ing. Petr Sláma, Ph.D., doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.

Školitel: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc., školitel specialista: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

Průběh jednání:

1. Předseda komise doc. Dr. Ing. Zdeněk Havlíček uvítal a představil členy komise, oponenty a školitele. Představil doktorandku Ing. Jitku Kautskou charakterizoval průběh jejího studia a publikační aktivitu. Konstatoval, že Ing. Jitka Kautská splnila všechny požadavky individuálního studijního plánu a studijních předpisů pro doktorandské studium na FZT JU v Č. Budějovicích.
2. Školitel doktorandky prof. J. Trávníček uvedl své doporučující stanovisko a za nepřítomného vedoucího školského pracoviště prof. Šocha přednesl jeho rovněž kladné a doporučující stanovisko k obhajobě disertační práce.
3. Doktorandka Ing. J. Kautská přednesla na vyzvání předsedy komise prezentaci ke své disertační práci. Prezentace byla uvedena osnovou, součástí prezentace byla krátká rešerše problematiky, hypotézy a cíle, metodika, výsledky a jejich rozbor, závěr a doporučení pro praxi. Prezentace byla zpracovaná na požadované odborné úrovni, byla srozumitelná a přehledná. Prezentace trvala 18 minut.
4. Předseda komise doc. Z. Havlíček požádal oponenty o přednesení svých posudků.
 - a) prof. Ing. Eva Straková, Ph.D. ve svém posudku hodnotí práci kladně, uvedla připomínky k metodice a dotazy do diskuze.
 - b) doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D. ve svém posudku uvedl připomínky k metodice a doplňující dotazy, práci doporučil k obhajobě, hodnotí ji jako standardní.
 - c) doc. Ing. Jan Beran, Ph.D. ve svém posudku doporučil práci k obhajobě, posuzuje ji pozitivně. Součástí posudku jsou dotazy k obhajobě.
5. Ing. Jitka Kautská odpověděla postupně na připomínky uvedené v posudcích.
 - a) Odpovědi na připomínky prof. Strakové zpracovala doktorandka v předstihu do opravného listu, který byl předložen všem členům komise. Na další dotazy odpověděla Ing. Kautská v průběhu diskuze. Prof. Straková souhlasila s odpověďmi a považovala je za plně odpovídající.
 - b) Doktorandka odpověděla na dotazy a připomínky doc. Slámy. Oponent s odpověďmi byl plně spokojen.
 - c) Doktorandka odpověděla na dotazy a připomínky doc. Berana. Oponent s odpověďmi byl rovněž spokojen, práci považuje za zdařilou.

6. Předseda komise doc. Havlíček poděkoval oponentům za posudky a konstatoval, že doktorandka odpověděla na všechny dotazy a připomínky. Předseda následně otevřel vědeckou rozpravu a vyzval přítomné ke kladení dotazů.

a) doc. Chaloupková:

1. Jak se uplatňuje monenzin? Odpověď: Monenzin se uplatňuje u vysokoužitkových dojnic jako prevence ketóz, podporuje propiogení miakrobiální aktivitu. Propionát je základním prekurzorem glukoneogeneze. Aby byl účinek monenzinu 100 %, musí se podávat preventivně tři týdny před předpokládaným porodem.
2. Lze vyjádřit v % podíl dojnic podléhajících negativní energetické bilanci v ČR? Odpověď: Díky vysoké užitkovosti je NEB postiženo až 70 % dojnic.

b) doc. Kernerová:

1. Jaká je dlouhověkost krav v ČR (Holštýn, české strakaté). Odpověď: V ČR je průměrná laktace u vyřazených dojnic 3,7.

c) prof. Kváč:

1. Jaké jsou náklady na monenzin? Odpověď: Jedna aplikace monenzinu stojí 700 Kč.
2. Lze vyjádřit finanční efekt užití monenzinu ve vašem podniku? Odpověď: Při dnešní ceně mléka 10 Kč by zisk po odečtení nákladů na monenzin byl přibližně 2 milióny Kč.

d) doc. Havlíček:

1. Jak dlouhé je mezidobí dojnic ve vašem podniku? Odpověď: Průměrné mezidobí v ČR u krav plemene holštýn je 400 dní. U nás v podniku je to 416 dní.

Všichni diskutující byly s odpověďmi doktorandky spokojeni. Předseda doc. Havlíček ukončil rozpravu. Požádal doktorandku a hosty, aby opustili před hlasováním komise jednací sál.

Proběhlo tajné hlasování. Předseda komise konstatoval, po sečtení hlasovacích lístků, že se hlasování zúčastnili všichni členové komise, bylo odevzdáno 10 hlasovacích lístků, všechny hlasy byly kladné.

Předseda komise doc. Havlíček informoval na veřejném jednání o výsledcích hlasování, poblahopřál doktorandce a popřál jí hodně osobních a profesních úspěchů. Ing. Jitka Kautská poděkovala oponentům a všem členům komise.

V Českých Budějovicích

23. 6. 2022

Zapsal:

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.