

Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

PROTOKOL O OBHAJOBĚ DISERTAČNÍ PRÁCE DSP

Jméno studenta: Ing. Irena VRTKOVÁ
Narozen(a): 2. 8. 1968 v Třebíči
Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Forma studia: Kombinovaná
Školící pracoviště: KZVE ZF JU v Č. Budějovicích
Datum a místo konání zkoušky: 18. 2. 2016, ZF JU v Českých Budějovicích
Zkušební termín č.: 1.

Název disertační práce:

Detekce, monitoring a implementace genetických markerů u koní v ČR

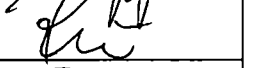
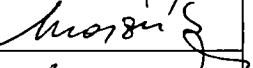
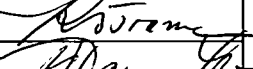
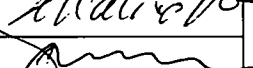
Výsledek obhajoby:

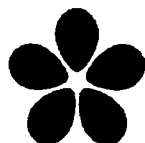
Prospěl (a)

Neprospěl (a)

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Josef Příbyl, CSc.; VÚŽV v Praze	
Členové:	prof. Ing. Václav Řehout, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
	prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně	
	doc. Ing. Mgr. Ivan Majzlík, CSc.; ČZU v Praze (oponent)	
	doc. Ing. Karel Mach, CSc.; ČZU v Praze (oponent)	
	doc. Ing. Karel Košvanec, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích (oponent)	
	prof. Ing. Jan Frelich, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
Školitel:	prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	



Zemědělská
fakulta
Faculty
of Agriculture

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

OBHAJOBA DISERTAČNÍ PRÁCE DSP PROTOKOL O HLASOVÁNÍ

Jméno studenta: Ing. Irena VRTKOVÁ
Narozen(a): 2. 8. 1968 v Třebíči

Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Forma studia: Kombinovaná

Výsledek hlasování:

Počet členů komise: 8

počet přítomných členů komise: 8

počet platných hlasů: 8

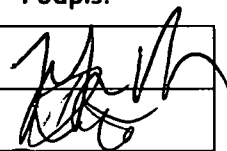
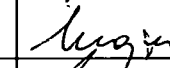
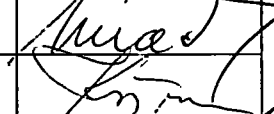
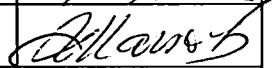
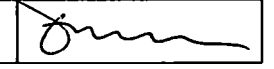
kladných: 8

záporných: 0

počet neplatných hlasů: 0

Zkušební komise:

Podpis:

Předseda:	prof. Ing. Josef Příbyl, CSc.; VÚŽV v Praze	
Členové:	prof. Ing. Václav Řehout, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
	prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.; Mendelova univerzita v Brně	
	doc. Ing. Mgr. Ivan Majzlík, CSc.; ČZU v Praze (oponent)	
	doc. Ing. Karel Mach, CSc.; ČZU v Praze (oponent)	
	doc. Ing. Karel Košvanec, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	
	doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.; ZF JU v Č. Budějovicích (oponent)	
	prof. Ing. Jan Frelich, CSc.; ZF JU v Českých Budějovicích	

Odpovědi na otázky během vědecké rozpravy k doktorské práci

Ing. Ireny Vrtkové

Detekce, monitoring a implementace genetických markerů u koní v ČR

prof. Ing. Václav Řehout, CSc. (ZF JU Č. Budějovice)

1. Ve své práci jste porovnávala 17 MS u 14 plemen koní. Jak byla hodnocena heterozygotnost? Hodnotila jste také statistickou významnost?

Odpověď: Heterozygotnost byla hodnocena na základě frekvence alel mikrosatelitních lokusů. Statistická významnost nebyla podrobně hodnocena.

2. Budou plemena charakterizována strukturními geny nebo MS? Která varianta je vhodnější a nebo kombinovat obojí?

Odpověď: Pro charakteristiku plemen by bylo nejvhodnější obojí kombinovat.

doc. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D. (VÚŽV Uhřetěves)

1. Je možné na základě 17 MS určit příslušnost k plemeni?

Odpověď: Ano. V naší práci jsme na základě 17 MS jednotlivá plemena diferencovali.

2. Klastrové analýzy, která je nejvhodnější?

Odpověď: Výběrem nejvhodnějšího programu pro klastrování jsme se v práci nezabývali, v naší práci byl použit program Structure.

prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D. (MENDELU Brno)

Je vhodné používat MS pro určení paternity?

Odpověď: Ano. V současné době jsou MS celosvětově pro paternity používány, zároveň se ale přechází i na ověřování parentit pomocí SNP markerů.

prof. Ing. Václav Matoušek, CSc. (ZF JU Č. Budějovice)

Provádí Vámi prezentované genetické analýzy i jiné laboratoře v ČR a jaká je jejich náročnost?

Odpověď: Některé z prezentovaných analýz, například stanovení mikrosatelitů, provádí i jiné laboratoře v ČR. Molekulárně genetické analýzy jsou náročné na přístrojové vybavení, a je také zapotřebí určité laboratorní zkušenosti v molekulárně genetických analýzách. Zkušební laboratoře musí mít především akreditaci podle normy ČSN EN 17025.

prof. Ing. Josef Příbyl, DrSc. (VÚŽV Uhřetěves)

1. Jak genomická příbuznost navazuje na Vaší práci? Jak navazují metodiky?

Odpověď: Genomické analýzy se mohou použít i na ověřování parentit. Na naši práci navazuje celogenomové skenování.

2. Jak využívat Vaše poznatky pro řízení plemenitby uvnitř plemene?

Odpověď: Je možné určování paternit, udržování variability v populacích, především u plemen, která jsou chována jako genové zdroje.

3. Je vzájemná koordinace mezi laboratořemi v rámci ČR?

Odpověď: Není. Laboratoře pracují nezávisle na sobě.

3. Lze říci co je homozygotnost lokusů v rámci plemene?

Odpověď: Jednotlivé MS lokusy mají v rámci plemen různou heterozygotnost. Námi sledované MS se používají pro parentitní analýzy a měly by tedy být co nejheterozygotnější.

4. Diskuze k čistokrevnosti Kinského koně.

Odpověď: V naší práci jsme klastrovací metodou sledovali, zda se KK bude vymezovat od populací ČT, CS a A1/1. K diferenciaci populace KK došlo, ale byla v této populaci zaznamenána příměs plemen ČT, CS, A1/1.

doc. Najerl'el

Jaký počet mikrosatelitů v panelu považuje za dostatečný pro velmi spolehlivé určení plemenné příslušnosti?

Vzhledem k tomu, že v práci jsme použili 17 MS a došlo k oddělení jednotlivých plemen a k oddělení došlo i při menším počtu viz naše práce s 12 MS, je těchto 17 MS dostačujících. A to i vzhledem k tomu, že jsou v současné době používány pro identifikaci koní a tudíž jsou k dispozici. Pro spolehlivé forenzní použití je třeba mít dostatečné referenční populace, uvádí se v literatuře minimálně 500 jedinců.

Zvýšila by se diskriminační schopnost plemenné příslušnosti u metody zařazením jiných markerů kromě mikrosatelitů?

Ano, diskriminační schopnost plemenné příslušnosti by se určitě zvýšila zařazením např. SNP markerů. Zařazením polymorfních SNP se specifickými alelami pro některá plemena nebo plemenně specifickými haplotypy. Při určení příslušnosti k plemeni by se mohly využít např. gen TBX3-lokus Dun (primitivní znaky), gen DMRT3 (přechod z klusu do cvalu) nebo TRPM1 gen - Leopard komplex (vyskytuje se pouze u plemene Appaloosa).

V současné době ale asi nebudou SNP vhodné, protože neexistují dostatečné referenční populace, ale do budoucna určitě ano.

Předpokládám, že tak, jak se rozvíjí chov koní a diferencují se jednotlivé populace (a vede to až ke vzniku plemen), věda pokročí u koní tak daleko jako u psů, kde již jsou známy pro 200 plemen specifické sekvence DNA a bude i u koní možnost přiřadit neznámého jedince k plemeni.

Při vkládání fotografií do textu doporučuji věnovat pozornost jejich formátu, aby nedošlo ke zkreslení proporcí koní.

Práci jsem zpracovávala na různých počítačích, bohužel při editaci textu došlo ke změně formátu.

Také odbornou terminologii je vhodné použít i při překladu z cizího jazyka. Termín “puntikátý” kůň

Terminologii zbarvení koní v ČR by bylo dobré aktualizovat tak, aby odpovídala mezinárodním termínům. Mají s tím problém i chovatelé při výměně mezinárodních dokladů ke koním.

Formulace hypotéz

K cíli 1. Detekovat MS a SNP u vybraných plemen koní v ČR

a) detekce MS

Hypotéza: Zavedení pro ČR analýz 17 MS panelu, izolace DNA z chlupových cibulek a akreditece SOP.

b) detekce SNP

Hypotéza: Existují SNP asociované s pigmentací využitelné chovateli koní v ČR a my budeme schopni optimalizovat metodiky pro jejich detekci.

K cíli 2. Implementovat sledované genomické markery

Hypotéza: Genomické markery se dají v ČR využít pro:

ad 2.1 charakteristiku diverzity populací – Hypotéza: Populace koní v ČR pomocí 17 MS se diferencují. Se zvláštním zřetelem na KK, CS, a ČT.

ad 2.2 genetickou predikci zbarvení

Hypotéza: Chovatelé koní v ČR genotypy pigmentace využijí.

ad 2.3. Informační systém EFABIS

Hypotéza: Mezinárodní uznání kvality výzkumu u koní v ČR podpoří genetické údaje v EFABIS.

ad 2.4 Forenzní použití v ČR

Hypotéza: V ČR u koní není dostatek údajů pro řešení forenzních případů.

Jaký chovatelský dopad očekává autorka od aplikace postupu pro připařování koní Kinských do praxe?

Postup pro KK je již do praxe aplikován.

Jeho dopad vidím např. v tom, že nejsou z plemenitby vyřazovány genotypy CrCr, ale jsou při připouštění využívány.

Chovatelé KK požadují u svých klisen stanovené genotypy zbarvení.

Laboratoř dostává dotazy na doporučení konkrétního hřebce ke konkrétním klisnám se známými genotypy zbarvení s ohledem na zbarvení potomků.

Vyžívají nejenom chovatelé KK, např. dotaz na to, jakým hřebcem připouštět klisnu pro získání vraného potomka. Jaká je pravděpodobnost u konkrétní klisny, které byl v laboratoři stanoven genotyp zbarvení, že bude mít vraného potomka.

Příklad požadavku chovatelky koní směřovaného na naši laboratoř: chovatelka chtěla koupit klisnu vybělující, grošovanou, což je podmíněno mutací v genu STX17 (gen pro syntaxin17), jehož dominantní alela G způsobuje postupné vybělování srsti. Protože chovatelka nechtěla mít všechna hříbata “plesnivá”, závisela koupě klisny na jejím genotypu.

Chovatelé koní s depigmentací chtějí znát genotyp v genu EDNBR pro zamezení OLWS. Pokud jejich kůň nese alelu pro overo depigmentaci, připouští pouze s plášťovými koňmi.

DNA koní je rozložena v 31 párech autozomů a dvou pohlavních chromozómech (2 řádek textu na s. 12).

Výstupy ze sekvenace genomu se uvádí v haploidní počtu. Každopádně údaj v disertaci lze opravit na "páry autouzomů".

Stanovení diferencí v MS bylo provedeno u koní 13 nebo 14 plemen?

Stanovení vnitroplemenné diverzity bylo provedeno (mikrosatelitová struktura byla stanovena) u 13 plemen.

Do hodnocení meziplemenné diverzity bylo zahrnuto ještě 111 koní plemene A1/1 z důvodu zjištění jeho příměsi v plemeni KK.

Při posuzování vnitroplemenné genetické proměnlivosti „vytlačí“ současné, případně budoucí, molekulárně genetické metody klasické rodokmenové postupy s výpočtem koeficientu příbuzenské plemenitby, případně dalších parametrů? Mají tyto molekulárně genetické postupy větší vypovídací schopnost, při určování genetické příbuznosti, než je tomu při studiu rodokmenů?

Klasické rodokmenové postupy budou doplňovány molekulárně genetickými údaji.

Molekulárně genetické údaje mohou odhalit chyby v rodokmenech, eventuální spory se mohou řešit molekulárně genetickými metodami.

Odhad inbreedingu v populaci analýzou rodokmenů poskytuje odhad pravděpodobnosti. Určení ROH (Run of Homozygosity) pomocí čipů nebo sekvenací určuje na úrovni DNA skutečný stav o stupni příbuznosti v populaci. Umožňuje určit rozsah IDB (identity by descent), určit příbuznost jedinců na základě znalosti toho, jaké alely (haplotypy) dostali od společného předka.