

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Studijní program: Biotechnologie
Studijní obor: Zemědělské biotechnologie
Katedra: Katedra zootechnických věd

DISERTAČNÍ PRÁCE
Asociační analýza genů ovlivňujících kvalitu masa skotu

Školitel: Prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Autor: Ing. Lucie Lískovcová

České Budějovice, 2017

Poděkování

Děkuji svému školiteli prof. Ing. Jindřichovi Čítkovi CSc. za odborné vedení v průběhu studia, za nekonečnou trpělivost, pomoc a podporu.

Dále bych chtěla poděkovat kolektivu Katedry zootechnických věd, která mě po celou dobu povzbuzovala, a ráda bych poděkovala Ing. Michaelé Brzákové za odborné konzultace. Velké díky rovněž patří všem pracovníkům VÚŽV, Praha-Uhřetěves, kteří dali hlavy dohromady a pomohli při rozhodování jak s daty naložit.

V neposlední řadě srdečně děkuji své rodině a přátelům za podporu a výdrž v průběhu mého studia a manželovi za jeho trpělivost a všestrannou podporu během celého mého studia.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma: Asociační analýza genů ovlivňujících kvalitu masa skotu jsem vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury.

Disertační práce je školním dílem a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího disertace a děkana ZF JU.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své disertační práce, a to v nezkrácené podobě, fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

Práce byla zpracována s podporou grantů GAJU 094/2016/Z a QI91A055.

.....
Ing. Lucie Lískovcová

V Českých Budějovicích dne 24. 2. 2017

Souhrn

Předkládaná dizertační práce Asociační analýza genů ovlivňujících kvalitu masa skotu je zaměřena na studium genů ovlivňujících kvalitu hovězího masa. Byl analyzován vliv některých kandidátních lokusů na kvalitu masa 381 býčků českého strakatého plemene a kříženců s plemenem holštýnským a ayrshirským. Metodou PCR/RFLP byly genotypizovány lokusy *CAPN* (n = 381), *CAST* (n = 379), *MSTN* (n = 378) a *MYF5* (n = 381). Výběr lokusů byl proveden s ohledem na předpokládaný vztah k chemickému složení a kvalitě masa.

Bylo zjištěno chemické složení masa, tj. obsah sušiny, bílkovin, tuku a popelovin. Jako hlavní ukazatele kvality masa byly analyzovány křehkost (Warner Bratzler Shear Force), vaznost, barva a pH. Uvedené ukazatele byly hodnoceny v 1., 14. a 28 dni *post mortem*. Ukazatele vaznost, pH a barva masa (barva a*, b* a L*) byly hodnoceny u masa syrového, ukazatel křehkost byl hodnocený u masa syrového a grilovaného.

Polymorfismy *CAPN* a *CAST* byly statisticky významně asociovány s obsahem sušiny a popela v mase. U polymorfismů v lokusech *MYF5* a myostatin statisticky významná asociace s chemickým složením masa nebyla zjištěna.

Polymorfismy v lokusech *CAPN*, *CAST*, *MSTN* a *MYF5* měly statisticky významný vliv na barvu masa. U pH masa byla zjištěna statisticky významná asociace k polymorfismu *CAPN* po 28. dnech zrání, u *CAST* 1., 14. a 28. den po porážce. *MSTN* vykazoval statisticky významné asociace ve 14. a 28. dni, *MYF5* 1. a 14. den *post mortem*. Statisticky významná asociace byla zjištěna pro *CAST* a vaznost vody, statisticky významné rozdíly byly zjištěny mezi všemi genotypy v 1. a 14. dni, u genu *MSTN* byla statisticky významná asociace v 1. dni po porážce mezi genotypy AA a AB. Analýza potvrdila, že střižná síla s dobou zrání klesá a tím maso křehne.

Asociace mezi polymorfními lokusy a WBSF nebyla pro polymorfismus *CAPN* x délku zrání, podobně pro polymorfismy *CAST*, *MSTN* a *MYF5* zjištěn statisticky významný vliv na sílu stříhu syrového a grilovaného masa, podobně pro pH masa. Pro tyto ukazatele kvality masa nebyla také významná interakce mezi jatkami, plemenem a chovem na jedné straně a délkou zrání masa na straně druhé. Vlastnost barva masa „a“ byla statisticky významně ovlivněna interakcí mezi *CAPN*, *MYF5* a délkou zrání. Barva „b“ byla statisticky významně ovlivněna interakcí *MYF5* x čas. Barva „L“ byla statisticky významně ovlivněna interakcí všech polymorfních lokusů jednotlivě x délka zrání, jatka

x délka zrání, chov x délka zrání. Vaznost masa byla statisticky významně ovlivněna interakcí *CAPN* x délka zrání. U pH nebyla statisticky významná interakce zjištěna.

Interakce mezi genotypy pro *CAST* a *CAPN* statisticky významně ovlivnila pouze malý počet ukazatelů kvality masa. Rovněž interakce *CAPN* x *CAST* x délka zrání nebyla u většiny důležitých ukazatelů kvality masa statisticky významná.

Korelační koeficienty mezi jednotlivými ukazateli stanovenými 1., 14. a 28 den po porážce byly statisticky významné u všech hodnocených ukazatelů, což ukazuje na význam kvality masa již při porážce. Statistická významnost efektu délka zrání byla zjištěna pro sílu stříhu u grilovaného masa, barvu „a“ a „b“ a vaznost.

Klíčová slova: skot, masná užitkovost, kvalita masa, zrání masa

Summary

This dissertation/thesis *The Association Analysis of Genes Influencing the Meat Quality of Cattle* focuses on the study of genes affecting the quality of beef. The analysis examines the influence of several candidate gene loci on the quality of meat in 381 young bulls of Czech Simmental cattle and crossbreds with Holstein Ayrshire. The genotyping of specific loci, namely *CAPN* (n = 381), *CAST* (n = 379), *MSTN* (n = 378) and *MYF5* (n = 381), was carried out by means of the PCR/RFLP method. The analyses revealed the chemical composition, i.e. the content of dry matter, proteins, lipids and ash. The most important indicators of meat quality were tenderness (Warner Bratzler Shear Force), the ability to bind water, color and pH. The indicators were assessed on day 1, day 14 and day 28 *post mortem* and were obtained in raw meat. Moreover, tenderness was also assessed in grilled meat.

CAPN and *CAST* polymorphisms were significantly associated with the content of dry matter and ash in meat. The polymorphisms in *MYF5* loci and myostatin did not show significant association with the chemical composition of the meat.

Polymorphisms in *CAPN*, *CAST*, *MSTN* and *MYF5* loci were significantly associated with meat color. *CAPN* had significant effect on the pH of meat after 28 days of ageing, similarly for *CAST post mortem*. *MSTN* showed significant association on day 14 and day 28, *MYF5* on day 1 and day 14 after slaughter. Significant was the association of the water-binding ability and *CAST* polymorphism on day 1 and day 14 *post mortem*. The results showed the association of the *MSTN* gene between the AA and AB genotypes. It has been confirmed that the shearing force decreases with the ageing time and the meat becomes more tender.

The interactions ageing x *CAPN*, *CAST*, *MSTN* and *MYF5* polymorphisms did not show significant influence on shearing force of raw or grilled meat nor on pH. Concerning these polymorphisms, there were no interactions between the slaughterhouse, breed type or breeding on one side and the maturation time on the other. The character of color 'a' was significantly associated by the interaction between *CAPN*, *MYF5* and maturation time. Maturation time x *MYF5* interaction significantly affected the color 'b'. Color 'L' was significantly influenced by the interaction of e.g. polymorphic loci separately x maturation time; slaughterhouse x maturation time; breeding x maturation time.

The water-binding capacity was significantly influenced by the interaction of *CAPN* x maturation time whereas there was no significant influence on pH.

Interactions between *CAST* and *CAPN* genotypes significantly affected only a small number of meat quality indicators. Moreover, *CAPN* x *CAST* x maturation time interaction did not show significance in the majority of analyzed indicators.

Correlation coefficients between separate indicators set in day 1, day 14 and day 28 *post mortem* were statistically significant for all tested indicators. This reveals the importance of meat quality as early as at slaughter. Statistic relevance of the maturation time effect was detected for the shearing force in grilled meat, color 'a' and color 'b' and water-binding ability.

Key words: beef cattle, meat performance, meat quality, ageing of meat

Seznam použitých zkratek

A, G, C, T	adenin, guanin, cytosin, tymin - označení jednotlivých nukleotidů
AMK	aminokyselina
ATP	adenosintrifosfát
Barva_L	hodnota barvy průměrného odstínu
Barva_a	hodnota barvy červeného spektra
Barva_b	hodnota barvy žlutého spektra
bp	pár bází
BSA	Bovine serum albumin
BTA	<i>Bos taurus</i> autosome - označení chromosomu skotu
CAPN	calpain
CAST	calpsatatin
cDNA	komplementární DNA
cM	centi Morgan
DCB	(dark cutting beef) hovězí maso tmavé na řezu
DFD	(dark, firm, dry) tmavé, tuhé a suché
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dNTP	(deoxyribonukleotide) - 2'-deoxynukleosid-5'-trifosfáty
FW	Fleischwert
GDF8	Growth differentiation factor 8
GWAS	Genome-wide association studies
HD	high density, vysoká hustota
MSTN	myostatin
JUT	jatečně upravené tělo
kb	(kilo base) tisíc bází
KU	kontrola užitečnosti
LINE	(long interspersed nuclear element) - dlouhý vmezeřený jaderný element
MAS	(marker assisted selection) - markery asistovaná selekce
MCP	multikatalytický proteinázový komplex
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NGS	(next generation sequencing) - nová generace sekvenování

OPB	odchovna plemenných býků
PCR	(polymerase chain reaction) - polymerázová řetězová reakce
PCR – RFLP	(polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism) - polymerázová řetězová reakce - polymorfismus restrikčních fragmentů
PH	plemenná hodnota
PSE	(pale, soft, exudative) - bledé, měkké a vodnaté
QTL	(quantitative trait loci) - lokusy kvantitativních znaků
RE	restrikční enzym
RFLP	(restriction fragment length polymorphism) - polymorfismus délky restrikčních fragmentů
SINE	(short interspersed nuclear element) - krátký vmezeřený jaderný element
SKVS	staniční kontrola výkrmu skotu
SNPs	(single nucleotide polymorphisms) - jenonukleotidový polymorfismus
U	(unit) jednotka aktivity enzymu
UPD	uniparentální disomie
WBSF	(Warner-Bratzler Shear Force) - Warner-Bratzlerova střižná síla

Obsah

1. Úvod	12
2 Literární přehled	13
2.1 Bovinní genom	13
2.2 Genetické markery	15
2.3 Masná užitkovost skotu	16
2.3.1 Český strakatý skot	19
2.3.2 Šlechtění českého strakatého skotu	21
2.3.3 Masná užitkovost českého strakatého skotu	22
2.4 Vlastnosti masa	23
2.4.1 Křehkost	25
2.4.2 Vaznost	25
2.4.3 Barva	26
2.4.4 pH	27
2.5 Kandidátní lokusy, QTL	28
2.5.1 Calpain (<i>CAPN</i>) a jeho inhibitor calpastatin (<i>CAST</i>)	29
2.5.2 Myostatin (<i>MSTN</i>)	34
2.5.3 <i>MYF5</i>	37
3 Hypotéza disertační práce	39
4 Cíle disertační práce	40
5 Materiál a metodika	41
5.1 Charakteristika analyzovaných zvířat	41
5.2 Analýza vlastností masa	42
5.3 Izolace DNA	43
5.4 PCR-RFLP analýza polymorfismů	44
5.5 Statistická analýza	48

6	Výsledky a diskuze	52
6.1	Genotypizace jednotlivých lokusů	52
6.2	Genotypové a alelové frekvence	55
6.3	Asociační analýza polymorfismu genů a chemického složení masa	59
6.4	Asociační analýza polymorfismu genů a ukazatelů kvality masa.....	63
7	Závěr	83
8	Použitá literatura	87
9	Životopis	100
10	Seznam publikovaných prací	103

1. Úvod

Hovězí maso je řazeno mezi nejhodnotnější potraviny, které jsou významným zdrojem bílkovin a esenciálních aminokyselin, dále také vitamínů a minerálních látek. Pokles spotřeby hovězího masa konzumenty z 28 kg/obyvatele od roku 1990 na 8,1 kg/obyvatel v posledních letech je důsledkem rostoucí ceny hovězího masa.

Pro spotřebitele jsou prioritní ukazatele kvality různé. Někteří konzumenti dávají přednost křehkosti (nezbytná doba zrání hovězího masa optimálně 14 dní z důvodu správné vyzrállosti masa) či textuře masa, jiní berou v potaz sensorické vlastnosti masa, jakými jsou chuť, vůně, barva masa či šťavnatost, ale stále důležitým ukazatelem pro mnoho spotřebitelů je cena hovězího masa na trhu, která se pro mnohé stává prvním ukazatelem, zda maso zakoupit či ne.

Jemnost masa je jednou z hlavních charakteristik kvality hovězího masa. Záměrná selekce masného skotu zaměřená na zlepšení jemnosti masa je ale dost komplikovaná, jelikož tento znak má velkou variabilitu nejen mezi jednotlivými plemeny, ale i jedinci jednoho plemene. Z tohoto důvodu se využívají DNA testy založené na genotypizování zvířat na přítomnost jednotlivých mutací, byla prokázána asociace mezi jejich přítomností a zvýšenou jemností masa.

V této práci jsou analyzovány některé charakteristiky kvality hovězího masa, jako křehkost, textura masa tedy vaznost, barva, pH ve vztahu k vybraným polymorfním genům. Cílem bylo navrhnout efektivní, jednoduché, rychlé a efektivní metodiky na genotypizaci těchto kandidátních lokusů a provést asociační analýzu k uvedeným vlastnostem hovězího masa. Jako kandidátní lokusy pro křehkost hovězího masa či jeho zrání byly vybrány calpain a jeho inhibitor calpastatin. Dále byl vybrán myostatin, podílející se na regulaci embryonálního vývoje vč. myogeneze a rovněž *MYF5*. V případě, že by byl potvrzen pozitivní vztah sledovaných lokusů k produkčním vlastnostem, mohly by tyto výsledky přispět k výběru vhodných kandidátních genů při šlechtění skotu.

2 Literární přehled

2.1 Bovinní genom

Bovinní genom je souborem genetické informace zakódované v 60 chromozomech uložených v jádru každé buňky. Chromozomy jsou uspořádány do 30 párů, tedy jeden chromozom z každého páru se dědí od matky a jeden od otce. Z toho je 29 párů akrocentrických autozomů a 1 pár pohlavních chromozomů neboli gonosomů. Ve své práci Barendse et al. (1994) zmiňují, že délka genomu skotu bez ohledu na pohlaví byla stanovena na 3 532 cM. V další studii potvrzují rozdíl v délce autozomální mapy mezi pohlavími, délka autosomální mapy býků je 3 567 cM a krav 3 765 cM (Barendse et al., 1994).

Ve finální verzi komparativní mapy zjistil Wind et al. (2005), že genom skotu a člověka je z 91 % shodný a 97 % označil za teoretické maximum. Celkem obsahovala tato mapa 3 484 markerů, počet markerů v chromozómu se pohyboval v rozmezí 51 (BTA28) (*Bos Taurus* Autosom) až 177 (BTA5). Nejdélší mapa byla na pohlavním chromozomu X a nejkratší BTA28. Hustota markerů byla nejnižší u BTA19, 0,7 markeru/Mbp, nejvyšší hustotu měl boviní chromozom 5, a to 1,8 markeru/Mbp. Bylo zjištěno, že 4 chromozomy mají kompletní homology v lidských chromosomech HSA13 (*Homo sapiens* Autosom), HSA17, HSA18 a HSAX. Tuto práci autoři použili pro studium evoluce centromer a telomer.

Odhaduje se, že genom skotu obsahuje cca 22 000 genů a 2,8 miliardy nukleotidů (2,87 Gb) (přesně 2 857 605 192 bp), toto zkoumání trvalo více než šest let a pracovalo na něm více než 300 vědců z 25 zemí - National Human Genome Research Institute, Genome Canada, CSIRO Australia, aj., kteří přečetli kompletní sekvenci herefordské krávy L1 Dominette 0144 a následně ji porovnali se sekvencemi šesti dalších plemen skotu (holštýnské plemeno, angus, limousin, aj.) se snahou odhalit meziplemenné rozdíly. Sekvence stála 53 milionů amerických dolarů, o pár let později se již doba „čtení“ zkrátila na sedm měsíců a náklady klesly na „pouhých“ 130 tisíc amerických dolarů (Anson, 2009). Kódujících genů je 19 994, genů nekódujících 3 825, malých nekódujících genů 3 650, různých nekódujících genů 175, pseudogenů 797 a 26 740 genových transkriptů (Ensembl, 2016).

2 612 820 649 bp je umístěno ve 30 chromozómech. Zbývajících 245 Mbp je obsaženo v neumístěných souvislých sekvencích (kontizích) (Zimin et al., 2009). K začátku r. 2015 bylo v jaderné a mitochondriální DNA identifikováno 26 410 genů

a 10 047 pseudogenů (NCBI, 2015). Většina DNA je tvořena opakujícími se sekvencemi, které jsou představovány mnoha typy, minisatelity, mikrosatelity, α satelity, SINE, LINE a telomerickými sekvencemi.

Důležitým bodem v molekulární biologii je zavedení metody sekvenování, které usnadňuje pochopit genomovou strukturu a identifikaci polymorfismů (především jednonukleotidových), které umožňuje přesné a rychlé mapování genomu. V roce 2009 se pomocí technik NGS (next generation sequencing) podařilo osekvenovat celý bovinní genom.

V genomice skotu se využívá silikonových čipů nejčastěji od společnosti Illumina, které jsou schopny přečíst miliony informací. Příkladem může být čip BovineSNP50, který je schopen genotypizovat 54 001 SNP (single nucleotide polymorphism) markerů. Každý z těchto čipů je unikátní a může se s jejich použitím vyhodnotit až dvanáct vzorků najednou. Existuje i jeho druhá verze, která čte až 24 vzorků. Vývoj technologie ale pokračuje velmi rychle. Byl také vyvinut čip s vysokou hustotou (HD - high density) Bovine HD BeadChip, který umí číst 777 962 markerů, pro hodnocení lze využít cca 600 000 SNP. Dalším čipem je BovineSNP3K, který detekuje 2900 markerů a 2706 jich lze využít pro genomická hodnocení. Tento čip má přijatelnější cenu, může vyhodnotit 32 vzorků, komunikovat s čipy 50K. Znalost sekvencí pomáhá identifikovat a objasnit funkci jednotlivých genů a způsoby jejich regulace. Do dnešní doby je veliký výběr výrobců, zároveň tak typů čipů a záleží pouze na konečném spotřebiteli, který je pro něj ten nejvhodnější (Motyčka, 2011).

Výše zmíněný čip Bovine SNP50 Bead Chip byl testován v publikaci Weller et al. (2010) u 576 izraelských holštýnských býků, kdy 38 828 SNPs lokalizovaných na autozomech vyhodnotili jako vhodné k ověřování paternit u skotu. 747 SNPs se nacházelo na chromozomu X a 1 672 SNPs bylo s neznámou lokalizací.

Čip SNP6 od společnosti Affymetrix má délku sond 25 bází. Obsahuje 946 000 CNV sond (Copy Number Variation - variabilita počtu kopií určitých sekvencí - strukturální změna DNA, inserce nebo delece delšího úseku DNA) a 906 600 SNP sond. Rozložení sond je nerovnoměrné, nejvíce v genech. Vyšší rozlišení pro UPD (uniparentální disomie), vhodné ke genotypizaci. Principem čipu je záměna 13. nukleotidu v jednotlivých sondách, což má největší vliv na sílu vazby při neshodě (Malčíková, 2011).

2.2 Genetické markery

U jednotlivých hospodářských zvířat mohou genetické markery nabývat různé formy. Za genetický marker považujeme polymorfni znak s mendelistickou dědičností, který může být v asociaci s variabilitou užitkových vlastností. Vyskytují se v genomu s vysokou hustotou cca každých 500 - 1000 nukleotidů. Molekulární markery lze dělit do tří základních skupin z hlediska jejich charakteristických znaků (Knoll, 2008):

- a.) I. typ, kódující exprimované geny, které mohou být kandidátními geny pro QTL (quantitative trait loci). Vyznačují se nízkou hladinou polymorfismu. Proto se málo využívají pro studie diverzity rodin a populací. Jejich využití je významné v asociačních analýzách, při komparativním mapování.
- b.) II. typ zahrnují vysoce variabilní sekvence DNA, využití zde mají především mikro a minisatelity. Ty jsou vlivem vysokého stupně polymorfismu vysoce informativní a vhodné pro populační studie, určování rodičovství a jsou základem vazbového mapování.
- c.) III. typ, který zahrnuje jednonukleotidové polymorfismy (SNP), ty mohou ležet uvnitř kódujících genů, ale častěji se nacházejí v nekódujících intronech či integrovaných oblastech. Využití těchto markerů je v populačních a rodinných studiích a pro genomickou selekci.

Pro využívání markerů ve šlechtění jsou důležité jejich vlastnosti, které Brascamp et al. (1995) definovali pro použití do praxe:

1. kodominantní dědičnost
2. jednotková heritabilita
3. stanovení markeru může být provedeno bez ohledu na věk či pohlaví zvířete, dokonce i po jeho smrti z uchované DNA
4. detekce markeru by měla být snadná, lehce interpretovatelná, automatizovatelná.

Za účelem genetického fingerprintingu, ověřování paternity a studia genetické diverzity je testována celosvětově sada 10 mikrosatelitních markerů doporučená organizacemi ISAG/FAO. V současné době je díky silné selekci stále se zvyšující požadavek na rozšíření tohoto rutinního panelu o další mikrosatelity, kdy je snahou zařadit do testování i mikrosatelitní markery pro určité užitkové vlastnosti. Díky selekci a dlouhým vazbovým intervalům jednotlivých markerů, které jsou na různých bovinních chromozomech, jich lze využít jako markerů vazbových v selekčních programech přímo

pro daná plemena skotu či pro konkrétní chovatele (Říha a Vrtková, 2008). V současné době se však mikrosatelity k selekci na užitkové vlastnosti nepoužívají.

2.3 Masná užitkovost skotu

Po mléčné užitkovosti je za druhou nejdůležitější vlastnost považována u skotu užitkovost masná, ta velmi úzce souvisí s plodností. U masné užitkovosti nesmíme opominout kvantitativní a kvalitativní stránku, za kterou je považována výkrmnost a jatečná hodnota skotu (Skládanka et al., 2014). Masnou užitkovost můžeme charakterizovat souhrnem ukazatelů výkrmnosti a ukazatelů jatečné hodnoty. Výkrmnost je schopnost vykrmovaného zvířete využít přijaté živiny ke zvyšování své živé hmotnosti, pod pojmem jatečná hodnota lze chápat ukazatele hodnotící kvantitativně i kvalitativně jatečně upravené tělo (JUT), včetně nutričních a sensorických hodnot masa (Zahrádková et al., 2009). Selekcí cíl českého strakatého skotu je stanoven na požadavku na mléčnou a masnou užitkovost v poměru 60 až 66 : 40 až 34. Výhodou šlechtění českého strakatého skotu, kde se dlouhodobě šlechtí na dvoustrannou užitkovost je, že se v rámci vysoké pozitivní selekce daří vybírat špičkové plemeníky jak v mléčné, tak i v masné užitkovosti (Kučerová et al., 2003).

Mezi vlivy působící na masnou užitkovost u skotu, které ovlivňují produkční schopnost pro tvorbu masa, zahrnujeme faktory dědičné a vlivy prostředí.

Hlavní faktor dědičného původu, který výrazně ovlivňuje výsledek výkrmu u skotu je vliv plemenné příslušnosti, který souvisí zejména s užitkovým typem daného plemene a tomu odpovídající genetické dispozice plemene (konstituce, ranost). U plemene s kombinovanou užitkovostí je při šlechtění nezbytné zohlednit ukazatele jak mléčné, tak masné užitkovosti, aby nedošlo ke zhoršení užitkovosti druhé a vycházet z chovných cílů plemene (Skládanka et al., 2014). Masná plemena lze rozdělit na skupiny vyznačující se větším tělesným rámcem, kdy jatečně upravená těla i přes vyšší porážkové hmotnosti mají vysoký podíl libového masa. Tato plemena jsou označovaná jako skupina kontinentální. Do této skupiny řadíme plemena jako je charolais, limousin, belgické modré. Druhou skupinou jsou plemena pocházející z britských ostrovů jako je aberdeen angus, hereford, highland, u nichž je typický střední tělesný rámec, ranost a výborná pastevní schopnost (Zahrádková et al., 2009).

Za nejvýznamnější faktory prostředkové je považována správná výživa a krmná technika skotu, působící na kvalitu a produkci masa a ovlivňující rentabilitu. Myšlena je

tím spotřeba živin na 1 kg přírůstku, ekonomika výkrmu je ovlivněna věkem a živou hmotností zvířete, s přibývajícím věkem se zvyšuje spotřeba živin. Přírůstek u starších zvířat je tvořen více tukem, zatímco u zvířat mladších převažuje protein. Produkci masa ovlivňuje především úroveň plnohodnotné výživy, složení krmné dávky a technologie krmení. Vyvážená výživa s využitím konzervovaných krmiv s přídavkem jadrné směsi je nezbytná z důvodu produkčních schopností, které jsou s nedostatečnou výživou zhoršeny, stejně tak jatečná hodnota v důsledku zvýšeného podílu kostí a méněcenných částí (Steinhauser et al., 2000).

Jako další faktor je uváděn vliv pohlaví a kastrace. Samice ukládají dříve a více tuku, tedy i jejich výkrm je obvykle kratší. Obecně lze říci, že přírůstky jsou nejlepší u býků ve srovnání s voly a zejména jalovicemi. Jalovice dosahují o 10 - 30% nižší intenzity růstu než býci. Za nejdůležitější kategorii z pohledu jatečných zvířat a zároveň tržeb jsou považováni jateční býci. Tržba za jalovice je ovlivněna zmasilostí a hmotností daného zvířete z důvodu dosahování nižší intenzity růstu (Zahrádková et al., 2009). Důležitým faktorem je ovšem i systém ustájení a denní režim ve výkrmu, délka světelného dne, zdravotní stav vykrmovaných zvířat, které mohou být inhibitory růstu výkrmu.

Zásadní důležitost pro produkci masa mají vlivy genetické. Genetické založení nelze měřit přímo, ale pouze jako projev užítkovosti zvířat (Skládanka et al., 2014). Fürst (2008) uvádí, že při správném šlechtění na více znaků je jedním z rozhodujících vlivů genetické založení daného znaku (heritabilita) a jeho vazba na znaky další (korelace). Za nízké dědivé znaky označuje většina fitness znaků pohybující se v rozmezí 2 - 15%, zatímco znaky zdravotního stavu jako jsou mastitidy či porodní problémy dosahují heritability 5 - 30%. Za znak s dobrou dědivostí je považována mléčná užítkovost pohybující se na úrovni 30% a více, masná užítkovost 20 - 40%. Vybrané dědivosti znázorňuje tab.č.1 Skládanka et al. (2014) popisují dědivost vybraných znaků u českého strakatého skotu a holštýnského skotu (tab.č. 2).

Tab. č. 1: Přehled některých dědičně vybraných znaků (Fürst, 2008).

Znak	Heritabilita (%)
Produkce mléka v kg	30
% tuku v mléce	45
% bílkovin v mléce	55
Netto přírůstek	25
Jatečná výtěžnost	45
Zatřídění (SEUROP)	25
Délka produkčního života	12
Perzistence laktace	15
Plodnost	2
Průběh porodu	5
Mrtvě narozená telata	2
Somatické buňky	15
Dojitelnost	30
Zdravotní stav (poruchy)	5-20
Rámec	35
Osvalení	25
Končetiny	20
Vemeno	30

Tab.č. 2: Heritabilita vybraných ukazatelů (Skládanka et al., 2014).

Znak	Český strakatý skot	Holštýnský skot
Produkce mléka v kg	0,33	0,39
Produkce mléčných bílkovin v kg	0,31	0,37
Produkce mléčného tuku v kg	0,32	0,38
Počet somatických buněk v mléce	0,27	0,30
Dlouhověkost	0,23	0,22
Vemeno	0,24	0,20
Končetiny	0,15	0,12
Osvalení	0,28	-
Plodnost dcer	0,03	0,03
Vlastní plodnost	0,04	0,04
Netto přírůstek	0,29	-
Jatečné třídy (SEUROP)	0,21	-
Jatečná výtěžnost	0,46	-

2.3.1 Český strakatý skot

Současný název český strakatý skot dostalo plemeno v roce 1967. Jiné názvy pro český strakatý skot jsou česká straka, červená straka, ve zkratce čestr. Toto plemeno je tradiční české kombinované plemeno skotu. Je řazen do skupiny plemen horského strakatého skotu, z pohledu kraniologického do skupiny skotu čelnatého. Je součástí celosvětové populace strakatých plemen shodného fylogenetického původu, odvozeného od strakatého skotu chovaného už ve středověku ve Švýcarské oblasti v údolí řeky Simme v kantonu Bern. V současné době v České republice tvoří český strakatý skot asi polovinu veškeré populace skotu. Chovatelé skotu jsou sdruženi na evropské úrovni v European Simmental Federation se sídlem v Mnichově. Celosvětovou organizací je World Simmental-Fleckvieh Federation.

Od poloviny 19. století docházelo na území České republiky ke křížení dosud převládající české červinky se skotem dováženým ze zahraničí. Profesor Taufer měl v Čechách a na Moravě snahu o sloučení všech rázů strakatého skotu, na základě zákona o plemenitbě hospodářských zvířat, který pocházel z roku 1924, v němž bylo povoleno používat v plemenitbě pouze býky plemene simensko-českého, bernsko-českého, bernsko-hanáckého, českých červinek aj. Ke změně trojstranné užitkovosti, mléko-maso-

tah na dvoustrannou mléko-maso, došlo po 2. světové válce, kdy také došlo k zániku rozdělování na „těžší a lehčí typ“ pro nížinné a horské oblasti. Mimo čistokrevné plemenitby se u českého strakatého skotu s cílem zlepšení mléčné užitkovosti začalo v rámci plemene uplatňovat zušlecht'ovací křížení. Využíváno bylo plemeno ayrshirské či dánská červinka, ovšem ovlivňování pouze jednostranné užitkovosti u kombinovaného typu skotu vedlo k tomu, že zlepšením produkce mléka v populaci byla negativně ovlivněna masná užitkovost. Z tělesných znaků došlo ke zlepšení funkčních a tvarových vlastností vemene, docházelo k jinému utváření zadních končetin, to se podepsalo na zmenšení tělesného rámce a po čase bylo zušlecht'ovací křížení s ayrshirským plemenem zastaveno. Od roku 1971 dle trendu ze Švýcarska se zušlecht'ovací křížení provádělo s červenou varietou holštýnského skotu. Bylo pozorováno mírné zlepšení mléčné užitkovosti, ale opět negativní dopad na osvalení zvířat, jejich jatečnou hodnotu a celkovou konstituci. Podíly zušlecht'ujících plemen se pohybovaly mezi 25 - 37%. Avšak křížení nesplnilo všechna očekávání. V posledním období je šlechtitelská práce navracena ke klasické kombinované užitkovosti s úzkou vazbou na populace strakatého skotu ze zahraničí. Stále ovšem jsou v populaci strakatého skotu zvířata s vysokým podílem zušlecht'ujících plemen (Kučera, 2006).

V současné době jsou šlechtitelské programy řízeny s ohledem na specifika jednotlivých zemí, v minulosti byly populace strakatého skotu jednotlivých zemí šlechtěny k rozdílným plemenným standardům a chovným cílům (Bouška et al., 2006).

Chovný cíl plemene je zaměřen na vysokou a hospodárnou produkci kvalitního mléka a masa. Cílový požadavek na mléčnou užitkovost u českého strakatého skotu je 6 000 až 7 500 kg mléka s obsahem bílkovin nad 3,5 %. Cílový požadavek na masnou užitkovost je pak definován jako průměrný denní přírůstek nad 1 300 g v intenzivním výkrmu býků a jatečná výtěžnost nad 58 %. Řada předních chovů dosahuje těchto parametrů již v současné době (Svaz chovatelů českého strakatého skotu, 2008).

U zvířat do chovu je požadováno, aby byly zvýrazněné znaky mléčnosti, střední až větší tělesný rámec, dobré osvalení a harmonický zevnějšek. Hospodárnost chovu je dána ukazateli chovné užitkovosti, především dobrým zdravotním stavem, a to především mléčné žlázy, pravidelnou plodností, snadnými porody, vitalitou telat, bezproblémovým odchovem, ale i schopností k pastvě a vysokému příjmu a využití objemných krmiv (Svaz chovatelů českého strakatého skotu 2008).

2.3.2 Šlechtění českého strakatého skotu

Šlechtění je cílené zlepšování genofondu populace skotu u sledovaných vlastností v požadovaném směru, které se provádí záměrným výběrem jedinců vhodného genetického založení pro dané vlastnosti do další generace. U českého strakatého skotu nás zajímají vlastnosti, kterými jsou mléčná produkce, masná produkce, fitness a exteriér. Tyto vlastnosti jsou kvantitativní, jsou ovlivněny působením velkého počtu genů, které jsou ve vzájemné interakci, zároveň působí vlivy vnějšího prostředí. Hlavním cílem šlechtění je populace zvířat, u nichž je geneticky fixována vysoká užitkovost a pevné zdraví. Genetické založení kvantitativních vlastností nelze zjistit přímo, můžeme ale měřit užitkovost zvířat a její proměnlivost, vyjádřenou rozptylem. Podstatné je, jaká část proměnlivost v populaci je podmíněna geneticky a jaká část vnějším prostředím. (Skládanka et al., 2014).

Šlechtění českého strakatého skotu probíhá v souladu se šlechtitelským programem, který schválilo členské shromáždění Svazu chovatelů českého strakatého skotu a MZe ČR. Rada plemenné knihy a Rada Svazu projednává a doporučuje změny a doplňky do šlechtitelského programu, dále změny Řádu plemenné knihy a zpřísnění selekčních kritérií pro podporu šlechtění. Součástí šlechtitelského programu jsou rovněž selekční indexy, zahrnující užitkovost mléčnou, masnou, fitness a někdy také exteriér (Kučera et al., 2004).

Při využívání selekčních indexů pro býky českého strakatého skotu (tab. č. 3) došlo k aktualizaci ekonomických vah, což je zastoupení tří dílčích plemenných hodnot (netto přírůstek : jatečná výtěžnost : jatečná třída), jejich poměr je v ČR 44:28:28 (každý stát si určuje vlastní hodnoty) a genetických parametrů, které jsou zásadní pro vytvoření selekčních indexů. Dále jsou k dispozici ukazatele, které jsou odhadovány v rámci německo-rakousko-česko-maďarské spolupráce od r. 2008, počty somatických buněk aj. Tato zveřejňovaná relativní plemenná hodnota je známa pod názvem Fleischwert (FW) a je sestavena z výše zmíněných jednotlivých plemenných hodnot (Skládanka et al., 2014).

Tabulka č. 3: selekční index pro český strakatý skot (Kučera, 2007).

Index produkce mléka	PH kg tuku	20,0	40,0	
	PH kg bílkovin	80,0		
Index produkce masa	PH netto přírůstek	44,4	17,0	
	PH Jat. Tříd	27,8		
	PH JV	27,8		
Fitness - reprodukce	PH plodnost	50,0	20,0	43,0
	vlastní PH plodnost dcer	50,0		
Fitness - dlouhověkost	PH SB	20,0	80,0	
	PH užitkový typ	5,0		
	PH oslavení	20,0		
	PH končetiny	10,0		
	PH vemeno	45,0		

Aditivně genetická složka je z hlediska selekce nejvýznamnější, jelikož vyjadřuje tu složku, která je předávána dalším generacím. Geny se přenášejí z generace na generaci, odhadu této hodnoty rozptylu říkáme plemenná hodnota (Skládanka et al., 2014). Plemenná hodnota je odhad genetického založení jedince vyjádřené odchylkou v užitkové vlastnosti od průměru vrstevníků (Kučera et al., 2004).

Odhad plemenné hodnoty je prováděn na základě kontroly užitkovosti (KU). Tato metoda vznikla v Dánsku r. 1885, v Čechách se datuje od r. 1905, tedy 111 let. U skotu provádíme kontrolu mléčné užitkovosti, KU masných plemen, kontrolu růstu plemenných býčků v odchovnách, kontrolu růstu telat a jalovic a následný odhad plemenných hodnot (Skládanka et al., 2014).

2.3.3 Masná užitkovost českého strakatého skotu

Český strakatý skot patří do skupiny kombinovaných plemen skotu, která jsou chována na maso-mléčnou produkci (40:60). Masné užitkovosti je v posledních letech

věnována velká pozornost. U býků strakatého skotu je prováděna kontrola vlastní užitkovosti na odchovných plemenných býků (OPB), kde je prováděna kontrola vlastní užitkovosti od 111. do 365. dne věku. Je zjišťován denní přírůstek býka, jedinci je udělena třída (známka) za osvalení a posouzen exteriér. Do plemenitby jsou zařazováni pouze TOP býci, kteří splňují veškerá kritéria. Druhým bodem kontroly masné užitkovosti je kontrola potomstva. Kontrola potomstva se provádí pomocí staniční metody kontroly výkrmu skotu (SKVS), dále z údajů polního testu, který je řízený a neřízený (Ondráková, 2007). Do stanic výkrmnosti skotu jsou zastavována telata, synové jednotlivých testovaných otců, v minimálním počtu 12 ks ve věku do 4 týdnů. Výkrm je ukončen ve věku 610 dnů (± 10 dnů) s krmnou dávkou zabezpečující průměrný denní přírůstek 1300g (Svaz chovatelů strakatého skotu, 2013).

U testu řízeného je hodnocen netto přírůstek a jatečná třída, testu neřízeného netto přírůstek, denní přírůstek, jatečná třída a jatečná výtěžnost. Za Českou republiku vstupují do výpočtu 3 zdroje údajů, a to vlastní užitkovost z OPB, výsledek užitkovosti z SKVS a data z polního testu, kterým je hodnocení dle SEUROP na jatkách (Ondráková, 2007).

2.4 Vlastnosti masa

V chovu skotu pro masnou užitkovost se střetává několik různých pohledů na nejdůležitější vlastnosti. Chovatel preferuje především růstové schopnosti. Z pohledu zpracovatele se jako nejdůležitější jeví bourárenská výtěžnost. A spotřebitel preferuje především kvalitativní ukazatele masa jako konečného produktu. Spotřebitelské hledisko patřilo doposud k přehlíženějším. Existovala tvrzení, že neexistuje maso špatné kvality, ale že závisí na šikovnosti kuchaře a jeho schopnosti nechat maso dostatečně uzrát. V současné době dochází ke zřetelnému obratu v náhledu na problematiku konečné jakosti masa a šlechtitelé a chovatelé se již snaží ovlivnit tuto vlastnost vlastním šlechtitelským úsilím.

Pojem jakost masa lze popsat jako komplex následujících dílčích položek:

- 1) senzorycké vlastnosti:
 - barva
 - mramorování
 - struktura svalových vláken
 - chuť
 - vůně

- křehkost
- konzistence
- šťavnatost
- 2) výživná hodnota:
 - obsah bílkovin
 - obsah tuků
 - obsah vitamínů
 - obsah glycidů
 - obsah minerálních látek
 - obsah stopových prvků
 - biologická hodnota
- 3) hygienické a toxikologické vlastnosti:
 - obsah patogenních zárodků
 - pH
 - aktivita vody
 - redoxní potenciál
 - obsah reziduí: antibiotika, hormony, tyreostatika, pesticidy, herbicidy, fungicidy, toxické kovy
- 4) technologické vlastnosti:
 - schopnost vázat přidanou vodu
 - obsah volně vázané vody
 - konzistence
 - pH
 - obsah pojivové tkáně a šlach
 - obsah a jakost tuku

Kulinářské kvality masa mohou být ovlivněny vícery faktory od samotných genů potomka zděděných od rodičů až po zpracování masa. Nehledě na cenu hovězího masa je spotřebitel ovlivňován i znaky dalšími, jako je křehkost masa, někdy označována jako jemnost, dále šťavnatost, chuť a barva. Ovšem tyto ukazatele nepaří mezi ty, které mají vysokou ekonomickou důležitost pro chovatele masného skotu. Chovatelé upřednostňují znaky, jakými jsou růst, efektivita výkrmu a čas dospívání (Gábor et al., 2012).

2.4.1 Křehkost

Z pohledu konzumenta je křehkost řazena mezi nejdůležitější faktory ovlivňující kvalitu masa. Konečná křehkost masa je determinována procesem zrání masa. Tento proces začíná krátce po porážce zvířete, kdy dochází k proteolýze myofibril a jimi asociovaných proteinů. Při degradaci dojde k disociaci myofibril na myofilamenta, která jsou dále degradována na polypeptidy a vlastní aminokyseliny (Koochmaraire, 1996; Koochmaraire et al., 2002).

Křehkost je ovlivňována řadou vlivů působících před porážkou a po porážce. Mezi nejvýznamnější faktory působících před porážkou se řadí věk zvířete, pohlaví, plemenná příslušnost, výživa a stres jakému bylo zvíře před porážkou vystaveno, genetické pozadí, vývoj a rychlost růstu organismu. Po porážce jsou důležitými ukazateli procesy *rigor mortis* neboli změny, ke kterým dochází v těle krátce po smrti zvířete a samotné zrání masa. Okamžitě po porážce je maso křehké a vykazuje nízkou střižnou sílu, ovšem vlivem zkrácení svalů doprovázejícímu *rigor mortis* maso tuhne, a to 12 až 24 hod. po porážce. V této době ovšem začíná i proces opačný, křehnutí masa. K tomu dochází pomocí procesu proteolýzy *post mortem*, kdy enzymy naruší integritu svalu. Rozdíly v míře a rozsahu *post mortem* změn myofibrilárních proteinů jsou hlavním zdrojem variability křehkosti masa. Optimální doba pro vyžrání hovězího masa a získání potřebné křehkosti je uváděna 14 dní, zatímco u vepřového masa stačí 5 až 7 dnů a jehněčího 7 až 10 dnů (Koochmaraire et al., 1994).

Křehkost masa je hodnocena objektivně metodou měření síly stříhu Warner-Bratzlerův shear testem.

Schopnost degradovatelnosti pojivové tkáně a množství intramuskulárního tuku patří mezi 20% pozorované variability křehkosti ovlivňující výslednou křehkost hovězího masa (Koochmarie et al., 1994).

2.4.2 Vaznost

Vaznost je schopnost masa vázat vlastní i přidanou vodu. V mase je obsažena voda pravá neboli vázaná, to je voda hydratační, voda imobilizovaná mezi filamenty a voda volná v mezibuněčných prostorech. Z toho voda vázaná tvoří přibližně tři čtvrtiny hmotnosti masa. Vodu volnou z masa lze vytěsnit mechanicky, zatímco vodu vázanou mechanicky vytěsnit nelze. Podíl vody volné a vázané tudíž není stálý a závisí na použité mechanické síle (Pipek a Jirotková, 2001). Silva et al. (1999) uvádějí ve své práci,

že velký vliv na zvýšení vaznosti a křehkosti masa má vyplavení kyseliny mléčné po porážce.

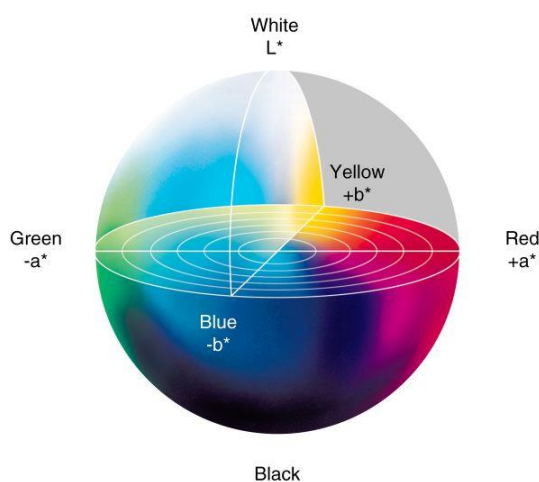
Vaznost je ovlivňována řadou faktorů, jako je pH (tím je ovlivněna disociace funkčních skupin bílkovin; v izoelektrickém bodě je vaznost za jinak totožných podmínek nejmenší), průběhem posmrtných změn souvisejících se snížením pH a obsahem soli, která obecně zvyšuje vaznost masa. Vliv má také přídavek polyfosfátů, cizích bílkovin, které zvyšují vaznost masa, teplota masa, kdy se zvyšující se teplotou klesá vaznost masa aj. Dále mají vliv různé podílející se vlivy jak genetické, tak porážkové (Pipek a Jirotková, 2001; Kadlec et al., 2012). Tento fakt potvrzují ve své práci i Zhang et al. (2005), kteří uvádějí, že schopnost masa vázat vodu je přímo závislá na pH masa. Vaznost vody se zvyšuje se vzrůstajícím pH, také uvádějí, že vyšší hodnoty pH v mase souvisejí s transportem a zacházení se zvířaty před porážkou. V práci Muchenje et al. (2009) popisují vliv nízké hodnoty pH, která může způsobit denaturaci bílkovin a tím vyšší okapovou ztrátu.

2.4.3 Barva

Hovězí maso má charakteristicky cihlově červenou barvu, která je jedním z nejdůležitějších znaků. Je ovlivněna obsahem svalového barviva. Barva záleží na mnoha faktorech, mezi které patří pohlaví zvířete, plemenná příslušnost, kvalita výživy, fyzická námaha, ale především věk zvířete. Různé jatečné části (partie masa) se odlišují různými odstíny. Maso mladých zvířat je světlé, bledě červené až růžové, ale přiměřeně pevné a málo prorostlé tukem. Oproti tomu býci mají maso hruběji vláknité, cihlově červené a dle plemenné příslušnosti mramorované intramuskulárním tukem. S rostoucím věkem je maso suché a tuhé a dochází k ubývání intramuskulárního tuku (Steinhauser et al., 1995).

Červené zbarvení masa a krve způsobují hemová barviva. Ta se skládají z globinu, který slouží jako bílkovinný nosič, hemu a centrálního atomu železa. Hemoglobin je krevní barvivo a zároveň nejvíce zastoupený krevní protein. Rolí hemoglobinu je rozvádět kyslík z plic do tkání. Jeho obsah se u hovězího masa pohybuje mezi 336 až 516 mg·kg⁻¹. Podle stupně vykrvení se pohybuje obsah hemových barviv mezi 10 až 50 %. Obsah hemoglobinu je závislý na obsahu myoglobinu. Myoglobin je svalové barvivo a také nejdůležitější pigment živočišných tkání, který slouží jako zásobárna kyslíku ve svalech (Steinhauser et al., 1995).

Barevný prostor CIELab (Commission Internationale de l'Éclairage) vyjadřuje vztah mezi měřenou a vizuální odchylkou. Měřené parametry definují barvu jako bod v trojrozměrné barevné kouli. Měřenými veličinami jsou: jas a souřadnice barevnosti a^* (též redness) a b^* (též yellowness). Jas (Lightness, L^*), se pohybuje v rozsahu 0 až 100, 0 vyjadřuje černou barvu a 100 barvu bílou. Hodnota a^* popisuje barvu ve směru do červena ($+a^*$) a ve směru do zelena ($-a^*$). Hodnota b^* popisuje barvu ve směru do žluta ($+b^*$) a směr do modra ($-b^*$). Souřadnice L^* , a^* , b^* definují polohu barvy v uniformním barevném prostoru (Konica Minolta, 2006).



Obr. č. 1: CIELab prostor

2.4.4 pH

pH je fyzikálně-chemická veličina, která je definována jako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů (Ingr, 1996).

pH masa přímo ovlivňuje výslednou křehkost masa, která je zvýšená při hodnotách pH 6 - 7, ovšem křehkost není závislá na pH, ale je ovlivňována procesem zrání masa. Běžné hodnoty pH ve svazech u skotu se pohybují v rozmezí 5,4 - 7,2 (Jelínková et al., 2008).

Udává se, že pH také ovlivňuje světlost masa. Ke změnám pH může docházet jak při posmrtných změnách, tak i při různých technologických úpravách. Maso dosahuje minimální vaznosti při hodnotách pH 5,0, jelikož dochází k vyrovnání počtu kladných a záporných nábojů v molekule bílkoviny (Deman J., 1999; Pipek a Jirotková, 2001).

Po porážce zvířat dle změn hodnot pH je snadno rozlišitelné maso normální od masa s atypickým průběhem zrání. Jakostní vady masa vzniklé abnormálním průběhem autolýzy jsou PSE maso (pale, soft, exudative), bledé, měkké a vodnaté a DFD maso (dark, firm, dry), tmavé, tuhé a suché; dříve byla tato vada označována jako DCB, dark cutting beef, hovězí maso tmavé na řezu. DFD hovězí maso vykazuje tmavé, purpurově červené až téměř černé zbarvení. Maso je libové a suché, často má lepivý povrch. Vzhledem k vysoké hodnotě pH, suché povrchy působí podobně jako suchá houba, což vede ke zvýšení schopnosti vázat vodu ve svalu. Nicméně, pokud je zvíře dlouhodobě vystaveno předporážkovému stresu, vyčerpává své zásoby glykogenu. Vyčerpání glykogenu na úroveň nižší než průměrně 0,6 % bude mít vliv na normální *post mortem* pokles pH. U svalu s post-rigor hodnotou pH vyšší než 5,9 se obecně vyvíjí některé z charakteristik tzv. tmavého masa. Rozmezí pH u normálního masa, pocházejícího od nestresovaných zvířat, se pohybuje mezi 5,4 a 5,7. DFD maso mívá mnohem vyšší pH s hodnotami 5,9 - 6,5, přičemž u některého vzorku masa se mohou vyskytnout i hodnoty pH dosahující hodnoty 6,8. Při PSE dochází k hromadění kyseliny mléčné, což má za následek pokles hodnot pH pod 5,8 a zvýšení teploty uvnitř svalu nad 42 °C. Tato jakostní odchylka se týká především masa vepřového a souvisí s intenzivním šlechtěním prasat na vyšší zmasilost. U hovězího masa se především vyskytuje DFD vada. U vyčerpaných zvířat se obsah glykogenu ve svalech snižuje k nulové hladině a vzniká kyselina mléčná. Ta je poté ze svaloviny odváděna krevní cestou. V takové situaci poražené zvíře poskytne maso velmi tmavé. Hlavní negativní vlastností DFD masa je však jeho neúdržnost. Nemá obvyklou vlastní kyselost, proto velmi rychle podléhá mikrobiálnímu kažení. pH po 24 hodinách dosahuje hodnot pH 6,2 a vyšších, je tedy spolehlivým indikátorem DFD masa (Buding a Klíma, 1993, Miller, 2007).

2.5 Kandidátní lokusy, QTL

Pozice, kde se nachází gen na chromozomu se nazývá lokus. Lokus pro určitý gen, který ovlivňuje určitou kvantitativní vlastnost, se nazývá QTL (quantitative trait locus, tj. lokus pro kvantitativní znak). Pomocí moderních molekulárních metod je možné vyhledávat QTL v genomech. U různých druhů byly identifikovány a zmapovány na konkrétních chromozomech (Snustad et al., 2009).

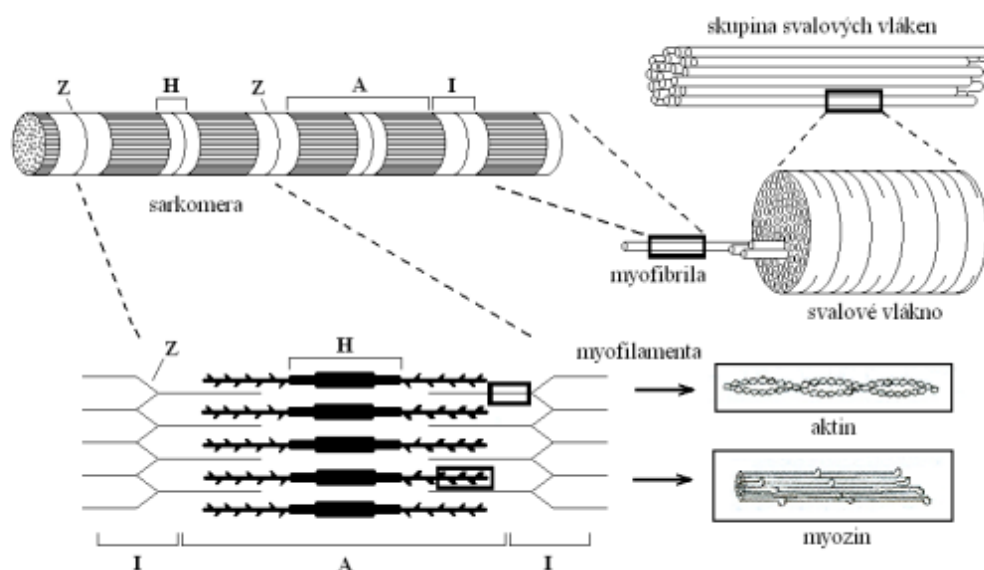
Kandidátní lokus (gen/region) je jakýkoliv gen nebo určitý region, který je považován za potenciálně spojený s jakýmkoli fenotypem předtím, než je navržena diagnostika GWAS (Genome-wide association studies). Kandidátní gen je součástí metabolických drah, vedoucích k manifestaci studovaného znaku (Siontis et al., 2010). Kandidátní gen lze lokalizovat např. pozičním klonováním, poziční kandidátní gen se nachází v dříve identifikovatelné QTL oblasti (Snustad et al., 2009).

2.5.1 Calpain (CAPN) a jeho inhibitor calpastatin (CAST)

Křehkost masa, „tenderness“, je nejvýznamnější vlastnost masa při hodnocení spotřebiteli. Tento ukazatel je však ovlivňován řadou faktorů. Je obtížné odhadnout citlivost přesně pro každé zvíře, protože fyziologické změny v struktuře svalů během *post mortem* období jsou velmi složité. Křehkost masa je z genetického hlediska dávana do souvislosti s calpainovým a calpastatinovým komplexem. Calpain I je kódovaný genem *CAPN1*, calpain II genem *CAPN 2*, calpain III genem *CAPN3* a calpastatin genem *CAST* (Chung a Davis, 2011).

Proteolytické systémy ve svalu, které mají vliv na posmrtnou proteolýzu a křehnutí masa jsou: systém calpainů, lysozomální katepsiny a multikatalytický proteinázový komplex (MCP). Mnoho teorií vysvětluje křehnutí masa, ovšem calpainová teorie se jeví jako nejpravděpodobnější. Během křehnutí dochází k rozkladu hlavní struktury cytoskeletu rovněž jako myofibrilárních a cytoskeletálních proteinů. Mezi tím, co maso křehne, je celý proces doprovázen změnami v ultrastruktuře (degradace Z - linie a I - vazby). Největší roli v posmrtné proteolýze a křehnutí masa hraje *CAPN1* a *CAST*, ovšem proteasomy a kaspasy mohou také ovlivňovat proces křehnutí. Křehkost se týká nejvíce hovězího masa, které vyžaduje alespoň 14 dní zrání v chladu, aby bylo dosaženo finální křehkosti. Ovlivňují ji různé předporážkové (věk, druh, pohlaví, plemeno, výživa, stres před porážkou, aj.) a poporážkové faktory (rigor mortis a zrání) včetně jejich vzájemných účinků. Při zrání je možné pozorovat změny v mikrostruktuře a ultrastruktuře svalových vláken, tj. zeslabování myofibril, fragmentaci, změny v oblasti Z - linie a I - vazbě a degradaci myofibrilárních a cytoskeletálních proteinů, T troponinů, I troponinů, titinů, aj. Tyto změny vedou k získání konečné křehkosti masa (Vondrášková, 2012). Studie ukázaly, že *CAPN1* je v 66 % situován na Z - linii a zbytek se nachází na I - vazbě (20 %) a A - vazbě (21 %), *CAPN2* je v 52 % na Z - linii v I - vazbě (27 %) a A - vazbě (21 %) (Koochmarai, 1994; Kumamoto et al., 1992).

CAPN3 se v největší míře nachází v blízkosti sarkomery v blízkosti Z a M-linie (Ilian et al., 2004).



Obrázek č. 2: Struktura kosterního svalu: skupina svalových vláken - svalové vlákno - myofibrila - sarkomera - myofilamenta (aktin a myozin)
<http://www.kme.zcu.cz/kmet/bio/svstavba.php>

Calpains jsou superrodina tvořená ze 14 cysteinových proteáz, ale systém calpainů je v kosterním svalu tvořen z nejméně 3 proteáz: calpain I (μ), calpain II (m) a calpain 3 (p94) (Goll et al., 2003; Koohmaraie a Geesink, 2006; Moudilou et al., 2010). CAPN2 byl detekován v cytosolu, zatímco CAPN1 je v 70 % vázán na myofibrily (Xu et al., 2009).

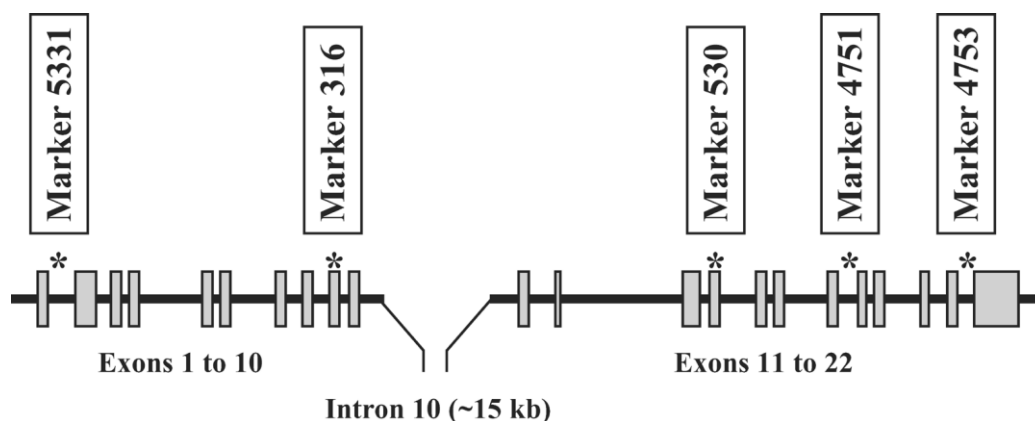
Proteiny μ -calpain a m -calpain jsou tvořeny z podjednotek kódovaných čtyřmi geny. Calpain 1 (*CAPN1*) a calpain malá podjednotka 1 (*CAPNS1*) se nacházejí na bovinním chromozomu BTA29 a BTA18 (Band et al., 2000; Smith et al., 2000). Na chromozomu BTA7 byly detekovány geny pro calpastatin (*CAST*) (Bishop et al., 1993), zatímco calpain 2 (*CAPN2*) nebyl dosud v bovinním genomu mapován. Byly detekovány tři polymorfismy (SNP) v *CAPN1* (Page et al., 2002; Page et al., 2004; White et al., 2005) a jeden SNP v *CAST* (Schenkel et al., 2006), které mají významný vliv na křehkost vařeného hovězího masa.

Oba calpains (*CAPN1* a *CAPN2*) se skládají z velké katalytické podjednotky o molekulové hmotnosti 80 kDa a malé regulační podjednotky 30 kDa, kódované genem *CAPN4* (Goll et al., 2003, Moudilou et al., 2010). Ve velké podjednotce je možné rozlišit

čtyři domény (I - IV), v malé podjednotce dvě domény (V a VI). Doména I působí jako inhibitor proteolytických aktivit. Doména II je katalytická a podobná jako u jiných známých cysteinových proteáz. Doména IV může být zodpovědná za vázání iontů vápníku. Doména V je silně hydrofobní a je bohatá na zbytky glycinů. Velká část této oblasti je spotřebována během autolytické aktivace enzymu. Doména VI, podobně jako IV obsahuje čtyři oblasti vázající ionty vápníku (Jakubiec-Puka, 1993; Carragher a Frame, 2002).

Calpain (CAPN), hydrolyzující substráty ve vybraných oblastech, ovlivňuje křehkost masa *post mortem*. *CAPN1*, který byl detekován v telomerickém úseku na BTA29, se skládá z 22 exonů a 21 intronů. V genu bylo nalezeno 38 jednonukleotidových polymorfismů (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Za SNP, mající vliv na křehkost masa, tzv. „tenderness“, je považována mutace *CAPN530* v exonu 14, kde z důvodu transice na pozici 4558. nukleotidu dojde k záměně báze DNA adeninu (A) za guanin (G), což způsobí záměnu aminokyseliny (AMK) isoleucinu (Ile) valinem (Val) v pozici 530. U genu pro calpain byly popsány dvě alely *A* a *G*. Alela *A* má vyšší sílu stříhu než alela *G* (Ciobanu et al., 2004; Čítek et al., 2010). Calpains jsou inhibovány calpastatinem, který se váže přímo na calpain (Goll et al. 2003). U polymorfismu 316 byl prokázán vztah mezi nižší střížnou silou a alelou *C* oproti alele *G* (Page et al., 2002). Jako využitelný se ukázal marker 4751 s polymorfismes *C/T* ležící v intronu 17, který byl průkazně asociován se střížnou silou a marker 4753 ležící v intronu 21. Marker 5331 nezapadá do této rodiny, protože u dalších markerů již byl potvrzen vztah mezi *CAPN1* a QTL pro sílu stříhu (White et al., 2005).

Othman et al. (2011) uvádějí ve své práci, že v bovinním *CAPN1* genu bylo identifikováno více než 100 jednonukleotidových polymorfismů (SNPs). Dvě nesynonymní SNPs (*G316A* a *V530I*) a dvě intronové SNPs (*C4685T* a *C4751T*) mají významný vliv na křehkost masa.



Obrázek č. 3: Struktura bovinního genu *CAPN1* (White et al., 2005)

Aktivita calpainu je určena aktivitou calpastatinu. Čím vyšší je poměr systému CAPN/CAST, tím je maso křehčí (Nowak 2011). Calpainová aktivita je závislá na přítomnosti Ca^{2+} v systému. *CAST* se naváže na *CAPN* po vyčerpání energie ATP (adenosintrifosfát). Pokles ATP zastaví vstřebávání Ca^{2+} v sarkoplazmatickém retikulu a vápník se uvolní do sarkoplazmy. 1 molekula *CAST* dokáže inhibovat až 4 molekuly *CAPN*, ovšem úroveň inhibice se v procesu zrání snižuje (Gábor et al., 2010; Sorimachi et al., 1997).

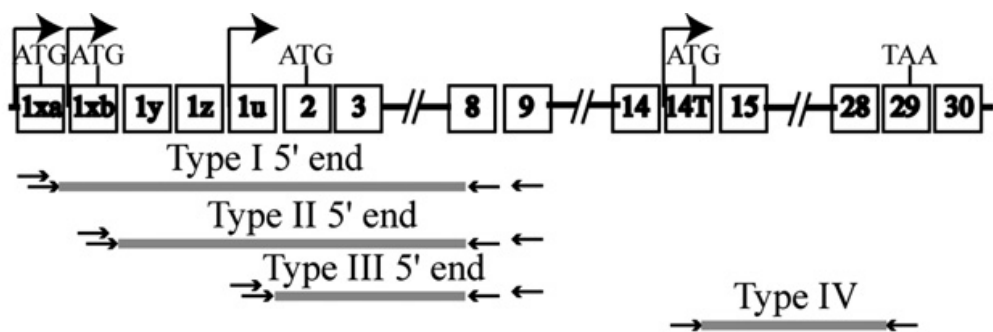
Sekvenování bovinního genu calpastatinu ukázalo, že tento gen obsahuje 30 exonů. Gen je regulován na úrovni několika promotorů: 1xa, 1xb, 1y, 1z, 1u (Raynaud et al., 2005a,b). P3 promotor, řídící expresi *CAST* ve všech tkáních, je spojen s exonem 1u. Přes všechny informace týkající se calpastatinu je jen málo známo o tom, jak je tento gen regulován na transkripční a translační úrovni, zejména u skotu (Parr et al., 2004). 1xa a 1xb jsou ve vzájemném tandemu a 1u, který se nalézá v oblasti 3 – konce distálně k 1xa a 1xb ovlivňují exon 5 (Meyers a Beever, 2008). Odlišná křehkost masa může být způsobena různou úrovní exprese calpastatinu. Na expresi může mít vliv rozdíl mezi transkripční aktivitou těchto promotorů pro gen calpastatin mezi jednotlivými druhy i v rámci odlišných reakcí na stimulační podněty (Kemp et al., 2010; Nowak, 2011).

Calpastatin získaný z kosterního svalstva je jednoduchý polypeptid, jehož vnitřní struktura je tvořená čtyřmi opakujícími se doménami 1, 2, 3 a 4 a N – terminální oblastí označovanou jako doména L nebo XL, která se vyznačuje variabilní velikostí (Goll et al., 1999; Maki et al., 1991). Bylo zjištěno, že neporušená calpastatinová molekula je schopná inhibovat nejméně čtyři molekuly calpainu, díky vlivu inhibičním aktivitám domén 1 – 4 (Otsuka a Goll, 1987). Lonergan et al. (2001) zjistili, že ve svalech *post mortem* je

calpastatin degradovaný. Na základě mnoha analýz hovězího masa lze calpastatin považovat za kandidátní gen ovlivňující jemnost masa.

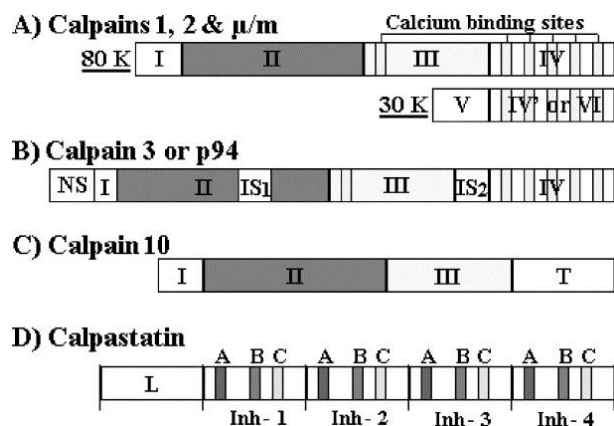
Gen kódující vznik bovinního calpastatinu je lokalizovaný na BTA 7 s pravděpodobnou pozicí 117,8 cM (Bishop et al., 1993). Dva doposud nejdůležitější polymorfismy v *CAST* popsali Barendse et al. (2002) a Schenkel et al. (2006). Prvně jmenovaní autoři popsali v 3'UTR oblasti jeden SNP se záměnou G za A v pozici (c.2959A > G) sekvence (GenBank přístupové číslo *AF159246*). Mnoho studií potvrzuje silnou asociaci tohoto SNP s jemností hovězího masa. Tato záměna dostala označení CAST-T1 genu *CAST* v komerčním testu GeneSTAR Tendernes, který spolu s μ -calpainem CAPN316 a CAPN4751 tvoří základní panel pro predikci jemnosti. Schenkel et al. (2006) v 5. intronu genu *CAST* popsali SNP v pozici c.282C > G (sekvence Gen Bank: *AY008267*) spočívající v záměně G za C, která je prokazatelně spojená se snížením hodnoty Warner-Bratzlerova síly stříhu hovězího masa. Tato SNP dostala pojmenování UoG-CAST, která je součástí komerčního testu označeného Igenity *TenderGENE*. Oba tyto komerční testy byly potvrzeny ve studii Van Eennaama et al. (2007), který potvrzuje silnou asociaci obou polymorfizmů genu *CAST* s jemností masa.

Calpastatin obsahuje 4 inhibiční domény, z nichž každá může bránit calpainové aktivitě. V těchto oblastech domén jsou tři oblasti (A, B, C), schopné komunikovat s calpainem. Oblast mezi A a C - oblast B, nato blokuje aktivní místo calpainu (Goll et al., 2003; Kemp et al., 2010).



Obrázek č. 4: Schématické znázornění bovinního genu *CAST* a transkripčních variant: šipky nad exony indikují začátek transkripce (Raynaud et al., 2005b).

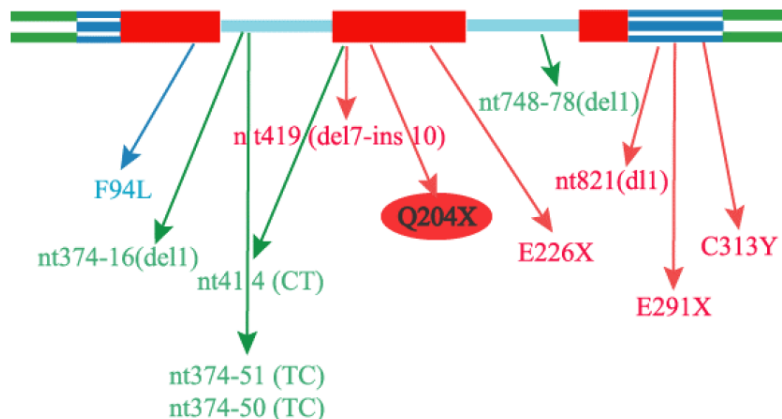
Činnost calpainového systému závisí na mnoha faktorech, jako jsou pH, teplota, a především koncentrace vápenatých iontů (Steen et al., 1997; Goll et al., 2003).



Obrázek č. 5: Schématická struktura calpainů: (A) všudypřítomný calpain1, calpain2 a kuřecí calpain, (B) svalově specifický calpain3 nebo p94, (C) všudypřítomný strukturálně odlišný calpain určený calpain 10, (D) schéma struktury calpastatinu (Sentandreu et al., 2002).

2.5.2 Myostatin (*MSTN*)

Myostatin (*MSTN*), také známý jako Growth differentiation factor 8 - *GDF8* je peptid z *TGF-β* superrodiny, podílející se na regulaci embryonálního vývoje a na udržení homeostáze u dospělých jedinců. Jeho mutace způsobuje svalovou hyperplazii/hypertrofií svalových vláken (dvojitě osvalení - "double muscling"), v regenerujících svalech se prokazují malá množství. Při hypertrofii dochází ke zvětšení jednotlivých buněk, přičemž se jejich počet nemění, zatímco u hyperplazie dojde ke zmnožení počtu buněk. Double-muscled zvířata jsou charakterizována zvětšením svalové hmoty o 20%, které je způsobené zmíněnou hyperplazií kosterních svalů, tzn. zvýšením počtu svalových vláken, což ovlivňuje výtěžnost a skladbu JUT (jatečně upravené tělo), mají méně kostí a tuku. Tyto mutace byly využity při šlechtění plemen skotu belgické modré a piedmontese s vysokým výskytem zvířat s dvojitým osvalením. Svalová hypertrofie je v literatuře často označována pod zkratkou mh (muscular hypertrophy). Ve srovnání s normálními zvířaty mají belgické modré a piedmontese zvířata zvýšené nároky na konverzi krmiva do svalové hmoty a produkují vyšší procento z nejžádanějších částí masa (Kambadur et al., 1997).



Obrázek č. 6: Lokalizace polymorfních míst v genu myostatinu u masného skotu (podle Dvořák et al. 2002a)

Gen myostatinu se u skotu nachází na BTA2. Celkem bylo identifikováno 9 mutací u různých plemen skotu (Grobet et al., 1997).

Dvojité osvalení je u různých plemen skotu způsobováno různými mutacemi (tab. č. 4). U belgického modrého je dvojitá osvalení způsobeno delecí 11 párů bází exonu 3, která způsobí posun čtecího rámce a eliminaci aktivního místa molekuly. U piedmontese bodová mutace v exonu 3 způsobí záměnu tyrosinu za cystein v aktivním místě myostatinu (McPherron et al., 1997). Delece 11 párů bází v kódující sekvenci pro bioaktivní C-koncovou doménu myostatinu, způsobuje svalovou hypertrofií pozorovanou u belgického modrého skotu, tato mutace v bovinním genu je zodpovědná za dvojitá osvalení fenotypu zvířete. Mutovaný protein je o 102 aminokyselin kratší na C konci syntetizovaného řetězce než nemutovaný. Tato mutace se označuje nt821 (del11) (Grobet et al., 1997). Jednonukleotidová mutace způsobující záměnu G-A v pozici 938 bp (c.938A> G) v exonu 3 způsobuje substituci aminokyseliny cystein (Cyt) za tyrosin (Tyr). Nahrazený cystein je významný, neboť je v pořadí 5. konzervativní cystein z 9 typických pro zástupce TGF- β superrodiny. Substitute vede ke změně konformace a stability konečného proteinu (McPherron et al., 2007; Kambadur et al., 1997).

U plemene charolais představuje mutace C-T v exonu 2 Q204X (obr. č. 6) genu *MSTN* větší změnu myostatinu než delece 11 bází DNA u plemene belgické modré. Mutace způsobuje ukončení syntézy růstového faktoru *MSTN* po navázání 240 aminokyselin a ztrátu celé bioaktivní části růstového faktoru myostatinu. Jde tedy o mutaci typu ztráta smyslu (Sifuentes-Rincón et al., 2006).

U plemene limousine popisují Dvořák et al. (2002b) 3 různé mutace. První je shodná s mutací u belgického modrého. Druhá mutace je záměna C-T, která vede k ukončení syntézy myostatinu. *MSTN* je v případě této mutace o 172 AMK kratší. Poslední mutace, pro plemeno limousin nejspecifičtější, je záměna C-A, která změní 1 AMK v *MSTN*. U plemene maine anjou jsou popsány dvě různé specifické alely. Obě tyto alely zkracují myostatin. První je definována záměnou C-T bázi DNA a zkracuje růstový faktor o 236 AMK, druhá alela zkracuje *MSTN* o 150 AMK.

Tabulka č. 4: Přehled polymorfních míst v genu *MSTN* (podle Dvořák et al. 2002a)

Plemeno	Exon1 F94L	Exon 2 nt414	Exon 2 nt419	Exon 2 Q204X	Exon 2 E226X	Exon 3 nt821	Exon 3 C313Y	Exon3 E291X
charolais	-	+	-	+	-	-	-	-
limousin	+	+	-	+	-	+	-	-
piedmontese	-	+	-	-	-	-	+	-
simmental	-	+	-	-	-	-	-	-
belgické modré	-	+	-	-	-	+	-	-
aberdeen angus	-	+	-	-	-	-	-	-
blonde d'aquitaine	-	+	-	-	-	+	-	-
Maineanjou	-	+	+	-	+	-	-	-
galloway	-	+	-	-	-	-	-	-
gasconne	-	+	-	-	-	-	+	-
marchigiana	-	+	-	-	-	-	-	+
holstein	-	+	-	-	-	-	-	-

Vysvětlivky: + nalezení alespoň jednoho zvířete nesoucí danou mutaci

Zhang et al. (2011) popisují alely *A* a *B* v genu pro myostatin se sekvencí v GenBank s přístupovým číslem AF348479. Tyto dvě alely dávají možnost ke vzniku třem různým genotypům - *AA*, *AB* a *BB*. Dvojití osvalení způsobuje alela *A*. Tedy jedinci s homozygotním genotypem *AA* budou mít dvojití osvalení, zatímco homozygotní jedinci *BB* toto osvalení mít nebudou. U heterozygotních jedinců *AB* se větší osvalení projeví také, ovšem v menší míře než u jedinců *AA*.

Dvojití osvalení má u skotu i svá rizika. Dochází ke komplikacím při telení. Telata musí být v převážně většině rozena pomocí císařských řezů a to z důvodu velikosti plodu, jenž je vlivem dvojitého osvalení výrazně větší. Maso těchto jedinců je ovšem velmi jemné a je ho možné prodávat jako maso první jakosti. V Belgii prohlásili modrobílý skot za kulturní památku a národní exkluzivitu. Selekcí se již podařilo snížit výskyt komplikovaných porodů (dystocií) (Hruban et al., 1999).

Nicméně pravděpodobné problémy spojené s tímto znakem mohou být i snížená tolerance ke stresu, snížení plodnosti, dystocie a životaschopnost telat. Tyto okolnosti bránily u plemene belgické modré využívání hypertrofie ke klasické genetické selekci (Arthur, 1995).

2.5.3 MYF5

Vývoj svalů je determinován myostatinem, ale i geny z rodiny MYOD. MYOD jsou exprimovány pouze v kosterní svalovině.

Tvorba svalových vláken probíhá v průběhu embryonálního vývoje a je regulována geny *MyoD* rodiny. Tato rodina se skládá ze čtyř genů: *MyoD1* označovaného jako *MYF3*, myogenin (*MyoG*, *MYF4*), *MYF5* a *MYF6* (*MRF4*). Myogenní faktor 3 je produktem genu *MyoD*. *MYF3* indikuje diferenciaci fibroblastů na myoblasty (Hasty et al., 1993). Nachází se na 15. chromozómu. Druhým genem z této rodiny je *myogenin* – lokalizován na 16. chromozómu. Znám pod názvy *MYOG* nebo *MYF4*. Tento gen spojuje (fúzuje) myoblasty do vícejaderných myofibril (Hasty et al., 1993.) Je považován za kandidátní gen pro produkci masa a rozvoj svalových vláken u skotu, neboť se předpokládá, že může mít vztah k proměnlivosti počtu svalových vláken. Posledními dvěma geny z této rodiny jsou *MYF5* a *MYF6* (*MRF4*). *MYF5* v kombinaci s *MyoD1* určuje svalovou linii a je první faktor této rodiny, který se aktivuje u časného embrya a přímo se účastní počátečního vývoje svalové buňky, hraje významnou roli v regulaci kosterního svalstva. *MYF5* byl vybrán jako genetický marker pro zlepšení vlastností masa

z toho důvodu, že bylo prokázáno, že jedinci obsahující alelu *B MYF5* mají více svalových vláken, rostou rychleji a jsou více osvaleni (Braun et al, 1990; Rudnicki et al., 1993). U skotu byl gen *MYF5* mapován na 5. chromozomu v oblasti 5q2.5, kde byly významné tři chromozomální oblasti (0 - 30 cM, 55 – 70 cM a 70 – 80 cM), kde byla identifikována signifikantní asociace s růstovými znaky. Pro funkci a výsledky z QTL studií je *MYF5* považován za kandidátní gen související s masnou užitkovostí (Grosse et al, 1999; Li et al, 2002a, b; 2004). Výsledky rozsáhlých výzkumů ukazují, že gen *MYF5* může být jeden z vyvolávajících genů, které řídí růstové vlastnosti u skotu, nebo že gen je v těsné blízkosti vyvolávajících genů.

V genu pro *MYF5* byly popsány dvě alely *A* a *B*. Zhang et al. (2007) uvádějí jako častější alelu *B*, genotyp *AA* měl nižší frekvenci. Kury et al. (2002) uvádí, že zvířata s genotypem *BB* mají vyšší procento svaloviny v jatečně upravených tělech (JUT) a jedinci s genotypem *AA* mají vyšší hmotnost kýty.

Molekulárně genetické analýzy vybraných mutací v těchto lokusech mohou pomoci stanovit genotypy s významným vlivem na vybrané ukazatele užitkovosti skotu. Současně to umožní stanovit optimální přípařovací plány, jejichž cílem bude kromě jiného i možnost eliminovat vedlejší výše zmiňované negativní dopady.

3 Hypotéza disertační práce

Kvalita masa se skládá z celé řady ukazatelů, které jsou více či méně významné pro konečného spotřebitele. Mezi ty, kterým je přikládána větší váha, patří vaznost, křehkost, pH a barva masa. Tyto ukazatele mohou být formovány celou řadou vnějších i vnitřních faktorů. V současné době se stále častěji uvažuje o ovlivnění těchto kvalitativních ukazatelů genetickým založením jedince. Byla studována celá řada polymorfismů, z nichž se jako potenciálně nejdůležitější jeví polymorfismy v genech mající spojitost s *pre mortem* a *post mortem* probíhajícím procesem zrání masa. Jako významné jsou vyhodnoceny lokusy calpainového systému – *CAPN*, *CAST* a lokusy se vztahem k míře osvalení *MSTN* a *MYF5*. Možné asociace polymorfismů v těchto lokusech jsou předmětem celé řady studií, které analyzují oddělené působení genů na výše uvedené vlastnosti.

- Genotyp v uvedených lokusech může ovlivňovat sílu stříhu u hovězího masa jako ukazatele křehkosti s potenciálními rozdíly působení genotypu u syrového a grilovaného masa po různé době zrání;
- Předpokládáme možnou existenci vlivu polymorfismu v lokusech *CAPN*, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* na vaznost syrového hovězího masa 1. 14. a 28. den *post mortem*. Lze očekávat vztah mezi genotypem ve výše uvedených lokusech a hodnotami pH syrového masa měřenými v den porážky, po 14 a 28 dnech zrání;
- Genotypy v lokusech *CAPN*, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* mohou ovlivnit barvu syrového hovězího masa bezprostředně po porážce, po 14 a 28 dnech zrání může.

4 Cíle disertační práce

1. Genotypizovat polymorfismy v lokusech *CAPN*, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* ve vybrané populaci býků českého strakatého skotu a stanovit genotypové a alelické frekvence. Posoudit vliv uvedených polymorfismů na chemické složení hovězího masa.
2. Stanovit vliv polymorfismu v lokusech *CAPN*, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* na vaznost hovězího masa v syrovém a grilovaném stavu po porážce, po 14 a 28 dnech zrání.
3. Stanovit asociaci mezi polymorfismem ve vybraných lokusech a hodnotami střížné síly jako ukazatele křehkosti masa syrového a grilovaného 1., 14. a 28. den po porážce.
4. Stanovit vliv uvedených polymorfismů na pH a barvu masa 1., 14. a 28. den po porážce.
5. Analyzovat interakce a korelace mezi faktory potenciálně ovlivňujícími kvalitu masa.

5 Materiál a metodika

5.1 Charakteristika analyzovaných zvířat

Vzorky zvířat použité v rámci této práce byly získány ze společného projektu Výzkumného ústavu pro chov skotu v Rapotíně, Mendelovy zemědělské univerzity Brno a Jihočeské univerzity, Zemědělské fakulty. Asociační studie polymorfismu genu *calpainu*, *calpastatinu*, *myostatinu* a *MYF5* k ukazatelů, jakosti masa byla provedena u čistokrevných býčků plemene český strakatý skot a dále u kříženců s nízkým podílem holštýnského skotu a ayrshirského skotu.

Pro vyhodnocení výkrmnosti a jatečné hodnoty byl vytvořen soubor z býků českého strakatého skotu. Část zvířat tvořili potomci býků testovaných kontrolou dědičnosti masné užitkovosti, kteří byli vykrmováni na Stanici kontroly výkrmnosti skotu (SKVS) Želeč, Reprogen a.s., Planá nad Lužnicí. Druhá část zvířat byla vykrmena v Zemědělském družstvu Dřevohostice, které se dlouhodobě specializuje na chov a výkrm skotu. Na obou výkrmových místech byly vytvořeny srovnatelné podmínky pro realizaci potenciálních schopností zvířat.

Do sledování bylo v průběhu pěti let (2009 až 2013) zařazeno celkem 381 býků českého strakatého skotu. V roce 2009 49 kusů (12,9 %), v roce 2010 51 kusů (13,4 %), v roce 2011 111 kusů (29,1 %), v roce 2012 94 kusů (24,7 %) a v roce 2013 76 kusů (19,9 %). Ze Stanice kontroly výkrmnosti skotu bylo získáno celkem 254 kusů (66,7 %) a ze zemědělského družstva 127 kusů (33,3 %).

Výkup býčků na SKVS probíhal podle pravidel pro kontrolu výkrmnosti skotu ze zemědělských podniků do jednoho měsíce věku. V období mléčné výživy (od zástavu 60 ± 8 dnů věku) byla zvířata ustájena v individuálních kotcích, v období předvýkrmu (od 60 ± 8 dnů do 150 ± 8 dnů věku) ve volných stlaných kotcích ve skupinách po 14 kusech a v období vlastního výkrmu (od 150 ± 8 dnů do 530 ± 8 dnů resp. 620 ± 8 dnů věku) ve volné kotcové stáji s přistýláním. V období mléčné výživy tvořily krmnou dávku mléčná krmná směs (průměrná spotřeba 9 l /ks /den a seno (ad libitum), v období přechodu (1 měsíc) z mléčné výživy na rostlinnou se zkrmovala ještě směs pro časný odstav telat. V předvýkrmu a výkrmu pak kukuřičná siláž, jetelotravní senáž, seno a jadrná krmná směs (průměrná spotřeba 3,5 kg /ks /den). Směsná krmná dávka byla stanovena tak, aby umožnila dosáhnout průměrný denní přírůstek 900 g v průběhu odchovu a v období zkoušky výkrmnosti kryla potřebu živin na požadovaný denní přírůstek 1300 g/ ks /den.

Výkrm zvířat v zemědělském podniku Dřevohostice začal naskladněním zástavových zvířat (v cca 6 -7 měsících věku) do volných plochých stlaných kotců po 30 kusech. Systém výkrmu byl intenzivní. V období do 600 dní byl uplatňován krmný vzor na bázi 2/3 sušiny krmné dávky z kukuřičné siláže, kde se sušina pohybovala v rozsahu 31 - 36% při průměrném obsahu NEV 6,11 MJ a obsahu NL 82 g. Bílkovinnou složku krmné dávky tvořila převážně vojtěšková a jetelová senáž s vyšším kolísáním obsahu živin NL (142 - 186 g) a MJ NEV (5,12-5,41). Koncentráty byly krmeny v dávce do 2,5 kg a bilancovaly dávku na 1100 g přírůstku.

Porážky jatečních býků (381 ks) byly provedeny na třech porážkových místech: Masokombinát Písek (106 ks), Masokombinát Polička (147 ks) a Masombinát Kostelec (128 ks). Průměrný věk býků při porážce dosáhl 605,82 dne, průměrná porážková hmotnost činila 634,45 kg a průměrný netto přírůstek 589,59 g /ks /den.

Po porážce byla jatečně upravená těla zvážena a stanovena tak hmotnost jatečně upravených těl (HJUT) a klasifikátorem jatek zatříděna kvalifikačním systémem SEUROP do jakostních tříd za zmasilost (6 tříd S,E,U,R,O,P) a za protučnělost (5 tříd 1 až 5). Průměrná hmotnost jatečně upravených těl dosáhla 363,01 kg. Vzhledem k tomu, že se na jatkách individuální vážení živých zvířat neprovádělo, byla hmotnost jatečně upravených těl použita, po vynásobení daného koeficientu pro jatečné býky (1,78), pro stanovení živé hmotnosti při porážce. Průměrná přepočtená hmotnost býků při porážce byla 649,36 kg. Sledována byla také hmotnost ledvinového a pánevního loje, která dosáhla v průměru 10,00 kg.

Po vychlazení jatečných půlek 24 hodin po porážce byly pravé jatečné půlky zváženy (179,73 kg) a mezi 8. a 9. hrudním obratlem rozčtvrceny. Jednotlivé čtvrtky byly opět zváženy (pravá přední 86,22 kg resp. pravá zadní 93,49 kg) a následně byla provedena jejich disekce podle norem masného průmyslu a stanoveny tak hmotnosti masa, oddělitelného tuku a kostí.

5.2 Analýza vlastností masa

Odebírány byly vzorky svalů *musculus longissimus lumborum et thoracis* (nízký roštěnec) o hmotnosti min. 1,2 kg z pravé poloviny JUT. Tento vzorek byl rozdělen na dvě části. První část byla okamžitě po porážce zpracována a zbývající část uchována.

Vzorky byly uchovávány vakuově zabalené v ledničce při 2 - 4° C a vlhkosti 80 %. Byla zjišťována síla stříhu, vaznost jako schopnost vázat přidanou vodu, barva a pH, vždy

1., 14. a 28. den po porážce. Fyzikální ukazatele byly stanoveny v laboratoři katedry zootechnických věd Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

Síla stříhu byla zjišťována pomocí metody Warner – Bratzlerova shear testu. Působení sondy na vzorek provádí pohyblivé rameno s tenzometrem o síle 50 kg (500 N), který zaznamenává působící síly. Pro měření byl použit přístroj TA.XTPlus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK). Každý vzorek byl s použitím sondy Warner-Bratzler testován v 10 opakováních. Jako individuální hodnota do výpočtu byl použit průměr z těchto 10 měření. Rychlost pohybu sondy byla $3,33 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ po 12 sekund. Textura tepelně upravovaných vzorků byla měřena po grilování na kontaktním grilu APEXA při teplotě 180°C po dobu 7 minut. Po tepelné úpravě se nechaly vzorky vychladit po dobu 5 minut a upravily se do tvaru kvádrů, který byl rozměrově shodný s masem syrovým.

Vaznost přidávané vody byla měřena na principu homogenizace vzorku v solném roztoku dle Ingra (1977). V laboratorním mixéru Grindomix GM200 firmy Retsch bylo zhomogenizováno 80 g vzorku masa spolu se 120 ml destilované vody a 5 g kuchyňské soli. Homogenizace probíhala po dobu 30 s na 10 000 otáček/minutu. Homogenní vzorek byl následně převeden do předem zvážené saturační zkumavky a hmotnost naplněné zkumavky uzavřené alobalem opět zvážena. Takto připravený vzorek byl vložen do vodní lázně od firmy Memmert WNB 22 na dobu 30 minut při teplotě 75°C . Po půl hodině byla ze zkumavky odstraněna hliníková fólie a zkumavka se nechala v převrácené poloze. Před zvážením se nechala zkumavka vychladnout a odkapat po dobu 30 min.

Barva masa byla stanovena pomocí spektrofotometru GretagMacbeth Color Eye XTH v barevném systému CIE Lab (L^* - světlost, a^* - červené spektrum, b^* - žluté spektrum). Každý vzorek byl čtyřikrát proměřen, přístroj poté určil střední hodnotu, se kterou bylo dále pracováno.

Stanovení pH probíhalo pomocí digitálního pH metru GMH 350 skleněnou vpichovou elektrodou typu HC123 od firmy Geisner Electronic GmbH.

5.3 Izolace DNA

Vzorky pro izolaci DNA byly odebírány v období od roku 2007 do roku 2013 a následně uskladněny při -20°C . Genomová DNA určená k optimalizaci metodik i následné analýze genotypů jednotlivých studovaných genů byla izolována z krve a ze svalové tkáně za použití několika technik. První byla fenol – chloroformová extrakce dle

protokolu laboratoře. Dále byla používána izolace DNA z krve pomocí kitu NucleoSpin Blood a izolace z tkání kitem Machery-Nagel NucleoSpin®Tissue kolonkovou metodou dle protokolu výrobce. Dále byla genomová DNA izolována na automatickém izolátoru nukleových kyselin MagCore za pomoci komerčních tkáňových kitů. Kvalita genomové DNA byla ověřena elektroforeticky na agarózovém gelu.

5.4 PCR-RFLP analýza polymorfismů

Sledovanými lokusy v práci byly calpain530 (GenBank *AF248054*), calpastatin (GenBank *AY008267*), myostatin (GenBank *AF348479*) a *MYF5* (GenBank *M95684*). U všech studovaných polymorfismů byly optimalizovány metodiky, které byly převzaty z publikací, podobně sekvence primerů a restriční enzymy byly převzaty z publikovaných článků více autorů. Tabulka č. 5 shrnuje sekvence veškerých primerů použitých pro amplifikaci, tabulka č. 6 složení reakční směsi pro PCR a teplotní profily, restriční enzymy včetně použitých pufrů jsou uvedeny v tabulce č. 7

Tabulka č. 5: Sekvence použitých primerů pro PCR amplifikace

GEN	Označení primeru	Sekvence (5'-3')	Tm (°C)	Zdroj
<i>CAPN</i>	*701A4	CGT TTC TTC TCA	55,5	Ricon a Medrano (2006)
	CAPN-F	GAG AAG AGC GCA GGG A		
<i>CAPN</i>	*701A5	CCT GCG CCA TTA	54	Ricon a Medrano (2006)
	CAPN-R	CTA TCG ATC GCA AAG T		
<i>CAST</i>	CAST-F	CCT CGA CTG CGT	67,8	Schenkel et al. (2006)
		ACC AAT TCC GAA GTA AAG CCA AAG GAA CA		
<i>CAST</i>	CAST-R	ATT TCT CTG ATG GTG GCT GCT CAC T	59,6	Schenkel et al. (2006)
<i>MSTN</i>	MSTN-F	CCC TAC AGA GGC CAC TTC AA	57,5	Zhang et al. (2007)
<i>MSTN</i>	MSTN-R	CTC GCT GTT CTC ATT CAG ATC	55,8	Zhang et al. (2007)
<i>MYF5</i>	MYF5-F	GAT AGC TGG CTG TGA ATG AT	63	Zhang et al. (2007)
<i>MYF5</i>	MYF5-R	CTG GCA ACT GGG GAG AGA GAA G	60	Zhang et al. (2007)

Tabulka č. 6: Složení PCR reakční směsi a teplotní profily reakcí

GEN	Primery	Délka PCR (bp)	Složení PCR reakční směsi teplotní profil
<i>CAPN</i>	*701A4 CAPN-F *701A5 CAPN-R	341	1x pufr PCR, 2mM MgCl ₂ , 10 mM dNTPs, primer 1 a 2 po 10 pmol, Taq polymeráza 1U, DNA 100 ng, DMSO 1 µl, H ₂ O ad 25 µl 95°C/pauza, 35x (95°C/45s, 64°C/60s, 72°C/60s), 72°C/5min, 4°C/∞
<i>CAST</i>	CAST-F CAST-R	523	1x pufr PCR, 2mM MgCl ₂ , 10 mM dNTPs, primer 1 a 2 po 10 pmol, Taq polymeráza 1U, DNA 100 ng, DMSO 1 µl, H ₂ O ad 25 µl 95°C/pauza, 27x (94°C/30s, 8x [69°C → 62°C/30s], 72°C/30s), 72°C/5min, 4°C/∞
<i>MSTN</i>	MSTN-F MSTN-R	1 346	1x pufr PCR, 1,5mM MgCl ₂ , 10 mM dNTPs, primer 1 a 2 po 5 pmol, Taq polymeráza 1U, DNA 100 ng, H ₂ O ad 25 µl 94°C/pauza, 39x (94°C/30s, 63°C/30s, 72°C/60s), 72°C/10min, 10°C/∞
<i>MYF5</i>	MYF5-F MYF5-R	1 190	1x pufr PCR, 1,5mM MgCl ₂ , 10 mM dNTPs, primer 1 a 2 po 5 pmol, Taq polymeráza 1U, DNA 100 ng, H ₂ O ad 25 µl 94°C/pauza, 39x (94°C/30s, 60°C/30s, 72°C/60s), 72°C/10min, 10°C/∞

Tabulka č. 7: Průběhy restrikcí (restrikční enzymy a štěpné fragmenty PCR produktů)

GEN	Restrikční enzym	Teplotní inaktivace enzymu	Složení reakční směsi	Teplota a doba štěpení	Délky fragmentů po štěpení (bp)
<i>CAPN</i>	<i>PsyI</i>	65	1μl <i>PsyI</i> , 1,7μl pufr, 20μl PCR produktu	37°C/18h	A = 341 G = 195, 146
<i>CAST</i>	<i>RsaI</i>	-	1μl <i>RsaI</i> , 1,7μl pufr, 20μl PCR produktu	37°C/18h	C = 523 G = 257, 266
<i>MSTN</i>	<i>DraI</i>	65	1,2μl <i>DraI</i> , 1,7μl pufr, 20μl PCR produktu	37°C/18h	A = 505, 427, 321, 93 B = 505, 365, 321, 93, 62
<i>MYF5</i>	<i>TaqI</i>	80	1,2μl <i>TaqI</i> , 1,7μl pufr, 20μl PCR produktu	37°C/18h	A = 1 190 B = 983, 207

Polymorfismus lokusu *CAPN* byl genotypizován u 381 zvířat, *CAST* u 379 zvířat, *MSTN* u 378 zvířat a *MYF5* u 381 zvířat.

5.5 Statistická analýza

Následující tabulka č. 8 uvádí základní statistické popisné charakteristiky: průměrná hodnota (\bar{x}), minimální hodnota (min), maximální hodnota (max), směrodatná odchylka (s_x), rozptyl (σ^2) analyzovaných vlastností, výpočty byly provedeny v programu Microsoft Excel 2013.

Pro výpočet hodnot jednotlivých ukazatelů (průměry nejmenších čtverců a směrodatné odchylky) na základě velikosti reziduí jednotlivých modelů byl vybrán nejvhodnější modul GLM (General Linear Model) – zobecněný lineární model, ve statistickém software SAS (Statistical Analysis System) verze 9.4.

Rovnice pro model pro chemické složení masa byly následující:

Bílkovina

$$Y_{ijklmnopqr} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + otec_m + PP_n + hmotnost_o + sušina_p + tuk_q + e_{ijklmnopqr}$$

kde:

CAPN, CAST, MSTN, MYF5 - efekt genotypu

Y_{ijklmnopqr} - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Otec -135+

hmotnost - hmotnost jatečně opracovaného těla

e_{ijklmnopqr} - náhodná chyba každého pozorování.

Sušina

$$Y_{ijklmnopqr} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + otec_m + PP_n + hmotnost_o + bílkovina_p + tuk_q + e_{ijklmnopqr}$$

kde:

CAPN, CAST, MSTN, MYF5 - efekt genotypu

Y_{ijklmnopqr} - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Otec -135+

hmotnost - hmotnost jatečně opracovaného těla

e_{ijklmnopqr} - náhodná chyba každého pozorování.

Tuk

$$Y_{ijklmnopqr} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + otec_m + PP_n + hmotnost_o + sušina_p + bílkovina_q + e_{ijklmnopqr}$$

kde:

CAPN, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* - efekt genotypu

$Y_{ijklmnopqr}$ - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Otec -135+

hmotnost - hmotnost jatečně opracovaného těla

$e_{ijklmnopqr}$ - náhodná chyba každého pozorování.

Popel

$$Y_{ijklmnopqrs} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + otec_m + PP_n + hmotnost_o + sušina_p + bílkovina_q + tuk_r + e_{ijklmnopqrs}$$

kde:

CAPN, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* - efekt genotypu

$Y_{ijklmnopqrs}$ - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Otec -135+

hmotnost - hmotnost jatečně opracovaného těla

$e_{ijklmnopqrs}$ - náhodná chyba každého pozorování.

Rovnice pro model kvality masa byla následující:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + jatky_m + PP_n + chov_o + e_{ijklmnop}$$

kde:

CAPN, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* - efekt genotypu

$Y_{ijklmnop}$ - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Jatky - 3 kategorie (Kostelec, Polička, Písek)

Chov - 3 kategorie (REPROGEN, ZD Dřevohostice a zbytek)

$e_{ijklmnop}$ - náhodná chyba každého pozorování.

Rovnice pro model s opakováním byla následující:

$$Y_{ijklmno} = \mu + CAPN_i + CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + jatky_m + PP_n + e_{ijklmno}$$

kde:

CAPN, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* - efekt genotypu

$Y_{ijklmno}$ - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Jatky - 3 kategorie (Kostelec, Polička, Písek)

$e_{ijklmno}$ - náhodná chyba každého pozorování.

Rovnice pro model, v němž byly zohledněny genotypy *CAPN* a *CAST* s opakováním

a bez opakování byla následující:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + CAPN_i * CAST_j + MSTN_k + MYF5_l + jatky_m + PP_n + chov_o + e_{ijklmnop}$$

kde:

CAPN, *CAST*, *MSTN*, *MYF5* - efekt genotypu

$Y_{ijklmnop}$ - sledovaný znak

μ - odhadovaný průměr sledovaného znaku

PP - 2 kategorie (podíl plemene: C >85, C < 85)

Jatky - 3 kategorie (Kostelec, Polička, Písek)

Chov - 3 kategorie (REPROGEN, ZD Dřevohostice a zbytek)

$e_{ijklmnop}$ - náhodná chyba každého pozorování.

Sledované ukazatele byly hodnoceny na následujících hladinách významnosti:

$P \leq 0,05$ (^{ab}, *) statisticky významné

$P \leq 0,01$ (^{AB}, **) statisticky středně významné

$P \leq 0,001$ (***) statisticky velmi významné

$P \leq 0,0001$ (****) statisticky vysoce významné

Rovnováha pro jednotlivé lokusy byla ověřena Chí kvadrát testem vypočteným v programu Statistika 12.

Tabulka č. 8: Základní popisné statistické charakteristiky sledované populace českého strakatého skotu

Ukazatel	zrání*	\bar{x}	max	min	s_x	σ^2
WB_syrové (kg)	1	5,456	9,956	1,969	1,438	2,069
	2	5,565	9,643	2,072	1,349	1,820
	3	4,708	8,311	2,266	1,302	1,694
WB_grilované (kg)	1	21,622	38,153	5,536	6,177	38,153
	2	14,040	27,130	3,783	4,741	22,479
	3	10,740	22,409	3,753	4,326	18,713
vaznost	1	41,251	168,250	13,819	33,549	1125,546
	2	52,459	155,433	15,862	35,055	1228,827
	3	65,414	144,851	27,110	41,684	1737,581
pH	1	5,733	7,290	5,320	0,389	0,151
	2	5,743	7,140	5,260	0,395	0,156
	3	5,894	7,000	5,260	0,497	0,247
barva_L	1	37,117	57,020	26,320	3,169	10,044
	2	37,395	53,940	24,640	3,476	12,082
	3	38,020	44,540	31,110	3,510	12,317
barva_a	1	6,363	13,860	2,070	1,686	2,844
	2	8,019	14,110	3,110	2,155	4,643
	3	6,727	12,210	3,480	1,814	3,292
barva_b	1	5,534	10,320	2,030	1,529	2,338
	2	7,180	12,600	2,230	1,983	3,931
	3	6,402	10,460	2,340	1,899	3,608
teplota	1	12,782	21,800	6,600	2,836	8,041

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání, WB – Warner-Bratzler střižná síla

6 Výsledky a diskuze

6.1 Genotypizace jednotlivých lokusů

Genotypizace lokusů proběhla metodou PCR/RFLP.

Forward a reverse primery měly sekvence získané z GenBank viz kapitola 5.4. PCR-RFLP analýza polymorfismů.

Příprava master mixů byla prováděna ve sterilním prostředí na chladících destičkách, které jsou skladovány při -20 °C. Reakce probíhala v 25 µl se složením reakční směsi jak je uvedeno v tab. č. 6

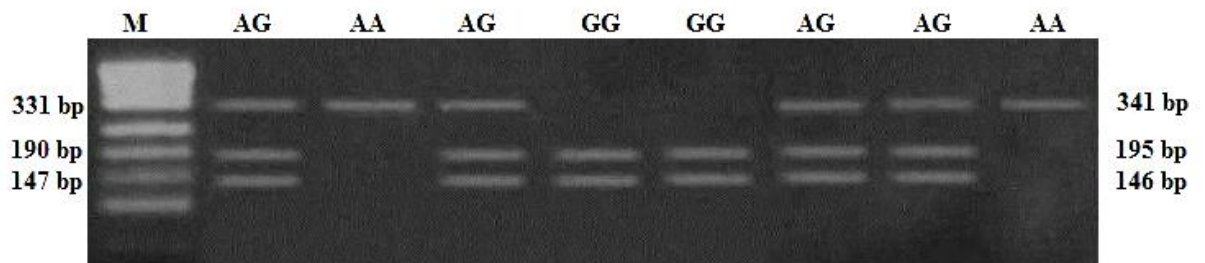
Studované fragmenty DNA byl amplifikovány na termocykleru Biometra – calpain, myostatin a *MYF5* a na cykleru Veriti AB - calpastatin. Pouze u lokusu calpastatinu bylo pro získání PCR produktu využito modifikace metody PCR, tzv. touchdown PCR. Tato modifikace se vyznačuje postupným klesáním teploty annealingu. Tím je zajištěn vznik specifických produktů bez vedlejších PCR produktů v podobě kratších fragmentů DNA. Predenaturace, denaturace, annealing a finální extenze s teplotními profily a časy jsou uvedeny, stejně tak celkové časy trvání PCR reakcí v tab. č. 6. Vzorky byly následně zchlazeny na 4°C pro další uchování.

Kontrola přítomnosti PCR produktů, a tedy úspěšnosti PCR reakce a délky fragmentů, proběhla na gelové elektroforéze. Byla provedena na 2,5 % agarózovém gelu obarveným ethidium bromidem. Pro vizualizaci byly použity 3 µl PCR produktu, smíchané s 2 µl nanášecího pufru. PCR produkty měly délky dle tab. č. 6

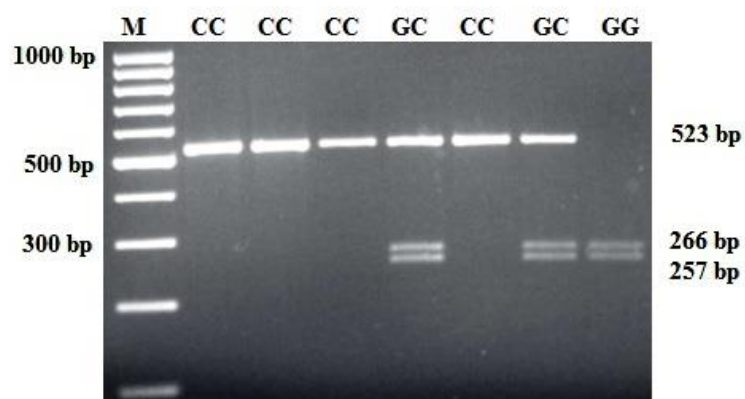
Agarózové gely pro všechny analýzy genů *CAPN*, *CAST*, *MSTN* a *MYF5* byly připraveny z agarózy od firmy Serva (Biotech a.s.), a obarvovány přidáním ethidiumbromidu (0,5 µg/ml od firmy Sigma-Aldrich). Všechny PCR i RFLP elektroforézy probíhaly v 1x TBE pufru při napětím od 80 - 120 V, aby odpovídalo 5 - 8 V/cm mezi elektrodami. Při PCR bylo vynášeno 5 µl PCR produktu s nanášecím pufrem „10x loading buffer“, který roztok DNA obarví a umožní lepší nanášení vzorku na gel a zároveň sledování vzorku při separaci. U restričního štěpení byl použit zbytek štěpné směsi a po uplynutí doby inkubace nanesen na gel. K určení velikosti separovaných fragmentů DNA jsme použili DNA hmotnostní markery od firmy Fermentas.

PCR produkty byly štěpeny za pomoci restriční endonukleáz uvedených v tab. č. 7. Následovala inkubace při 37 °C přes noc. K rozdělení fragmentů došlo na 3,5 % agarózovém gelu barveném ethidium bromidem při době trvání elektroforézy cca 2 hod.

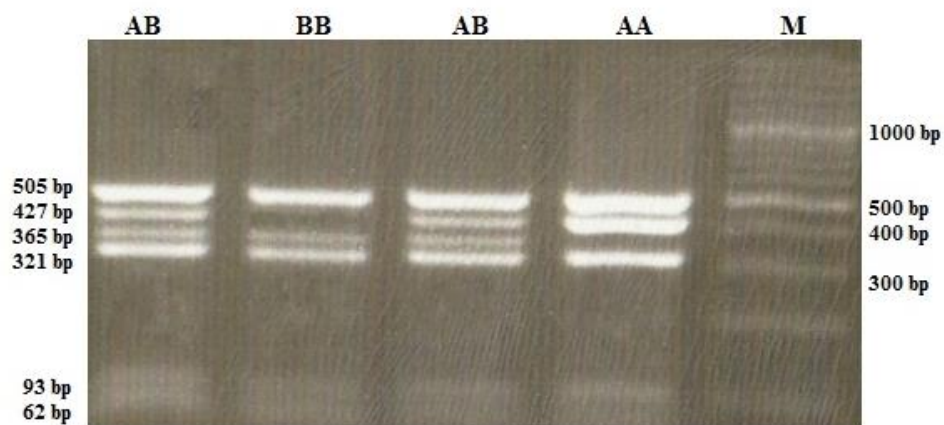
Pro kontrolu délky fragmentů byly současně přidány velikostní markery *PUC19*, *DNA/MspI (HpaII)*, *D2000* obr. č. 7, 8, 9 a 10. Po štěpení amplifikátu na fragmenty byly genotypy zaznamenány v tab.č. 7.



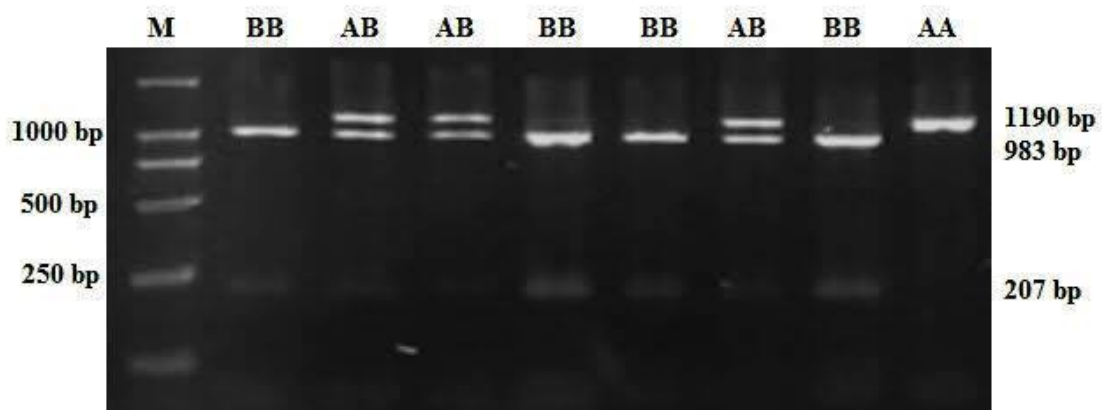
Obrázek č. 7: RFLP *CAPN*



Obr. č. 8: RFLP *CAST*



Obrázek č. 9: RFLP *MSTN*



Obrázek č. 10: RFLP *MYF5*

6.2 Genotypové a alelové frekvence

Pro testovaný soubor zvířat byly vypočteny četnosti alel a genotypů. V tab. č. 9 jsou uvedeny frekvence pro lokus *CAPN530*

Tab.č. 9: Genotypové a alelové frekvence genu *CAPN*

Frekvence	Genotyp			Alela	
	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	<i>A</i>	<i>G</i>
Absolutní	51	208	122	310	452
Relativní	0,134	0,546	0,320	0,407	0,593
Očekávaná absolutní	63,058	183,885	134,058		
χ^2	6,553				$P < 0,0378^*$

*statisticky významné ($P < 0,05$)

Z výsledků získaných metodou PCR/RFLP byly následně vypočteny frekvence genotypů a alel u souboru zvířat ($n=381$). U frekvencí byla ověřena Hardy–Weinbergova rovnováha na hladině významnosti $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$ a $P < 0,00001$.

Nejčetnějším genotypem byl heterozygotní *AG* (četnost 0,546), následoval homozygotní genotyp *GG*. Podíl těchto dvou genotypů činil 86,6 % z celé populace. Tomu odpovídá i frekvence daných alel. Alela *G* měla frekvenci 0,593 a alela *A* byla v populaci v zastoupení 0,407. Nejnižší četnost měl genotyp *AA*. Pinto et al. (2010) uvádí ve své práci genotyp *AA* u tohoto polymorfismu jako velmi vzácný. Výskyt tohoto genotypu byl v jimi sledované populaci skotu menší než 1%. To ve své práci potvrzuje i Curi et al. (2009a). Jejich studie potvrzuje naše výsledky, kdy jako nejčastější genotyp uvádí shodně genotyp *AG*. Námi analyzovaná skupina není v Hardy-Weinbergově rovnováze, skutečně zjištěná frekvence heterozygotů byla poněkud vyšší než teoretická.

Tab.č. 10: Genotypové a alelové frekvence genu *CAST*

Frekvence	Genotyp			Alela	
	<i>GG</i>	<i>GC</i>	<i>CC</i>	<i>G</i>	<i>C</i>
Absolutní	35	227	117	297	461
Relativní	0,092	0,599	0,309	0,392	0,608
Očekávaná absolutní	58,185	180,629	140,185		
χ^2	24,977	$P < 0,000004****$			

****statisticky významné ($P < 0,00001$)

U lokusu *CAST* byly frekvence genotypů a alel získány u souboru zvířat o 379 jedincích.

Jak je zřejmé z tabulky č. 10, počet homozygotů *GG* byl 35, heterozygotů *GC* 227 a homozygotů *CC* 117. Nejčetnějším genotypem byl heterozygotní *GC* (četnost 0,599), následoval homozygotní genotyp *CC*. Podíl těchto dvou genotypů činil 90,8 % z celé populace. Nejnížší četnost měl genotyp *GG* (0,092). Gábor et al. (2011) ve své studii slovenského strakatého skotu uvádí, v souladu s našimi výsledky, jako nejčetnější heterozygotní genotyp *GC* s frekvencí (0,4474), ale zároveň i genotyp homozygotní *CC* s identickou frekvencí. Frekvence genotypu *GG* byla 0,1052. Ovšem z výsledků je patrné, že se jedná o malou skupinu zvířat, kdy bylo genotypizováno celkem 38 jedinců, z toho pouze 4 zvířata měla genotyp *GG*. Studie Kők et al. (2013) ukazuje, že heterozygotní genotyp byl nejčetnější stejně jako v naší populaci českého strakatého skotu jak u čistokrevného tureckého skotu (0,499), tak i u kříženců (0,470) s celkovou frekvencí 0,492. Nejméně četný genotyp *CC* měl celkovou frekvenci 0,315 (n=132).

Výše uvedeným genotypovým frekvencím odpovídají zjištěné alelické frekvence. Frekvence alely *C* byla výrazně vyšší než alely *G*. Alela *C* měla frekvenci 0,608 a alela *G* byla v populaci zastoupena podílem 0,392. Ve studii Kők et al. (2013) byla zjištěna vysoká frekvence alely *C* u čistokrevného tureckého skotu grey steppe (šedé stepní) 0,507 (n=71) a vyšší frekvenci této alely pozorovali u kříženců 0,623 (n=61) s tím, že celková frekvence alely *C* byla 0,561. Vysoká frekvence alely *C* byla pozorována i v práci Schenkel et al. (2006), kteří uvádějí frekvenci této alely 0,629 a pro alelu *G* 0,371 u plemen angus, limousin, charolais a simmental. I v dalších pracích Quaas et al. (2006), Van Eenenaam et al. (2007) Gill et al. (2009), Curi et al. (2010) a Reardon et al. (2010) byla nalezena v populacích kříženců téměř shodná průměrná frekvence příznivé alely *C*,

a to 72%, 72%, 64%, 69,3% a 75%. Van Eenenaam et al. (2007) zaznamenali frekvenci alely C v rozmezí 74% - 79% pro genetickou skupinu *Bos taurus* a 79 % pro Brangus (5/8 *B. Taurus* + 3/8 *B. indicus*). Gill et al. (2009) zaznamenali frekvenci alely C na *CAST/RsaI* lokusu 0,64 u plemene aberdeen angus, také Curi et al. (2009b) uvádějí frekvenci této alely u čistého plemene Nellore 0,623.

Tab.č. 11: Genotypové a alelové frekvence genu *MSTN*

Frekvence	Genotyp			Alela	
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Absolutní	246	124	8	616	140
Relativní	0,651	0,328	0,021	0,815	0,185
Očekávaná absolutní	250,963	114,074	12,963		
χ^2	2,862		P<0,239		

statisticky nevýznamné

Na základě výsledků genotypizace 378 jedinců populace býků českého strakatého skotu byly spočteny genotypové a alelické frekvence v myostatinovém genu.

Nejčetnějším genotypem byl homozygotní *AA*, který jsme zjistili u 246 jedinců, čemuž odpovídá četnost zastoupení v populaci 0,651. Následoval heterozygotní genotyp *AB*, vyskytující se u 124 jedinců. Frekvence tohoto genotypu v populaci tedy byla stanovena na 0,328. Nejnižší četnost měl genotyp *BB*, jehož podíl v populaci činil pouhých 0,021. Tomu odpovídá i frekvence daných alel. Alela *A* měla frekvenci 0,815 a alela *B* byla v populaci v zastoupení 0,185 viz. tab. č. 11. Podobné výsledky genotypizace byly dosaženy v práci Zhang et al. (2007) u 3 čínských plemen - Nayang (n=210), Qinchuan (n=93) a Jiaxian (n=108). U plemen Nayang a Qinchuan genotyp *BB* nebyl zjištěn, u Jiaxian byla frekvence genotypu velmi nízká 0,009, což odpovídá i námi pozorovaným pouze 8 jedincům. Frekvence genotypu *AA* byla u čínských plemen větší (v porovnání se zjištěnou frekvencí). Pohybovala se v rozmezí od 0,910 u čínského plemene Nanyang přes 0,935 u plemene Jiaxian do 0,946 u plemene Quichuan. Velmi četnou byla alela *A* s nejvyšší frekvencí u plemene Quinchuan 0,973 následovalo plemeno Jiaxian 0,963 a 0,955 byla frekvence u plemene Nanyang. Alela *B* dosahovala frekvence v průměru u tří plemen pouze 0,036.

Tab. č. 12: Genotypové a alelové frekvence genu *MYF5*

Frekvence	Genotyp			Alela	
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Absolutní	59	217	105	335	427
Relativní	0,155	0,570	0,276	0,440	0,560
Očekávaná absolutní	73,640	187,723	119,639		
χ^2	9,268	$P < 0,009718^{**}$			

**statisticky významné ($P < 0,01$)

U 381 býků českého strakatého skotu byly spočteny genotypové a alelické frekvence v genu pro *MYF5*.

Býků homozygotního genotypu *AA* bylo 59, heterozygotního genotypu *AB* 217 a homozygotního genotypu *BB* 105 (tab. č.12). Nejčetnějším genotypem byl heterozygotní *AB* (četnost 0,570), následoval homozygotní genotyp *BB*. Podíl těchto dvou genotypů činil 84,5 % z celé populace. Tomu odpovídá i frekvence alel. Alela *B* měla frekvenci 0,560 a alela *A* byla v populaci v zastoupení 0,440. Rozdílných výsledků dosáhli Zhang et al. (2007), kteří u tří čínských plemen shledali jako nejčetnější genotyp homozygotní *BB* u všech tří plemen (Nanyang - 0,695, Quinchuan - 0,559, Jiashian - 0,541). Ovšem homozygotní genotyp *AA* byl podobně jako u naší sledované populace nejméně četným (Nanyang - 0,040, Quinchuan - 0,043 a Jiashian - 0,036). To odpovídá i průměrné četnosti alel u všech tří čínských plemen, kdy alela *B* se zastoupením 77,9% převládá nad alelou *A*, které bylo v populaci pouze 22,1%. Velmi podobných výsledků jako v naší práci bylo dosaženo v práci Chuang and Kim (2005), u korejské populace skotu (n=280) byl nejčetnější heterozygotní genotyp s frekvencí 48,9%, následovaný homozygotním genotypem *BB* 42,2 %. Jako nejméně četný pak zjistili genotyp *AA* s frekvencí 8,9 %. U jimi sledované populace dosahovala alela *B* četnosti 0,67 a alela *A* četnosti 0,33. Ujan et al. (2011) ve své práci popisují genotypové a alelové frekvence u pěti čínských plemen skotu - JiaXian (JXR), Luxi (LX), Nanyang (NY), Qinchuan (QC) a XiaNan (XN), převládal genotyp *AB* u všech plemen. Nejvyšší frekvence uvedeného genotypu byla u plemene LX 0,785; následovalo plemeno XN s frekvencí 0,736. Pořadí dalších plemen bylo následující JXR - 0,713, QC - 0,663 a NY - 0,649. Nejvyšší frekvenci alely *A* vykazovalo plemeno JXR s hodnotou 0,760 a nejnižší pak plemeno NY s frekvencí 0,629. Citovaní autoři uvádějí, že u žádného testovaného plemene nebyly

v genu *MYF5* zjištění homozygoti *BB* (tj. homozygoti nesoucí nulovou alelu), což může být způsobeno buď nízkou frekvencí alely, *B* nebo možným letálním účinkem alely *B*.

6.3 Asociační analýza polymorfismu genů a chemického složení masa

Pro skupiny býčků s příslušným genotypem byly stanoveny základní chemické charakteristiky masa: obsah sušiny, bílkovin, tuku a popelovin.

Tab. č. 13: Chemické složení masa pro genotyp *CAPN* (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

	<i>CAPN</i>		
	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,09	
Sušina (%)	26,240 ± 0,340	26,308 ^A ± 0,220	25,903 ^B ± 0,228
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,81	
Tuk (%)	2,435 ± 0,285	2,541 ± 0,238	2,626 ± 0,233
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		68,53	
Bílkoviny (%)	21,507 ± 0,258	21,476 ± 0,215	21,440 ± 0,211
P hodnota pro významnost modelu		0,0011	
R² (%)		66,26	
Popeloviny (%)	1,082 ± 0,017	1,070 ^A ± 0,014	1,095 ^B ± 0,014

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$)

Hui *et al.* (2012) uvádějí, že obsah tuku v hovězím mase by se měl pohybovat minimálně na úrovni 3 %. Bylo prokázáno, že intramuskulární tuk ovlivňuje křehkost, šťavnatost, vůni a chuť masa. To potvrzuje ve své práci i Dikerman (1987), který tvrdí, že 3 % tuku při mramorování libového masa poskytuje optimum křehkosti. Ingr (1996) uvádí jako optimální podíl intramuskulárního tuku 2 % (20 g/kg), což zajistí optimální sensorické vlastnosti hovězího masa po tepelné úpravě. Naše vzorky vykazovaly hodnoty přesně mezi těmito dvěma názory a to od hodnoty 2,44 % u genotypu AA po 2,63 % u genotypu GG.

Steinhauser *et al.* (1995) ve své publikaci uvádí v hovězím mase průměrný obsah bílkovin 20,6%. Rovněž tato hodnota je velmi blízká našim hodnotám u všech genotypů genu *CAPN*. Nejnižší hodnotu měl genotyp homozygotní GG 21,44 % a nejvyšší homozygotní genotyp AA 21,51%.

Signifikantní rozdíly mezi genotypy pro gen *CAPN* byla zjištěna pouze u sušiny a popelovin na hladině významnosti ($P < 0,01$). Jednalo se o vždy o rozdíl mezi genotypy AG a GG. U sušiny byl vyšší obsah u genotypu AG, u popelovin u GG. Pipek a Jirotková (2001) udávají obsah popelovin 1 - 1,5 %. Naše hodnoty byly odpovídající těmto údajům. Bureš a Bartoň (2012) studovali vliv plemenné příslušnosti býků na chemické a sensorické charakteristiky masa, kde zjistili u českého strakatého skotu obsah bílkovin 220,5 g/kg, tuku 16,9 g/kg a sušiny 254,6 g/kg.

Údaje naměřené pro gen calpastinu byly velmi obdobné pro gen calpain. Jediný zjištěný průkazný rozdíl byl u sušiny mezi genotypy GC a CC, v mase býčků heterozygotního genotypu byl vyšší obsah (tab.č. 14).

Tab. č. 14: Chemické složení masa pro genotyp *CAST* (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

	<i>CAST</i>		
	<i>GG</i>	<i>GC</i>	<i>CC</i>
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,09	
Sušina (%)	26,240 ± 0,340	26,308 ^A ± 0,220	25,903 ^B ± 0,228
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,81	
Tuk (%)	2,618 ± 0,332	2,347 ± 0,215	2,637 ± 0,221
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		68,54	
Bílkoviny (%)	21,532 ± 0,300	21,442 ± 0,196	21,449 ± 0,200
P hodnota pro významnost modelu		0,0011	
R² (%)		66,27	
Popeloviny (%)	1,083 ± 0,020	1,074 ± 0,013	1,089 ± 0,013

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$)

Diskuze s literárními zdroji je obtížná, neboť je literatura na toto téma prozatím chudá pro lokusy calpastatin, myostatin a *MYF5*. Námi zjištěné údaje pro *MSTN* a *MYF5* ukazují tab. č. 14,15 a 16

Tab. č. 15: Chemické složení masa pro genotyp *MSTN* (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

	<i>MSTN</i>		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,09	
Sušina (%)	26,103 ± 0,128	25,884 ± 0,174	26,464 ± 0,570
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,81	
Tuk (%)	2,549 ± 0,125	2,715 ± 0,169	2,339 ± 0,556
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		68,54	
Bílkoviny (%)	21,370 ± 0,113	21,184 ± 0,154	21,869 ± 0,502
P hodnota pro významnost modelu		0,0011	
R² (%)		66,27	
Popeloviny (%)	1,089 ± 0,007	1,079 ± 0,010	1,078 ± 0,033

Tab. č. 16: Chemické složení masa pro genotyp *MYF5*(průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

	<i>MYF5</i>		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,09	
Sušina (%)	26,135 ± 0,279	26,252 ± 0,226	26,064 ± 0,249
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		91,81	
Tuk (%)	2,613 ± 0,272	2,401 ± 0,220	2,589 ± 0,243
P hodnota pro významnost modelu		0,0001	
R² (%)		68,54	
Bílkoviny (%)	21,355 ± 0,246	21,516 ± 0,199	21,552 ± 0,219
P hodnota pro významnost modelu		0,0011	
R² (%)		66,27	
Popeloviny (%)	1,093 ± 0,016	1,073 ± 0,013	1,081 ± 0,014

Jak je z tabulek patrné, byl zjištěn vysoký koeficient determinace v mnoha případech přesahujících 90 %, a to především u sušiny a tuku. To ukazuje, že zařazené faktory vysvětlují podstatnou část variance.

6.4 Asociační analýza polymorfismu genů a ukazatelů kvality masa

U výše zmiňovaných lokusů byly hodnoceny následující charakteristiky: síla stříhu u masa syrového a grilovaného, barevná spektra a, b, L, dále pH masa, vaznost a teplota. Veškeré údaje jsou shrnuty v tab. č. 17 pro lokus *CAPN*, tab. č. 18 pro *CAST*, tab.č. 19 pro myostatinový gen a tab. č. 20 pro gen *MYF5*. Všechny ukazatele byly hodnoceny 1., 14. a 28. den *post mortem*.

Tab.17: Asociační analýza genu *CAPN* s charakteristikami kvality masa (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

Vlastnost	zrání*	<i>CAPN</i>		
		<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
WB_syrové	1	6,322 ± 0,575	5,978 ± 0,546	5,898 ± 0,527
	2	6,108 ± 0,531	6,119 ± 0,504	5,808 ± 0,487
	3	4,168 ± 0,588	4,638 ± 0,303	4,225 ± 0,380
WB_grilované	1	22,486 ± 2,571	21,452 ± 2,441	22,207 ± 2,357
	2	13,918 ± 1,921	13,750 ± 1,824	14,688 ± 1,762
	3	11,795 ± 1,993	12,455 ^a ± 1,028	14,395 ^b ± 1,288
barva_a	1	7,097 ^a ± 0,685	6,594 ± 0,650	6,380 ^b ± 0,628
	2	8,972 ± 0,864	8,720 ± 0,820	8,512 ± 0,792
	3	6,400 ± 0,831	6,968 ^a ± 0,428	7,824 ^b ± 0,537
barva_b	1	5,197 ± 0,643	5,287 ± 0,611	5,471 ± 0,590
	2	7,175 ± 0,791	7,434 ± 0,751	7,380 ± 0,725
	3	5,271 ^A ± 0,830	6,555 ± 0,428	7,277 ^B ± 0,536
barva_L	1	36,566 ± 1,731	36,767 ± 1,302	36,584 ± 1,257
	2	36,798 ± 1,503	37,415 ± 1,428	37,104 ± 1,379
	3	35,344 ^A ± 1,541	38,984 ^B ± 0,794	39,325 ^B ± 0,995
pH	1	5,675 ± 0,163	5,714 ± 0,155	5,771 ± 0,150
	2	5,552 ± 0,164	5,658 ± 0,155	5,686 ± 0,150
	3	6,186 ^{Aa} ± 0,231	5,737 ^b ± 0,119	5,656 ^B ± 0,149
Vaznost	1	37,938 ± 14,027	40,989 ± 13,317	42,976 ± 12,859
	2	38,013 ± 14,436	45,585 ± 13,706	44,327 ± 13,235
	3	87,750 ^A ± 21,709	57,878 ± 10,470	48,310 ^B ± 13,039
Teplota	1	11,679 ± 1,134	11,875 ± 1,077	12,029 ± 1,040

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání;

WB – Warner-Bratzler střížná síla;

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$);

^{a,b}hodnoty se statisticky významně liší ($P < 0,05$)

V naší skupině kříženců českého strakatého skotu nebyla prokázána asociace tohoto genu s křehkostí masa, konkrétně s Warner-Bratzlerovou střížnou silou u masa

syrového, jak u masa čerstvě bouraného, tak po určité době zrání. Naproti tomu u masa grilovaného po 4 týdnech zrání byly pozorovány průkazné rozdíly na hladině významnosti $P < 0,05$ mezi genotypy *AG* a *GG*. Dle údajů uvedených v tabulce lze říci, že nejvyšší střižná síla byla zjištěna u genotypu *AA*, tedy býčci s tímto genotypem měli nejtěžší maso a nejnižší u genotypu *GG* u masa syrového ($GG < AG < AA$). Maso grilované mělo nejnižší střižnou sílu u genotypu $AG < AA < GG$, u býčků *AG* byla nejnižší hodnota střižné síly, tedy nejvyšší křehkost. Page et al. (2002) ve své práci prokázali signifikantní vztah mezi střižnou silou a markerem *CAPN530* ($P < 0,05$), kde prokázali příznivý efekt alely *G*, ta má nižší střižnou sílu což má příznivý vliv na křehkost masa u kříženců skotu (*Bos taurus*). U *Bos indicus* popisují omezenou využitelnost u markeru *CAPN316* z toho důvodu, že alela *C* byla nalezena jen s frekvencí 1% u heterozygotních jedinců plemene brahman. Page et al. (2004) provedli analýzu SNP markeru 316 a 530, kde popsali asociaci genotypu a fenotypu u obou markerů. Homozygotní zvířata obsahující alelu *C* u markeru 316 měli nižší střižnou sílu ($P = 0,02$) než zvířata s genotypy *CG* nebo *GG*, zatímco zvířata s homozygotním genotypem *GG* u markeru 530 měly nižší střižnou sílu ($P = 0,04$) než zvířata s genotypy *AG* nebo *AA*. Dokázali, že haplotyp *G/A* (*CAPN316/CAPN530*) má vyšší střižnou sílu než haplotyp *G/C*. Page et al., (2004) v předchozích studiích *CAPN1* haplotypy u amerického simentálského skotu složené z genotypů 316-530 genotypů rozdělili na čtyři třídy fenotypových účinků: *CG* jemný, *GG* střední, *GA* tuhý, a *CA* nevyčíslitelný (vzácný). Corva et al. (2007) ovšem na rozdíl od předchozích prací zjistili u plemene hefeford a angus asociaci u markeru 530 mezi alelou *A* a nižší silou stříhu v porovnání s alelou *G*. White et al. (2005) ve své práci uvádějí, že maso s genotypem *CC* je více křehké než genotypu *GG* ($P < 0,001$), což potvrzují ve svých pracích i Page et al. (2002, 2004). Dále ve svých pracích ukazuje i využitelnost markeru *CAPN 4751* jako potenciálního ukazatele křehkosti masa u skotu.

Další signifikantní rozdíly, rozdíly byly zjištěny u barvy masa v barevném systému CIE Lab. Velmi průkazné rozdíly byly u žlutého spektra a světlosti, v obou případech po 28 dnech zrání. U žlutého spektra (barva_b) byly průkazné rozdíly mezi genotypy *AA* a *GG* na hladině významnosti $P < 0,01$, stejně tak u světlosti (barva_L) byl průkazný rozdíl mezi genotypy *AA* a *GG*, ale zároveň i genotypy *AA* a *AG*. U červeného spektra (barva_a) byly pozorovány průkazné rozdíly u čerstvého masa mezi genotypy *AA* a *GG* a současně u masa po 4 týdnech zrání mezi genotypy *AG* a *GG* ($P < 0,05$).

U pH a vaznosti masa byla prokázána asociace genotypů na hladině významnosti $P < 0,01$ mezi genotypy AA a GG, vždy po době zrání po 28 dnech. U pH byla zároveň po stejné době zrání asociace mezi genotypy AA a AG ($P < 0,05$). Hui et al. (2012) ve své práci uvádí, že vaznost masa je silně ovlivňována hodnotou pH. Při hodnotě pH 6 dosahuje hovězí maso nejnižší šťavnatosti a zároveň při této hodnotě je většina vody vázána na bílkoviny, které maso obsahuje. Dle Wu et al. (2014) se hodnoty pH pohybují u hovězího masa od 5,42 do 6,99. Při dobách zrání se jevílo jako nejkřehčí maso 1. den postmortem pH < 5,8, 7. den bylo nejkřehčí maso s hodnotou pH > 6,2 a po 27 dnech zrání bylo hovězí maso nejkřehčí se středními hodnotami pH 5,80 – 6,19. Silva et al. (1999) ve své práci měřili pH 28 h postmortem ve svalu pomocí kombinované skleněné elektrody pH metru Crison 2002, kdy svaly byly následně rozděleny do tří skupin: normální pH (5,5 - 5,8) mírné DFD masa (5,8 < pH < 6,2) a DFD (pH 6,2 až 6,7).

Tab. 18: Asociační analýza genu *CAST* s charakteristikami kvality masa (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

Vlastnost	zrání*	<i>CAST</i>		
		<i>GG</i>	<i>GC</i>	<i>CC</i>
WB_syrové	1	6,521 ^a ± 0,634	5,774 ^b ± 0,522	5,902 ± 0,537
	2	6,193 ± 0,586	5,868 ± 0,482	5,973 ± 0,495
	3	-	3,711 ^A ± 0,491	4,976 ^B ± 0,324
WB_grilované	1	22,452 ± 2,835	21,583 ± 2,333	22,111 ± 2,398
	2	14,922 ± 2,118	13,438 ± 1,744	13,997 ± 1,792
	3	-	11,695 ± 1,663	14,068 ± 1,098
barva_a	1	7,549 ^A ± 0,754	6,222 ^B ± 0,621	6,298 ^B ± 0,638
	2	9,878 ^A ± 0,953	8,139 ^B ± 0,784	8,188 ^B ± 0,806
	3	-	6,393 ^a ± 0,693	7,735 ^b ± 0,458
barva_b	1	6,065 ^{Aa} ± 0,709	5,054 ^b ± 0,584	4,837 ^B ± 0,600
	2	8,306 ^{Aa} ± 0,872	7,085 ^b ± 0,718	6,598 ^B ± 0,738
	3	-	5,683 ^a ± 0,692	7,052 ^b ± 0,457
barva_L	1	36,607 ± 1,512	37,112 ^a ± 1,244	36,199 ^b ± 1,279
	2	37,131 ± 1,657	37,638 ^a ± 1,365	36,548 ^b ± 1,402
	3	-	37,897 ± 1,285	37,872 ± 0,849
pH	1	5,564 ^a ± 0,180	5,799 ^b ± 0,148	5,796 ^b ± 0,152
	2	5,459 ^{Aa} ± 0,180	5,727 ^B ± 0,148	5,710 ^b ± 0,153
	3	-	6,055 ^a ± 0,193	5,664 ^b ± 0,127
Vaznost	1	27,861 ^a ± 15,463	46,872 ^b ± 12,730	47,171 ^b ± 13,081
	2	26,835 ^{Aa} ± 15,915	50,943 ^B ± 13,101	50,149 ^b ± 13,462
	3	-	77,572 ± 17,824	51,719 ± 11,194
Teplota	1	11,009 ^a ± 1,251	11,805 ^A ± 1,029	12,770 ^{Bb} ± 1,058

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání, WB – Warner-Bratzler střižná síla;

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$);

^{a,b}hodnoty se statisticky významně liší ($P < 0,05$).

U *CAST* byly průkazné rozdíly WBSF u masa syrového čerstvého na hladině významnosti ($P < 0,05$) mezi genotypy *GG* a *GC* a zároveň i mezi genotypy *GC* a *CC* po

28 dnech zrání na hladině významnosti ($P < 0,01$). U masa grilovaného na rozdíl od genu *CAPN* nebyl zjištěn žádný statisticky významný rozdíl mezi genotypy a délkou skladování masa. I přesto se jevílo jako maso nejkřehčí s genotypem *GC*, následoval genotyp *CC* a jako nejtuzší bylo zjištěno maso s genotypem *GG* ($GC < CC < GG$). U všech genotypů bylo pozorováno, že maso mělo nejnižší střížnou sílu s přibývajícím dobou zrání a tedy maso bylo nejkřehčí, což vykazují nejnižší hodnoty, kde je pozorováno, že s přibývajícím dnem, klesá střížná síla. U tří francouzských plemen skotu Charolaise, Limousine a Blond d' Aquitaine prováděl asociční studii Allais et al. (2011), využili 3 SNP markery pro *CAST* a 4 SNP markery pro *CAPN1* gen a jako kvantitativní znak byla studována také Warner-Bratzlerova střížná síla. Uvádí, že alela *G* má signifikantní vliv na střížnou sílu v chovu těchto plemen. U skotu plemene Nellore pozorovali aditivní efekt ve všech obdobích zrání masa 7. až 21. den, kdy *UOG-CAST1* marker ukázal jako příznivou alelu alelu *C* a *G* jako alelu dominantní. Avšak zvířata s genotypem *CC* měla maso křehčí než zvířata s genotypem *GC* a *GG* (Pinto et al., 2010). Corva et al. (2007) ve své práci, zabývající se SNP2887 markerem u *CAST* genu na plemenu Angus a Hereford chovaných v Argentině uvádějí, že neměl významný vliv na WBSF. Schenkel et al. (2007) identifikovali v této studii alely *C* a *G* v genu *CAST* v populaci plemen Angus, Limousin, Charolais, Simmental, alela *C* byla spojena s významným zjemněním masa po *post mortem* zrání.

Barva masa měla velmi signifikantní rozdíly jak u spektra žlutého, stejně tak červeného i u světlosti. Mezi genotypy $GG > GC$ a zároveň $GG > CC$ u spektra červeného (barva_a) byl průkazný rozdíl na hladině významnosti ($P < 0,01$) jak u čerstvého masa, tak u masa po dvou týdnech zrání. Po třech týdnech zrání byl rozdíl mezi genotypy $GC < CC$ na hladině významnosti ($P < 0,05$). U spektra žlutého byly též pozorovány významnosti u všech dob skladování, tedy jak u masa čerstvého, tak po 14 a 28 dnech skladování. Na hladině významnosti ($P < 0,01$) u čerstvého masa mezi genotypy $GG > CC$ tak i po 14 dnech zrání. Na hladině významnosti ($P < 0,05$) u masa čerstvého zároveň i po 14 dnech zrání mezi genotypy $GG > GC$ a po 28 dnech zrání mezi genotypy $GC < CC$. Barva L^* byla průkazná mezi genotypy $GC > CC$ v den porážky a týden po porážce na hladině významnosti ($P < 0,05$).

Signifikantní asociace tohoto polymorfismu byly pozorovány pro pH i vaznost vody na rozdíl od polymorfismu genu *CAPN* ve všech dobách zrání mimo 28. den. U čerstvého masa byly rozdíly v pH mezi genotypy $GG < GC$ a zároveň $GG < CC$ na hladině významnosti ($P < 0,05$). Po 14 dnech skladování byl průkazný rozdíl mezi

genotypy $GG < GC$ na hladině ($P < 0,01$) a zároveň $GG < CC$ ($P < 0,05$). Rozdíly mezi genotypy $GC > CC$ po 28 dnech zrání na hladině ($P < 0,05$). Nejnižší hodnota pH 5,46 byla u genotypu GG 14. den a nejvyšší 6,06 u genotypu GC 28. den zrání. Signifikantní asociace polymorfismu byla pozorována i u vaznosti vody, přičemž genotyp GC byl asociován s nejvyšší vaznosti vody ($GC > CC > GG$). Průkazný rozdíl ($P < 0,05$) byl nalezen mezi genotypy GG a GC i mezi genotypy GG a CC 1. den. Průkazné rozdíly byly také po dvou týdnech zrání masa mezi genotypy GG a GC ($P < 0,01$) a mezi GG a CC ($P < 0,05$).

Tab. 19: Asociační analýza genu *MSTN* s charakteristikami kvality masa (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

Vlastnost	zrání*	<i>MSTN</i>		
		AA	AB	BB
WB_syrové	1	5,635 ^A ± 0,493	6,460 ^B ± 0,499	6,104 ± 0,805
	2	5,762 ^A ± 0,455	6,288 ^B ± 0,460	5,985 ± 0,743
	3	4,314 ± 0,357	4,374 ± 0,453	-
WB_grilované	1	21,853 ^A ± 2,201	24,477 ^B ± 2,228	19,816 ± 3,596
	2	13,007 ^A ± 1,645	15,383 ^B ± 1,665	13,966 ± 2,688
	3	11,863 ± 1,210	13,901 ± 1,537	-
barva_a	1	6,428 ^A ± 0,586	7,055 ^B ± 0,593	6,587 ± 0,958
	2	8,704 ^A ± 0,740	9,692 ^{Ba} ± 0,749	7,807 ^b ± 1,209
	3	6,191 ^A ± 0,504	7,938 ^B ± 0,641	-
barva_b	1	5,261 ^A ± 0,551	5,769 ^B ± 0,558	4,925 ± 0,900
	2	7,392 ^A ± 0,677	8,235 ^{Ba} ± 0,686	6,362 ^b ± 1,107
	3	5,216 ^A ± 0,504	7,520 ^B ± 0,640	-
barva_L	1	36,753 ± 1,174	36,144 ± 1,188	37,022 ± 1,918
	2	37,583 ± 1,287	36,865 ± 1,303	36,869 ± 2,103
	3	36,039 ^A ± 0,935	39,730 ^B ± 1,188	-
pH	1	5,731 ^A ± 0,140	5,593 ^B ± 0,141	5,835 ± 0,229
	2	5,659 ^A ± 0,140	5,525 ^B ± 0,142	5,711 ± 0,229
	3	6,087 ^A ± 0,140	5,633 ^B ± 0,178	-
Vaznost	1	38,756 ^A ± 12,008	25,969 ^{Ba} ±	57,178 ^b ± 19,617
	2	46,481 ± 12,359	12,154	49,753 ± 20,190
	3	83,492 ^A ± 12,823	31,693 ± 12,509	-
			45,799 ^B ± 15,694	
Teplota	1	12,841 ^A ± 0,971	11,962 ^B ± 0,983	10,781 ± 1,586

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání;

WB – Warner-Bratzler střižná síla

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$);

^{a,b}hodnoty se statisticky významně liší ($P < 0,05$)

U genu myostatínu, kde byl studován polymorfismus *MSTN-DraI* asociační analýza prokázala průkaznou asociaci tohoto genu s křehkostí masa, konkrétně s Warner-

Bratzler střížnou silou byla zjištěna průkazná asociace na hladině významnosti ($P < 0,01$) u masa syrového i grilovaného 1. den a 28. den zrání mezi genotypy $AA < AB$.

U hodnot a^* , b^* pro barvu masa byla pozorována statistická průkaznost ($P < 0,01$), kdy trend genotypů 1., 14. a 28. den byl následující $AA < AB$ a zároveň při průkaznosti ($P < 0,05$) 14. den byl trend genotypů $AB > BB$. U hodnoty L^* pro barvu masa byl sice pozorován trend $BB > AA > AB$, ale rozdíly byly pozorovány pouze mezi genotypy AA a AB po 28 dnech zrání, kdy trend byl $AA < AB$ ($P < 0,01$).

Tato studie dále prokázala signifikantní rozdíly v pH u všech dob zrání mezi genotypy $AA > AB$ ($P < 0,05$). Zároveň rozdíly ve vaznosti masa byly signifikantní ($P < 0,01$) 1. a 14. den mezi genotypy $AA > AB$ a na hladině významnosti ($P < 0,05$) také 1. den mezi genotypy $AB < BB$. V této studii je sice pozitivní vliv alely A , ale dá se předpokládat, že tento nesoulad je způsobený nerovnoměrným rozložením genotypů v pozorované populaci ($n=378$), kdy pouze 8 jedinců mělo genotyp BB . Diskuze s literárními zdroji je velmi obtížná, neboť na toto téma není literatura obsáhlá.

Tab. 20: Asociační analýza genu *MYF5* s charakteristikami kvality masa (průměrné nejmenší čtverce ± směrodatná odchylka)

Vlastnost	zrání*	<i>MYF5</i>		
		<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
WB_syrové	1	6,314 ^A ± 0,577	5,669 ^B ± 0,540	6,215 ^A ± 0,534
	2	6,488 ^A ± 0,532	5,723 ^B ± 0,499	5,825 ^B ± 0,493
	3	4,714 ± 0,556	4,722 ^a ± 0,360	3,595 ^b ± 0,503
WB_grilované	1	23,411 ^a ± 2,576	20,829 ^b ± 2,414	21,905 ± 2,385
	2	15,521 ^{Aa} ± 1,925	13,629 ^b ± 1,804	13,206 ^B ± 1,782
	3	15,496 ± 1,887	11,534 ± 1,221	11,615 ± 1,705
barva_a	1	6,802 ± 0,686	6,675 ± 0,642	6,594 ± 0,635
	2	9,053 ± 0,866	8,516 ± 0,812	8,635 ± 0,802
	3	6,369 ^a ± 0,786	7,389 ± 0,508	7,435 ^b ± 0,710
barva_b	1	5,248 ± 0,645	5,343 ± 0,604	5,365 ± 0,597
	2	7,445 ± 0,793	7,134 ± 0,743	7,410 ± 0,734
	3	5,405 ± 0,785	6,661 ± 0,508	7,038 ± 0,710
barva_L	1	36,702 ± 1,374	36,228 ± 1,287	36,989 ± 1,272
	2	37,148 ± 1,507	36,646 ± 1,412	37,523 ± 1,395
	3	37,266 ± 1,458	36,820 ^a ± 0,943	39,567 ^b ± 1,317
pH	1	5,604 ^{Aa} ± 0,164	5,788 ^B ± 0,153	5,768 ^b ± 0,152
	2	5,479 ^A ± 0,164	5,685 ^B ± 0,154	5,732 ^B ± 0,152
	3	5,834 ± 0,218	5,797 ± 0,141	5,948 ± 0,197
Vaznost	1	34,949 ± 14,053	44,728 ± 13,168	42,226 ± 13,011
	2	33,246 ^A ± 14,463	46,355 ^B ± 13,553	48,325 ^B ± 13,390
	3	62,692 ± 19,443	62,314 ± 12,407	68,931 ± 17,997
Teplota	1	11,907 ± 1,367	12,475 ^A ± 1,065	11,202 ^B ± 1,052

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání;

WB – Warner-Bratzler střižná síla;

^{A,B}hodnoty označené různými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,01$);

^{a,b}hodnoty se statisticky významně liší ($P < 0,05$).

Pro studium genu *MYF5* byl vybrán SNP (A/G) v intronu 2. V našem souboru zvířat byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi genotypy genu *MYF5* pro křehkost masa syrového i tepelně upraveného grilováním. Tyto rozdíly mezi genotypy byly pozorovány na hladině významnosti ($P < 0,01$) 1., 14. den u syrového masa a také 14. den u masa grilovaného. 1. den u masa syrového byla vyšší WBSF u masa býčků s genotypem *AA* v porovnání s genotypem *AB* a zároveň *BB*. 14. den u syrového masa bylo pořadí genotypů $AA > BB$ a $AA > AB$. U masa grilovaného byla vyšší střižná síla u genotypu *AA* než u *BB*. Na hladině významnosti ($P < 0,05$) opět pro maso syrové i grilované, byly pozorovány rozdíly ve střižné síle po 28 dnech zrání syrového masa mezi genotypy $AB > BB$. Maso grilované ukazovalo rozdíly 1. a 14. den mezi genotypy $AA > AB$ pro obě doby zrání masa.

Na rozdíl od genu *MSTN*, kde bylo poukázáno na mnoho signifikantních rozdílů u barvy masa se u genu *MYF5* jeví jako signifikantní rozdíly pouze u spektra červeného (barva_a) a u světlosti (barva_L). Oba rozdíly byly pozorovány na hladině významnosti ($P < 0,05$) až po 28 dnech zrání, v červeném spektru byl rozdíl mezi genotypy $AA < AB$ a u světlosti se jednalo o rozdíl mezi genotypy $AB < BB$.

Signifikantních rozdílů ($P < 0,01$) bylo zjištěno mnoho i ve vztahu genu *MYF5* k pH masa, které byly pozorovány 1. a 14. den zrání. U čerstvého masa byl patrný trend genotypu $AA < AB$ a po 14 dnech zrání pro genotypy $AA < AB$ a $AA < BB$. Statistické rozdíly byly pozorovány také u čerstvého masa na hladině ($P < 0,05$) mezi genotypy $AA < BB$. Zhang et al. (2005) ve své práci shrnuli vliv vyššího a normálního pH na kvalitu syrového a tepelně upraveného hovězího masa obecně. U masa syrového byla pozorována vaznost vody při vyšším pH 72,7 % zatímco při normálním pH 48,7 %, barva masa ve spektru červeném při vyšším pH 16,8 a při normálním pH byla hodnota spektra a^* 19,3, u žlutého spektra při vyšším pH 6,1 a normální pH ve spektru b^* 8,0. Byla hodnocena i světlost, při vyšších hodnotách byly naměřeny hodnoty 36,7 a při hodnotách normálního pH byla hodnota L^* 39,3. U tepelně upraveného masa byly tytéž hodnoty u barvy masa, a^* spektrum nabývalo hodnot 9,2 při vyšší pH a 8,1 při normálním, b^* spektrum 10,2 při vyšších hodnotách pH a 10,1 při normálních. Světlost L^* 62,3 při vyšším pH a 63,2 s pH normálním. Všechny tyto hodnoty jsou srovnatelné s našimi hodnotami naměřenými pro všechny genotypy u všech vzorků až na spektrum a^* , kde byly zjištěny hodnoty nižší.

Pro vaznost vody byly pozorovány signifikantní rozdíly mezi genotypy *AA* a *AB*, i mezi genotypy *AA* a *BB* ($P < 0,01$), přičemž genotyp *BB* byl asociován s nejvyšší vazností

vody, $BB > AB > AA$. Diskuze s literárními zdroji je velmi obtížná, neboť na toto téma není literatura obsáhlá.

U asociační analýzy polymorfismu genů *CAPN*, *CAST*, *MSTN* a *MYF5* byla použita modelová rovnice zahrnující faktory genotypy uvedených genů, jatka, plemeno a chov. V tab. č. 21 jsou uvedeny významnosti použitého modelu.

Tab. č. 21: Průkaznosti modelu použitého pro analýzu kvality masa a koeficienty determinace

Vlastnost	Doba zrání*	Pr > F Průkaznost modelu	R² (%)
WB_syrové	1	0,0010	13,21
	2	0,0007	11,17
	3	0,0059	25,27
WB_grilované	1	0,0355	7,59
	2	0,0060	9,33
	3	0,0074	24,70
barva_a	1	0,0036	9,81
	2	0,0004	11,75
	3	0,0141	23,03
barva_b	1	0,1504	5,91
	2	0,0008	11,12
	3	0,0008	30,01
barva_L	1	0,3835	4,54
	2	0,4041	4,45
	3	0,0035	26,55
pH	1	0,0268	7,88
	2	0,0020	10,32
	3	0,0197	22,11
Vaznost	1	0,0905	6,54
	2	0,0121	8,68
	3	0,2824	14,49

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání.

Z tabulky lze vyčíst, že pro převážnou většinu hodnocených ukazatelů kvality masa je model průkazný. V tabulce jsou rovněž uvedeny koeficienty determinace, které jsou nižší, než u modelu použitého pro hodnocení chemického složení masa. Je tedy zřejmé, že na hodnocené ukazatele kvality působí řada dalších vlivů jak za života zvířete, tak *post mortem*, které zde zahrnuté nebyly. S ohledem na pracnost získání dat, vysokou

variabilitu, počet vlivů potenciálně ovlivňujících kvalitu masa je provedení statisticky spolehlivé analýzy obtížné. Koeficient determinace se u všech ukazatelů kvality navyšoval s délkou zrání.

Protože u hovězího masa má značný vliv na jeho výslednou kvalitu doba zrání mezi porázkou a konzumací, zaměřili jsme se rovněž na tuto otázku. V tab. č. 22 jsou uvedeny koeficienty korelace mezi ukazateli kvality v 1., 14. a 28. dni po porážce.

Tab. č. 22: Korelační koeficienty mezi ukazateli v 1., 14. a 28. dni *post mortem*

Vlastnost	Doba zrání ¹	Korelační koeficient			Významnost efektu čas (Wilksův lambda test)	Průkaznost modelu (test sphericity)
		Významnost				
		1	2	3		
WB syrové	1		0.323	0.388		
	2		0.0030**	0.0003***	0.8175	0,0001****
	3			0.765 <0,0001****		
WB_grilované	1		0.774	0.775		
	2		<0.0001****	<0.0001****	<0.0001****	<0.0001****
	3			0.854 <0.0001****		
barva_a	1		0.521	0.590		
	2		<0.0001****	<0.0001****	0.0002***	0.0003***
	3			0.589 <0.0001****		
barva_b	1		0.585	0.678		
	2		<0.0001****	<0.0001****	<0.0001****	0.0016**
	3			0.652 <0.0001****		
barva_L	1		0.619	0.670		
	2		<0.0001****	<0.0001****	0.7741	0.0216*
	3			0.728 <0.0001****		
pH	1		0.969	0.929		
	2		<0.0001****	<.0001	0.7902	<0.0001****
	3			0.959 <0.0001****		
Vaznost	1		0.941	0.930		
	2		<0.0001****	<0.0001****	0.0001****	<0.0001****
	3			0.969 <0.0001****		

¹1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání; WB – Warner-Bratzler střižná síla;

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; ****P<0,0001

Korelační koeficienty byly statisticky významné u všech hodnocených ukazatelů, což ukazuje na význam kvality masa již při porážce. Pokud je maso křehké nebo má vysokou vaznost při porážce, bude kvalitní i po dvou nebo třech týdnech zrání a vice versa. Efekt času, tj. délky zrání, byl však v použitém modelu, zahrnujícím čtyři polymorfní geny, jatka, plemeno a chov statisticky průkazný pouze u textury masa grilovaného, barvy a^* , barvy L^* a vaznosti masa. Opět tedy lze konstatovat, že hodnocené ukazatele ovlivňuje kromě délky zrání řada dalších ukazatelů. Důležité však je, že vysoká významnost efektu délka zrání byla zjištěna u Warner-Bratzlerovy síly stříhu grilovaného masa. Tento ukazatel se považuje za naprosto nejdůležitější pro kulinární hodnocení hovězího masa a pro tzv. „eating satisfaction“, tedy příjem spotřebitelem. Diskuse s literárními zdroji je v případě popsané analýzy výše zmíněných čtyř lokusů obtížná, na podobnou analýzu jsme v dostupné literatuře nenarazili.

Tab. č. 23: Korelační koeficienty mezi ukazateli kvality masa v 1., 14. a 28. dni *post mortem*¹

pH 1. den k:			
WBSF syrové 1. den	-0,369	WBSF grilované 1. den	-0,644
WBSF syrové 14. den	-0,321	WBSF grilované 14. den	-0,460
WBSF syrové 28. den	-0,394	WBSF grilované 28. den	-0,683
Barva a 1. den	-0,597	Barva b 1. den	-0,590
Barva a 14. den	-0,632	Barva b 14. den	-0,628
Barva a 28. den	-0,667	Barva b 28. den	-0,767
Barva L 1. den	-0,312	Vaznost 1. den	0,912
Barva L 14. den	-0,463	Vaznost 14. den	0,908
Barva L 28. den	-0,718	Vaznost 28. den	0,932
pH 14. den k:		pH 28. den k:	
WBSF syrové 14. den	-0,365	WBSF syrové 28. den	-0,413
WBSF grilované 14. den	-0,503	WBSF grilované 28. den	-0,698
Barva a 14. den	-0,626	Barva a 28. den	-0,642
Barva b 14. den	-0,625	Barva b 28. den	-0,752
Barva L 14. den	-0,500	Barva L 28. den	-0,692
Vaznost 14. den	0,923	Vaznost 28. den	0,930
pH 1. den : pH 14. den	0,933	pH 1. den : pH 28. den	0,941
pH 14. den : pH 28. den	0,965		

¹všechny korelační koeficienty byly významné (P<0,0001)

Z tab. č. 23 je patrné, že čím vyšší bylo pH 1. den tím nižší byla střížná síla masa syrového i grilovaného 1., 14. i 28. den. Stejnak tak barva a*, b* a L* byla nižší. Pouze korelace vaznost byla vyšší pro všechny doby zrání. Korelační koeficienty mezi pH 14. dnem a sledovanými vlastnostmi vykazují stejné hodnoty jako korelační koeficienty mezi pH 1. den a ukazateli kvality, stejně pro 28. den.

Krom korelací uvedených v tab. č. 23 byly zjištěny tyto korelace mezi střížnou silou syrového a grilovaného masa v 1. dni byla 0,533, ve 14. dni 0,205 a ve 28. dni 0,276. Byly tedy poměrně nízké, přesáhly ale hranici statistické významnosti. Korelační koeficienty mezi obsahem sušiny, tuku a bílkovin na jedné straně a střížnou silou

a vazností v 1., 14. a 28 dni byly statisticky nevýznamné, málo přesahující nulovou hodnotu, pozitivní i negativní.

Tab. č. 24: Významnost interakce mezi polymorfními typy, plemenem, chovem, jatkami a délkou zrání

Vlastnost	Wilksův lambda test pro interakce						
	<i>CAPN</i>	<i>CAST</i>	<i>MSTN</i>	<i>MYF5</i>	Jatka	Plemeno	Chov
	x délka zrání	x délka zrání	x délka zrání	x délka zrání	x délka zrání	x délka zrání	x délka zrání
WB_syrové	0,4785	0,9557	0,2711	0,7636	0,4089	0,7876	0,7891
WB_grilov.	0,2063	0,4496	0,0910	0,5773	0,5748	0,9123	0,9540
barva_a	0,0282*	0,4482	0,2522	0,0027**	0,5576	0,3574	0,1528
barva_b	0,2635	0,4937	0,0819	0,0110**	0,8225	0,6546	0,4657
barva_L	0,0260*	0,0114**	0,0474*	0,0256*	0,0433*	0,6858	0,0064**
pH	0,4215	0,4795	0,1404	0,0708	0,9074	0,7019	0,7305
vaznost	0,0456*	0,1307	0,0280*	0,9672	0,2760	0,8745	0,0908

*P<0,05; **P<0,01

Z tab. č. 24 je patrné, že nebyla zjištěna statisticky významná interakce mezi genotypy *CAPN*, *CAST*, *MSTN* a *MYF5* a délkou zrání pro ukazatele síla stříhu u syrového i grilovaného masa, podobně pro pH masa. Stejně tak nebyla pro tyto ukazatele kvality masa významná interakce mezi jatkou, plemenem a chovem na jedné straně a délkou zrání masa na straně druhé.

Barvu masa „a“ ovlivnila interakce mezi *CAPN*, *MYF5* a délkou zrání. Barvu „b“ ovlivnila interakce *MYF5* x čas, barvu „L“ všechny interakce s výjimkou plemene x čas. Z tabulky je zřejmé, že změna barvy masa byla genotypy na lokusu *MYF5* časem ovlivněna intenzivně a různě. Dále je patrné, že vaznost masa se mění různě rychle u různých genotypů calpainu a myostatinu.

Tyto výsledky musejí být ovšem interpretovány velmi obezřetně z důvodu, že interakce s délkou zrání nejsou běžně analyzovány a jsou proto obtížně porovnatelné s literaturou. Z tohoto důvodu tedy lze doporučit další analýzy interakcí mezi polymorfismy a délkou zrání masa, totéž pro vliv plemene, chovu a jatek.

Tab. č. 25: Vliv interakce mezi genotypy pro *CAST* a *CAPN* na ukazatele kvality masa

Vlastnost	Doba zrání*	Významnost interakce <i>CAPN</i> x <i>CAST</i>
WB_syrové	1	0.1181
	2	0.1921
	3	0.6863
WB_grilované	1	0.7487
	2	0.2881
	3	0.0892
barva_a	1	0.0285*
	2	0.1121
	3	0.0213*
barva_b	1	0.6742
	2	0.1518
	3	0.0097**
barva_L	1	0.2483
	2	0.4340
	3	0.1270
pH	1	0.1657
	2	0.1235
	3	0.0546*
Vaznost	1	0.3122
	2	0.3315
	3	0.6863

*1 = čerstvé maso, 2 = po 2 týdnech zrání, 3 = po 4 týdnech zrání.

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; ****P<0,0001

V tab. č. 25 jsou uvedeny výsledky analýzy interakce mezi genotypy *CAPN* a *CAST*. Z výsledků je patrné, že interakce byla zjištěna jako statisticky významná pouze u malého počtu ukazatelů kvality masa. V literárních zdrojích je často vliv uvedených lokusů uváděn jako významný, zejména u křehkosti masa. Naše výsledky částečně potvrzují předešlá zjištění. U individuální analýzy polymorfismu lokusů *CAPN* a *CAST*

(tab. č. 17 a 18) byly zjištěny významné rozdíly mezi genotypy u calpainu u WBSF grilovaného masa 28. den a u calpastatinu u syrového masa 1. a 28. den.

Hypotéza pro vliv interakce mezi genotypy calpainu a calpastatinu předpokládá, že bude významně ovlivněna síla stříhu u hovězího masa při zahrnutí polymorfismu obou genotypů. Tato hypotéza nebyla potvrzena, interakce sejevila jako významná pouze u barvy a* a to v 1. a 28. dnu *post mortem*, dále u barvy b* a pH rovněž po 28 dnech zrání. Calpainový a calpastatinový komplex je významný pro zrání masa po porážce, které je však komplexním procesem ovlivněným řadou faktorů. Na základě námi zjištěných výsledků nelze jednoznačně potvrdit významný vliv interakce genotypů uvedených lokusů na kvalitu masa.

Dané ukazatele jsme analyzovali i v interakci *CAPN* * *CAST* délka zrání s cílem zjistit, zda různé kombinace genotypů v čase různě zrají. Ani zde nebyl prokázán u většiny ukazatelů statistický významný efekt na kvalitu masa. Jako významný se jevil vliv barvy a*, b*, L* a vaznosti masa, viz tab. č. 26

Tab. č. 26: Vliv interakce mezi genotypy pro *CAST*, *CAPN* a délkou zrání na ukazatele kvality masa

Vlastnost	Významnost interakce <i>CAPN</i> x <i>CAST</i> x délka zrání
WB_syrové	0,8717
WB_grilované	0,0716
barva_a	0,0020**
barva_b	0,0046**
barva_L	0,0037**
pH	0,2007
vaznost	0,0437*

*P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; ****P<0,0001

7 Závěr

Předkládaná dizertační práce je zaměřena na studium genů ovlivňujících kvalitu hovězího masa.

Analýza byla provedena celkem u 381 býčků českého stratego plemene a kříženců s plemenem holštýnským a ayrshirským. Býčci byli chováni v období mléčné výživy v individuálních kotcích, v období předvýkrmu ve volných stlaných kotcích ve skupinách po 14 kusech a v období vlastního výkrmu ve volné kotcové stáji s přistýláním. Býčci byli poraženi v průměrné porážkové hmotnosti 634,45 kg v průměrném věku 605,82 dní. Porážky jatečních býků (381 ks) byly provedeny na třech porážkových místech: Masokombinát Písek (106 ks), Masokombinát Polička (147 ks) a Masokombinát Kostelec (128 ks). Po porážce byly odebrány vzorky masa ze svalu *musculus longissimus lumborum et thoracis* (nízký roštěnec) o hmotnosti min. 1,2 kg z pravé poloviny JUT. Bylo stanoveno chemické složení masa, tj. obsah sušiny, bílkovin, tuku a popelovin. Jako hlavní ukazatele kvality masa byly analyzovány křehkost (Warner Bratzler Shear Force), vaznost, barva a pH. Uvedené ukazatele byly hodnoceny v 1., 14. a 28 dni *post mortem*. Ukazatele vaznost, pH a barva masa (barva a^* , b^* a L^*) byly hodnoceny u masa syrového, ukazatel křehkost byl hodnocen u masa syrového a grilovaného.

Genotypizace byla provedena metodou polymerázové řetězové reakce a polymorfismu délky restrikčních fragmentů. Bylo genotypizováno celkem 381 ks zvířat pro lokus *CAPN*, 379 ks pro *CAST*, 378 ks zvířat pro lokus *MSTN* a 381 ks zvířat pro *MYF5*.

Chemické složení masa a ukazatele kvality byly hodnoceny ve vztahu ke genotypu na lokusech calpain, calpastatin, myostatin a *MYF5*. Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu SAS (Statistical Analysis System) verze 9.4. Byl použit GLM (General Linear Model), zobecněný lineární model. Genetická rovnováha populace byla hodnocena χ^2 testem, který byl spočten v programu Statistika 12. Základní statistické popisné charakteristiky analyzovaných vlastností, výpočty byly provedeny v programu Microsoft Excel 2013.

Zjištěné výsledky lze shrnout takto:

- Analyzovaná populace nebyla v genetické rovnováze pro lokus *CAPN* ($P < 0,05$), *CAST* ($P < 0,00001$), *MYF5* ($P < 0,01$). Lokus pro myostatin byl v genetické rovnováze.

- Polymorfismy v lokusu *CAPN* a *CAST* měly statisticky významný vliv na obsah sušiny a popela v mase ($P < 0,01$). Polymorfismy v lokusech *MYF5* a myostatin neměly statisticky významný vliv na chemické složení masa.

- Model použitý pro analýzu chemického složení masa vykazoval vysoké koeficienty determinace, v mnoha případech přes 90%. Zejména vysoké byly koeficienty determinace pro obsah sušiny a tuku u všech čtyř lokusů.

- Polymorfismus v lokusu *CAPN* vykázal statisticky významný vliv na ukazatel křehkost u grilovaného masa po 28 dnech zrání mezi genotypy *AG* a *GG* ($P < 0,05$). Nejvyšší střížná síla grilovaného masa ve 28. dni *post mortem* byla zjištěna u genotypu *AA*, tedy býčci s tímto genotypem měli maso nejtužší a nejnižší u genotypu *GG* u masa syrového ($GG < AG < AA$).

- Polymorfismus v lokusu *CAPN* měl statisticky významný vliv na barvu masa. Ve žlutém spektru „b“ byly významné rozdíly mezi genotypy *AA* a *GG* ($P < 0,01$). Ve spektru světlost „L“ byly významné rozdíly mezi genotypy *AA* a *GG*, *AA* a *AG* ($P < 0,01$). Uvedené rozdíly byly zjištěny ve 28. dnu. U červeného spektra „a“ byly zjištěny významné rozdíly mezi genotypy *AA* a *GG* v 1. dni, dále v 28. dni mezi genotypy *AG* a *GG* ($P < 0,05$).

- U pH a vaznosti masa byla zjištěna významná asociace mezi *CAPN* genotypy *AA* a *GG* ($P < 0,01$) po 28 dnech zrání. U pH byla po stejné době zrání také asociace mezi genotypy *AA* a *AG* ($P < 0,05$).

- Polymorfismus v lokusu *CAST* vykázal statisticky významné rozdíly v síle stříhu mezi genotypy *GG* a *GC* 1. den u masa syrového ($P < 0,05$) a zároveň i mezi genotypy *GC* a *CC* 28. den ($P < 0,01$). Jako maso nejkřehčí se jevil genotyp *GC*, následoval genotyp *CC* a jako nejtužší bylo zjištěno maso s genotypem *GG* ($GC < CC < GG$). U všech genotypů bylo pozorováno, že maso mělo nejnižší střížnou sílu s přibývajícím dobou zrání.

- Barva masa v polymorfismu *CAST* měla signifikantní rozdíly jak u spektra „a“, „b“ tak u spektra „L“. Barva „a“ a „b“ měly statisticky významné rozdíly mezi všemi genotypy u všech délek skladování. Barva „L“ měla průkazné rozdíly 1. a 14. den mezi genotypy *GC* a *CC*.

- Významná asociace *CAST* polymorfismu byla pozorována pro pH 1., 14. i 28. den mezi všemi genotypy. U vaznosti vody byly významné rozdíly mezi všemi genotypy v 1. a 14. dni.

- U lokusu myostatínu asociční analýza prokázala významnou asociaci tohoto genu s křehkostí masa u masa syrového i grilovaného 1. a 28. den zrání mezi genotypy $AA < AB$ ($P < 0,01$). Po delší době zrání byly hodnoty WBFS nižší.

- U barvy „a“ a „b“ byly zjištěny významné rozdíly mezi všemi genotypy myostatínu po všech dobách zrání. Barva „L“ měla významnou asociaci 28. den mezi genotypy AA a AB . U pH se statisticky významně lišily ($P < 0,01$) genotypy AA a AB 1., 14. a 28. den. Vaznost masa byla statisticky významná 1. den mezi genotypy AA a AB ($P < 0,01$), AB a BB ($P < 0,05$) a 28. den AA a AB ($P < 0,01$).

- U *MYF5* ve střížné síle byly rozdíly mezi genotypy pozorovány 1. ($P < 0,01$), 14. ($P < 0,01$), i 28. ($P < 0,05$) den u syrového masa. Ve 14. dni u syrového masa bylo pořadí genotypů $AA > BB$ a $AA > AB$ měřeno WBSF. Maso grilované mělo po 14 dnech zrání vyšší střížnou sílu u genotypu AA než u BB ($P < 0,01$). U masa grilovaného byly významné rozdíly v 1. a 14. dni mezi genotypy $AA > AB$.

- U genu *MYF5* se byly signifikantní rozdíly v barvě pouze u spektra červeného „a“ 28. den mezi genotypy AA a BB a u světlosti „L“ 28. den mezi AB a BB . Vztah polymorfismu genu *MYF5* k pH masa byl významný 1. den mezi genotypy AA a AB ($P < 0,01$), AA a BB ($P < 0,05$), a 14. den mezi genotypy AA a AB ($P < 0,01$), AA a BB ($P < 0,01$).

- Nebyla zjištěna statisticky významná interakce mezi genotypy *CAPN* a délkou zrání, podobně pro genotypy *CAST*, *MSTN* a *MYF5*, ovlivňující sílu stříhu u syrového i grilovaného masa, podobně pro pH masa. Stejně tak nebyla pro tyto ukazatele kvality masa významná interakce mezi jatkami, plemenem a chovem na jedné straně a délkou zrání masa na straně druhé. Vlastnost barvu masa „a“ ovlivnila interakce mezi *CAPN*, *MYF5* a délkou zrání. Barvu „b“ ovlivnila interakce *MYF5* x čas, barvu „L“ všechny interakce s výjimkou plemene x čas. Vaznost byla ovlivněna interakcí *CAPN* x délka zrání. U pH nebyla statisticky významná interakce pozorována.

- Interakce mezi genotypy pro *CAST* a *CAPN* na ukazatele kvality masa, byla zjištěna jako statisticky významná pouze u malého počtu ukazatelů kvality masa: barva „a“ 1. a 28. den, barva „b“ 28. den, pH 28. den.

- Interakce *CAPN* x *CAST* x délka zrání nebyla u většiny významných ukazatelů kvality masa statisticky významná. Významná byla u spektra barev „a“, „b“ a „L“ a u vaznosti.

- Korelační koeficienty vlastností 1., 14. a 28. den byly statisticky významné u všech hodnocených ukazatelů, což ukazuje na význam kvality masa již při porážce.

Pokud je maso křehké nebo má vysokou vaznost při porážce, bude kvalitní i po dvou nebo třech týdnech zrání.

Z výsledků provedených asociačních analýz vyplývá, že studované polymorfismy mají pravděpodobně vliv na křehkost a další studované kvality masa. Získané údaje budou sloužit pro další genetické studie v rámci projektů.

Výsledky z molekulárně genetických analýz umožní stanovit genotypy ve vybraných lokusech a ověřit jejich vliv na vybrané ukazatele užítkovosti. Prokáže-li se významný vliv některého genotypu na vybraný ukazatel užítkovosti, lze toto využít v plemenářské práci při sestavování vhodných rodičovských párů i komplexních přípařovacích plánů především ve šlechtitelských chovech a chovech se zaměřením na produkci plemenných zvířat. Genotypizace by umožnila výrazně urychlit a zefektivnit šlechtitelskou práci s výrazně pozitivními dopady na sledovaný znak u potomstva a potažmo i zvýšení kvality a atraktivity daného produktu pro zpracovatele i koncového uživatele. Ve šlechtění skotu na masnou užítkovost je nezbytné věnovat pozornost výsledné kvalitě masa a z něj vyrobených produktů. Při nasycení trhu hovězím masem je možné uspět pouze s produktem nejvyšší kvality. Musí se klást důraz na obecně známé chovatelské zásady, kdy nejdůležitějším je správné zacházení se zvířaty před porážkou.

8 Použitá literatura

1. 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.
2. Anson A. (2009). *Secrets of the Genome: a New Bovine Story*. Dostupné z: <http://www.thecattlesite.com/articles/1963/secrets-of-the-genome-a-new-bovine-story/> (cit. 2015-09-01).
3. Arthur P.F. (1995). Double muscling in cattle: A review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 46, 1493-1515.
4. Band M.R., Larson J.H., Rebeiz M., Green C.A., Heyen D.W., Donovan J., Windish R., Steining C., Mahyuddin P., Womack J.E., Lewin H.A. (2000). An ordered comparative map of the cattle and human genomes. *Genome Research*, 10, 1359-68.
5. Barendse W., Armitage S.M., Kossarek L.M., Shalom A., Kirkpatrick B.W., Ryan A.M., Clayton D., Li L., Neiberghs H.L., Zhang N. et al. (1994). A genetic linkage map of bovine genome. *Nature Genetics*, 6, 227-235.
6. 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.
7. Bishop M.D., Koohmaraie M., Killefer J. & Kappes S. (1993). Rapid communication: Restriction fragment length polymorphisms in the bovine calpastatin gene. *Journal of Animal Science*, 71, 2277.
8. Bouška J. et al. (2006): *Chov dojeného skotu*. Profi Press, Praha, 186 s. ISBN 8086726169.
9. Buding J., Klíma D. (1993). Technologie zpracování masa I. *Maso* 2, 29-36.

10. Bureš D., Bartoň L. (2012). Vliv plemenné příslušnosti býků na chemické složení a senzorické charakteristiky masa. *Maso* 5, 57-60.
11. Brascamp E.W., Haley C.S., Groenen M.A.M., Janss L.L.G. (1995). PiGMap: gene mapping and its contribution to meat quality parameters. *Pig News and Information*, 16, 41-46.
12. Braun T., Bober E., Winter B., Rosenthal N., Abold, H.H. (1990). Myf6 a new member of the human gene family of myogenic determination factor: evidence for a gene cluster on chromosome. *The EMBO Journal*, 9, 821-831.
13. Carragher N.O., Frame M.C. (2002). Calpain: a role in cell transformation and migration. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34, 1539-1543.
14. Ciobanu D., Bastiaansen J.W.M., Lonergan S.M., Thomson H., Dekkers J.C.M., Plastow G.S., Rothschild M.F. (2004). New alleles in capastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *Journal of Animal Science*, 82, 2829-2839.
15. Corva P.M., Soria L., Schor A., Villarreal E.L., Cenci M.P., Motter M., Mezzadra C., Melucci L., Miquel C., Paván E., Depetris G., Santini F., Naón J.G. (2007). Association of polymorphisms on the CAPN1 and CAST genes with meat tenderness in beef cattle of Argentina. In *Genetika and Molecular Biology*, 4, 1064-1069.
16. Curi R.A., Fortes M.R.S., Chardulo L.A.L., Silveira A.C., Arrigoni M.D.B., Martins C.L., Assumpcao M.E.O.D.A., de Oliveira H.N. (2009a). Genetic polymorphisms related to meat traits in purebred and crossbred Nelore cattle. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 12, 1660-1666.
17. Curi R.A., Chardulo L.A.L., Mason M.C., Arrigoni M.D.B., Silveira A.C., Oliveira H.N. (2009b). Effect of single nucleotide polymorphisms of CAPN1 and CAST genes on meat traits in Nelore beef cattle (*Bos indicus*) and in their crosses with *Bos taurus*. *Animal Genetics*, 40, 456-462.

18. Curi R.A., Chardulo L.A.L., Giusti J., Silveira A.C., Martins C.L., Oliveira H.N. (2010). Assessment of GH1, CAPN1 and CAST polymorphisms as markers of carcass and meat traits in *Bos indicus* and *Bos taurus*-*Bos indicus* cross beef cattle. *Meat Science*, 86, 915-920.
19. Čítek J., Řehout V., Hanusová L., Míková A., Večerek L. (2010). Genetické markery pro kvalitu masa a mléka. *Certifikovaná metodika*, 9-10.
20. Deman J. M (1999). *Principles of Food Chemistry*. 3rd. New York: Aspen Publishers. 595 s. ISBN 0-8342-1234-X.
21. Dikerman M.E. (1987). Fat reduction in animals and the effects on palatability and consumer acceptance of meat products. *Reciprocal Meat Conference Proceeding*, 40, 93-102.
22. Dvořák J., Hruška D., Vrtková I. (2002a). Mutace v genu myostatinu (MSTN) v populacích masných plemen skotu. *Certifikovaná metodika*. Ústav genetiky MZLU v Brně. Laboratoř aplikované molekulární genetiky. 4s.
23. Dvořák J., Horák P., Vrtková I., Hruška D. (2002b). Varianty genu pro „dvojí osvalení“ u masných plemen skotu. *Certifikovaná metodika I*. Ústav genetiky MZLU v Brně. Laboratoř aplikované molekulární genetiky. 4s.
24. Ensembl. <http://www.ensembl.org>. [online]. 2016 Dostupné z: http://www.ensembl.org/Bos_taurus/Location/Genome (cit. 2016-25-05).
25. Fürst Ch. (2008). Fitness – eine Züchterische Bestandsaufnahme, In Die „Robuste“ Kuh Fitness – eine Voraussetzung für wirtschaftliche Rinderhaltung, seminar des genetischen Ausschusses der ZAR, 3-25 s. [online]. Dostupný z: <https://zar.at/dam/jcr:aed09e1d.../ZAR-Seminar%202008.pdf> (cit. 2016-18-05).
26. Gábor M., Trakovická A., Michulová M., Moravčíková N. (2010). Genetic markers as one of tools for production of tenderness meat in cattle. *Potravinářstvo*, 4, 16-21.

27. Gábor M., Trakovická A., Michulová M. (2011). Polymorphisms of bovine calpastatine gene (CAST) in slovak spotted breed. *Potravinárstvo*, 5, 10-13.
28. Gábor M., Michulová M., Trakovická A., (2012). Molekulovo-genetická analýza kandidátských génov jemnosti mäsa hovädzieho dobytká. Nitra. Certifikovaná metodika. 67s, ISBN 978-552-0876-3.
29. Gill J., Bishop S., McCorquodale C., Williams J., Wiener P. (2009). Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. *Genetics Selection Evolution*, 41, 1-12.
30. Goll D.E., Thompson V.F., Taylor R.G., Ouali A, Chou R-GR. (1999). The calpain system in muscle tissue. In: Wang KKW, Yuen P-W, editors. *Calpain: Pharmacology and Toxicology of Calcium Dependent Protease*. Philadelphia: Taylor & Francis; 127-160.
31. Goll D.E., Thompson V.F., Li H., Wei W., Cong J. (2003). The calpain system. *Physiological Reviews*, 83, 731–801.
32. 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-musled phenotype in cattle. *Nature Genetics*, 17, 71-74.
33. Grosse W.M., Kappes S.M., Laegreid W.W., Keele J.W., Chitko-McKown C.G., Heaton M.P. (1999). Single nucleotide polymorphism (SNP) discovery and linkage mapping of bovine cytokine genes. *Mammalian Genome*, 10, 1062-1069.
34. Hasty P., Bradley A., Morris J.H., Edmonson D.G., Venuti J.M., Oslon E.N., Klein W.H. (1993). Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targer mutation in the myogenin gene. *Nature*, 5, 501-506.

35. Hruban V. et al. (1999). Principy a aplikace molekulární genetiky ve šlechtění. ČZU AF, Suchdol Praha 6, 242 s., ISBN 80-213-0519-3.
36. Hui Y. , Aalhus J.L., Cocolin L., Guerrero-Legarreta I., Nollet L.M., Purchas R.W., Schiling M.W., Stanfield P., Xiong Y.L. (2012). Handbook of meat and meat processing 2nd edition. CRC Press, Boca Raton Florida USA, 1000 s. ISBN 9781439836835.
37. Chuang E.R., Kim W.T. (2005). Association of SNP Marker in IGF-I and MYF5 Candidate Genes with Growth Traits in Korean Cattle. Asian- Australian Journal Animal science, 18, 1061-1065.
38. Chung H.Y., Davis M.E. (2011). Effects of calpain genotypes on meat tenderness and carcass traits of Angus bulls. Molecular Biology Reports, 38, 4575-4581.
39. Ilian M.A., Bickerstaffe R., Greaser M.L. (2004). Postmortem changes in myofibrillar-bound calpain 3 revealed by imunofluorescence microscopy. Meat Science, 66, 231-240.
40. Ingr I. (1977). Technologie živočišných výrobků II: Návody do cvičení. SNP, Praha, 100 s.
41. Ingr I. (1996). Technologie masa. Vyd. 1. V Brně: MZLU, 273 s. ISBN 80-715-7193-8.
42. Ujan J.A., Zan L.S., Ujan S.A., Adoligbe C.A., Wang H.B. (2011). Back fat thickness and meat tenderness are associated with a 526 T→A mutation in the exon 1 promoter region of the MyF-5 gene in Chinese Bos taurus. Genetics and Molecular Research, 10, 3070-3079.
43. Jakubiec-Puka A. (1993). The role of proteolytic calpain system in animal cell. Post Biochemistry (in Polish), 39, 251-258.
44. Jelínková J., Pipek P., Staruch L. (2008). The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. Meat Science, 80, 870-874.

45. Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M. (2012). Technologie potravin – Přehled tradičních potravinářských výrob. VŠCHT, Praha, 588 s., ISBN 78-80-7418-145-0.
46. Kambadur R., Sharma M., Smith T.P.L., Bass J.J. (1997). Mutations in myostatin (GDF8) in double-musled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Research*, 7, 910-916.
47. Kemp C.M., Sensky P.L., Bardsley R.G., Buttery P.J., Parr T. (2010). Tenderness – An enzymatic view. *Meat Science*, 84, 248-256.
48. Knoll A. (2008). Využití genetických markerů při zvyšování produkce a kvality masa. In: Šlechtění na masnou užitkovost a aktuální otázky produkce jatečných zvířat. Brno: Asociace chovatelů masných plemen Rapotín, 4- 8 s. ISBN: 978-80-903143-8-2.
49. Kök S., Atalay S., Savasci M., Eken H.S. (2013). Characterization of Calpastatin Gene in Purebred and Crossbred Turkish Grey Steppe Cattle. *Kafkas University Veteriner Fakultesi Dergisi*, 19, 203-206.
50. Koohmaraire M. (1994). Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Science*, 36, 93-104.
51. Koohmaraire M. (1996). Biochemical factors regulativ the toughening and tenderazition proces sof meat. *Meat Science*, 43, 193-201.
52. Koohmaraire M., Kent M.P., Shackelford S.D., Veiseth E., Wheeler T.L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science*, 62, 345-352.
53. Koohmaraire M., Geesink G.H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain sytem. *Meat Science*, 74, 34-43.
54. KONICA MINOLTA (ed.), 2006: Přesná komunikace o barvě. Konica Minolta-firemání literatura, Osaka, 57 s.
55. Kučera J., Chládek G., Vetýška J., Král P., Dvořák J., Skřivánek M. (2004). Šlechtění

českého strakatého skotu. Svaz chovatelů českého strakatého skotu, Praha, 91 s.

56. Kučera J., Král P. (2006). Změny připravované ve výpočtu masné užitkovosti. Zpravodaj Svazu chovatelů a Plemenné knihy Českého strakatého skotu, 1, 20-21 s.
57. Kučera J. (2007). Selekční index SIC dozná změn. Zpravodaj Svazu chovatelů a Plemenné knihy Českého strakatého skotu, 3, 6 s.
58. Kučerová J., Keclík R., Maršálek M., Frelich J. (2003). Evaluation of meat production of Czech pied bulls in fattening control stations with reference to relative breeding values of milk and meat production of sires. *Journal of Central European Agriculture*, 4, 111-120.
59. Kumamoto T., Kleese W.C., Cong J., Goll D.E., Pierce P.R., Allen R.E. (1992). Localization of the Ca^{+2} - dependent proteinases and their inhibitor in normal, fasted and denervated rat skeletal muscle. *Anatomical Record*, 232, 60-77.
60. Kury J., Kapelanski W., Cieslak D., Pierzchala M., Grajewska S., Bocian M. (2002). Are polymorphism in non-coding regions of porcine MyoD genes suitable for Predicting meat and fat deposition in the carcass? *Animal Science Papers and Reports*, 20, 245-254.
61. Li C., Basarab J., Snelling W.M., Benkel B., Murdoch B., Moore S. (2002a). The identification of common haplotypes on bovine chromosome 5 within commercial lines of *Bos taurus* and their associations with growth traits. *Journal of animal science*, 80, 1187-1194.
62. Li C., Basarab J., Snelling W.M., Benkel B., Murdoch B., Kneeland J., Hansen C., Moore S. (2002b). Identical by descent haplotype sharing analysis: Application in fine mapping of QTLs for birth weight in commercial lines of *Bos taurus*. Proc. In: 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. Montpellier, France, 481-484.
63. Li C., Basarab J., Snelling W.M., Benkel B., Murdoch B., Hansen C., Moore S. (2004). Assessment of positional candidate genes *myf5* and *igf1* for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos taurus*. *Journal of animal science*, 82, 1-7.

64. Lonergan S.M., Huff-Lonergan E., Wiegand R.B. (2001). Postmortem proteolysis and tenderization of top loin steaks from brangus cattle. *Journal of Muscle Foods*, 12, 121-136.
65. Maki M., Ma H., Takano E., Adachi Y., Lee W., Hatanaka M., Murachi T. (1991). Calpastatins: biochemical and molecular biological studies. *Biomedica Biochimica Acta*, 50, 509-516.
66. Malčíková J. (2011). Čipy pro analýzu genomu. Interní hematonekologická klinika LF MU a FN Brno Centrum molekulární biologie a genové terapie CEITEC. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/5964868/> (cit. 2016-18-05).
67. McPherron A.C., Lee S.J. (1997). Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 12457-12461.
68. Meyers S.N., Beever J.E. (2008). Investigating the genetic basis of pork tenderness: Genomic analysis of porcine CAST. *Animal Genetics*, 39, 531-543.
69. Miller M. (2007). Dark, Firm and Dry Beef. Research knowledge management. Dostupné z: <http://fyi.uwex.edu/wbic/files/2011/04/Dark-Firm-and-Dry-Beef.pdf> (cit. 2016-18-05).
70. Moudilou E.N., Mouterfi N., Exbrayat J.M., Brun C. (2010). Calpains expression during *Xenopus laevis* development. *Tissue Cell*, 42, 275-281.
71. Motyčka J. (2011). Přínos genomiky a plemenných hodnot pro pohodu zvířat. Černostrakaté novinky. Dostupné z: <http://www.holstein.cz/index.php/cernostrakate-novinky/77-ernostrakate-novinky-32011/file> (cit. 2015-09-01).
72. Muchenje V., Dzama K., Chimonyo M., Strydom P.E., Raats J.G. (2009). Relationship between pre-slaughter stress responsiveness and beef quality in three cattle breeds. *Meat science*, 81, 653-657.

73. NCBI (2015). Resources Genome - Bos taurus (cattle) U.S National Library of Medicine: National Center for Biotechnology Information - Genome. Dostupný z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/genomes/82> (cit.2015-04-15).
74. Nowak D. (2011). Enzymes in Tenderization of Meat - The System of Calpains and Other System - a Review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 61, 231-237.
75. Obrázek. Barevnýprostor CIEL. [online]. Dostupné z: <http://ww.colorcodehex.com/cie-lab.jpeg> (cit.2015-09-01).
76. Ondráková M. (2007). Plemenné hodnoty býků kombinovaného skotu v odchovných, Zpravodaj Svazu chovatelů a Plemenné knihy Českého strakatého skotu, 1, 5 s.
77. Othman O.E., Zayed F.A., Gawead A.A.E., El-Rahman M.R.A. (2011). Genetic polymorphism of two genes associated with carcass trait in Egyptian buffaloes. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 9, 15-20.
78. Otsuka Y., Goll D.E. (1987). Purification of the Ca²⁺-dependent proteinase inhibitor from bovine cardiac muscle and its interaction with the millimolar Ca²⁺-dependent proteinase. Journal of Biological Chemistry, 262, 5839-5851.
79. 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.
80. 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.
81. Parr T., Jewell K., Sensy P. L., Brameld J. M., Bardsley R. G., Bustery P. (2004). Expression of calpastatin isoforms in muscle and functionality of multiple calpastatin

- promoters. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 427, 8-15.
82. Pinto L.F.B., Ferraz J.B.S., Meirelles F.V., Eler J.P., Rezende F.M., Carvalho M.E., Almeida H.B., Silva R.C.G (2010). Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*, 9, 1431-1442.
83. Pipek P., Jirotková D. (2001). *Hodnocení jakosti zpracování a zbožiznalství živočišných produktů*. 1. vyd. České Budějovice, 136 s. ISBN 80-704-0490-6.
84. Quaas R.L., Li J., Thallman R.M., Van Eenennaam A.L., Fernando R.L., Gill C. (2006). Validation of commercial DNA tests for quantitative beef traits. In: 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13-18, 18 s.
85. Raynaud P., Jayat-Vignoles C., Laforêt M., Levéziel H., & Amarger V. (2005a). Four promoters direct expression of the calpastatin gene. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 437, 69-77.
86. Raynaud P., Gillard M., Parr T., Bardsley R., Amarger V., & Leveziel H. (2005b). Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 440, 46-53.
87. Reardon W., Mullen A.M., Sweeney T., Hamil R.M. (2010). Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine *M. longissimus* & *M. semimembranosus*. *Meat Science*, 86, 270-275.
88. Rincon G., Medrano J.F. (2006). Assays for genotyping single nucleotide polymorphisms in the bovine CAPN1 gene. *Animal Genetics*, 37, 293-307.
89. Rudnicki M.A., Schnegelsberg P.N., Stead R.H., Braun T., Arnold H.H., Jaenisch R. (1993). MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *BioEssays*, 75, 1351-1359.

90. Říha J., Vrtková I. (2008). Markery ve šlechtění skotu na maso. In: Šlechtění na masnou užitkovost a aktuální otázky produkce jatečných zvířat. Brno: Asociace chovatelů masných plemen Rapotín, 4-8 s., ISBN: 978-80-903143-8-2.
91. Sentandreu M.A., Coulis G., Ouali A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 400-421.
92. Schenkel F.S., Miller S.P., Jiang Z., Mandell I.B., Ye X., Li H., Wilton, J.W. (2006) Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 291-299.
93. Sifuentes-Rincón A.M., Puentes-Montiel H.E., Moreno-Medina V.R., Xóchitl F. de la Rosa Reyna (2006). Assessment of the myostatin Q204X allele using an allelic discrimination assay. *Genetics and Molecular Biology*, 29, 496-497.
94. Silva J.A., Patarata L., Martins C. (1999). Influence of ultimate pH bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, 52, 453-459.
95. Siontis K.C.M., Patsopoulos N.A., Loannidis J.P.A. (2010). Replication of past candidate loci for common diseases and phenotypes in 100 genome-wide association studies. *European Journal of Human Genetic*, 18, 832-837.
96. Skládanka J., Doležal O., Hegedüsová Z., Holásek R., Chládek G., Kopec T., Kučera J., Kropsch M., Kvapilík J., Ofner-Schröck E., Ondráková M., Strapák P. (2014). Chov strakatého skotu. MZLU v Brně. 1. vyd., 286 s. ISBN 978-80-7509-258-8.
97. Smith T.P.L., Casas E., Rexroad C.E., Kappes S.M., Keele J.W. (2000). Bovine CAPN1 maps to a region of BTA29 containing a quantitative trait locus for meat tenderness. *Journal of Animal Science*, 78, 2589-2594.
98. Snustad P., Simmons M. (2009). *Genetika*. Brno: MU. 871 s. ISBN 978-80-210-4852-2.
99. Sorimachi H., Ishiura S., Suzuki, K. (1997). Structure and physiological function of calpains. *Biochemical Journal*, 328, 721-732.

100. Steen D., Claeys E., Uytterhaegen L., De Smet S., Demeyer D. (1997). Early post-mortem conditions and the calpain/calpastatin system in relation to tenderness of double-muscle beef. *Meat Science*, 45, 307-319.
101. Steinhauser L., et al. (1995). *Hygiena a technologie masa*. Brno. 643 s. ISBN 80-900260-4-4.
102. Steinhauser L., Beneš J., Ingr I. (2000). *Produkce masa*. Tišnov: Last, 464 s. ISBN 80-900260-7-9.
103. Svaz chovatelů českého strakatého skotu (2008). *Plemeno české strakaté - základní informace*. Dostupné z: <http://www.cestr.cz/plemeno.html> (cit. 2016-04-19).
104. Svaz chovatelů českého strakatého skotu (2013). *Metodika pro zkoušky výkrmnosti skotu ve stanicích kontroly výkrmnosti skotu*. Dostupné z: http://www.cestr.cz/files/pokyny_a_formulare_pk/metodika_masa.pdf (cit. 2016-04-19).
105. Van Eenennaam A.L., Li J., Thallman R.M., Quaas R.L., Dikeman M.E., Gill C.A., Franke D.E., Thomas M.G. (2007). Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *Journal of Animal Science*, 85, 891-900.
106. Vondrášková Š. (2012). *Enzymy v procesu křehnutí masa*. Agronavigator.cz. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=116746&ids=157> (cit. 2013-04-24).
107. 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.
108. Wind A.E., Larkin D.M., Green Ch.A., Elliott J.S., Olmstead C.A., Chiu R., Schein J.E., Marra M.A., Womack J.E., Lewin H.A. (2005). A High-resolution whole-genome Cattle

Human Comparative Map Reveals Details of Mammalian Chromosome Evolution, Proceedings of the National Academy of Sciences, 51, 18526-18531.

109. Wu G., Farouk M.M., Clerens S., Rosenvold K. (2014). Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. *Meat Science*, 98, 637-645.
110. Xu X.X., Shui X., Chen Z.H., Shan C.Q., Hou Y.N., Cheng Y.G. (2009). Development and application of a real-time PCR method for pharmacokinetic and biodistribution studies of recombinant adenovirus. *Molecular Biotechnology*, 43, 130-137.
111. Zahradková R. et al. (2009): Masný skot: od A do Z 1. vyd. Český svaz chovatelů masného skotu, Praha, 397 s. ISBN 9788025442296.
112. Zhang S.X., Farouk M.M., Young O.A., Wieliczko K.J., Podmore C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science* 69, 765-772.
113. 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.
114. Zhang Ch., Liu Y., Xu D. (2011). Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. *Molecular Biology*, 39, 3081-3087.
115. Zimin A.V., Delcher A.L., Florea L., Kelley D.R., Schatz M.C., Puiu D., Hanrahan F., Pertea G., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S., Marçais G., Roberts M., Subramanian P., Yorke J.A., Salzberg S.L. (2009). A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biology*, 10, 40-42.

9 Životopis

OSOBNÍ INFORMACE



Jméno **Ing. Lucie Lískovcová**
Adresa **Za Jitonou 214, 381 01, Český Krumlov, Česká republika**
Mobil **+420 721 768 878**
E-mail **tothol00@zf.jcu.cz**
Datum narození **6. 2. 1988**
Národnost **česká**
Rodinný stav **vdaná**

ZAMĚSTNÁNÍ

Od 1. 6. 2015 - současnost: Centrum lékařské genetiky s.r.o. - biolog
Od 1. 4. 2015 - současnost: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích/Zemědělská fakulta - odborný pracovník
Od 1. 4. 2015 - současnost: Golf club Český Krumlov – recepce

PRACOVNÍ ZKUŠENOSTI

V průběhu svého středoškolského a vysokoškolského studia jsem pracovala v rámci brigády nebo praxe v těchto podnicích:

Pivovar Eggenberg Č. Krumlov (chemická a mikrobiologická laboratoř)
VÚVŽ Uhřetěves
ÚŽFG AV Liběchov (laboratoř genetiky)
MZLU Brno
Blue Crystal

ZAHRANIČNÍ STÁŽE

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU - Katedra Genetyki

VZDĚLÁNÍ

Dosažené vzdělání	vysokoškolské II. stupně (inženýrské)
Období (od - do)	2012 - současnost
Škola/fakulta	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích/Zemědělská fakulta
Obor/specializace	Zemědělské biotechnologie, Ph.D. studium
Období (od - do)	2010 - 2012
Škola/fakulta	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích/Zemědělská fakulta
Obor/specializace	Živočišné biotechnologie

(státní závěrečná zkouška: biotechnologické metody, genetika a šlechtění hospodářských zvířat, molekulární biologie, rybářství a ekologie;
diplomová práce: Sledování obsahu biogenních aminů a polyaminů během skladování a tepelných úprav skopového masa.)

Období (od - do) 2007 - 2010
Škola/fakulta Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích/Zemědělská fakulta
Obor/speciálníizace Zemědělské biotechnologie
(státní závěrečná zkouška: základy zootechniky, živočišná biotechnologie, buněčná a molekulární biologie;
bakalářská práce: Obsah biogenních aminů a polyaminů ve skopovém mase.)

Období (od - do) 2003 - 2007
Škola SŠ obchodu, služeb a podnikání, Kněžskodvorská 33/A, České Budějovice
Obor/speciálníizace Analýza potravin

(maturitní zkouška: český jazyk, matematika, chemie, blok odborných předmětů, praktická zkouška z odborných předmětů)

Období (od - do) 1994 - 2003
Škola ZŠ Za Nádražím 20, Český Krumlov
Obor/speciálníizace Výběrová třída se zaměřením na matematiku a cizí jazyky.

KURZY A ŠKOLENÍ

Období (od - do) 14. 1. 2013 - červen 2015
Instituce Britské centrum JU v Českých Budějovicích
Název kurzu/speciálníizace Kurz angličtiny

Období (od - do) 16. 6. 2013 - 21. 6. 2013
Instituce MZLU Brno
Název kurzu/speciálníizace Biotechnologický kurz: „IV. letní škola molekulární biologie nukleových kyselin a genomiky“.

Období (od - do) 13. 5. 2013 - 17. 5. 2013 (40 hod)
Instituce projekt VĚDRO - odborné pracoviště BC AV ČR
Název kurzu/speciálníizace Pokročilé metody molekulární biologie

Období (od - do) 11. 3. 2013 - 15. 3. 2013 (40 hod)
Instituce projekt VĚDRO - odborné pracoviště BC AV ČR
Název kurzu/speciálníizace Základní metody molekulární biologie

Období (od - do) 5. 3. 2013 - 6. 3. 2013
Instituce SEQme s.r.o.
Název kurzu/speciálníizace Kurz Real - Time PCR

Období (od - do)	2. 7. 2012 - 27. 7. 2012 (150 hod)
Instituce	Lite jazyková škola v Pelhřimově
Název kurzu/specializace	Angličtina mírně pokročilý
Období (od - do)	7. 2. 2011 - 15. 6. 2011 (18 týdnů)
Instituce	Gaudeo jazyková škola v Českých Budějovicích
Název kurzu/specializace	Němčina pro stř. pokročilé
Období (od - do)	16. 11. 2010 - 16. 12. 2010
Instituce	Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Název kurzu/specializace	Inseminace a vpravování embryí inseminační technikou u prasat/ stupeň I - inseminace
Certifikát	číslo:16/10

OSOBNÍ SCHOPNOSTI A DOVEDNOSTI

Mateřský jazyk	Český jazyk
Další jazykové znalosti	Anglický jazyk
Úroveň ovládnutí	B2

Počítačové znalosti a dovednosti: MS Office (Word, Excel, Power Point), Statistika, Outlook, Internet Explorer, Mozilla Firefox, Google Chrome, Opera, Skype

Řidičský průkaz	B <i>od roku 2006</i>
Volnočasové aktivity	Cestování a sport.

V Českém Krumlově dne 10.1. 2017

10 Seznam publikovaných prací

Výzkumné zaměření

- 1) Publikace s IF:

Hanusova L., Brzakova M., Mikova A., Vecerek L., Hosnedlova B., **Tothova L.**, Citek J. (2016). Analysis of glucose metabolization capability, candidate gene polymorphisms and breeding value of Holstein sires. *Livestock Science*, 193, 92 – 94, doi: 10.1016/j.livsci.2016.10.003.

Vernerova K., **Tothova L.**, Mikova A., Vodrazka P., Simek B., Hanusova L., Citek J. (2014). BSE – associated polymorphisms in the prion protein gene: an investigation. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 1-6, doi: 10.1111/jbg.12090.

Hanusova L., Mikova A., Vecerek L., Schroeffelova D., Rehout V., **Tothova L.**, Vernerová K., Hosnedlova B., Citek J. (2014). Effect of DGAT1 polymorphisms on the estimated breeding values of Czech Simmental sires. *Czech Journal Animal Science*, 59, 365-373.

- 2) Konference:

Tothova L. (2013). Geny ovlivňující užitkové vlastnosti u skotu. Genes affecting the productivity of cattle. *Zootechnika 2013, Sborník z konference mladých vědeckých pracovníků, ZF JU*, 4-13. **(přednáška)**

Tothova L., Vecerek L. (2014). Asociační studie polymorfismu calpainu a kvality masa. Association study of calpain polymorphism and meat quality. *Zootechnika 2014, Sborník z konference mladých vědeckých pracovníků, ZF JU*, 76-84. ISBN 978-80-7394-454-4 **(přednáška)**

Mikova A., Hanusova L., Vecerek L., Hosnedlova B., **Tothova L.**, Citek J. (2014). The influence of metabolic indicators and gene polymorphisms on the milk performance. *XXVI Genetics Days*, 141-143 **(přednáška)**

Tothova L., Mikova A., Hanusova L., Vernerova K., Citek J. (2014). Prion gene polymorphisms and BSE state. *XXVI Genetics Days*, 121-123 **(přednáška)**

Mikova A., Hanusova L., Vecerek L., Hosnedlova B., **Tothova L.**, Citek J. (2014). The influence of metabolic indicators and gene polymorphisms on the milk performance. *26th Genetic days, September 3rd - 4th 2014, Prague, Czech Republic* **(poster)**

Tothova L., Vernerova K., Mikova A., Vodrazka P., Simek B., Hanusova L., Citek J. (2015) BSE – associated polymorphisms in the prion protein gene: an investigation. *32th International Conference of Student Scientific Circles, May 14rd-15th 2015, Wroclaw, Poland* **(poster)**

Tothova L. (2015). BSE associated polymorphisms of the prion protein gene and contaminated bone meal: continuing consideration. XX Medzynarodowa Konferencja Studenckich Kot naukowych I XXXII Sejmik SKN Wroclaw, 195, ISBN 978-83-7717-200-1 (**přednáška**)

Tothova L., Cunatova S. (2015). Asociační studie polymorfismu myostatinu a kvality masa. Association study of myostatin polymorphism and meat quality Zootechnika 2015, Sborník z konference mladých vědeckých pracovníků, ZF JU, 118-125. ISBN 978-80-7394-518-3 (**přednáška**)

Tothova L., Citek J., Vecerek L., Hanusova L., Voriskova J., Benes K. (2016). Association study of bovine candidate loci to meat quality. 27th Genetic days, September 7rd - 9th 2016, Nitra, Slovak Republic (**poster a přednáška**), 10.

Hanusova L., Citek J., Vecerek L., **Tothova L.**, Hosnedlova B. (2016). Metabolic indicators in cattle breeding. 27th Genetic days, September 7rd - 9th 2016, Nitra, Slovak Republic (**poster a přednáška**), 9.

Citek J., Vecerek L., Hanusova L., Schröffelova D., **Tothova L.** (2016). Genetic health in Czech cattle population. 27th Genetic days, September 7rd - 9th 2016, Nitra, Slovak Republic (**přednáška**), 22.

- 3) Konzultant diplomové práce:

Čunátová Š. (2015). Analýza vybraných kandidátních lokusů ovlivňujících užitkové vlastnosti a zdraví zvířat. Katedra: Zootechnických věd, ZF JU.