

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ZOOLOGIE



Vliv inbreedingu na reprodukci u koně Převalského

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Bc. Helena Petrová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie

Forma studia: Prezenční

V Olomouci 2023

Vedoucí práce: **doc.Ing.Jiří Bezdíček, Ph.D.**

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracovala sama, s pomocí mého školitele pana doc. Ing. Jiřího Bezdíčka, Ph.D. citované literatury a plemenné knihy koně Převalského.

V Olomouci dne

Podpis.....

PODĚKOVÁNÍ

Tímto děkuji panu doc. Jiřímu Bezdíčkovi za vedení mé diplomové práce. Za pomoc se zpracováním mé diplomové práce, trpělivost při konzultacích, cenné rady a velkou snahu vyjít mi vstříc. Chtěla bych tímto poděkovat grantové agentuře IGA (2022; 2023). Za poskytnutí dat, která jsem použila v diplomové práci, bych chtěla poděkovat zoologické zahradě Praha, která mi poskytla přístup do plemenné knihy koně Převalského. Dále děkuji své rodině a blízkým přátelům za podporu a toleranci po celou dobu studia.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora:	Helena Petrová
Název:	Vliv inbreedingu na reprodukci u koně Převalského
Typ práce:	Diplomová
Pracoviště:	Katedra zoologie
Vedoucí práce:	doc.Ing.Jiří Bezdíček, Ph.D.
Rok obhajoby:	2023
Klíčová slova:	inbreeding, kůň Převalského, počet mláďat, Askania, pokles heterozygotnosti
Počet stran:	36
Počet příloh:	0
Jazyk:	český

ABSTRAKT

Kůň Převalského je posledním druhem divokého koně na naší planetě. Z volné přírody byl vlivem člověka v polovině 20. století skoro vyhuben. Nakonec zůstalo jen 13 kusů tohoto druhu v zoologických zahradách a parcích šlechty. Příčiněním a snahou zoologických zahrad o návrat tohoto zvířete do volné přírody začínají jeho počty pomalu ale jistě narůstat. V momentální době se vyskytuje v chráněné oblasti A a B v poušti Gobi přes 2000 kusů. Klíčovou roli v tomto odvážném projektu hraje také zoologická zahrada Praha. Od roku 1959 byla pražské zoologické zahradě svěřena mezinárodní plemenná kniha koně Převalského a je v ní vedena dodnes. I když jsou snahy o návrat úspěšné, jsou zde komplikace, které by mohly být pro tento projekt ohrožující. Jednou z těchto komplikací je inbreeding. Jedná se o příbuzenské páření, při kterém dochází k poklesu heterozygotnosti a oproti tomu narůstá homozygotnost. V praxi to znamená, že alela, která by při normálním nepříbuzenském páření neměla šanci se prosadit ve fenotypu, protože by byl její vliv potlačen, může díky homozygotnímu genotypu svůj fenotyp projevit. U samců se může například projevit snížením jejich plodnosti, a to například nižším počtem spermií v ejakulátu. Tuto tematiku jsem se rozhodla zkoumat ve své diplomové práci. Celkově jsem z plemenné knihy koně Převalského analyzovala data o 741 hřebcích, a to v rozmezí let 1960–2004. Z výzkumu jsem vyřadila jedince, kteří se dožili méně než 8 let. Hlavní závislou proměnnou, kterou jsem zkoumala, byl počet mláďat. V závislosti na zkoumaných efektech jsme rozřadili hřebce do tří skupin. Efekty, které jsme zkoumali, byly: délka života, koeficient inbreedingu, rok narození

a místo narození. Zjistili jsme, že inbreeding má signifikantní vliv na počet mláďat za život hřebců. Hřebci s nejnižším koeficientem inbreedingu měli za život více mláďat než hřebci, kteří měli inbreeding procentuální nejvyšší. V závislosti na tomto poznatku jsme provedli ještě další analýzu. Ta nám potvrdila, že hřebci s nejvyšším inbreedingem mají v průměru méně mláďat za rok života než hřebci s inbreedingem nižším. Inbreeding je komplexní a komplikovaný efekt, který se projevuje u každého druhu jinak. U některých druhů se přímo projeví na samci, u jiného na samici. U některých druhů zvířat se můžeme s jeho projevy setkat až u další generace, pokud příbuzenské páření pokračuje. Celkově se zvířata snaží proti inbreedingu bránit. Některé druhy savců například vyhání své dospělé samce od skupiny (gibon, kůň Převalského). U jiných je prokázán selektivní výběr vajíčka, které si vybere spermie samce nepříbuzného a mnoho dalšího. U některých druhů je však inbreeding jediná šance na záchranu před vyhynutím, a tak na něj i přes všechna rizika musí přistoupit (kůň Převalského, gepard štíhlý).

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION

Author:	Helena Petrová
Title:	Influence of inbreeding on reproduction in Przewalski horses
Type of thesis:	Master
Department:	Department of Zoology
Supervisor:	doc.Ing.Jiří Bezdíček, Ph.D.
The year of presentation:	2023
Key words:	inbreeding, Przewalski's horse, number of offspring, Askania, reduces heterozygosity
Number of pages:	36
Number of appendices:	0
Language:	Czech

ABSTRACT

The Przewalski's horse is the last species of wild horse on our planet. Due to human impact, it was almost eradicated in the middle of twentieth century. Eventually, only thirteen individuals have remained in zoological and aristocratic gardens. However, its numbers have been steadily increasing owing to contributions of zoological gardens and their effort to return Przewalski's horses back into the wild. Currently, there are over two thousand horses in the protected areas A and B located in Gobi Desert. In this bold project, Prague ZOO plays a crucial role. Since 1959, it has been commissioned to keep the European Stud Book for the Przewalski's horse. Although, its efforts for the reintroduction are successful, there are several complications which could potentially threaten the project, for instance, inbreeding. Inbreeding is a consanguineous mating which reduces heterozygosity and increases homozygosity. In practice, this means that allele which would not have a chance to express itself in the phenotype during unrelated mating, as a result of its influence being suppressed, can manifest its phenotype due to the presence of homozygous genotype. This phenotype could manifest itself in various ways, for instance, in lower number of sperm in the semen resulting in decline in male fertility. This topic is further investigated in my diploma thesis using analyzed data on 741 stallions from the European Stud Book for the Przewalski's horse between 1960 and 2004. However, the individuals whose life expectancy was less than eight years were excluded from the study. In this study the main dependent variable was the number of young. The stallions were classified into three categories according to following investigated effects: life expectancy, inbreeding coefficient, year of birth, place of birth. The results show that inbreeding has a significant influence on the number of offspring in stallions' lifetime. Stallions with the lowest inbreeding coefficient had more offsprings in their

lifetime than stallions with the highest inbreeding coefficient. On account of these results, another analysis was made, which confirmed that stallions with the highest inbreeding have on average fewer young per year than stallions with lower inbreeding. Inbreeding is a complex and complicated effect that manifests itself differently in each species; sometimes affecting only male or female. In other species, inbreeding affects only the next generation if it continues. Generally, animals try to defend themselves against inbreeding. For instance, some species of mammals send their adult males away from the group (gibbon, Przewalski's horse). Furthermore, it has been proven that some species' eggs select the sperm of unrelated male and many other methods. However, for some species inbreeding is the only option, which saves them from extinction, and therefore, they are forced to do it despite all the risks (Przewalski's horse, cheetah slender).

OBSAH

CÍL PRÁCE	10
1.ÚVOD	11
1.1 O druhu	11
1.2 Snaha o návrat	12
1.3 Problém páření příbuzných jedinců – inbreeding.....	13
2.MATERIÁL A METODY	16
2.1 Sběr dat.....	16
2.2 Statistická analýza	17
2.3 Efekty	18
3.VÝSLEDKY.....	20
3.1 Výpočet celkového počtu mlád'at v ks	20
3.1.1 Výpočet č.1: základní statistika.....	20
3.1.2 Výpočet číslo 2: GLM analýza s následujícími efekty.....	21
3.2 Výpočet podle podílu mlád'at za rok života otce: počet mlád'at / délka života v letech	23
3.2.1 Výpočet č.1 základní statistika	23
3.2.2 Výpočet č.2 GLM analýza s efekty.....	24
4.DISKUSE	27
5.ZÁVĚR	31
6.ZDROJE	32

CÍL PRÁCE

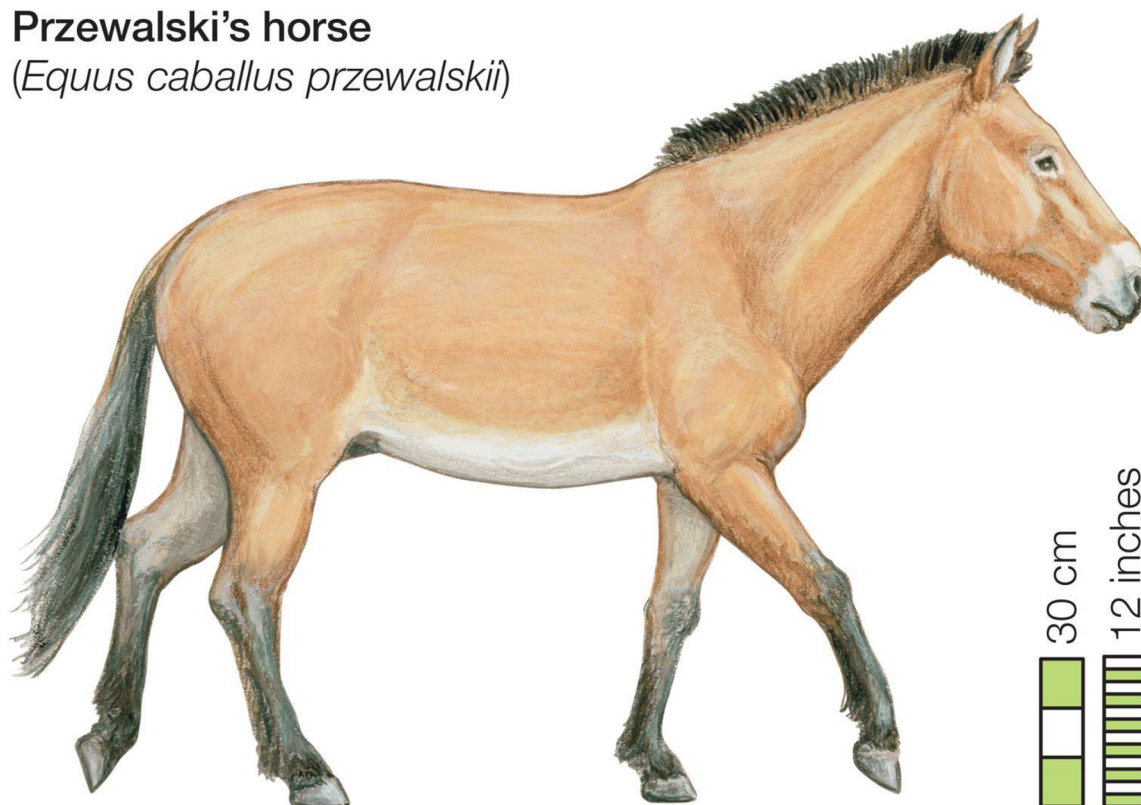
Cílem mé diplomové práce je vyhodnocení vlivu inbreedingu na plodnost u koně Převalského. Práce je zaměřena na celoživotní plodnost hřebců, prezentovaná především počtem jejich mláďat. Pro analýzu bylo využito databáze Plemenné knihy koně Převalského. Statistické zpracování bude provedeno se zohledněním příslušných efektů, které se mohly na sledovaném znaku podílet (vliv roku, prostředí, atd.). Součástí práce bude literární přehled k uvedené tématice.

1. ÚVOD

1.1 O druhu

Kůň Převalského (*Equus ferus przewalskii*) je pravděpodobně poslední volně žijící druh koně. Zástupci tohoto druhu se vyznačují podsaditou postavou. S maximální výškou 1,5 m v kohoutku jsou menší než většina domestikovaných druhů koní viz obrázek č.1 (zooliberec.cz; nationalgeographic.com; britannica.com). Zajímavé je, že s domestikovaným koněm sdílí 64 chromozomů a mohou mít společně potomstvo, které je plodné i v další generaci a potomci vypadají jako koně Převalského (nationalzoo.si.edu). Koně Převalského žijí v rodinných skupinách, které tvoří zhruba 15 jedinců a jsou vedeny dominantním samcem. V těchto skupinách nacházíme pouze klisny s hříbaty. Směr a rychlost skupiny určuje dominantní samice, hřebec se vyskytuje na kraji své skupiny (zooliberec.cz). Mladší samci, jsou od stáda vyhnáni a žijí v „mládeneckých“ skupinách. Po dosažení pohlavní dospělosti, což je u těchto zvířat zhruba v 5 letech, se snaží odlákat ze stáda mladé samice a založit si vlastní skupinu (nationalgeographic.com; nationalzoo.si.edu).

Przewalski's horse (*Equus caballus przewalskii*)



© 2010 Encyclopædia Britannica, Inc.

Obrázek č. 1 Kůň převalského (Encyklopedia Britannica 2010)

Druh byl popsán na konci 19. století ruským cestovatelem M. Przewalskim, po kterém dostal jméno. Původně se vyskytoval v poušti Gobi, na hranicích Mongolska s Čínou (nationalgeographic.com). Ve volné přírodě byl ale během 60. a 70. let 20. století vyhuben

(nationalzoo.si.edu; temata.rozhlas.cz). Důvodem vyhubení byla konkurence s hospodářskými zvířaty místních obyvatel, klimatická změna, politické a kulturní změny v Mongolsku, páření s koněm domácím a lov (zoopraha.cz). Posledních pár kusů, konkrétně 13, bylo zachováno v chovech zoologických zahrad a parcích šlechty.

1.2 Snaha o návrat

V posledních letech je snaha vrátit koně Převalského zpět do volné přírody. Zoologické zahrady celého světa jsou do tohoto projektu zapojené a úzce spolupracují. Cesta ke spolupráci ovšem nebyla jednoduchá. Poprvé se začalo uvažovat o návratu koně do volné přírody v roce 1959. Došlo k sympoziu, které svolala zooložka Erna Moohrová. Tohoto sympozia se účastnili odborníci z SSSR, Mongolska, Maďarska, Polska. Snahy této konference však zhatily boje mezi Mongolskem a Čínou. Dalších 20 let byly vědecké expedice na toto místo velmi nejistou záležitostí s nejistým koncem. V zoologických zahradách se však koně Převalského stále rozmnožovali až jejich počet narostl na 500 kusů. Tento počet je u divokých zvířat považován za dobrý základ pro pokus o návrat druhu do jeho přirozeného prostředí. Pro zoologické zahrady to ale začal být problém. Hřibata potřebovali umístit, ale nebylo kam. Na počátku 80. let 20. století se iniciativy o návrat koní ujal německý podnikatel CH. Oswald. Na jeho popud byla vybudována v Mongolsku aklimatizační stanice a byla vyvinuta snaha znovu spojit světové zoologické zahrady a společně se snažit o návrat koně Převalského. Tyto snahy však opět přišly vniveč. Došlo k nesouladu jeho názorů s názory světové zooložky ze spolupráce opět sešlo. Vedení národního parku a jeho snahy se nakonec ujala skupina ITG, což je skupina vědců a zoologických zahrad celého světa. Skupina spolupracuje na financování a celkovém managementu národního parku (Trojský koník 2008).

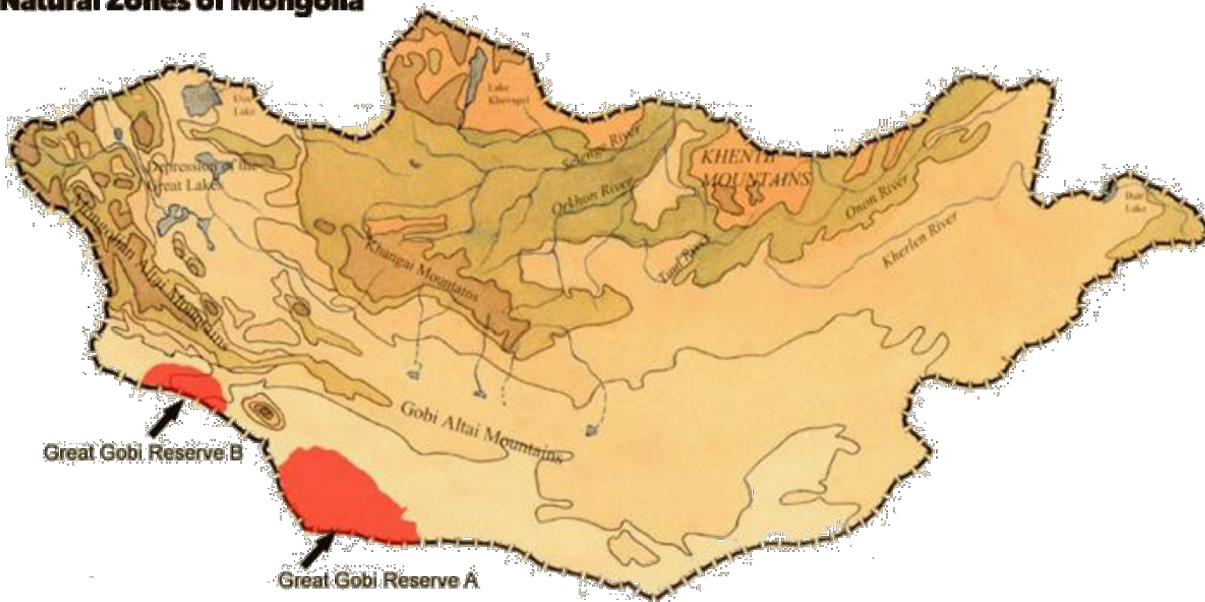
Jako první s touto snahou začali zoologické zahrady v Německu a Švýcarsku v 80. letech 20. století. V České republice má hlavní a klíčovou úlohu zoologická zahrada v Praze. Koně Převalského jsou zde chováni od roku 1932 a jsou velmi podrobně dokumentováni v mezinárodní plemenné knize, která je vedena od roku 1959 právě zoologickou zahradou Praha (zoopraha.cz). Začala se psát na popud výsledků mezinárodního sympozia, které proběhlo v témže roce na popud československých vědců v Praze (Kůs 2008). Zajímavé je, že pražská zoologická zahrada byla z projektu Návratu divokých koní několikrát vyřazena. Poprvé byla napadena její linie německými zoology a byla považována za velmi inbrední. Podruhé byla pražská zoologická zahrada roku 1994 odvolána ze společnosti EAZA, která se reintrodukci v té době zaobírala. Zpět se do reintrodukce zapojila po roce 1998, kdy začala také transportovat první koně do Mongolska (Trojský koník 2008).

První snahy o návrat koně Převalského do volné přírody mongolských stepí proběhly v roce 1989. Byl proveden experiment, jehož hlavním cílem bylo zjistit zda koně, kteří se narodili v zajetí, přežijí v přirozených podmínkách s přirozenými nepřáteli a omezenými zdroji potravy. Studie probíhala po dobu 7 let a byli do ni zahrnuti i jiné druhy kopytníků, které původně s koněm převalským koexistovali. Konkrétně to byli gazela džejran (*Gazella subgutturosa*) a kulan (*Equus hemionus kulan*). Tyto druhy byly vysazeny do volné přírody ze zajetí ještě před koněm Převalským, Na konci této studie bylo zjištěno, že koně Převalského narození v zajetí se mohou adaptovat na tyto podmínky i s rozmnožováním, které u těchto jedinců nastalo po roce adaptace (Pereladova et. al 1999).

Pražská zoologická zahrada začala s vracením koně Převalského do volné přírody v roce 2011, po velmi kruté zimě. Od té doby bylo provedeno 9 transportů koní do oblasti

Velké Gobi B a A (zoopraha.cz) viz obrázek č.2 (wildcamels.com) a zoologická zahrada Praha se stala v návratu koní Převalského do volné přírody klíčovou. Jedná se přísně chráněnou oblast o rozloze kolem 4,6 milionů hektarů. Jedná se o největší chráněnou terestrickou oblast na planetě. Zákonem chráněná začala být v roce 1975 a je zapsána ve světovém dědictví UNESCO (whc.unesco.org). Oblast se vyznačuje dlouhým zimním obdobím, kdy teploty klesají pod $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ naopak v létě dosahují $+40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Kaczensky et al. 2008). Ve zmiňované oblasti se nachází na 410 druhů rostlin, 15 druhů plazů, 150 druhů ptáků a 49 druhů savců (whc. Unesco.org). Ze vzácných či endemických savců můžeme jmenovat koně Převalského (*Equus ferus przewalskii*), velblouda divokého (*Camelus ferus*), irbise (*Panthera uncia*) (worldatlas.com). Všechny tyto uvedené druhy, jsou ohroženy stejným nepřítelem, a to člověkem a interakcemi s ním. Proto jsou jejich ochrana a zpětná reintrodukce do tohoto jedinečného ekosystému velmi důležité. Momentálně se ve volné přírodě nachází 2010 kusů. Všichni tito jedinci jsou potomci dříve zmiňovaných 13 kusů (zoopraha.cz).

Natural Zones of Mongolia



Obrázek č.2 – mapa poušti Gobi se zaznačenými lokacemi rezervací Great Gobi Reserve B a Great Gobi A (wildcamels.com)

1.3 Problém páření příbuzných jedinců – inbreeding

I když jsou snahy o návrat koně Převalského úspěšné, stále jsou známy faktory, které reintrodukcí populaci koní Převalského v jeho přirozeném prostředí ohrožují. Z přirozených rizik můžeme jmenovat tvrdou mongolskou zimu zvanou dzud. Z genetických rizik jsou známá rizika páření s domácími koňmi a inbreeding (zoopraha.cz).

Inbreeding můžeme definovat jako genetické spojení příbuzných jedinců. Živočiškové, kteří se rozmnožují sexuálně, čelí od vzniku druhu dilematu zda se rozmnoží v rodném prostředí, nebo budou migrovat (De Boer et al. 2018; přednášky z evoluční biologie). Rodné prostředí je pro živočichy výhodné kvůli prozkoumanosti terénu – ví, kde mají zahrázdit, jak si najít vodu, potravu. Vnímají ale riziko příbuzenského páření a jeho následky. Oproti tomu je migrace tzn. opustit rodné prostředí a najít si jiné. Z tohoto kroku také vedou nebezpečí ohrožující fitness jedince – přesně opačná situace než v rodném prostředí. Živočich prostředí nezná, neví kde a jak zahrázdit, nezná zdroje vody nebo potravy,

ale výrazně se snižuje riziko příbuzenského páření (přednášky evoluční biologie; De Boyer et al. 2018). Celkově jde v inbreedingu o páření bratra se sestrou, otce s dcerou, matky se synem a nevlastního bratra a sestry (extension.missouri.edu). Při páření bratra se sestrou je procento inbreedingu 25%, stejně tak u páření rodičů s potomky. Při páření bratrance se sestřenicí vzniká potomek s $F_x = 6,25\%$.

Inbreeding velmi výrazně zatěžuje genetickou informaci jednice a zhoršuje mu kvalitu života (extension.missouri.edu; Reed et al. 2003). Studie na malých savcích prokázala, že prokazatelně stoupá mortalita u juvenilních jedinců v pozitivní závislosti na inbreedingu. Tento závěr byl prokázán na 11 z 12 použitých druhů malých laboratorních savců (Ralls et al. 1989).

Inbreeding a jeho vliv na životní kvalitu byl řešen i při chovu masných a mléčných plemen hovězího dobytka (Burrow 1998). Ve studii Burrow zkoumal, zda má inbreeding vliv na ekonomickou výnosnost chovu hovězího dobytka – masa a mléka v tropickém prostředí. Ve své studii zkoumal, zda se liší u jedinců s vyšším procentem inbreedingu odolnost proti parazitům, nemocem, tepelnému stresu nebo zda mají více problémů s přibýváním na váze nebo zda inbrední telata častěji umírají po porodu. Zjistil, že inbreeding negativně působí na plodnost býků, ale jinak zkoumané vlastnosti zvířat nijak neovlivňuje (Burrow 1998).

Není to problematika jen chovů živočichů v zajetí. V přírodě se také s inbreedingem hojně setkáváme. Jako příklad mohu uvést studii od S. J. O'briena z roku 1983. Tato studie, která byla provedena na 55 jedincích geparda štihlého (*Acinonyx jubatus*), prokazuje závislost inbreedingu na „efektu hrdla láhve“. V období Pleistocénu došlo k rapidnímu snížení počtu velkých kočkovitých šelem, k vymírání některých poddruhů a ke snížení počtů jedinců v ostatních. Do přírodního výběru se tudíž dostala většina jedinců, která přežila a inbreeding narůstal (O'brien et al. 1989).

Efekt inbreedingu jsem se rozhodla zkoumat u samců koně Převalského. U samců savců je doložen negativní vliv inbreedingu na kvalitu jejich ejakulátu. Byl zkoumán počet spermií v ejakulátu, jejich motilita či morfologické změny. Ve studii na laboratorních myších byla prokázána vysoká závislost počtu spermií v ejakulátu na míře inbreedingu. Studie byla provedena na 93 samcích. 63 z nich bylo se samicemi spárováno tak, aby bylo inbreedingu dosaženo. 40 jedinců z pokusného vzorku nebylo schopno mít potomstvo. Na vzorcích ejakulátu bylo prokázáno, že čím vyšším koeficientem inbreedingu byli samci zatíženi, tím méně měli pohyblivých spermií v ejakulátu (Margulis et al. 2002). U koní se zkoumal podobný problém a bylo dosaženo obdobného výsledku. Eldik et al. 2006 ve své studii na Shetlandských ponících zjistil, jak se zhoršuje kvalita ejakulátu opět v závislosti na inbreedingu u zkoumaného druhu. Studie byla prováděna pět let, od roku 1992-1997 a bylo při ní použito 285 koní. Jedinci byli rozděleni podle koeficientu inbreedingu do 6 skupin. Každému jedinci byl odebrán vzorek ejakulátu a byly zanalyzovány spermie. Spermie byly hodnoceny podle standardů oplodňovacích klinik. Byla hodnocena motilita spermií, počet spermií v ejakulátu, morfologické změny a kolik procent je spermií v ejakulátu živých a kolik mrtvých. Bylo zjištěno, že čím více byli jedinci inbrední tím menší kvalitu spermatu měli (Eldik et al. 2006).

Podobný pokus byl proveden u dalšího velkého evropského savce – zebra evropského (*Bison bonasus*) v roce 2023 Wandou Olechovou. Stavy zebra evropského byly ve volné přírodě velmi zredukované. Na konci 30 let 20. století byl z volné přírody defacto úplně vyhuben a zbylo pouze 54 jedinců v zajetí. Aktuální stav odpovídá zhruba 9500 jedinců – byl u nich velmi patrný „efekt hrdla láhve“. V této studii bylo zkoumáno, z plemenných knih, jakou mají šanci přežít inbrední telata (Olech 2023).

Inbreeding se vyjadřuje pomocí koeficientu inbreedingu. Termín byl definován v roce 1922 panem Wrightem (Bezdiček 2022). Tato hodnota nám vyjadřuje, jaká je pravděpodobnost, že jedinec zdědil obě alely téhož genu od jednoho předka (wikiskripta.eu).

$$F_x = \sum \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{n_1+n_2+1} (1 + F_A) \right]$$

Kde:

Σ ..součet úseků ke všem společným předkům

n_1 počet generací ke společnému předku ze strany otce

n_2 počet generací ke společnému předku ze strany matky

F_A koeficient inbreedingu sledovaného předka

Při použití tohoto vzorce předpokládáme, že u inbredních jedinců dojde k nárůstům homozygotnosti a z toho důvodu se bude snižovat heterozygotnost (Jakubec et al. 2010).

V mé diplomové práci se zabývám vlivem inbreedingu na hřebce koně Převalského, jejich kvalitu života a počtem potomků.

2. MATERIÁL A METODY

2.1 Sběr dat

Výzkum probíhal z dat, která jsem získala z on-line verze Generální plemenné knihy koně Převalského, kterou v roce 1977 vydal pan doktor Evžen Kůs a je průběžně aktualizována o nově narozená hříbata a také o úhyny (viz. obrázek č.4).

Equus przewalskii - Overview Studbook Card

Only living Enter search criteria or wildcard % for all records

St. No.	St. Name	No. Sex	House Name	Owner	Location
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Date of Birth Date of Death Age

Remarks: Ee ee h d ws at c t a

Search result

St. No.	St. Name	Sex	House Name	Owner	Location
---------	----------	-----	------------	-------	----------

Obrázek č.3 – ukázka vyhledávání v plemenné knize (Generální plemenná kniha Koní Převalského od 1959)

Plemenná kniha zobrazuje po zadání čísla jedince jeho jméno, pohlaví (F/M), datum narození a smrti, počet potomků, místo narození a úmrtí (viz obrázek č.4).

Equus przewalskii - Studbook Card

St. No	251	Sex	M	St. Name	PRAHA	40
House Name 1	VIKTOR	House Name 2		Place of Birth	PRAHA	Age x
Date of Birth	16.06.1960	Est	<input type="checkbox"/>	Dam	B6	PRAHA
Sire	78	PRAHA	11			
Owner	ANVERS					
Remarks	Ee <input type="checkbox"/> ee <input type="checkbox"/> h <input type="checkbox"/> d <input type="checkbox"/> ws <input type="checkbox"/> at <input type="checkbox"/> c <input type="checkbox"/> t <input type="checkbox"/> a <input type="checkbox"/>					
F coef.	.309					
Date of Death	13.06.1988	Est	<input type="checkbox"/>	Death Age	28	
Necropsy rep.						
Carcass						
Remark						
Name	ANVERS		Last Site	ANVERS		Since
				ANVERS		28.05.1964
				Breeders history		

Prev [Studbook card overview](#) Next

Obrázek č. 4 – Ukázka z mezinárodní plemenné knihy s konkrétním hřebcem.

Vybírala jsem hřebce, kteří se narodili v rozmezí 1960 až 2004. Dožili se minimálně osmi let a koeficient inbreedingu byl vyšší než 0,1 %. Celkově jsem vybrala 741 jedinců. U hřebců jsem zkoumala délku života, počet potomků, případně příčinu smrti, pokud bylo uvedeno. Data jsem zaznamenala do tabulky a vyhodnotila je metodou GLM programu Statistica[®] se zohledněním vybraných efektů.

2.2 Statistická analýza

Při vyhodnocování počtu mláďat byla základním kritériem délka života. To, že počet mláďat koreluje s délkou života, je známý fakt (Margulis et al. 2002; Rokouei et al. 2010). Dalším aspektem, který může počet mláďat ovlivnit, je způsob života koní Převalského. Koně Převalského žijí jako harémová zvířata, kdy si hřebec vytváří harém o 5-25 samicích. Samci opouští stádo zhruba ve 2 letech, kdy jsou vyhnáni dominantním hřebcem. Po vyhnání ze stáda se mladý samec připojuje k dalším mladým samcům a vytvářejí si tzv. mládenecké skupiny. V těchto skupinách hřebci žijí, dokud si nenajdou vlastní samice a nezaloží si harém (zoopraha.cz). Prvním efektem byla míra inbreedingu Fx. Byly vytvořeny tři skupiny. Do skupiny č. 1 se řadili hřebci, jejichž Fx bylo menší nebo rovno 15 %. Do skupiny č. 2 byli řazeni jedinci, kteří se pohybovali v rozmezí 15,1 % až 25 %. Do poslední skupiny, označené číslem 3, byli řazeni jedinci, jejichž Fx bylo větší nebo rovno 25,1 %. Cílem tohoto rozdělení bylo vytvořit skupiny zvířat s nízkým, středním a vysokým inbreedingem a to tak, aby byly skupiny početně co nejvíce vyrovnané. Dalším efektem byla délka života sledovaného jedince (hřebce). Byly zvoleny opět tři skupiny (podrobněji v další části materiál a metody). Dalším efektem byl rok narození. Zajímalo nás, zda se nějak odlišují jedinci narození před rokem 1980 a jedinci narození po něm. Posledním efektem bylo místo narození. Bylo zjišťováno, zda se liší jedinci narození v zoologických zahradách nebo v Askanii. Askanii jsme vybrali

proto, že evokuje přirozené prostředí a dalo se předpokládat, že by mohly být rozdíly oproti chovu v zoologické zahradě.

Rozdělení těchto efektů vyjadřuje následující modelová rovnice:

$$Y_{i,j,k,l} = \mu + Fx_i + D\check{Z}_j + ROK_k + M\acute{I}STO_l + e_{i,j,k,l}$$

kde :

Y_{ijkl} = korigovaná hodnota (počet potoků)

μ = střední hodnota

Fx_i = koeficient inbredingu (1 = $F_x \leq 15$; 2 = $F_x = 15,1 - 25$; 3 = $F_x \geq 25,1$ %)

$D\check{Z}_j$ = délka života (1 = $D\check{Z} 8 - 11$ let; 2 = $D\check{Z} 11,1 - 15$ let; 3 = $D\check{Z} \geq 15,1$)

ROK_k = rok narození (1 = ROK 1960 – 1980; 2 = ROK 1981 – 2004)

$M\acute{I}STO_l$ = místo narození (1 = zoologická zahrada; 2 = Askania)

e_{ijkl} = náhodná chyba

2.3 Efekty

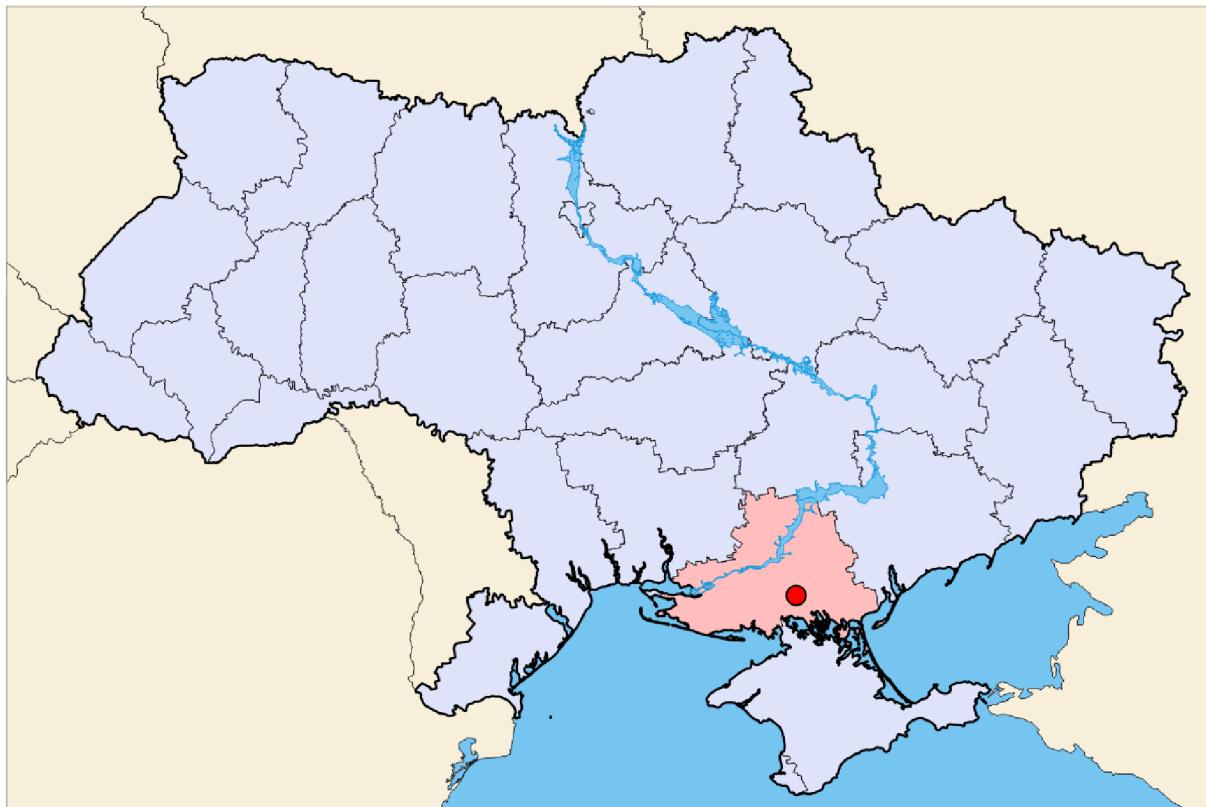
První z efektů byla délka života. Byla rozdělena celkem na tři kategorie. Jedinci v první skupině žili v rozmezí od 8 do 11 let. Druhá skupina pokrývala jedince, žijící od 11,1 do 15 let. Poslední skupina zahrnovala jedince, kteří se dožili 15,1 a více let. Do sledování nebyli zařazeni hřebci s délkou života kratší než 8 let, a to z toho důvodu, aby byla vytvořena skupina zvířat (hřebců), kteří žili dostatečně dlouhou dobu. Délka života může být obecně významným faktorem, který ovlivní počet potomků. Na straně matky je tento efekt zcela zásadní. Na straně otce je také nutné s tímto faktorem počítat, je ale třeba současně vzít v úvahu, že u koně Převalského je harémový typ stáda (zoopraha.cz).

Další efektem byl rok narození. Jedince jsme rozdělili do dvou skupin. S rozsahem od roku 1960 po rok 1980 v první skupině a rozsahem od roku 1980 po rok 2004 ve druhé. S tímto rozdělením jsme pracovali proto, abychom byli schopni obsáhnout nějaké ultimátní rozdělení četností hřebců.

Efekt – místo narození Askania – Nova, jsme porovnávali s místem narození – zoologickými zahradami. Askania – Nova je jedna z největších a nejstarších rezervací v Evropě. Nachází se na jihu Ukrajiny, konkrétně v centrální části Chersonské oblasti viz obrázek č. 5 (wikipedia.org; ukrajiner.net). Oblast byla založena roku 1874 baronem Faltr-Feinem. Baron vytvořil první rezervaci divokých zvířat v Evropě. Jeho cílem bylo nashromáždit co nejvíce druhů zvířat, jako byly zebry, australský pták emu, pštrosi, klokani, himalájský tahr (jak) a v neposlední řadě kůň Převalský. Během první a druhé světové války byla oblast naprosto zdevastovaná (ukrajiner.net; Kuzmina et al. 2013).

Od 30. let 20. století je oficiálně považována za aklimatizační stanici a od roku 1984 je zapsána do světového dědictví UNESCO do části Network of biosphere reserves. Oblast je velmi unikátní. Na území, které má více než 33 000 ha, můžeme najít více než 500 druhů vyšších cévnatých rostlin a více než 3000 druhů živočichů. Svou unikátností se řadí mezi 7 divů Ukrajiny a místem, kde probíhá mnoho vědeckých studií a výzkumů. Je například domovem 32 párů husice rezavé, která žije pouze v této rezervaci (ukrajiner.net). Skládá se z 12 částí, jako jsou například vědecké laboratoře, aklimatizační zoologická zahrada, arboretum nebo reprodukční stanice (wikipedia.org; ukrajiner.net). V roce 1990 se zde nacházelo 130 koní Převalského. V posledních letech je snaha o jejich nerozmnožování. V

momentální době žije v Askanii kolem 70 koní Převalského. Z Askanie byli koně posíláni do Černobylské rezervace a do Mongolska (wikipeda. org).



Obrázek č. 5: mapa Ukrajiny s vyznačenou částí, kde se nachází Askania – Nova (wikipedia.org)

Byly provedeny dva výpočty. První se zabíral vyhodnocením celkového počtu hříbat od jednoho otce. Druhý výpočet vycházel ze zjištění, že délka života otce může ovlivnit počet jeho potomků. Proto byl, jako druhý výpočet, vyhodnocen i průměrný počet mláďat za jeden rok života otce.

3. VÝSLEDKY

V rámci studia vlivu inbreedingu na počet mláďat jsme provedli výpočet dvěma způsoby. V první části jsme se zabývali výpočtem celkového počtu mláďat za život hřebců a proměnných, které mohou počet mláďat ovlivňovat (výpočet základní statistikou a GLM analýzou). Po zjištění, že délka života je velmi významným faktorem, byl proveden ještě druhý soubor výpočtu, počet mláďat za jeden rok života otce. Také v tomto případě byl proveden nejprve výpočet základních statistických hodnot a následně GLM analýza, zohledňující vybrané efekty.

3.1 Výpočet celkového počtu mláďat v ks

3.1.1 Výpočet č.1: základní statistika

V tabulce číslo 1 jsou zaznamenány výsledky výpočtu celkového počtu mláďat hřebců, a to pomocí výpočtu průměru, minimální a maximální hodnoty a standardní odchylky u čtyřech, námi vytyčených efektů. Jako první můžeme vidět vliv efektu inbreedingu, kde jsme počítali s 340 hřebci, rozdělenými do skupin podle procenta inbreedingu, na 109 kusů v první skupině s nejnižším inbreedingem ($F_x \leq 15\%$), 102 kusů ve druhé skupině ($F_x = 15,1-25\%$) a 129 kusů ve třetí skupině ($F_x \geq 25\%$) s nejvyšším procentem inbreedingu. Ve skupině s nejnižším procentem inbreedingu byl průměrný počet mláďat 10,52 na hřebce. Ve skupině s nejvyšším procentem se počet hříbat snížil průměrně na 6,94 kusu na hřebce.

Dále jsme počítali s délkou života. Při tomto efektu jsme počítali opět se 340 hřebci, kteří byli opět rozděleni do 3 skupin. S délkou dožití od 8 do 11 let bylo započítáno 108 hřebců, s délkou života 11,1 až 15 let bylo počítáno s 96 hřebci a s délkou života 15,1 a více let s 136 hřebci. Zjistili jsme, že hřebci s nejkratším životem mají průměrně 3,32 mláďate, zatímco hřebci s délkou života 15,1 a víc let měli průměrně 13,09 mláďat. Tento výsledek nám vyšel statisticky vysoce signifikantní. Další signifikantní výsledek jsme získali z porovnání skupiny s číslem 2 a skupiny s číslem 1. Zatímco hřebci se střední dobou dožití – od 11,1 do 15 let měli průměrně 7,85 mláďat, hřebci z první skupiny měli průměrně 3,32 mláďate viz. tabulka č. 1.

Dále jsme porovnávali jedince s rozdílným rokem narození. Jedinci z první skupiny se narodili před rokem 1980, těch bylo započítáno 139, a jedinci ze skupiny označené číslem 2, kteří se narodili po roce 1980, těchto jedinců bylo 201. Jedinci z první skupiny měli průměrně 10,27 mláďat za život, jedinci ze druhé skupiny měli průměrně 7,29 mláďat. Tento výsledek nám vyšel po vyhodnocení statistikou neprůkazný (viz. tab. č. 1).

Poslední, co jsme porovnávali, bylo místo narození. Zajímalo nás, zda má na počet mláďat nějaký vliv místo narození zvířat. Hřebci v první skupině byli narozeni v Askanii a bylo jich 283. Hřebci z druhé skupiny byli narozeni v zoologických zahradách a bylo jich 57. Po porovnání jsme zjistili, že hřebci narozeni v Zoo měli průměrně za život 9,86 hříbat a hřebci narozeni v Askanii 8,24 hříbat. Tento výsledek nám vyšel statisticky neprůkazný viz tab č.1.

Tab.č.1: výpočet základních statistických metod

	počet mláďat celkem									
	Fx (%)			Délka života (v letech)			Rok narození		Místo narození	
	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2
	≤15	15,1 - 25	≥ 25,1	8-11	11,1-15	15,1+	1980	1980+	Askania	ZOO
průměr	10,52	8,34	6,94	3,32	7,85	13,09	10,27	7,29	8,24	9,86
min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
max	52	71	72	33	42	72	72	49	72	49
STD.	12,505	12,597	12,33	6,269	10,575	15,518	14,67	10,66	12,37	13,26
počet (n)	109	102	129	108	96	136	139	201	283	57
P	n.s			1-2 = 0,0177; 1-3=			n.s.		n.s	
n.s. neprůkazné										

3.1.2 Výpočet číslo 2: GLM analýza s následujícími efekty

V druhé části výpočtu byla využita metoda GLM analýzy, které zohledňuje vybrané efekty. Byly sledovány a vypočítány vlivy efektů na celoživotní počet mláďat u hřebců koně Převalského viz tab č. 4. Při odhadu nezávislé proměnné (Fx) na závisle proměnnou (počet mláďat) dosahují hodnoty ve skupině s nízkým inbreedingem 12,61 ks mláďat, při střední úrovni inbreedingu byl počet mláďat 9,76 ks a ve třetí skupině s nejvyšším inbreedingem byl počet mláďat 6,84 ks. Přitom rozdíly mezi počtem mláďat po otcích s nízkým vs. vysokým inbreedingem byly statisticky průkazné ($p = 0,0476$). Celkově se tedy ukázalo snížení počtu potomků v závislosti na koeficientu inbreedingu, což je zřejmé také z grafu č. 1

Pro nezávisle proměnnou – délku života byly naměřené hodnoty následující. Pro první skupinu s nejkratším dožitým věkem byla vypočítána hodnota 4,86 mláděte, pro skupinu s prostřední délkou dožití byla naměřená hodnota 9,5 ks a pro jedince s nejvyšším dožitým věkem byla hodnota 14,58 ks. Rozdíly mezi počtem mláďat u otců s rozdílnou délkou života byly statisticky průkazné (viz. tab. 2).

Další porovnanou nezávisle proměnnou byl rok narození na závisle proměnnou – počet mláďat. Zjistili jsme, že odhad průměrné hodnoty závislé proměnné na nezávisle proměnnou, tedy na počet potomků za rok je v první skupině jedinců 10,53 mláďat. Ve druhé skupině 8,94. Po porovnání obou skupin jsme zjistili signifikantní rozdíl a to 0,0203.

Poslední zkoumanou nezávisle proměnnou bylo místo narození. Hodnota skupiny 1, která se narodila v Askanii byla 7,72, zatímco hodnota skupiny narozené v Zoo byla 11,75. Hodnoty se nám neprokázaly jako průkazné.

Závisle proměnnou počet mláďat za rok a nezávisle proměnnou Fx s vysokou mírou pravděpodobnosti jsme promítli do grafu viz, graf č.1.

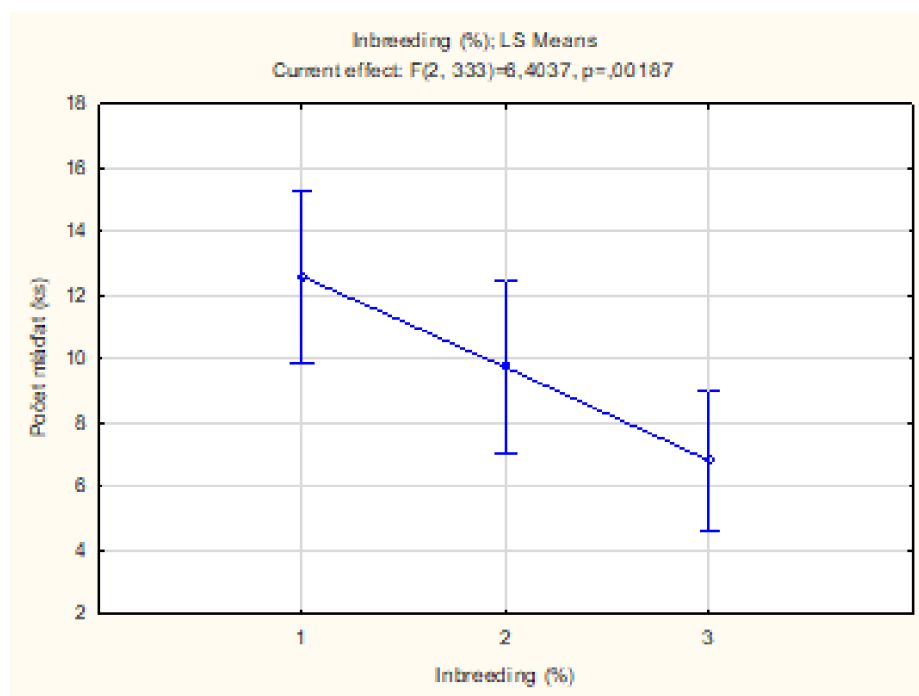
Dále byly vypočítány korelační závislosti. Výsledky jsou zřejmé z grafu č. 2.

Zjištěná regrese ukazuje, že pokud dojde o navýšení koeficientu příbuznosti o 1 % dojde ke snížení počtu mláďat o 0,14 ks.

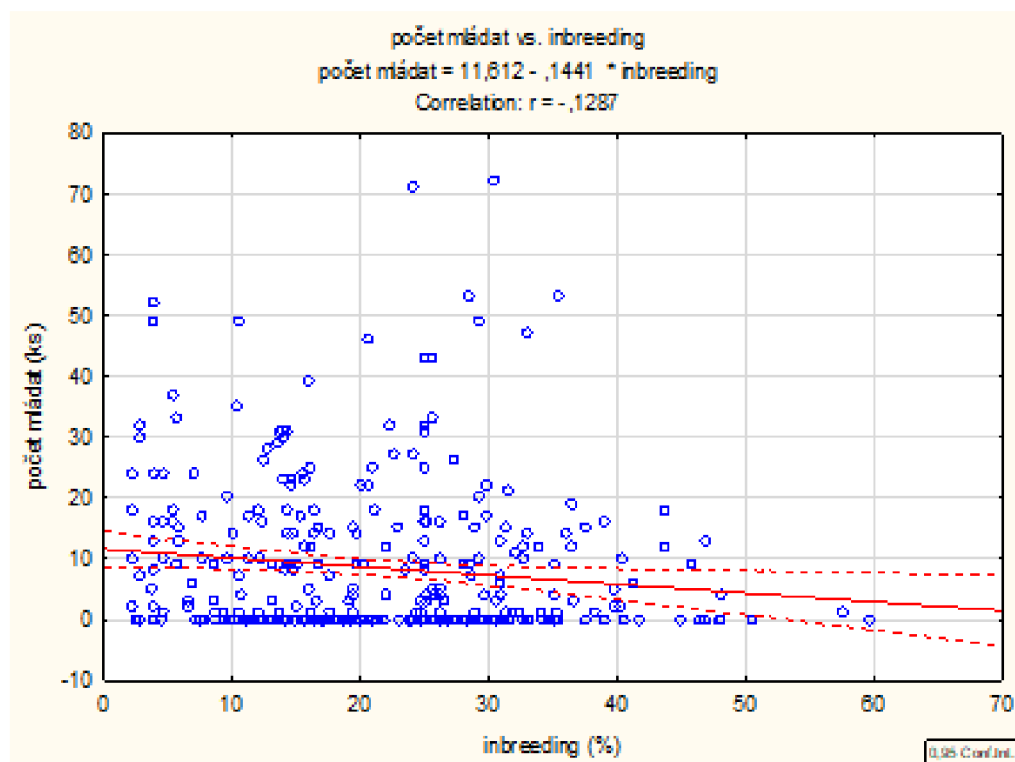
Tab.č 2: Výpočet vlivu sledovaných efektů na celoživotní počet mláďat u hřebců koně Převalského metodou GLM (sledované efekty: Fx; délka života; rok narození; místo narození)

	počet mláďat celkem									
	Fx (%)			Délka života (v letech)			Rok narození		Místo narození	
	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2
	≤15	15,1 - 25	≥ 25,1	8-11	11,1-15	15,1 +	1980	1980+	Askania	ZOO
LSM	12,61	9,76	6,84	4,86	9,5	14,58	10,53	8,94	7,72	11,75
± SD	1,38	1,83	1,11	1,34	1,34	1,22	1,3	0,98	0,72	1,64
počet (n)	109	102	129	108	96	136	139	201	283	57
P	1-3= 0,0476			1-2=0,0155; 1-3=0,0000 ; 2-3=0,022			1-2= 0,0203		n.s.	

Graf č. 1: Vliv inbreedingu na počet mláďat u hřebců koně Převalského (výpočet metodou GLM)



Graf č. 2: Regresní vztah počtu mláďat a koeficientu inbreedingu u koně Převalského



Po první sérii výpočtů (viz tab. č. 1. a graf 1.) jsme zjistili, že zvyšující se koeficient inbreedingu průkazně snižuje počet narozených mláďat. Dalším závěrem z těchto výpočtů je, že je významným faktorem také délka života. Proto byl proveden ještě druhý výpočet (viz tab. č. 2. a graf č. 2.), kde sledovaná závislá proměnná byla počet mláďat dělený délkou života otce, tzn. počet mláďat za rok života hřebce. Podobně, jako v první části, byl proveden výpočet základních statistických hodnot a následně byly metodou GLM zohledněny vybrané efekty.

3.2 Výpočet podle podílu mláďat za rok života otce: počet mláďat / délka života v letech

3.2.1 Výpočet č.1 základní statistika

V tabulce č. 3 jsou uvedeny výsledky základních statistických výpočtů pro počet mláďat za rok u sledovaných hřebců koně Převalského. Zjistili jsme, že první skupina hřebců s nejnižším procentem inbreedingu – nižším než 15 %, má průměrně za rok 0,72 ks mláďete. Druhá skupina s prostřední hodnotou inbreedingu, vyšší než 15 % a zároveň nižší než 25 %, měla průměrně 0,53 ks mláďete za rok a poslední skupina s nejvyšším procentem inbreedingu, měla 0,44 ks mláďete za rok. Porovnání první a třetí skupiny nám vyšlo vysoce průkazné, a to na hladině významnosti $p = 0,0112$.

Jako další efekt, který se může podílet na počtu mláďat, jsme zkoumali vliv délky života. Zjistili jsme, že hřebci s délkou života mezi 8 až 11 lety měli v průměru 0,34 mláděte. Hřebci, kteří žili 11,1 až 15 let měli v průměru 0,63 mláděte za rok a poslední skupina s nejdelší délkou dožití, a to 15 a více let, měli 0,68 mláděte na jeden rok života hřebce. Byla porovnána první skupina se skupinou druhou a třetí. Obě tyto porovnání nám vyšla vysoce průkazná. Při porovnání první a druhé skupiny byla hodnota průkaznosti $p = 0,0199$ a u porovnání první skupiny se třetí byla průkaznost $p = 0,0017$.

Opět jsme zkoumali vliv nezávisle proměnné – rok narození a místo narození. Zjistili jsme, že hřebci narození před rokem 1980 měli zhruba 0,6 mláděte za rok a hřebci narození po roce 1980 měli 0,52 mláděte.

Posledním efektem, který jsme do sledování zahrnuli, bylo vyhodnocení vlivu místa narození hřebců (Askania vs. zoologické zahrady). Základní statistické výpočty ukázaly neprůkazné rozdíly mezi oběma lokalitami. Konkrétně hřebci, kteří se narodili v Askanii, měli v průměru 0,53 mláděte za rok a hřebci narození v zoologických zahradách měli 0,67 mláďat za rok. Nebyl tedy zjištěn průkazný rozdíl v počtu mláďat u otců narozených v Askanii a v zoologických zahradách.

Tab. č.3: Základní statistické výpočty pro počet mláďat za rok života u koně Převalského

	počet mláďat za rok života									
	Fx (%)			Délka života (v letech)			Rok narození		Místo narození	
	1 ≤15	2 15,1 - 25	3 ≥ 25,1	1 8-11	2 11,1-15	3 15,1+	1 1980	2 1980+	1 Askania	2 ZOO
průměr	0,72	0,53	0,44	0,34	0,63	0,68	0,6	0,52	0,53	0,67
Min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Max	3,24	3,32	3,48	3,13	3,48	3,24	3,48	3,32	3,32	3,48
STD.	0,8615	0,7335	0,7139	0,6218	0,8497	0,8038	0,835	0,7349	0,7503	0,8976
počet (n)	109	102	129	108	96	136	139	201	283	57
P	1-3 = 0,0112			1-2= 0,0199; 1-3= 0,0017			n.s.		n.s.	

3.2.2 Výpočet č.2 GLM analýza s efekty

Všechny efekty byly opět zhodnoceny pomocí GLM analýzy. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 4.. Byl zkoumán vliv nezávisle proměnných – Fx, délka života, místo narození a rok narození – na závisle proměnnou, a to počet mláďat za rok života hřebce. Vliv nezávisle proměnných na závisle proměnnou jsme pozorovali na hodnotách LS meaningu.

Prvním sledovaným efektem byl koeficient inbreedingu. První skupina s nejnižším procentem inbreedingu ($Fx = \leq 15\%$) má hodnotu LS průměru 0,86. Skupina druhá, s hodnotou koeficientu inbreedingu více než 15 % a méně než 25 %, měla hodnotu LSM 0,63 a poslední skupina, s koeficientem inbreedingu vyšší než 25 %, měla hodnotu LSM 0,46. Při porovnání první a třetí skupiny, tedy hřebců s nejnižším a nejvyšším inbreedingem, byly

zjištěny vysoce průkazné rozdíly na úrovni $p = 0,0089$. Tendence snižování počtu mláďat se zvyšujícím se koeficientem inbreedingu je zřejmá také z grafu č.3. Z grafu můžeme vyvodit, že vliv nezávisle proměnné – inbreedingu, na závisle proměnnou – počet mláďat za rok, je zásadní. Skupina zvířat s nejnižším procentem inbreedingu – skupina označena číslem 1 - má lehce přes 0,8 mláďat za rok a skupina s nejvyšším procentem inbreedingu, označena číslem 3, má v průměru méně než 0,5 mláděte za rok.

Dalším sledovaným efektem byla délka života hřebců. Hodnota LS průměru v první skupině hřebců s nejnižším věkem dožití, byla 0,43. S průměrným věkem dožití, více než 11 let a méně než 15, byla hodnota LSM 0,73 a v poslední skupině jedinců, kteří se dožili více než 15 let, byla hodnota LSM 0,74. Porovnali jsme spolu všechny skupiny a zjistili jsme, že mezi první a druhou skupinou jsou statisticky průkazné rozdíly ($p = 0,0172$); statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn také mezi první a třetí skupinou ($p = 0,0014$). Délka života se tak ukazuje být významným faktorem, ovlivňujícím průměrný počet mláďat za rok.

Dalšími zkoumaným efektem byl rok narození. Hřebců, narozených před rokem 1980, byla hodnota LSM 0,69 a u jedinců, narozených po roce 1980, byla hodnota LSM 0,61. Obě hodnoty jsme porovnali a vyšly nám statisticky průkazný rozdíl ($p = 0,0203$). Tedy i rok narození je faktorem, který ovlivňuje počet mláďat.

U poslední nezávisle proměnné – místa narození, jsme zjistili, že pokud se hřebci narodili v Askanii, měli hodnotu LSM 0,53 a hřebci narození v zoo, hodnotu 1. Po porovnání nám vyšly výsledky jako neprůkazné.

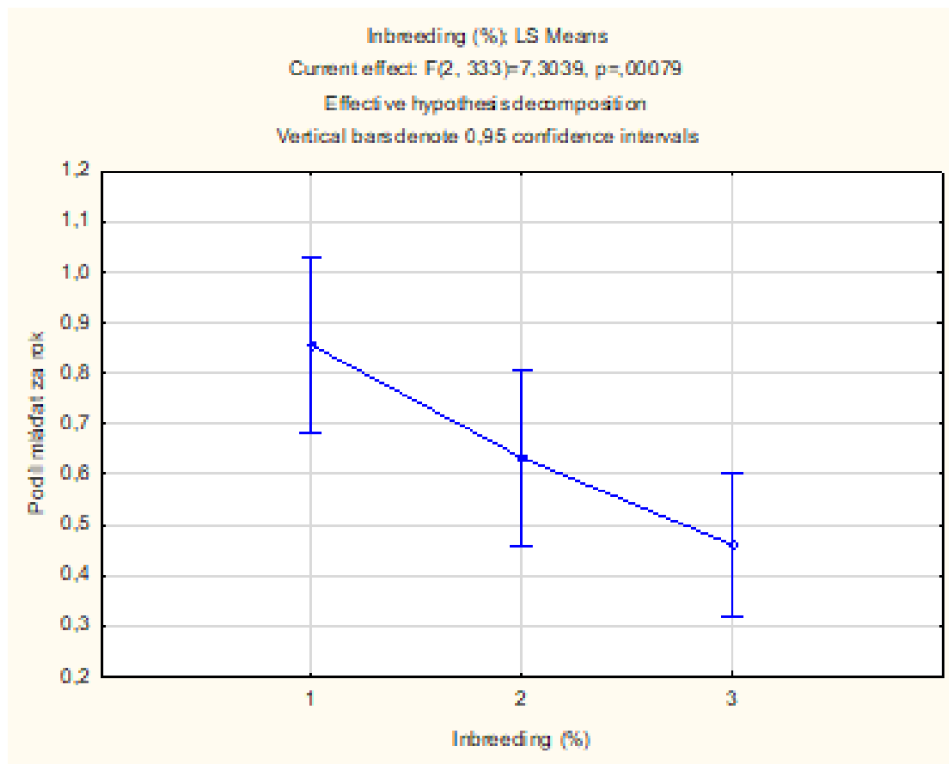
Hodnoty vlivu nezávisle proměnné Fx na závisle proměnnou počet mláďat za rok života jsme vynesli do grafu (viz graf. č. 3).

Následně jsme sestrojili regresní přímku, podle vypočtené regresní rovnice a s ní jsme sestrojili graf znázorňující regresní korelaci (viz graf č. 4). Z regresní přímky je patrné, že pokud dojde ke zvýšení Fx o 1 % bude se také snižovat průměrný podíl počtu mláďat / délka života a to o 0,012 hříbete.

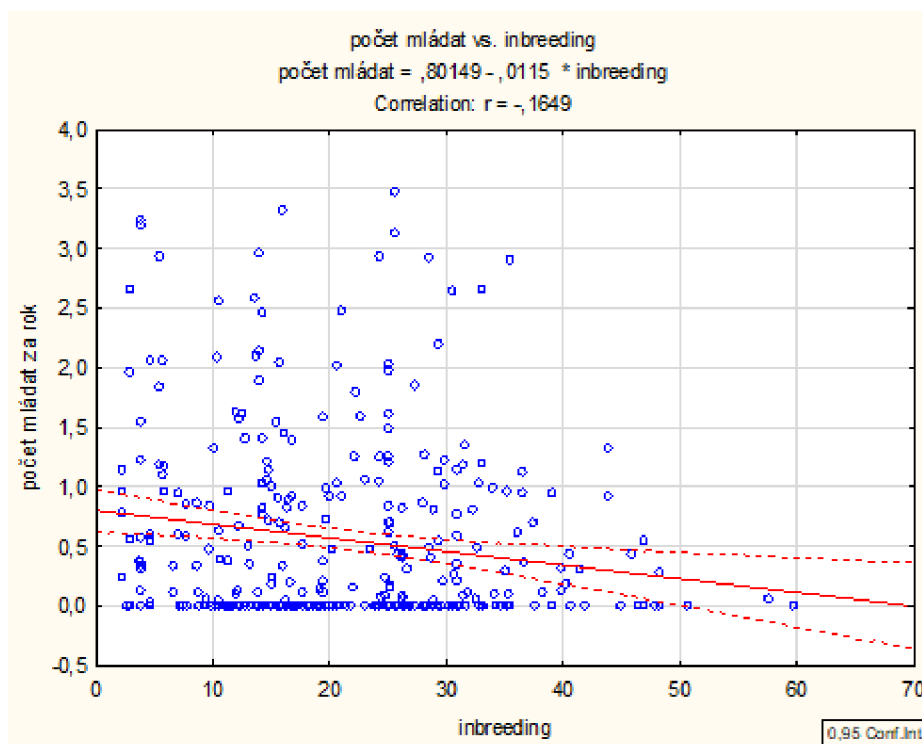
Tab. č. 4: Vliv sledovaných efektů na počet mláďat za rok života u hřebců koně Převalského metodou GLM (sledované efekty: Fx; délka života; rok narození; místo narození)

	počet mláďat za rok života									
	Fx (%)			Délka života (v letech)			Rok narození		Místo narození	
	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2
		15,1 -		8-11	11,1-	15,1 +	1980	1980+	Askania	ZOO
	≤15	25	≥ 25,1							
LSM	0,86	0,63	0,46	0,43	0,73	0,74	0,69	0,61	0,53	1
± SD	0,089	0,0891	0,0711	0,0863	0,862	0,782	0,0837	0,0633	0,46	0,105
počet (n)	109		129	108	96	136	139	201	283	57
P	1-3= 0,0089			1-2=0,0172; 1-3=0,0014 2-3=			1-2= 0,0203		n.s.	
					n.s.					

Graf č. 3: Vliv inbreedingu na počet mláďat za rok u hřebců koně Převalského (výpočet metodou GLM)



Graf č. 4: Regresní vztah počtu mláďat a koeficientu inbreedingu u koně Převalského



4. DISKUSE

Zkoumala jsem vliv několika efektů na počet mláďat u hřebců koně Převalského. Efekty, které byly zkoumány byly následující: procento inbreedingu, délka života hřebců, místo a rok narození. Po sériích výpočtů, jsem zjistila, že míra (%) inbreedingu prokazatelně negativně ovlivňuje plodnost samců. Konkrétně jsem zjistila, že při zvyšujícím se procentu inbreedingu klesá počet mláďat za rok hřebce. Dále mohu konstatovat, že mé výsledky ukázaly obecnou tendenci – se zvyšováním inbreedingu se snižuje plodnost.

Tímto tématem se zatím žádný autor u hřebců koně Převalského nezabýval, proto svou diskusi zaměřím na vyhodnocení vztahu inbreedingu a plodnosti u jiných živočišných druhů. Jak bylo předesláno ve studiích De Boer et al. 2018 a Fitzpatrick et al. 2009, je problém se studiem inbreedingu obecně. Ve studii Fitzpatrick et al. z roku 2009 autoři uvádějí, že mechanismy, jakými inbreeding ovlivňuje plodnost, nejsou ještě úplně známy. Jedním z mechanismů může být právě snižování počtu spermií v ejakulátu samců (Fitzpatrick et al 2009). Vědci, kteří se zabývají tímto tématem, se odkazují na evoluční trend. Inbreeding působí na plodnost samců přímo, přímo působí na jejich fitness a jsou pod větším evolučním tlakem než samice (Malet 2011; Vega-Trejo et al. 2022). Tento vztah byl vyhodnocen u řady živočišných druhů a obecně můžeme říct, že většina autorů se shoduje v tom, že s narůstajícím inbreedingem se obecně plodnost zhoršuje. Jako příklad můžeme uvést studii Eldik et al. 2006 na Shetlandských ponny. V této studii bylo zkoumáno, zda má inbreeding nějaký vliv na motilitu a počet spermií v ejakulátu. Studie byla prováděna na 285 koních v letech 1992–1997. Bylo zjištěno následující. Dvouprocentní koeficient inbreedingu je s vysokou mírou pravděpodobnosti ($p < 0,001$) prokazatelně spojen se snížením motility a počtu spermií v ejakulátu. Dále bylo zjištěno, že při dosažení koeficientu inbreedingu 2,5 %, se efekt snížené motility spermií a jejich celkový počet v ejakulátu začíná plně projevovat (Eldik et al. 2006).

Další studie, která se zabývala rozdílným působením inbreedingu na různé druhy živočichů byla provedena Johnem Fitzpatrickem a Johnatanem Evansem v roce 2009. V této studii se autoři zaměřovali na ohrožené druhy savců jako jsou: panda velká (*Ailuropoda melanoleuca*), ocelot velký (*Leopardus pardalis*), jaguár americký (*Panthera onca*), lev perský (*Panthera leo leo*), ocelot dlouhoocasý (*Leopardus wiedii*) a další. Oproti těmto savcům stáli savci, jejichž stavy ve volné přírodě nespádají do kategorie ohrožení, a to například králík evropský (*Oryctolagus cuniculus*) nebo kočka domácí (*Felis catus*). Celkově použili dvacet druhů savců. Konkrétně zde zjišťovali, zda savci, kteří patří do skupiny ohrožených budou mít problémy s heterozygotností. Snižování heterozygotnosti bylo připisováno zvyšujícímu se procentu inbreedingu a snižování počtu heterozygotních jedinců byly připisovány problémy s rozmnožováním a celkovou vitalitou. Bylo zjištěno, že mezi ohroženými a neohroženými savci nejsou ve vztahu heterozygotnosti a kvalitou spermatu signifikantní rozdíly. Byl však dokázán pozitivní vztah heterozygotnosti a motility spermií. Tento vztah byl potvrzen s vysokou mírou pravděpodobností ($p=0,02$). Snížení heterozygotnosti bylo taktéž spojeno s abnormálnostmi u spermií. U tohoto vztahu byla negativní korelace. Opět byl závěr podpořen vysokou hladinou pravděpodobnosti ($p=0,04$). Výzkum celkově dokazuje náchylnost kvality spermií k inbreedingu. Důvodem jsou pravděpodobně samčí geny, které se podílejí na spermatogenezi a jsou přímo ovlivněny inbreedingem. Závěrem studie bylo dokázáno, že inbreeding je spojen s poklesem samčí reprodukční funkce. Inbreeding a s ním spojené reprodukční problémy tedy můžeme vnímat jako důležitý faktor pro projekty na záchranu ohrožených druhů savců, kde hraje reprodukce a schopnost přežití majoritní roli (Fitzpatrick & Evans 2009).

Další studie, která prokazuje významný vliv inbreedingu na kvalitu spermatu v ejakulátu, je studie Wild et al. 1983. V tomto případě bylo zkoumáno již dříve zmiňované vysoké procento inbreedingu u gepardů štíhlých (*Acinonyx jubatus*). Tento fenomén je pravděpodobně způsoben evolučním „efektem hrdla láhve“, kterým gepardi prošli v období Pleistocénu (O'Brien et al. 1989). V této studii bylo porovnáváno 18 samců geparda štíhlého (*Acinonyx jubatus*) z různých částí Afriky s 16 samci kočky domácí (*Felis catus*). První skupina pocházela z Transvaalu, což je historická provincie Jihoafrické republiky, která zanikla po roce 1994 (britannica.com). Druhá skupina pocházela z jihovýchodu Afrického kontinentu, konkrétně z Namibie. Poslední skupina měla původ hybridní. V rámci studie bylo od gepardů odebráno 40 vzorků spermatu. Jedinci zahrnutí v každé skupině museli mít stejnou tělesnou hmotnost a museli být podobného věku. Tyto vzorky byly porovnány se vzorky odebranými od samce kočky domácí (*Felis catus*). Bylo zjištěno, že gepardi mají inbrední pokles opravdu závažný. Rozdíl mezi počtem spermií v ejakulátu geparda a kočky domácí je obrovský. Zatímco samec kočky domácí má v ejakulátu $147 \pm 39,5$ milionů spermií na mililitr, tak samec geparda má pouze $14,5 \pm 1,8$ milionů na mililitr. Další zkoumanou složkou byla motilita spermií. U kočky domácí bylo pohyblivých ± 77 % spermií. U geparda pouze 54 %. Poslední zkoumanou složkou spermatu byly abnormality (defekty hlavičky, bičíku, akrosomu nebo střední části). V tomto případě bylo zjištěno, že gepardi mají až 71 % abnormalit na spermatických buňkách, zatímco samec kočky domácí má pouze ± 29 % abnormalit. Uvedené výsledky prokázaly zhoršenou kvalitu spermií u geparda štíhlého, což může být způsobeno právě malou genetickou variabilitou (Wild et al. 1983).

V další studii, která se zaměřovala na vliv inbreedingu na plodnost samců, zkoumali psy plemena anglického foxhonda. Pokoušeli se srovnat kvalitu šňat a připouštěných samců z inbredních a outbredních linií. Bylo připuštěno 14 outbredních samců k 544 outbredním samicím a z inbrední linie pocházeli 4 samci, kteří byli připuštěni k 51 samicím. Závěrem bylo dokázáno, že inbrední samci měli nižší kvalitu spermatu a oplodnění probíhalo s komplikacemi (Wildt et al. 1982).

Inbreeding byl významně studován také v oblasti chovu skotu, kde byl prokázán jeho negativní vliv nejen na reprodukci (Van Raden et al., 2006; Alvareza et al. 2005; Martikainen et al., 2018), ale také na produkci mléka (Thompson et al., 2000a, b; Miglior et al., 1995), zevnějšek (Croquet et al., 2006) a také na zdraví zvířat (Macedo et al., 2014). Výhodnost studia inbreedingu u skotu spočívá především v tom, že se jedná o velmi velkou populaci zvířat s dostatečně známým původem a také znalostmi o jejich produkci a reprodukci. Významně se zde také uplatňují biotechnologické metody, které umožňují studovat inbreeding také z těchto pohledů (Bezdiček et al., 2014). Vztah inbreedingu k reprodukci na straně samců (u býků) studovali Maximini et al. (2010). Autoři v této studii prokázali, že u býků s koeficientem inbreedingu 10 % se dá očekávat nižší objem ejakulátu o 1,5 ml; o $2,4 \times 10^9$ méně celkového počtu spermií a o 3 % menší pohyblivost spermií oproti neinbredním zvířatům. To vše celkově přispívá ke zhoršení reprodukce vlivem inbreedingu.

Studie na zubru evropském (*Bison bonasus*) Olech (2023) se zabírala podobným tématem jako má diplomová práce a počítala s podobnými efekty. Výzkum byl proveden na základě dat z plemenných knih. Do výzkumu se zahrnovali jedinci, kteří se narodili od roku 1946 do roku 2021. Celkově jich bylo 9500. Do výzkumu byli zahrnutí pouze jedinci, u kterých byl přesně znám jejich rodokmen. Do této studie byly kromě inbreedingu započítány efekty jako počet mláďat, období rození mláďat a délka přežití. Jedinci byli rozděleni do dvou linií. Do genetické line LC a LB. Do linie LC – linie nížino – kavkazská, bylo zahrnuto 5441 zubrů a do linie LB – linie nížinná, bylo zahrnuto 1227 kusů. Hlavním cílem studie bylo zjistit, zda výše inbreedingu nějak působí na přežití telat prvního měsíce po narození. Bylo zjištěno, že vliv je sice negativní, ale ne do takové míry, jak se předpokládalo ($p=0,051$).

Linie LC má nízkou míru inbreedingu, protože bylo zjištěno, že plně inbrední zvířata mají pouze 50% šanci na přežití prvního měsíce života. Ale hodnota u LB linie byla velmi vysoká. V této linii můžeme vidět zajímavý paradox. Zvířata, která mají vysokou hladinu inbreedingu mají až 6x vyšší pravděpodobnost, že přežijí první měsíc života než zvířata s nízkou hladinou inbreedingu. V obou liniích byl zaznamenán nárůst inbreedingu. Rychleji inbreeding roste u genetické linie LB, mělo by tedy docházet k daleko většímu počtu negativních efektů spojených s inbreedingem než u linie LC. Bylo zjištěno, že tomu tak ale není. Důvodem může být to, že populace u linie LB rostla velmi rychle a škodlivé alely mohly být tímto eliminovány. Dalším důvodem může být působení selekce, která působí proti škodlivým alelám a jedinci, kteří jsou postiženi touto alelou, jsou selekcí odstraněni. Selektce působí efektivněji u inbredních populací, které velmi rychle rostou – jako to mohlo být u linie LB (Olech 2023).

Z bezobratlých mohu jako příklad uvést studii Fox 2012, ve které je zkoumán vztah inbreeding – plodnost na dřevokazu zrnitém *Callosobruchus maculatus*. U něj bylo zjištěno, že inbreeding snižuje počet spermií v jeho ejakulátu (Fox et al. 2012).

V meta analytické studii Vega-Trejo et al. 2022, která se soustředila, mimo jiné, na důkazy působení inbreedingu na inbrední depresi – tzn. pokles heterozygotnosti. Vlivy inbreedingu byly v této studii zkoumány na 47 druzích živočichů. Z toho bylo asi 70 % hmyzu. Zbytek zkoumané skupiny tvořili Nematoda, Molusca, Arthropoda a Chordata. Kromě inbreedingu byly do výzkumu zahrnuty i další efekty. Celkem těch efektů bylo 321. 153 efektů bylo použito na samice a 168 na samce. 37 efektů poté použili vědci pro obě pohlaví společně. Většinou brali zřetel jen na zvířata, která měla vyšší inbreeding než 0,25. Inbreeding a jeho vliv na pohlavní rozmnožování se zkoumal dohromady na 138 efektech. Bylo prokázáno působení inbreedingu u všech testovaných živočichů. Byl také prokázán malý rozdíl mezi působením na pohlaví. V této studii působil inbreeding více na rozmnožovací funkci samic. Tento výsledek byl prokázán s vysokou hladinou pravděpodobnosti ($p=0,041$). Byla zjištěna jasná korelace mezi koeficientem inbreedingu a inbrední depresí u všech testovaných živočichů se všemi efekty (Vega – Trejo et. al 2022). Díky této studii můžeme opět vidět další důkaz působení inbreedingu na plodnost samců i samic.

Ve studii De Boyer et al. z roku 2018 bylo zjištěno, že inbreeding má jiný vliv na samce a na samice. Studie byla prováděna po dobu 3 let na 78 samcích a 73 samicích kanára divokého (*Serinus canaria*). Byly porovnány výsledky páření skupiny 40 outbredních samců s 39 outbredními samicemi se skupinou s inbredními zástupci. V této skupině bylo 38 samců a 39 samic. Studie probíhala po více generací. Výsledkem bylo zjištění, že na samce tohoto druhu nemá inbreeding vliv, ale na samice, které pocházely z inbredního chovu je vliv patrný. U těchto samic docházelo k rychlejší reprodukční senescenci než u samic, které inbrední nebyly. Tato interakce mezi inbreedingem a reprodukční senescencí byla zjištěna s vysokou hladinou pravděpodobnosti ($p = 0,022$). Samice měly velký reprodukční propad v kvalitě vajec mezi prvním a druhým rokem měření. U samců nebyly rozdíly mezi inbrední a outbrední skupinou signifikantní (De Boyer et al. 2018). Tato studie nám dokazuje, že u každého druhu se vliv inbreedingu liší.

Živočichové se proti inbreedingu brání různými způsoby. Jako základní mohu uvést vyhánění (odchod) mladých samců z rodinných skupin, jak se tomu děje u sociálních zvířat (Brock 1989). Jako příklad sociálních savců, kteří své mladé samce vyhánějí, mohu uvést smečky lvů, rodinné tlupy gibbonů, skupiny žiraf a další (přednášky z mammalogie, etologie). Dalším způsobem, jak omezit působení inbreedingu, je výběr partnera. Ve studii Madsen et al. 2020 je zkoumána izolovaná populace zmiije obecné (*Vipera berus*) ve Švédsku. Všichni jedinci si byli velmi příbuzní a byl zájem zjistit, zda může člověk nepříznivý vliv inbreedingu nějak zvrátit a takto izolovaným populacím pomoci. V roce 1992 bylo do populace přidáno 20

samců z jiných populací. Po zhruba 26 letech studia této populace, bylo zjištěno, že po přidání samců rapidně vzrostla diverzita genofondu mláďat a zvýšila se jejich životaschopnost. Bylo tedy dokázáno, že samice si vybírají spíše samce, kteří přišli z populací jiných a byl pro tento jev zaveden pojem kryptický samičí výběr (Madsen et al. 2020). V obdobné studii Keller et al. 1994 byla zkoumána izolovaná populace strnadce zpěvného (*Melospiza melodia*). Malá populace těchto ptáků byla po 15 let zkoumána na jednom z ostrovů v Britské Kolumbii. Již tak malá populace prošla za tuto dobu zkoumání dvěma drastickými poklesy a jednou sezónou úmrtnosti juvenilů. Při prvním poklesu zemřelo asi 18 % všech adultů a při druhém vymírání 11 %. Míra migrace z pevniny na tento ostrov byla velmi malá, avšak velmi důležitá. Bylo prokázáno, že samice si selektivně vybírají k páření méně inbrední samce. Prokázalo se to při již výše zmiňovaných drastických poklesech, kdy přežili jedinci, kteří měli velikost inbreedingu co možná nejnižší (Keller et al. 1994).

Z výsledků mé diplomové práce a ze studií uvedených v diskusi můžeme vidět, že inbreeding má vliv na plodnost samců a samic mnoha živočišných druhů. Celkově můžeme říct, že inbreeding působí na každý živočišný druh jinak. Na některé živočišné druhy působí přímo na samce a na jiné na samice, a někde nevidíme působení vůbec, nebo jej můžeme pozorovat až na další generaci (Trejo et al. 2022; De Boyer et al. 2018). Dále můžeme podotknout, že inbreeding je v mnoha ohledech pro genofondy zvířat velmi škodlivý a může jim způsobit mnoho potíží a zvířata se proti němu intuitivně brání (Keller et al. 1994; Madsen et al. 2020). Avšak je to často jediný způsob, jak se ve volné přírodě zachovat existence druhu zejména pokud projde „efektem hrdla láhve“ nebo dojde k dramatickému poklesu způsobenému z jiných příčin, jako je například člověk (lov, odlesňování). Jako příklad mohu uvést kromě koně Převalského, již dříve zmíněného geparda štíhlého nebo zubra evropského. Je to také způsob, který si přisvojili šlechtitelé k dosažení určité požadované vlastnosti u koní, krav, psů a celkově domestikovaných zvířat (Vostrá – Vydrová et al. 2016; Klemetsdal 1990; McGreevy 2007; Berry 2018).

Problematiku inbreedingu chápu jako velmi komplexní a složitou. Myslím si tedy, že je tedy velmi žádoucí pokračovat ve zkoumání a ve snaze plně pochopit tento mechanismus a všechny jeho efekty a dopady.

5. ZÁVĚR

U mnoha druhů zvířat se v souvislosti s inbreedingem setkáváme s problémy způsobenými snižováním heterozygotnosti. V mé diplomové práci jsem se snažila zjistit, zda inbreeding nějakým způsobem působí na plodnost samců koně Převalského. Tento druh savce jsem zkoumala kvůli skutečnosti, že je velká snaha jej navrátit do volné přírody a množství jedinců, které momentálně máme, je původně z desítky přeživších jedinců, kteří byli uchováni v zoologických zahradách a parcích šlechty. Po provedení dvou analýz jsem zjistila, že inbreeding ovlivňuje velmi výrazně množství mláďat, které je samec koně Převalského schopen zplodit za jeden rok. Analýzu, jako je tato, ještě nikdo na tento druh savce neprovedl, ve své diskusi jsem se tudíž zaměřila na srovnání s jinými studii zaměřenými na vliv inbreedingu v reprodukci zvířat. Zjistila jsem, že v závislosti na druhu se působení inbreedingu liší. U některých druhů živočichů závisí i na pohlaví. Celkově je inbreeding pro živočichy genetický problém, kterému se snaží různými metodami při pohlavním rozmnožování vyhnout. U některých druhů savců například dochází k vyhánění dospívajících samců ze skupin (lvi, koně Převalského, žirafy Rothschildovy..). U dalších dochází k selekci outbredních spermií na buněčné úrovni, kdy si vajíčko ke svému oplodnění spermie příbuzného jedince nevybere. V mnoha případech je ale inbreeding jedinou možností, jak se může druh zachránit před vyhynutím, a tak na tuto riskantní metodu zvířata přistoupí, jak můžeme vidět například právě u koně Převalského, nebo třeba geparda či bizona. Proto je určitě žádoucí fenomén inbreedingu blíže a dlouhodobě studovat.

6. ZDROJE

Alvareza R. H., Gualberto M. V., Carvalho J. B. P. & Binelli, M. (2005) Effects of inbreeding on ovarian responses and embryo production from superovulated Mantiqueira breed cows, *Theriogenology*, 2005, 64, 1669-1676.

Berry D. P. (2018) Symposium review: Breeding a better cow—Will she be adaptable? 1. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3665–3685

Bezdiček J. (2023) Relationship between inbreeding and the health of animals. *Cattle Research*

Bezdiček J., Stádník L., Makarevich A., Kubovičová E, Louda F., Hegedüšová Z., Holásek R., Beran J. & Nejdlová M. (2014) Effect of inbreeding on yield and quality of embryos recovered from superovulated Holstein cows, *Turk J Vet Anim Sci*. 2014, 38, 681 – 685.

Burrow H. M. (1998). The effects of inbreeding on productive and adaptive traits and temperament of tropical beef cattle. , 55(3), 0–243

Croquet C., Mayeres P., Gillon A., Vanderick, S. & Gengler N. (2006) Inbreeding Depression for Global and Partial Economic Indexes, Production, Type, and Functional Traits. *J. Dairy Sci.*, 89, 2257–2267.

Clutton-Brock T. (1989) Female transfer and inbreeding avoidance in social mammals. *Nature* 337, 70–72

De Boer R. A., Eens M., & Müller W. (2018) Sex – specific effects of inbreeding on reproductive senescence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285 (1879)

Fitzpatrick J. L. & Evans J. P. (2009). Reduced heterozygosity impairs sperm quality in endangered mammals. *Biology Letters*, 5(3), 320–323.

Fox C., Xu J., Wallin W. G. & Curtis C. L. (2012) Male inbreeding status affects female fitness in a seed-feeding beetle. *Journal of Evolutionary Biology*, 25: 29-37

Jakubec V., Louda F., Bezdiček J. (2012): Šlechtění a management genetických zdrojů zvířat. 1. vydání. Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Rapotín. ISBN 978-80-87592-10-6

Kaczensky P., Enkhsajkhan N., Gandbaatar O. & Walzer C. (2008) The Great Gobi B Strictly protected area in Mongolia – refuge or sink for wolves *Canis lupus* in the Gobi. *Wildlife Biology*, 14: 444-456

Keller L. F., Arcese P., Smith J. N. M., Hochachka W. M. & Stearns S. C. (1994) Selection against inbred song sparrows during a natural population bottleneck. *Nature*, 372(6504), 356–357

Klemetsdal G. (1990) Breeding for performance in horses – a review *Proceedings of the 4th World Congress on Genetics applied to Livestock Production, Edinburgh 23-27 July 1990. XVI. Poultry, fish and horse genetics and breeding, growth and reproduction, immune response and disease resistance. 1990 pp.184-193 ref.87*

Kuzmina T. A., Kharchenko V. A., Zvegintsova N. S., Zhang L., Liu J. (2013). Strongylids (Nematoda: Strongylidae) in two zebra species from the “Askania-Nova” Biosphere Reserve, Ukraine: biodiversity and parasite community structure. *Helminthologia*, 50(3), 172–180

Kůs Evžen (2008): Návraty divokých koní (II.) *Trojský koník; číslo 1; strana 2 – 5*

Macedo A., Bittar J., Bass P., Ronda J., Bittar E., Panetto J., Araujo M., Santos R. and Martins-Filho O.(2014) Influence of endogamy and mitochondrial DNA on immunological parameters in cattle. *BMC Veterinary Research* 10, 79

Madsen T., Loman J., Anderberg L., Anderberg H., Georges A. & Ujvari B. (2020) Genetic rescue restores long-term viability of an isolated population of adders (*Vipera berus*). *Current Biology*, 30(21), R1297–R1299

Mallet M. A.; Chippindale, A. K. (2011). Inbreeding reveals stronger net selection on *Drosophila melanogaster* males: implications for mutation load and the fitness of sexual females. *Heredity*, 106(6), 994–1002

Margulis S. W. & Walsh A. (2002) The effects of inbreeding on testicular sperm concentration in *Peromyscus polionotus*. *Reprod Fertil Dev.* 14 (1-2): 63-7

Martikainen K, Sironen A. and Uimari P. (2018) Estimation of intrachromosomal inbreeding depression on female fertility using runs of homozygosity in Finnish Ayrshire cattle. *Journal of Dairy Science* 101, 11097–11107

Maximini L., Fuerst-Waltl B., Gredler B. & Baumung R. (2010) Inbreeding Depression on Semen Quality in Austrian Dual-Purpose Simmental Bulls. *Reprod Dom Anim* 46

McGreevy P. (2007) Breeding for quality of life. *Animal Welfare* 16 (S1), 125-128

Miglior F., Burnside E. B. & Kennedy B.W. (1995) Production Traits of Holstein Cattle—Estimation of Nonadditive Genetic Variance Components and Inbreeding Depression. *J. Dairy Sci.*, 78, 1174–1180.

O'brien S. J., Wildt D. E., Goldman D., Merrill C. R. & Bush M. (1989) The cheetah is depauperate in genetic variation. *Science* 459-62.

Olech W. (2023) The Relationship between Inbreeding and Fitness Is Different between Two Genetic Lines of European Bison. *Diversity* 15, 368

Pereladova O., Sempééré A., Soldatova N., Dutov V., Fisenk G. & Flint V. (1999) Przewalski's horse – adaptation on semi-wild life in desert conditions. *Oryx* 33 (1), 47-58.

Pusey A. & Wolf M. (1996). Inbreeding avoidance in animals. , 11(5), 0–206.

Rals K. & Ballou J. (1989) Effect of inbreeding on juvenile mortality in some small mammal species *Lab Anim. Apr*; 16(2): 159-66

Reed D.H., Lowe E.H., Briscoe D. A., et al. (2003) Inbreeding and extinction: Effects of rate of inbreeding. *Conservation Genetics* 4, 405-410

Rokouei M., Vaez Torshizi R., Moradi Shahrabak M., Sargolzaei M. & Sørensen A. C. (2010). Monitoring inbreeding trends and inbreeding depression for economically important traits of Holstein cattle in Iran. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 3294–3302

Thompson J. R., Everett R.W. & Hammerschmidt N.L., (2000a) Effects of Inbreeding on Production and Survival in Holsteins, *Journal of Dairy Science*, 83, 1856-1864

Thompson J. R., Everett R.W. & Wolf C.W. (2000b) Effects of Inbreeding on Production and Survival in Jerseys, *Journal of Dairy Science*, .83, 2131-2137

Van Eldik P., van der Waaij E. H., Ducro B., Kooper A. W., Shout T. A. E. & Colenbrander B. (2006): Possible negative effects of inbreeding on semen quality in Shetland pony stallions. *Theriogenology* 65 (6), 1159-1170

Van Raden P. M., Miller R H. (2006) Effects of nonadditive genetic interactions, inbreeding, and recessive defects on embryo and fetal loss by seventy days. *J Dairy Sci* 89: 2716–2721

Vega-Trejo R. de Boer, R. A. Fitzpatrick J. L. & Kotrschal A. (2022) Sex-specific inbreeding depression: A meta-analysis. *Ecology Letters*, 25, 1009– 1026

Vostrá-Vydrová H., Vostrý L., Hofmanová B., Krupa E. & Zavadilová L. (2016) Pedigree analysis of the endangered Old Kladruber horse population. *Livestock Science*, 185, 17–23.

Wildt D. E, Baas E. J., Chakraborty P. K., Wolfle T. L. & Stewart A. P. (1982). Influence of inbreeding on reproductive performance, ejaculate quality and testicular volume in the dog. , *17(4)*, 445–452.

Wildt D. E., Bush M., Howard J. G., O'Brien S. J., Meltzer, D., Van Dyk A., ... Brand D. J. (1983). Unique Seminal Quality in the South African Cheetah and a Comparative Evaluation in the Domestic Cat. *Biology of Reproduction*, 29(4), 1019–1025

Internetové zdroje:

nationalzoo.si.edu: Przewalski's horse [Online], (citováno 1.12.2022)

Dostupné z: <https://nationalzoo.si.edu/animals/przewalskis-horse>

Temata.rozhlas.cz: Kůň Převalského znovu zapomenut? [Online], (citováno 1.12. 2022)

Dostupné z: <https://temata.rozhlas.cz/kun-prevalskeho-znovu-zapomenut-7857114>

nationalgeographic.com: Przewalski's Horse [Online], (citováno 2.12.2022)

Dostupné z: <https://www.nationalgeographic.com/animals/mammals/facts/przewalskis-horse>

zooliberec.cz: Zvířata u nás – kůň Převalského [Online], (citováno 2.12.2022)

Dostupné z: <https://www.zooliberec.cz/zvirata-u-nas/kun-prevalskeho/>

zoopraha.cz: Kůň Převalského – ohrožení a záchrana [Online], (citováno 2.12.2022)

Dostupné z: <https://www.zoopraha.cz/navrat-kone-prevalskeho-do-mongolska/kun-prevalskeho/13103-kun-prevalskeho-ohrozeni-a-zachrana>

wildcamels.com: Mongolia [Online], (citováno 17.02.2023)

Dostupné z: <https://www.wildcamels.com/what-we-do/mongolia/>

wikiskripta.eu: Koeficient příbuznosti [Online], (citováno 20.02.2023)

Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Koeficient_p%C5%99%C3%ADbuznosti

zoopraha.cz: Lexikon zvířat – Kůň Převalského [Online], (citováno 09.03.2023)

Dostupné z: <https://www.zoopraha.cz/zvirata-a-expozice/lexikon-zvirat?d=192-kun-prevalskeho&start=192>

Britannica: Przewalski's horse [Online], (citováno 09.03. 2023)

Dostupné z: <https://www.britannica.com/animal/Przewalskis-horse>

Wikipedia.org: Askania-Nova [Online], (citováno 12.05.2023)

Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Askania-Nova>

Ukrainer.net: Askania-Nova [Online], (citováno 12.05.2023)

Dostupné z: <https://ukrainer.net/askania-nova/>

discover-ukraine.info: Askania- Nova [Online], (citováno 12.05. 2023)

Dostupné z : <https://discover-ukraine.info/places/southern-ukraine/kherson/58>

Britannica.com: Transvaal [Online], (citováno 27.05.2023)

Dostupné z: <https://www.britannica.com/place/Transvaal>

.