

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra genetiky a šlechtění**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na  
chromozomu X u plemene starokladrubský kůň na  
základě rodokmenových údajů**

**Diplomová práce**

**Bc. Kateřina Kadlecová  
Biotechnologie a šlechtění zvířat**

**prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D.**

**© 2024 ČZU v Praze**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na chromozomu X u plemene starokladrubský kůň na základě rodokmenových údajů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2024

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala rodinným příslušníkům a přátelům za jejich podporu a motivaci. Dále bych chtěla poděkovat svému vedoucímu panu prof. Ing. Lubošovi Vostrému, Ph.D. za jeho vedení v průběhu psaní diplomové práce, za jeho důkladnost a trpělivost během konzultací.

# Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na chromozomu X u plemene starokladrubský kůň na základě rodokmenových údajů

## Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá genetickou analýzou populace starokladrubských koní (STKL) s důrazem na koeficient příbuzenské plemenitby na chromozomu X. V úvodu je diskutována historie chovu STKL a vývoj pohlavních chromozomů. Dále je představen význam genetické variability a koeficientu inbreedingu v genetickém managementu plemen zvířat. Hlavním cílem práce je shromáždit informace o genetické struktuře populace STKL, vyhodnotit koeficient příbuzenské plemenitby na chromozomu X ( $F_x X_{ch}$ ) v porovnání s autozomálními chromozomy ( $F_x$ ) a poskytnout základní informace pro genetický management a zachování tohoto plemene. Průměrný koeficient inbreedingu  $F_x$  se pro plemeno STKL mezi lety 1990 až 2017 pohyboval kolem 13 %. Střední hodnota  $F_x X_{ch}$  byla 0,0519, což naznačuje mírně pozitivní sklon. Naopak, průměrná hodnota proměnné  $F_x$  0,0683 může indikovat vyšší genetickou variabilitu v autosomálních chromozomech. Při porovnání genetické variability u  $F_x X_{ch}$  mezi bělouši a vraníky byla průměrná hodnota  $F_x X_{ch}$  pro bělouše nižší než u vraníků. Analyzováním korelace mezi průměry koeficientů  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  byla zjištěna středně silná pozitivní korelace, což podporuje hypotézu o vlivu příbuzenské plemenitby na genetickou variabilitu. Nicméně, testování statistické významnosti rozdílu mezi průměry  $F_x X_{ch}$  u běloušů a vraníků neprokázalo statisticky signifikantní rozdíl. Získané údaje poukazují na složitost vztahů mezi příbuzenskou plemenitbou a genetickou variabilitou a naznačují potřebu dalšího výzkumu pro hlubší porozumění těmto mechanismům. Výsledky práce poskytují podrobné informace o genetické diverzitě STKL a vývoji koeficientu příbuzenské plemenitby na chromozomu X. Diskuze se zaměřuje na interpretaci výsledků a jejich význam pro další genetický management plemene. Celkově tato práce přináší nové poznatky o genetické struktuře STKL a přispívá k lepšímu porozumění této problematice v kontextu genetického managementu plemen zvířat.

**Klíčová slova:** genetická diverzita, pohlavní chromozom, kůň

# Estimation of inbreeding for X-chromosome in Old Kladruber horse based on pedigreed data

## Summary

This thesis focuses on the genetic analysis of the population of Old Kladruber horses (STKL), with an emphasis on the coefficient of inbreeding on the X chromosome. The introduction discusses the history of breeding STKL and the development of sex chromosomes. Furthermore, it introduces the importance of genetic variability and the coefficient of inbreeding in the genetic management of animal breeds. The main objective of the thesis is to gather information about the genetic structure of the STKL population, evaluate the coefficient of inbreeding on the X chromosome ( $F_x X_{ch}$ ) compared to autosomal chromosomes ( $F_x$ ), and provide basic information for the genetic management and preservation of this breed. The average coefficient of inbreeding  $F_x$  for the STKL breed between 1990 and 2017 ranged around 13%. The mean value of  $F_x X_{ch}$  was 0.0519, indicating a slightly positive trend. Conversely, the average value of the variable  $F_x$  0.0683 may indicate higher genetic variability in autosomal chromosomes. When comparing the genetic variability of  $F_x X_{ch}$  between white variant and black variant, the average value of  $F_x X_{ch}$  for white one was lower than for black one. By analyzing the correlation between the means of the coefficients  $F_x X_{ch}$  and  $F_x$ , a moderately strong positive correlation was found, supporting the hypothesis of the influence of inbreeding on genetic variability. However, testing the statistical significance of the difference between the means of  $F_x X_{ch}$  for white variant and black variant did not show a statistically significant difference. The obtained data indicate the complexity of the relationships between inbreeding and genetic variability, suggesting the need for further research for a deeper understanding of these mechanisms. The results provide detailed information on the genetic diversity of STKL and the development of the coefficient of inbreeding on the X chromosome. The discussion focuses on interpreting the results and their implications for further genetic management of the breed. Overall, this work brings new insights into the genetic structure of STKL and contributes to a better understanding of this issue in the context of genetic management of animal breeds.

**Keywords:** genetic diversity, sex chromosome, horse

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Starokladrubský kůň (STKL)</b> .....	<b>3</b>
3.1.1	Historie chovu .....	3
3.1.1.1	Kmeny.....	3
3.1.1.2	Rodiny.....	4
3.1.2	Plemenné znaky .....	4
3.1.2.1	Posouzení exteriéru.....	5
3.1.3	Plemenná kniha .....	5
3.1.4	Současný stav chovu .....	6
<b>3.2</b>	<b>Pohlavní chromozomy</b> .....	<b>7</b>
3.2.1	Evoluční vývoj pohlavních chromozomů .....	7
<b>3.3</b>	<b>Genom a karyotyp u koní</b> .....	<b>10</b>
<b>3.4</b>	<b>Genetická variabilita</b> .....	<b>12</b>
3.4.1	Polymorfismus .....	13
3.4.2	Molekulární markery .....	13
3.4.2.1	SNP .....	14
3.4.3	Mikrosatelity .....	15
3.4.4	Mitochondriální DNA (mtDNA).....	17
<b>3.5</b>	<b>Inbreeding</b> .....	<b>17</b>
3.5.1	Koeficient inbreedingu.....	18
3.5.2	Koeficient příbuznosti .....	19
3.5.3	Význam rodokmenu.....	20
3.5.4	Inbrední deprese (ID).....	23
<b>3.6</b>	<b>Odhad koeficientu inbreedingu</b> .....	<b>24</b>
3.6.1	Výpočet podle Wrighta (1922).....	25
3.6.2	Výpočet podle Hartla a Clarka (1989).....	25
3.6.3	Výpočet podle Ballou (1997).....	26
3.6.4	Matice příbuznosti .....	27
3.6.4.1	Znázornění matice A.....	27
3.6.4.2	Metoda podle Fernando a Grossman (1990).....	27
3.6.4.3	Genomická matice.....	29
<b>4</b>	<b>Metodika</b> .....	<b>1</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakteristika analyzovaných dat</b> .....	<b>1</b>

<b>4.2</b>	<b>Popis statistických metod</b> .....	<b>2</b>
4.2.1	Korelační analýza .....	2
4.2.2	T-test.....	3
<b>4.3</b>	<b>Příprava dat</b> .....	<b>3</b>
<b>4.4</b>	<b>Výpočet hodnot <math>F_{Xch}</math> a určení samic</b> .....	<b>3</b>
<b>4.5</b>	<b>Výpočet hodnot <math>F_x</math></b> .....	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>1</b>
5.1	Porovnání $F_{Xch}$ / $F_x$ .....	1
5.2	Porovnání bělouši / vraníci.....	3
5.3	Korelace pro $F_{Xch}$ a $F_x$ .....	4
5.4	T-test pro bělouše a vraníky .....	5
<b>6</b>	<b>Diskuze</b> .....	<b>6</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>10</b>
<b>8</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>11</b>



# 1 Úvod

Starokladrubští koně (STKL) jsou jedním z nejstarších chovaných plemen koní na světě, jejichž historie sahá až do druhé poloviny 16. století. Jejich popularita ve střední Evropě výrazně vzrostla v 18. století, kdy začaly být zakládány hřebčiny šlechtou (NH Kladruby nad Labem 2013). Plemeno starokladrubského koně se na území ČR chová již více než 400 let a během této doby se dokonale přizpůsobilo místním podmínkám. Stejně jako u většiny eukaryotických organismů, i u koní je jedno pohlaví heterogametické, což znamená, že má pár morfologicky odlišných chromozomů, zatímco druhé pohlaví je homogametické a má dva identické členy každého chromozomálního páru (Volobuev 2020).

Chromozomy X a Y jsou zapojeny do určování pohlaví u savců. Chromozom X si během evoluce udržuje většinu svých původních genů, zatímco chromozom Y prochází degenerací a ztrátou funkce genů, pravděpodobně kvůli absenci rekombinace (Gianaroli et al. 2013). Tato degenerace chromozomu Y je společným rysem mnoha taxonů a je pravděpodobně způsobena absencí rekombinace a následnou genetickou degradací (Bachtrog 2006).

Důležitým aspektem chovu koní je genetická diverzita, která je základem pro jejich adaptaci na změny prostředí. Genetická diverzita je založena na rozmanitosti genů, což zahrnuje nejen odlišné populace v rámci jednoho druhu, ale také rozdílné jedince v rámci konkrétní populace (Wilson 1992). Hodnocení genetické variability je klíčové pro správný management plemen koní, a proto se využívají různé statistické metody, jako je například analýza PCA nebo výpočet koeficientů inbreedingu (Wilmot et al. 2023).

Koeficienty inbreedingu jsou důležitými nástroji pro studium genetické variability a příbuznosti mezi jedinci. Tyto koeficienty lze vypočítat z rodokmenů, ale v dnešní době se často odhadují z dat genetických markerů, což je rychlejší a efektivnější metoda (Jinliang 2016). Znalost genetické variability a příbuznosti mezi jedinci umožňuje lepší pochopení historie plemen a optimalizaci jejich chovu pro účely zachování a ochrany (Gómez-Romano et al. 2013).

Analýza genetické variability a koeficientů inbreedingu je klíčová pro správný management chovu koní a zachování genetické diverzity v populacích. Výpočty těchto koeficientů pomocí moderních statistických metod a využití genetických markerů umožňují přesnější a efektivnější hodnocení genetické variability a příbuznosti mezi jedinci (Bjelland et al. 2013).

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Na základě rodokmenových údajů bude odhadnut koeficient příbuzenské plemenitby pro chromozom X u plemene starokladrubský kůň. Odhadnutý koeficient příbuzenské plemenitby pro chromozom X bude následně porovnán s odhadem koeficientu pro ostatní autosomální chromozomy.

Vědecká hypotéza: Koeficient příbuzenské plemenitby pro chromozom X vykazuje shodné hodnoty a vývoj jako koeficient příbuzenské plemenitby pro ostatní autozomální chromozomy.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Starokladrubský kůň (STKL)

Starokladrubský kůň je považován za ohrožený genetický zdroj, a proto je přístup k chovu velmi opatrný s cílem udržet všechny linie a rodiny v tradičním stylu barokního kočárového koně (Vostrá-Vydrová et al. 2016).

#### 3.1.1 Historie chovu

Starokladrubští koně (STKL) patří mezi nejstarší plemena koní chovaných na světě. Jejich chov je datován až do druhé poloviny 16. století. Hlavním záměrem bylo chovat koně pro císařský dvůr Habsburků. K tomuto účelu byli používáni starošpanělské koně, kteří byli importováni hlavně z italských hřebčínů. Pokles popularity chovu starošpanělského plemene na konci 18. a začátkem 19. století vedl k postupným změnám v chovatelském programu v hřebčíně Kladruby nad Labem. Starokladrubští a lipičtí koně byli chováni pro císařský dvůr ve Vídni s využitím staroitalské a starošpanělské krve jako "barokní" koně pro různé účely: starokladrubští koně sloužili jako kočároví koně a lipicáni jako jezdečtí koně (Vostrá-Vydrová et al. 2016).

Popularita plemene STKL stoupla ve střední Evropě v 18. století, kdy byly hřebčiny zakládány světskou i církevní šlechtou (NH Kladruby nad Labem 2013). Plemeno starokladrubského koně je na území ČR kontinuálně chováno více než 400 let. Během této doby se tak dokonale přizpůsobilo místním podmínkám (Machek & Roubalová 2006). Michal (1972) a Dušek (1992) uvádějí, že starokladrubský kůň má převážně španělské předky. Původem je navíc blízké příbuzný plemeni lipicán. Lipicán pochází z hřebčína v oblasti Lipizza, která leží na území dnešního Slovinska. Vznik plemene STKL je u nás spojován s oblastí polabské nížiny, kde se nachází hřebčín Kladruby nad Labem (Machek & Roubalová 2006), který byl založen již v roce 1579 císařem Rudolfem II. (Dušek, 1992).

##### 3.1.1.1 Kmeny

Původ starokladrubského koně lze vysledovat zpět k 8 otcům zakladatelům stejného počtu kmenů; tyto kmeny byly po svých zakladatelech pojmenovány: Generale, Generalissimus, Sacramoso, Napoleone, Solo, Favory, Siglavi Pakra, Romke a Rudolfo.

Mezi čistokrevné klasické kmeny (STKL) jsou řazeny Generale, Generalissimus, Sacramoso, Napoleone (italskošpanělské plemeno), Solo a Favory. Do čistokrevných neklasických kmenů patří Siglavi Pakra (lipické), Romke (fríské) a Rudolfo (lusitano). V roce 1922 došlo k zániku kmene Napoleone, současná populace je tedy rozdělena na 5 čistokrevných klasických kmenů a 3 čistokrevné neklasické kmeny.

Zástupci kmene Generale, Favory a Rudolfo jsou výhradně bělouši, kmeny Solo a Siglavi Pakra jsou vrané, kmen Romke převážně vraný, kmen Generalissimus a Sacramoso je rovnoměrně zastoupen oběma barevnými variantami (Šancová 2019).

### 3.1.1.2 Rodiny

Původ STKL lze vysledovat i ze strany matek od 8 zakladatelek čistokrevných klasických rodin a 7 zakladatelek čistokrevných neklasických rodin (Šancová 2019).

Jména a plemenné zastoupení zakladatelek rodin jsou zobrazeny v následující tabulce:

Tabulka 1: Přehled zakladatelek čistokrevných rodin podle Šancová (2019) – upraveno Kadlecová (2024).

Čistokrevné klasické rodiny							
Africa	Rava	Deflorata	Almerina	Sardinia	Ragusa	Ragusa	Madar VI.
STKL	STKL	dánskošpanělské	STKL	lipické	STKL	teplokrevné	lipické
Čistokrevné neklasické rodiny							
15 Narcis (I)	67 Xandra	154 Bárta	Favory Č3912	Dana (G) Č3934	292 Ritorna	Gita (G) Č399	
STKL	teplokrevné	orlovský klusák	STKL	STKL	teplokrevné	teplokrevné	

### 3.1.2 Plemenné znaky

Starokladrubští koně jsou v současné době chováni ve dvou variantách – vraníci a bělouši. Na rozdíl od vraníků, kde jsou do plemenitby povoleni pouze černě zbarvení jedinci, mohou být do plemenitby běloušů zařazeny i klisvy s hnědým či rezavým zbarvením.

Vraníci mají tmavošedě pigmentovanou kůži vyjma odznaků, které jsou růžové barvy. Výskyt bílých znaků je nežádoucí, ale menší bílé odznaky jsou akceptovatelné na hlavě a na spodní části končetin v oblasti kopyt. U běloušů se jedná o tzv. vybělující bělouše s tmavošedě pigmentovanou kůží. Hříbata se rodí s chlupovým pokryvem těla, který vykazuje základní barvy s různými odstíny a s odlišným stupněm prokvetlosti. Přípustné jsou bílé odznaky spojené s růžovou kůží (Řád plemenné knihy 2012).

Ačkoliv se jedná o stejné plemeno, zástupci obou zbarvení se od sebe exteriérově liší, přičemž většina rozdílů pramení z historicky rozdílného využití a šlechtění (Sobotková et al. 2006). Bělouši jsou ve srovnání s vraníky ušlechtilejší, s velmi výrazným podílem genů zděděných po starošpanělských předcích. Mají celoprofilový klabonos, který je díky tomu méně výrazný. V chovu vraníků se naopak projevil vliv okcidentálních genů norických koní. Klabonos je výraznější, u některých jedinců až neobvykle velký. S větší hlavou má vraník mj. válcovitý trup, často kratší, někdy obrácený krk a střechovitou zád' (Dušek 1992).

Sobotková et al. (2006) provedli hodnocení exteriéru u různých linií STKL. Po srovnání základních tělesných rozměrů zjištěných v rámci měření a jejich porovnání s požadavky řádu plemenné knihy uvádějí, že současná chovná populace běloušů i vraníků odpovídá požadavkům šlechtění. Jako jeden z faktorů ovlivňujících současný stav zmiňují sjednocení šlechtitelského

cíle pro bělouše i vraníky (mimo barevné varianty). Jakubec a Volenec (2003) již dříve uvedli, že sjednocení šlechtitelského cíle a vzájemné připárování bílé i vrané populace může poskytnout větší prostor ke šlechtění a menší riziko zvýšeného koeficientu příbuznosti.

### 3.1.2.1 Posouzení exteriéru

Kůň je člověkem využíván především pro svalovou práci. V porovnání s chovem jiných hospodářských zvířat má proto posuzování tělesné stavby koní odlišný význam vzhledem k jejich zaměření (Jakubec et al. 1996).

Při hodnocení exteriéru jsou u starokladrubských koní měřeny tři základní tělesné rozměry: kohoutková výška hůlková i pásková, obvod hrudníku a obvod holeně. Dále jsou zvířata zvážena a následně posuzována s pomocí lineárního popisu. K vyhodnocení každého znaku se používá numerická škála v rozpětí 1-9 bodů. Hodnotí se plemenný typ, pohlavní výraz a jednotlivé tělesné partie koně (Jakubec & Volenec 2003).

Dušek (2007) uvádí, že znalost funkčnosti tělesné stavby ve vztahu k výkonnosti s přihlédnutím k fyziologickým funkcím umožní vyvodit odpovídající závěry pro všechny fáze šlechtění včetně selekce. Posuzovatel by proto měl být obeznámen s anatomii koně a měl by umět posoudit, které znaky jsou důležité pro typ a výkonnost konkrétního zvířete. Zároveň by jeho úsudek neměl být ovlivněn subjektivními názory (Maršálek 2008).

### 3.1.3 Plemenná kniha

Plemenná kniha je vedena za účelem soustavného zdokonalování genetické úrovně chovaného plemene. Konečným cílem je zachování genetického zdroje původního plemene starokladrubských koní žijících na území ČR. Evidence plemenné knihy STKL je pod správou národního hřebčína Kladruby nad Labem (Dyková et al. 2010).

2553 , FAVORY FLORISA XXXI

Základní údaje	Popis	Výkonnost	Původ	Potomstvo
Pohlaví	hřebeček			
Plemeno	starokladrubský kůň			
Barva	s.Bel.			
Datum narození	1.4.2013			
UELN	203006447578213			
Linie	Favory (1779)			
Rodina	Favora (1963)			
Plemenná kniha HPK				
Datum zařazení	12.9.2018			
Datum vyřazení				
V chovu	ano			
Kůň v GZ	ano			
Výsledná třída - body	7.9			
Body za TYP	7.6			
Body za EXTERIER	7.57			
Body za VYKONNOST	8.39			
Majitel	FAVORY Horses, s.r.o., Netvořice, Chrástfany,			
Chovatel	Hřebčín FAVORY.spol.s.r.o., Netvořice,			
Hřebec v seznamu hřebců pro rok	2023			
Hřebec v seznamu hřebců - příp. stanice	Benice, Favory Horses s.r.o., Benice 1, Chrástfany, 257 44, 724928401 - pi.Klímová, Ben. kraj; STČ			
Foto				
			841 Favory Erusa XV 1990, Bel. 175,165,195,21,5	724 Favory -1, Favory IV -K 1953, Bel. 175,166,210,22,8 212 Favory IV -50 1976, Bel. 176,166,207,23,0 836 Sacramoso XXXIII 1961, Bel. 172,161,210,21,2
			1423 Favory Falstra XXXVI 2001, s.Bel. 175,167,200,22,0	289 Rudolfo, Rudolfo 1968, sv.s.Bel. 176,158,199,24,2 Č 1188 Rusalka (Ru) 1985, smil. Bel. 177,166,198,21,5 42 Emice (Gss XXXVII) 1976, Bel. 175,164,211,22,0
			1352 Falstra 1992, Bel. 176,166,200,22,5	724 Favory -1, Favory IV -K 1953, Bel. 175,166,210,22,8 274 Favory IV -37 s.v., Favory XIII 1974, Bel. 171,161,188,21,0 729 Legion 1956, Bel. 174,164,205,20,5
				Č 932 Siza 1983, s.Bel. Solo Magnifica VII 1975, Vr. 178,168,200,22,3 Č 204 Granada 1972, s.Bel.

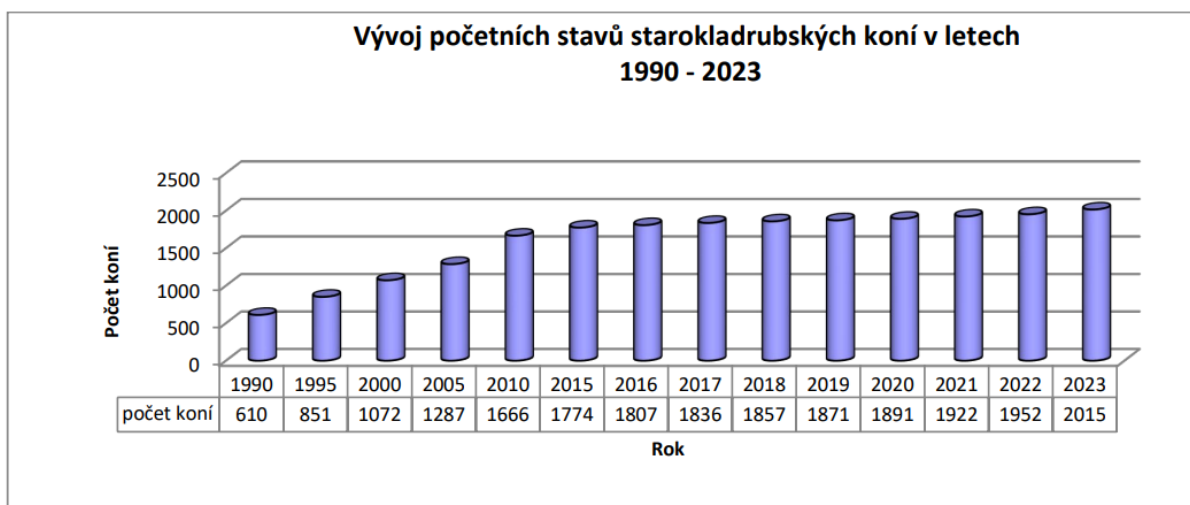
Obrázek 1: Ukázka zápisu v plemenné knize STKL (Favory Florisa XXXI – hřebeček)

Řád plemenné knihy (2012) určuje povinnosti organizaci, která je nositelem plemenné knihy, sama, anebo v součinnosti s jinými organizacemi, tyto povinnosti:

- stanoví chovný cíl, standard plemene a zpracuje šlechtitelský program
- usměrňuje a hodnotí vývoj šlechtění plemene
- registruje chovy, plemenná zvířata a jejich potomstvo v PK
- registruje a potvrzuje původ a plemennou hodnotu zvířat
- stanoví parametry pro výběr plemenných zvířat vybraných k reprodukci populace a podílí se na jejich výběru
- každoročně vyhodnocuje realizaci šlechtitelského programu a zveřejňuje jeho výsledky
- zveřejňuje informace o stavu plemenné knihy a výsledcích kontroly užítkovosti, výkonnosti a odhadu plemenné hodnoty
- navazuje a udržuje kontakty s tuzemskými a zahraničními organizacemi obdobného poslání, s Ústřední evidencí a koordinátorem Národního programu pro využití genetických zdrojů
- propaguje přiměřenou formou a prostředky plemeno starokladrubského koně v národním a mezinárodním kontextu.

### 3.1.4 Současný stav chovu

Průběžná vyhodnocení šlechtitelského programu STKL ukazují, že se v posledních letech počet koní relativně ustálil.



Obrázek 2: Statistika početní stavů STKL 1990-2023 (Šancová & Teplý 2024)

Ke dni 31.12.2023 bylo evidováno celkem 2015 starokladrubských koní, což je meziroční nárůst o 63 jedinců. Počet plemenných hřebců a chovných klisen zůstal meziročně stabilní. Ve stavu bylo 52 plemenných hřebců (26 běloušů a 26 vraníků) a 553 chovných klisen (277 bělek a 276 vranek). Do genetických zdrojů (GZ) starokladrubského koně bylo zařazeno 50 hřebců (25 běloušů a 25 vraníků) a 341 klisen (62 %) – 157 bělek a 184 vranek (Šancová & Teplý 2024).

Z výše uvedených statistik je evidentní, že je do chovu zařazován menší počet hřebců než klisen. Na hřebce, jakožto na případného budoucího plemeníka, jsou tudíž kladeny přísnější nároky. Je pravděpodobné, že lepší hodnocení hřebců u výkonnostních zkoušek v oblastech temperamentu, charakteru, pracovní ochoty, učenlivosti, příježděnosti, maratonu,

ovladatelnosti spřežení a spolehlivosti v tahu, může být ovlivněno lidským přístupem a přípravou koní už během jejich odchovu a výcviku. Obecně platí, že je přístup ke hřebcům uvážlivější a opatrnější. U klisen se většinou předpokládá nekonfliktní chování, může se s nimi zacházet s menší obezřetností než s hřebci, např. při záprahu do páru nebo práci ve skupině (Šišková & Jiskrová 2008).

## **3.2 Pohlavní chromozomy**

Ve většině eukaryotických organismů bývá jedno pohlaví heterogametické - má pár morfologicky odlišných chromozomů, zatímco druhé pohlaví je homogametické a má dva identické členy každého chromozomálního páru. Morfologicky a geneticky odlišné chromozomy X a Y (nebo chromozomy Z a W u ptáků) zapojené do určování pohlaví se u zvířat i rostlin pravděpodobně vyvíjely nezávisle na sobě.

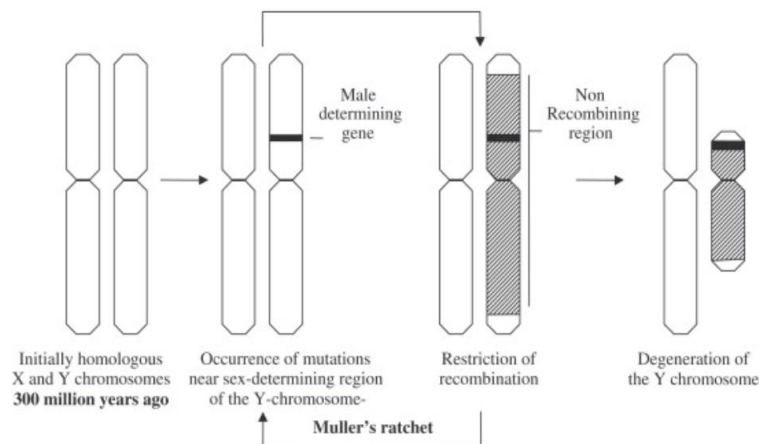
Nápadným společným rysem mnoha taxonů je téměř úplná redukce genů na pohlavním chromozomu Y (Bachtrog 2006). Na rozdíl od chromozomů X, které se aktivně rekombinují a obsahují stovky až tisíce funkčních genů, jsou nerekombinující, pohlavně specifické chromozomy Y typicky geneticky degenerované (Charlesworth 2008).

Chromozom X je jedním ze dvou pohlavních chromozomů, které se u savců podílejí na určování pohlaví. Samice savců mají dva chromozomy X, zatímco samci mají jeden chromozom X a jeden chromozom Y (Carrel & Willard 2005). Je třeba mít v úvahu, že X chromozomy jsou pravděpodobně ovlivněny genetickým driftu více než autozomy. Nicméně menší efektivní velikost populace a zvýšený genetický drift genů vázaných na X jsou vykompenzovány jejich nižším genetickým rozptylem ve srovnání s autozomálními geny. Rozdíl mezi geny vázanými na X je tedy ekvivalentní rozptylu autozomálních genů. U genů, které ovlivňují pouze jedno pohlaví, je pravděpodobnější, že projdou změnami v genetické frekvenci než u genů ovlivňujících obě pohlaví, což je způsobeno vyššími genetickými frekvencemi u těchto genů. Pohlavní specifická změna může znamenat, že geny ovlivňující plodnost budou pravděpodobněji procházet změnami v genetické frekvenci než geny ovlivňující životaschopnost. Závěrem je, že hypotéza o specializaci prostřednictvím změn v genetické frekvenci vyžaduje specifické genetické podmínky před a po události založení populace a závisí na povaze genetické rozmanitosti pro reprodukční izolaci (Whitlock & Wade 1995). V dnešní době existují důkazy o dědičnosti některých hospodářsky významných znaků vázaných na X-chromozom (Fernando & Grossman 1990).

### **3.2.1 Evoluční vývoj pohlavních chromozomů**

Studium pohlavních chromozomů a jejich evoluce je v poslední době velmi dynamickým oborem. Začátky tohoto výzkumu sahají až do konce 19. století a počátku 20. století, kdy byly tyto specifické chromozomy objeveny (Abbot et al. 2017). U savců je nyní jasné, že pohlavní chromozomy vycházejí z autozomů. Chromozom X si během evoluce udržuje většinu svých původních genů, zatímco jeho partner Y prochází degenerací a ztrátou funkce genů, pravděpodobně kvůli absenci rekombinace. V současnosti přijímané vysvětlení diferenciaci původně morfologicky homogenních chromozomů X a Y vyvolává postupné procesy, ve kterých byly zahrnuty střídavé kroky mutace a omezení rekombinace. V evoluční genetice

je proces, kdy při absenci rekombinace dochází k akumulaci nevratných škodlivých mutací označován jako Muller's ratchet (Gusmão et al. 2008).



Obrázek 3: Diferenciace původně morfologicky homogenních X a Y chromozomů (Gusmão et al. 2008)

Je známo, že chromozom Y byl kdysi ekvivalentní s chromozomem X, ale jejich příslušné geny získaly odlišné evoluční rychlosti brzy poté, co došlo k potlačení rekombinace mezi oběma pohlavními chromozomy, přičemž geny spojené s chromozomem Y se vyvíjely rychleji a geny spojené s chromozomem X si udržovaly nižší evoluční rychlosti původních autosomálních genů (Gianaroli et al. 2013).

Progrese v evoluci pohlavních chromozomů souvisí s významnými změnami v obsahu genů. V závislosti na genetickém mechanismu určování pohlaví mohou pohlavní chromozomy obsahovat různý počet genů určujících pohlaví. V průběhu času se na chromozomu Y objevují geny prospěšné pouze samcům, nikoli samicím (Gusmão et al. 2008). Tyto geny mohou být jednotlivé dominantní lokusy, jako je například SRY u savců, nebo mohou představovat kvantitativní lokusy, které ovlivňují určování pohlaví v závislosti na jejich dávce, například signální elementy vázané na chromozom X (Schenkel & Beukeboom 2016). Pokud jsou zmíněné geny spojeny se sexuálně určující oblastí chromozomu Y, budou se v populaci preferenčně šířit u samců a dojde k selektivnímu potlačení u samic. Tato genetická rozmanitost mezi chromozomy X a Y se udržuje omezením rekombinace v genech určujících pohlaví a lokusech kontrolujících vedlejší pohlavní charakteristiky. Nedostatek rekombinace mezi chromozomy X a Y vede k hromadění škodlivých recesivních mutací, protože nejsou eliminovány selekcí. Bez rekombinace jsou některé mutace častěji ztraceny z populace a příznivé mutace vázané na Y chromozom se mohou rychle šířit v populaci, což může způsobit fixaci škodlivých alel na jiných genech. Akumulace recesivních škodlivých alel na chromozomu Y zvýhodňuje selekci pro zvýšení aktivity homologních lokusů na chromozomu X. Současně s redukcí genetické aktivity chromozomu Y se oslabuje selekce proti vkládání nových genetických úseků do chromozomu Y. V nepřítomnosti rekombinace a selekčního tlaku se očekává akumulace transponovatelných elementů a tandemových opakovacích sekvencí, což postupně snižuje aktivitu chromozomu Y (Gusmão et al. 2008).

I přes možnost získávání genů translokací mohou pohlavní chromozomy také ztratit geny, především ty, které jsou umístěny na hlavním pohlavním chromozomu, ale jsou prospěšné



nebo funkční pouze v heterogametickém pohlaví (Wu & Xu 2003). Bylo prokázáno, že geny exprimované specificky v gonádách heterogametického pohlaví nebo geny zapojené do produkce jejich gamet se u několika druhů vzdalují od hlavního pohlavního chromozomu.

Přestože byla většina výzkumu prováděna na výrazně odlišných pohlavních chromozomech, lze tvrdit, že pohlavní chromozomy vykazují různorodost napříč živými organismy, od savců s chromozomovým typem XY a ptáků s chromozomovým typem ZW, až po méně prozkoumané haploidní pohlavní chromozomy UV (nacházející se například u mechorostů). Je známo, že existují významné rozdíly v úrovni degenerace u výrazně odlišných pohlavních chromozomů, různé mechanismy kompenzace dávkování a vysoká frekvence inverzí pohlavních chromozomů v některých skupinách, avšak ne ve všech. Tato skutečnost naznačuje, že obecné vzorce v evoluci pohlavních chromozomů jsou daleko od jednotného modelu. Tento poznatek je relativně nový a vychází z pokroku v technologiích sekvenování DNA, což naznačuje, že teorie o evoluci pohlavních chromozomů byly pravděpodobně ovlivněny směrem k systémům XY savců a jsou z velké části založeny na studiích modelových organismů (Abbot et al. 2017).

Je důležité zmínit možnost kompletní ztráty pohlavního chromozomu Y, který během posledních 200 milionů let ztratil většinu svých zhruba 2000 genů. Degradace stále pokračuje a je tedy možné, že chromozom Y úplně zmizí (Gianaroli et al. 2013). První teorie o degeneraci chromozomu Y byla uvedena Mullerem v roce 1914, nicméně byla plně rozpracována až v 30. letech 20. století. Haldane (1922) navrhl, že rostliny by neměly projevovat degeneraci chromozomu Y v takové míře jako zvířata, přičemž to přisoudil selekci pylu v haploidní fázi. Fisher (1931) kritizoval myšlenku, že degenerace chromozomu Y by měla probíhat skrze akumulaci recesivních letálních mutací a chybně předpověděl, že chromozomy X a Y by měly obsahovat stejný počet letálních mutací. V roce 1959 byl identifikován mužský určující faktor na chromozomu Y lidských jedinců. Tento objev byl významný, neboť dříve se předpokládalo, že pohlaví savců je určeno počtem chromozomů X, přičemž chromozom Y byl pouze považován za nefunkční fragment, což odpovídalo studiím provedeným u *Drosophily*.

Předpokládá se, že sexuálně antagonistická selekce a sexuální selekce vedou k potlačení rekombinace mezi pohlavními chromozomy, způsobují rychlejší evoluční rychlost pohlavně vázaných genů, ovlivňují obsah genů a také způsobují obraty pohlavních chromozomů. Navzdory tomuto široce přijímanému názoru existují omezené empirické důkazy, jako je důkaz sexuálně antagonistických genů, které řídí potlačení a expanzi rekombinace pohlavních chromozomů (Ma & Rovastos 2022). Meisel (2022) tvrdí, že pohlavně specifická selekce v různých biotopech způsobená pohlavně specifickou zranitelností vůči různým environmentálním faktorům nebo patogenům by mohla vést k rozdělení niky nebo odlišným dietním strategiím mezi pohlavími, což by mohlo ovlivnit dynamiku evoluce pohlavních chromozomů. Autor dále naznačuje, že evoluci určování pohlaví mohou být ovlivněny ekologickými faktory, zejména u druhů, kde je dráha určování pohlaví citlivá na teplotu, jako jsou někteří plazi. Kromě toho autor poskytl důkaz, že alely vázané na Y by mohly ovlivnit pigmentaci ekologicky relevantními způsoby u poeciliidních ryb nebo ovlivnit velikost těla interakcí s faktory prostředí, jako je teplota.

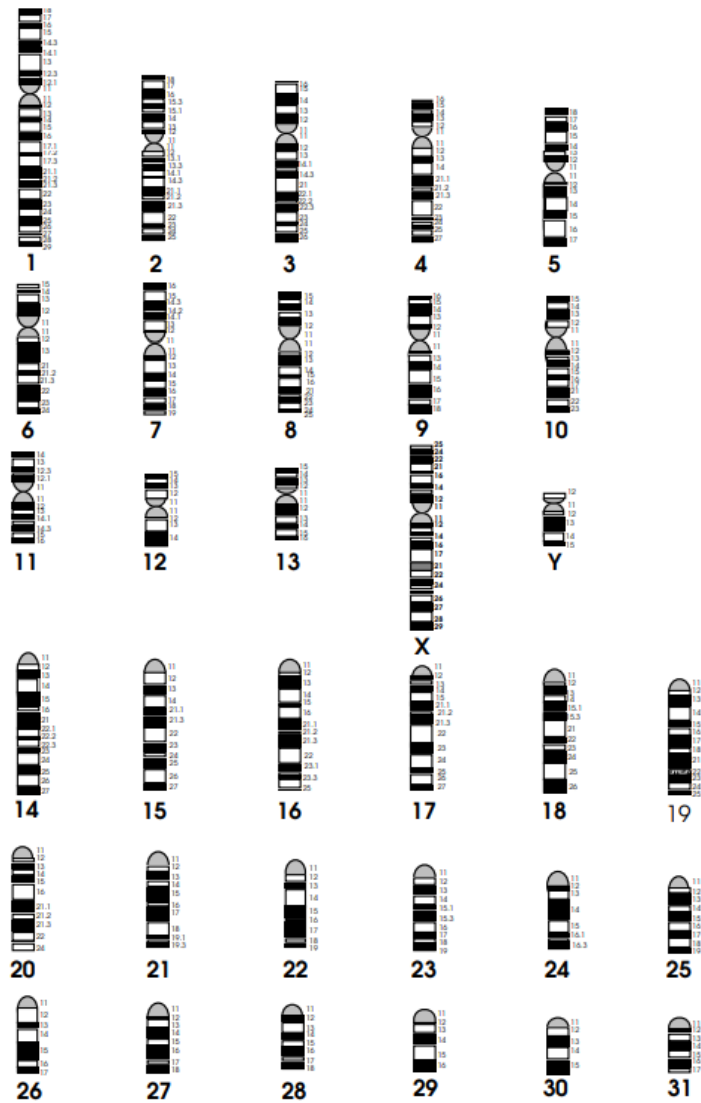
### 3.3 Genom a karyotyp u koní

Až donedávna byly studie inbreedingu a efektivní velikosti pro X-vázané geny a geny u haplodiploidních druhů poměrně přehlíženou oblastí. V porovnání s autozomálními lokusy je situace u X-vázaných lokusů složitější. To je dáno tím, že heterogamní pohlaví má pouze jednu kopii genu vázaného na pohlaví, tudíž se u obou pohlaví vyskytuje pouze jedna kopie daného genu. Koeficient příbuzenské plemenitby pro X-vázané lokusy se proto vztahuje pouze na homogamního pohlaví (Wang 1996).

Genetická rozmanitost je mezi koňmi velmi vysoká i přes dlouhou historii selekce. Ačkoli zakladatelští hřebci měli velký vliv na některá plemena, chovatelé koní používali páření ve velké míře až do moderní doby. Genetická rozmanitost byla zachována i z toho důvodu, že populace koní byla i v minulosti velká a při zakládání většiny plemen bylo možné zapojit do plemenitby velké množství klisen.

Organizace genomu koně je strukturovaná podobně jako u jiných savců. Přístupy používané ve studiích genomu zahrnovaly vývoj genetických testů pro biochemické markery, krevní skupiny, lymfocytární alloantigeny a DNA markery (Bailey & Binns 1998). První studie zabývající se koňskými chromozomy pocházejí z počátku 20. století. Tehdy bylo za pomoci spermatogoniálních a meiotických preparátů navržen diploidní počet chromozomů je přibližně 20-37 se systémem pohlavních chromozomů XO (Wodsedalek 1914). S postupným vylepšením chromozomové analýzy byl předchozí návrh značně revidován. Nové poznatky ukázaly, že pro koně domácího (*Equus caballus*) platí  $2n = 64$ . (Makino et al. 1963). Na tyto výsledky navázali další autoři (např. Myka et al. 2003), kteří popisují značně rozdílný počet diploidních chromozomů u jednotlivých druhů *Equus*, a to od  $2n = 32$  (*Equus zebra hartmannae*) do  $2n = 66$  (*Equus przewalskii*). Kůň Převalského má navíc jiný počet chromozomů než domácí koně vlivem působení Robertsonovy translokace, což má za následek rozdělení jednoho páru metacentrických chromozomů ECA5 na dva páry akrocentrických chromozomů EPR23 a EPR24 (Huang et al. 2014).

Aby bylo možné charakterizovat chromozomové abnormality na mezinárodní úrovni, byly vyvinuty standardní karyotypy a nomenklatury chromozomů. Byly navrženy tři standardní karyotypy. Rozdíl mezi prvním (1980) a druhým (1990) karyotypem spočíval v uspořádání chromozomů a jejich číslování. Oba dva obsahovaly podrobný popis karyotypu koně a vzory pruhování chromozomů. Třetí a současný standardní karyotyp z roku 1997 si zachoval druhé uspořádání, ale zahrnoval vyjmenovanou nomenklaturu chromozomových pásů (Bugno-Poniewierska & Raudsepp 2021).



Obrázek 4: Současný standardní karyotyp *Equus caballus* definovaný Mezinárodní organizací pro karyotypizaci koní ISCNH (Bowling et al. 1997)

Informace z celogenomových sekvencí představují dobrou příležitost pro empirické posouzení různých odhadů příbuzenské plemenitby. To je způsobeno tím, že heterozygotnost celého genomu lze měřit s velkou přesností. Díky datům z resekvenčních analýz jsou genotypy k dispozici pro téměř všechny varianty, včetně těch, které přispívají k inbrední depresi. Navíc v těchto datech nalezneme genotypy pro markery se segregací při různých frekvencích a pro alely z různých funkčních kategorií, včetně škodlivých variant nebo variant s vyváženým výběrem. To nám poskytuje další empirickou strategii pro posouzení vlastností a přesnosti různých opatření inbreedingu pro aplikace, jako je například studium inbrední deprese nebo zhodnocení programů ochrany a výběru (Alemu et al. 2021).

### 3.4 Genetická variabilita

Genetická variabilita (diverzita) představuje základ evoluce, jelikož umožňuje organismům adaptovat se na změny prostředí. Je založena na variabilitě genů tj. funkčních jednotek dědičnosti v organismech (Wilson 1992).

Genetická variabilita, neboli diverzita, vyjadřuje rozmanitost genů. Zahrnuje nejen odlišné populace v rámci jednoho druhu, ale i rozdílné jedince v rámci konkrétní populace (Plesník 2005; Vačkář 2005).

Variabilita jedinců v rámci jednoho druhu je výsledkem několika současně působících faktorů, mezi které patří odlišnost dědičné informace, působení různých vlivů prostředí a interakce mezi těmito faktory (Švecová et al. 2007). Z dlouhodobého hlediska genetická variabilita umožňuje přizpůsobení druhu měnícím se podmínkám prostředí. Představuje tak nezbytný předpoklad pro udržení evolučních procesů (Plesník 2005).

Bylo navrženo několik metod k monitorování genetické diverzity v populaci. Mezi důležité koncepce patří:

- a) Efektivní počet zakladatelů – vyjadřuje celkovou reprezentaci zakladatelů v populaci s přihlédnutím k nerovnoměrnému příspěvku zakladatelů.
- b) Ekvivalenty genomu zakladatelů – charakterizují genetickou rozmanitost v reálné populaci za předpokladu, že by zakladatelé byli rovnoměrně reprezentováni, a to s ohledem na všechny faktory ztráty genetické rozmanitosti.

Přínos jednotlivých zakladatelů lze vyrovnat tím, že by se pro chov vybírali jedinci s nejvyšším efektivním počtem zakladatelů. Pokud je však informace o rodokmenu daného zvířete nevyvážená, zvířata v raných generacích by byla odmítnuta jako budoucí rodiče kvůli malému efektivnímu počtu zakladatelů v jejich rodokmenu. Proto může být preferováno upřednostnění potomků rodičů s nižším stupněm genetické reprezentace v populaci za účelem udržení původní genetické variability (Gyoache et al. 2003).

Díky znalosti genetické variability jak v rámci plemen, tak mezi nimi, můžeme lépe nahlédnout do jejich historie a na základě toho zlepšit jejich management pro účely ochrany (Gómez-Romano et al. 2013). Mezi běžné analýzy využívané pro hodnocení genetické variability patří: PCA, hodnoty fixačního indexu, fylogenetické stromy, anebo nekontrolované shlukování k odhadu meziplenné diverzity, k postavení studovaných plemen proti sobě a k detekci možných příměsí (Wilmot et al. 2023).

Studie, kterou provedli Vostrá-Vydrová et al. (2016), zkoumala genetickou diverzitu a strukturu populace u starokladrubských koní na základě rodokmenových informací. Těmito informacemi se snažili identifikovat faktory ovlivňující genetickou variabilitu tohoto plemene. V rodokmenech zaznamenaných od roku 1729 do roku 2013 bylo zahrnuto 7971 koní. Výsledky studie naznačují, že úplnost rodokmenových informací u starokladrubského plemene je srovnatelná s jinými starošpanělskými plemeny. Výzkum dále ukázal, že vysoké hodnoty koeficientu příbuznosti u starokladrubských koní jsou způsobeny nízkými efektivními počty zakladatelů a předků, což znamená, že v reprodukci byli využíváni pouze někteří samci. Tento nerovnoměrný příspěvek předků k tzv. genetickému poolu vedl k vysoké ztrátě genetické diverzity. Celkově lze říci, že výzkum naznačuje potřebu zaměřit se na zvýšení počtu jedinců zapojených do reprodukce, aby se snížila příbuzenská plemenitba a zachovala genetická diverzita u starokladrubských koní.

### 3.4.1 Polymorfismus

Genetická variabilita populace je dána jednak počtem genů, které mají více než jednu alelu v daném lokusu (jsou polymorfní), a jednak počtem alel každého polymorfního genu. Polymorfní jedinci jsou charakterizováni schopností obdržet od každého z rodičů jinou alelu konkrétního genu (Richard & Thorpe 2001).

Obecně genom vykazuje dynamické variace jak mezi jednotlivci tak i napříč různými populacemi. Tyto genetické variace bývají obecně popsány z hlediska mutací a genetického polymorfismu. Mutace je definována jako nevratná sekvenční variace v DNA, která v podstatě zahrnuje všechny typy variací vyskytujících se v genomu. Genetický polymorfismus, který je nejběžnější a nejdynamičtější formou genetické variace přítomné v celém genomu, je definován jako přítomnost dvou nebo více alternativních forem alely v genomu jakéhokoli jedince, což vede k odlišným fenotypům ve stejné populaci. Jeho základem je mnohočetný alelismus. Pokud pro daný gen nelze detekovat dialelismus (podvojně založení genu), jedná se o gen monomorfní.

Genetický polymorfismus představuje většinu variací přítomných v lidském genomu a zahrnuje čtyři různé anotované typy, viz. jednonukleotidové polymorfismy (SNP), varianty počtu kopií (CNV), inserce nebo delece (indely) a strukturální varianty (Sameer et al. 2021).

Lze tvrdit, že polymorfismus může ovlivnit evoluční potenciál populace a druhu. Jeho přítomnost zlepšuje schopnost populace reagovat na krátkodobé tlaky prostředí, protože zvyšuje množství genetického materiálu, ze kterého jsou selektovány vhodné varianty, které se lépe přizpůsobují změněným podmínkám prostředí. Selektce tak nemusí čekat na vznik nových mutací, jelikož může využívat již přítomnou variabilitu (Flegr 2005).

Genetické polymorfismy je možné sledovat v různých formách (např. ve formě alozymů, RFLP, mini- a mikrosatelitních variací nebo sekvencí DNA). Studium jednotlivých polymorfismů má uplatnění v různých oblastech výzkumu, jako je populační genetika, evoluční genetika, systematika a molekulární fylogenetika, lidská genetika a forenzní věda. Genetické polymorfismy poskytují mechanismus pro označení genu nebo konkrétní části DNA. Díky tomu je možná například identifikace genotypů v otcovských a forenzních studiích, sledování pohybu jedinců v terénních studiích, sledování postupu selekčních experimentů v laboratorních populacích, mapování kvantitativních lokusů ovlivňujících ekonomické vlastnosti rostlin a zvířat, mapování genů onemocnění u lidí a evoluční srovnání sekvencí DNA a organizace chromozomů mezi příbuznými druhy (Singh & Kulathinal 2013).

### 3.4.2 Molekulární markery

Khlestkina (2014) ve své práci rozlišuje 3 typů markerů na základě jejich vlastností:

#### 1. Proteinový marker

Odpovídá genu, jehož alely mají rozdíly na úrovni proteinového produktu. Jinými slovy mají různou molekulovou hmotnost.

#### 2. Molekulární marker

Odpovídá genu nebo nekódujícím oblastem genomu, jejichž různé varianty (alely) se liší na úrovni DNA. Tyto rozdíly, neboli polymorfismy DNA lze detekovat následujícími způsoby: hybridizací se známými sekvencemi nukleových kyselin, sekvenováním sekvence nukleotidů,

porovnáním délky fragmentů vytvořených polymerázové řetězové reakce (PCR) nebo ošetřením DNA restrikcí endonukleázami (Khlestkina 2014).

### 3. Genetický marker

Odpovídá genu, jehož alely se výrazně liší na úrovni fenotypu. Tento gen, nebo úsek chromozomu, jehož umístění na chromozomu je známé a používá se jako orientační bod v mapování nových mutací. Jedná se o vysoce polymorfní znak, který vykazuje mendelistickou kodominantní dědičnost. Molekulárně-genetické markery mají tu výhodu, že jsou početné a relativně snadno identifikovatelné. Mohou být stanoveny z malého množství tkáně v libovolném věku jedince (Avise 2012).

Gupta et al. (1999) již dříve navrhli klasifikaci DNA markerů do tří tříd:

- a) DNA markery založené na hybridizaci (RFLP),
- b) DNA markery založené na PCR (např. CAPS, STS, RAPD, SCAR, AFLP, SSAP, SSR, ...),
- c) DNA markery založené na čípech DNA a sekvenování (SNP).

#### 3.4.2.1 SNP

Jednonukleotidový polymorfismus SNP (Simple Nucleotide Polymorphism) je obecně definován jako nukleotidové místo, u kterého byla prokázána vysoká míra substituce mezi jednotlivými vzorky v rámci populace. Brookes (1999) definuje SNP jako "pozice jednoho páru bází v genomové DNA, na kterých se u normálních jedinců v určité populaci (populacích) vyskytují různé sekvenční alternativy (alely), přičemž nejméně častá alela zde má četnost 1 % nebo více".

SNP markery nezahrnují jednonukleotidové inserce a delece i přes skutečnost, že někteří autoři kombinují tyto dva typy polymorfismů s jednonukleotidovými substitucemi a používají pro ně stejné označení, jako pro SNP markery (Cho et al. 1999).

Podle pozice v genu se SNP dělí na: exonové (synonymní a nesynonymní), intronové a promotorové. Další klasifikace je možná podle přiřazení SNP ke strukturnímu prvku genomové DNA, anebo podle jejich funkčního účinku. Oligonukleotidové záměny, které zahrnují regulační oblasti, jež řídí genovou expresi, se označují jako regulační SNP se zkratkou rSNP. Ty mohou zahrnovat promotorové SNP a některé intronové SNP (viz rozdělení podle pozice v genu). V závislosti na přítomnosti údajů o funkčním účinku jednonukleotidových záměn se SNP rozlišují na: anonymní SNP (funkční účinek není znám), kandidátské SNP (pravděpodobně mají funkční účinek), proteinové SNP (změna funkce nebo exprese proteinu).

Existují minimálně tři hlavní důvody, proč v poslední době roste zájem o používání SNP jako markerů pro genetickou analýzu. Za prvé, vyskytují se ve vysoké míře po celém genomu a poskytují tak více potenciálních markerů v blízkosti lokusu zájmu než jiné typy polymorfismu. (Landeberg et al. 1998). Za druhé, SNP se nacházejí mj. i v kódujících oblastech, čímž ovlivňují funkci konkrétních proteinů a jsou tak přímo zodpovědné za některé rozdíly mezi jedinci v důležitých znacích. Za třetí, SNP jsou poměrně stabilně dědičné, jsou tedy vhodné jako dlouhodobé selekční markery (Beuzen et al. 2000).

S pomocí genetických markerů lze mj. odhadnout hodnoty genomického inbreedingu. Někteří autoři (např. Keller et al. 2011; Wang 2016) upřednostňují genomická měření před odhady založenými na rodokmenu, a to hlavně proto, že poskytují odhady realizovaného

příbuzenského páření, jsou odolné vůči chybám v rodokmenu a nevyžadují genealogii. Početný výskyt lokusů SNP v genomu je možné využít jako základ molekulárně genetických map potřebných pro izolaci a studium genů rezistence vůči různým chorobám. Vysoká frekvence SNP zahrnuje také kódující a regulační oblasti genomové DNA (cSNP a rSNP), což by v budoucnu mohlo být využito pro efektivní vývoj diagnostických markerů SNP (Khlestina & Salina 2006).

V chovu zvířat existují situace, ve kterých je třeba testovat vztahy mezi dvěma nebo více jedinci, jako jsou rodič-potomek, plní sourozenci, polosourozenci nebo nesouvisející jedinci. Vignal et al. (2002) ve své publikaci upozorňují na to, že velikost vzorku bude mít vliv na sílu jakékoliv statistické analýzy, například při přiřazování skutečného otce. Je důležité zvolit pro pozorování odpovídající počet lokusů, zejména pokud někteří jedinci chybí (matka nebo potenciální otcové). Autoři jako modelovou situaci uvádějí chov ovcí, kde bylo sledováno 20 potencionálních otců s použitím šesti mikrosatelitových značek. Předpokládaná chybovost genotypizace bylo 1%. Výsledky simulace ukázaly, že 10% chyba přiřazení nastává se šesti mikrosatelity, pokud je matka typována. S rovnoměrně rozloženými alelickými frekvencemi je potřeba 30 bialelických značek k dosažení stejných chybových sazeb. To ukazuje vyšší potřebu bialelických značek (ve srovnání s multi-allelismem), když matka není genotypována, než když je.

Genomické projekty u několika domácích druhů umožnily objevení velkého počtu SNP jako vedlejšího produktu sekvenování nebo následného opětovného sekvenování. Existují komerční „SNP čipy“ pro skot (750 000 SNP), koně (55 000 SNP) a další hospodářská zvířata (Blasco & Toro 2014). I když je tedy poměrně snadné určit vztahy mezi rodiči a potomky s pomocí hypervariabilních lokusů, určení vztahů mezi prarodiči a potomky vyžaduje větší úsilí při genotypování. Pokud jsou známá páření, 95% správných přiřazení prarodičovství obvykle vyžaduje minimálně dvojnásobný počet alel na lokus ve srovnání se 95% správnými přiřazeními rodičovství. Co se týče počtu lokusů, takové rozpoznání může být s využitím pouze SNP problematické (Vignal et al. 2002). Proto se dnes SNP využívají pro vysoce výkonnou genetickou analýzu pomocí technologie DNA microarray (Beuzen et al. 2000).

### 3.4.3 Mikrosatelity

Mikrosatelity, pro které se používají zkratky SSR (Single Sequence Repeats) nebo STRs (Short tandem repeats), jsou repetitivní úseky DNA o délce 1 až 10 nukleotidů. Jedná se o podkategorie tzv. tandemových repetit, které spolu s převládajícími rozptýlenými repeticemi (nebo zbytky transponovatelných prvků) tvoří genomové repetitivní oblasti. Tyto repetice jsou široce distribuovány v oblasti celého genomu, existuje ale řada důkazů, že jejich rozmístění není náhodné.

Různí jedinci vykazují variace jako rozdíly v počtu opakování, které jsou způsobeny přidáním nebo odstraněním celých opakujících se jednotek nebo motivů. Jinými slovy, polymorfismy pozorované u SSR jsou výsledkem rozdílů v počtu opakování motivu způsobených například chybami rekombinace. Rekombinační události, jako je nestejné páření a genová konverze, mohou navíc vést ke kontrakcím a expanzím sekvence SSR. Podle několika autorů platí, že čím delší a čistší repetice, tím vyšší frekvence mutací, zatímco kratší repetice s nižší čistotou mají frekvenci mutací nižší. Mutace, které nepodlehly korekci systémem opravy

chybného párování DNA, tvoří nové alely v lokusech mikrosatelitů. Z tohoto důvodu mohou na daném lokusu SSR existovat různé alely. SSR jsou proto informativnější, než jiné molekulární markery včetně SNP (Vieira et al. 2016).

Rozlišujeme 4 různé typy mikrosatelitů. Úplné mikrosatelity obsahují pouze jeden opakující se motiv, který není přerušen, např. CACACACACA... Dalším typem jsou neúplné mikrosatelity, ve kterých je repetice přerušena jinou bází na jednom konkrétním místě, např. CTCTCTGTCTCT... Složené mikrosatelity jsou sestavené ze dvou a více na sebe přiléhajících mikrosatelitů s odlišným typem repetice, např. CACACATGTGTG... Posledním typem jsou mikrosatelity přerušované, ve kterých se nachází inzerce malého počtu bází, které nejsou shodné se strukturou původní repetice, např. CACACATTCACACATTCACACA... (Goldstein & Schlötterer 1999).

Je poměrně snadné SSR naklonovat s využitím metody PCR. Vykazují značný polymorfismus díky variabilitě v počtu opakujících se jednotek. Tato variabilita z nich činí často využívané molekulární markery převážně v genetické typizaci jedinců, pro příbuzenské studie nebo pro studie větších populací. Využívají se také jako základ pro konstrukci genetických map s vysokým rozlišením k identifikaci lokusů náchylnosti k běžným genetickým onemocněním (Barker 2002).

Existuje mnoho studií zabývajících se rozmístěním mikrosatelitů v rámci genomu, přičemž většina těchto studií byla provedena s využitím genomu rostlin nebo hmyzu. Temnykh (2001) při studiu rýžového genomu zaznamenal, že mikrosatelity s SSR kratšími než 12 bp (párů bází) mají mutační potenciál velmi podobný mutačnímu potenciálu většiny jedinečných sekvencí. Kromě toho autor ve své publikaci píše, že cca 80 % trinukleotidů bohatých na báze GC se vyskytovalo v exonech, zatímco trinukleotidy bohaté na báze AT byly rozmístěny rovnoměrně ve všech genomových složkách, mj. v kódujících sekvencích a netranslatovaných oblastech. Tetranukleotidové SSR byly převážně umístěny v nekódujících, hlavně intergenových, oblastech. Na druhou stranu Kejnovský et al. (2009) uvádějí, že při porovnání distribuce mikrosatelitů v chromozomech *Rumex acetosa* a *Silene latifolia* jsou některé motivy (např. CAA nebo TAA) silně akumulovány v nerekombinačních oblastech pohlavního chromozomu Y u obou rostlinných druhů. Tento výsledek podporuje i studie Poltronieri et al. (2014), kteří zaznamenali podobně velkou akumulaci sestávající převážně z mikrosatelitů na heterochromatickém chromozomu W u skupiny druhů ryb (*Leporinus spp.*), které sdílejí pohlavní systém ZW. Výsledky jejich studie ukazují na možné propojení mezi heterochromatinizací a akumulací repetitivních sekvencí, což potvrzuje teorii o základu evoluce pohlavních chromozomů. Detekce mikrosatelitů v transkriptech a regulačních oblastech genomu navíc podnítila vědecký zájem o jejich možné biologické funkce. V posledních letech přibývá studií zaměřených na zapojení mikrosatelitů v procesech, jako je regulace transkripce a translace, organizace chromatinu, velikost genomu a buněčný cyklus (Viera et al. 2016).



### 3.4.4 Mitochondriální DNA (mtDNA)

Mitochondriální DNA, neboli mtDNA, byla původně objevena v šedesátých letech dvacátého století pomocí mikroskopu, který v mitochondriích zobrazoval vlákna podobná DNA (Dovc et al. 2006). Teorie pro cytoplazmatický a uniparentální způsob přenosu mtDNA byla poprvé vyslovena v 50. letech 20. století, kdy byla na kvasinkách pozorována dědivost některých mitochondriálních znaků cytoplazmatickým způsobem. Myšlenka, že jsou mitochondriální geny u většiny zvířat děděny uniparentálně prostřednictvím mateřské zárodečné linie byla zpočátku založena na analogii s dědičností chloroplastů u rostlin a mitochondrií u rostlin a hub. První přímý důkaz pro uniparentální a mateřskou dědičnost mtDNA u zvířat byl dostupný až v roce 1972 (White et al. 2008).

Ačkoliv je nejrozšířenější metoda studie DNA analýza krátkého tandemového opakování (STR), v případě forenzní analýzy se často pracuje se vzorky mrtvých buněk, ve kterých jsou biologické molekuly do značné míry degradovány a nachází se v nich pouze malé množství neporušených molekul DNA. Nukleární STR lokusy proto nemohou být spolehlivě typizovány. Vzhledem k tomu, že v somatických buňkách je asi 100–1000 mitochondrií, z nichž každá obsahuje 2–10 kopií mitochondriální DNA (mtDNA). Somatické buňky běžně obsahují více než 1000 kopií mtDNA pro srovnání s jedinou kopií jaderné DNA. Nevýhodou však je, že vylučovací kapacita je u mtDNA nižší než u jaderné DNA, molekula mtDNA je relativně malá, např. u obratlovců je tvořena v průměru 17 000 bp (Angleby & Savolainen 2005).

V dnešní době je mitochondriální DNA zkoumána pro svou velkou variabilitu, malou míru mutace, materiální dědičnost a nepřítomnost rekombinací (Hagelberk et al. 1999). Polymorfismus mtDNA umožňuje ověření příslušnosti konkrétních zvířat k daným rodinám, stanovení genetické distance a odhadnutí variability mtDNA zakladatelek těchto rodin (Dovc et al. 2006).

## 3.5 Inbreeding

Inbreeding, neboli příbuzenská plemenitba, se jako metoda v rámci šlechtění využívá již řadu let. V posledních letech byl nárůst inbreedingu sledován díky nejnovějším poznatkům z oblasti molekulární genetiky (Jakubec & Bezdíček 2010).

Příbuzenské páření v rodokmenu běžně zohledňuje tři generace. Při příbuzenském páření se berou v úvahu nejvzdálenější příbuzní. Existují ale populace, kde je princip panmiktického páření v podstatě porušen. Ve většině takových případů se jedná o geograficky či sociálně relativně izolované malé populace. V nich může být široce rozšířeno příbuzenské páření ve vztazích: rodič - dítě, sourozenci, bratřenci, strýc - neteř atd. (Volobuev 2020).

Crow a Kimura (1970) ve své práci uvádějí 4 hlavní důsledky inbreedingu: změnu genotypových četností, snížení genetické variance fenotypového znaku, inbrední depresi a vznik vazbové nerovnováhy. Charlesworth a Charlesworth (1999) zmiňují pozitivní působení krátkodobého a intenzivního inbreedingu, které se může na populaci pozitivně projevit jako tzv. efekt hrdla lahve neboli „bottleneck“. To, že kontrolovaný inbreeding může být přínosný prokázali Kalashnikov et al. (2020) u plemene Thoroughbred horses. Jedná se o plemeno plnokrevných koní, které vzniklo v Anglii v 17.-18. století, a které bylo systematicky zdokonalováno čistokrevným chovem přes mnoho generací. Toto plemeno vzniklo spojením

místních klisen s hřebci východního původu a bylo zaznamenáno ve Všeobecné plemenné knize od roku 1793. Jedinci plemene prokázali vynikající dostihové schopnosti a byli proto chováni v různých evropských zemích. Dlouhodobý intenzivní výběr těchto koní pro dostihové závody a používání nejlepších hřebců ve chovu vedlo k koncentraci známých jmen v jejich rodokmenech.

Změna genotypových četností se projevuje celkovým zvýšením homozygotnosti v rámci populace. Jinými slovy dochází ke zvyšování četnosti párování podobných genů. Zároveň se snižuje počet heterozygotů, tedy párování různých genů (Vogt et al. 1993). Nárůst inbreedingu tak může vést ke zvýšení frekvence recesivních homozygotů pro mutantní alely (Volobuev 2020). Dopady vysoké úrovně příbuzenské plemenitby mohou výrazně ovlivnit morfologické vlastnosti (Gómez et al. 2009) a mají tak nepřímý vliv na míru reprodukce (DeRose & Roff 1999).

### 3.5.1 Koeficient inbreedingu

Pro genetickou diverzitu v rámci plemene je důležitý odhad koeficientů inbreedingu. (Wilmot et al. 2023). Individuální koeficient inbreedingu  $F_x$  a párová příbuznost  $r$  jsou základní parametry v populační genetice (Jinliang 2016.). Wright (1922) tyto parametry definuje jako korelaci mezi dvěma homologními geny v lokusu v diploidním jedinci, nebo jako korelaci mezi dvěma homologními geny náhodně odebranými od každého ze dvou jedinců. Korelace je způsobena společným původem nebo sdílenou genealogií dvou rodičů pro  $F_x$  nebo dvěma páry rodičů pro  $r$ , a má tedy stejnou očekávanou hodnotu pro jakýkoli lokus v genomu (Jinliang 2016).

Definice podle Malécota (1948) říká, že koeficient inbreedingu ukazuje, s jakou pravděpodobností jsou dva geny v jakémkoli lokusu u jedince identické původem ze společného předka dvou rodičů. Jinými slovy, do jaké míry pravděpodobnosti jsou dvě alely u náhodně vybraného jedince homozygotní (AA nebo aa) než heterozygotní (Aa), protože rodiče jsou příbuzní.

Klasicky byl koeficient příbuzenské plemenitby jedince určen na základě jeho původu. Koeficient příbuzenské plemenitby založený na rodokmenu však poskytuje pouze očekávané proporce genomu, které jsou identické podle původu (Villanueva et al. 2021).

$F_x$  je označována jako relativní míra, protože vycházíme z předpokladu, že i v základní populaci bude existovat určitá úroveň homozygotnosti a  $F_x$  pouze odhaduje nárůst z této počáteční úrovně v důsledku nedávného příbuzenského páření (Lancaste 2015). Může nabývat hodnot 0 (náhodné páření, žádný inbreeding) až 1 (populace plně inbrední). Nejrychlejší nárůst hodnoty  $F_x$  můžeme pozorovat při samooplození a opakovaném zpětném páření s inbrední linií, kdy limitní hodnoty dosáhne během několika generací. V případě páření jedinců pouze ve vztahu bratr-sestra bude dosaženo limitní hodnoty po dvou desítkách generací (Crow & Kimura 1970).

Ačkoliv existuje poměrně velké množství studií zabývajících se hodnocením koeficientu inbreedingu, nebyla věnována příliš velká pozornost rozdílu přímo v rámci chromozomů, které jedinec zdědí po svých předcích. V eukaryotických buňkách rozlišujeme 2 typy chromozomů. Autozomy jsou chromozomy neúčastníci se určování pohlaví organismu. Mohou být označovány jako somatické chromozomy, protože určují somatické charaktery jedince.

Genom je tvořen převážně právě autozomy, které existují jako homologní páry. To znamená, že chromozomy obsahují stejné geny, které jsou uspořádány ve stejném pořadí. Nicméně, páry autosomálních chromozomů se liší od ostatních párů autozomů v rámci stejného genomu. Pohlavní chromozomy jsou označovány jako allozomy a určují pohlaví jedince. Většina savců má ve svém genomu pouze 2 pohlavní chromozomy označované jako X chromozom a Y chromozom. Samice (XX) má stejné dvě kopie genů určujících pohlaví, uspořádané ve stejném pořadí v obou X chromozomech (homomorfní), pohlavní chromozomy jsou tedy homologické. U samců (XY) obsahují dva pohlavní chromozomy odlišné geny. Během meiózy jsou samičí gamety tvořeny jedním X chromozomem a autosomálními chromozomy, zatímco samčí gamety jsou tvořeny buď X nebo Y chromozomem a autosomálními chromozomy. Spojením dvou gamet obsahujících oba X chromozomy vzniká samičí potomek. Naopak, spojením dvou gamet obsahujících buď X nebo Y chromozom vzniká samčí potomek. Splynutí dvou gamet obsahujících haploidní sadu chromozomů vede ke vzniku zygoty, jejíž genom je diploidní (Panawala 2017).

Genetické důsledky struktury rodokmenů jsou důležité, protože rodokmenový koeficient pro X-vázané geny ( $F_x X_{ch}$ ) pro ženského potomka biologicky příbuzného páru se pohybuje v závislosti na distribuci pohlaví mezipředků. Příbuzenský rodokmen je určen pohlavím a počtem mezipředků na dvou liniích. Každý stupeň příbuzenství tedy může generovat různé podtypy rodokmenu. Čím větší je vzdálenost mezi párem a jejich společnými předky, tím se počet podtypů může zvyšovat (Calderón et al. 2009).

### 3.5.2 Koeficient příbuznosti

Koeficient příbuznosti vyjadřuje pravděpodobnost, že dvě alely pocházející od dvou náhodně vybraných jedinců z populace jsou identické dle svého původu (Blouin 2003). Podobně jako koeficient inbreedingu, lze i tento koeficient vypočítat z rodokmenu nebo z molekulárních markerů, buď pro jednotlivce, nebo jako průměr pro celou populaci (Taylor 2015). Odhady z rodokmenu mají při výpočtu obou koeficientů svá omezení. Dokonce i při přesném a kompletním rodokmenu může být výpočet zkreslen možnou chybou v generaci zakladatelů, kteří jsou předpokládáni jako nepřibuzní a s outbredním původem (Städele & Vigilant 2016). Podobně mohou být odhady založené na genetických markerech velmi zkreslené při použití nevhodného výpočetního postupu, zejména u nemodelových druhů, kde může být dostupný pouze omezený počet markerů s nízkou mírou informativity (Taylor 2015).

Mezi koeficientem inbreedingu  $F_x$  a koeficientem příbuznosti  $R_{XY}$  je ten rozdíl, že koeficient příbuznosti neřeší, zda byli dva jedinci spáření či nikoli. Jde pouze o zhodnocení rodokmenů jedinců, monitorování jejich společných předků a následné vyhodnocení stupně inbreedingu (Bezdíček et al. 2010).

Tabulka 2: Vzájemný vztah koeficientu příbuznosti  $R_{XY}$  a koeficientu inbreedingu  $F_x$   
(Wright 1922; upraveno – Kadlecová 2024)

Příbuzenský vztah	$R_{XY}$ (rodiče)	$F_x$ (potomci) – v %
<b>Sourozenci</b>		
první pokolení	0,5	25
druhé pokolení	0,6	37,5
třetí pokolení	0,73	50
<b>Rodiče a děti</b>		
první pokolení	0,5	25
druhé pokolení	0,67	37,5
<b>Polosourozenci</b>		
prarodiče s vnoučaty bratrance a sestřenice (4 společní dědi) strýc/teta s neteří/synovcem	0,25	12,5
<b>polostrýc/poloteta</b> s <b>neteří/synovcem</b>	0,125	6,25
<b>polobratranec</b> s <b>polosestřenicí</b> (1 společný děd)	0,0625	3,13

### 3.5.3 Význam rodokmenu

Rodokmen představuje diagram rodinných vztahů a často se používá k určení typu dědičnosti (dominantní, recesivní atd.) genetických onemocnění. S rychle rostoucí znalostí genetiky a nahromaděním genealogických informací se data z rodokmenů stávají stále důležitějšími. Rodokmeny jsou hierarchické struktury zobrazující dědičné vztahy mezi jednotlivci a jsou obvykle vyjádřeny jako orientované acyklické grafy (DAG). V rodokmenech je množina cest k jednotlivci od jeho předků důležitá pro výpočet kvantitativních měření genetického vztahu mezi jednotlivci, jako jsou koeficienty inbreedingu, příbuzenské koeficienty a koeficienty identity. V případě velkých rodokmenů závisí efektivní výpočet genealogických měření, jako je koeficient inbreedingu a příbuzenské koeficienty jednotlivců, na efektivní identifikaci a zpracování cest (Yang et al. 2012).

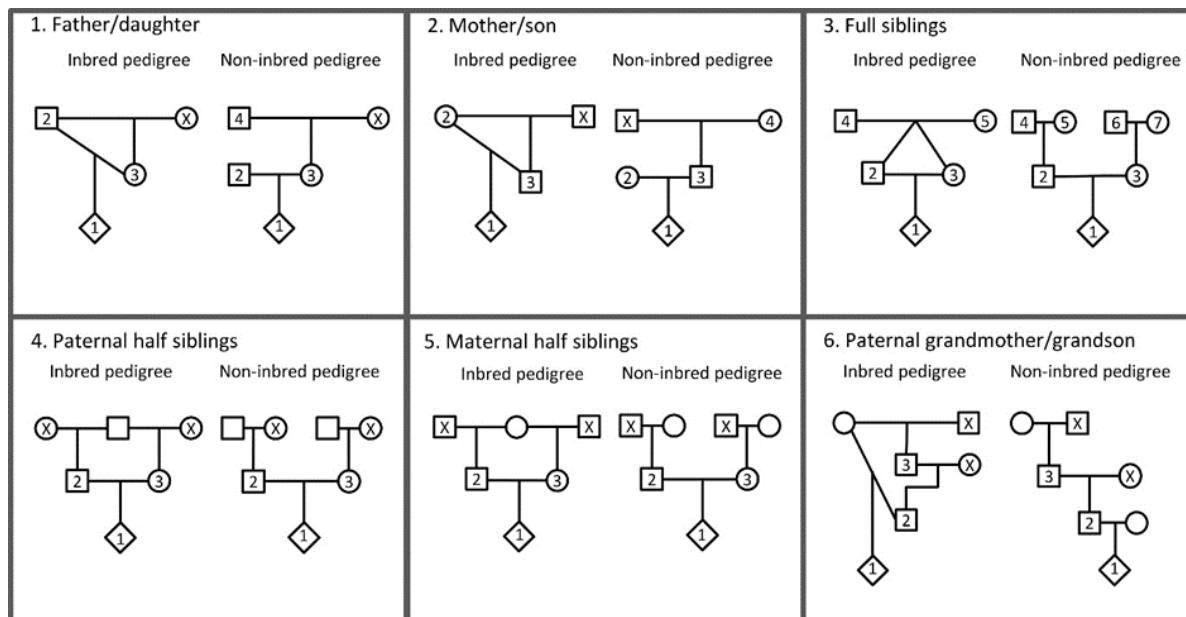
Příspěvek každého společného předka ke koeficientu inbreedingu je  $[1/2]n - 1$ , kde  $n$  je celkový počet čísel na obou stranách rovnice pro daného společného předka.  $F$  je poté součtem individuálních příspěvků každé rovnice. Jelikož pravděpodobnost, že samec přenese X chromozom na své syny, je nula, nemůže být X-vázaný gen identický podle původu, pokud v cestě v rámci rodokmenu figurují dva po sobě jdoucí samci. Pravděpodobnost, že samec přenese X chromozom na své dcery, je 1. Proto se posloupnost samce-samice ve stezce vlastně "zkracuje" o jeden krok v případě X-vázaných lokusů (Schaap & Cohen 1977).

I přesto, že je inbreeding zásadním faktorem v ekologické a evoluční teorii, jeho míra je obtížná k výpočtu v rozsáhlých přírodních populacích kvůli složitostem spojeným s rekonstrukcí rodokmenů jednotlivých jedinců. Identifikace případů inbreedingu ve volné přírodě je sice možná, avšak zjištění skutečného rozsahu inbreedingu je problematické, neboť informace o příbuzenství může chybět nebo být neznámá u mnoha jedinců v dané populaci.

Míra inbreedingu může být získána z dat složených z neúplných rodokmenů, pokud je brána v úvahu pravděpodobnost detekce různých konfigurací rodokmenů. Byly vyvinuty analytické výrazy k ilustraci vlastností datových sad rodokmenů obsahující neúplné informace o rodičovství. Protože různé rodokmeny vyžadují k odhadu koeficientu inbreedingu různý počet předků, pravděpodobnost se bude u konkrétního rodokmenu měnit v závislosti na podílu známých rodičů a počtu předků potřebných k dokončení rodokmenu. Toto pochopení zdůrazňuje praktické problémy, které je třeba zohlednit při odhadování míry inbreedingu v empirických studiích.

K vyřešení této výzvy navrhli Miller et al. (2017) odhadovací metodu, která bere v úvahu pravděpodobnost různých konfigurací rodokmenů vzhledem k nedostatečným informacím o původu, které často charakterizují empirická data. Tento nový přístup koriguje zkreslení přístupu, který představili Marshall et al. (2002), kdy se vypočítávala míra inbreedingu pro každý ze tří typů inbreedingu spojených s koeficientem  $F_x = 0,25$ , a pro jedenáct typů inbreedingu spojených s  $F_x = 0,125$ . Koeficient  $F_x$  reflektuje pravděpodobnost, že jedinec zdědí alely na určitém lokusu, které jsou identické podle svého původu, a kvantifikuje závažnost inbreedingu z hlediska rodokmenu (tzv. "rodokmenový inbreeding").

Grafické znázornění rodokmenů puštíka obecného (viz obrázek 5), které jsou inbrední (s koeficientem inbreedingu  $F_x = 0,25$  pro rodokmeny 1-3) nebo neinbrední (s  $F_x = 0,125$  pro rodokmeny 4-6), obsahuje 6 typů párů. Kruhy reprezentují samice, čtverce samce a kosočtverce jedince, u nichž se hodnotí míra příbuzenské plemenitby. Identifikační čísla na rodokmenech označují jednotlivé jedince. Písmeno „X“ nad jedincem signalizuje, že jeho identita není klíčová pro posouzení dané situace příbuzenské plemenitby, ale je zahrnuto pro lepší prezentaci výsledků.



Obrázek 5: Porovnání 6 typů inbredních a neinbredních rodokmenů  
(Miller et al. 2018 – upraveno Kadlecová 2024)

Detekce inbrední deprese závisí na přesných odhadech inbreedingu, neúplné informace o původu tyto odhady snižují. Informace o fenotypech zvířat s částečnými rodokmeny jsou pro přesné genetické hodnocení důležité, problém ale je, že užitečnost takových fenotypů je omezena neznámými vztahy k jiným zvířatům v populaci. Částečná rodokmenová data ovlivňují zejména zvířecí modely, které současně zohledňují aditivní i neaditivní genetické variace (Cassell et al. 2003). Na tento problém upozornil již VanRaden (1992), kdy představil novou metodu odhadu inbreedingu pro zvířata s velmi omezenými informacemi o původu. Její aplikace zajistila nahrazení průměrných genetických vztahů u zvířat narozených v různých letech namísto předpokládaného nulového vztahu mezi známými a neznámými zvířaty, který se používal v klasických postupech. Wiggans et al. (1995) vyvinul metodu pro aplikaci VanRadenova postupu a uvedl, že zahrnutí koeficientů inbreedingu do inverzní matice vztahů vedlo k přesnější reprezentaci vztahů mezi zvířaty než ignorování chybějících informací.

Lutaaya et al. (2001) ve své publikaci porovnali výsledky při použití běžných a VanRadenových algoritmů pro výpočet příbuzenství ve dvou datasetech s různým podílem neúplných rodokmenů. První sada obsahovala 2255 jedinců plemene Holštýn narozených mezi lety 1920 a 1996 s méně než 1% neúplných rodokmenů. Druhá sada obsahovala 2 151 040 plemen Polled Herefordů, kde bylo 6,5 % matek neznámých. Průměrné příbuzenství pro zvířata narozená v roce 1996 bylo 2,7 % pomocí běžného algoritmu a 3,1 % pomocí VanRadenova algoritmu. Prokázali tak, že neúplné rodokmeny mohou vést k vážné podhodnocení úrovně příbuzenství u běžného algoritmu.

### 3.5.4 Inbrední deprese (ID)

Deprese příbuzenské plemenitby je běžná u druhů hospodářských zvířat (Leroy 2014). Četné studie podporují hypotézu, že kondiční rysy, mezi které patří i plodnost, jsou náchylnější k inbrední depresi (DeRose & Roff 1999). ID bývá obecně spojována s poklesem průměrné výkonnosti jedince v důsledku příbuzenského páření. Genetickým základem inbrední deprese je zvýšená homozygotnost, při které dochází ke zvýšení frekvence nepříznivých genotypů (Doekes et al. 2019). Údaje z populací ptáků a savců naznačují, že ID ovlivňuje porodní hmotnost, přežití, reprodukci a odolnost vůči chorobám, predaci a environmentálnímu stresu. Rozsáhlý vliv ID lze zčásti vysvětlit tím, že kondiční rysy jsou v průměru ovlivněny větším počtem lokusů (Waller 2002). V důsledku toho můžeme očekávat, že znaky spojené s gonádami a gametami budou vykazovat výraznou inbrední depresi příbuzenského páření (Fang & Li 2023). U koní bývá inbrední deprese spojována se zvýšenou úmrtností mláďat. Jedinci, kteří přežijí do dospělosti, vykazují sníženou rychlost růstu, neschopnost se pářit a s tím spojenou sníženou plodnost (Collins et al. 2012).

Koeficient příbuzenské plemenitby ( $F_x$ ) je jedním z nástrojů pro studium ID. Poskytuje mj. informace o příbuznosti mezi rodiči, systémech páření, struktuře populace a nedávných demografických událostech (Caballero et al. 2020). Dříve byla ID hodnocena pomocí regresí fenotypů na koeficientech inbreedingu založených na rodokmenu.

V dnešní době mohou být koeficienty inbreedingu založené na rodokmenu nahrazeny koeficienty genomického inbreedingu (Bjelland et al. 2013). Příbuznost lze vypočítat z matice genomických vztahů (G) nebo z podílu genomu pokrytého oblastmi homozygotnosti (ROH). Lze očekávat, že koeficienty genomického inbreedingu budou přesnější, protože zohledňují mendelovské variace vzorkování a nezávisí na úplnosti a kvalitě rodokmenu (VanRaden 2008).

Doekes et al. (2019) zkoumali účinky ID u holandského holštýnsko-fríského mléčného skotu. Po vyhodnocení výsledků byla pozorovaná ID silnější u užitkových znaků, než u fertility a znaků zdraví vemene. Hodnocení genomického inbreedingu zachytilo více ID, než inbreeding na základě rodokmenu na úrovni populace. Ve studii byl zároveň porovnán rozdíl v příbuzenském páření s ohledem na vzdálenost generace, ve které k němu došlo. U užitkových znaků bylo na základě informací o původu zjištěno, že příbuzenské páření v nedávných generacích má na konkrétní znaky škodlivější vliv, než příbuzenské páření u vzdálených generacích.

Todd et al. (2018) provedli studii na skupině 135 572 jedinců, do které zařadili všechny plnokrevné koně, kteří závodili v Austrálii v letech 2000 až 2011. Údaje získali z genealogie populace sahající až k jejím zakladatelům ( $n = 257\ 249$ ). I přes neúplnost některých částí rodokmenu byly známé informace o původu všech jedinců v datové sadě závodních výkonů, což umožnilo přesnější odhad míry inbreedingu. Autoři ve studii mj. sledovali příbuzenství a koeficienty předků u všech jedinců se snahou identifikovat ty předky, kteří mají největší genetický přínos s cílem lepšího pochopení rozložení nevýhodných genů (tzv. genetické zátěže) v populaci. Dospěli k závěru, že selekce v chovu pravděpodobně způsobily nerovnoměrné genetické příspěvky předků a vedl tak k zániku méně úspěšných rodových linií. Ukázalo se, že malý počet předků v prvních letech vývoje plemene měl významný podíl na koeficientu příbuzenské plemenitby současné populace australských plnokrevníků. Téměř 20 % genetické zátěže v této populaci bylo připisováno jedinému jedinci. Studie dále naznačuje, že inbrední

deprese (zděděná od zakladatelů plemene) ovlivnila závodní výkonnost v populaci australských plnokrevníků. Z analýzy dat autoři vyvozují, že rozmanitost v genetické zátěži mezi různými předky naznačuje, že ID je ovlivněna malým počtem genů s významným dopadem na výkonnost. Genealogické analýzy příbuzenské plemenitby jsou považovány za důležité pro velké populace s komplexními rodokmeny, protože tyto údaje nám umožňují vyvodit závěry i pro jedince, jejichž genotypizace není možná. Lze tak sledovat vliv konkrétních jedinců na zdatnost jejich potomků v průběhu času.

S navazující studií přišli Hill et al. (2022), ve které zkoumali inbreeding u 6128 koní narozených v Evropě a Austrálii. Použili genetické informace z 297 tisíc SNP. Zjistili, že 10% nárůst inbreedingu znamená 7% nižší pravděpodobnost účasti v závodech. Dokázali tak, že inbreeding má velký vliv na schopnost koní účastnit se závodů. S aktuální strukturou rodokmenů je obtížné vyhnout se chovu příbuzných jedinců, což zvyšuje úroveň inbreedingu v populaci. Někteří chovatelé věří, že opakování vlivných předků v rodokmenu může být užitečné, a existuje mnoho úspěšných příkladů blízkého příbuzenského páření u dostihových koní. Autoři v práci upozorňují na skutečnost, že inbreeding ve vzdáleném rodokmenu nemusí být pro chov nevýhodný. Chov, který využívá genomické informace k omezení negativních dopadů inbreedingu a zabránění spojení s poškozujícími geny, může výrazně zlepšit zdraví a pohodu dostihových koní.

Navzdory rozvinutému chápání významu inbrední deprese zůstala identifikace konkrétních alel, které jsou základem snížení zdatnosti, náročná. Během inbreedingu mají škodlivé alely tři potenciální trajektorie. Mohou být: 1) vyčištěny po vystavení silnější selekci, 2) fixovány, když se velké oblasti genomu stanou homozygotními, nebo 3) udržovány jako heterozygotní místa v genomu. Čištění škodlivých alel je často klíčem k přežití v populacích inbreedingu, zatímco fixace těchto alel posouvá populaci od jejího aktuálního fitness optima a vede ke genetické zátěži. Některé druhy si však udržují vyšší úroveň genetické diverzity i po rozsáhlém příbuzenském páření. Pokud fixace oblasti v obou směrech způsobí vážné snížení zdatnosti, pak může oblast zůstat heterozygotní. Oblast může být skutečně převládající (heteróza) nebo „pseudopřevládající“, kde jsou škodlivé alely spojeny v odpuzování. Tyto oblasti zůstanou heterozygotní, dokud se škodlivé alely nepodaří rozbít rekombinací. Pseudooverdominance byla spojena s neschopností očistit škodlivé mutace vedoucí ke zhoršení inbrední deprese. Inbrední deprese ve většině populací je pravděpodobně způsobena akumulací segregačních mutací po dlouhou dobu a potenciálně na velkém počtu lokusů. I když jsou tedy účinky podobné těm, které byly pozorovány ve studiích akumulace mutací, hlavním zdrojem ID v přirozených populacích nemusí odrážet dlouhodobé segregační účinky mutací, které byly filtrovány procesy na úrovni populace. přirozeného výběru, genetického driftu a genomické vazby (Adams et al. 2022).

### 3.6 Odhad koeficientu inbreedingu

Dříve byly parametry koeficient inbreedingu  $F_x$  a párová příbuznost  $r$  vypočítávány z rodokmenů, v dnešní době se spíše odhadují z dat molekulárních markerů (Jinliang 2016). Výpočet s použitím markerů je rychlejší a levnější, protože nevyžaduje intenzivní sběr záznamů o chovu všech jedinců v populaci po několik generací, ale být provedeno s pomocí neinvazivního odběru vzorků bez dlouhodobého pozorování zvířat (Lucchini et al. 2002).



Znalost hodnoty  $F_x$  má v rámci populační i kvantitativní genetiky dvě uplatnění:

- Předpověď účinků inbrední deprese
- Schopnost posouzení rizika dědičných genetických vad (Lancaster 2015).

### 3.6.1 Výpočet podle Wrighta (1922)

Jednou z metod je výpočet koeficientu  $F_x$  podle Wrighta (1922), který je využíván v rámci zpracování rodokmenů v chovatelské praxi. Výpočet vychází z mendelistických principů a postupuje od informace u nejmladších jedinců v rodokmenu směrem ke starším (společným) předkům. V případě inbreedingu jsou společní předci zastoupeni jak na straně otce, tak i na straně matky. Při výpočtu koeficientu inbreedingu  $F_x$  pro jedince používáme podle této metody vzorec:

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

kde:

- $n_1$  je počet generací (úseků) ke společnému předku ze strany otce,
- $n_2$  je počet generací (úseků) ke společnému předku ze strany matky,
- $F_A$  je koeficient inbreedingu společného předka A,
- $\sum$  je sumace příbuznosti ke všem společným předkům.

V pozdějších letech byly výpočty dále rozpracovány dle Malécota (1948) a Crudenové (1949), kteří zavádí výpočet pomocí původového koeficientu  $f$ . Jejich metoda se používá v případě výpočtů složitějších rodokmenů, kdy se v rodokmenech nachází více společných předků, kteří jsou také výsledkem příbuzenské plemenitby. Původový koeficient rodičů X a Y je současně identický s koeficientem inbreedingu potomka Z. Jinými slovy  $f_{XY} = F_Z$  (Jakubec & Bezdíček, 2010).

### 3.6.2 Výpočet podle Hartla a Clarka (1989)

Pro výpočet koeficientů příbuzenské plemenitby pro autozomální geny ( $f$ ) a X-vázané geny ( $f_x$ ) použili Hartl a Clark (1989) vzorce:

- $$f = \sum_{i=1}^m \left(\frac{1}{2}\right)^k (1 + f_{CA})$$
- $$f_x = \sum_{i=1}^n \left(\frac{1}{2}\right)^l (1 + f_{CA})$$

kde:

- $m$  je počet všech možných cest přes všechny společné předky,
- $n$  je  $m$  mínus všechny cesty se 2 nebo více po sobě jdoucími samci,
- $k$  je počet jedinců na každé cestě,
- $l$  je počet samic v každé cestě,
- $f_{CA}$  je koeficient příbuzenské plemenitby společného předka v každé cestě

### 3.6.3 Výpočet podle Ballou (1997)

Míru příbuzenské plemenitby mezi předky jedince lze měřit mj. s pomocí koeficientu příbuzenské plemenitby předků  $f_a$ , kde je hodnota  $f_a$  definována jako kumulativní podíl genomu jedince, který byl dříve vystaven inbreedingu u jeho předků. Pro výpočet se využívá vzorec:

$$f_a = [f_{a(s)} + (1 - f_{a(s)}) * f_s + f_{a(d)} + (1 - f_{a(d)}) * f_d] / 2$$

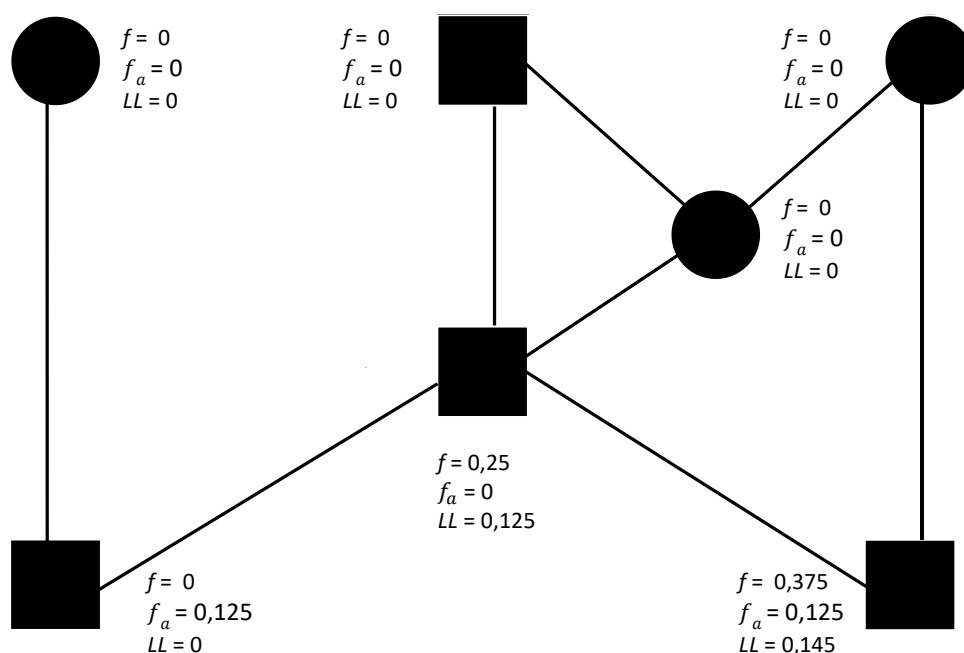
kde:

$f_a$  je koeficient inbreedingu předků pro jedince,

$f$  je koeficient inbreedingu,

indexy  $s$  a  $d$  představují tyto hodnoty pro otce (sire) a matku (dame) daného jedince.

Hodnota  $f_a$  jedince je pak podíl genomu jeho rodiče, který byl dříve vystaven příbuzenské plemenitbě ( $f_a$  rodiče), plus vliv koeficientu příbuzenské plemenitby rodiče na podíl, který dříve vystaven nebyl, zprůměrovaný u obou rodičů. Pohybuje se v intervalu  $(0; 1)$ .



Obrázek 6: Výpočet koeficientů příbuzenské plemenitby  $f$ ,  $f_a$  a letální recesivní homozygotnosti  $LL$  pro jednoduchý rodokmen (Ballou 1997 – upraveno Kadlecová 2024).

V případě, že jsou koeficienty příbuzenské plemenitby v rámci daného plemene vysoké, lze se rozhodnout pro zapojení příbuzného plemene do páření za účelem snížení průměrné úrovně příbuznosti mezi jedinci (Wilmot et al. 2023).

### 3.6.4 Matice příbuznosti

Odhady příbuzenských vztahů mezi jedinci jsou pro genetické hodnocení zásadní. Dříve tento účel plnila matice příbuznosti  $A$ . V kombinaci s genetickým rozptylem  $\sigma_u^2$  by rozptyl plemenných hodnot  $u$  definován jako  $Var(u) = A\sigma_u^2$ . Matice  $A$  je založena na myšlence identity podle původu a je vytvořena sledováním toku genů v rámci rodokmenu. Prvky  $A$  jsou dvojnásobkem koeficientu příbuznosti, což jsou pravděpodobnosti, které omezují rozsah prvků v  $A$  na  $[0,2]$ . U zakladatelů, neboli nejvzdálenější množiny předků s neznámým rodokmenem, se předpokládá, že jsou náhodně vybranými jedinci z populace nacházející se v Hardyho-Weinbergově rovnováze (Tier et al. 2015).

Gyoache et al. (2003) ve své studii využívají průměrný koeficient příbuznosti (AR) každého jedince. Jedná se o průměr koeficientů v řádku odpovídajícím danému jedinci v matici příbuznosti ( $A$ ). U zakladatelských jedinců lze AR vypočítat tak, že každému jedinci přiřadíme hodnotu 1 za příslušnost k populaci, 1/2 za každého syna zvířete v této populaci, 1/4 za každého vnuka a tak dále, a vážíme podle velikosti populace. AR tak indikuje genetický přínos zakladatelů do populace a lze ho použít jako index pro zachování počátečního genetického fondu stejně jako pro porovnání příbuzenství mezi subpopulacemi. Autoři poukazují na to, že samotný inbreeding není nejlepším ukazatelem rizika ztráty genetické rozmanitosti v populaci. Když je populace otevřená pro imigraci nových jedinců s neznámým původem, není možné adekvátně posoudit skutečnou úroveň příbuzenství (a tedy i efektivní velikost) na úrovni populace. V takové situaci může nezaznamenaný genetický drift vést ke ztrátám genetické rozmanitosti. Navíc je obtížné řešit problémy vyplývající z vysokých koeficientů příbuzenství, kdy populace nevykazuje genetickou strukturu. Parametry jako AR lze použít jako alternativu nebo doplněk ke koeficientu inbreedingu k predikci dlouhodobého příbuzenství populace a navrhnout změny v managementu k zachování genetického složení populace.

#### 3.6.4.1 Znázornění matice $A$

Zohledněním genotypů v rámci odhadů genetické variability je možné sestavit matici  $A$  realizovaných vztahů mezi jedinci. Tato matice je založena na částech genomu, které jsou shodné původem mezi dvěma jedinci. Nahrazením matice vztahů realizovanými vztahy lze docílit zvýšení přesnosti odhadů plemenných hodnot, a to zejména u jedinců s chybějícími fenotypovými údaji (Hayes et al. 2009b).

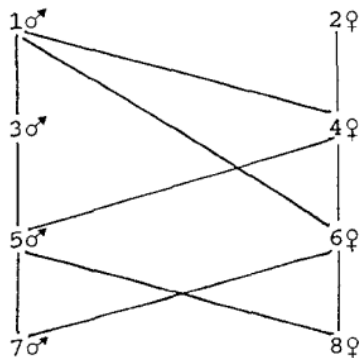
Kovarianční matice plemenných hodnot (zahrnující genomické informace) je definována jako  $Var(u) = A\sigma_u^2$  podle polygenního nekonečného modelu dědičnosti, kde  $A$  představuje matici příbuzenských vztahů založenou na rodokmenu.

#### 3.6.4.2 Metoda podle Fernando a Grossman (1990)

Před prohloubením informací o DNA bylo genetické hodnocení zvířat a rostlin prováděno pomocí modelu BLUP (Best Linear Unbiased Prediction), který byl tvořen s využitím matice příbuznosti mezi aditivními genotypovými hodnotami jedinců. Tato matice ( $A$ ) byla úměrná matici vztahů čitatele odvozené z rodokmenu (Gianola et al. 2018). Studie Fernanda a Grossmana (1990) se zaměřuje na použití metody BLUP pro genetické hodnocení v přítomnosti

autosomální a X-chromozomální aditivní dědičnosti. Předpokladem práce byla rovnost aditivních efektů pro stejné alely u samců i samic.

Pro vlastnost stanovenou mnoha lokusy je aditivní genetická variabilita pro neinbrední samice ( $\sigma_F^2$ ) dvojnásobná oproti aditivní genetické variabilitě pro samce ( $\sigma_M^2$ ). Variabilita pro inbrední samice je  $(\sigma_F^2)1 + f$ , kde  $f$  je koeficient příbuznosti pro X-chromozomální lokusy. Sourozenský vztah mezi samcem a samicí pak vyjadřuje pravděpodobnost, že alela X u samce M je dědičně identická s náhodně vybranou alelou od samice F. Pro vlastnost určenou mnoha takovými lokusy je aditivní genetická kovariance mezi samci  $\frac{1}{2}(\sigma_F^2)$ , mezi samicemi  $2(\sigma_F^2)r_{FF}$ , a mezi samcem a samicí  $(\sigma_F^2)r_{MF}$ .



Individual	Parents
1♂	unknown
2♀	unknown
3♂	1 and unknown
4♀	1 and 2
5♂	3 and 4
6♀	1 and 4
7♂	5 and 6
8♀	5 and 6

Obrázek 7 (vlevo): Inbrední rodokmen, kde jsou jedinci rozlišeni podle pohlaví

Obrázek 8 (vpravo): Přepsání jedinci a jejich rodiče z obrázku 7

Studie vycházela z předpokládaného rodokmenu (Obrázek 7). Pro sestavení matice S (Obrázek 9) jsou nastaveny následující pravidla:

1. Číslování jednotlivců tak, aby potomci následovali rodiče.
2. Pro samice nastavte diagonální prvky na 1.
3. Pro samce nastavte diagonální prvky na  $\frac{1}{2}$ .
4. Pro samici  $i$  s matkou  $m$  a otcem  $p$  je prvek  $j$  v řádku  $i$  ( $s_{ij}$ ) v matici S počítán jako:

$$s_{ij} = \frac{1}{2}s_{mj} + s_{pj}, \text{ pro } j = 1, \dots, i - 1.$$

4.1 Prvky ve sloupci  $i$  jsou získány symetricky podle řádku  $i$ .

5. Pro samce  $i$  s matkou  $m$  je prvek  $s_{ij}$  počítán jako:

$$s_{ij} = \frac{1}{2}s_{mj}, \text{ pro } j = 1, \dots, i - 1.$$

Diagonální prvky na  $\frac{1}{2}$  pro samce 1, 3, 5 a 7. Pro samice 2, 4, 6 a 8 se budou diagonální prvky rovnat 1. Prvky mimo diagonálu pro horní levou 2x2 submatici jsou nulové, protože jednotlivci z výchozí populace 1 a 2 jsou považováni za nepříbuzné. Hodnoty řádku pro samce 3 jsou nulové, protože jeho matka je neznámá. Každá hodnota řádku pro samici 4 je získána jako polovina odpovídající hodnoty v řádku 2 plus odpovídající hodnotě v řádku 1. Každá hodnota řádku pro samce 5 je získána jako polovina odpovídající hodnoty v řádku 4. Každý prvek řádku pro samici 6 je získán obdobným způsobem jako řádek 4, s tím rozdílem, že jsou použity řádky 4 a 1. Rodiče samice 6 jsou příbuzní, proto bude hodnota  $S_{41} = \frac{1}{2}$  přidána k

diagonálnímu prvku pro samici 6. Prvky v řádcích a sloupcích 7 a 8 jsou získány obdobným způsobem.

	1♂	2♀	3♂	4♀	5♂	6♀	7♂	8♀
1♂	1/2	0	0	1/2	1/4	3/4	3/8	5/8
2♀	0	1	0	1/2	1/4	1/4	1/8	3/8
3♂	0	0	1/2	0	0	0	0	0
4♀	1/2	1/2	0	1	1/2	1	1/2	1
5♂	1/4	1/4	0	1/2	1/2	1/2	1/4	3/4
6♀	3/4	1/4	0	1	1/2	1+1/2	3/4	5/4
7♂	3/8	1/8	0	1/2	1/4	3/4	1/2	5/8
8♀	5/8	3/8	0	1	3/4	5/4	5/8	1+1/2

Obrázek 9: S matice vytvořená na základě údajů z rodokmenu (obrázek 8)

Autoři na základě matice S pro X-chromozomální lokusy vyvinuli algoritmus pro výpočet inverze matice S, což umožnilo zohlednit dědičnost X-chromozomů při genetickém hodnocení tím, že do výpočtů byly zahrnuty kromě aditivních efektů autozomů i X-chromozomální aditivní efekty. Tento postup vede ke zvýšení počtu rovnic smíšeného modelu o počet jedinců v rodokmenu. Pro jediný autosomální lokus dosáhne křížená populace genotypové rovnováhy po jedné nebo dvou generacích náhodného páření, zatímco pro jediný X-chromozomální lokus dosáhne populace rovnováhy za nekonečně dlouhou dobu.

#### 3.6.4.3 Genomická matice

Bylo navrženo mnoho genomických odhadů koeficientu příbuzenské plemenitby a neexistuje shoda na tom, který je nejvhodnější (Goudet et al. 2018). Míry příbuzenské plemenitby lze odhadnout i s využitím z diagonálních prvků matice genomických vztahů.

Příbuzenské vztahy, zohledněné v rodokmenové matici A, představují očekávanou podobnost genomu dvou jedinců. Realizované relace se od tohoto očekávání mohou lišit, protože velikost genomu je konečná a lokusy jsou propojené (VanRaden 2008). Zjištěné odchylky jsou jedním z důvodů pro zvýšení přesnosti genomických plemenných hodnot. Čím menší je příbuznost mezi jedinci, tím vyšší je variační koeficient pro jejich skutečnou příbuznost. Matice genomické příbuznosti G (někdy uváděna jako GMR) je tedy odhadem správného podílu genomu sdíleného mezi dvěma jedinci. G je tedy kovarianční matice nezávislá na rodokmenu a odhaduje se na základě SNP jedinců (Klímová et al. 2020), jinými slovy z počtu minoritních alel. Je důležitou složkou ve smíšených modelech a zobecněných smíšených modelech pro analýzy a předpovědi v genetice (Schlather 2020).

Bauer et al. (2016) provedli studii, která analyzovala 48 starokladrubských koní genotypizovaných pomocí čipu Illumina Equine SNP70 BeadChip z hlediska užitečnosti genomických dat při určování plánu páření. Pro možnost porovnání genomických a běžně hodnocených příbuzenských vztahů autoři zkonstruovali matici příbuzenských vztahů založenou na údajích z rodokmenu. Následně byla vytvořena genomická matice očištěná od rodokmenových údajů. Všechny matice byly důkladně zkontrolovány a bylo vybráno nejvhodnější nastavení parametrů. Po vyhodnocení získaných údajů bylo autory potvrzeno, že genotypování pomocí biočipů a výpočet genomické matice lze úspěšně implementovat do nástrojů pro zpřesnění přípařovacího plánu starokladrubských koní.

#### 3.6.4.3.1 GBLUP

Jedním z konkrétních využití genomické matice příbuznosti je zpřesnění modelu BLUP. S příchodem studií o DNA byl zaveden model GBLUP. Rozdíl mezi BLUP a GBLUP spočívá v tom, že matice  $A$  je v modelu GBLUP nahrazena maticí ( $G$ ) založenou na markerech genomických párových podobností známou jako „matice vztahů genomu“. Další rozdíl spočívá v nahrazení aditivní genetické variance  $\sigma_A^2$  v BLUP za genomickou varianci  $\sigma_G^2$  v GBLUP (Gianola et al. 2018).

Nahrazení původní metody BLUP metodou GBLUP má teoreticky 2 výhody. Očekávané podobnosti v BLUP, vypočítané na základě teoretického evolučního procesu (ve kterém existuje např. náhodné páření), jsou nahrazeny realizovanými podobnostmi v GBLUP. Navíc, na rozdíl od rodinně specifické v BLUP, v GBLUP mohou být realizované podobnosti párově specifické (Gianola et al. 2018).

## 4 Metodika

Na základě rodokmenových údajů byly odhadnuty koeficienty příbuzenské plemenitby pro autosomální chromozomy ( $F_x$ ) a chromozom X ( $F_xX_{ch}$ ). Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby pro chromozom X a autozomální chromozomy je odlišný, a závisí na poměru samců a samic v rodokmenu. Pro odhad hodnot jednotlivých koeficientů příbuzenské plemenitby byly vyvinuty R skripty. Provedená statistická analýza zahrnovala:

- Výpočet hodnot  $F_xX_{ch}$  pro každého jedince a určení samic podle této hodnoty.
- Výpočet celkových koeficientů inbreedingu  $F_x$  pro autosomální chromozomy.
- Porovnání průměrných hodnot  $F_xX_{ch}$  a  $F_x$ .
- Porovnání koeficientů inbreedingu mezi bělouši a vraníky.
- Výpočet korelace mezi  $F_xX_{ch}$  a  $F_x$ .
- T-test pro porovnání běloušů a vraníků vzhledem k hodnotám  $F_xX_{ch}$ .

Pro analýzu byl využit počítačový program Rstudio verze 4.3.2. V tomto programu byly provedeny všechny statistické analýzy včetně vytvoření grafů. Kalkulace inbreedingu na chromozomu X ( $F_xX_{ch}$ ) byla v Rstudiu provedena pomocí funkce založené na metodách Meuwisen and Luo (1992). K výpočtu autosomálního koeficientu příbuzenské plemenitby ( $F_x$ ) byl použit program CFC (Contribution, Inbreeding, Coancestry) 1.0 (Sargolzaei et al. 2006).

### 4.1 Charakteristika analyzovaných dat

Data byla získána z rodokmenu starokladrubských koní. Soubor byl uložen v excelové podobě Celek\_stkl.csv, došlo tedy ke sloučení hodnot pro každý řádek v jedné buňce a sloupce od sebe odděluje čárka.

Dataset obsahuje 9173 pozorování (řádků) a 8 proměnných (sloupců). Původní soubor měl 9021 řádků, ale 9173 pozorování. Bylo tedy třeba provést úpravu dat tak, aby se počty shodovaly. Možným důvodem tohoto problému byly chybějící hodnoty. Bylo tedy nutné prověřit přítomnost chybějících hodnot v jednotlivých sloupcích a rozhodnout se, jak s nimi naložit (například jejich doplnění nebo odstranění). Mezi další úpravy dat můžeme zařadit například transformaci proměnných nebo integraci dat z jiných zdrojů.

V rámci rodokmenu byly zahrnuty následující údaje:

- Identifikátor zvířat (kod): Kvalitativní, jedinečný identifikátor každého koně.
- IČO majitele (ico): Kvalitativní, identifikátor majitele každého koně.
- Otec (o): Kvalitativní, informace o rodičích koně.
- Matka (m): Kvalitativní, informace o rodičích koně.
- Generace (gen): Kvantitativní, číslo generace, ke které kůň patří. V datasetu máme údaje za 55 generací označených čísly 1-55.
- Rok narození (rok): Kvantitativní, rok, ve kterém se kůň narodil.
- Plemeno (plem): Kvalitativní, informace o plemeni koně. Každé plemeno je charakterizováno konkrétním číslem, přičemž STKL jsou označeny číslem 2 (bělouši) a 3 (vraníci). Pro hodnotu 2 jsme měli 2615 pozorovaných jedinců a pro hodnotu 3 to bylo 2324 pozorovaných jedinců.

- Pohlaví (poh): Kvalitativní, informace o pohlaví koně. Jednotlivá pohlaví jsou určena číselně, buď 1 (samec), anebo 2 (samice). U samců nerozlišujeme, zda se jedná o hřebce nebo valacha.

## 4.2 Popis statistických metod

Pro výpočet koeficientů inbreedingu  $F_x X_{ch}$  jsme použili funkci `meuw_luo_inb`, jejíž algoritmy vycházejí ze studie Meuwisen a Luo (1992). Funkce `meuw_luo_inb` pracuje v programovacím jazyku R Studio. Klasické koeficienty inbreedingu  $F_x$  pak byly vypočteny s pomocí programu CFC 1.0.

Výsledné hodnoty koeficientů  $F_x X_{ch}$  i  $F_x$  porovnávány v R Studiu pomocí základních statistických metod. Při porovnání byly sledovány aritmetické průměry jednak za generace a jednak za roky, nejvyšší a nejnižší hodnoty, minima a maxima. Pro výpočet průměrných hodnot obou koeficientů inbreedingu pak byla použita funkce `aggregate` a `mean()`.

### 4.2.1 Korelační analýza

Korelace je statistický termín používaný k popisu vztahu nebo spojitosti mezi dvěma nebo více proměnnými v datasetu. Korelační koeficient je číselná míra, která kvantifikuje tento vztah mezi proměnnými. Základním cílem korelační analýzy je zjistit, zda existuje nějaká závislost mezi proměnnými a jaký je charakter této závislosti.

Existují různé typy korelačních koeficientů, které se liší v závislosti na typu dat a povaze vztahu mezi proměnnými. Nejběžnějším typem je Pearsonův korelační koeficient, který měří lineární vztah mezi dvěma spojitými proměnnými. Pearsonův korelační koeficient nabývá hodnot od -1 do 1, kde:

- Hodnota blíže k 1 naznačuje silnou pozitivní korelaci, což znamená, že pokud se hodnota jedné proměnné zvyšuje, zvyšuje se také hodnota druhé proměnné.
- Hodnota blíže k -1 naznačuje silnou negativní korelaci, pakliže se hodnota jedné proměnné zvyšuje, snižuje se hodnota druhé proměnné.
- Hodnota blíže k 0 naznačuje slabou nebo žádnou korelaci mezi proměnnými.

Dalšími typy korelačních koeficientů jsou například Spearmanův a Kendallův korelační koeficient, které se používají pro nejednotková data nebo v případě, kdy lineární vztah není vhodný. Celkově je korelační koeficient užitečným nástrojem pro pochopení vztahů mezi proměnnými v datasetu a může poskytnout důležité informace pro analýzu a modelování dat.

Korelační analýza pro průměrné hodnoty  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  u plemene STKL v letech 1744 až 2017 byla provedena v R-studiu. Použitím funkce `cor()` přímo na námi zvolený dataset lze vytvořit korelační matici mezi všemi numerickými proměnnými v datasetu. Matice korelací je tabulka, která obsahuje korelační koeficienty mezi všemi páry proměnných v datasetu. Každá hodnota v matici reprezentuje korelační koeficient mezi danými dvěma proměnnými. Matice je symetrická podél hlavní diagonály a obsahuje korelace mezi všemi kombinacemi proměnných.



## 4.2.2 T-test

T-test je statistická metoda používaná k porovnání průměrů mezi dvěma skupinami. Tento test je založen na normálním rozdělení dat a testuje nulovou hypotézu, že neexistuje žádný rozdíl mezi průměry obou skupin. V případě, že je nalezen signifikantní rozdíl mezi průměry, t-test naznačuje, že tento rozdíl není pravděpodobně způsoben pouhou náhodou.

V R-studiu provedeme nezávislý dvouvýběrový t-test pro porovnání průměrů hodnot  $F_x X_{ch}$  u běloušů a vraníků v průběhu let. Při provedení tohoto t-testu formulujeme nulovou hypotézu ( $H_0$ ), že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi průměry koeficientů  $F_x X_{ch}$  u běloušů a vraníků, a alternativní hypotézu ( $H_A$ ), že existuje statisticky významný rozdíl mezi průměry těchto dvou skupin. Zjednodušeně:

- Nulová hypotéza ( $H_0$ ): Průměr  $F_x X_{ch}$  u běloušů = Průměr  $F_x X_{ch}$  u vraníků
- Alternativní hypotéza ( $H_A$ ): Průměr  $F_x X_{ch}$  u běloušů  $\neq$  Průměr  $F_x X_{ch}$  u vraníků

T-test nám poskytne hodnotu t-statistiky a p-hodnotu. Pokud je p-hodnota nižší než určená hladina významnosti (často 0,05), zamítneme nulovou hypotézu a interpretujeme to jako důkaz pro existenci rozdílu mezi průměry běloušů a vraníků. Naopak, pokud je p-hodnota vyšší než hladina významnosti, nemáme dostatečné důkazy k zamítnutí nulové hypotézy a neinterpretujeme to jako důkaz pro existenci rozdílu mezi průměry obou skupin.

## 4.3 Příprava dat

Data byla získána ze dvou CSV souborů, Celek\_stkl.csv a rod\_cor.csv, které obsahují informace o rodičích, pohlaví, plemeni, roku narození a generaci zvířat. Původní soubor Celek\_stkl.csv měl 9021 pozorování s tím, že chyběly údaje o jedincích 1316-1467. Bylo tedy třeba jej upravit pomocí souboru rod\_cor, který chybějící údaje doplnil o pseudozakladatele, tzn. k chybějícím jedincům doplnil informace o rodičích a pohlaví. Touto úpravou jsme získali opravený soubor rod.csv obsahující 9173 pozorování, se kterým bylo následně pracováno jak v R Studiu tak v programu CFC 1.0.

## 4.4 Výpočet hodnot $F_x X_{ch}$ a určení samic

Výpočet hodnot  $F_x X_{ch}$  byl proveden v R Studiu. Funkce `meuw_luo_inb()` vypočítává koeficienty inbreedingu  $F_x X_{ch}$  pro každého jedince na základě jejich rodokmenových údajů. Inicializuje proměnné a vektor `F` pro ukládání koeficientů inbreedingu. Poté prochází každého jedince v zadaném seznamu jedinců. Pokud je jedinec samec (`sex[i] == 1`), vypočítává koeficient inbreedingu na základě jeho otce. Pokud je jedinec samice, vypočítává koeficient inbreedingu na základě obou rodičů. V případě, že je jedinec neinbrední, koeficient inbreedingu je nastaven na 0. Naopak v případě inbredního jedince se postupně vypočítávají koeficienty inbreedingu pomocí algoritmu procházení rodokmenu.

Vypočtené hodnoty  $F_x X_{ch}$  byly přidány jako nová proměnná k datasetu s opraveným počtem řádků. Ten byl dále upraven tak, že jsme v něm ponechali pouze dvě pro nás důležité proměnné, `animal` a  $F_x X_{ch}$ . Rod byl sloučen přes funkci `merge()` s původním souborem `rod.vse`. Pro selekci jedinců s konkrétními hodnotami jsme nainstalovali balíček `dplyr`, který poskytuje užitečné funkce pro manipulaci s daty pomocí příkazu `install.packages("dplyr")`. Balíček jsme nahráli do Rstudia přes funkci `library(dplyr)`. V příkazu jsme upřesnili podmínku, že hodnota

inbreedingu ( $F_x X_{ch}$ ) musí být větší než -0.5, což odpovídá samicím, protože samci mají vypočtenou hodnotu  $F_x X_{ch}$  -0.5. Hodnota -0.5 pro samce vypočítaná pomocí funkce `meuw_luo_inb()` je obvykle používána jako implicitní neboli referenční hodnota pro samce v rodokmenu, kteří nejsou inbrední. Koeficient inbreedingu ( $F_x X_{ch}$ ) měří míru genetického příbuzenství mezi jedinci. U samců, kteří nejsou inbrední, nemá smysl počítat hodnotu inbreedingu, protože nemají dva chromozomy X. Proto je jim přiřazena tato standardní hodnota -0.5. Tato hodnota může být považována za neutrální, neboť samec nemůže být inbrední protože nemá XX, ale XY. Tím, že samci mají hodnotu  $F_x X_{ch}$  nastavenou na -0.5, je zajištěno, že výsledný výpočet inbreedingu bude korektní pro samice a zohlední jejich potomky a případné příbuzenské vztahy v rodokmenu.

Pro kontrolu vybraných řádků může být použita funkce `print()`. Zmíněným postupem jsou vybrány pouze samice z datasetu `rod`, které mají hodnotu inbreedingu větší než -0.5. Získané výsledky byly uloženy do nového datasetu, který jsme použili pro další analýzy. Pro analýzu dat a výpočet průměrů za jednotlivé roky byla nejprve provedena zarovnání datových rámců `rod.samice` a `rod.vse`, aby byly zahrnuty pouze řádky, které existují v obou datových rámcích. K tomu byla využita funkce `intersect()`, která vrátila společné řádky mezi oběma datovými soubory. Funkce `intersect()` slouží k nalezení společných řádků mezi dvěma datovými rámy. Následně byl vytvořen nový datový rámec `rod.samice.rok`, který obsahoval pouze sloupce "rok", "animal" a " $F_x X_{ch}$ " pro společné řádky z obou zmíněných datových rámců. Název nově vytvořeného datového rámce byl zvolen tak, aby jeho název jasně vystihoval jeho obsah a účel, jímž byla filtrace sloupců potřebných pro další výpočty. Nakonec byly řádky v novém datovém rámci seřazeny vzestupně podle roku s pomocí funkce `order()`. Tím bylo zajištěno, že data budou přehledně uspořádána podle časového parametru

## 4.5 Výpočet hodnot $F_x$

Výpočet hodnot koeficientů  $F_x$  pro autosomální chromozomy jsem provedli v programu CFC 1.0. Vstupní data byla z původního rodokmenu `celek_stkl.csv` upravena tak, aby splňovala podmínky nastavené tímto programem. Jednalo se o výběr a přejmenování konkrétních sloupců. Nově vzniklý soubor obsahoval hodnoty ve sloupcích: Progeny (identifikace potomstva), Sire (identifikace otce), Dam (identifikace matky) a Group (skupina). Sloupec Group může volitelně sloužit k seskupení jedinců, například: rok narození, stádo, pohlaví, příbuzná skupina nebo cokoli jiného. Hodnota Group musí být celé číslo v rozmezí od 0 do 3000 a tečka (.) pro neznámou skupinu (chybějící údaje).

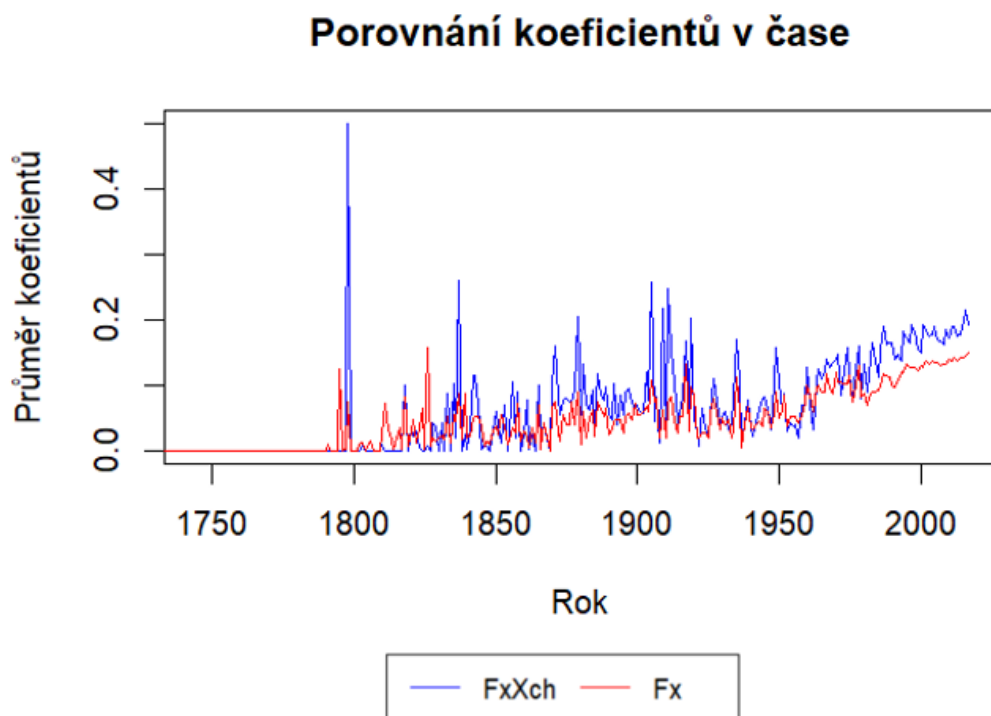
## 5 Výsledky

Do R Studia byla data nahrána tak, aby s nimi bylo možno pracovat jako s datasetem. V datasetu jsou pro další úpravy důležité identifikátory jednotlivých zvířat (animal), rok jejich narození (rok), generace (gen), a jejich pohlaví (sex).

### 5.1 Porovnání $F_x X_{ch}$ / $F_x$

V R-studiu byl přes funkci plot() vytvořen čárový graf, který porovnává průměrné hodnoty koeficientu  $F_x X_{ch}$  a koeficientu  $F_x$  v průběhu let. Na ose x je zobrazen rok, zatímco na ose y jsou průměrné hodnoty koeficientu  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$ . Modrou čarou jsou zobrazeny průměrné hodnoty  $F_x X_{ch}$ , zatímco červenou čarou jsou zobrazeny průměrné hodnoty  $F_x$ . Graf je titulován "Porovnání koeficientů v průběhu času". Rozsah osy x byl omezen na rozmezí let od 1744 do 2017. Každý bod grafu reprezentuje průměrnou hodnotu jedné z těchto proměnných v daném roce. Body spojeny čarami a tyto spojnice ukazují trend vývoje průměrů mezi jednotlivými lety.

Graf ukazuje, že průměrné hodnoty  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  se v průběhu let měnily. Například pokud se čáry průměrů  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  postupně zvyšují, naznačuje to rostoucí tendenci těchto průměrů v průběhu času. Naopak pokles trendu by naznačoval pokles průměrných hodnot. Graf tedy poskytuje vizuální podporu pro interpretaci vývoje průměrů  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  v průběhu let a umožňuje snadnou identifikaci jakýchkoli dlouhodobých trendů nebo vzorů.



Graf 1: Porovnání změn průměrů koeficientů  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  v průběhu času (Kadlecová 2024)

Popisná statistika získaná pomocí funkce `summary()` na základě hodnot průměrů  $F_x X_{ch}$  zahrnuje několik klíčových informací:

- **Minimální hodnota (Min):** Nejmenší zjištěná hodnota  $F_x X_{ch}$  pro bělouše v průběhu let.
- **První kvartil (1st Qu):** Hodnota, která dělí uspořádaný dataset na první čtvrtinu dat. Tj. 25 % dat je menších než hodnota prvního kvartilu.
- **Medián (Median):** Střední hodnota datové sady, kdy polovina hodnot je menší než medián a polovina je větší.
- **Průměr (Mean):** Aritmetický průměr hodnot  $F_x X_{ch}$  pro bělouše v průběhu let.
- **Třetí kvartil (3rd Qu):** Hodnota, která dělí uspořádaný dataset na třetí čtvrtinu dat. Tj. 75 % dat je menších než hodnota třetího kvartilu.
- **Maximální hodnota (Max):** Nejvyšší zjištěná hodnota.

Tato popisná statistika nám v našem případě poskytuje přehled o rozložení hodnot  $F_x X_{ch}$  pro bělouše v průběhu let a umožňuje vám porovnat průměrnou hodnotu s ostatními charakteristikami dat. Konkrétní hodnoty popsanych parametrů nám vyšly následovně:

Tabulka 3: Konkrétní hodnoty pro průměry  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$  (Kadlecová 2024)

	Min	1st Qu	Median	Mean	3rd Qu	Max
<b><math>F_x X_{ch}</math></b>	0,0000	0,0000	0,05189	0,0683	0,1118	0,5000
<b><math>F_x</math></b>	0,0000	0,0113	0,0432	0,0507	0,0822	0,1566

Pro proměnnou  $F_x X_{ch}$ :

Nejnižší pozorovaná hodnota je 0,0000, což naznačuje, že některé hodnoty jsou nulové. První kvartil je také 0,0000, což může znamenat, že čtvrtina dat má hodnoty blízko nebo rovny nule. Střední hodnota 0,0519 ukazuje na střední hodnotu rozložení dat, aritmetický průměr 0,0683. 75 % dat leží pod hodnotu třetího kvartilu 0,1118. Naproti tomu maximální pozorovaná hodnota je 0,5000, což naznačuje, že některé hodnoty jsou relativně vysoké.

Pro proměnnou  $F_x$ :

Nejnižší pozorovaná hodnota je stejně jako u proměnné  $F_x X_{ch}$  0,0000. Podle výsledku prvního kvartilu lze tvrdit, že 25 % dat má hodnoty blízko nebo rovny hodnotě 0,0113.

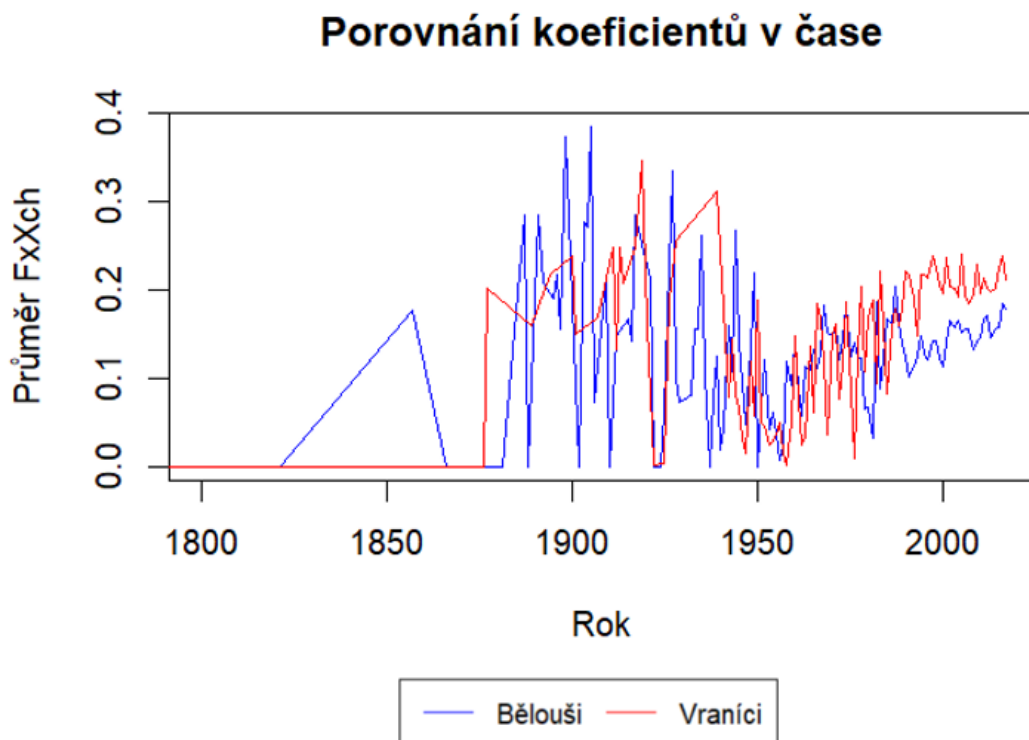
Medián vyšel 0,0432, průměr pak 0,0507. 75 % dat se nachází pod hodnotou 0,0822 a maximální pozorovaná hodnota je 0,1566.

Z porovnání deskriptivní statistiky lze vidět, že průměrná hodnota proměnné  $F_x X_{ch}$  je vyšší než průměrná hodnota  $F_x$ . To může naznačovat odlišnosti ve významu nebo rozložení těchto dvou proměnných v analyzovaném datasetu. Vzhledem k tomu, že průměrná hodnota  $F_x X_{ch}$  je vyšší, může to naznačovat, že proměnná  $F_x X_{ch}$  má tendenci nabývat vyšších hodnot než proměnná  $F_x$ . Je však třeba provést další analýzu a interpretaci v kontextu daného výzkumu.

## 5.2 Porovnání bělouši / vraníci

Podobně jako v předchozí kapitole jsme postupovali při sledování změn mezi průměry koeficientů  $F_x X_{ch}$  u běloušů a vraníků. Graf porovnává průměrné hodnoty koeficientu  $F_x X_{ch}$  pro bělouše (zobrazeny modře) a pro vraníky (zobrazeny červeně) v průběhu let. Na osu x je vyneseno období let, zatímco na ose y jsou průměrné hodnoty koeficientu  $F_x X_{ch}$ . Rozsah osy x je omezen na rozmezí let od 1744 do 2017. Každý bod na grafu představuje průměrnou hodnotu jedné z těchto proměnných v konkrétním roce. Čáry spojující body ukazují trend vývoje průměrných hodnot mezi jednotlivými lety.

Z grafu je patrné, že průměrné hodnoty  $F_x X_{ch}$  pro obě zbarvení se v průběhu let proměňují. Opět platí, že pokud se například čáry průměrů  $F_x X_{ch}$  postupně zvyšují, naznačuje to rostoucí tendenci těchto průměrů v průběhu času. Naopak pokles trendu by signalizoval snížení průměrných hodnot. Tento graf poskytuje vizuální podporu pro interpretaci vývoje průměrů  $F_x X_{ch}$  pro bělouše i vraníky v průběhu let, a umožňuje tak snadnou identifikaci jakýchkoli dlouhodobých trendů nebo vzorů.



Graf 2: Porovnání průměrů koeficientů  $F_x X_{ch}$  mezi bělouši a vraníky STKL v průběhu let (Kadlecová 2024)

Stejně jako v předchozí kapitole získáme konkrétní parametry v rámci popisné statistiky s pomocí funkce summary(). Získáme tak následující údaje:

Tabulka 4: Konkrétní hodnoty pro bělouše a vraníky (Kadlecová 2024)

	Min	1st Qu	Median	Mean	3rd Qu	Max
<b>Bělouši</b>	0,0000	0,0801	0,1328	0,1299	0,1634	0,3852
<b>Vraníci</b>	0,0000	0,0763	0,1647	0,1456	0,2060	0,3461

Nejnižší pozorovaná hodnota je 0.0000 pro bělouše i vraníky, což naznačuje, že některé hodnoty jsou nulové. 25 % dat má hodnoty blízko nebo rovny hodnotám 0,0801 pro bělouše a 0,0763 pro vraníky. Střední hodnota pro bělouše je 0,1328, zatímco pro vraníky 0,1647. Průměrná hodnota je 0,1299 pro bělouše a 0,1456 pro vraníky. 75 % dat leží pod hodnotou třetího kvartilu, která je 0,1634 pro bělouše a 0,2060 pro vraníky. Naproti tomu maximální pozorovaná hodnota je 0,3852 pro bělouše a 0,3461 pro vraníky, což naznačuje, že některé hodnoty jsou relativně vysoké.

Z porovnání deskriptivní statistiky lze vidět, že průměrná hodnota proměnné  $F_x X_{ch}$  pro bělouše je nižší než průměrná hodnota pro vraníky. To může naznačovat odlišnosti ve významu nebo rozložení těchto dvou proměnných v analyzovaném datasetu. Vzhledem k tomu, že průměrná hodnota  $F_x X_{ch}$  pro bělouše je nižší, může to naznačovat, že bělouši mají tendenci nabývat nižších hodnot  $F_x X_{ch}$  než vraníci. Je však třeba provést další analýzu a interpretaci v kontextu daného výzkumu.

### 5.3 Korelace pro $F_x X_{ch}$ a $F_x$

Po spuštění analýzy vyšla hodnota korelačního koeficientu **0,5788** pro období mezi lety 2000 a 2017. Tato hodnota korelačního koeficientu indikuje středně silnou pozitivní korelaci mezi proměnnými průměry koeficientů  $F_x X_{ch}$  a průměry koeficientů  $F_x$ .

Existuje mírně silná tendence, že když se hodnoty průměrů  $F_x X_{ch}$  zvyšují, zvyšují se i hodnoty průměrů  $F_x$ , a naopak. Jinými slovy, pokud se průměrná hodnota  $F_x X_{ch}$  zvýší, pravděpodobně se zvýší i průměrná hodnota  $F_x$ . Protože korelační koeficient je kladný, indikuje to, že obě proměnné se pohybují ve stejném směru. Když se hodnota jedné proměnné zvyšuje, pravděpodobně se zvyšuje i hodnota druhé proměnné. Středně silná korelace (korelační koeficient mezi 0,5 a 0,7) naznačuje, že vztah mezi proměnnými je poměrně významný, ale není tak silný jako u hodnot blížících se k 1. To znamená, že proměnné budou propojeny, ale ne tak úzce jako u silné korelace.

Celkově tedy korelační koeficient 0,5788 indikuje, že existuje středně silná pozitivní korelace mezi průměrnými hodnotami  $F_x X_{ch}$  a  $F_x$ , což znamená, že tyto dvě proměnné jsou spojeny a vzájemně ovlivňují.

## 5.4 T-test pro bělouše a vraníky

Program po spuštění analýzy zobrazí 4 proměnné, viz tabulka 5:

Tabulka 5: T-test pro hodnoty  $F_x X_{ch}$  u běloušů a vraníků (Kadlecová 2024)

t-statistic	p-hodnota	průměr $F_x X_{ch}$ bělouši	průměr $F_x X_{ch}$ vraníci
<b>-1,4268</b>	0,1552	0,1299	0,1457

Hodnota t-statistic -1,4267 naznačuje, že rozdíl mezi průměry dvou skupin je -1,4267 standardních odchylek. Jelikož je záporná, naznačuje, že průměr koeficientů  $F_x X_{ch}$  u běloušů je nižší než průměr u vraníků. P-hodnota 0,1552 představuje pravděpodobnost pozorování t-testu za podmínek nulové hypotézy, že neexistuje žádný rozdíl mezi průměry dvou skupin. P-hodnota větší než hladina významnosti (obvykle 0,05) naznačuje slabý důkaz proti nulové hypotéze. Na základě těchto výsledků lze tvrdit, že rozdíl mezi průměry obou skupin není statisticky významný na hladině významnosti 0,05 (protože p-hodnota > 0,05). Existují slabé důkazy, které naznačují rozdíl mezi průměry obou skupin. Ty ale nejsou dostatečně silné na to, aby se zamítla nulová hypotéza.

## 6 Diskuze

Stejné genetické mutace mohou mít v rámci populace odlišný vliv na samce (XY) a samice (XX). U organismů s heteromorfními pohlavními chromozomy může být situace taková, že geny jsou recesivní u jednoho pohlaví (například u XX samic), zatímco u druhého pohlaví jsou tyto geny nutně dominantní (například u XY samců). To by mohlo systematicky ovlivnit rozdíly v inbrední depresi mezi oběma pohlavími (Ebel & Phillips 2016). Vega-Trejo et al. (2022) uvádějí, že ačkoli zjištěný rozdíl mezi pohlavími nebyl podstatný, zdá se, že samice jsou o něco citlivější na inbrední depresi než samci. Zjistili také to, že závažnost inbrední deprese byla spojena se stupněm inbreedingu, tedy s koeficientem inbreedingu. Jejich výsledky se shodují s naší analýzou. Při porovnání hodnot celkového koeficientu inbreedingu ( $F_x$ ) a koeficientu inbreedingu pro pohlavní chromozom X ( $F_x X_{ch}$ ) u plemene starokladrubských koní jsme zjistili, že v průběhu času vycházejí vyšší hodnoty  $F_x X_{ch}$  než  $F_x$ .

Některé studie naznačují, že až 10 % genetické variability určitých znaků může být přičítáno X chromozomu. V některých případech může být genetická variabilita z X-chromozomálních lokusů podstatná, což je důležité zohlednit při genetickém hodnocení. Metody výpočtu koeficientů příbuznosti jsou dobře popsány pro autosomální lokusy, ale pro X-chromozomální lokusy jsou pravidla méně jasná. Koeficient příbuznosti ( $r$ ) mezi dvěma jedinci je pravděpodobnost, že alela na určitém lokusu na chromozomu X u jednoho jedince je identická dědičně s alelou na tomto lokusu u jiného jedince. Pro autosomální lokusy není nutné rozlišovat pohlaví jedinců, ale pro X-chromozomální lokusy ano. U samic, které mají dva chromozomy X, je alela vybírána náhodně, takže pravděpodobnost získání každé alely je polovina. U samců, kteří mají pouze jeden chromozom X, alela není vybírána náhodně, takže pravděpodobnost získání této alely je 1 (Grossman & Eisen 1989).

Tato diplomová práce prokázala, že příbuzenská plemenitba starokladrubských koní má vliv na genetickou variabilitu u sledované populace. Porovnání hodnot koeficientu inbreedingu pro pohlavní chromozom X mezi bělouši a vraníky naznačuje rozdíly v genetické variabilitě mezi těmito podskupinami, přičemž bělouši mají tendenci mít nižší hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby na chromozomu X než vraníci. Tyto rozdíly jsou ovlivněny zejména historickým vývojem obou barevných variant. Regenerace vrané varianty byla proběhla z menšího počtu jedinců a došlo tedy k užší příbuzenské plemenitbě. Nicméně testování statistické významnosti rozdílu mezi průměry těchto koeficientů neprokázalo signifikantní rozdíl.

Vývoj míry genetické příbuznosti u plemene STKL sledovali mj. Vostrá-Vydrová et al. (2016) a na základě dostupných informací rozdělili sledovanou populaci do několika období podle hodnot koeficientu inbreedingu  $F_x$ . Do roku 1914 byli starokladrubští koně symbolickou součástí Rakousko-uherského impéria. Mezi lety 1914 a 1938 došlo k významnému poklesu populace starokladrubských koní, zejména v černé variantě. V následném období regenerace plemene (1938-1973) došlo ke zvýšení genetické variability populace starokladrubských koní díky páření s jedinci jiných plemen, čtvrté období pak přineslo nárůst populace těchto koní. Po uzavření Plemenné knihy starokladrubských koní v roce 1996 se snížil příliv cizích genů. Tato klíčová období se projevila v hodnotách průměrné míry genetické příbuznosti jednotlivých koní v závislosti na jejich ročníku narození. Průměrná míra příbuznosti každého jedince odpovídá dvojnásobku míry inbreedingu v panmiktické



populaci. Rozdíl mezi průměrnou mírou příbuznosti a dvojnásobkem průměrné hodnoty inbreedingu tedy naznačuje, že páření jedinců v populaci nebylo náhodné. Autoři uvádějí, že zvláště u černých koní lze očekávat růst hodnot míry genetické příbuznosti v dalších generacích na základě porovnání průměrné míry příbuznosti a průměrných hodnot  $F_x$ .

Pro bližší porovnání našich výsledků se závěry, které uvádí Vostrá-Vydrová et al. (2016) jsme pro každé období v rámci vývoje plemene STKL vybrali jeden rok, ke kterému jsme spočítali průměry koeficientů (viz Graf 1 a Graf 2). Přehled těchto hodnot pro jednotlivá data je zobrazen v tabulce 6:

Tabulka 6: Hodnoty koeficientů ve vybraných letech (Kadlecová 2024)

Rok	Počet koní STKL (evidovaní jedinci)	Průměry koeficientů			
		$F_x$	$F_x X_{ch}$	Bělouši ( $F_x X_{ch}$ )	Vraníci ( $F_x X_{ch}$ )
1925	-	0,0204	0,0234	0,0608	0,0043
1950	-	0,0511	0,1052	0,0009	0,1889
1990	610	0,1	0,1663	0,1254	0,2216
2017	1836	0,1489	0,1927	0,1797	0,2125

Z tabulky můžeme vidět, že výsledky našeho výzkumu se s očekávaným závěrem relativně shodují. Statistické analýzy ukazují nárůst hodnot pro koeficienty inbreedingu jak na chromozomu X tak na autozomálních chromozomech, a to pro obě barevné varianty STKL. Nicméně je zajímavé, že kolem roku 1950 došlo k výraznému zvýšení průměru  $F_x X_{ch}$  u vraníků, ale průměry  $F_x X_{ch}$  pro bělouše se snížily. Při porovnání průměrů koeficientů  $F_x$  mezi lety 1925 a 1950 se sice hodnoty zvýšily, ale ne o tolik jako hodnoty  $F_x X_{ch}$  ve stejném časovém období.

Od roku 1990 jsou rostoucí počty koní STKL zaznamenávány v plemenné knize STKL (Šancová & Teplý 2024). A přestože se počet jedinců s každým rokem zvyšuje, hodnoty koeficientů inbreedingu se nesnižují. Klesající tendenci mají pouze průměry koeficientů  $F_x X_{ch}$  u vraníků, ale v porovnání s počtem koní tyto změny nejsou tak značné.

Je dobré položit si otázku, zda jsou zjištěné výsledky specifické pro STKL, anebo zda se jedná o běžný stav napříč plemeny koní bez ohledu na využití daného plemene. V rámci studií Todd et al. (2018) a Hill et al. (2022) byly zkoumány koeficienty inbreedingu a jejich vliv na závodní výkonnost koní. Todd et al. (2018) studovali populaci plnokrevných koní v Austrálii a identifikovali předky s významným genetickým přínosem, což naznačuje nerovnoměrné rozložení genetické zátěže v populaci. Zároveň zjistili, že inbreeding pravděpodobně ovlivnil závodní výkonnost australských plnokrevníků. Hill et al. (2022) potvrdili vliv inbreedingu na schopnost koní účastnit se závodů a upozornili na obtížnost vyhýbání se chovu příbuzných jedinců v populaci.

Pro posouzení genetické rozmanitosti v moderní populaci ruských plnokrevných koní použili Kalashnikov et al. (2020) standardní metody. Sledování odhalilo trend postupného nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby u všech věkových a pohlaví TB koní, který se za sledovaná období (1990-2018) pohyboval v průměru 0,68–0,81–0,90 %. Zjistili tedy, že průměrný koeficient příbuzenské plemenitby plnokrevných koní činil 0,83 % a v průběhu

posledních tří desetiletí se postupně zvyšoval. Stejně změny byly zaznamenány i v rámci naší studie, kdy byl pozorovaný nárůst hodnot koeficientu inbreedingu.

Podobný výzkum uskutečnili i Próchniak et al. (2021), kteří se zaměřili na populační strukturu a genetickou diverzitu teplokrevných koní využívaných v parkurové disciplíně. Pro tento výzkum byla použita rodokmenová data 1048 koní, kteří se účastnili Mistrovství Polska mladých koní. Závěry studie naznačují, že kvalita a rozsah rodokmenu umožňují spolehlivé zhodnocení genetické variability v populaci. I když průměrný koeficient příbuzenské plemenitby dosahoval přijatelné úrovně (přibližně 1,01 %), rostoucí podíl inbredních jedinců je znepokojující. Výsledky ukazují, že moderní sportovní koně jsou potomky omezeného počtu vysoce kvalitních otců, jejichž potomci byli intenzivně používáni v chovu, což naznačuje efekt "úzkého hrdla". Tento jev vedl k většímu snížení genetické variability u následujících generací. S ohledem na tyto trendy by měla být sledována úroveň příbuzenské plemenitby u moderních sportovních koní a informace o původu by měly být efektivně využívány při výběru pro páření.

Výsledky studií prováděných na různých starošpanělských plemenech koní ukázaly podobné trendy jako v této práci. V analýzách provedených Zechnerem et al. (2002) nebo Vicentem et al. (2012) byly zaznamenány vysoké hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby dosahující až 11 %. Tyto výsledky naznačují obecnou tendenci k inbreedingu v konkrétních populacích. Navíc, Cervantes et al. (2008) odhadli vysoký koeficient příbuzenské plemenitby i u španělských arabských koní, což ukazuje, že tento trend není omezen pouze na jedno plemeno.

Pro lepší přehled jsou jednotlivá plemena a u nich zjištěné hodnoty koeficientů inbreedingu (pro autosomální chromozomy) sepsány v následující tabulce:

Tabulka 7: Průměrné hodnoty koeficientů inbreedingu u různých plemen koní (Kadlecová 2024)

Studie	Vincent et al. (2012)	Vostrá-Vydrová et al. (2016)	Kadlecová (2024)	Kalashnikov et al. (2020)	Próchniak et al. (2021)
<b>Plemeno</b>	Starošpanělský kůň	STKL	STKL	Thoroughbred	Polský teplokrevník
<b>Koeficient inbreedingu (v %)</b>	11	13	12,45	0,83	1,01

Z přehledu je patrné, že průměrné hodnoty koeficientů inbreedingu jsou u starokladrubských koní výrazně vyšší, než u teplokrevných koní šlechtěných pro závody. V rámci příbuzných plemen se ale koeficienty pohybují v podobných hodnotách.

Fernández et al. (2005) zdůraznili význam genetické diverzity v plemenech a varovali před její ztrátou způsobenou genetickým driftem a fixací alel. Fixační koeficient ( $F_{ST}$ ) hodnotí rozdílnost subpopulací. Pokud je nízký, subpopulace jsou geneticky shodné.  $F_{ST}$  byl studován v rámci Starokladrubského plemene, kde byla zjištěna nižší hodnota tohoto koeficientu, což může naznačovat potenciální ohrožení genetické diverzity této populace.

Starokladrubský kůň je nejstarším původním českým plemenem koní s rodokmeny sahajícími přes tři staletí. Uzavřená populace vzbuzuje obavu z možné ztráty genetické rozmanitosti. Vzhledem k tomu je preferován chovatelský program založený na genetických analýzách, který důsledně omezuje příbuzenskou plemenitbu. Klíčovými aspekty péče o toto ohrožené plemeno jsou minimalizace míry příbuzenské plemenitby při zachování vyváženého přínosu jednotlivých zakladatelů a udržení původního barokního typu s odpovídajícími morfologickými a užitkovými vlastnostmi. Počet potomků jednoho hřebce není omezen (Vostrá-Vydrová et al. 2016).

Celkově lze konstatovat, že příbuzenská plemenitba a inbreeding mají významný vliv na genetickou variabilitu a zdraví koní. Strategie chovu a selekce musí brát v úvahu tyto faktory a snažit se minimalizovat negativní dopady inbreedingu na populaci koní. Pro stanovení vhodného řízení genetického fondu populace bychom neměli pouze hodnotit míru příbuzenství a pravděpodobnosti původu genů, ale také studovat její strukturu a demografii jako doplňkové téma. Přenos genů mezi jednotlivými chovy daného plemene je statisticky významný faktor pro monitorování plemen. Demografická analýza umožňuje popsat strukturu a dynamiku populací považovaných jako skupinu obnovených jedinců, zdůrazňující důležité okolnosti ovlivňující historii genů populace (Gyoache et al. 2003).

Vostrý et al. (2011) hodnotili genetickou variabilitu uvnitř a mezi liniemi otců STKL pomocí genealogických informací a mikrosatelitních markerů. Analýza DNA na 16 mikrosatelitních lokalitách odhalila genetickou rozmanitost srovnatelnou s ostatními populacemi koní. Byly potvrzeny genetické rozdíly mezi liniemi otců, přičemž hodnoty fixačního koeficientu  $F_{ST}$  se pohybovaly od 0,020 do 0,017. Průměrný koeficient inbreedingu u sledovaných jedinců dosáhl 0,076. Autoři upozorňují na zaznamenané rozdíly při porovnání genetické vzdálenosti a průměrného koeficientu příbuznosti. Tyto závěry tak mohou mít významný dopad na vytváření chovných strategií, protože vytvoření rodičovských párů pouze na základě informací o začlenění jedince do linie se zdá být dostačující při snaze o snížení koeficientu inbreedingu.

## 7 Závěr

Výsledky odhadu koeficientů příbuzenské plemenitby pro autosomální chromozomy ( $F_x$ ) a pohlavní chromozom X ( $F_xX_{ch}$ ) poskytují užitečné informace pro porozumění genetické variability v sledované populaci. Výpočetní metody využívající R scripty umožnily získání těchto koeficientů z rodokmenových dat. Diskutujeme zde statistické charakteristiky obou proměnných a zjištěné rozdíly mezi nimi.

Pro proměnnou  $F_xX_{ch}$  byla zaznamenána nejnižší pozorovaná hodnota 0.0000, což indikuje přítomnost nulových hodnot a nízkou variabilitu. Mohlo se ale zároveň jednat o chybu vlivem neúplného rodokmenu, kdy byly chybějící údaje doplněny pomocí pseudozakladatelů. Střední hodnota 0,0519 naznačuje mírně pozitivní sklon této proměnné. Naopak, proměnná  $F_x$  vykazuje vyšší střední hodnotu 0,0682, což může signalizovat vyšší míru genetické variability v autosomálních chromozomech. Tato interpretace je podpořena také deskriptivní statistikou, která ukazuje, že průměrná hodnota  $F_xX_{ch}$  je nižší než průměrná hodnota  $F_x$ .

Při porovnání genetické variability u  $F_xX_{ch}$  mezi bělouši a vraníky je pozorována podobná tendence. Průměrná hodnota  $F_xX_{ch}$  pro bělouše (0,1328) je nižší než u vraníků (0,1647), což naznačuje, že bělouši mají tendenci mít nižší hodnoty v této proměnné než vraníci.

Analyzováním korelace mezi průměry koeficientů  $F_xX_{ch}$  a  $F_x$  byla zjištěna středně silná pozitivní korelace (0,5788). To naznačuje, že tyto dvě proměnné jsou spojeny a vzájemně se ovlivňují. Tento výsledek podporuje hypotézu o vlivu příbuzenské plemenitby na genetickou variabilitu. Nicméně, testování statistické významnosti rozdílu mezi průměry  $F_xX_{ch}$  u běloušů a vraníků neukázalo statisticky signifikantní rozdíl. P-hodnota (0,1552) naznačuje, že neexistují dostatečné důkazy k zamítnutí nulové hypotézy, což naznačuje, že rozdíl mezi průměry obou skupin není statisticky významný na hladině významnosti 0,05.

Zjištěné výsledky poukazují na složitost vztahů mezi příbuzenskou plemenitbou a genetickou variabilitou a naznačují potřebu dalšího výzkumu pro hlubší porozumění těmto mechanismům.

## 8 Literatura

- Abbott, J. K., Nordén, A. K., & Hansson, B. (2017). Sex chromosome evolution: historical insights and future perspectives. *Proceedings of the Royal Society B*, 284(1854), 20162806.
- Adams, P. E., Crist, A. B., Young, E. M., Willis, J. H., Phillips, P. C., & Fierst, J. L. (2022). Slow Recovery from Inbreeding Depression Generated by the Complex Genetic Architecture of Segregating Deleterious Mutations. *Molecular Biology and Evolution*, 39(1). Available at: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab330>
- Alemu, S. W., Kadri, N. K., Harland, C., Faux, P., Charlier, C., Caballero, A., & Druet, T. (2021). An evaluation of inbreeding measures using a whole-genome sequenced cattle pedigree. *Heredity*, 126, 410-423.
- Angleby, H., & Savolainen, P. (2005). Forensic informativity of domestic dog mtDNA control region sequences. *Forensic Science International*, 154(2-3), 99-110.
- Avise, J. C. (2012). *Molecular markers, natural history and evolution*. Springer Science & Business Media.
- Bachtrog, D. (2006). A dynamic view of sex chromosome evolution. *Current Opinion in Genetics & Development*, 16(6), 578-585.
- Bailey, E., & Binns, M. M. (1998). The Horse Gene Map. *ILAR Journal*, 39(2-3), 171-176.
- Ballou, J. D. (1997). Ancestral Inbreeding Only Minimally Affects Inbreeding Depression in Mammalian Populations. *Journal of Heredity*, 8, 169-178.
- Barker, G. C. (2002). Microsatellite DNA: a tool for population genetic analysis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 96(1), 21-24. ISSN 0035-9203.
- Bauer, J., Příbyl, J., & Vostrý, L. (2016). Preliminary analysis of utilization of genomic relationship in mating plan of Old Kladruber horse. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 19, 80-86.
- Beuzen, N. D., Stear, M. J., & Chang, K. C. (2000). Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*, 160(1), 42-52.
- Bezdiček, J., Louda, F., & Šubrt, J. (2010). *Vliv inbrední deprese na znaky reprodukce*. Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Rapotín. ISBN 978-80-87144-17-6.
- Birchler, J. A., Yao, H., & Chudalayandi, S. (2006). Unraveling the genetic basis of hybrid vigor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), 12957-12958.
- Bjelland, D. W., Weigel, K. A., Vukasinovic, N., & Nkrumah, J. D. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole-genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *Journal of Dairy Science*, 96, 4697-4706.
- Blasco, A., & Toro, M. A. (2014). A short critical history of the application of genomics to animal breeding. *Livestock Science*, 166, 4-9.

- Bowling, A. T., Breen, M., Chowdhary, B. P., Hirota, K., Lear, T., Millon, L. V., Ponce de Leon, F. A., Raudsepp, T., & Stranzinger, G. (1997). International system for cytogenetic nomenclature of the domestic horse. *Chromosome Research*, 5(7), 433-443.
- Brookes, A. (1999). The Essence of SNPs. *Gene*, 234, 177-186.
- Bugno-Poniewierska M, Raudsepp T. 2021. Horse Clinical Cytogenetics: Recurrent Themes and Novel Findings. *Animals (Basel)* 11(3):831.
- Caballero, A., Villanueva, B., & Druet, T. (2020). On the estimation of inbreeding depression using different measures of inbreeding from molecular markers. *Evolutionary Applications*, 00, 1-13.
- Calderón, R., Aresti, U., Ambrosio, B., & González-Martín, A. (2009). Inbreeding Coefficients for X-linked and Autosomal Genes in Consanguineous Marriages in Spanish Populations: The Case of Guipúzcoa (Basque Country). *Annals of Human Genetics*, 73, 184-195.
- Carrel, L., & Willard, H. (2005). X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature*, 434, 400-404.
- Cassell, B. G., Adamec, V., & Pearson, R. E. (2003). Effect of Incomplete Pedigrees on Estimates of Inbreeding and Inbreeding Depression for Days to First Service and Summit Milk Yield in Holsteins and Jerseys. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2967-2976.
- Cervantes, I., Molina, A., Goyache, F., Gutiérrez, J. P., & Valera, M. (2008). Population history and genetic variability in the Spanish Arab Horse assessed via pedigree analysis. *Livestock Science*, 113(1), 24-33.
- Collins, C. W., Songsasen, N. S., Vick, M. M., Wolfe, B. A., Weiss, R. B., Keefer, C. L., & Monfort, S. L. (2012). Abnormal reproductive patterns in Przewalski's mares are associated with a loss in gene diversity. *Molecular Biology Reports*, 86, 1-10.
- Cortez, D., Marin, R., Toledo-Flores, D., Froidevaux, L., Liechti, A., Waters, P. D., ... Kaessmann, H. (2014). Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature*, 508, 488-493.
- Crow, J. F., & Kimura, M. (1970). *Introduction to population genetic theory*. Harper & Row, New York. ISBN 1932846123.
- Cruden, D. (1949). The computation of inbreeding coefficients for closed populations. *The Journal of Heredity*, 248-251.
- DeRose, M. A., & Roff, D. (1999). A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals. *Evolution*, 53, 1288-1292.
- Doekes, H. P., Veerkamp, R. F., Bijma, P., et al. (2019). Inbreeding depression due to recent and ancient inbreeding in Dutch Holstein–Friesian dairy cattle. *Genetics Selection Evolution*, 51, 54.
- Dovc, P., Kavar, T., Sölmner, H., & Achmann, R. (2006). Development of the Lippizan Horse Breed. *Reproduction in Domestic Animals*, 41, 280-285.

- Dušek, J. (1992). Chov koní v Československu. 1. vyd. Ilustrace Jana Capková. Praha: Brázda, 173 s. Živočišná výroba (Brázda). ISBN 80-209-0168-X.
- Dušek, J., a kol. (2007). Chov koní. Brázda, 404 s. ISBN 8020903526.
- Dyková, Z., Fuksa, I., Machek, J., Valenta, V., & Šancová, Z. (2010). Plemenná kniha starokladrubských koní. Národní hřebčín Kladruby nad Labem, 320 s. ISBN – 978 – 80 – 254 – 9004-4.
- Ebel, E. R., & Phillips, P. C. (2016). Intrinsic differences between males and females determine sex-specific consequences of inbreeding. *BMC Evolutionary Biology*, 16, 36. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0604-5>
- Fang, J., & Li, Q. (2023). Examination of the effects of inbreeding on reproductive capacity in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 574. ISSN 0044-8486.
- Fernández, J., Villanueva, B., Pong-Wong, R., & Toro, M. Á. (2005). Efficiency of the use of pedigree and molecular marker information in conservation programs. *Genetics*, 170, 1313-1321.
- Fernando, R. L., & Grossman, M. (1990). Genetic Evaluation with autosomal and X-chromosomal inheritance. *Theoretical and Applied Genetics*, 80, 75-80.
- Fisher, R. A. (1931). The evolution of dominance. *Biological Reviews*, 6, 345-368.
- Flegr, J. (2005). *Evoluční biologie*. Praha: Academia, str. 559. ISBN: 80-200-1270-2.
- Getahun, D., Alemneh, T., Akebergn, D., Getabalew, M., & Zewdie, D. (2019). Importance of hybrid vigor or heterosis for animal breeding. *Biochemistry and Biotechnology Research*, 7(1), 1-4.
- Gianaroli, L., Magli, M. C., & Ferraretti, A. P. (2013). Sex Chromosomes. In Maloy, S., & Hughes, K. (Eds.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)*. Academic Press, 397-400. ISBN 9780080961569.
- Gianola, D., & Rosa, G. J. (2015). One hundred years of statistical developments in animal breeding. *Annual Review of Animal Biosciences*, 3, 19-56.
- Gianola, D., Cecchinato, A., Naya, H., & Schon, C. C. (2018). Prediction of Complex Traits: Robust Alternatives to Best Linear Unbiased Prediction. *Frontiers in Genetics*, 9, 195.
- Goldstein, D. B., & Schlitterer, Ch. (1999). *Microsatellites, Evolution and Applications*. Oxford University Press, 336.
- Gómez, M. D., Valera, M., Molina, A., Gutiérrez, J. P., & Goyache, F. (2009). Assessment of inbreeding depression for body measurements in Spanish Purebred (Andalusian) horses. *Livestock Science*, 122(2-3), 149-155. ISSN 1871-1413.
- Gómez-Romano, F., Villanueva, B., Rodríguez De Cara, M. Á., & Fernández, J. (2013). Maintaining genetic diversity using molecular coancestry: The effect of marker density and effective population size. *Genetics Selection Evolution*, 45, 38.

- Goyache, F., Gutierrez, J. P., Fernandez, I., Gomez, E., Alvarez, I., Diez, J., & Royo, L. J. (2003). Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 120(2), 95-105.
- Grossman, M., & Eisen, E. J. (1989). Inbreeding, Coancestry, and Covariance between Relatives for X-Chromosomal Loci. *Journal of Heredity*, 80, 137-142.
- Gupta, P. K., Varshney, R. K., Sharma, P. C., & Ramesh, B. (1999). Molecular Markers and Their Applications in Wheat Breeding. *Plant Breeding*, 118, 369-390.
- Gusmão L, Brión M, Gomes I. 2008. The human Y chromosome male-specific polymorphisms and forensic genetics In Bogusz MJ. (Ed.). *Handbook of Analytical Separations*. Elsevier Science B.V. 969-1000. ISBN 9780444522146.
- Hagelberg, E., Goldman, N., Lió, P., Whelan, S., Schiefenhövel, W., Clegg, J. B., & Bowden, D. K. (1999). Evidence for mitochondrial DNA recombination in a human population of island Melanesia. *Proceedings of the Royal Society B*, 266, 485-492.
- Haldane, J. B. S. (1922). Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals. *Journal of Genetics*, 12, 101-109.
- Hartl, D. L., Clark, A. G., & Clark, A. G. (1997). *Principles of population genetics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 116, 240.
- Hill, E. W., Stoffel, M. A., McGivney, B. A., MacHugh, D. E., & Pemberton, J. M. (2022). Inbreeding depression and the probability of racing in the Thoroughbred horse. *Proceedings of the Royal Society B*, 289(1977), 20220487.
- Huang, J., Zhao, Y., Shiraigol, W., et al. (2014). Analysis of horse genomes provides insight into the diversification and adaptive evolution of karyotype. *Scientific Reports*, 4, 4958.
- Charlesworth, B., & Charlesworth, D. (1999). The genetic basis of inbreeding depression. *Genetics Research*, 74(3), 329-340.
- Charlesworth, D. (2008). Sex chromosome origins and evolution. *Evolutionary Genomics and Proteomics*, 207-240.
- Cho, R. J., Mindrinos, M., Richards, D. R., et al. (1999). Genome-Wide Mapping with Biallelic Markers in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics*, 23, 203-207.
- Jakubec, V., & Bezdíček, J. (2010). *SeleKce - inbriding - hybridizace*. 1. vyd. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín. ISBN 978-802-6007-036.
- Jakubec, V., & Volenec, J. (2003). Stav, problémy a výhled šlechtění genetického zdroje "Starokladrubský kůň". In *Sborník VÚŽVU NH Kladruby*.
- Jakubec, V., Jelínek, J., Volenec, J., & Záliš, N. (1996). Lineární systém popisu a hodnocení tělesné stavby koní, Modelová aplikace – starokladrubský kůň. *VSCHK Slatiňany, Hipologický věstník č. 1*, 5-32.
- Jinliang, W. (2016). Pedigrees or markers: Which are better in estimating relatedness and inbreeding coefficient? *Theoretical Population Biology*, 107, 4-13. ISSN 0040-5809.



- Kalashnikov, V., Khrabrova, L., Blohina, N., Zaitcev, A., & Kalashnikova, T. (2020). Dynamics of the Inbreeding Coefficient and Homozygosity in Thoroughbred Horses in Russia. *Animals*, 10, 1217. <https://doi.org/10.3390/ani10071217>.
- Kejnovský, E., Hobza, R., Čermák, T., Kubát, Z., & Vyskot, B. (2009). Role repetitivní DNA ve struktuře a evoluci pohlavních chromozomů u rostlin. *Dědičnost*, 102, 533-541.
- Khlestkina, E. K. (2014). Molecular markers in genetic studies and breeding. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 4, 236-244.
- Khlestkina, E. K., & Salina, E. A. (2006). SNP markers: Methods of analysis, ways of development, and comparison on an example of common wheat. *Russian Journal of Genetics*, 42, 585-594.
- Klímová, A., Kasna, E., Machová, K., Brzakova, M., Příbyl, J., & Vostrý, L. (2020). The use of genomic data and imputation methods in dairy cattle breeding. *Czech Journal of Animal Science*, 65, 445-453.
- Lancaster, F. M. (2015). Genetic and quantitative aspects of genealogy. February 2015. Access from <https://www.genetic-genealogy.co.uk/Toc115570144.html>
- Landegren, U., Nilsson, M., & Kwok, P. Y. (1998). Reading bits of genetic information: Methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Research*, 8, 769-776.
- Legarra, A., Aguilar, I., & Misztal, I. (2009). A relationship matrix including full pedigree and genomic information. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4656-4663.
- Leroy, G. (2014). Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Animal Genetics*, 45, 618-628.
- Lucchini, V., Fabbri, E., Marucco, F., Ricci, S., Boitani, L., & Randi, E. (2002). Noninvasive molecular tracking of colonizing wolf (*Canis lupus*) packs in the western Italian Alps. *Molecular Ecology*, 11, 857-868.
- Lutaaya, B. E., Misztal, I., Bertrand, J. K., & Mabry, J. W. (2001). Inbreeding in populations with incomplete pedigrees. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116(6), 475-480.
- Ma, W. J., & Rovatsos, M. (2022). Sex chromosome evolution: The remarkable diversity in the evolutionary rates and mechanisms. *Journal of Evolutionary Biology*, 35(12), 1581-1588.
- Machek, J., & Roubalová, M. *Situační a výhledová zpráva Koně*. Praha: Mze ČR, 2006. ISBN 80-7084-532-5.
- Makino, S., Sofuni, T., & Sasaki, M. S. (1963). A revised study of the chromosomes of the horse, the ass and the mule. *Proceedings of the Japan Academy*, 39, 176-181.
- Malécot, G. (1948). *Les Mathématiques de l'Hérédité*. Paris: Masson et Cie.
- Marshall, T. C., Coltman, D. W., Pemberton, J. M., Slate, J., Spalton, J. A., Guinness, F. E., Smith, J. A., Pilkington, J. G., & Clutton-Brock, T. H. (2002). Estimating the prevalence of inbreeding from incomplete pedigrees. *Proceedings of the Royal Society B*, 269, 1533-1539.

- Maršálek, M. (2008). Chov koní; Popis, posuzování, šlechtění. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 109 s, ISBN 978-80-7394-101-7. Meisel RP. 2022. Ecology and the evolution of sex chromosomes. *Journal of Evolutionary Biology* (In press). <https://doi.org/10.1111/jeb.14074>.
- Meuwissen, T., & Luo, Z. (1992). Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genetics Selection Evolution*, 24(4), 305-313.
- Miller, M. P., Haig, S. M., Ballou, J. D., & Steel, E. A. (2017). Estimating inbreeding rates in natural populations: Addressing the problem of incomplete pedigrees. *Journal of Heredity*, 108, 574-582.
- Miller, M. P., Haig, S. M., Forsman, E. D., Anthony, R. G., Diller, L., Dugger, K. M., Franklin, A. B., Fleming, T. L., Gremel, S., Lesmeister, D. B., Higley, M., Herter, D. R., & Sovern, S. G. (2018). Variation in inbreeding rates across the range of Northern Spotted Owls (*Strix occidentalis caurina*): Insights from over 30 years of monitoring data. *The Auk*, 135(4), 821-833.
- Myka, J. L., Lear, T. L., Houck, M. L., Ryder, O. A., & Bailey, E. (2003). FISH analysis comparing genome organization in the domestic horse (*Equus caballus*) to that of the Mongolian wild horse (*E. przewalskii*). *Cytogenetic and Genome Research*, 102, 222-225.
- Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Odborné články získané z <http://www.nhkladruby.cz/> [cit. 2013-12-27].
- Panawala, L. (2017). Difference Between Autosomes and Sex Chromosomes [Online]. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/313838439\\_Difference\\_Between\\_Autosomes\\_and\\_Sex\\_Chromosomes](https://www.researchgate.net/publication/313838439_Difference_Between_Autosomes_and_Sex_Chromosomes) [cit. 2017-2-19].
- Plesník, J. (2004). Biologická rozmanitost na Zemi: stav perspektivy. Praha, Scientia. ISBN 80-7183-331-2 : 1096.00.
- Poltronieri, J., Marquioni, V., Bertollo, L. A. C., Kejnovsky, E., Molina, W. F., Liehr, T., & Cioffi, M. B. (2014). Comparative chromosomal mapping of microsatellites in Leporinus species (Characiformes, Anostomidae): Unequal accumulation on the W chromosomes. *Cytogenetic and Genome Research*, 142, 40-45.
- Próchniak, T., Kasperek, K., Knaga, S., Rozempolska-Rucińska, I., Batkowska, J., Drabik, K., & Zięba, G. (2021). Pedigree Analysis of Warmblood Horses Participating in Competitions for Young Horses. *Frontiers in Genetics*, 12, 658403. doi: 10.3389/fgene.2021.658403.
- Richard, M., & Thorpe, R. S. (2001). Can Microsatellites Be Used to Infer Phylogenies? Evidence from Population Affinities of the Western Canary Island Lizard (*Gallotia galloti*). *School of Biological Sciences, University of Wales Bangor*, 20, 351-360.
- Řád plemenné knihy starokladrubskeho koně. (2012). Národní hřebčín Kladruby nad Labem s.p. [cit. 2014-03-02]. Available at <http://www.nhkladruby.cz/dokumenty/radpk05.pdf>.

- Sameer, A. S., Banday, M. Z., & Nissar, S. (2021). Mutations and Polymorphisms: What Is The Difference? In: Sameer, A. S., Banday, M. Z., & Nissar, S. (Eds.), Genetic Polymorphism and Cancer Susceptibility. Springer, Singapore. Available at: [https://doi.org/10.1007/978-981-33-6699-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-33-6699-2_1).
- Sargolzaei, M., Iwaisaki, H., & Colleau, J.-J. (2006). CFC (Contribution, Inbreeding (F), Coancestry) Release 1.0: A software package for pedigree analysis and monitoring genetic diversity. Niigata, Japan: Niigata University. Available at: <https://mybiosoftware.com/cfc-1-0-monitor-genetic-diversity.html>.
- Schaap, T., & Cohen, M. M. (1977). A simple non-graphic method for pedigree description and analysis. *Journal of Medical Genetics*, 14(1), 25-29.
- Schenkel, M. A., & Beukeboom, L. W. (2016). Sex Chromosome Evolution: Birth, Maturation, Decay, and Rebirth. In Kliman, R. M. (Ed.), *Encyclopedia of Evolutionary Biology* (pp. 72-80). ISBN 9780128004265.
- Schlather, M. (2020). Efficient Calculation of the Genomic Relationship Matrix. Institut für Mathematik, Universität Mannheim, B6, 26, D-68159 Mannheim. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.12.903146v1.full.pdf>
- Singh, R. S., & Kulathinal, R. J. (2013). Polymorphism. In Maloy, S., & Hughes, K. (Eds.), *Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition)* (pp. 398-399). ISBN 9780080961569.
- Sobotková, E., Jiskrová, I., & Somerlíková, K. (2006). Analysis of the population of the Old Kladruby horse in point of the body conformation. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LIV(5), 117-128.
- Spangler, M. L. (2017). The Value of Heterosis in Cow Herds. Department of Agriculture and Natural Resources, University of Tennessee at Martin, (308), 235-3122.
- Šancová, Z. (2019). Metodika uchování genetického zdroje zvířat (STKL) [Online]. Available at: <https://genetickezdroje.cz/wp-content/uploads/2019/11/Metodika-uchování-GZ-STKL.pdf>.
- Šancová, Z., & Teplý, V. (15.1.2024). Vyhodnocení šlechtitelského programu Chov 2023. Kladruby nad Labem. Available at: [https://www.nhkladruby.cz/media/cache/file/ce/CHOV\\_-2023.pdf](https://www.nhkladruby.cz/media/cache/file/ce/CHOV_-2023.pdf).
- Šišková, P., & Jiskrová, I. (2008). The performance test of the Old-Kladruby horse. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 56, 209-220.
- Švecová, M., Smrž, J., & Petr, J. (2007). Biodiverzita a udržitelný rozvoj [online]. Praha: Klub ekologické výchovy, o. s. [cit. 2015-03-15].
- Taylor, H. R. (2015). The use and abuse of genetic marker-based estimates of relatedness and inbreeding. *Ecology and Evolution*, 5, 3140-3150.
- Temnykh, S. (2001). Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. *Genome Research*, 11, 1441-1452.

- Tier, B., Meyer, K., & Ferdosi, M. H. (2015). Which genomic relationship matrix. In Proceedings of the 21st conference of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics (pp. 28-30).
- Todd, E. T., Ho, S. Y. W., Thomson, P. C., Ang, R. A., Velie, B. D., & Hamilton, N. A. (2018). Founder-specific inbreeding depression affects racing performance in Thoroughbred horses. *Scientific Reports*, 8, 6167.
- Vačkář D. 2005. Ukazatele změn biodiverzity. Vyd. 1. Praha: Academia 298.
- VanRaden, P. M. (1992). Accounting for inbreeding and crossbreeding in genetic evaluation of large populations. *Journal of Dairy Science*, 75(11), 3136-3144.
- VanRaden, P. M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*, 91, 4414-4423.
- Vega-Trejo, R., de Boer, R. A., Fitzpatrick, J. L., & Kotrschal, A. (2022). Sex-specific inbreeding depression: A meta-analysis. *Ecology Letters*, 25(4), 1009-1026.
- Viana, J. M. S., Dias, K. O. d. G., & Silva, J. P. A. d. (2022). Comparative Analysis of Pedigree-Based BLUP and Phenotypic Mass Selection for Developing Elite Inbred Lines, Based on Field and Simulated Data. *Agronomy*, 12(10), 2560.
- Vicente, A. A., Carolino, N., & Gama, L. T. (2012). Genetic diversity in the Lusitano horse breed assessed by pedigree analysis. *Livestock Science*, 148(1-2), 16-25.
- Vieira, M. L. C., Santini, L., Diniz, A. L., & Munhoz, C. F. (2016). Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*, 39, 312-328.
- Vignal, A., Milan, D., SanCristobal, M., & Eggen, A. (2002). A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*, 34(3), 275-305.
- Villanueva, B., Fernández, A., & Saura, M., et al. (2021). The value of genomic relationship matrices to estimate levels of inbreeding. *Genetics Selection Evolution*, 53, 42.
- Vogt, D., Swartz, A. H. A., & Massey, J. (1993). Inbreeding: Its meaning, uses and effects on farm animals. Department of Animal Sciences, University of Missouri-Columbia.
- Volobuev, A. N. (202). Inbreeding in a Family Tree and in a Population. *Journal of Genetic Engineering*, 1(1), 21-34.
- 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.
- Vostrý, L., Kracíková, O., Hofmanová, B., Czerneková, V., Kott, T., & Příbyl, J. (2011). Intra-line and inter-line genetic diversity in sire lines of the Old Kladruber horse based on microsatellite analysis of DNA. *Animal Science*, 56, 163-175.
- Waller, K. (2002). Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 230-241.

- Wang, J. (1996). Inbreeding coefficient and effective size for an X-linked locus in nonrandom mating populations. *Heredity*, 79, 569-577.
- White, D. J., Wolff, J. N., Pierson, M., & Gemmell, N. J. (2008). Revealing the hidden complexities of mtDNA inheritance. *Molecular Ecology*, 17(23), 4925-4942.
- Whitlock, M. C., & Wade, M. J. (1995). Speciation: Founder Events and Their Effects on X-Linked and Autosomal Genes. *The American Naturalist*, 145(5), 676-685.
- Wiggans, G. R., VanRaden, P. M., & Zuurbier, J. (1995). Calculation and use of inbreeding coefficients for genetic evaluation of United States dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 78(7), 1584-1590.
- Wilmot, H., Druet, T., Hulsege, I., Gengler, N., & Calus, M. P. L. (2023). Estimation of inbreeding, between-breed genomic relatedness and definition of sub-populations in red-pied cattle breeds. *Animal*, 17(5). ISSN 1751-7311.
- Wilson, O. (1992). *The Diversity of Life*. Harvard University Press: Cambridge, MA. ISBN: 0-674-21298-3.
- Woodsdalek, J. E. (1914). Spermatogenesis of the horse with special reference to the accessory chromosome and the chromatoid body. *Biological Bulletin*, 27, 295-325.
- Wright, S. (1922). Coefficients of inbreeding and relationship. *The American Naturalist*, 56, 330-338.
- Wu, C. I., & Xu, Y. E. (2003). Sexual antagonism and X inactivation – the SAXI hypothesis. *Trends in Genetics*, 19(5), 243-247.
- Yang, L., Cheng, E., & Özsoyoğlu, Z. M. (2012). Efficient path-based computations on pedigree graphs with compact encodings. *BMC Bioinformatics*, 13(Suppl 3), S14. DOI:10.1186/1471-2105-13-S3-S14.
- Zechner, P., Zohman, F., Sölkner, J., Bodi, I., Habe, F., Marti, E., & Brem, G. (2002). Analysis of diversity and population structure in the Lipizzan horse breed based on pedigree information. *Livestock Production Science*, 77, 137-146.

