

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Vliv inbreedingu na zvířata chovaná v zajetí

Bakalářská práce

Autor práce: Aneta Ladrová

Obor: Chovatelství

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv inbreedingu na zvířata chovaná v zajetí" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 2.5.2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za její pomoc, rady a připomínky. Dále bych chtěla poděkovat svému dědovi za korekturu a své mamce za psychickou podporu.

Vliv inbreedingu na zvířata chovaná v zajetí

Souhrn

Problematika příbuzenské plemenitby v chovech zvířat v lidské péči je čím dál více diskutované téma. Cílem této bakalářské práce bylo shrnout poznatky vědeckých prací ohledně inbreedingu, jeho následků a způsobů jeho měření. Práce se také zabývala dopady inbreedingu na konkrétní populace a na možnosti, jak zabránit jeho negativním projevům.

Inbreeding je vzájemné páření příbuzných jedinců. Jejich potomci často bývají poznamenáni inbrední depresí, která snižuje fitness těchto potomků. Inbrední jedinci obecně vykazují vyšší homozygotnost. Ta se může projevit vyšší pravděpodobností vyštěpení škodlivých recesivních znaků a celkovým snížením genetické diverzity v populaci.

Měření intenzity inbreedingu bylo dříve závislé hlavně na informacích z rodokmenu, v dnešní době se ale čím dál častěji používají metody molekulární genetiky. Díky nim lze získat přesnější a podrobnější informace o genomu a umožňují tak zjistit intenzitu inbreedingu i u populací, u kterých nebyl veden rodokmen.

Inbreeding se dříve u hospodářských zvířat používal k ustálení znaků v rámci plemene, v dnešní době ale působí spíše negativně. Jeho projevy často snižují plodnost a odolnost zvířat proti vnějším podmínkám. Zvířata chovaná v lidské péči jsou inbreedingem často postižena, protože chovné skupiny jsou většinou založeny jen z malého počtu zvířat. Chov zvířat v zajetí by měl sloužit jako „rezerva“ pro daný druh, v případě, že by se dostal do ohrožení. Proto je důležité inbreedingu předcházet a pečlivě plánovat chovný program tak, aby se předešlo zhoršení fitness zvířat, které by pak bránilo reintrodukcii druhu.

Genetická diverzita umožňuje druhu přizpůsobit se na změny v prostředí. Pokud se rozmanitost genů v populaci sníží, hrozí, že se populace se změnou nedokáže vyrovnat a následně vyhyne. S nízkou genetickou rozmanitostí také hrozí zvýšený výskyt homozygotů a s ním související inbrední deprese. Efekt hrdla láhve a genetický drift přispívají ke snížení genetické rozmanitosti a mělo by se jim v chovech vyhýbat.

Kvůli škodlivosti inbreedingu si některé druhy vytvořily mechanismy, jak mu předcházet. Škodlivé efekty inbreedingu lze také omezit pomocí purgingu nebo za použití genetické záchrany. Nejdůležitějším způsobem ochrany zvířat je předcházení ničení jejich přirozených habitatů. Chov v zajetí by měl být poslední možností ochrany, i tak se ale díky němu povedlo několik druhů zachránit před vyhynutím. Každý druh je unikátní a zaslouží si ochranu.

Klíčová slova: příbuzenská plemenitba, fitness, inbrední deprese, genetická diverzita, homozygotnost

Effects of inbreeding on captive bred animals

Summary

The issue of inbreeding in animals in human care is an increasingly discussed topic. The aim of this bachelor's thesis was to summarize the knowledge of scientific work on inbreeding, its consequences and methods of measuring it. The thesis also dealt with the effects of inbreeding on specific populations and on some possibilities of preventing its negative manifestations.

Inbreeding is the mating of related individuals. Their offspring often suffer with inbreeding depression, which lowers their fitness. Inbred individuals also suffer from an increased homozygosity. Homozygosity can increase the chance of deleterious recessive mutations and it lowers the genetic diversity in population.

Inbreeding was formerly measured with information mostly from pedigrees. The methods of molecular genetics are used more often nowadays. Methods of molecular genetics can find more accurate and detailed information about the genome and they can find out the intensity of inbreeding even in populations without a pedigree.

Inbreeding used to be used in livestock to create a uniform appearance within the breed, but nowadays it has a rather negative effect. Inbreeding often impairs fertility and lowers the tolerance of animals against external conditions. Captive bred animals are often being inbred, because there is only a small amount of founder animals for the population. Animals in captivity should be a “reserve” for the endangered species in the wild. Therefore, it is important to prevent inbreeding as much as possible, so the fitness of animals does not lower. It could pose a problem when trying to reintroduce the species back to nature.

Genetic diversity allows a species to adapt to changes in its environment. If the diversity of genes in a population decreases, there is a risk that the population will fail to cope with changes and subsequently become extinct. With low genetic diversity, there is also a risk of an increased incidence of homozygotes and associated inbreeding depression. The bottle neck effect and genetic drift contribute to the reduction of genetic diversity and should be avoided in captive animal breeding.

Some species have developed mechanisms to prevent inbreeding due to its deleterious effects. The detrimental effects of inbreeding can also be reduced with purging or genetic rescue. The best way to protect animals is to prevent the destruction of their habitats. Captive breeding should be the last resort, but it has already saved several species from extinction. Every species is unique and deserves protection.

Keywords: Inbreeding, fitness, inbreeding depression, genetic diversity, homozygosity

Obsah

1 Úvod.....	7
2 Cíl práce.....	8
3 Literární rešerše.....	9
3.1 Inbreeding	9
3.1.1 Projevy inbreedingu.....	10
3.1.1.1 Ztráta heterozygotnosti.....	10
3.1.1.2 Inbrední deprese.....	11
3.1.1.3 Zhoršení fitness.....	14
3.1.2 Intenzita inbreedingu a její hodnocení.....	14
3.1.2.1 Minimální velikost životaschopné populace.....	15
3.1.2.2 Hodnocení založené na rodokmenových analýzách.....	15
3.1.2.3 Hodnocení metodami molekulární genetiky	17
3.1.3 Dopady inbreedingu na zvířecí populace	19
3.1.3.1 Inbreeding u hospodářských zvířat.....	19
3.1.3.2 Inbreeding u nedomestikovaných zvířat v lidské péči	20
3.2 Genetická diverzita	22
3.2.1 Bottleneck.....	23
3.2.2 Genetický drift	23
3.3 Přírodní mechanismy zabraňující inbreedingu	24
3.3.1 Příklady mechanismů sloužících k omezení inbreedingu	25
3.4 Způsoby eliminace negativních důsledků inbreedingu u nedomestikovaných zvířat v lidské péči	27
3.4.1 Vedení plemenných knih a molekulární metody.....	27
3.4.2 Purging.....	28
3.4.3 Genetic rescue	30
3.4.3.1 Outbreeding.....	31
3.5 Konkrétní příklady populací poznamenaných inbreedingem	32
3.6 Ochrana ohrožených druhů zvířat.....	35
4 Závěr	39
5 Literatura.....	40
5.1 Internetové zdroje	45

1 Úvod

Inbreeding neboli příbuzenská plemenitba může představovat závažný problém v chovu zvířat v lidské péči. Populace v zajetí mají většinou jen omezený počet zakladatelů, a proto se inbreedingu do budoucna nelze vyhnout. Podle Hedricka a Kalinowského (2000) vede inbreeding k inbrední depresi u všech druhů, které byly doposud studovány. Ralls et al. (1979) zjistili větší úmrtnost mláďat u 41 populací kopytníků chovaných v zajetí ze 44. Silně inbrední populace také trpí ztrátou genetické rozmanitosti, což ji činí náchylnější na změny v prostředí. Inbrední deprese a další negativní důsledky inbreedingu, jako jsou například ztráta heterozygotnosti a navýšení homozygotnosti, jsou hlavním důvodem, proč je důležité se inbreedingu vyhybat a snažit se ho omezit na minimum.

Abychom mohli inbreeding úspěšně omezit, je třeba znát příbuzenské vztahy mezi zvířaty a intenzitu inbreedingu. K tomu je ideální vedení rodokmenu. Pečlivě vedený rodokmen obsahuje informace o původu konkrétního zvířete a umožní chovateli rozpoznat příbuzná zvířata. Rodokmen ale není ve všech případech dostačující. Spousta populací, hlavně ty divoké, žádný rodokmen nemají. Špatně vedený rodokmen také může vést k chybnému určení příbuzných zvířat a k následnému neúmyslnému inbreedingu. Proto jsou stále více využívány metody molekulární genetiky. Jeden z nejlepších způsobů, který navrhl McQuillan et al. (2008) je založen na ROH (runs of homozygosity). Jedná se o dlouhé homozygotní úseky v genomu, které nemůžou mít jiný původ než z páření příbuzných jedinců. Díky molekulárním metodám lze zjistit přesné složení genomu jedince. To chovateli umožní přesně stanovit příbuznost mezi chovanými zvířaty a zjednoduší udržení co možná největší genetické rozmanitosti v chovu. Udržení genetické rozmanitosti chovaných zvířat umožňuje chovaným jedincům udržet si jejich adaptační potenciál. Snížení genetické diverzity znamená vyšší výskyt homozygotů, ve kterých se mohou projevit škodlivé recesivní mutace.

Ve většině populací je snaha se inbreedingu vyhnout. Výjimkou jsou například hospodářská zvířata, kde zvýšení homozygotnosti vedlo k zafixování výhodných genů a k jednotnému vzhledu plemen. Divoké populace různých druhů si vyvinuly několik mechanismů, pomocí kterých se inbreedingu vyhýbají. Může se jednat třeba o rozdílné dospívání samic a samců ve skupině. Dalším příkladem může být odchod jednoho z pohlaví ze své sociální skupiny po tom, co dosáhnou určitého věku. V chovu se omezování inbreedingu daří právě díky zmiňovaným molekulárním metodám a vedením rodokmenu. Negativní dopady inbreedingu také lze zmírnit pomocí purgingu nebo genetické záchrany. Purging neboli očista nastává i v divokých populacích. Při zvýšení homozygotnosti se projeví škodlivé recesivní mutace, které pak lze z populace očistit. Genetická záchrana zahrnuje zařazení nového, nepříbuzného jedince do chovu. Takto se podařilo zachránit několik divokých populací, které byly silně inbrední. Genetická záchrana by se neměla používat u populací, u které purging již očistil od škodlivých mutací.

Kvůli hromadnému ničení životního prostředí se chov zvířat v lidské péči může stát pro spousta druhů poslední nadějí na záchranu. I tak by ale největší snaha měla směřovat na ochranu habitatů, jelikož chov všech druhů nelze v zajetí realizovat.

2 Cíl práce

Cílem této práce bylo shrnout formou literární rešerše poznatky o inbreedingu a jeho vlivu na zvířata chovaná v zajetí. Rešerše byla zaměřena zejména na vysvětlení pojmu inbreeding, možnosti hodnocení jeho intenzity založené na rodokmenových analýzách a metodách molekulární genetiky a na jeho dopady na populace zvířat. Práce také pojednávala o významu genetické diverzity a o možnostech eliminace negativních důsledků inbreedingu. V neposlední řadě se rešerše zabývala nejčastějšími důvody ohrožení zvířat a způsobem jejich ochrany.

3 Literární rešerše

3.1 Inbreeding

Inbreeding neboli příbuzenská plemenitba je vzájemné páření jedinců, kteří mají jednoho nebo více společných předků. Potomci příbuzných rodičů se vyznačují zvýšenou homozygotností, čímž ztrácejí výhody heterozygotnosti a vystavují se riziku inbrední deprese. Jedinec je nazýván homozygotem, pokud jsou jeho alely na jednom lokusu stejné a heterozygot je takový jedinec, který má na jednom lokusu dvě rozdílné alely. Inbreeding se obvykle týká páření blízce příbuzných jedinců a inbrední deprese je definována jako snížená zdatnost potomků těchto párů ve srovnání s potomky náhodně spárovaných jedinců (Hedrick & Kalinowski 2000).

Inbreeding nemění frekvenci alel v populaci, ale přerozděluje frekvenci genotypů a zvyšuje množství homozygotů, zatímco stejnou mírou snižuje výskyt heterozygotů (Keller & Waller 2002). Škodlivé mutace, které jsou přinejmenším částečně recesivní, jsou v populaci přítomny po celou dobu její existence. Zvýšením homozygotnosti pak dochází k silnějším a častějším projevům jejich nepříznivých účinků (Keller & Waller 2002). Recesivní letální mutace se v inbrední populaci rychle projeví, a to je vystavuje přirozenému výběru i v malých izolovaných populacích. Oproti tomu selekce proti méně škodlivým mutacím není tolik efektivní, a proto se může stát, že se v populaci tyto mutace zafixují (Keller & Waller 2002). Jejich nahromadění pak snižuje zdatnost jedinců v celé populaci.

Inbreeding sám o sobě není škodlivý, je to pravděpodobnost výskytu dvou alel s identickým původem od společného předka v diploidním jedinci (Hedrick & Garcia-Dorado 2016). Pokud se například v chovu hospodářských zvířat snažíme vylepšit konkrétní znak, páření dvou příbuzných zvířat zvyšuje frekvenci výskytu homozygotů, což je u výhodných znaků žádoucí (Maltecca et al. 2020). Zvýšení homozygotnosti ale také zvyšuje pravděpodobnost spojení škodlivých alel, které mohou mít i fatální následky a zhoršení fitness jedince. Celkově několik studií dospělo k závěru, že zvýšení homozygotnosti v populaci může mít zřetelně negativní účinky na fenotypy, pravděpodobně díky expresi škodlivých homozygotních recesivních alel a ztrátě výhody heterozygotů. Inbreeding postupně vede k inbrední depresi prakticky u všech druhů, které byly doposud studovány (Hedrick & Kalinowski 2000).

Dříve se příbuzenská plemenitba užívala u hospodářských zvířat k vytvoření jednotného vzhledu a vlastností plemen a k zafixování žádoucích genů (Gómez et al. 2009). Dnes je inbreeding u chovaných zvířat převážně nežádoucí, protože negativně ovlivňuje znaky reprodukce a produkce celkovým snížením fitness inbredního jedince. Inbreeding je však běžným jevem u zvířat chovaných v lidské péči, zvláště u ohrožených druhů s malou populační základnou. Proto by snahou každého záchranného programu mělo být omezení inbreedingu na minimum hlavně kvůli jeho negativnímu vlivu na fitness potomků. K příbuzenskému křížení může ovšem také docházet u zvířat žijících ve volné přírodě následkem snížení počtu jedinců v populaci nebo izolací části populace od ostatních jedinců stejného druhu. Křížení příbuzných

jedinců se v populaci s limitovaným počtem jedinců nelze vyhnout, jelikož s každou další generací potomků se exponenciálně zvyšuje množství jejich předků (Howard et al. 2017).

Obecné uznání potenciálně negativního účinku inbreedingu na fitness učinilo inbrední depresi problémem v ochraně malých populací a vyhýbání se příbuzenské plemenitbě je prioritou v chovech ohrožených druhů zvířat v zajetí. Dopad inbreedingu na ohrožené druhy je častěji sledován v populacích chovaných v lidské péči, které žijí v méně těžkých podmínkách než divoké populace. To může zkreslovat negativní účinky inbreedingu. Například mláďata v zajetí mají vyšší šanci na přežití než ve volné přírodě, protože mají k dispozici veterinární péči a nemusí čelit predačnímu tlaku. Zkoumat inbreeding na divokých populacích je obtížné, protože zajistit, aby zkoumaná i kontrolní populace měly stejné podmínky je nesnadné a někdy i nemožné (Hedrick & Kalinowski 2000).

3.1.1 Projevy inbreedingu

Příbuzenská plemenitba může mít hned několik negativních dopadů. Mezi ty nejvýznamnější se řadí ztráta heterozygotnosti, inbrední deprese a zhoršení fitness dotčených jedinců.

3.1.1.1 Ztráta heterozygotnosti

Ztrátu heterozygotnosti zapříčiňuje inbreeding a genetický drift. Při genetickém driftu dochází k náhodným změnám četnosti výskytu alel v populaci. Četnost výskytu alel neovlivňuje jejich projevy. Bylo prokázáno, že jedinci v populaci, kteří ztratili část své heterozygotnosti, jsou průměrně méně zdraví než jedinci stejného druhu v populaci, kteří ztrátu heterozygotnosti neutrpěli (Caughley 1994). Bylo například zjištěno, že heterozygotnost má úzkou vazbu s mírou vyhynutí u 42 malých populací hnědáka kostkovaného (*Melitaea cinxia* (Linnaeus, 1758)). V létě roku 1996 z nich sedm populací vyhynulo. U těchto populací se prokázala významně nižší heterozygotnost než u ostatních populací, které přežily (Saccheri et al. 1998).

Kvantifikace heterozygotnosti

Některé studie potvrdily souvislost proteinových variant alel, genotypů nebo heterozygotností se znaky charakterizujícími fitness jedince (Hedrick & Miller 1992). Tato souvislost naznačuje, že některé varianty proteinů mohou mít rozdílné hodnoty vlastního fitness, nebo s větší pravděpodobností označují selektivně důležité oblasti genomu (Hedrick et al. 1986).

Poměr jedinců heterozygotních na daném lokusu (h_j) lze spočítat jako:

$$h_j = 1 - \sum p_i^2$$

p_{ij} je frekvence alely i na lokusu j v celé posuzované populaci

Průměrná heterozygotnost (H) je potom odhadovaná jako:

$$H = (1/L) \sum h_j$$

H ukazuje poměr heterozygotních lokusů u tzv. průměrného jedince (Caughley 1994).

L je počet zkoumaných lokusů.

Množství alel na lokusu v populaci má tendenci se snižovat, pokud nedochází k mutaci nebo k imigraci. Jejich tempo úbytku je funkcí velikosti populace N a poměru heterozygotních lokusů v populaci H_0 zjištěné na začátku měření. Od tohoto celku se každou generaci odečítá $(H_0/2N)$ (Wright 1931).

Za jednu generaci se tak počáteční H změní podle:

$$H_1 = H_0 [1 - 1/(2N)]$$

a za t počet generací:

$$H_t = H_0 [1 - 1/(2N)]^t$$

Pokud chceme do výpočtu průměrné heterozygotnosti zahrnout mutaci, pak zavedeme do výpočtu ΔH jako změnu průměrné heterozygotnosti za jednu generaci způsobené mutací

$$\Delta H = -H_0/2N + m$$

m je příspěvek mutace k heterozygotnosti

3.1.1.2 Inbrední deprese

Inbrední deprese je negativní důsledek příbuzenského páření. Vzniká jako výsledek působení exprese částečně recesivních škodlivých alel a ztráty heterozygotnosti (Charlesworth & Charlesworth 1987). Projevuje se celkovým snížením fitness inbredního jedince, jeho horší schopností přežít a mít životaschopné potomky v porovnání s jedinci pocházejícími z nepřibuzenské plemenitby. Inbrední deprese u savců a ptáků nejčastěji ovlivňuje porodní váhu, schopnost přežít, reprodukci a odolnost proti nemocem, predaci a stresu z prostředí (Keller & Waller 2002). Nejsilněji se projevuje v ranných stádiích života, ale má škodlivé účinky i u dospělých jedinců, jako je sterilita nebo nižší kvalita spermatu (Pusey & Wolf 1996). U inbredních zvířat bylo také pozorováno snížení kvantitativních znaků, jako je výška nebo

váha. Inbrední deprese je rozšířená mezi populacemi divokými, domestikovanými a experimentálními (Charlesworth & Charlesworth 1999). Obzvláště pro malé populace může představovat vážné riziko.

Inbrední deprese je téměř univerzální jev, který byl pozorován u spousty rozdílných organismů (Hedrick & Garcia-Dorado 2016). Gómez et al. (2009) dokázali, že inbrední deprese má vliv na tělesné míry u andaluského koně. U kopytníků chovaných v zajetí inbreeding snížil šanci mláďat na přežití u 41 populací ze 44 (Ralls et al. 1979). Inbrední deprese se nadále projevuje i u geparda štíhlého (*Acinonyx jubatus* (Schreber, 1775)), u kterého se předpokládalo, že už je natolik inbrední a má tak nízké fitness, že další inbreeding u něj již nemůže způsobit více negativních efektů (O'Brien et al. 1985). Boakes et al. (2007) ve své studii zjistili, že se zvyšujícím se stupněm inbreedingu se přibližně u 65 % rodokmenů snížilo fitness populace. V jiných studiích druhů chovaných v zajetí (Ralls et al. 1979; Ralls et al. 1988), se inbrední deprese projevila až u 90 % populací, ty ale byly ve většině poznamenány intenzivnějším inbreedingem.

Charlesworth a Willis (2009) tvrdí, že genetický původ inbrední deprese má tři možné základní příčiny:

1. Zvýšený projev škodlivých recesivních alel (částečná dominance)
2. Nadřazenost heterozygotů nad homozygoty (over-dominance) (Crow & Kimura 1971)
3. Zvýšená pravděpodobnost příznivějších kombinací u heterozygotů (epistáze)

Inbrední deprese se projevuje vážněji, pokud je jedinec vystaven stresujícímu prostředí (Joron & Brakefield 2003; Armbruster & Reed 2005). Může se proto projevovat mnohem výrazněji u druhů náchylných na stres nebo u populací, které nejsou drženy ve vhodných podmínkách. Stres spolu s inbreedingem může mít vlivu na častější úmrtí novorozenců mláďat. Efekty inbrední deprese také zesiluje množství škodlivých mutací v populaci. Jejich množství je ovlivněno genetickým složením zakladatelů populace a také purgingem, který může populaci očistit od obzvláště výrazně škodlivých nebo letálních mutací. Čím více škodlivých mutací v populaci je, tím více bude populace trpět inbrední depresí a sníženým fitness.

Detekce inbrední deprese

Detekce inbrední deprese záleží na parametrech dané populace. Nejednoduší způsob měření inbrední deprese je porovnání průměrných hodnot inbredních jedinců s průměrnými hodnotami jedinců neinbredních (Hedrick & Kalinowski 2000). U populací, které jsou chovány v zajetí teprve několik málo generací, se inbreeding neprojevuje tolik, jako u populací, které jsou v lidské péči již delší dobu. Při menší intenzitě inbreedingu se inbrední deprese nemusí projevit natolik, aby ji šlo detekovat. Populace chované po několik generací se mohou očistit od genetické zátěže, což nejprve způsobí zhoršení fitness, následně se však se stoupajícím

koeficientem inbreedingu v populaci její fitness zlepšuje (Boakes et al. 2007). To může maskovat efekty inbrední deprese, pokud se projeví pouze v rané části rodokmenu.

Soulé (1980) navrhuje obecné pravidlo, kde platí, že 10% snížení fitness v daném znaku nastane s 10% nárůstem hodnoty inbredního koeficientu. Také pokud se vezme v úvahu celková fitness, nárůst hodnoty koeficientu inbreedingu F o 10 % má za následek 25% redukci ve fitness. Na to se ale nedá vždy spoléhat, jelikož efekty inbrední deprese se liší v závislosti na druhu, na populaci ale i na jedinci. Rozdílnost účinků inbrední deprese je způsobena také evoluční historií druhu a stupněm vlivu inbrední deprese na konkrétní komponent fitness. Její projevy jsou také výraznější, pokud je jedinec vystaven stresu, proto je těžké určit její rozsah, a to obzvláště u divokých populací (Hedrick & Garcia-Dorado 2016). Inbrední deprese také může mít různý účinek na samce a samice (Ebel & Phillips 2016).

Pokud je koeficient inbreedingu $F = 0,25$, což odpovídá křížení sourozenců nebo páření rodiče s potomkem, dopad inbreedingu i byl pro každý druh s více než 100 testovanými jedinci rozdílný (Hedrick & Miller 1992). Maximální hodnota i je 1,0 a i vyjadřuje zvýšenou úmrtnost inbredních jedinců před dosažením dospělosti. Například, u tygra sumaterského (*Panthera tigris sumatrae* Pocock, 1929) byl dopad inbreedingu $i = 0,003$ při 427 testovaných jedinců, zatímco u hrošíka liberijského (*Choeropsis liberiensis* (Morton 1844)) bylo $i = 0,33$ při 419 testovaných jedinců (Ralls et al. 1988). Hodnota i se i přes podobný počet testovaných zvířat obou druhů značně liší.

Ralls, Brugger a Ballou (1979) navrhli první způsob výpočtu inbrední deprese pro populace savců držených v lidské péči. Ralls, Ballou a Templeton (1988) odhadli inbrední depresi potomků podle stupně příbuznosti rodičů. Použili teoreticky předpokládaný model:

$$S = e^{-(A+BF)}$$

S je míra přežití dospívajících zvířat,

A je okamžitá míra úmrtnosti potomků nepříbuzných rodičů,

B je další okamžitá míra úmrtnosti porovnaná s hodnotou A , když je linie úplně inbrední (tj. $F = 1$ a $H = 0$),

F je koeficient inbreedingu.

Dopad inbreedingu i je odhadovaný pro dané F (standardizované Ralls et al. 1988 na libovolné $F = 0.25$) jako:

$$i = 1 - e^{-0x25B}$$

Dopad inbreedingu i je úměrný poklesu přeživších zvířat způsobeným inbreedingem dané intenzity.

Zjišťování přesného vlivu inbrední deprese u ohrožených druhů je obtížné ve volné přírodě i v zajetí. V tomto případě zejména kvůli malému počtu jedinců pro získání spolehlivého statistického výsledku, nenáročným podmínkám k životu u populace v lidské péči a nemožnosti změřit všechny aspekty fitness (Hedrick & Kalinowski 2000). I když neexistuje statistický důkaz o výskytu inbrední deprese, dá se předpokládat, že se u malé, omezené populace vyskytuje.

3.1.1.3 Zhoršení fitness

Celková fitness se skládá ze životaschopnosti, plodnosti a schopností ovlivňující úspěšnost páření (Hedrick & Murray 1983). Inbreeding má negativní efekty na všechny tyto faktory. Snížení fitness je následkem vyššího stupně homozygotnosti a expresí škodlivých recesivních alel (Keller & Waller 2002). Dopady inbreedingu na fitness se různí v kvantitě i kvalitě u každého druhu. Menší část z nich je náhodná a odvíjí se od množství letálních ekvivalentů u zakladatelů populace (Lacy et al. 1996). Většina je ale způsobena vlivem inbreedingu v dané populaci druhu, vyjádřeného statisticky zjištěným mediánem inbrední deprese, ovlivněné znakem nebo prostředím, ve kterém jedinec žije.

Odhadovaná škodlivost inbrední deprese v populaci chované v zajetí nebo v laboratorním prostředí je pravděpodobně rozdílná oproti populacím ve volné přírodě (Hedrick & Kalinowski 2000). Dopad inbrední deprese na fitness zvířat v jejich přirozeném prostředí, bude totiž výraznější, protože jsou vystavena náročnějším a nepříznivějším podmínkám než jedinci v lidské péči. Zjistit efekty inbreedingu ve volně žijící populaci je mnohem náročnější, hlavně kvůli nutnosti mít inbrední a kontrolní neinbrední populaci ve stejných, nebo přinejmenším v podobných podmínkách.

3.1.2 Intenzita inbreedingu a její hodnocení

Kvůli negativním dopadům inbreedingu na zdraví a životaschopnost zvířat se ho chovatelé ve většině případů snaží omezit na minimum. Proto se hledaly způsoby, jak inbreeding a jeho dopady měřit. Nejstarším způsobem je hodnocení intenzity inbreedingu podle rodokmenu. V dnešní době ale začínají být více využívány i molekulární metody. Ty nabízejí přesnější výsledky a umožňují intenzitu inbreedingu změřit i u populací, pro které nebyl vytvořen rodokmen.

Identita podle původu (IBD) spojuje inbreeding s příbuzností. Dvě alely (haplotypy) jsou původem identické (IBD), pokud byly zděděny ze stejného rodového haplotypu, ať už rodičovského nebo mateřského, bez výskytu rekombinace nebo mutace. Pokud se intenzita inbreedingu vypočítává pomocí informací z rodokmenu, stav IBD lze interpretovat pravděpodobností nebo cestou korelace a získaná hodnota je vždy určena vzorem daného

rodokmenu (Curik et al. 2014). Jedince, který je homozygotem a má 2 alely původem identické, lze nazvat autozygotem.

3.1.2.1 Minimální velikost životaschopné populace

Minimální velikost populace, kdy pokles pod tuto hranici znamená riziko vyhynutí, je důležitým měřítkem pro rezervace, malé fragmentované populace a populace v lidské péči. Má dva aspekty: genetiku a dynamiku populace. Genetický drift se minimalizuje, pokud je poměr pohlaví v populaci 50:50. Efektivní velikost populace N_e je množství chovných jedinců. V ideální populaci je poměr mezi samci a samicemi 50:50, generace se nepřekrývají, páření je striktně náhodné a populace má stabilní velikost (Caughley 1994). Velikost populace N není dostatečná, pokud se ne všechna zvířata v populaci rozmnožují.

Efektivní velikost populace N_e lze spočítat takto:

$$N_e = 4N_m * N_f / (N_m + N_f)$$

N_m je počet rozmnožujících se samců a N_f je počet rozmnožujících se samic (Wright 1940).

Franklin (1980) počítá se dvěma odhady velikosti populace potřebné k udržení genetické rozmanitosti, velice často je citované pravidlo 50/500. Podle něj je efektivní velikost populace 50 minimum k udržení snesitelné míry inbreedingu a vyhnutí se inbrední depresi. Proces evoluce může volně probíhat při minimální hodnotě efektivní velikosti populace 500. Caughley (1994) se domnívá, že toto není možné generalizovat pro všechny druhy, protože každý žije v jiném prostředí a je na něj jinak adaptován.

3.1.2.2 Hodnocení založené na rodokmenových analýzách

Inbreeding podle rodokmenu předpokládá, že jedinec je inbrední, pokud jeho rodiče sdílejí stejné předky. Stupeň inbreedingu tedy odpovídá množství sdílených předků v rodokmenu (Keller & Waller 2002). Informace z rodokmenu jsou použity k určení koeficientu F , který se pak vztahuje k zakladatelům populace. Jedinec s koeficientem F má pravděpodobnost F , že dva geny na jednom lokusu mají identický původ a pravděpodobnost $1-F$, že nemají stejný původ. Jedinec ale může být homozygotní na lokusu i bez toho, aby obě alely měly stejný původ (Keller & Waller 2002).

Na analýze rodokmenu je založen výpočet koeficientu inbreedingu podle Wrighta (1922). Pokud je jedinec inbrední, jeho otec a matka mají v rodokmenu společného předka nebo předky. Wrightův (1922) koeficient inbreedingu se získá součtem koeficientů pro každou linii, kterou mají rodiče společnou. Každá linie se vrací zpět od otce ke společnému předkovi a odtud dále k matce a neprochází žádným jednotlivcem více než jednou. Stejný předek může být zapojen do více než jedné linie.

Vzorec pro výpočet koeficientu inbreedingu F_x je:

$$F_x = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^{n+n'+1} (1+F_a)$$

n je počet generací od otce po konkrétního společného předka

n' je počet generací od matky po konkrétního společného předka

F_a je koeficient inbreedingu F_x předka, který je sám inbrední (Wright 1922)

Vyjádření intenzity inbreedingu pomocí inbredního koeficientu F se dá snadno spočítat, ale interpretovat jeho biologický význam není lehké. Malécot (1948) formuloval výklad inbreedingu založený na pravděpodobnosti toho, že genotyp je autozygotní nebo že dva haplotypy v lokusu jsou původem identické (IBD). Za nepřítomnosti mutací a selekce se předpokládá, že se všechny lokusy oddělují podle stejného genealogického vzoru, a proto se od nich očekává, že mají stejný koeficient inbreedingu. Ten se nazývá koeficient příbuzenské plemenitby podle rodokmenu (Pedigree inbreeding coefficient = F_{PED}). F_{PED} se rovná průměrné autozygotnosti celého genomu u jedince nebo k poměru autozygotnosti daného jedince.

Odhady inbreedingu založené na identitě dle původu (IBD) musí odkazovat na nepřibuznou populaci předků. Při výpočtu F_{PED} jsou jedinci nepřítomní v rodokmenu považováni za nepřibuzné a referenční populace pro koeficient je určena jako zakládající členové dané populace. F_{PED} nepočítá s náhodnou povahou dědičnosti vycházející z konečného množství chromozomů a malého počtu rekombinací během meiózy. Výpočet F_{PED} také předpokládá neutralitu. Curik et al. (2002) tvrdí, že měření koeficientu inbreedingu vede ke zkresleným hodnotám pro opravdovou nebo realizovanou autozygotnost. Míra zkreslení je ovlivněna intenzitou selekce a genetickým modelem selektovaných vlastností. Autozygotnost odhadnutá pomocí rodokmenu bude nižší než odhady založené na lokusech obsahujících kumulativní a částečnou dominanci. Odhadovaná autozygotnost z rodokmenu bude vyšší než odhady u lokusů, které obsahují superdominanci.

F_{PED} se nejčastěji používá pro hospodářská zvířata. Tato metodika má několik kritických chyb, některé se týkají statistické analýzy a další souvisejí s měřením inbreedingu. Jeden ze statistických problémů je to, že homogenita rozptylu zahrnující rozsah inbreedingu je podle definice porušena, protože inbreeding ovlivňuje rozptyl kvantitativního znaku (Abney et al. 2000). Nízká variabilita inbreedingu může vést k malé síle regresní analýzy (Keller et al. 2011).

Dalším původcem chyb je nekompletní nebo chybný rodokmen. Velká chyba vzniká kvůli teoretickým vlastnostem F_{PED} , jelikož se jedná o očekávání, které ignoruje náhodné variace inbreedingu a rekombinace. Například se předpokládá, že všichni jedinci z vrhu budou mít stejnou úroveň inbreedingu (Curik et al. 2017).

3.1.2.3 Hodnocení metodami molekulární genetiky

U téměř všech přírodních populací chybí genealogické záznamy, proto měření negativních dopadů inbreedingu závisí na molekulárních informacích. V posledních dvou dekádách bylo vyzkoušeno několik koeficientů, které by nahradily F_{PED} . Všechny vycházely nebo souvisely s individuální multilokusovou heterozygotností (individual multilocus heterozygosity = MLH). Ta byla počítána jako poměr heterozygotních lokusů (Slate & Pemberton 2002).

Nejpopulárnějšími koeficienty se staly:

- standardizované MLH (Coulson et al. 1998),
- průměrné d^2 (Coulson et al. 1998),
- vnitřní příbuznost (Internal relatedness = IR).

Vnitřní příbuznost je definována vzorcem jako:

$$IR = (2H - \sum h_i) / (2L - \sum h_i)$$

H je množství homozygotních lokusů

L je celkové množství všech lokusů

h_i je frekvence i -té alely v genotypu (Amos et al. 2001)

Nejlepší koncept, který stanovuje množství genomického inbreedingu navrhli McQuillan et al. (2008). F_{ROH} napřímo stanovuje opravdovou nebo realizovanou autozygotnost. F_{ROH} je genomická míra individuální autozygotnosti definována jako podíl autozomálního genomu, ve kterém je autozygotnost odvozena z předpokladu, že velmi dlouhé úseky homozygotnosti (Runs of homozygosity = ROH) mohou být pouze výsledkem inbreedingu. Při výpočtu F_{ROH} McQuillan et al. (2008) vyloučili všechny oblasti okolo centromer (dlouhé genomické úseky neobsahující single nucleotide polymorphisms = SNP) a brali v úvahu pouze autosomální délku chromozomů pokrytou SNP. F_{ROH} umožňuje jeho rozdělení na chromozomální úroveň, specifické chromozální segmenty, a dokonce i na SNP.

Runs of homozygosity (ROH)

Broman a Weber (1999) jako první objevili dlouhé úseky homozygotních segmentů v lidské populaci. Ty byly později označovány jako Runs of homozygosity (ROH). McQuillan et al. (2008) představili F_{ROH} jako genomické hodnocení individuální autozygotnosti a určili ho jako poměr autosomálního genomu ležícím v ROH o určité minimální délce vzhledem k celkovému genomu v oblasti zájmu. Takto F_{ROH} ignoruje ROH na pohlavních chromozomech u samic, poněvadž mají rozdílný vzor rozdělení IBD a oblasti okolo centromer. Zahrnutí dlouhého genomového úseku bez SNP (single-nucleotide polymorphisms) by jinak mohlo vést ke zkresleným odhadům.

Vzorec na počítání F_{ROH} je:

$$F_{ROH} = \frac{\sum L_{ROH}}{L_{AUTOSOME}}$$

$\sum L_{ROH}$ je celková délka všech ROH v genomu jedince, kde oblasti obsahují minimum specifických čísel po sobě jdoucích homozygotních SNP

$L_{AUTOSOME}$ je specifická délka autosomálního genomu pokrytá SNP na fragmentu.

F_{ROH} má snadný biologický výklad a dá se jednoduše rozdělit na hodnoty pro jednotlivé chromozomy, nebo dokonce pro specifické chromozomální segmenty. Další výhodou F_{ROH} je jasnost jeho referenční populace. Zakládá se na očekávání, že dva příbuzní jedinci nebo dvě gamety splývající v jedinci, spolu sdílejí identické chromozomální segmenty (haplotypy) určité délky, za předpokladu že jsou původem identické (IBD). F_{ROH} dokáže měřit opravdový nebo realizovaný inbreeding a je také citlivý na selekci. Dá se snadněji vyložit a je lepší než F_{PED} v odhadování negativních důsledků inbreedingu (Curik et al. 2017).

Nejčastější software a technologie používané k rozeznávání ROH segmentů v SNP jsou:

1. PLINK
2. SVS
3. Vliv hustoty SNP fragmentu na identifikaci ROH

Hedrick a Miller (1992) ve své práci uvádějí příklady používaných metod molekulární genetiky. Patří mezi ně proteinová elektroforéza (Protein electrophoresis), analýza mitochondriální DNA (Mitochondrial DNA analyses), analýza vysoce proměnlivých jaderných sekvencí DNA včetně DNA fingerprinting a rozšíření sekvencí DNA pomocí řetězové reakce polymerázy (polymerase chain reaction = PCR).

Proteinová elektroforéza (Protein electrophoresis)

Je nejčastěji používanou metodou díky své nízké ceně a možnosti prověření mnoha jedinců. Několik biologů pokládá měření heterozygotnosti pomocí elektroforézy za dobrý způsob, jak měřit fitness jedince nebo populace, případně jak měřit potenciál pro inbrední depresi. Vysoká heterozygotnost a nízká inbrední deprese se může vytvořit po tom, co se spojí dvě populace po efektech hrdla láhve (bottlenecks), což u obou snížilo inbrední depresi, ale jinak je fixovalo pro elektroforetickou variantu. V nedávné studii u poddruhu myši *Peromyscus* sp., se zjistila jen malá souvislost mezi heterozygotností a inbrední depresí.

Analýza mitochondriální DNA (Mitochondrial DNA analyses)

Tato metoda je dražší a vyžaduje vyšší odborné a technické znalosti ke správnému provedení. S její pomocí lze zjistit vlastnosti, které jsou užitečné ke zjištění genetické variace v populaci. Mitochondriální DNA je dědičná po matčině straně a množství záměny nukleotidů v mtDNA je pět až desetkrát větší než v jaderné DNA.

Analýza vysoce proměnlivých jaderných sekvencí DNA včetně DNA fingerprinting

Nejčastěji používanými vysoce proměnlivými nukleárními sekvencemi jsou ty, které tvoří variabilní počet lokusů tandemových repetitivních sekvencí používaných pro „otisk prstu DNA“. Díky množství kódů lokusů pro tyto sekvence a variabilitě každého lokusu, nesouvisející jedinci mají obecně jedinečný genetický „otisk prstu“.

Rozšíření sekvencí DNA pomocí řetězové reakce polymerázy (polymerase chain reaction = PCR)

V rozšíření sekvencí DNA pomocí řetězové reakce polymerázy (polymerase chain reaction = PCR) se používá zesílení/rozšíření DNA in-vitro. Použitím této metody může být jedna kopie požadované nukleotidové sekvence amplifikována více než milionkrát za pouhých několik hodin, což kontrastuje s tradičními metodami klonování genu, které trvají dny až týdny. Pro tuto techniku stačí malý vzorek DNA jako je například lidský vlas, což umožňuje neinvazivní odběr DNA ze živých zvířat i z vhodných neživých exemplářů v muzeích.

3.1.3 Dopady inbreedingu na zvířecí populace

3.1.3.1 Inbreeding u hospodářských zvířat

U hospodářských zvířat se inbreeding v minulosti podílel na vzniku plemen. Zvýšením homozygotnosti docházelo k unifikaci vzhledu jednotlivých plemen a také k zafixování

konkrétních užitkových vlastností. Dnes díky tomu rozlišujeme různé užitkové směry u téměř všech chovaných hospodářských zvířat. Homozygotnost tedy byla v genech ovlivňujících užitkovost žádaná. Intenzivní selekcí v populaci se dosáhlo významného genetického zisku, a to zejména ve znacích významných pro ekonomický přínos, např. nárůst produkce mléka a obsahu mléčného tuku v mléce. Následkem tohoto genetického zisku je však zvýšený stupeň inbreedingu. Hromadění inbrední deprese by mohlo způsobit sníženou produkci dojného skotu (Baes et al. 2019).

Některé druhy hospodářských zvířat mají vlivem moderních reprodukčních technologií malou efektivní velikost populace. Nízká velikost efektivní populace u domácích zvířat pomáhá udržet fenotypovou vyrovnanost v populaci, ale zvyšuje pravděpodobnost výskytu negativních důsledků inbreedingu. Vzhledem k tomu, že hlavním cílem chovu hospodářských zvířat je maximalizování genetického zisku, je udržení poměru pohlaví 1:1 často nemožné. Populace jsou tedy často udržovány s mnohem větším počtem samic než samců. Velikost efektivní populace mezi mnoha plemeny hospodářských zvířat je pod číslem 100 (Leroy et al. 2013). Důvodem je intenzivní směrná selekce zvířat. Například počty jedinců mléčného skotu plemena Holstein dosahují miliony, velikost efektivní populace je jen okolo 100 (Sørensen et al. 2005). Výsledkem je nahromadění inbreedingu v celém plemeni Holstein stejnou rychlostí, jaké by bylo dosaženo u ideální populace čítající pouze 100 jedinců (Howard et al. 2017).

Pomocí nových technologií, zejména umělou inseminací, se užitkovost některých plemen pomalu dostává do extrémů. Použití umělé inseminace vede ke snížení potřebného množství býků, což má za následek snížení efektivní populace celého plemene a zvyšování inbreedingu u chovaných zvířat. Chovatelské postupy, které vedou ke zvyšování genetického zisku se podílejí na zvyšování koeficientu inbreedingu F a snižují průměrné fenotypové hodnoty v některých znacích (Gómez et al. 2009).

Dorado et al. (2017) zjistili výrazně vyšší počet aktivních, ale neprogresivních spermií u vysoce inbredních býků a také zjistili, že krávy oplodněné inbredními býky měly mírně delší mezidobí. Ti nejlepší plemeníci mají tisíce potomků, takže jen několik jednotlivců přispěje svými geny do další generace. Použití embryotransferu má podobný vliv na samičí populaci, ale ne tak drastický jako je tomu u samců. Klonování by také mohlo mít podobný vliv, kdyby se začalo využívat ve vyšší míře (Baes et al. 2019). Inbrední deprese a snížení fitness vede k větší náchylnosti zvířat k různým chorobám, k přecitlivělosti na prostředí a k vyšší vnímavosti ke stresu. Všechny tyto faktory snižují užitkovost a kvalitu produktu. Vedle snížené produkce zapříčiňuje inbrední deprese také zhoršení reprodukčních vlastností a následně nevyhnutelnou ekonomickou ztrátu.

3.1.3.2 Inbreeding u nedomestikovaných zvířat v lidské péči

Původní motivací pro chov zvířat v zajetí byla atraktivita předvedení živých exotických zvířat, která nebyla jinde k vidění. Zpočátku se jednalo převážně o různá menažeria a důraz se

kladl hlavně na vystavování konkrétního zvířete. Postupem času se od tohoto způsobu chovu upustilo a se zvyšujícími se znalostmi se chov začal vést směrem, ve kterém převážila co největší snaha napodobit přirozené prostředí chovaných zvířat. S těmito změnami se podmínky chovaných zvířat zlepšily natolik, že se u některých druhů začalo dařit odchovávat mláďata. Odchovy byly nejprve náhodné a nebylo jim věnováno příliš pozornosti. S každým dalším úspěšným odchovem však bylo jasnější, že je zapotřebí chov nějakým způsobem kontrolovat, aby se zamezilo příbuzenskému křížení a jeho negativním důsledkům.

Vystavování živých zvířat se postupně přeneslo do zoologických zahrad, které v dnešní době slouží nejen ke vzdělávání veřejnosti, ale hrají stále důležitější roli v ochraně druhů před vyhynutím. Udržení životaschopné a úspěšně se rozmnožující populace může být otázkou přežití konkrétního druhu. Mnoho zoologických zahrad se proto podílí na ochraně druhu přímo v místě jeho výskytu a tím ochraňují přírodní dědictví po celé Zemi. Základem ochrany druhu by vždy měla být snaha o jeho udržení na místě přirozeného výskytu.

Většina populací v zoologických zahradách je omezená a dovoz nových zvířat z volné přírody je obzvláště u velkých zvířat často nemožný. Proto spolu zoologické zahrady vzájemně spolupracují a sdružují se do významných celků, jako je například Evropská asociace zoologických zahrad (EAZA). Mezinárodní spolupráce vede k lepšímu přehledu o populacích chovaných zvířat a vedení chovných knih pomáhá k minimalizaci růstu inbreedingu. Toho lze dosáhnout vzájemnou výměnou zvířat mezi chovatelskými zařízeními. Většina druhů má vlastního kurátora, který rozhoduje o směru chovu a vhodnému výběru rodičů. Vzájemná spolupráce také napomáhá ke zvýšení populační základny chovaného druhu, jelikož každá zoologická zahrada má jen omezený prostor, který může k chovu využít.

V chovu zvířat v zajetí je snaha se co nejvíce vyhnout inbreedingu a předejít jeho negativním důsledkům. Má-li populace držená v lidské péči sloužit jako „rezerva“ druhu, je potřeba, aby byla co nejvíce životaschopná a normálně se rozmnožovala. Také je třeba udržet co nejvyšší možnou genetickou diverzitu jedinců, jinak hrozí ztráta adaptačního potenciálu a případný návrat odchovanců do přírody by nemusel být dlouhodobě úspěšný. V chovu ohrožených druhů v lidské péči se díky neustálé snaze vylepšit podmínky pro chov daného druhu časem zvyšuje množství zvířat, která bez problémů přežívají i se zvyšujícím se koeficientem inbreedingu u populací s malým množstvím zakladatelů (Hedrick & Kalinowski 2000).

Jeden z úspěšných příkladů návratu druhu do volné přírody je kůň Převalského (*Equus ferus przewalskii* Poliakov, 1881), o který se ve velké míře zasloužila i Zoologická zahrada v Praze. Původní populace koně Převalského byla ve volné přírodě úplně vyhubena na přelomu 60. a 70. let 20. století a tento druh přežil jen díky chovu v zajetí. Všichni koně v lidské péči mají pouze 13 předků (Ryder 1993) a díky zodpovědnému vedení plemenné knihy Zoologickou zahradou Praha se podařilo reintrodukovat zdravá zvířata na místo jejich bývalého výskytu v Mongolsku a Číně (Zoo Praha 2013).

Zoologické zahrady by měly chovat i druhy, které nejsou v bezprostředním nebezpečí vyhynutí. Pokud se populace druhu náhle sníží, mohlo by založení jejich chovu přijít příliš pozdě, protože dostupní jedinci ve volné přírodě jsou již vystaveni inbreedingu.

3.2 Genetická diverzita

Genetická diverzita označuje bohatost genové základny dané populace. Skládá se z veškerých genů, které má daná populace k dispozici, což zahrnuje i neutrální a škodlivé geny. Jedním z hlavních dlouhodobých cílů genetiky zabývajících se ochranou druhů je udržení dostatečné genetické diverzity, zajišťující u druhu jeho schopnost adaptace i v budoucnosti. Genetická rozmanitost také ovlivňuje možnost efektivního rozšíření v novém prostředí nebo úspěšnou obnovu velikosti populace na jejím původním místě výskytu (Hedrick & Miller 1992). Genetická rozmanitost je jednou ze tří forem biologické rozmanitosti, kterou Světová unie ochrany přírody (IUCN) doporučuje k ochraně (McNeely et al. 1990). Dvěma hlavními důvody k tomuto doporučení je důležitost genetické rozmanitosti k evoluci a přizpůsobení se na změny prostředí a také fakt, že ztráta heterozygotnosti přímo souvisí se sníženou kondicí populace prostřednictvím inbrední deprese (Reed & Frankham 2003).

Množství dostupných genů obvykle bývá rozmanitější ve velkých populacích. To ale nemusí být vždy pravidlem. Například u již zmíněného plemene skotu Holstein počty jedinců dosahují miliony, efektivní velikost populace se ale pohybuje jen okolo 100 (Sørensen et al. 2005). Se zmenšováním populace hrozí nenahraditelná ztráta některých genů. Omezené populace totiž ztrácejí genetickou rozmanitost v důsledku genetického driftu a inbreedingu (Reed & Frankham 2003). Obecně je snaha o zachování co nejvyššího stupně genetické diverzity, protože zvyšuje množství heterozygotů v populaci.

Pro malou a izolovanou populaci existují dvě genetické hrozby. Jednou z nich je ztráta genetické rozmanitosti a druhou je nahromadění škodlivých mutací. Jedním z důvodů snížení genetické diverzity je fixace nebo ztráta alel v populaci genetickým driftem. To způsobuje nedostatečnou genetickou variaci k udržení adaptačního evolučního potenciálu druhu (Lande 1995). U málo početné populace se také často více kumulují škodlivé mutace, protože selekce přirozeným výběrem u nich není tak efektivní, jako u velkých populací (Lynch et al. 1995). Efekty obou těchto procesů se hromadí postupně, proto populaci neohrožují okamžitě na rozdíl od inbreedingu, který se může projevit v podobě inbrední deprese velice rychle (Keller & Waller 2002).

Podle Harrisona et al. (2019) by snahy o záchranu malých populací měly mířit hlavně na zvyšování genetické rozmanitosti. Zatím se neví, zda tento způsob ochrany nemá druhotné škodlivé účinky. Například pokud do vysoce inbrední populace přidáme hodně rozdílného jedince, můžou se v populaci projevit nové, negativní efekty. Nedávné výzkumy ukázaly že v některých případech to může mít negativní dopad hlavně u populací, u kterých se inbreeding nahromadil postupně (Robinson et al. 2018). Udržení genetické diverzity v populaci se dá

dosáhnout maximalizováním efektivní velikosti populace (N_e) nebo minimalizováním zvýšení inbreedingu v generacích. V ideálním případě se doporučuje chovat stejné množství samců a samic a udržovat stálou velikost populace. U všech populací, divokých i chovaných v lidské péči, je minimální velikost efektivní populace potřebná k předejití inbreedingu 50, kdy alespoň 500 je potřeba k udržení dlouhodobého evolučního potenciálu (Franklin 1980).

3.2.1 Bottleneck

Náhlé snížení počtu jedinců v populaci se označuje jako „bottleneck effect“ neboli efekt hrdla láhve. Jedná se například o přírodní katastrofu, náhlý úbytek potravy nebo důsledek lidské činnosti. Rychlým snížením počtu jedinců se také sníží genetická základna a běžným výsledkem bottlenecku je snížení genetické diverzity a zvýšení rizika vzniku inbreedingu. Proto by se mu u ohrožených populací mělo co nejvíce vyhýbat (Hedrick & Miller 1992). Bylo vyzorováno, že inbrední jedinci, kteří prošli efektem hrdla láhve, mají mnohem nižší fitness než jedinci, kteří jsou inbreedingu vystavováni dlouhodobě. Silně inbrední populace se z bottlenecku vzpamatovávají velice pomalu (Roelke et al. 1993).

Například populace vlků z národního parku Isle Royale na severu Michiganu byla založena před méně než sto lety a byla vystavena silnému inbreedingu s důkazy o výskytu inbrední deprese. Populace vlků se nerozrůstá i přes dostatečné množství kořisti a je tedy pravděpodobné, že je odsouzena k vyhynutí (Räikkönen et al. 2009). Velké populace, ze které například pocházeli vlci z Isle Royale, pravděpodobně nesou velké množství skrytých škodlivých recesivních alel ve svém genomu, což zvyšuje riziko inbrední deprese, pokud se počet jedinců v populaci sníží (Robinson et al. 2018).

Při postupném a pomalém nahromadování inbreedingu v dané populaci je nižší pravděpodobnost, že genetický drift zafixuje škodlivou mutaci, která následně sníží fitness celé populace. Takovýmto populacím může rovněž pomoci „purging“, neboli očista, jejíž princip bude vysvětlen později. Díky inbreedingu a následnému zvýšení homozygotnosti se odhalí škodlivé recesivní varianty, které je pak snadnější vyselektovat a omezit jejich výskyt. To by mohlo být důvodem, proč některé ostrovní populace, jako je například liška ostrovní (*Urocyon littoralis* (Baird, 1857)), netrpí inbrední depresí ani sníženou fitness navzdory tomu, že jejich koeficient inbreedingu je mnohem vyšší než u některých neizolovaných populací. U lišky ostrovní zřejmě samovolný purging již v minulosti očistil populaci od silně škodlivých alel a ani současný silný bottleneck nemá tak vážné následky, jako by mohl mít u jiných outbredních populací (Robinson et al. 2018).

3.2.2 Genetický drift

Genetický drift neboli genetický posun je jev, při kterém se mění frekvence výskytu alel v dané populaci. V malých populacích může zafixovat škodlivé alely, které snižují fitness

u téměř všech jedinců konkrétní populace (Hedrick & Kalinowski 2000). Pravděpodobnost toho, že genetický drift zafixuje danou alelu, je závislá na její původní frekvenci výskytu a velikosti populace (Caughley 1994). Tento efekt může být obzvlášť důležitý v ochraně ohrožených druhů, jejichž populace jsou většinou malé nebo si prošly bottleneckem. V takovéto populaci je možné, že inbrední mláďata nemají nižší fitness než ta neinbrední, ale místo toho všichni jedinci v populaci mají sníženou fitness oproti jejich předkům před genetickým driftem (Hedrick & Kalinowski 2000).

Pokud je inbrední deprese způsobena přítomností částečně recesivních škodlivých alel, selekce inbredních jedinců s projevy škodlivých mutací by měla zredukovat frekvenci výskytu těchto škodlivých alel a očistit populaci alespoň od části jejího genetického zatížení. Tato očista ale efektivně odstraňuje pouze výrazně škodlivé a letální mutace, ale proti mírně škodlivým mutacím, které se také podílí na inbrední depresi, není tolik účinná (Keller & Waller 2002).

3.3 Přírodní mechanismy zabraňující inbreedingu

Pokud je riziko inbreedingu vysoké a inbrední deprese je opravdu škodlivá, lze očekávat, že se u druhů vyvinou mechanismy směřující k zabránění inbreedingu (Pusey & Wolf 1996). Inbrední jedinci jsou v porovnání s outbredními jedinci často menší, také méně plodní a rovněž častěji vykazují menší míru přežití. Redukce fitness potomků je pro samice nevýhodné, protože oproti samcům do svých potomků investují více energie. U mnoha druhů ve volné přírodě lze tedy sledovat různé mechanismy sloužící k zabránění nebo omezení páření blízce příbuzných zvířat. Podle některých vědců nelze s jistotou určit, jak silně evoluce ovlivnila mechanismy k zabránění inbreedingu. Většina teorií totiž nepočítá s případy, kdy inbreeding může být ve prospěch jedince a zároveň také se zvýšenou náročností na energii při vyhýbání se inbreedingu (Szulkin et al. 2013).

Inbreeding snižuje kvalitu a kondici samce, čímž se stává pro samici méně atraktivní, protože samice získá pro potomstvo i pro sebe méně výhod při páření se s takovýmto samcem (Fox et al. 2012). Benefity pro samici zahrnují kvalitu a počet spermií, velikost snubních darů a rodičovské schopnosti samce. Pro omezení inbreedingu je důležitá schopnost aktivního výběru partnera. Pokud samice nebo samec nemají na výběr, vzniku inbredního potomstva nejsou schopni zabránit. Samice se také můžou vyhýbat nepříbuzným samcům, kteří jsou inbrední, obzvlášť pokud je k dispozici kvalitnější outbrední nepříbuzný samec (Ilmonen et al. 2009).

Kvůli škodlivým dopadům inbreedingu na fitness potomků je možné, že stupeň inbreedingu může ovlivnit výběr partnera, který je výsledkem interakce samců a samic. Samice ve většině případů bývají pohlavím, které si vybírá, zatímco samci o samice soupeří. Pilakouta & Smiseth (2016) zkoumali vliv stupně inbreedingu na výběr partnera u samic hrobaříka malého (*Nicrophorus vespilloides* Herbst, 1784). Bylo zjištěno, že preference samic závisí na jejich vlastním stupni inbreedingu. Inbrední samice se častěji pářily s outbredními samci než

s inbredními, zatímco u outbredních samic nebyla zaznamenána žádná preference. Některé inbrední samice se pářily výhradně s outbredními samci.

Strategie k omezení inbreedingu lze rozdělit na pre-kopulační a post-kopulační a mohou fungovat samostatně, nebo se vzájemně doplňovat (Tregenza & Wedell 2000). K pre-kopulační strategii dochází před pářením. Je tedy zapotřebí, aby se samice vyhýbala příbuzným jedincům a aby byla schopná rozpoznat jejich vlastnosti jako je například jejich pach, vzhled a zvukový projev. Samice také musí mít šanci se páření vyhnout nebo ho odmítnout (Speechley et al. 2019).

U druhů, které toto nedokáží, se může uplatnit post-kopulační strategie spoléhající na to, že se samice spáří s více samci (Tregenza & Wedell 2000). Polyandrie tedy může pomáhat v omezování inbreedingu hlavně dvěma způsoby. Páření s více samci způsobí zředění množství spermatu od jednoho samce, tudíž může snížit množství potomků po příbuzném otci. Samice také může zvýhodnit spermie nepříbuzných samců oproti spermiím samců příbuzných.

Polyandrie často vede k vícenásobnému otcovství a běžně se vyskytuje u obratlovců i bezobratlých (Croshaw et al. 2017). Několikanásobné páření může být pro samici více energeticky náročné a také se vystavuje rizikům ve formě predace, zranění a sexuálně přenosných chorob (Thonhauser et al. 2013). Tyto náklady naznačují, že samice z polyandrie musí získávat nějaké benefity, přímé i nepřímé (Tregenza & Wedell 2002). Nepřímé genetické benefity mohou zahrnovat větší soupeření spermií více samců, z nichž pouze ty nejlepší se budou podílet na počtetí potomstva. Znalost rozmnožovací strategie konkrétního druhu hraje důležitou roli v rozpoznání a udržení genetické rozmanitosti v divokých populacích i v populacích chovaných v zajetí.

3.3.1 Příklady mechanismů sloužících k omezení inbreedingu

Nejčastějšími mechanismy sloužícími k omezení inbreedingu jsou podle Pusey & Wolf (1996) tyto:

- Vyhýbání se inbreedingu rozptýlením do prostředí
- Vyhýbání se inbreedingu pomocí kopulace s jedincem mimo pár nebo mimo skupinu
- Rozpoznání příbuzného jedince a vyhýbání se páření s ním
- Vyhnutí se inbreedingu pomocí pozdějšího dospívání nebo potlačení reprodukce
- Vliv sociálního systému na mechanismy sloužící k omezení inbreedingu
- Vliv sociálního systému na blízkou diskriminaci příbuzných mechanismů sloužících k omezení inbreedingu

Vyhýbání se inbreedingu migrací

Odchod dospělého jedince z rodičovské skupiny nebo z místa narození je časté u savců a ptáků. U některých sociálních systémů odcházejí pouze samci, nebo samice. Pokud ze skupiny odcházejí samci a samice ve skupině zůstávají, jedná se o filopatrii samic. V opačném případě jsou filopatričtí samci a dospělé samice opouštějí rodičovskou skupinu. Odchod z místa narození byl také zaznamenán u ryb, obojživelníků, plazů i hmyzu. Oddělení jedinců od skupiny omezuje inbreeding, ale není jisté, zda se tento mechanismus vyvinul zcela jen kvůli inbreedingu, nebo se především jedná o snahu vyhnout se kompetici mezi pohlavími nebo soupeření o zdroje (Pusey & Wolf 1996).

Vyhýbání se inbreedingu pomocí kopulace s jedincem mimo pár nebo mimo skupinu

U některých druhů se potomci od rodičů nevzdalují příliš daleko a zůstávají v jejich okolí. Před příchodem molekulárních způsobů měření inbreedingu se předpokládalo, že u těchto druhů bude vysoká míra příbuzenského páření. Elektroforetickou analýzou se však ukázalo, že například u modropláštěvníka modrofialového (*Malurus splendens* (Quoy & Gaimard, 1830)) nebylo až 60 % mláďat v hnízdech potomky přítomného samce (Rowley et al. 1993). DNA fingerprinting u dalších druhů s nízkou migrací také indikuje vysoké množství kopulací s jedincem z jiné skupiny. Samci i samice kulohlavce černého (*Globicephala melas* (Traill, 1809)) zůstávají ve své rodné skupině po celý život, ale otcové mláďat pocházejí zvenčí (Amos et al. 1993).

Rozpoznání příbuzného jedince a vyhýbání se páření s ním

Některé druhy jsou schopné rozpoznat příbuzné jedince a vyhnout se páření s nimi. Například v přírodních populacích primátů je velmi nízký výskyt páření příbuzných jedinců žijících ve stejné skupině, dokonce i u vzdálených příbuzných jako jsou první i druhý bratřanci. Studie u mnoha různých druhů také ukázaly, že blízce příbuzný jedinec je pro druhého neatraktivní a chybí u nich zájem o vzájemné páření (Pusey & Wolf 1996).

Vyhnutí se inbreedingu pomocí pozdějšího dospívání nebo potlačení reprodukce

U některých druhů sourozenci dospívají různou rychlostí, což jim zabraňuje se spolu spářit. Pozdější dospívání za přítomnosti rodičů je také jedním z běžných důvodů, proč u jedinců v rodinných skupinách nedochází k inbreedingu. Jedním z příkladů jsou například samice lva (*Panthera leo* (Linnaeus, 1758)), u kterých je nástup estru dřívější, pokud jejich otce nahradí nový samec (Hanby & Bygott 1987).

Vliv sociálního systému na mechanismy sloužící k omezení inbreedingu

Je možné, že schopnost rozlišit mezi příbuzným a nepříbuzným jedincem je vyspělejší u druhů, kde se příbuzní jedinci v dospělosti budou navzájem potkávat (Pusey & Wolf 1996).

Vliv sociálního systému na blízkou diskriminaci příbuzných

U druhů, kde jsou jedinci schopní rozeznat příbuzenstvo a vyhnout se páření s ním, se mechanismy liší podle sociálního systému. Na základě spojování fenotypových charakterů do určitého standardu nebo šablony lze rozpoznat známé jedince od jiných. U některých druhů může taková šablona fenotypu ovlivnit výběr partnera. Jedinec je schopen se precizně naučit vlastnosti jedinců ve svém okolí v mládí, kterým se později vyhýbá při výběru partnera (Pusey & Wolf 1996).

3.4 Způsoby eliminace negativních důsledků inbreedingu u nedomestikovaných zvířat v lidské péči

3.4.1 Vedení plemenných knih a molekulární metody

Plemenné knihy byly jedním z prvních způsobů, jak kontrolovat a řídit chov zvířat. Vedení podrobného rodokmenu je důležité ke správnému genetickému řízení. Díky detailně zpracovanému rodokmenu je možné získat genetické informace jako je intenzita inbreedingu nebo distribuce genů zakladatelů chovu v současné populaci. Identifikace geneticky důležitých jedinců je velice důležitá v každém chovném programu hlavně kvůli omezenému prostoru pro chov zvířat v zoologických zahradách. Navíc omezení inbreedingu a inbrední deprese je jedním z nejdůležitějších krátkodobých chovatelských cílů. Jedním z primárních cílů v chovu v zajetí je zajištění přežití alel zakladatelů. Jelikož návrat druhů na jejich původní místo výskytu má vysokou prioritu, je třeba zachovat genetickou reprezentaci všech zakladatelů odchycených z přírody. Udržením těchto alel se také chrání genetická diverzita (Hedrick & Miller 1992).

Použití rodokmenů k odhadnutí míry inbreedingu má jistá omezení. Pro mnoho druhů žádný rodokmen neexistuje, a i když druh rodokmen má, jeho limitované množství detailů a možnost výskytů nepřesností může způsobit nepřesný odhad stupně inbreedingu (Hedrick & Garcia-Dorado 2016). Použití pouze této metody také nepostačuje, pokud chceme zjistit, jaké geny dané zvíře skutečně má. Dvě podle rodokmenu nepříbuzná zvířata totiž mohou mít 2 stejné alely a jejich potomek se může stát homozygotem v těchto alelách, i když není výsledkem inbreedingu. To by mohlo způsobit projev škodlivé recesivní mutace.

Vedení knihy také vyžaduje přesnost a důslednost, aby se eliminovalo co nejvíce chyb v zápisu. Přesto nemusí být všechny zápisy přesné, proto by se u obzvláště ohrožených druhů s malou populační základnou mělo využívat i dalších způsobů předcházení inbreedingu a následné inbrední deprese, jako jsou například molekulární metody.

Díky molekulárním metodám lze zjistit míru inbreedingu i u druhů, pro které není veden rodokmen (Hedrick & Garcia-Dorado 2016). Molekulární metody ochrany druhů mají velký potenciál v pomoci udržení a ochraně genetické diverzity v divokých i chovaných populacích ohrožených druhů.

3.4.2 Purging

Purging neboli očista, je cílená nebo přirozená eliminace výrazně škodlivých mutací v populaci. Jelikož inbreeding zvyšuje výskyt nepříznivého homozygotního genotypu, selekce škodlivých alel je jednodušší a umožňuje populaci očistit se od nepříznivých mutací (Barrett & Charlesworth 1991). Teoreticky díky purgingu mají populace šanci vrátit se na stejnou nebo i vyšší úroveň fitness oproti náhodně se pářící populaci. Je ale nepravděpodobné, že by purging dokázal zvrátit veškeré škodlivé účinky inbreedingu (Pusey & Wolf 1996). Purging by mohl být významný v ochraně druhů, kde i malé změny ovlivňující životaschopnost mohou být rozhodující faktorem přežití nebo zánik populace (Boakes et al. 2007).

Použití očisty k ochraně druhů je ale sporné hlavně kvůli rizikům, které s sebou nese. Pokud budeme záměrně zvyšovat homozygotnost u ohrožené populace, může se stát, že k purgingu nedojde a v populaci se škodlivé mutace zafixují genetickým driftem. Tím bychom mohli snížit fitness chovaných zvířat a v případě silně ohrožených druhů je dokonce odsoudit k vyhynutí. Zvyšováním homozygotnosti také hrozí ztráta genetické diverzity. Při úspěšném purgingu bychom ale mohli eliminovat negativní dopady inbreedingu a udržet fitness chovaných zvířat na vysoké úrovni i v malých populacích.

O vlivu, který má purging na divoké populace i populace v zajetí, zatím není mnoho přesných informací a bližší porozumění tomuto efektu by mohlo být velice prospěšné v řízení chovu ohrožených druhů zvířat (Boakes et al. 2007). Spoléhat se pouze na efekty purgingu však není vhodné, protože podmínky v chovu v lidské péči neodpovídají podmínkám ve volné přírodě. Prostředí chovu v zajetí je pro zvířata mnohem vlídnější, což může omezit negativní projevy inbrední deprese a selekce škodlivých mutací nebude dostatečná k tomu, aby se purging projevil. Dalším problémem využití purgingu ke zvýšení fitness a omezení inbrední deprese u ohrožené populace chované v lidské péči je fakt, že purging je mnohem efektivnější, pokud je míra inbreedingu nízká a vzniká v delším časovém úseku (Day et al. 2003).

Pokusy s mouchou domácí (*Musca domestica* Linnaeus, 1758) odhalily, že purging a následné přežití populace má mnohem větší šanci na úspěch, pokud se inbreeding nahromaduje postupně a pomalu, oproti rychlému zvýšení míry inbreedingu, jako je tomu u náhlých a silných bottlenecků (Day et al. 2003). S postupně se zvyšující homozygotností se projevují dříve skryté škodlivé mutace, které lze z populace vyřadit. Proto je pravděpodobné, že purging je jedním z důvodů, proč izolované ostrovní populace jsou schopné dlouhodobě přežívat i bez významného snížení fitness. U ostrovních populací se inbreeding nahromaduje postupně a obvykle po dlouhý časový úsek. Pokud je nahromadění inbreedingu náhlé, jako např. důsledek zmíněného bottlenecku, škodlivé mutace nemají dostatek času projevit se a z populace vymizet. V takovém případě je větší pravděpodobnost genetického driftu a zafixování škodlivých mutací v populaci.

Kvůli omezenému množství zvířat v chovu v lidské péči jsou jedinci obvykle vystaveni nezvykle vysoké míře inbreedingu v krátké době, a to by mohlo kladné efekty purgingu omezovat. Pokud se tedy purging v populacích v zajetí projevuje jen minimálně nebo vůbec,

záměrný inbreeding malých ohrožených populací by mohl být naopak silně poškozující (Boakes et al. 2007). U každého druhu jsou účinky purgingu odlišné, proto je důležité zjistit, jak a zda se vůbec purging v chovech v lidské péči projevuje.

Rozdílné efekty purgingu u populací chovaných v lidské péči mají několik vysvětlení. Často záleží na zakládajících zvířatech konkrétního druhu, z nichž některá již mohla projít očistou před jejich odchycem z volné přírody. Pokud se populace očistila od škodlivých mutací, je pravděpodobné, že když se dostane do lidské péče, má mnohem menší šanci trpět inbrední depresí (Boakes et al. 2007). U některých druhů, hlavně u těch ohrožených, si zakládající jedinci mohli projít bottleneckem nebo pocházejí z dlouhodobě nízké populace a jsou tedy inbrední depresí poznamenáni již z volné přírody.

Purging v chovu v lidské péči také může omezovat rozdílná selekce oproti volně žijící populaci. Situace, které by pro jedince ve volné přírodě mohly znamenat odsouzení k smrti, nejsou v chovu tak škodlivé. Může se jednat například o albinismus, epilepsii nebo šedý zákal (Boakes et al. 2007). Veterinární péče také omezuje průběh selekce zahrnující kvalitu imunitního systému jedince. Díky vakcinaci a dalším opatřením omezující rozvoj různých chorob se jedinec se slabším imunitním systémem téměř neliší od jedince s kvalitnějším imunitním systémem. Jedinci navíc spolu nemusí soupeřit o partnery k páření, což je také rozdíl od přirozené selekce, kde se ve většině případů páří ten nejlepší samec.

Dalším argumentem proti užití purgingu je fakt, že na inbrední depresi se podílejí mutace s velkým ale i s malým efektem. Purging při postupném nahromadění inbreedingu očistí hlavně letální nebo semiletální alely, což umožní přetrvávání mírně škodlivých alel v populaci (Boakes et al. 2007). Efekty purgingu jsou tedy proměnlivé a nevyzpytatelné. Pokud je nárůst inbreedingu náhlý a stane se v rozmezí malého množství generací, jak se to často děje u zvířat chovaných v zajetí, purging pravděpodobně nenastane. Dále také purging nebude mít silný efekt, pokud je inbrední deprese způsobena množstvím méně škodlivých alel a v genomu se nachází méně letálních ekvivalentů (Hedrick 1994). Purging pomocí inbreedingu očistí populaci od inbrední deprese vzniklé částečně recesivními alelami, což ho dělá neefektivním proti lokusům vykazujícím superdominanci (Rumball et al. 1994). Možný stupeň očištění tedy závisí na míře, kterou oba tyto mechanismy přispívají k inbrední depresi.

Jedním z úspěšných příkladů purgingu v ochraně druhů je gazela Spekeova (*Gazella spekei* (Blyth, 1863)). Gazely Spekeovy chované v zajetí pocházely ze tří samic a jednoho samce, tudíž se nedalo vyhnout inbreedingu. Druhá a třetí generace inbrední gazely byla více životaschopná než generace první. Inbrední gazely, jejichž rodiče byli také inbrední, měly vyšší pravděpodobnost přežití než inbrední gazely, jejichž rodiče byli neinbrední. To by naznačovalo úbytek inbrední deprese pomocí purgingu. I když se očista nestala akceptovanou strategií v chovu malých populací, Spekeova gazela posloužila jako studie inbrední deprese a je často považována za úspěšný příklad využití purgingu. Úroveň inbrední deprese sice byla dramaticky snížena po pouhých dvou nebo třech generacích (Templeton & Read 1984), avšak opakovaná analýza stejných dat nedokázala najít důkaz o vylepšení genetického potenciálu Spekeovy gazely (Kalinowski et al. 2000).

3.4.3 Genetic rescue

Genetic rescue neboli genetická záchrana je způsob, kterým se dá zvýšit heterozygotnost v populaci. Jedná se o zařazení jedince do inbrední populace z jiné, nepříbuzné populace stejného druhu. Zavádějí se příznivé variace nepříbuzné populace zvenčí pokud možno u genů, které jsou fixované na varianty způsobující inbrední depresi v populaci. Toho se dá docílit vypuštěním nepříbuzných zvířat do místa výskytu inbrední populace, jako tomu bylo například u pumy floridské (*Felis concolor coryi* Kerr, 1792), kde se již po několika generacích znatelně zredukovaly dopady inbrední deprese. Introdukce nepříbuzných zvířat do inbrední populace může mít však rovněž okamžité škodlivé dopady, protože se může objevit v původní populaci neznámá nemoc nebo jiné škodlivé efekty (Snyder et al. 1996). Pokud bychom chtěli ke genetické záchrane využít zvířata chovaná v zajetí, hrozí, že ztratila adaptaci na své přirozené prostředí a přizpůsobila se k chovu v zajetí. Zvířata z chovu v lidské péči také mohou nést nakažlivé choroby, na které není původní populace adaptována. Jejich neuvážené zařazení do populace by tedy mohlo sebou přinést více škody než užítku. Proto je třeba genetickou záchranu provádět obezřetně a po pečlivém plánování.

Genetickou záchranou lze zachránit populace, které si prošly efektem hrda láhve. Ta jim může pomoci zvýšit efektivní velikost populace a rozmanitost genů natolik, aby se zvládly vypořádat s náhlým omezením populace. Tento postup je ale vhodné používat pouze u populací, které nejsou známé dlouhodobě nízkou genetickou diverzitou. Genetic rescue tedy není vhodné používat u ostrovních populací, jako jsou například již zmíněné lišky ostrovní (*Urocyon littoralis*), protože zde již purging odstranil škodlivé mutace. Zařazením nepříbuzných jedinců do ostrovní populace by se mohly zavést nové škodlivé mutace nebo neznámé choroby, které by mohly ohrozit existenci této populace. Úbytek jedinců v dlouhodobě prosperující izolované populaci je většinou zapříčiněn působením vnějších faktorů, jedním z nich je například stále častější lidská činnost. Genetická záchrana by v takovémto případě populaci stejně nepomohla, jen by ji ohrozila (Robinson et al. 2018).

Některými úspěšnými příklady genetic rescue jsou:

Tetřívka prériový (*Tympanuchus cupido pinnatus* (Brewster, 1885))

Populace poddruhu tetřívka prériového (*Tympanuchus cupido pinnatus*) v Illinois se z přibližně 2000 jedinců v roce 1962 snížila na méně než 50 kusů v roce 1994. Fitness v podobě plodnosti a množství vylíhnutých mláďat se v tomto období snížilo a genetická diverzita byla v porovnání se dvěma dalšími populacemi z jiných států mnohem nižší (Bouzat et al. 1998). V roce 1992 bylo 271 ptáků z jiné lokace přemístěno na místo výskytu illinoiské populace a pomocí monitorování hnízd se zjistilo, že navrátila plodnost a množství vylíhnutých mláďat odpovídalo původní větší populaci.

Zmije obecná (*Vipera berus* (Linnaeus, 1758))

V izolované populaci zmije obecné (*Vipera berus*) v jižní části Švédska se objevily škodlivé znaky, které se v populaci nahromadily po jejím poklesu na přibližně 10 samců v roce 1992 (Madsen et al. 1999). Před tímto poklesem se v populaci nacházela nízká genetická diverzita a mláďata se často rodila mrtvá nebo deformovaná. Dvacet samců z jiné populace bylo vypuštěno na místo výskytu původní populace a od té doby se množství samců v lokaci zvyšuje.

3.4.3.1 Outbreeding

Outbreeding je opak inbreedingu. Jedná se o spojení zvířat, která jsou geneticky velice odlišná. Jsou to například dvě populace stejného druhu s rozdílným geografickým výskytem. Outbreeding by se tedy mohl projevit při použití genetické záchrany, pokud by byl introdukovaný jedinec geneticky příliš odlišný od populace, do které byl zaveden. Outbreeding oproti inbreedingu většinou nemá vyloženě škodlivé účinky. Pokud jsou geny příliš odlišné, může se vyskytnout outbrední deprese, to se ale často nestává. Ballou a Ralls (1991) prozkoumali rodokmeny dvaceti druhů pomocí koeficientu hybridnosti rodičů a nenašli téměř žádný důkaz, že by outbrední deprese ovlivňovala přežití mláďat. V případech, kdy jsou populace silně rozdílné, se může nějaký negativní efekt vyskytnout, ale inbrední deprese je obvykle mnohem závažnější problém (Hedrick & Miller 1992).

Outbrední deprese je snížení fitness potomstva kvůli páření rodičů pocházejících z geneticky rozdílných populací (Pusey & Wolf 1996). Genetické následky outbreedingu pravděpodobně vycházejí z rozpadu přizpůsobených genových komplexů a následné ztráty adaptace na lokální podmínky (Frankham 1996). Nejextrémnějším případem outbrední deprese je mezidruhové křížení, kdy potomek mívá nízký stupeň fitness (Pusey & Wolf 1996). Účinky outbrední deprese v rámci jednoho druhu nejsou příliš známé. Templeton et al. (1986) se obávají, že u některých ohrožených druhů by outbreeding mohl být problém. Existuje ale jen několik málo důkazů o snížení fitness potomků, jejichž rodiče pocházejí z různých poddruhů nebo z izolovaných populací, které mají rozdílné lokální podmínky (Frankham 1996).

Možné následky outbreedingu, jako byla zhoršená fitness, se projevily u kalamika (*Callimico goeldi* (Thomas, 1904)), ale oproti inbrední depresi byly tyto následky téměř zanedbatelné. Navíc zhoršená fitness mohla být ovlivněna nevhodnými chovatelskými podmínkami (Frankham 1996). U outbrední populace křečka bělonohého (*Peromyscus leucopus noveboracensis* (Rafinesque, 1818)) byl zaznamenán zvýšený počet mláďat ve vrhu, avšak méně jich přežilo oproti párům s nižším stupněm outbreedingu. Není ale jisté, že se opravdu jedná o efekt outbreedingu.

3.5 Konkrétní příklady populací poznamenaných inbreedingem

Plemeno koně Sorraia

Plemeno Sorraia je pravděpodobně zástupcem předků koní Iberských a je silně příbuzné s několika plemeny Nového světa. Toto plemeno se podařilo zachránit díky 4 hřebcům a 7 klisnám v roce 1937. V roce 1976 byla subpopulace exportována do Německa a až donedávna bez žádné další imigrace. Klisny plemena Sorraia jsou běžně chovány extenzivně a v období páření jsou k nim hřebci připuštěni na pastvině, jelikož jejich výkonnost při připouštění z ruky je menší. V celém světě je pouze okolo 300 jedinců, což podle kritérií FAO je kritický stav. Malé množství zakladatelů a celková genetická izolace způsobila, že Sorraia má extrémně vysokou úroveň inbreedingu, neboť dosahuje hodnot od $F = 0,22$ až po $F = 0,60$ a průměrně je to $F = 0,38$. Velikost efektivní populace je 11,59 v posledních 8,67 generacích. Například ohrožený kůň Převalského (*Equus ferus przewalskii*) má průměrný koeficient inbreedingu $F = 0,21$ (Buisman & van Weeren 1982). Neví se mnoho o reprodukci plemena Sorraia, ale jedno hlášení naznačuje, že úspěšnost zabřeznutí je okolo 57 %. Například Lusitano (průměrný $F = 0,11$) má úspěšnost 61 %. Je zapotřebí zavést chovný plán na záchranu tohoto plemena a zabránit většímu hromadění inbreedingu, pokud má do budoucna zůstat plemeno Sorraia vitální (Kjöllnerström et al. 2015).

Puma floridská (*Felis concolor coryi*)

Puma floridská (*Felis concolor coryi*) byla izolována na jižní Floridě již od začátku roku 1900 a její efektivní velikost populace se v dnešních desetiletích pohybuje okolo 25 jedinců a méně. Poslední zbývající populace pumy floridské má sadu znaků, které naznačují, že genetický drift zafixoval (nebo téměř fixoval) v populaci potenciálně škodlivé znaky, které byly dříve vzácné. Tyto znaky, které se vyskytují ve vysoké frekvenci pouze u pumy floridské, jsou neobvyklé u jiných poddruhů pumy. Jedná se například o častý výskyt nesestouplých varlat (kryptorchismus), nejhorší kvalitu spermatu zaznamenaného u jakékoliv kočkovité šelmy, zalomení ocasu a „cowlick“ (růst srsti proti směru) (Roelke et al. 1993). Proto v roce 1995 vznikl program, ve kterém byly samice z nejbližších přírodních populací z Texasu vypouštěny na Floridě (Hedrick 1995). Ty se pářily se samci floridské populace a ze 14 jejich mláďat ani jedno nemělo zakřivený ocas a jen jedno mělo vír cowlick (Land et al. 1999). Tento pokus je důležitým příkladem genetické záchrany.

Liška ostrovní (*Urocyon littoralis*)

Typickým příkladem ostrovního nanismu lišky šedé (*Urocyon cinereoargenteus* (Schreber, 1775)) jsou trpasličí lišky ostrovní (*Urocyon littoralis*), které žijí na ostrovech Channel Islands v Kalifornii již déle než 9 000 let (Hofman et al. 2015). Na šesti největších ostrovech žije celkem šest izolovaných populací. Jedná se o ostrovy Santa Cruz, Santa Rosa, Santa Catalina, San Clemente, San Nicolas a San Miguel. Podle genomické analýzy má liška ostrovní mimořádně nízkou genetickou rozmanitost a zvýšený výskyt potencionálně škodlivých variací. Na menším ostrově San Nicolas je populace téměř monomorfická v celém svém

genomu (Robinson et al. 2016). Přesto všech šest populací přežívá po několik tisíc generací a některé z nich se rychle vzpamatovaly po těžkém bottlenecku, který byl způsoben zavlečením nových predátorů a na ostrově Santa Catalina rovněž nemocí.

Robinson et al. (2018) se snažili zjistit, zda tento silný bottleneck ještě více snížil genetickou rozmanitost, nebo je nízká genetická diverzita přetrvávající vlastností genomu lišky ostrovní. Jejich genomická analýza odhalila, že bottleneck měl jen malý efekt na genom lišky ostrovní, a tedy že jejich nízká genetická diverzita je způsobena historicky malou populací. Také se jim díky detailním morfologickým měřením podařilo potvrdit absenci inbrední deprese. Populace od inbrední deprese pravděpodobně chrání purging škodlivých alel, což jim umožňuje jak dlouhodobé přežití i při nízkém počtu jedinců, tak i odolnost proti bottlenecku. Na inbrední depresi se ale podílejí také mírně škodlivé alely a možná též ztráta mírně výhodných alel. Schopnost lišek ostrovních rychle se vzpamatovat z vážného bottlenecku ukazuje, že se v populaci ještě nenahromadila tak velká míra málo škodlivých mutací, aby zhoršila jejich fitness. Progresivní fixace a nahromadění mírně škodlivých mutací časem nakonec pravděpodobně povedou k mutačnímu zhroucení (mutation meltdown) a k následnému vyhynutí (Lynch et al. 1995). Jelikož ostrovní lišky se zde vyskytují již dlouhou dobu, tento proces by pravděpodobně trval tisíce generací a je větší pravděpodobnost, že pokud k vyhynutí dojde, bude to způsobeno jinými, negenetickými příčinami (Robinson et al. 2018).

Medosavka zlatohrdlá (*Lichenostomus melanops cassidix* (Gould, 1867))

Harrison et al. (2019) provedli výzkum inbrední deprese u ohroženého druhu ptáka medosavky zlatohrdlé (*Lichenostomus melanops cassidix*) a zjistili, že následky inbreedingu mohou být pro populaci závažné. Jejich studie trvala 36 let a zaměřila se na populaci medosavky zlatohrdlé v Yellingbo Nature Conservation Reserve ve státě Victoria, Austrálie. Od roku 1983 se zde nachází pouze okolo 250 jedinců a jenom několik z nich jsou chovné páry. Na úbytku počtu jedinců se podílelo několik faktorů, jedním z hlavních bylo pravděpodobně odlesňování prostředí. Takto malé populaci hrozí vážné nebezpečí vyhynutí v podobě klimatické změny, přírodní katastrofy nebo nemoci. Negativní efekty inbreedingu pak riziko vyhynutí zvyšují ještě více (Spurgin & Gage 2019).

Uvedená studie se zakládala na rozpoznání vztahu inbreedingu a fitness jedinců, což je v divoké populaci těžké změřit. Díky dlouhodobému trvání studie se podařilo zjistit počet mláďat odchovaných jedincem za celý jeho život. Harrison et al. (2019) měřili inbreeding pomocí genomických datasetů skládajících se z více než 11 000 jednonukleotidových polymorfismů (single nucleotide polymorphisms = SNPs). To badatelům zajistilo přesný odhad úrovně inbreedingu u každého jedince. Studie zjistila, že inbreeding má jednoznačný vliv na reprodukční úspěch jedince v průběhu jeho života. Ukázalo se, že reprodukční úspěch u nejvíce inbredních jedinců byl až o ohromujících 90 % nižší než u jedinců nejméně poznamenaných inbreedingem. Takto výrazný rozdíl je překvapivý, pokud vezmeme v úvahu, že celá populace medosavky zlatohrdlé je inbrední. Zdá se, že i ve vysoce inbrední populaci stále záleží na stupni inbreedingu jedince (Spurgin & Gage 2019).

Vlk obecný (*Canis lupus* Linnaeus, 1758)

Dokumentace negativního vlivu inbreedingu na zvířata chovaná v zajetí je rozsáhlá, ale dat o masožravcích je málo. Bylo namítáno, že masožraví savci mají přirozeně nízkou efektivní populaci, což přispělo k tvrzení, že masožravci netrpí žádnými nebo jen minimálními negativními účinky inbreedingu. Proto by se mohlo zdát, že v divokých populacích vlků a dalších druhů s podobnou sociální strukturou je inbreeding přirozený. Níže popsána studie ale stojí proti tvrzení, že vlci netrpí inbrední depresí.

Laikre & Ryman (1991) zkoumali populace vlků obecných (*Canis lupus*) ve skandinávských zoologických zahradách a zjistili, že se u nich kvůli intenzivnímu inbreedingu projevil jeho negativní následky. Chovný program byl zaměřen na uchování genetických charakteristik fenoskandického vlka. Populace měla osm jedinečných zakladatelů a udrželo se přibližně 4,5 jejich alel na jeden lokus. Koeficient inbreedingu (F) se pohybuje od 0 do 0,594. Připáčením nepříbuzných zvířat z Ruska se dočasně snížil stupeň inbreedingu na průměrné $F = 0,25$ v současné populaci. U zvířat s čistě fenoskandickým původem je průměrný koeficient $F = 0,34$.

Intenzivní inbreeding zkoumané populace způsobil významnou ztrátu genetické rozmanitosti a také negativně ovlivnil vlastnosti jako je reprodukce, dlouhověkost a váha mladých vlků. Ta se snižovala s narůstajícím stupněm inbreedingu. Dalším negativním důsledkem byl výskyt slepých zvířat v populaci. Z deseti slepých vlků, kteří nebyli utraceni, se jen jeden dožil reprodukčního věku. Tato studie stojí proti tvrzení, že masožravci jsou adaptovaní k blízkému inbreedingu a netrpí inbrední depresí. Je to důležitý poznatek pro další plánování chovu vlka obecného, protože nestačí udržovat jen malou inbrední populaci, ale je opravdu potřeba omezit inbreeding na minimum a chovat dostatek zvířat k jeho předejití.

Vlk rudohnědý (*Canis rufus* Audubon & Bachman, 1851)

Lockyear et al. (2016) zjistili, že s rostoucím věkem a stupněm inbreedingu se snižuje koncentrace spermií v ejakulátu u vlka rudohnědého (*Canis rufus*). Vlk rudohnědý dříve obýval jihovýchodní část USA. V důsledku jeho lovu, ztráty prostředí a hybridizace s kojotem (*Canis latrans* Say, 1823) se jeho počty ve volné přírodě během 19. a 20. století prudce snížily. Ochrana volně žijící populace byla téměř nemožná, vzhledem k fragmentaci prostředí, hybridizaci s kojotem a též kvůli negativnímu postoji lokálního obyvatelstva vůči vlkům. Proto vznikl chovný program, který je momentálně řízen programem na záchovu druhů SSP (Species Survival Plan) spolu s plánem na obnovení vlka rudohnědého (Red Wolf Recovery Plan).

Ze 400 hodnocených zvířat pouze 43 jedinců splňovalo morfologické požadavky k prokázání nepřítomnosti hybridizace. Zakladateli pro populaci chovanou v zajetí se nakonec stalo pouze 14 zvířat. Ze studie vyplývá, že u více inbredních zvířat byl pokles koncentrace a celkového počtu spermií s věkem výraznější než u zvířat s nižším stupněm inbreedingu. Inbrední deprese se tedy projevila snížením množství spermií v ejakulátu a zároveň se zvýšilo množství morfologických abnormalit těchto spermií. Plodnost inbredních jedinců se s věkem

snižuje výrazněji než u samců méně postižených inbreedingem a s rostoucím stupněm inbreedingu v populaci se bude snižovat maximální věk úspěšné reprodukce zvířat (Lockyear et al. 2016). Proto je potřeba pečlivě plánovat jejich chov, aby se nestalo, že geneticky důležití jedinci jsou již příliš staří pro úspěšnou reprodukci.

Rosnička zelená (*Hyla arborea* (Linnaeus, 1758))

Švédská populace rosničky zelené (*Hyla arborea*) se snížila v důsledku fragmentace a ztráty prostředí vysušováním jezírek během 60. a 70. let 20. století. Fragmentace přírodních pastvin a zánik jezírek vedly k izolaci jednotlivých populací, což zvýšilo riziko inbreedingu. Edenhamn et al. (2000) zjistili extrémně nízkou genetickou diverzitu u švédských populací rosničky zelené oproti dalším jižním populacím, kdy z 18 lokusů pouze jeden ukazoval variaci. Ukázalo se, že raná stádia potomků mají větší úmrtnost v izolovaných jezírkách. Je tedy možné, že populace je na hraně projevu inbrední deprese.

Křeček bělonohý (*Peromyscus leucopus noveboracensis*)

Jimenez et al. (1994) zkoumali schopnost přežití dospělců křečka bělonohého (*Peromyscus leucopus noveboracensis*). Jedinci byli odchyceni z přírody a v laboratoři chováni tak, aby polovina z nich měla koeficient inbreedingu $F = 0,00$ a druhá polovina koeficient inbreedingu $F = 0,25$. Inbrední koeficient $F = 0,25$ odpovídá vzájemnému páření potomků s rodiči nebo vlastních sourozenců (Hedrick & Kalinowski 2000). Celkem 800 křečků bylo vypuštěno na nehostinné místo ve třech etapách. Za 10 týdnů se ukázalo, že neinbrední jedinci měli vyšší týdenní míru přežití než jedinci inbrední. Míra přežití inbredních jedinců odpovídala 56 % množství přežívajících jedinců nepoznamenaných inbreedingem. Inbrední samci také během experimentu ztratili tělesnou hmotnost, což se u neinbredních samců křečka nestalo.

3.6 Ochrana ohrožených druhů zvířat

Lidskou činností se stále více druhů zvířat i rostlin dostává do ohrožení. Kvůli růstu lidské populace a rozšiřování jejích aktivit se v posledních desetiletích množství druhů objevilo na hraně vyhynutí nebo i vyhynulo. Počet vyhynulých druhů se zvyšuje alarmující rychlostí. Nejdůležitější způsob ochrany přírody a ohrožených druhů zvířat i rostlin je předcházení ničení jejich prostředí, které každý druh potřebuje ke svému přežití. Hlavní roli v lidském jednání, které ovlivňuje celou přírodu včetně ohrožených druhů v ní, mají politické, sociální a ekonomické faktory. Vědecké poznatky i tak ale mohou pomoci v rozhodování o budoucnosti ohrožených druhů a mohou omezit množství vyhynulých druhů (Hedrick & Miller 1992).

Příčiny vyhynutí jsou často kombinací několika faktorů. Lidská činnost, která zahrnuje nadměrný lov, zavlečení exotických druhů a ničení přirozených míst výskytu hrála významnou roli v posledních třech stoletích u téměř všech druhů savců a ptáků, které vyhynuly. Kromě

lidské aktivity se mezi další vnější faktory řadí predace jinými druhy, patogeny a abiotické události, jako jsou například povodně, požáry nebo sucha (přírodní katastrofy). Ve větších populacích hraje hlavní roli v jejich vyhynutí nestabilita prostředí a přírodní katastrofy, ale v malých populacích jsou důležité i faktory uvnitř druhu, jako je třeba poměr pohlaví a inbrední deprese. V malých populacích chovaných v lidské péči jsou nejdůležitější vnitřní faktory, protože ty vnější lze z větší části kontrolovat chovatelskými podmínkami (Hedrick & Miller 1992). Obnova a přežití vzácných a ohrožených druhů je často ohrožena genetickými faktory, jako je nahromadění škodlivých mutací, ztráta adaptačního potenciálu a inbrední deprese.

Diamond (1989) přišel s takzvaným kvartetem zla, jímž označuje nejčastější příčiny nedávných vyhynutí druhů:

1. Overkill (nadměrný lov)
2. Ničení a fragmentace prostředí
3. Zavlečení druhů
4. Řetězové vymírání

Overkill (nadměrný lov)

Nadměrný lov ohrožuje hlavně druhy, které se rozmnožují pomalu, jako například velcí savci. Ohrožení stoupá, pokud je obchodování s částmi jejich těl výhodné a na trhu žádané. V ohrožení jsou také druhy, jejichž části těl se využívají v tradiční čínské medicíně, jako například tygr (*Panthera Tigris* (Linnaeus, 1758)) nebo luskoun (*Manis* spp. Linnaeus, 1758), jehož šupiny jsou oblíbenou komoditou. Nejen luskouna také ohrožuje tzv. „bush meat“, kdy jsou divoká zvířata v tropických a subtropických oblastech mnohdy nadměrně lovena na maso pro lidskou spotřebu.

Ničení a fragmentace prostředí

Prostředí se lidskou činností může měnit různě. Od kácení lesů a pralesů, vypalování plochy k získání zemědělské půdy, vysušování původních mokřadů až po znečišťování oceánů a dalších míst. Lidé také mají vliv na globální oteplování a změna teploty může být pro některé druhy nepřekonatelná. Dalším problémem je fragmentace prostředí. Zástavba, silnice a dálnice, železnice, to všechno vede k rozdělení prostředí, které kolikrát jedinci nejsou schopni překonat. Tím vznikají izolované populace, u kterých může dojít k silnému inbreedingu, pokud nemají možnost původní skupinu opustit. V případě silnic, dálnic a železnic také působí na úbytek jedinců kolize s auty nebo vlaky.

Zavlečení druhů

Lidskou činností, hlavně globálním cestováním, se dostávají některé druhy do nového prostředí. Často tam mohou napáchat velké škody na původních populacích, ať kompeticí s nimi, predací nebo zavlečením nové choroby, proti které se původní populace neumí bránit. Zavlečený druh se stává invazivním, pokud se na novém místě úspěšně rozmnožuje a vytlačuje

druhy původní. Příkladem invazivního druhu, který byl introdukován člověkem, může být kočka domácí (*Felis catus* Linnaeus, 1758), která decimuje původní populace většiny druhů ptáků v Austrálii a na Novém Zélandu. Do České republiky byly zavlečeny nepůvodní druhy raků z Ameriky, které s sebou přinesly řasovku hnileček račí (*Aphanomyces astaci* Schikora, 1906), také nazývaná jako račí mor. Zatímco zavlečené druhy jsou schopné této chorobě odolávat, původní druhy raků se jí nedokáží bránit a jejich populace jsou v ohrožení (Vlach 2017).

Řetězové vymírání

Vzniká, pokud vyhynutí jednoho druhu je následováno vymřením druhu dalšího, který na něm byl nějakým způsobem závislý. Může se například jednat o parazita specializovaného na jeden konkrétní druh. Pokud jeho hostitel vyhyne, vymře s ním i daný parazit. Dalším příkladem je predátor specializovaný na jeden druh kořisti. Pokud vyhyne jeho kořist, vymře i on. To představuje hrozbu pro rysa pardálového (*Lynx pardinus* (Temminck, 1827)), který se specializuje na lov divokých králíků. Kvůli epidemii chorob se počet králíků ve volné přírodě drasticky snížil, a i když králíkovi vyhynutí nehrozí, úbytek jeho populace v místě výskytu rysa pardálového tuto šelmu významně ohrozil (Kutal & Kandr 2005).

Ochranu ohrožených druhů je důležité realizovat hlavně v místě jejich výskytu, ale v poslední době je snaha také mířena na chov ohrožených zvířat v zajetí. Kvůli katastrofickému úbytku celosvětové biodiverzity se někteří biologové domnívají, že posledním útočištěm pro organismy, hlavně pro ptáky a savce, budou zoologické zahrady. Některé druhy již teď přežívají pouze v lidské péči. Genetika zabývající se ochranou druhů bude tedy v budoucnu pravděpodobně hrát stále významnější roli v jejich záchraně, protože stále více druhů bude schopno přežít pouze v lidské péči. Proto se vědci zaměřili na zkoumání genetické diverzity v populacích chovaných v zajetí. To dalo podnět ke vzniku SSP (Species Survival Plan) neboli plánu na přežití druhů. SSP zahrnuje spolupráci zoologických zahrad a koordinaci chovu v zajetí u více než čtyřiceti druhů ohrožených zvířat, mezi které patří například tygr ussurijský (*Panthera tigris altaica* Temminck, 1844) a orangutan bornejský (*Pongo pygmaeus* (Linnaeus, 1760)) (Hedrick & Miller 1992).

Při ochraně druhů se setkáváme se dvěma formami ohrožených populací: Jsou to celkově malé populace a populace, ve kterých množství jedinců ubývá (Caughley 1994). Malá populace je limitovaná počtem jedinců a potýká se s genetickými problémy, jako je třeba inbreeding. Můžou ji představovat například ostrovní populace nebo populace v zoologických zahradách. V populaci s ubývajícím počtem jedinců je nejprve třeba zjistit příčiny poklesu a v ideálním případě je omezit na minimum. Pokles populace zpravidla způsobují vnější příčiny. Co se týče vnitřních faktorů, Lande (1995) tvrdí, že u ochrany některých druhů, jako je například poddruh puštika západního (*Strix occidentalis caurina* (Merriam, 1898)), je nejdůležitější demografické složení populace a genetické faktory jsou až vedlejším problémem.

Jedním z dlouhodobých cílů genetiky ochrany druhů je zachování genetické variability. Genetická diverzita pomáhá druhu do budoucna se lépe adaptovat a popřípadně rozšířit a stabilizovat divokou populaci. Je-li umožněno, aby mutace přispěla ke genetické variabilitě, generace nové varianty může překonat ztrátu rozmanitosti z genetického driftu, pokud je velikost populace relativně velká. Generace variace z mutace je ale pravděpodobně v průběhu času proměnlivá a nemusela by se běžně opakovat. Navíc tito noví mutanti chovaní v zajetí neprošli přirozeným výběrem a je možné, že mají sníženou vitalitu. Většina nových mutací je škodlivá a není zcela recesivní, proto spoléhání se na zvýšení genetické rozmanitosti pomocí mutace je při záchraně ohrožených druhů dosti riskantní (Hedrick & Miller 1992).

Odpovědná ochrana ohroženého druhu by se měla zakládat na poznacích molekulární genetiky, rodokmenové analýzy, tlumení inbrední deprese a udržování genetické rozmanitosti (Hedrick & Miller 1992). Snahu o záchraně druhu bychom neměli vzdávat, i když je zachraňovaná populace malá. Mnoho ohrožených druhů se povedlo úspěšně zachránit i přes malý počet zakládajících zvířat. Například populace Spekeovy gazely (*Gazella spekei*) měla 4 zakladatele, populace koně Převalského (*Equus ferus przewalskii*) jich měla 13 a tchoř černonohý (*Mustela nigripes* (Audubon & Bachman 1851)) měl 6 zakladatelů (Hedrick & Kalinowski 2000). Každý žijící jedinec má unikátní znaky vlastní svému druhu a velikost populace se může časem rozrůst natolik, aby překonala škodlivé následky původní malé populace (Hedrick & Kalinowski 2000). Zatím se nepodařil najít způsob, jak přivést zpět k životu vyhynulé druhy, proto je vyhynutí nevratný proces, který snižuje druhovou diverzitu na Zemi.

Pokud populace v lidské péči prosperuje a podaří se jí rozrůst, je možné ji navrátit do místa jejího bývalého výskytu. Je ale důležité znát, z jakého důvodu druh původně vyhynul a pečlivě zvážit, jestli jsou podmínky pro jeho návrat vhodné. Kromě koně Převalského (*Equus ferus przewalskii*) se úspěšná reintrodukce povedla u přimorožce arabského (*Oryx leucoryx* (Pallas, 1777)), který kvůli nadměrnému lovu v divoké přírodě roku 1972 vyhynul. Phoenix Zoo v Arizoně se rozhodla založit chovnou skupinu s devíti zvířaty v roce 1963. Další chovná skupina byla založena v zoo v Los Angeles. V roce 1976 se podařilo populaci zvýšit již na 105 jedinců. IUCN v témže roce shledala Oman vhodným k pokusu o reintrodukci. Celkem 19 zvířat bylo během let 1980-1984 importováno do Omanu a zde vypuštěno do ohrady o velikosti 100 ha. Dvě sociální skupiny o celkem 21 zvířatech byly posléze vypuštěny z ohrady, jedna v roce 1982 a druhá v roce 1984 (Stanley Price 1989).

4 Závěr

- Inbreeding má převážně negativní důsledky jak na konkrétního jedince, tak na celou populaci. Inbrední jedinec má sníženou fitness, která významně ovlivňuje jeho reprodukční schopnosti a tělesné míry. Kvůli zvýšené homozygotnosti se u něj také mohou projevit škodlivé recesivní mutace, které mohou být i letální. Přílišná homozygotnost v populaci snižuje její genetickou rozmanitost, a tím populace ztrácí adaptační potenciál. Genetickou diverzitu také snižují efekty hrdla láhve a genetický drift. Hrozbou genetického driftu je zafixování škodlivých alel v celé populaci, čímž se snižuje fitness u každého jedince v dané populaci.
- K zodpovědnému chovu zvířat je třeba znát původ chovaných jedinců, aby se v co největší míře zamezilo inbreedingu. Molekulární genetika nám umožňuje nahlédnout do skutečného složení genomu jedince a dává nám šanci omezit inbreeding na minimum. Také může pomoci odhalit geneticky významné jedince, kteří jsou důležití pro další chov. Zoologické zahrady a další chovná zařízení mají jen omezený prostor a identifikace geneticky důležitých jedinců pomáhá jeho efektivnímu využití. Hlubší porozumění molekulární genetice může tedy hrát důležitou roli v záchraně ohrožených druhů zvířat.
- Uvedené příklady účinků inbreedingu ukázaly, že jeho následky opravdu negativně ovlivňují různé populace rozdílných druhů. Dopady příbuzenské plemenitby lze do jisté míry snížit purgingem neboli očištěním, ale její efekt na zvířata chovaná v zajetí není jistý. V populacích, kde se inbreeding hromadí postupně a po delší dobu, se purging projeví očištěním populace od škodlivých mutací. Populace v lidské péči jsou ale často vystaveny náhlému a intenzivnímu inbreedingu, proto použití purgingu není možné. Cíleným zvyšováním homozygotnosti v populaci bychom také mohli ohrozit její budoucnost. Negativní efekty inbreedingu lze také zvrátit pomocí genetické záchrany. Ta se ukázala jako efektivní v několika případech u divokých populací. Používat by se ale neměla v případech, kde již zafungoval purging a populace je očištěná od škodlivých mutací. Praktickému využití genetické záchrany v chovu zvířat v zajetí často brání složité získávání nových zvířat z divoké přírody. Proto je potřeba, aby mezi sebou chovatelské instituce ohledně chovu komunikovaly, protože zvířata ke genetické záchraně lze získat z jiného, nepříbuzného chovu.
- Lidské aktivity vedou k devastaci životního prostředí a druhy ve volné přírodě vymírají alarmující rychlostí. Pokud chceme biologickou rozmanitost na Zemi uchránit, je potřeba začít chránit přirozená místa výskytů a omezit jejich znečišťování na minimum. I když se chovem v lidské péči nedá zachránit každý druh, je třeba snahy nevzdávat a bojovat o přežití co nejvíce druhů. Každý druh je unikátní a pokud vyhyne, bude nenávratně ztracen.

5 Literatura

- Abney M, McPeck MS, Ober C. 2000. Estimation of variance components of quantitative traits in inbred populations. *The American Journal of Human Genetics* **66**:629-650.
- Amos B, Schlotterer C, Tautz D. 1993. Social structure of pilot whales revealed by analytical DNA profiling. *Science* **260**:670-672
- Amos W, Worthington Wilmer J, Fullard K, Burg TM, Croxall JP, Bloch D. 2001. The influence of parental relatedness on reproductive success. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **268**:2021-2027.
- Armbruster P, Reed DH. 2005. Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity* **95**:235-242.
- Baes CF, Makanjuola BO, Miglior F, Marras G, Howard JT, Fleming A, Maltecca C. 2019. Symposium review: The genomic architecture of inbreeding: How homozygosity affects health and performance. *Journal of Dairy Science* **102**:2807-2817.
- Ballou JD, Ralls K. 1991. Outbreeding depression in captive mammalian populations. *Conservation Biology*, in press.
- Barrett SCH, Charlesworth D. 1991. Effects of a change in the level of inbreeding on the genetic load. *Nature* **352**:522-524.
- Boakes EH, Wang J, Amos W. 2007. An investigation of inbreeding depression and purging in captive pedigreed populations. *Heredity* **98**:172-182.
- Bouzat JL, Lewin HA, Paige KN. 1998. The ghost of genetic diversity past: historical DNA analysis of the greater prairie chicken. *Am. Nature* **152**:1-6.
- Broman KW, Weber JL. 1999. Long homozygous chromosomal segments in reference families from the centre d'Étude du polymorphisme humain. *Am. J. Hum. Genet.* **65**:1493-1500.
- Buisman AK, van Weeren R. 1982. Breeding and management of Przewalski horses in captivity. Pages 76-111 in Bouman J, Bouman I, Groeneveld A, editors. *Breeding Przewalski Horses in Captivity for Release in the Wild*. Foundation for the Preservation and Protection of the Przewalski Horse, Rotterdam, The Netherlands.
- Caughley G. 1994. Directions in Conservation Biology. *British Ecological Society* **63**:215-244.
- Coulson T, Pemberton J, Albon S, Beaumont M, Marshall T, Slate J, Guinness F, Clutton-Brock T. 1998. Microsatellites reveal heterosis in red deer. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* **265**:489-495.
- Croshaw DA, Pechmann JHK, Glenn TC. 2017. Multiple paternity benefits female marbled salamanders by increasing survival of progeny to metamorphosis. *Ethology* **123**:307-315.
- Crow J, Kimura M. 1971 *An Introduction to Population Genetics Theory*. Population (French Edition) **26**:977.
- Curik I, Ferenčaković M, Sölkner J. 2014. Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* **166**:26-34.

- Curik I, Ferencaković M, Sölkner J. 2017. Genomic dissection of inbreeding depression: A gate to new opportunities. *Revista Brasileira de Zootecnia* **46**:773-782.
- Curik I, Solkner J, Stipic N. 2002. Effects of models with finite loci, selection, dominance, epistasis and linkage on inbreeding coefficients based on pedigree and genotypic information. *J. Anim. Breed. Genet.* **119**:101-115.
- Day SB, Bryant EH, Meffert LM. 2003. The influence of variable rates of inbreeding on fitness, environmental responsiveness and evolutionary potential. *Evolution* **57**:1314-1324.
- Diamond J. 1989. Overview of recent extinctions. Pages 37-41 in Western D, Pearl M, editors. *Conservation for the Twenty-first Century*. Oxford University Press, New York.
- Dorado J, Cid RM, Molina A, Hidalgo M, Ariza J, Moreno-Millán M, Demyda-Peyrás S. 2017. Effect of inbreeding depression on bull sperm quality and field fertility. *Reprod. Fertil. Dev.* **29**:712-720.
- Ebel ER, Phillips PC. 2016. Intrinsic differences between males and females determine sex-specific consequences of inbreeding. *BMC Evol. Biol.* **16**:10.
- Edenhamn P, Höggren M, Carlson A. 2000. Genetic diversity and fitness in peripheral and central populations of the European tree frog *Hyla arborea*. *Hereditas* **133**:115-122.
- Fox CW, Xu J, Wallin WG, Curtis CL. 2012. Male inbreeding status affects female fitness in a seed-feeding beetle. *Journal of Evolutionary Biology* **25**:29-37.
- Frankham R. 1996. Conservation genetics. *Annual Review Genetics* **29**:305-327.
- Franklin IR. 1980. Evolutionary changes in small populations. Pages 135-149 in Soule ME and Wilcox BA, editors. *Conservation biology – an evolutionary ecological perspective*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Gómez MD, Valera M, Molina A, Gutiérrez JP, Goyache F. 2009. Assessment of inbreeding depression for body measurements in Spanish Purebred (Andalusian) horses. *Livestock Science* **122**:149-155.
- Hanby JP, Bygott JD. 1987. Emigration of subadult lions, *Animal Behavior* **35**:161-169.
- Harrisson KA, Magrath MJL, Yen JDL, Pavlova A, Murray N, Quin B, Menkhorst P, Miller KA, Cartwright K, Sunnucks P. 2019. Lifetime Fitness Costs of Inbreeding and Being Inbred in a Critically Endangered Bird. *Current Biology* **29**:2711-2717.
- Hedrick PW. 1994. Purging inbreeding depression and the probability of extinction: full-sib mating. *Heredity* **73**:363-372.
- Hedrick PW. 1995. Gene flow and genetic restoration: the Florida panther as a case study. *Conservation Biology* **9**:996-1007.
- Hedrick PW, Brussard PF, Allendorf FW, Beardmore JA, Orzack S. 1986. Protein variation, fitness and captive propagation. *Zoo Biology* **5**:91-99.
- Hedrick PW, Garcia-Dorado A. 2016. Understanding Inbreeding Depression, Purging, and Genetic Rescue. *Trends in Ecology and Evolution* **31**:940-952.

- Hedrick PW, Kalinowski ST. 2000. Inbreeding Depression in Conservation Biology. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**:139-162.
- Hedrick PW, Miller PS. 1992. Conservation Genetics: Techniques and Fundamentals. *Ecological Applications* **2**:30-46.
- Hedrick PW, Murray E. 1983. Selection and measures of fitness. Pages 61-104 in Thompson J, Ashburner M, editors. *Genetics and biology of Drosophila*. Volume 3d. Academic Press, New York, New York, USA.
- Hofman CA, Rick TC, Hawkins MT, Funk WC, Ralls K, Boser CL, Collins PW, Coonan T, King JL, Morrison SA, Newsome SD, Sillett TS, Fleischer RC, Maldonado JE. 2015. Mitochondrial genomes suggest rapid evolution of dwarf California Channel Islands foxes (*Urocyon littoralis*). *PLoS ONE* **10** (e0118240) DOI: 10.1371/journal.pone.0118240
- Howard JT, Pryce JE, Baes C, Maltecca C. 2017. Invited review: Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability. *Journal of Dairy Science* **100**:6009-6024.
- Charlesworth D, Charlesworth B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**:237-268.
- Charlesworth B, Charlesworth D. 1999. The genetic basis of inbreeding depression. *Genet. Res.* **74**:329-340.
- Charlesworth D, Willis JH. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nat. Rev. Genet.* **10**:783-796.
- Ilmonen P, Stundner G, Thoss M, Penn DJ. 2009. Females prefer the scent of outbred males: Good-genes-as-heterozygosity? *BMC Evolutionary Biology* **9**:104.
- Jimenez JA, Hughes KA, Alaks G, Graham L, Lacy RC. 1994. An experimental study of inbreeding depression in a natural habitat. *Science* **266**:271-73.
- Joron M, Brakefield PM. 2003. Captivity masks inbreeding effects on male mating success in butterflies. *Nature* **424**:191-194.
- Kalinowski ST, Hedrick PW, Miller PS. 2000. Inbreeding depression in the Speke's gazelle captive breeding program. *Conservation Biology* **14**:1375-1384.
- Keller LF, Waller DM. 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in Ecology and Evolution* **17**:230-241.
- Keller M, Visscher P, Goddard M. 2011. Quantification of inbreeding due to distant ancestors and its detection using dense SNP data. *Genetics* **189**:237-249.
- Kjöllerström HJ, Gama LT, Oom MM. 2015. Impact of inbreeding on fitness-related traits in the highly threatened Sorraia horse breed. *Livestock Science* **180**:84-89.
- Lacy RC, Alak G, Walsh A. 1996. Hierarchical analysis of inbreeding depression in *Peromyscus polionotus*. *Evolution* **50**:2187-2200.
- Laikre L, Ryman N. 1991. Inbreeding Depression in a Captive Wolf (*Canis lupus*) Population. *Conservation Biology* **5**:33-40.

- Land D, Lotz M, Shindle D, Taylor SK. 1999. Florida panther genetic restoration and management: Annual performance report 1998-1999. Florida Fish & Wildlife Conservation Commission, Naples, FL
- Lande R. 1995. Mutation and conservation. *Conservation Biology* **9**:782-91.
- Leroy G, Mary-Huard T, Verrier E, Danvy S, Charvolin E, Danchin-Burge C. 2013. Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse. *Genet. Sel. Evol.* **45**:1.
- Lockyear KM, MacDonald SE, Waddell WT, Goodrowe KL. 2016. Investigation of captive red wolf ejaculate characteristics in relation to age and inbreeding. *Theriogenology* **86**:1369-1375.
- Lynch M, Conery J, Bürger R. 1995. Mutational meltdowns in sexual populations. *Evolution* **49**:1067-1080.
- Maltecca C, Tiezzi F, Cole JB, Baes C. 2020. Symposium review: Exploiting homozygosity in the era of genomics— Selection, inbreeding, and mating programs. *Journal of Dairy Science* **103**:5302-5313.
- Malécot G. 1948. *Les mathématiques de l'Heredité*. Ed. Masson et Cie., Paris.
- McQuillan R, Leutenegger A, Abdel-Rahman R, Franklin C, Pericic M, Barac-Lauc L, Smolej-Narancic N, Janicijevic B, Polasek O, Tenesa A, Macleod A, Farrington S, Rudan P, Hayward C, Vitart V, Rudan I, Wild S, Dunlop M, Wright A, Campbell H, Wilson J. 2008. Runs of homozygosity in European populations. *American Journal of Human Genetics* **83**:359-372.
- Madsen T, Shine R, Olsson M, Wittsell H. 1999. Restoration of an inbred adder population. *Nature* **402**:34-35.
- McNeely JA, Miller KR, Reid WV, Mittermeier RA, Werner TB. 1990. *Conserving the world's biological diversity*. World Conservation Union, World Resources Institute, Conservation International, World Wildlife Fund–US, and the World Bank, Washington, D.C.
- O'Brien SJ, Roelke ME, Marker L, Newman A, Winkler CA, Meltzer D, Colly L, Evermann JF, Bush M, Wildt DE. 1985. Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. *Science* **227**:1428-1434.
- Pilakouta N, Smiseth PT. 2016. Female mating preferences for outbred versus inbred males are conditional upon the female's own inbreeding status. *Animal Behaviour* **123**:369-374.
- Pusey A, Wolf M. 1996. Inbreeding avoidance in animals. *TREE* **11**:201-206.
- Räikkönen J, Vucetich J, Peterson R, Nelson M. 2009. Congenital bone deformities and the inbred wolves (*Canis lupus*) of Isle Royale. *Biological Conservation* **142**:1025-1031.
- Ralls K, Ballou JD, Templeton AR. 1988. Estimates of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology* **2**:185-193.
- Ralls K, Brugger K, Ballou JD. 1979. Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science* **206**:1101-1103.

- Reed DH, Frankham R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* **17**:230-237.
- Robinson JA, Brown C, Kim BY, Lohmueller KE, Wayne RK. 2018. Purging of Strongly Deleterious Mutations Explains Long-Term Persistence and Absence of Inbreeding Depression in Island Foxes. *Current Biology* **28**:3487-3494.
- Robinson JA, Ortega-Del Vecchyo D, Fan Z, Kim BY, vonHoldt BM, Marsden CD, Lohmueller KE, Wayne, RK. 2016. Genomic flatlining in the endangered island fox. *Current Biology* **26**:1183-1189.
- Roelke ME, Martenson JS, O'Brien SJ. 1993. The consequences of demographic reduction and genetic depletion in the endangered Florida panther. *Current Biology* **3**:340-50.
- Rowley I, Russell E, Brooker M. 1993. Inbreeding in birds. Pages 304-328 in Thornhill NW, editor. *The Natural History of Inbreeding and Outbreeding: Theoretical and Empirical Perspectives*, University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Rumball W, Franklin IR, Frankham R, Sheldon BL. 1994. Decline in heterozygosity under full-sibs and double first-cousin inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **136**:1039-1049.
- Ryder OA. 1993. Przewalski's Horse: Prospects for Reintroduction into the Wild. *Conservation Biology* **7**:13-15.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* **392**:491-94.
- Slate J, Pemberton JM. 2002. Comparing molecular measures for detecting inbreeding depression. *Journal of Evolutionary Biology* **15**:20-31.
- Soulé, ME. 1980. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential. Pages 151-168 in Soulé M, Wilcox B, editors. *Sinauer Associates, Sunderland*.
- Sørensen AC, Sorensen MK, Berg P. 2005. Inbreeding in Danish dairy cattle breeds. *J. Dairy Sci.* **88**:1865-1872.
- Speechley EM, Gasparini C, Evans JP. 2019. Female guppies increase their propensity for polyandry as an inbreeding avoidance strategy. *Animal Behaviour* **157**:87-93.
- Spurgin LG, Gage MJG. 2019. Conservation: The Costs of Inbreeding and of Being Inbred. *Current Biology* **29**:796-798.
- Szulkin M, Stopher KV, Pemberton JM, Reid JM. 2013. Inbreeding avoidance, tolerance, or preference in animals? *Trends in Ecology and Evolution* **28**:205-211.
- Templeton AR, Hemmer H, Mace G, Seal US, Shields WM, Woodruff DS. 1986. Local adaptation, coadaptation and population boundaries. *Zoo Biology* **5**:115-125.
- Templeton AR, Read B. 1984. Factors eliminating inbreeding depression in a captive herd of Speke's Gazelle (*Gazella spekei*). *Zoo Biology* **3**:177-199.
- Thonhauser KE, Raveh S, Hettyey A, Beissmann H, Penn DJ. 2013. Why do female mice mate with multiple males? *Behav. Ecol. Sociobiology* **67**:1961-1970.

- Tregenza T, Wedell N. 2000. Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage: Invited review. *Molecular Ecology* **9**:1013-1027.
- Tregenza T, Wedell N. 2002. Polyandrous females avoid costs of inbreeding. *Nature* **415**:71-73.
- Wright S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *The American Naturalist* **56**:330-338.
- Wright S. 1931. Evolution in Mendelian populations. *Genetics* **16**:97-159.
- Wright S. 1940. Breeding structure of populations in relation to speciation. *The American Naturalist* **74**:232-248.

5.1 Internetové zdroje

- Kutal M, Kandr M. 2005. Rys pardálový na hranici přežití. Šelmy.cz. Available from <https://www.selmy.cz/ohrozeni/migracni-koridory/rys-pardalovy/> (accessed April 2021)
- Vlach P. 2017. Invazní druhy raků v České republice. Fórum ochrana přírody. Available from <http://www.casopis.forumochranyprirody.cz/magazin/analyzy-komentare/invazni-druhy-raku-v-ceske-republice> (accessed April 2021)
- Zicha O. 1999. BioLib – Taxonomic tree of plants and animals with photos. Available from <https://www.biolib.cz/> (accessed March 2021)
- Zoo Praha. 2013. O projektu. ZOOPRAHA.CZ. Available from <https://www.zoopraha.cz/navrat-divokych-koni/7740-o-projektu> (accessed March 2021)