

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Studium ztráty genetické diverzity u norského
lundehunda**

Bakalářská práce

Autor práce: Hedvika Vilímková

**Program nebo obor studia: Chov zájmových zvířat
Kynologie**

Vedoucí práce: Ing. Hana Vostrá Vydrová, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Studium ztráty genetické diverzity u norského lundehunda" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 28.4.2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce, paní doktorce Haně Vostré Vydrové, za její odborné vedení, cenné rady a neustálou podporu během mého studia a pomoc při zpracování mé kompilační práce. Velké poděkování patří mé rodině a přátelům za jejich trpělivost, pochopení a motivaci, kterou mi poskytovali po celou dobu mého studia

Studium ztráty genetické diverzity u norského lundehunda

Souhrn

Tato bakalářská práce se věnuje analýze ztráty genetické diverzity u norského lundehunda, což je plemeno psa pocházející z odlehlých arktických ostrovů Norska. Lundehund je malý, agilní špic, který byl tradičně využíván k lovu mořského ptactva. Díky specifickým podmínkám jeho existence se u něj vyvinuly unikátní vlastnosti, jako je polydaktylie (přítomnost šestého prstu), hyperflexibilita ramenních kloubů a další. V polovině 20. století došlo k drastickému poklesu populace lundehundů kvůli řadě nepříznivých faktorů, včetně druhé světové války a vypuknutí psinky v Norsku. V reakci na tuto situaci byl v roce 1961 zahájen šlechtitelský program, a dnešní populace lundehundů pochází odhadem pouze z pěti zakladatelů. V současné době se odhaduje, že existuje mezi 1500 a 2000 jedinců tohoto plemene.

Kromě ztráty genetické diverzity se lundehundi potýkají s vysokou prevalencí dědičných chorob, zejména s problémy trávicího ústrojí. Ve své práci jsem zkoumala klíčové mechanismy ovlivňující genetickou diverzitu, jako je například selekce, která má vliv na vzhled, chování a anatomické abnormality plemene. Podstatné bylo zmínit důsledky genetického driftu, který ovlivňuje změny v genetickém složení populace, a příbuzenskou plemenitbu, která je spojena se snížením plodnosti, životaschopnosti a projevem recesivních alel. Efektivní velikost populace je důležitým ukazatelem, který pomáhá pochopit vliv genetického driftu a příbuzenského křížení na populaci. V práci jsem se zaměřila na genetickou analýzu, včetně porovnání heterozygotnosti s jinými plemeny, což ukazuje na vysokou nebo nízkou genetickou variabilitu těchto plemen.

V rámci záchranného outcrossingu bylo zvažováno začlenění plemen jako norský buhund, islandský ovčák a norbotenský špic, která vykazují vysokou heterozygotnost. Byly identifikovány pozitivní i negativní korelace ve frekvencích alel napříč celým genomem, což naznačuje selekci pro podobné vlastnosti mezi lundehundy a ostatními plemeny, ale i přítomnost genetického driftu. Cílem chovatelského programu je udržet křížence tří oddělených plemen psů jako oddělené linie, každou s vlastní plemennou knihou, a tím zajistit udržení genetické rozmanitosti, zlepšení zdraví a genetických vlastností.

Klíčová slova: genetická variabilita, genetické parametry, izolovaná populace, dědičné choroby, genetická záchrana

Study of the Loss of Genetic Diversity in the Norwegian Lundehund

Summary

This bachelor's thesis focuses on the analysis of genetic diversity loss in the Norwegian Lundehund, a dog breed originating from the remote Arctic islands of Norway. The Lundehund is a small, agile spitz traditionally used for hunting seabirds. Due to the specific conditions of its existence, it has developed unique features such as polydactyly (the presence of a sixth toe), hyperflexibility of shoulder joints, and more. In the mid-20th century, the Lundehund population drastically declined due to several adverse factors, including World War II and an outbreak of distemper in Norway. In response, a breeding program was initiated in 1961, and today's population of Lundehunds is estimated to have originated from only five founders. Currently, it is estimated that there are between 1,500 and 2,000 individuals of this breed.

In addition to the loss of genetic diversity, Lundehunds struggle with a high prevalence of hereditary diseases, particularly digestive system issues. In my work, I examined key mechanisms affecting genetic diversity, such as selection, which influences appearance, behavior, and anatomical abnormalities of the breed. It was essential to mention the consequences of genetic drift, which affects changes in the genetic composition of the population, and inbreeding, associated with reduced fertility, viability, and the expression of recessive alleles. The effective population size is an important indicator that helps understand the impact of genetic drift and inbreeding on the population. My work focused on genetic analysis, including comparing heterozygosity with other breeds, indicating high or low genetic variability of these breeds.

As part of the rescue outcrossing, the inclusion of breeds such as the Buhund, Icelandic Sheepdog, and Norrbottenspets, which exhibit high heterozygosity, was considered. Positive and negative correlations in allele frequencies across the entire genome were identified, suggesting selection for similar traits between Lundehunds and other breeds, as well as the presence of genetic drift. The goal of the breeding program is to maintain the crossbreeds of three separate dog breeds as separate lines, each with its own breed book, thereby ensuring the maintenance of genetic diversity, improved health, and genetic traits.

Keywords: genetic variability, genetic parameters, isolated population, inherited diseases, genetic rescue

1	Obsah	
2	Úvod	7
3	Cíl práce	8
4	Literární rešerše	9
5	Norský lundehund	9
5.1	Standard	9
5.2	Historie	10
6	Biologická diverzita	11
7	Genetická diverzita	12
8	Fenotypová variabilita	14
9	Mechanismy ovlivňující genetickou diverzitu	15
9.1	Selekce	15
9.2	Mutace	15
9.3	Genetický drift	16
9.4	Rekombinace	17
9.5	Příbuzenská plemenitba	17
10	Polymorfismus	19
11	Efektivní velikost populace	20
12	SNP analýza	21
13	Mitochondriální analýza DNA (mtDNA)	22
14	Genealogická analýza	23
15	Genetická analýza	25
16	Genetické choroby	28
16.1	Polydaktilie	28
16.2	Lundehund syndrom	29
17	Genetická záchrana	30
18	Diskuze	34
19	Závěr	36
20	Literatura	37

2 Úvod

Norský lundehund je jedním z nejstarších a z nejvzácnějších plemen psů na světě, které je známé díky svým výjimečným anatomickým rysům. Jedná se o vysoce ohrožené původní plemeno, a to zejména kvůli nízké populaci, vysoké míře nemocnosti a ztrátě genetické diverzity. Největším problémem je snížení kvality života projevem nežádoucích recesivních genů vlivem příbuzenské plemenitby, přičemž současná populace ztratila 38% genetické diverzity v základní populaci (Kettunen et al. 2017).

Norský lundehund původem pochází z Lofot, dříve izolované skupiny ostrovů v severním Norsku, kde je poprvé popsáno v 17.století. Norský lundehund byl využíván jako lovecký pes pro odchyt papuchalků na strmých skalách a díky geografické izolaci se u tohoto plemene vyvinuly jisté abnormality využívané specificky pro tento účel. V návaznosti na loveckou činnost vzniklo norské jméno lundehund neboli „pes papuchalka“ a je uznán Mezinárodní kynologickou federací (FCI) jako národní poklad Norska. V období od 16. do 17.století byli lundehundi velmi oceňováni z hlediska zajišťování příjmu financí z prodeje surovin z mořského ptactva a zároveň zabezpečili dostatečné množství potravy. Od 50. let 19.století započal lov pomocí sítí, čím se drasticky snížily počty členů plemene. Druhá vlna radikálního snížení počtu jedinců započala v období 2. světové války a po vypuknutí psinky v Norsku v letech 1942-1943 (Bergvall & Shokrai 2014).

Nevýhodou tohoto plemene je jeho ohroženost, která dosáhla kritických rozměrů. Na celém světě můžeme spatřit odhadem pouze 1500–2000 jedinců, z nichž většinu nalezneme v Norsku. Současná populace je vyšlechtěna pouze z šesti zbývajících psů, přičemž pět z nich mělo společnou matku. Některé zdroje uvádějí, že nynější populace vznikla z pěti přeživších psů, přičemž všichni sdíleli babičku a tři sdíleli matku. Norský lundehund trpí několika zdravotními problémy, které jsou spojeny s jeho nízkou genetickou variabilitou. Příkladem jsou problémy s plodností, u samic způsobené takzvaným „neviditelným teplem“, u samců nízkou kvalitou spermatu a všeobecně potížemi s chováním při páření. Mimo jiné mají také predispozice ke střevním poruchám. V důsledku nízkého počtu jedinců má plemeno omezený počet vhodných chovných partnerů, což má za následek vysokou míru příbuzenského křížení a následné snižování genetické diverzity (Bergvall & Shokrai 2014; Kettunen et al. 2017).

Cílem této bakalářské práce je analyzovat genetické parametry, míru heterozygotnosti u lundehunda a provést porovnávání s jinými plemeny psů, aby se zjistila míra genetické diverzity napříč vybranými plemeny. Na základě těchto informací se navrhne konkrétní opatření k zachování genetické diverzity a zdraví norského lundehunda.

3 Cíl práce

Genetická diverzita je klíčovým prvkem pro zachování zdraví a vitality jakéhokoli plemene, a to platí i pro norského lundehunda, plemeno s fascinující historií a jedinečnými vlastnostmi. Cíl práce je prozkoumat genetickou variabilitu tohoto plemene a pochopit, jaký význam má její zachování nebo ztráta pro jeho budoucnost. Hlavním cílem mé kompilační práce bylo nastudovat a pochopit význam ztráty genetické diverzity u plemene norský lundehund. Zaměřila jsem se na analýzu faktorů, které ovlivňují genetickou variabilitu, a zkoumala jsem dopad její ztráty na toto unikátní plemeno. V první části práce jsem popsala charakteristiku plemenného standardu, historii plemene lundehund a analyzuji příčiny poklesu jeho populace. Následně jsem se soustředila na vysvětlení klíčových pojmů, jako jsou selekce, mutace, genetický drift, rekombinace a příbuzenská plemenitba, a jejich vliv na genetickou variabilitu. Zvláštní pozornost byla věnována principu polymorfismu a jeho roli v genetické diverzitě. Pokračovala jsem tématem se zaměřením na význam efektivní velikosti populace a její důsledky pro udržení genetické diverzity u lundehunda. Provedla jsem genealogickou analýzu a hodnotila její význam pro odhad genetické diverzity. V závěrečné části jsem se věnovala genetickým analýzám, konkrétně SNP analýze, a srovnala jsem tyto údaje s jinými severskými plemeny. Na základě těchto analýz jsem navrhla strategie pro genetickou záchranu lundehunda, včetně výběru vhodných kandidátů pro outcrossing. Součástí mého výzkumu bylo také zmínění a popsání známých genetických chorob, které postihují lundehundy. Zkoumala jsem, jak může být jejich prevalence zmírněna prostřednictvím záchranu plemene, včetně křížení s jinými plemeny. Cílem mé práce bylo poskytnout komplexní přehled o genetické diverzitě a jejím významu pro plemeno norský lundehund a předložit praktické návrhy pro jeho záchranu a zlepšení genetického zdraví. Tato práce přináší pohled na význam genetické diverzity a nabízí strategie pro její ochranu, což je zásadní pro dlouhodobé přežití a prosperitu tohoto jedinečného plemene.

4 Literární rešerše

5 Norský lundehund

Norský lundehund, jinak zvaný „norský papuchalčí pes“, je starobylé, původem norské plemeno psa. Pochází ze severu Norska z ostrova zvaném Værøy (Harvik 2010). Podle F.C.I. se plemeno řadí do skupiny 5 špicové a primitivní plemena a sekce 2 severští lovečtí psi bez zkoušky z výkonu. Jedná se o malého, agilního psa obdélníkového tvaru, který se povahově definuje jako pozorný, energický, živý, ostražitý a k cizím lidem uzavřený. Celkově norský lundehund připomíná typické severské plemeno především díky specifickému trojúhelníkovitému tvaru uší, zakřivenému ocasu a husté dvojité srsti. Publikace oficiálně platného standardu se datuje od 10.11.2011 (FCI 2012). „Jméno norského lundehunda pochází z jeho funkce vytahovat živé papuchalky (*Fratercula arctica*, norský lunde) z jejich hnízd na sutích a norách na strmých svazích hor podél severního norského pobřeží“ (Kettunen et al. 2017). Plemeno je známé díky svým jedinečným anatomickým zvláštnostem, které mu umožňují lov papuchalků na strmých útesech, březích fjordů a pobřeží moře. Mezi nejznámější vlastnost se řadí přítomnost šesti funkčních, plně tvarovaných a osvalených prstů na všech čtyřech tlapkách a prodloužené zadní polštářky. Schopnost lovu také usnadnil jeho elastický krk, který umožňuje ohnutí hlavy dozadu, aby se dotkla páteře. Tuto vlastnost využíval především ke koordinaci v úzkých prostorech. S tímto způsobem lovu souvisí také jeho dostatečně pružná ramena, která byla podstatným přínosem při šplhání po útesech, jelikož umožnila předním nohám natáhnout se naplocho do strany a tím lépe obepnout útesy. Celkově vytváří tato ramenní struktura zvláštní rotační pohyby (FCI 2012). „Tyto zvláštní vlastnosti mohou být výsledkem přirozeného i umělého výběru, protože nabízejí výhody při hledání a získávání papuchalků. Vysoká flexibilita kloubů by umožnila lepší pohyblivost v úzkých tunelech, na jejichž konci hnízdí papuchalci. Skládací uši by zabránily vnikání nečistot a parazitů do uší při práci v podzemí a kombinace vysoké flexibility a polydaktylie by zajistila lepší přilnavost na strmém a volném terénu útesů“ (Melis et al. 2022)

5.1 Standard

Celkový vzhled norského lundehunda typově připomíná malého špice, který má výrazný obdélníkový tvar, je poměrně lehce a pružně stavěný a na první pohled jsou patrné rozdíly mezi pohlavími. Výška v kohoutku by měla odpovídat u psů 35 až 38 cm a u fen 32 až 35 cm. Hmotnost činí 6-7 kg (FCI 2012).

Viditelný je dobře osrstěný límec kolem krku. Jeho hlava je středně široká klínovitého tvaru s mírně zaoblenou lebkou a s výraznými nadočnicovými oblouky. Je zde patrný, ale ne příliš hluboký, stop. Co se týče obličejové části, tlama je klínovitého tvaru a střední délky. S celkovým tvarem obličeje souvisí nosní hřbet, který je mírně konvexní. U norského lundehunda je preferován nůžkový skus, ale povolen je i klešťový nebo mírný předkus. Jedinec by měl mít úplný chrup, ale je přijatelná absence třenových zubů na obou stranách v obou čelistech. Oči by měly být mírně šikmé a nevystupující se žlutavě hnědou barvou a s tmavým kroužkem obkrouženým kolem zornic. Uši norského lundehunda jsou velmi výjimečné, neboť mají schopnost se složit a stáhnout díky speciální chrupavce ušního boltce. Stahují se buď

dozadu nebo v pravém úhlu vzhůru. Smysl této schopnosti spočívá v uzavření zvukovodů a tím předchází případnému poškození vnitřní části ucha. Mají trojúhelníkový tvar a jsou středně velké. Standard také uvádí, že by měly být nesené vztyčeně s velkou pohyblivostí (FCI 2012).

Krk je střední délky, čistě utvářený a poměrně silný trup je obecně obdélníkového formátu se silným hřbetem a rovnou hřbetní linií. Hrudník je dlouhý se střední šířkou a břicho je mírně vtažené (FCI 2012).

Dalším důležitým standardem je jeho ocas, který by měl být „středně vysoko nasazený, střední délky, dobře osrstěný, ale bez praporu. Nesený buď mírně stočený do kroužku nad hřbetem nebo svěšený. Špička ocasu nesmí být nesená příliš vysoko nad hřbetem ani spadající ke straně“ (FCI 2012).

Při posuzování standardu končetin se celkově hodnotí u hrudních končetin, zda jsou přiměřeně zauhlené a u pánevních končetin jejich úzký postoj. Každá tlapka by měla mít 6 prstů na hrudních i pánevních končetinách. Přední tlapy jsou oválného tvaru, mírně vytočené ven s osmi polštářky na každé tlapce. Zadní tlapy jsou též oválného tvaru a mírně vytočené ven se sedmi polštářky na každé tlapce (FCI 2012).

Díky oblasti výskytu tohoto plemene je u jedinců charakteristický lehký a pružný pohyb doprovázený vytáčením hrudních končetin při pohybu ven a poněkud úzkým pohybem vzadu. Srst je obecně hustá a hrubá, s měkkou podsadou. Barevně by měla srst být vždy v kombinaci s bílou. Může být například od červené k béžové s více či méně rozloženými chlupy s černými špičkami (FCI 2012).

5.2 Historie

Norský lundehund je starobylé plemeno psa, jehož stáří se odhaduje na více než 400 let. Je to silně ohrožené původní psí plemeno. Jedná se o národní norské plemeno psa, jehož písemné záznamy sahají až k počátku roku 1400. V této době byl lundehund velmi ceněným členem tehdejší společnosti, jelikož se využíval pro lov papuchalků obyvateli rybářských vesnic poblíž ptačích kolonií. Tento proces zahrnoval schopnost vytahovat živé papuchalky z jejich hnízd na sutích a norách na strmých svazcích hor podél severního pobřeží. Z tohoto důvodu vzniklo i jeho jméno. Skládá se z kombinací slov „lunde“ (papuchalk, *Fratercula artica*) a „hund“ (pes) (FCI 2012).

Vysoká hodnota byla prisuzována členům plemene, kteří zastávali klíčovou roli v ekonomice komunity. Tito jedinci generovali významné příjmy prostřednictvím obchodu s prachovým peřím, které bylo primárně určeno pro výrobu přikrývek a polštářů, a také se exportovalo. Kromě toho zajišťovali potravinovou soběstačnost rodin prostřednictvím lovu, zejména během zimních měsíců, kdy byli papuchalci považováni za hlavní zdroj potravy místní populace. Z důvodu těchto potřeb došlo ke značnému úbytku populace papuchalků a z tohoto důvodu se v současnosti již neloví. Způsob tohoto lovu byl poprvé popsán v 17. století z Lofot, jež se dají popsat jako dříve izolovaná skupina ostrovů a severního norského pobřeží. Některé zdroje uvádí, že první zmínky o způsobu lovu pocházejí již z 16. století. Díky této geografické izolaci se u lundehundů rozvinuly neobvyklé fyzické abnormality. Jednou z nich je polydaktylie neboli šestý funkční a plně tvarovaný prst na každé ze čtyř tlapek. Tato neobvyklá vlastnost měla za následek úbytek jednoho kloubu, což znamená, že šestý prst je vybaven pouze dvěma

klouby. Mezi další abnormální vlastnosti se řadí hyperflexibilní ramenní a krční klouby a uši, které lze složit a zavřít (Kettunen et al. 2017; Bergvall a Shokrai 2014).

V 50. letech 19. století začal lov papuchalků pomocí různých alternativních metod v podobě sítí nebo pastí. V této době a také vlivem 2. světové války a po vypuknutí psinky v Norsku v letech 1942-1943 došlo k drastickému snížení počtu lundeundů, konkrétně se jednalo přibližně o cca 50 zbylých jedinců. Důsledkem toho vznikla současná populace, která vznikla z malého počtu příbuzných jedinců (Kettunen et al. 2017). Dle jiných zdrojů byl norský lundehund kdysi považován za vyhynulý. To se změnilo v roce 1925, kdy byla na norském ostrově Væroy objevena malá, ale životaschopná populace tohoto plemene. Po tragické ztrátě většiny lundehundů kvůli nemoci psinky a dalším nepříznivým okolnostem byl v roce 1961 zahájen šlechtitelský program. Tento program byl založen pouze na pěti přeživších jedincích, konkrétně dvou samicích a třech samcích. Bohužel, v roce 1964 jeden z původních samců ve věku tři let onemocněl ascitem, edémem zadních končetin a gastrointestinálními poruchami, což představovalo další výzvu pro záchranu plemene (Berghoff et al. 2007). Některé zdroje uvádějí, že nynější populace byla vyšlechtěna z šesti zbývajících psů, z nichž pět mělo společnou matku. V současnosti na světě žije něco okolo 1500-2000 jedinců, z nichž 120 jedinců žije ve Švédsku (Bergvall & Shokrai 2014). Jiné zdroje uvádějí, že „Populace lundehundů prošla ve 40. a 60. letech nejméně dvěma vážnými překážkami, kdy se zdá, že každá událost zanechala pouze pět inbredních jedinců a současný počet zástupců tohoto plemene vznikl ze dvou jedinců“ (Stronen et al. 2017). V první polovině 20. století se v malé rybářské komunitě na norském ostrově čelilo kritickým okamžikům, které ohrožily existenci plemene lundehund. Nejprve v 40. letech plemeno zasáhla epidemie psinky a později v 60. letech došlo k dalšímu úbytku po opuštění vesnice. Dnešní populace těchto psů pochází pouze z pěti jedinců, kteří měli společnou babičku, a z nichž tři měli stejnou matku (Melis et al. 2013). „V souladu s tím je lundehund nyní vysoce inbrední: například (Pfahler & Distl 2014) uvádí koeficient inbreedingu rovný 0,87 na základě 26 mikrosatelitních lokusů genotypovaných u 125 jedinců lundehundů“ (Stronen et al. 2017). Mezi důkazy ztráty genetické diverzity můžeme zařadit sníženou variabilitu zbarvení srsti, která se projevuje skutečností, že před 2. světovou válkou existovali například černí nebo bílí jedinci, které v dnešní době už nevidíme. Problémů, způsobených ztrátou genetické variability, je mnoho. Ať už se jedná o problémy s plodností, nepřirozené chování samců a samic při páření, nízkou kvalitou spermatu, sníženou velikost vrhu nebo vysokou frekvenci neživotaschopných embryí v důsledku letálních alel. V 60. letech 20. století zdroje uvádějí zvýšený výskyt střevních problémů, konkrétně se jednalo o střevní lymfangiektázi, život ohrožující onemocnění, kde se čítalo přibližně 30% úmrtí. Jde o vážné onemocnění s vysokou frekvencí, které se zatím nedaří vymýtit (Kettunen et al. 2017).

6 Biologická diverzita

Termín biologická diverzita znamená veškerou rozmanitost živé přírody od genetické úrovně až po ekosystémy. Je definována jako „bohatství života na Zemi, miliony rostlin, živočichů a mikroorganismů, včetně genů, které obsahují, a složité ekosystémy, které vytvářejí životní prostředí „Světovým fondem ochrany přírody“ (World Wildlife Fund – WWF) v roce 1989 (Primack et al. 2001). Pojem biologická diverzita se ujal již 90. letech 20. století díky

knize od Edwarda Wilsona „Diversity of life” z roku 1993. Měření biologické diverzity probíhá několika možnými způsoby dle stanoveného typu. Genetickou diverzitu můžeme měřit přímo s použitím sekvencí DNA, počítat druhy nebo vyšší taxony a stanovovat funkční rozmanitost ekosystémů. Biologové ovšem používají metodu taxonomické diverzity konkrétně hlavně počet druhů (Fluck & Jaffe 1975). O biologické diverzitě můžeme uvažovat na třech úrovních. Jedná se o biologickou diverzitu na úrovni druhů, která zahrnuje veškeré organismy žijící na Zemi, a to od bakterií a jednobuněčných organismů až po říše mnohobuněčných rostlin, živočichů a hub. V jemnějším měřítku můžeme o genetické rozmanitosti hovořit jako o genetické variabilitě v rámci druhu. Tímto pojmem můžeme také popsat různorodost ve společenstvech v nichž druhy žijí, v ekosystémech, ve kterých tato společenstva existují a rozmanitost interakcí mezi těmito úrovněmi (Primack et al. 2001).

Biodiverzita závisí na prostorové škále, z tohoto důvodu ji můžeme dělit na lokální a regionální. Lokální diverzita se zabývá schopností jednotlivých druhů koexistovat na jedné ploše. Jedná se o intenzitu a pravděpodobnost kolonizace dané lokality neboli kolik druhů je schopno se na danou lokalitu dostat. Regionální diverzita je naopak rozmanitost velkých území. U takových druhů předpokládáme, že na tomto místě vznikla. O této biodiverzitě rozhoduje speciace a extinkce jinak řečeno vznik druhů a jeho vymírání. Jedná se o území kontinentů nebo biomů na těchto kontinentech. Existuje také alternativní terminologie těchto pojmů, jedná se za prvé o alfa-diverzitu, což znamená počet druhů jedné studované lokality a současně průměrný počet druhů několika srovnatelných lokalit, a za druhé gama-diverzitu známou též jako diverzitu celého území tvořenou všemi druhy, které jsou zde k dispozici. Jedná se o species pool daných lokalit, jinak řečeno jde o množinu druhů, které jsou potencionálně schopné tuto lokalitu osídlit. Biologická diverzita se dělí do několika podskupin, a to na diverzitu druhovou, ekosystémů a genetickou (Fluck & Jaffe 1975).

7 Genetická diverzita

Obecná definice populace se označuje jako skupina jedinců schopných se vzájemně křížit a produkovat potomstvo. V rámci daného druhu závisí genetická diverzita na reprodukčním chování jedinců v populaci. „Druh může zahrnovat jednu či více oddělených populací, populace může být tvořena pouze několika jedinci nebo i miliony jedinců“ (Primack et al. 2001).

Genetická variabilita spočívá v genetické odlišnosti jedinců v populaci. S rostoucí velikostí populace přibývají jedinci s odlišnými geny a tím vzrůstá genetická diverzita. Odlišnými geny rozumíme jednotky na chromozomech, které kódují specifické proteiny. „Každý chromozom se skládá z jedné dvouřetězcové molekuly DNA a určitého množství proteinů; s chromozomy může být rovněž asociována RNA“ (Snustad & Simmons 2017).

U eukaryotických buněk se nachází rozdílné množství různých chromozomů, například psí spermie i vajíčko obsahují 39 chromozomů. Téměř každá eukaryotická buňka obsahuje dvě kopie všech chromozomů, což umožňuje takzvaný diploidní stav, který je charakteristický pro somatické buňky. Z těchto buněk se skládá tělo eukaryotického organismu. Pohlavní buňky neboli gamety na rozdíl od somatických obsahují pouze jednu kopii každého chromozomu, což znamená, že se nacházejí v haploidním stavu. Tyto gamety vznikají ze somatických buněk,

kteře jsou součástí zárodečné linie jinak řečeno se jedná o rozmnořovací tkáň organismu. Mezi důležité pojmy patří termín gen. Gen je základní jednotka genetické informace a označuje se jako určitý úsek DNA na chromozomu. „Různé formy genu se nazývají alely a rozdíly v nich narůstají v důsledku mutací“ (Primack et al. 2001). Mutace jsou změny, které se tvoří na deoxyribonukleové kyselině (DNA), která vytváří chromozomy. Důležitost alel genu spočívá v jejich ovlivňování vývoje a fyziologie organismů. Tuto vlastnost využívají především šlechtitelé zemědělských plodin a zvířat a to zejména pro možnost vyšlechtění výnosnějších a odolnějších kmenů domestikovaných druhů (Primack et al. 2001; Snustad & Simmons 2017).

Vzrůst genetické variability vzniká díky rekombinaci, která umožňuje potomkům získání jedinečné kombinace genů a chromozomů od rodičů vlivem sexuálního rozmnořování. Meióza je proces, při kterém dochází k výměně genů mezi chromozomy, díky kterým vznikají nové kombinace rodičovských chromozomů v geneticky jedinečném potomkovi. Z toho vyplývá, že s genetickou variabilitou nesouvisí pouze mutace, ale i tato schopnost druhů náhodně přeskupovat alely do různých kombinací při sexuálním rozmnořování a tím tuto diverzitu zvyšovat (Primack et al. 2001). „Soubor všech genů a alel v populaci tvoří genofond, zatímco určitá kombinace alel jedince je jeho genotyp. Fenotyp jedince představuje morfologické, fyziologické a biochemické charakteristiky, které jsou projevem jeho genotypu v určitém prostředí“ (Primack et al. 2001).

Geny, které mají více než jednu alelu v genomu se nazývají polymorfní geny a každý polymorfní gen obsahuje určitý počet alel, na základě tohoto počtu je dána genetická diverzita. Polymorfní geny zpřístupňují od každého z rodičů jinou alelu tohoto genu, což znamená, že jsou jedinci heterozygotními. Hlavní význam genetické diverzity spočívá především v adaptaci druhu na vliv změn vnějších podmínek, což představuje například výskyt nového onemocnění nebo celkově změna klimatu. V tomto odstavci jsem chtěla poukázat na důležitost genetické diverzity a zdůraznit, že vzácnost některých téměř vyhynulých druhů je zapříčiněna specificky tímto problémem. Vzhledem k náchylnosti k vyhynutí při změně prostředí by se tyto druhy neměly vystavovat novým podmínkám, protože jim jejich genetický základ nedovolí se adaptovat, z toho důvodu je pravděpodobné, že se jejich počty mohou snížit mnohem více (Primack et al. 2001).

Domácí pes (*Canis familiaris*) je klasifikován do více než 300 plemen, která jsou definována jako čistokrevné populace. Tyto populace často trpí omezenou genetickou diverzitou, což je důsledek malého počtu zakladatelů, převládajícího vlivu určitých plemenů v genealogii a fluktuací v oblíbenosti jednotlivých plemen. Navíc, pro registraci psa jako člena určitého plemene je vyžadováno, aby oba jeho rodiče byli registrovaní v tom samém plemeni. Důsledkem je, že i když jsou fenotypové rozdíly mezi plemeny výrazné, genetická variabilita uvnitř plemen je v porovnání s lidmi značně omezená (Parker et al. 2004). Pro posouzení genetické rozmanitosti psů se používá několik metod, z nichž nejčastější je výpočet „průměrného koeficientu příbuznosti“. Tento ukazatel nám říká, jak moc jsou jedinci v populaci příbuzní. Při interpretaci těchto dat je ale potřeba být opatrný, protože význam „příbuznosti“ se může lišit v závislosti na tom, jak jsou data vypočítána a jaká populace je studována (Leroy 2011).

Metody založené na pravděpodobnostech genového původu jsou jiný způsob, jak posoudit, jak rozmanitá je genetika v populaci zvířat. Tyto metody se zaměřují na to, jaký vliv mají původní zakladatelé daného druhu na genetickou rozmanitost celé skupiny. Pomáhají nám

pochopit, jak se geny šíří a mění v průběhu času a zda existují nějaké genetické bariéry, které by mohly ovlivnit zdraví nebo přežití zvířat. Studie psů ukázaly, že tyto metody mohou odhalit důsledky genetických změn, jako je například efekt hrdla lahve, kdy se genetická rozmanitost sníží kvůli malému počtu přeživších jedinců, což může vést k genetickému driftu, tedy náhodným změnám v genech (Leroy 2011).

8 Fenotypová variabilita

Dnes máme přes 400 plemen psů, každé s unikátními rysy a chováním. Tato rozmanitost je výsledkem dlouhé historie, která začala domestikací psů z vlků před více než 15 tisíci lety. Psi se tehdy naučili žít s lidmi a přizpůsobili se jim. Později, v posledních stoletích, lidé začali vybírat psy s určitými vlastnostmi a vytvářet nová plemena (Lindblad-Toh et al. 2005). Bohužel, tento proces vedl k tomu, že některá plemena mají nyní větší sklon ke genetickým problémům. Tato historie a vývoj psů je důležitý pro pochopení, jak se plemena liší a proč některé z nich mohou mít zdravotní komplikace (Vaysse et al. 2011).

Výjimečná fenotypová variabilita u psů je podle studií (Hedrick & Andersson 2011) vysvětlena třemi konkrétními mutačními mechanismy. Jedním z nich vysoká variabilita související s mikrosatelity. Mikrosatelity jsou krátké opakující se úseky DNA, a právě jejich vysoká variabilita může způsobit fenotypovou různorodost u psů. Dalším mutačním mechanismem je čistota opakování a vzniká díky častým posunům bází (slippage) během replikace DNA. Tento proces může rychle akumulovat mutace. Důležitým mutačním mechanismem je také skutečnost, že se jedná o masožravce, v jejichž genomu se nacházejí specifické úseky DNA zvané „Short interspersed nuclear elements (SINEs) (Hedrick & Andersson 2011)“. „Short interspersed nuclear elements (SINEs) jsou opakující se úseky DNA v genomu, patřící do třídy 1 transponovatelných elementů (retrotransponů). (Walters-Conte et al. 2011)“. „Podle našeho názoru mohou být dva z jejich dalších navrhovaných mechanismů, intenzivní umělá selekce a rychlé zachování buď nových nebo stálých mutací u psů, šetrnější a pravděpodobnější vysvětlení extrémních variací pozorovaných u psů. Kromě toho se obrovská velikost populace na celém světě a dlouhá historie domestikace u psů jeví jako dostatečné k vysvětlení jejich úžasné fenotypové rozmanitosti (Hedrick & Andersson 2011)“. „Mimořádná fenotypová rozmanitost psích plemen byla vymodelována jedinečnou populační historií doprovázenou selekcí nových a žádoucích vlastností“ (Vaysse et al. 2011).

Existují stovky psích plemen, která vykazují obrovské rozdíly ve vzhledu a chování vytvořené přísně kontrolovaným selektivním chovem. Tento rozsáhlý přírodní experiment poskytl ideální zdroj, který mohou genetici použít k hledání genetických variant, které tyto rozdíly kontrolují. Výsledky naznačují, že umělá selekce se zaměřila na geny zapojené do vývoje a metabolismu a že mohla zvýšit výskyt onemocnění u psích plemen. Znalost těchto oblastí má velký význam pro odhalení genetického základu variací mezi plemeny psů a pro nalezení mutací způsobujících onemocnění (Vaysse et al. 2011).

9 Mechanismy ovlivňující genetickou diverzitu

9.1 Selektce

Domácí psi mají dlouhou historii, která sahá až 15 000 až 100 000 let do minulosti, kdy byli poprvé domestikováni z šedých vlků ve východní Asii. Postupem času se psi stali blízkými společníky lidí, sdíleli s nimi domov a jídlo. Lidé pak začali psy selektivně šlechtit, aby vynikali v určitých činnostech, jako je pasení dobytka, lov nebo poslušnost, a vytvořili tak plemena s různými chovatelskými vlastnostmi. Psi byli vybíráni i podle fyzických charakteristik, jako je velikost, tvar hlavy, barva srsti a její struktura, což vedlo k vytvoření plemen s velmi specifickými tělesnými rysy. Tento proces výběru způsobil, že psi jsou dnes jedním z nejrozmanitějších domácích druhů, co se týče jejich vzhledu, a překonávají v tomto ohledu ostatní členy čeledi psovitých (Lindblad-Toh et al. 2005).

Pojem selektce se definuje jako evoluční mechanismus umělého nebo přirozeného výběru a obecně vede ke změnám frekvence alel v populaci. Přírodní, jinak také přirozená selektce nebo přirozený výběr, je základní mechanismus evoluce popsáný Charlesem Darwinem. Jedinci, kteří mají výhodnější genetické vlastnosti, pravděpodobněji předají svůj genetický materiál v následujících generacích. Tento proces také souvisí s adaptací druhů na změny prostředí. Druhým typem je umělá selektce neboli selektivní šlechtění, při kterém si lidé vybírají konkrétní jedince pro jejich konkrétní vlastnosti. Hlavní rozdíl mezi umělou a přírodní selekcí je, že při umělé selekci se majitelé soustředí na jejich preference nebo potřeby a na přírodní selekci mají dopad přirozené vlivy prostředí (Hruban & Majzlík 2000). Norský lundehund je plemeno psa, které se vyvinulo pro specifické účely a je významnou součástí kulturního dědictví Norska. Jeho jedinečné adaptace, jako je neobvyklá flexibilita kloubů, skládací uši a polydaktylie, jsou přímým důsledkem přirozeného a umělého výběru, které mu umožňují efektivně lovit papuchalky v náročném terénu norských útesů. Flexibilita kloubů zajišťuje lepší pohyblivost v úzkých skalních štěrbinách, skládací uši chrání před nečistotami a parazity, a polydaktylie poskytuje větší stabilitu na kluzkém povrchu. Tyto adaptace jsou klíčové pro přežití a úspěch lundehunda v jeho tradiční roli a jsou příkladem toho, jak selekční tlaky mohou formovat fenotypové rysy plemen v reakci na specifické životní podmínky (Melis et al. 2022).

9.2 Mutace

Mutace představují změny v genetickém materiálu, které mohou ovlivnit sekvenci aminokyselin v proteinech. Existují dva hlavní typy: gametické mutace, které se dědí do dalších generací, a somatické mutace, jež zůstávají omezeny na jedince, ve kterém vznikly. Mutace mohou být spontánní nebo indukované vnějšími faktory, známými jako mutageny. Důležitým pojmem je dominance mutace, která určuje, zda se mutace projeví ve fenotypu. Recesivní mutace se obvykle projevují pouze v případě, že jsou přítomny dvě kopie mutovaného genu. Mutace mohou mít různé účinky na metabolismus, od drobných změn až po významné metabolické blokády (Snustad & Simmons 2017).

9.3 Genetický drift

Genetický drift (různě nazýván jako „náhodný drift“, „náhodný genetický drift“ nebo někdy jen „drift“) je v genetice populace náhodným nebo pravděpodobnostním jevem, který ovlivňuje změny v genetickém složení populace. Tato definice vypovídá o tom, že se jedná především o „náhodné posuny ve frekvenci jednotlivých alel v populaci (Masel 2011)“. „Genetický drift snižuje alelickou diverzitu mnohem rychleji u malých populací než u velkých“ (Braude & Low 2010). Genetický drift je jedním z klíčových faktorů evoluce, spolu s výběrem, mutacemi a migrací. Někteří odborníci tvrdí, že genetický drift sehrál významnou roli v evoluci, zejména v oblasti molekulární evoluce, zatímco jiní toto tvrzení neuznávají (Millstein 2016). Samotný genetický drift ovlivňuje všechny alely v konečně velkých populacích, ale jeho účinek je výraznější v malých populacích. Může vést k ztrátě některých alel, včetně těch prospěšných, a k fixaci (dosáhnoutí 100% frekvence) jiných alel. Když frekvence alely klesne na nulu, genetický drift ji již nemůže obrátit, pokud se znovu neobjeví mutací. Teoreticky může být genetický drift důležitý i pro běžné alely v dostatečně malých populacích, ale jeho účinek se s rostoucí velikostí populace exponenciálně snižuje (Masel 2011). „Když odebereme vzorky ze dvou jedinců ze stejné populace, průměrný počet sekvenčních rozdílů na driftujících místech by měl být $4\mu N$, kde μ je rychlost mutace. Pro mutace, které jsou považovány za neutrální, vypočítáme efektivní velikost populace, která bývá nižší, než bychom očekávali. Rozsah efektivních velikostí populace u různých druhů je také menší, než bychom předpokládali (Masel 2011)“.

Odpověď na otázku, proč je efektivní velikost populace tak nízká a zároveň podobná mezi různými skupinami, spočívá v pochopení, že genetický drift je nejvíce ovlivněn nejmenší velikostí populace, kterou populace zažila. Efektivní velikost populace může klesnout ještě více například vlivem nerovnoměrného rozdělení reprodukčního úspěchu, kdy přežije více potomků najednou (Masel 2011).

Analýza genetické diverzity v populaci lundehundů odhalila, že 38,8 % genetické variace původní populace bylo ztraceno. Z toho 8,3 % odpovídá nerovnoměrnému příspěvku zakladatelů (s hodnotou $GD^* 0,917$), zatímco 30,5 % je důsledkem genetického driftu mezi populacemi odvozených od původních zakladatelů (rozlišeno pomocí GD^*-GD). GD označuje celkovou genetickou variabilitu v populaci. GD^* , která je upravená o nerovnoměrný příspěvek zakladatelů. Rozdíl mezi GD a GD^* , označovaný jako $GD-GD^*$, poskytuje další pohled na ztrátu genetické diverzity, tentokrát 30,5 %, která je přičítána genetickému driftu mezi populacemi odvozených od původních zakladatelů (Caballero & Toro 2000). Podle novějších studií je většina ztráty, konkrétně 78,5 %, přičítána genetickému driftu, zbylých 21,5 % pak nerovnoměrnému příspěvku zakladatelů. Celkový pokles genetické diverzity je reprezentován průměrným společným původem referenční populace, který se od 80. let minulého století pohybuje v rozmezí 0,35 až 0,40. Index $PCI5$, který odráží genetické zdraví populace, se zlepšil z hodnoty 0,94 na 1,0, s výjimkou případů, kdy došlo k přírůstku importovaných nebo křížených jedinců. (Kettunen et al. 2017).

9.4 Rekombinace

Rekombinace, proces, který umožňuje genům kombinovat na nové způsoby, je základem genetické variability a evoluce. Podle této studie je druh popsán jako “oblast genetické rekombinace”. Klíčovým bodem je, že reprodukční izolace umožňuje rekombinaci vytvářet nové kombinace alel uvnitř druhu, ale zabraňuje kombinování alel mezi různými druhy. Tento proces je úzce spojen s pohlavím a vývojem druhů, zejména pokud jde o vazebnou nerovnováhu. Sexuální reprodukce je výhodná díky rekombinaci, která rozkládá tuto nerovnováhu, zatímco vznik reprodukčních bariér podporuje spojení alel na různých lokusech, což napomáhá diferenciaci druhů (Vrba 1985).

V rámci genetických studií bylo zjištěno, že různé druhy mají uvnitř svých populací i mezi nimi genetické rozdíly, které ovlivňují, jak se geny kombinují během rekombinace. Tyto rozdíly zahrnují chromozomální inverze, které mění uspořádání genů na chromozomech, a variace v heterochromatinu, což je typ DNA, který ovlivňuje, jak se chromozomy spojují během rekombinace (John 1973). Nedávné studie využívající analýzu spermií ukázaly, že rychlost, s jakou se rekombinace děje, se liší mezi jednotlivci, což naznačuje, že tyto rozdíly jsou dědičné (Carrington & Cullen 2004). Bylo také zjištěno, že rekombinace se neodehrává rovnoměrně po celém genomu, ale soustředí se do určitých oblastí, známých jako “hotspoty”, které jsou odděleny oblastmi s nízkou rekombinací, zvanými “bloky haplotypu”. Tyto bloky mohou vznikat náhodně v důsledku historie populace a mohou se lišit mezi různými populacemi (Jeffreys et al. 2001). Když byly tyto genetické rozdíly podrobněji zkoumány, objevilo se mnoho různých vzorů, které ukazují na složitost genetické regulace rekombinace. Modifikátory, které ovlivňují rekombinaci, mohou působit na různých místech v genomu a mít různé účinky, což naznačuje, že genetická kontrola rekombinace je velmi komplexní proces (Butlin 2005).

9.5 Příbuzenská plemenitba

V chovu zvířat, jako jsou psi, se často setkáváme s inbreedingem, což je páření mezi příbuznými jedinci. Toto je běžné v mnoha chovatelských stanicích. Počet a typy plemen psů se liší podle toho, jak jsou oblíbené a jaké jsou trendy mezi majiteli a chovateli. Některá plemena, jako jsou zlatí retrívři, labradoři nebo němečtí ovčáci, jsou rozšířená po celém světě a mají velké populace. Většina plemen však má specifické využití, jako je hlídání zvířat nebo lov, a jsou méně početná. Chovatelé v různých zemích mají různé cíle, což ztěžuje sjednocení chovatelských programů a jejich sledování (Kania-Gierdziewicz & Pałka 2019).

„Příbuzenskou plemenitbu lze interpretovat jako míru sdíleného původu, genetického driftu nebo systému páření“ (Leroy 2011). Příbuzenská plemenitba může být problematická, protože v malých populacích nelze vyhnout rozmnožování mezi příbuznými, což může vést ke genetické podobnosti a zvýšenému riziku dědičných chorob. Selektivní chov u psů pro specifické vlastnosti zvyšuje tuto genetickou podobnost, což snižuje genetickou diverzitu a může oslabit odolnost populace (Lewis et al. 2015). Ztrátu genetické rozmanitosti v populaci, způsobenou tím, že jedinci sdílejí stejné předky (označované jako IBD – identity by descent), lze odhadnout pomocí „průměrného koeficientu příbuzenství“ (Φ). Tento koeficient ukazuje

pravděpodobnost, že dvě náhodně vybrané alely (jedna z každého jedince) na určitém místě v DNA jsou identické díky společnému předkovi. Vyšší hodnota Φ znamená, že je v populaci méně genetické rozmanitosti, což může být rizikem pro zdraví a přežití populace (Crow 2017). Proto se doporučuje udržovat průměrnou příbuznost co nejnižší, aby se zachovala genetická diverzita. V psích studiích se však často používá jiný ukazatel, průměrný koeficient inbreedingu (F), který je snazší vypočítat a poskytuje informace o vlivu příbuzenského křížení na zdraví a výkonnost psů (Leroy 2011). Plemenitba mezi příbuznými jedinci, vede k produkci potomstva s vyšším koeficientem příbuznosti. Čím více jsou rodiče geneticky příbuzní, tím vyšší je koeficient příbuzenské plemenitby (F) jejich potomků. Naopak, potomci nepříbuzných jedinců mají koeficient (F) rovný nule, bez ohledu na míru příbuznosti jejich rodičů. Křížení jedinců z různých plemen proto obvykle vede k nižší míře inbreedingu u potomstva. Inbreedingová deprese je často způsobena recesivními alelami, které mohou být v populacích s malou efektivní velikostí zastoupeny ve vyšších frekvencích kvůli genetickému driftu (Roff 2012).

Vytváření moderních plemen psů pomocí selektivního páření příbuzných jedinců, kteří mají požadované vlastnosti jako vzhled a povahu, může vést k omezení genetické rozmanitosti v populaci. Tento jev, známý jako efekt hrdla lahve, je důvodem, proč je mezi čistokrevnými psy často vysoká míra příbuzenského křížení. To může způsobovat problémy se zdravím, kondicí a sníženou plodností, protože se mohou dědit i genetické vady (Kania-Gierdziewicz & Pałka 2019).

V současnosti se údaje o mrtvě narozených štěňatech a genetických onemocněních shromažďují centrálně kynologickými kluby v mnoha zemích. Tyto kluby mají za úkol sledovat a řídit šíření genetických nemocí mezi různými plemeny psů podle směrnic Mezinárodní kynologické federace (FCI) (Hedhammar & Indrebø 2011). „FCI je mezinárodní federace chovatelských klubů z mnoha zemí Evropy (36), Ameriky a Karibiku (18), Asie (6) a Afriky (1). Ve skutečnosti tyto tři přehledy pokrývají velkou většinu zemí, ve kterých se chovají psi s rodokmenem, a poskytují tak užitečný obrázek o současných kontrolních programech“ (Nicholas & Wade 2011). Ztráta genetické rozmanitosti a nahromadění škodlivých genů může vést k problémům, jako jsou mrtvá narození a dědičné choroby. Kynologické kluby také zkoumají, jak tyto problémy zmírnit (Hedhammar & Indrebø 2011).

Dalším zkoumaným problémem je snížená plodnost u fen, což může zahrnovat menší počet štěňat ve vrhu, špatnou životaschopnost štěňat, mrtvě narozená štěňata nebo kryptorchismus u samců. Může dojít i k nerovnoměrnému poměru pohlaví ve vrhu. Tyto problémy mohou být způsobeny různými faktory, včetně příbuzenského křížení, které může ovlivnit genetickou strukturu populace (Kania-Gierdziewicz & Pałka 2019).

V poslední zaznamenané skupině psů plemene lundehund z roku 2014 byl průměrný koeficient příbuznosti mezi jedinci 35,6 % a míra příbuzenské plemenitby byla 33,9. Roční nárůst příbuzenské plemenitby v celé populaci byl odhadnut na 1 %, když byla použita lineární regrese, zatímco při pohledu na individuální nárůsty byla míra 4 % (Kettunen et al. 2017). „Lundehund vykazuje známky útlumu příbuzenské plemenitby sníženou plodností kvůli malé velikosti vrhu, problémy s pářením (pravděpodobně kvůli mechanismům vyhýbání se příbuzenské plemenitbě) a nízkou kvalitou spermií“ (Melis et al. 2022).

„Celkem 33 jedinců zapsaných v rodokmenu mělo koeficient příbuzenské plemenitby rovný nebo větší než 0,5. Jedna generace samooplodnění nebo tři generace páření úplných sourozenců vedou k koeficientu příbuzenské plemenitby 0,5. Z celkového počtu páření bylo 0,98 % (N =

53), 2,04 % (N = 111) a 0,81 % (N = 44) páření úplných sourozenců, polovičních sourozenců nebo rodičů a potomků“ (Kettunen et al. 2017).

10 Polymorfismus

Pojem pochází z řečtiny a je volně přeložený jako „mnoho forem“ (Snustad & Simmons 2017). Označuje lokus, místo na chromozomu, které má varianty (alely) s frekvencí nižší než 99 % v celé populaci. Polymorfismus je klíčový pro studium genetické variability (Schork et al. 2000).

Výzkum ukazuje, že změny v sekvencích DNA mohou ovlivnit fenotyp. Tyto změny jsou zkoumány v rámci genetických iniciativ. Klíčové otázky zahrnují, jak se takové variace udržují v populacích a jak se projevují na úrovni biochemie a fenotypu. Prakticky je identifikace specifických míst v genomu obtížnější, protože definice varianty DNA může zahrnovat různý počet bází. Studie asociací mezi variantami DNA a fenotypy jsou složité, ale klíčové pro pochopení genetické variability (Schork et al. 2000).

Moderní technologie, jako jsou genové čipy, umožňují hromadnou analýzu genomové DNA. Na jediném čipu lze detekovat mnoho jednonukleotidových polymorfismů (SNP), které se vyskytují v průměru každých 1 až 2 kb. Tato technologie umožňuje efektivní analýzu genetické variability. Celkově lze říci, že studium genetické variability je klíčové pro pochopení evoluce, adaptace a zdraví jedinců (Schork et al. 2000).

„Polymorfismus vzniká v důsledku mutace. Různé typy polymorfismu jsou typicky označovány podle typu mutace, která je vytvořila. Nejjednodušší typ polymorfismu vzniká mutací jedné báze, kdy se jeden nukleotid nahrazuje jiným. Tento jev je znám jako jednonukleotidový polymorfismus (SNP). Dříve byly takové varianty označovány konkrétními metodami používanými k jejich detekci. Například první systematické studie variant jedné báze byly prováděny identifikací míst pro restrikční enzymy. Zde by změna jednoho páru bází mohla vést ke ztrátě nebo zisku restrikčního místa. Štěpení části DNA obsahující příslušné místo vhodným restrikčním enzymem by pak mohlo rozlišit alely nebo varianty na základě výsledných velikostí fragmentů pomocí elektroforézy. Tento typ polymorfismu byl proto označován jako polymorfismus délky restrikčních fragmentů (RFLP)“ (Schork et al. 2000).

Mlčící polymorfismus, který je výsledkem degenerace genetického kódu, umožňuje více než jednomu kodonu specificky inkorporovat určitou aminokyselinu do polypeptidu. Díky moderním metodám je získávání údajů o sekvenci DNA pro studium genetické variability snazší než kdy dříve. Metoda polymerázové řetězové reakce (PCR) umožňuje amplifikaci určitých oblastí genomu, které jsou následně sekvenovány. Analyzovat sekvence a identifikovat variabilitu mezi jedinci umožňují pokročilé počítačové programy. Tyto techniky umožňují srovnávat úroveň variability v různých oblastech DNA, například v exonech a intronech (Snustad & Simmons 2017).

11 Efektivní velikost populace

Efektivní velikost populace (N_e), která představuje velikost ideální populace ztrácející genetické variace stejnou rychlostí, se často používá k odhadu míry, jakou populace ztrácí genetickou diverzitu. V ideálních populacích dochází k náhodnému páření bez jakékoli vnitřní diferenciaci způsobené filopatrií, vzorcem páření nebo shromažďováním příbuzných. Naopak, reálné populace často vykazují genetickou diferenciaci v důsledku sociálních skupin, kde se odehrává většina páření a sociálních interakcí. Tato diferenciaci může ovlivnit genetickou diverzitu populace (Dobson et al. 2004). Efektivní velikost populace (N_e) je důležitým ukazatelem pro hodnocení udržitelnosti a potenciálního ohrožení druhů. Populace s N_e menším než 100 jsou v nebezpečí významné ztráty genetické diverzity. Pokud je N_e nižší než 50, populace čelí velkému riziku negativních důsledků příbuzenské plemenitby (Lewis et al. 2015). Variabilita odhadů efektivní velikosti populace je ovlivněna historií plemene, dostupností dat o původu a metodou odhadu. Regresní metody, které využívají koeficienty příbuznosti, jsou závislé na zvoleném časovém období, což může vést k nepřesným výsledkům efektivní velikosti populace při nevhodné volbě. Naopak, metody využívající kompletní genealogické informace poskytují konzistentnější odhady efektivní velikosti populace, reflektující historii plemene a genetické procesy jako jsou páření, genetický drift a selekce. Tyto metody také umožňují ověření přesnosti odhadů díky výpočtu standardní chyby (Gutiérrez et al. 2008).

Efektivní velikost populace, je koncept, který nám pomáhá pochopit, jaký vliv bude mít genetický drift a příbuzenské křížení na určitou populaci. Tento termín bere v úvahu nejen počet jedinců v populaci v daném okamžiku, ale i její minulý vývoj. Když mluvíme o „ideální populaci“, myslíme tím teoretickou skupinu organismů, která by byla v rovnováze podle Hardy-Weinbergova principu, s neměnnou velikostí, rovným počtem samců a samic a bez přílivu nových jedinců, odchodu, mutací nebo přirozeného výběru. Účinná velikost populace je pak taková velikost této ideální skupiny, která by pocítila dopady genetického driftu nebo příbuzenského křížení stejně intenzivně jako skutečná studovaná populace. Jako příklad si vezměme skutečnou populaci 50 zvířat, která podléhá genetickému driftu stejně rychle jako ideální populace 20 zvířat. V tomto případě říkáme, že účinná velikost populace pro drift je 20 (Braude & Low 2010).

„Velikost populace také ovlivňuje šance na vyhynutí prostřednictvím demografické náhodnosti, náhodné změny velikosti populace v čase kvůli náhodné variaci v individuálním přežití a reprodukčním úspěchu. Takové události mají v malých populacích proporcionálně velký vliv. Například v populaci 10 jedinců by jedna náhodná smrt snížila velikost populace o 10 %. Naopak, pokud by populace čítala 1000 jedinců, jedna náhodná smrt by snížila velikost populace pouze o 0,1 %. Malé populace jsou tedy mnohem pravděpodobněji vystaveny vyhynutí kvůli demografické náhodnosti než velké populace“ (Braude & Low 2010).

Účinná velikost populace a příbuzenské křížení jsou klíčové pojmy v populační biologii. Účinná velikost populace nám říká, jak moc je populace ovlivněna genetickým driftem a příbuzenským křížením. Příbuzenské křížení, kdy se kříží jedinci blízce příbuzní, může snížit genetickou rozmanitost a zvýšit počet škodlivých genů v populaci. To může vést k nižšímu přežití potomstva, což se nazývá příbuzenská deprese (Braude & Low 2010). „Efektivní velikost populace (N_e) globální populace lundehundů byla odhadnuta jako velmi nízká na

základě údajů o původu ($N_e = 13$) a na základě molekulárních údajů ($N_e = 28$)“ (Melis et al. 2022). Během posledních 1000 generací se efektivní velikost populace u lundehunda snížila, s výrazným poklesem z 24,7 na 13,4 po 800 generacích a stabilizací mezi 10 a 13 v posledních 200 až 7 generacích. Nedávný nárůst N_e na 19 a následný pokles na 12 ukazuje na fluktuace v genetické diverzitě (Pfahler & Distl 2015).

12 SNP analýza

Využití genových čipů umožňuje hromadnou analýzu genomové DNA. Na jediném čipu lze detekovat mnoho jednonukleotidových polymorfismů (SNP), které se vyskytují v průměru každých 1 až 2 kb. Tato technologie umožňuje efektivní analýzu genetické variability (Snustad & Simmons 2017). Psi představují významný zdroj pro genetický výzkum komplexních chorob. S dokončením mapování psího genomu se otevřely nové možnosti pro genetický výzkum. Nyní máme k dispozici rozsáhlou databázi jednonukleotidových polymorfismů (SNP), které mohou pomoci v empirických studiích genetické rozmanitosti a vazebné nerovnováhy u psů. I když byla část těchto SNP již využita, většina z nich zůstává nezkoumaná, a není jasné, jaký by měl být ideální soubor SNP pro mapování genetických vztahů. Navíc, i přes pokroky v technologiích genotypizace, existují výzvy spojené s omezeným množstvím a kvalitou DNA, kterou lze získat z bukálních výtěrů psů, což komplikuje rozsáhlé genetické analýzy. Tyto vzorky často obsahují i vysoké množství mikrobiální DNA, což může ovlivnit čistotu a výsledky analýz (Chang et al. 2007).

Úspěch mapování genů na celém genomu závisí na tom, jak těsně jsou genetické markery spojeny mezi sebou, což se nazývá vazebná nerovnováha. Když jsou tyto vazby silné a rozprostírají se přes dlouhé úseky DNA, stačí prozkoumat jen několik markerů, aby se odhadl genetický profil celé oblasti. Naopak, pokud jsou tyto vazby slabé a omezují se na krátké úseky, je potřeba prozkoumat mnohem více markerů, aby se získal stejně podrobný pohled na genetiku. To znamená, že v populacích s kratší vazebnou nerovnováhou je potřeba více práce a analýz, zatímco v populacích s delší vazebnou nerovnováhou je práce méně (Sutter et al. 2004).

Bylo vybráno 384 SNP na psím chromozomu 9 z celkového počtu přibližně 2,55 milionu necharakterizovaných SNP. Tyto SNP byly následně hodnoceny na genotypizační platformě Illumina BeadArray, kde byly použity vzorky DNA získané amplifikací celého genomu z bukálních výtěrů. Získaná data umožnila posoudit vazebnou nerovnováhu a strukturu populace u vzorků 86 biglů, 76 border kolíí a 15 australských ovčáků. Výsledky potvrdily, že amplifikované vzorky bukální DNA jsou dostatečné pro použití ve standardních multiplexních genotypizačních testech a ukázaly, že vazebná nerovnováha je u psů rozsáhlá. Podle dostupných informací nebyl dříve genotyp z bukálních vzorků DNA stanoven pomocí platformy Illumina žádnou jinou skupinou (Lindblad-Toh et al. 2005; Chang et al. 2007).

Genetický výzkum norského lundehunda zahrnoval použití dvou různých souborů dat: jeden z Norska pro ověření pohlaví psů a druhý z Německa pro studium jejich předků a genetických mutací. Pro ověření pohlaví byly vzorky DNA získány bukálními výtěry od 52 lundehundů během mezinárodního setkání plemen v Norsku v roce 2013. DNA byla extrahována speciálním izolačním kitem. Z této skupiny bylo vybráno 17 psů (5 samců a 12

samic), kteří nebyli příbuzní, a jejich geny byly analyzovány pomocí technologie, která zkoumá více než 170 000 genetických variant známých jako jednonukleotidové polymorfismy (SNP). Pohlaví jednotlivých psů bylo určeno pomocí softwaru, který analyzuje SNP na X chromozomu. Samci byli identifikováni, pokud měli vysoký koeficient příbuznosti (F vyšší než 0,8), zatímco samice, pokud byl tento koeficient nízký (F nižší než 0,2). Dále byla provedena další metoda identifikace pohlaví pomocí specifického genetického markeru na všech 52 vzorcích. Výzkumníci také vypočítali procento chybějících genetických variant, míru genetické rozmanitosti (heterozygotnost) a míru příbuznosti mezi jedinci na základě analýzy 165 293 SNP (Purcell et al. 2007; Kropatsch et al. 2015).

Cílem bylo odhadnout počet samičích a samčích předků (patri – a matrilineage) současné populace těchto psů. K tomu bylo použito 57 geneticky co nejméně příbuzných jedinců (23 samců a 34 samic) z různých linií norské plemenné knihy. Vzorky krve a bukových výtěrů byly získány ve spolupráci s norským klubem Lundehund (Kropatsch et al. 2015). DNA byla izolována z těchto vzorků pomocí standardních metod a speciálních sad pro extrakci DNA. Tato Genomová DNA byla izolována z buněk periferní krve (Miller et al. 1988). Pro odhad počtu předků byla DNA každého jedince analyzována na základě Y-chromozomálních markerů (které určují mužské předky) a mitochondriální DNA (mtDNA, která určuje ženské předky). Bylo použito 5 SNP (jednonukleotidových polymorfismů) a 4 mikrosatelitní lokusy pro Y-chromozomální markery a sekvenování části mitochondriálního genomu o velikosti 1947 bázových párů (Kropatsch et al. 2011).

Výzkum genetické struktury norských lundehundů pomocí SNP (jednonukleotidových polymorfismů) s vysokou hustotou ukázal, že tato plemena mají velmi nízkou genetickou rozmanitost a vysokou míru příbuzenského křížení. To znamená, že mnoho psů má podobné genetické informace, což je typické pro malé a izolované populace (Melis et al. 2013). Při použití speciálních softwarů, jako jsou GENOME STUDIO a PLINK, k určení pohlaví psů na základě jejich genetických dat, bylo zjištěno, že všechny psy identifikují jako samce, i když ve skutečnosti je 71 % z nich fen. To naznačuje, že při velmi nízké genetické rozmanitosti mohou být výsledky těchto softwarů nepřesné. V současné době je běžné používat genetická data pro určení pohlaví bez dalších testů, ale v případě lundehundů to může vést k chybám. Proto je důležité brát v úvahu míru příbuzenského křížení, když se používají tyto programy, zejména pokud je správná identifikace pohlaví klíčová pro chov nebo ochranu plemene. V takových situacích může být užitečné provést nezávislé testy, jako je například amplifikace genů amelogeninu, která může být spolehlivější, dokonce i pro vzorky DNA nižší kvality (Kropatsch et al. 2015).

13 Mitochondriální analýza DNA (mtDNA)

Eukaryotická buňka obsahuje přibližně 100-1000 mitochondrií a proto profilování mitochondriální DNA je vhodnou alternativní metodou profilování DNA (Bekaert et al. 2012). Mitochondriální DNA (mtDNA) se využívá především pro fylogenetické studie psů (*Canis lupus familiaris*). Tyto studie zkoumají geografický a časový původ psů, stejně jako jejich evoluční historii. mtDNA nám také umožňuje sledovat tok mateřských genů a určovat fylogenetické vztahy mezi různými čistokrevnými plemeny psů, a to díky jejímu vzoru dědičnosti po matce. Kromě toho, chromozom Y, který se dědí po otci, nám poskytuje

informace o evolučních událostech v otcovských liniích savců. Analýzy mtDNA a chromozomu Y společně odhalují pohlavně specifické příspěvky, které hrají roli v době posledních významných událostí v historii plemene (Kropatsch et al. 2015).

Analýza mitochondriální DNA (mtDNA) má široké uplatnění díky své schopnosti charakterizovat variace v hypervariabilní oblasti HV1 a kódující oblasti. Tato analýza byla poprvé použita k prozkoumání mtDNA a odhalila šest hlavních haploskupin, což umožnilo lepší pochopení genetické diverzity. Pravděpodobnost identifikace jedinečného genetického profilu se pohybuje mezi 0,930 a 0,977 až 0,982 pro celý mitochondriální genom. Tato přesnost činí mtDNA cenným nástrojem pro různé biologické a genetické studie (Bekaert et al. 2012)

14 Genealogická analýza

Rodokmen norských lundehundů od roku 1964 ukazuje, že nejkonzervativnější index úplnosti rodokmenu (PCI) pro 10 generací dosáhl 90 % na začátku 90. let. Podobné úrovně úplnosti byly zaznamenány i v 80. a na konci 70. let pro 7 a 5 generací. V průběhu této doby se hloubka rodokmenu rozšířila z 6 na 19 generací, což naznačuje zlepšení v dokumentaci předků a genetické historie tohoto plemene (Kettunen et al. 2017). Studium rodokmenů a genetické struktury plemene může pomoci najít menší skupiny v rámci větší populace, které se liší svým genetickým přínosem. Díky analýze rodokmenů lze také zjistit, kdo byl prvním nositelem určité genetické chyby. Před zahájením studií, které zkoumají vztahy mezi geny a jejich vliv na organismus, je důležité pochopit, jak je populace geneticky uspořádaná (Quignon et al. 2007).

Slovo “rodokmen” má dlouhou historii a začalo se používat pro psy až v 19. století s vytvořením prvních plemenných knih a psích klubů. Tyto registry se staly důležitými pro výběr a sledování psů při chovu a jsou základem pro udržení plemenných standardů. Rodokmeny byly tradičně hlavním zdrojem informací pro studium genetické rozmanitosti psů. S příchodem nových technologií, jako jsou čipy pro analýzu DNA, se nyní mohou používat i další metody (Leroy 2011). Díky pravidlům dědičnosti, které objevil Mendel, můžeme sledovat, jak se geny přenášejí z jedné generace na další, a získávat tak přesnější informace o genetické variabilitě v populaci. Registrují se v nich vztahy mezi psy, což pomáhá vědcům studovat genetickou rozmanitost a strukturu psích populací. Výpočty těchto studií závisí na velikosti populace a začaly se provádět asi před 20 lety. V té době byly také vyvinuty nové metody pro určování velikosti populace, analýzu genetické struktury a zjišťování historických období s malým počtem jedinců. Tento pokrok nám umožňuje lépe porozumět genetickému dědictví a zdraví psů (Luo 1992).

Ekvivalentní kompletní generace (EqG) je ukazatel, který se používá k posouzení, jak úplný je rodokmen. Vypočítá se tak, že se sečtou všichni známí předci, přičemž každá generace má menší váhu podle toho, jak daleko je od současnosti. Čím vyšší je hodnota EqG, tím úplnější je rodokmen (Maignel et al. 1996). Například, u některých plemen psů může být EqG nízké, jako 0,3, zatímco u jiných, jako je toller (Nova Scotia Duck Tolling Retriever), může být až 13, což ukazuje na velmi podrobný rodokmen s daty z mnoha zemí a sahající až do roku 1931 (Leroy 2011).

Analýzy rodokmenů psů mohou být omezené, protože zaznamenávají pouze určitý počet generací. To znamená, že informace jsou dostupné jen od doby, kdy se začalo s počítačovou evidencí genealogií nebo od začátku záznamů v plemenných knihách. Přestože

tyto záznamy pomáhají sledovat předky psů, nemusí pokrývat celou historii plemene (Leroy 2011).

Analýzy genetické struktury populace, jako jsou příbuzenské plemenitby a genetické vztahy, byly provedeny s využitím softwaru EVA 2.1. EVA je software určený pro analýzu genetických vztahů v chovatelských populacích. Umožňuje hodnotit míru příbuzenské plemenitby a předpovídat genetické příspěvky pro zlepšení selekce, přičemž zohledňuje riziko inbreedingu. EVA_Inbred poskytuje různé statistiky, jako jsou koeficienty příbuzenské plemenitby, úplnost rodokmenů, příspěvky zakladatelů a aditivní genetické vztahy, které jsou klíčové pro udržení genetické diverzity a zdraví chovných populací (Berg et al. 2006). K odhadu efektivní velikosti populací byl použit software ENDOG v.4.8, který pracuje s úplnými nebo částečnými rodokmenovými daty. U jedinců s neúplnými rodokmeny nebo s generačním koeficientem nižším než 2.0 byla data omezena, aby se předešlo zkreslení výsledků. Efektivní velikost populace byla vyhodnocena na základě různých definic změny koeficientu inbreedingu (ΔF) (Kettunen et al. 2017).

V rámci studia genetické struktury populace je klíčovým ukazatelem míra příbuzenské plemenitby neboli inbreeding. Tento fenomén je možné kvantifikovat pomocí několika statistických metod. První skupina metod (Metoda I) odhaduje inbreeding na základě počtu generací, které lze v rodokmenu jedince dohledat. Druhá metoda (Metoda II) aplikuje tento princip na ekvivalentní generace. Třetí přístup (Metoda III) využívá regresi koeficientů příbuzenské plemenitby podle roku narození, kde nárůst inbreedingu mezi generacemi je výsledkem součinu průměrného generačního intervalu a regresního koeficientu. Poslední metoda (Metoda IV) se opírá o logaritmickou funkci pro odhad inbreedingu, buď podle roku narození nebo ekvivalentů úplných generací (Gutiérrez et al. 2003; Kettunen et al. 2017).

Výzkum genetické rozmanitosti v populaci psů lundehund ukázal, že použití parametrů založených na pravděpodobnosti původu genu pomáhá lépe pochopit příbuzenskou plemenitbu a efektivní velikost populace. Efektivní počet zakladatelů (f_e) je počet hypotetických zakladatelů, kteří by přispěli k genetické diverzitě stejně jako skuteční zakladatelé, a to i přes fakt, že někteří zakladatelé přispěli více než jiní (Lacy 1989). „Parametr (f_e) udává počet stejně přispívajících zakladatelů, kteří by produkovali stejnou úroveň genetické diverzity, jaká je pozorována u současné populace“ (Ghafouri-Kesbi 2010). Efektivní počet zakladatelů (f_e) a efektivní počet předků (f_a) jsou klíčové parametry pro pochopení genetické variability. Parametr f_e odhaduje, kolik zakladatelů by bylo potřeba k dosažení stávající genetické diverzity, zatímco f_a zohledňuje minimální počet předků potřebných k zachování této diverzity, včetně případných genetických úzkých hrdel. Ekvivalent zakladatelského genomu (f_{ge}) pak reflektuje počet zakládajících alel ztracených kvůli genetickému driftu nebo úzkým hrdlům, poskytující ucelenější pohled na ztrátu genetické rozmanitosti v čase (Kettunen et al. 2017). Parametr (f_{ge}) vyjadřuje efektivní počet zakladatelů, kteří se podílejí na genetické struktuře současné živé populace. Vypočítá se jako inverze součtu kvadrátů podílů genů jednotlivých zakladatelů v populaci, dělených jejich retencí, což je míra, jak jsou alely zakladatelů zastoupeny v potomcích (Jansson 2014).

Analýza genetického managementu norských lundehundů pomocí softwaru EVA 2.1 odhalila vliv importu psů na genetickou diverzitu. Byly zkoumány tři datové sady – globální, severská a norská – a byla provedena dodatečná analýza bez kříženců, v souladu s doporučeními norského klubu Lundehund. Testování tří scénářů omezeného použití samců pro 1, 5 nebo 10

páření ukázalo, jak omezení počtu páření samců může ovlivnit genetickou rozmanitost. Celkem bylo optimalizováno 20 páření, což napomáhá udržení genetické zdraví populace (Kettunen et al. 2017).

15 Genetická analýza

Tato konkrétní genetická analýza popisuje genetickou studii prováděnou na dvou psích plemenech, lundehund a Nova Scotia Duck Tolling Retriever (toller), s cílem posoudit jejich genetickou diverzitu. V průběhu výstav psů a setkání v Norsku byly shromážděny vzorky DNA od 125 lundehundů a 27 tollerů pomocí bukalních výtěrů, což je metoda sběru DNA z vnitřní strany tváře. DNA byla následně izolována pomocí speciální sady. Pro analýzu bylo vybráno celkem 26 mikrosatelitních markerů, což jsou specifické sekvence DNA používané pro genetické mapování, z mezinárodního standardního panelu (ISAG-International Society for Animal Genetics) a dalších devět mikrosatelitů. Amelogenin, gen spojený s pohlavím, byl použit k určení pohlaví psů. Čtyři markery, které měly problémy s amplifikací nebo skórováním, byly vyloučeny, takže pro další analýzu zůstalo 22 autozomálních markerů. Tyto markery byly zesíleny pomocí metody PCR – polymerase reaction chain, což je technika používaná ke kopírování malých částí DNA, ve třech různých skupinách. „Polymerázová řetězová reakce je technika in vitro, která umožňuje replikaci a amplifikaci DNA sekvence na miliardovou amplitudu“ (Singh et al. 2014). Každý pes byl genotypován, což znamená, že byla určena jeho genetická sekvence, na 27 různých místech (lokusech) v genomu. Proces genotypizace byl proveden v malém objemu reakční směsi a výsledky byly analyzovány pomocí softwaru genemapper 4.0 (Melis et al. 2013).

Studie zjistila, že většina markerů byla v HW rovnováze, což znamená, že genetická struktura populace odpovídá očekávanému modelu bez vlivu evolučních sil. U lundehunda byla nalezena významná vazebná nerovnováha u malého procenta párů lokusů, což může naznačovat genetickou vazbu nebo nedávné změny v populaci. U tollera byla situace podobná, ale s mírně vyšším procentem signifikantní vazebné nerovnováhy. „Vazebná nerovnováha je definována jako nenáhodná asociace alel na různých lokusech v gametách populace (Melis et al. 2013). Synonyma pro tento termín zahrnují alelickou asociaci nebo gametickou fázovou nerovnováhu“ (Mueller 2004).

Výzkum genetické diverzity mezi plemeny lundehund a toller ukázal, že zatímco lundehund má 12 homozygotních a 14 heterozygotních markerů, toller má heterozygotní markery napříč všemi testovanými. Průměrný počet alel na lokus je u lundehunda nižší (1,731) ve srovnání s tollery (4,269), což odráží větší genetickou variabilitu u tollera. Alelická bohatost, která měří průměrný počet alel na lokus v populaci, je také vyšší u tollera (3,828) než u lundehunda (1,313). Pozorovaná heterozygotnost, indikující genetickou variabilitu, je u lundehunda nízká (0,075), zatímco u tollera je výrazně vyšší (0,554). Očekávaná heterozygotnost, která předpokládá genetickou diverzitu v rovnovážném stavu, je také nižší u lundehunda (0,075) ve srovnání s tollery (0,568). Koeficient příbuzenské plemenitby, ukazující míru inbreedingu, je u obou plemen blízky nule, což naznačuje minimální příbuzenské křížení (Melis et al. 2013).

Výzkum potvrdil, že norský lundehund má jednu z nejnižších úrovní genetické variability ze všech psích plemen, což koresponduje s jeho historií. V kontrastu s tím

hannoverský honič si udržel poměrně vysokou genetickou variabilitu s průměrnou očekávanou heterozygotností 0,66 i přes dvě genetické krize, které nastaly během obou světových válek. Tato odlišnost může být vysvětlena vysokou genetickou variabilitou zakladatelů hannoverského honiče. U lundehunda však pravděpodobně vysoká genetická variabilita nebyla přítomna, neboť jeho populace byla malá i před a po genetických krizích, což vedlo k jeho současné nízké genetické variabilitě (Melis et al. 2013).

Studie, která se zaměřila na 61 psích plemen ve Francii s použitím 21 mikrosatelitních markerů, odhalila průměrnou očekávanou heterozygotnost (HE) 0,62. Tato hodnota je srovnatelná s hodnotou pozorovanou u plemene toller, zatímco u plemene lundehund byla HE mnohem nižší, téměř desetkrát menší než průměr. Průměrná alelická bohatost (AR) ve studii byla 4,60, což ukazuje na širokou genetickou diverzitu mezi plemeny (Melis et al. 2013).

V rámci jiné studie byla zkoumána genetická rozmanitost čtyř skupin psů: lundehundů, buhundů a kříženců lundehund x buhund první (F1) a druhé (F2) generace, které byly vytvořeny v rámci záchranného projektu. Přestože byl počet dostupných kříženců pro analýzu omezený, jejich genetické profily jsou pro účely záchranného programu nezbytné. Pro účely srovnání byly všechny čtyři skupiny sestaveny tak, aby měly podobnou velikost vzorku, přičemž skupina F1 disponovala nejmenším počtem jedinců v důsledku již zmíněných omezení (Melis et al. 2022).

Výzkumníci provedli genotypizaci čtyř skupin psů: lundehund, norský buhund a jejich F1 kříženců a F2 zpětných kříženců. Použili neinvazivní bukalní výtěry pro odběr DNA, kterou následně extrahovali a genotypovali pomocí čipu Illumina Canine HD Bead Chip. Po kontrole kvality v GenomeStudio a PLINK byly vybrány pouze vzorky s genotypizační úspěšností nad 90 %. Výsledná data byla ořezána pro lokusy ve vazebné nerovnováze, což vedlo k vytvoření dvou souborů SNP lokusů pro další analýzy (Stronen et al. 2017). První soubor obsahoval 8 182 SNP lokusů pro přesné genetické studie, zatímco druhý soubor obsahoval 34 725 SNP lokusů pro hodnocení běhů homozygotnosti (ROH). Tento komplexní přístup poskytl podrobný genetický profil zkoumaných psů a přispěl k lepšímu porozumění jejich genetické struktury (Purcell et al. 2007; Chang et al. 2007; Melis et al. 2022).

Také bylo genotypováno „celkem 48 psů včetně 17 lundehundů a jedinců ze tří plemen vhodných pro křížení. Konkrétně bylo genotypováno 10 norských buhundů, devět islandských ovčáků a 12 psů plemene norbotenský špic, které pochází ze severní Fennoskandinávie a ruské Karélie a je pojmenováno po švédské provincii Norrbotten“ (Stronen et al. 2017).

Genetická variabilita byla v populacích psů hodnocena pomocí několika statistických metod. Pozorovaná heterozygotnost (H_o), očekávaná heterozygotnost (uHE), koeficient příbuzenské plemenitby (FIS) a procento polymorfních lokusů (P) byly vypočítány v softwaru GenAlEx 6.501. Dále byly pro každého psa určeny šikmost a špičatost distribuce, mediány a percentily. Bylo zjištěno, že příbuzenská plemenitba vede k nižší heterozygotnosti a zkrácené distribuci. Kumulativní křivky pro H_o a uHE byly sestaveny a porovnány mezi skupinami psů pro všech 8182 zkoumaných lokusů. Odchyly od Hardy-Weinbergovy rovnováhy byly testovány v softwaru GENEPOP v4.3, a hodnoty Pairwise F_{ST} byly vypočítány pro určení genetické diference mezi skupinami. GENEPOP je software pro genetickou analýzu, který umožňuje provádět přesné testy a odhady v oblasti genetické diverzity a struktury populací, včetně analýz vztahů mezi geny a populacemi (Rousset 2008). „Statistiky FIS a FIT měří

přebytek nebo deficit průměru heterozygotnosti v každé subpopulaci a v populaci jako celku. Statistika F_{ST} měří stupeň genetické diferenciace mezi populacemi. Tyto fixační indexy byly odhadnuty pomocí softwaru GENEPOP“ (Wijnrocx et al. 2014). ROH (runs of homozygosity), úseky DNA, kde jsou obě alely u daného lokusu identické, byly analyzovány v PLINK pomocí 34 K datového souboru. Znamená to, že výzkumníci použili program PLINK, což je nástroj pro genetickou statistiku, k analýze datového souboru obsahujícího 34 tisíc SNP (jednonukleotidových polymorfismů). Tento soubor dat jim umožnil prozkoumat ROH v rámci psího genomu. Výsledky byly vizualizovány na autozomálních chromozomech pro každou ze čtyř skupin, což umožnilo porovnat genetické rozdíly mezi skupinami a chromozomy. To umožnilo výzkumníkům porovnat, jak se ROH rozložily mezi různými skupinami psů, a identifikovat genetické rozdíly mezi nimi (Melis et al. 2022). Podle studie od (Stronen et al. 2017) ROH, které byly společné pro všechny jedince v populaci lundehundů, pokrývaly zhruba dvě třetiny jejich genomu. To je výrazný kontrast oproti ostatním plemenům, kde byly tyto ROH mnohem méně časté nebo zcela chyběly. IBD (identity by descent, neboli identita podle původu) je míra genetické podobnosti mezi jedinci, a u lundehundů byly hodnoty IBD velmi vysoké, což naznačuje výraznou genetickou podobnost uvnitř tohoto plemene. Naopak, u buhundů a islandských ovčáků byly hladiny IBD nižší a u norbotenského špice byly nejnižší, což ukazuje na větší genetickou rozmanitost v těchto plemenech. Když se zkoumaly ROH sdílené všemi jedinci v rámci plemene, bylo u lundehundů nalezeno 134 takových úseků, zatímco u islandského ovčáka jen dva a u buhundů a norbotenského špice žádné. I když byly brány v úvahu ROH sdílené dvěma třetinami jedinců v plemeni, počet zůstal stejný pro lundehundy, ale u islandského ovčáka a buhunda byly pozorovány ROH v počtu 40, respektive 32. Zajímavé je, že mezi distribucí ROH a odlehlými lokusy, které mohou indikovat oblasti pod selekčním tlakem, nebyl zjištěn žádný přímý vztah. Tento nálezný naznačuje, že přítomnost ROH nemusí nutně korelovat s oblastmi genomu ovlivněnými přirozeným výběrem (Stronen et al. 2017).

Plemeno norbotenský špic vykazuje větší genetickou variabilitu, a tudíž nižší F_{ST} hodnoty ve srovnání s lundehundy. Proto by měly být odhady F_{ST} interpretovány s opatrností. V předběžných analýzách se norbotenský špic ukázal být geneticky odlišnější od lundehunda než ostatní plemena, jako jsou buhund a islandský ovčák. Tato zjištění naznačují, že genetická vzdálenost mezi lundehundy a norbotenskými špici je srovnatelná s vzdáleností mezi lundehundy a ostatními plemeny špiců (Stronen et al. 2017).

Byly zjištěny významné pozitivní i negativní korelace ve frekvenci alel, napříč celým genomem. Pozitivní korelace mohou naznačovat, že mezi lundehundy a ostatními plemeny existuje selekce pro podobné vlastnosti, zatímco negativní korelace mohou ukazovat na rozdílný výběr nebo náhodné genetické změny, známé jako genetický drift. Byly identifikovány oblasti, kde se geny mezi lundehundy a ostatními plemeny výrazně liší, zejména na chromozomu 14 a chromozomu X. Tyto oblasti mohou být důležité pro určité rysy, které jsou specifické pro daná plemena. Na některých chromozomech, jako jsou 12 a 21, byla zjištěna velmi omezená genetická variabilita, což naznačuje menší rozmanitost genů v těchto oblastech. Když byly analýzy provedeny bez zahrnutí lundehundů, byly opět nalezeny významné korelace, což ukazuje, že genetická variabilita mezi plemeny je složitá a rozmanitá. Analýzy také odhalily rozsáhlé oblasti, kde lundehundi nemají žádnou alelickou diverzitu ve srovnání s ostatními

plemeny, což může naznačovat oblasti, kde lundehundi mají méně genetických variant (Stronen et al. 2017).

Výzkum od (Melis et al. 2022) se zaměřil na porovnání genetické rozmanitosti mezi lundehundy a buhundy, přičemž předpokládali nižší rozmanitost u lundehundů. Zjistili, že průměrná pozorovaná heterozygotnost (H_o) se lišila mezi skupinami, s nejnižší hodnotou u lundehundů (0,043) a nejvyšší u první generace kříženců (F1) s hodnotou 0,272. Hodnota mediánu H_o byla nulová pro lundehundy a druhou generaci kříženců (F2), což naznačuje, že více než polovina lokusů u těchto skupin byla homozygotní. Na druhou stranu, první generace kříženců (F1) a buhundi měli medián větší než nula, což ukazuje na vyšší heterozygotnost. Jsou také známi hodnoty šikmosti a špičatosti distribuce H_o , které byly pozitivní pro všechny skupiny, s nejvyššími hodnotami u lundehundů. To naznačuje, že distribuce genetické variability byla u lundehundů nejvíce nerovnoměrná. Kumulativní distribuční křivky heterozygotnosti pro 8182 lokusů odhalily výrazné rozdíly mezi skupinami. Buhundi měli nejvyšší heterozygotnost, kvůli menšímu počtu homozygotních lokusů. Lundehundi naopak vykazovali nejnižší heterozygotnost. Zajímavé je, že buhundi měli méně než 1000 homozygotních lokusů, zatímco lundehundi více než 7000 (Melis et al. 2022).

16 Genetické choroby

Udržení široké a rozmanité genetické základny může významně snížit prevalenci genetických poruch u psích plemen. Alely, které negativně ovlivňují zdraví, jsou přirozeně přítomny v každé populaci, ale díky přirozenému výběru se vyskytují jen zřídka. Avšak pokud dojde k poklesu genetické variability, může dojít k nárůstu frekvence těchto škodlivých alel, což vede k náhlému výskytu genetických onemocnění. V malých populacích je proto obtížné řídit genetické poruchy prostřednictvím testovacího screeningu. Odstraněním postižených jedinců z chovu navíc nechtěně snižujeme efektivní velikost populace a tím i genetickou rozmanitost, což může mít další negativní dopady na zdraví populace (Melis et al. 2022).

16.1 Polydaktilie

Polydaktilie je vrozená deformita končetiny, která se vyskytuje u lidí i zvířat. „Polydaktylie je vrozená přítomnost jednoho nebo více nadbytečných prstů. Tento nadbytečný prst často neobsahuje plný počet kostí“ (Paryani 2015). Obvykle se vyskytuje izolovaně, ale vzácně může být spojena s genetickými syndromy. Polydaktylie se dělí na tři typy podle umístění duplikovaných prstů. Postaxiální polydaktylie: U psů se často vyskytuje na zadních končetinách a může zahrnovat nadbytečné prsty na ulnární straně tlapky (vnitřní strana). Preaxiální polydaktylie: Tento typ postihuje přední končetiny a může zahrnovat nadbytečné prsty na radiální straně tlapky (vnější strana). Centrální polydaktylie: Je méně častá a může zahrnovat nadbytečné prsty uprostřed tlapky (Comer et al. 2018).

Preaxiální polydaktylie (PPD) je genetická porucha, při které se u lidí i myši vyvíjí nadbytečné prsty kvůli změnám v genetickém kódu, který řídí vývoj končetin. Tato porucha je spojena s genem *LMBR1*, který je důležitý pro správný vývoj končetin. U psů byla tato porucha lokalizována na chromozomu CFA16 a je způsobena změnami v určité části genu *LMBR1*.

Tyto změny zvyšují aktivitu genu v oblastech, kde se vyvíjejí končetiny. Toto bylo zjištěno u některých korejských a západních plemen psů (Kropatsch et al. 2015). Vědci analyzovali vzorky DNA od 20 psů plemene lundehund a 4 zdravých psů plemene Schapendoes, kteří neměli PPD, aby porovnali rozdíly v genetickém kódu. Zvláštní pozornost byla věnována fragmentu genu LMBR1, který obsahuje oblast zodpovědnou za PPD. Byly identifikovány dvě specifické mutace (DC-1 a DC-2), které jsou spojeny s PPD u korejských a západních plemen psů (Kropatsch et al. 2015).

Tuto abnormalitu můžeme považovat za charakteristický znak plemene lundehund. Předmětem mnoha studií je zjištění, zda může s polydaktilií souviset více genetických poruch. Zatím tato teorie ale nebyla dokázána (Kropatsch et al. 2015). „Polydaktilie byla zkoumána napříč taxony z hlediska možných negativních účinků na zdraví a vývoj obratlovců prostřednictvím pleiotropních účinků, kdy jeden gen ovlivňuje dva nebo více zdánlivě nesouvisejících fenotypových znaků. V analýze běhů homozygotnosti (ROH) u lundehunda uvedli dva geny, BMPR1B na chromozomu 32 a PRRX2 na chromozomu 9, které byly dříve hlášeny jako asociované s polydaktylií u myší. Kromě toho byla intronová mutace v preZRS genu LMBR1 na chromozomu 16 implikována v polydaktylii u několika plemen psů včetně lundehunda“ (Kropatsch et al. 2015). „Po křížení s jinými plemeny někteří potomci pravděpodobně nebudou nést tuto vlastnost. Přenašeči a nepřenašeči pak mohou být v průběhu času porovnání, aby se zjistilo, zda tato vlastnost, dříve ceněná pro lov, nyní může představovat náklady, např. ve formě sníženého přežití, pro plemeno a jeho dlouhodobou ochranu“ (Stronen et al. 2017).

16.2 Lundehund syndrom

Různé aspekty, jako jsou výživa, kontakt s bakteriemi v raných fázích vývoje, způsob života, zdravotní kondice a genetické predispozice hostitele, mají vliv na složení střevního mikrobiomu zvířat (Melis et al. 2023). Některá onemocnění, která se vyskytují u lidí a psů, jako je zánětlivé onemocnění střev, včetně Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy, jsou charakterizována nerovnováhou střevní mikroflóry. Tento stav, známý jako dysbióza, se projevuje přemnožením škodlivých bakterií a ztrátou prospěšných bakterií nebo snížením jejich rozmanitosti, což je také označováno jako snížená alfa diverzita (DeGruttola et al. 2016). Norský lundehund má sklony k syndromu zahrnujícímu několik specifických gastrointestinálních problémů, známých jako Lundehundův syndrom. Tento syndrom zahrnuje onemocnění jako je enteropatie se ztrátou proteinů (PLE-protein-losing enteropathy), střevní lymfangiektázie a další zánětlivé střevní nemoci, které vedou k malabsorpci (Metzger et al. 2016). Norský lundehund, který trpí gastroenteropatií, může mít různé symptomy. Tyto mohou zahrnovat občasný průjem, zvracení, ztrátu hmotnosti, letargii, nahromadění tekutiny v břišní dutině známé jako ascites, a otoky pod kůží, obvykle na zadních nohou. Kromě těchto viditelných příznaků existují také důkazy, že mnoho lundehundů může trpět subklinickou formou onemocnění, což znamená, že mají zdravotní problémy, které nejsou ihned zjevné. Toto subklinické onemocnění je mezi lundehundy poměrně běžné (Berghoff et al. 2007). „Lundehundův syndrom je navíc akutní život ohrožující onemocnění, které vyžaduje okamžitou léčbu protizánětlivými léky a antibiotiky“ (Melis et al. 2023). Podobné zdravotní problémy byly

pozorovány u plemen jako Soft Coated Wheaten Terrier, které trpí podobnými imunitními a gastrointestinálními poruchami. U některých plemen, jako jsou rotvajleři a jorkšířští teriéři, byl také zaznamenán zvýšený výskyt PLE. U basenji a německých ovčáků byly zjištěny případy těžké lymfocytárně-plazmocytární enteritidy, což je stav charakterizovaný nadměrným výskytem zánětlivých buněk ve střevech, což může vést k nízkým hladinám albuminu a globulinu v krvi. U německých ovčáků bylo navíc zjištěno, že jejich zánětlivé střevní onemocnění může mít složitou příčinu s různými genetickými faktory, které připomínají Crohnovu chorobu u lidí (Metzger et al. 2016). I když někteří norští lundehundi nemají žádné zjevné příznaky gastrointestinálních (GI) onemocnění, průzkumy ukázaly, že mnoho zdánlivě zdravých jedinců má abnormality v GI traktu. Tyto problémy se mohou projevit v ústech a tenkém střevě, přičemž největší změny jsou obvykle blíže k žaludku. U lundehundů byly pozorovány makroskopické změny jako je otok pod sliznicí, eroze sliznice a ztlustění stěny žaludku způsobené tvorbou šedobílé tkáně. U všech zkoumaných lundehundů byla zjištěna gastritida, což je zánět žaludeční sliznice (Berghoff et al. 2007). Na základě jisté studie, která zkoumala mikrobiom čistokrevných psů plemene lundehund ve srovnání s první a druhou generací křížení s buhundem bylo zjištěno, že stav známý jako Lundehundův syndrom je spojen s dysbiózou, což je nerovnováha v mikrobiomu podobná té, která se vyskytuje u lidí a psů trpících zánětlivým onemocněním střev (IBD). U lundehundů s tímto syndromem byl zaznamenán vyšší poměr F/B, což je poměr mezi Firmicutes a Bacteroidetes, dvěma hlavními skupinami bakterií ve střevním mikrobiomu. U lidí a psů s Crohnovou chorobou, což je typ IBD, byl naopak pozorován nižší poměr F/B. Tento rozdíl může být ovlivněn řadou faktorů, včetně genetických a environmentálních rozdílů mezi psy a lidmi. Výzkum také naznačuje, že nekonzistence v mikrobiomu čistokrevných lundehundů může být způsobena ztrátou určitých genetických lokusů, které jsou důležité pro stabilní kolonizaci mikrobiomu. Křížením s Buhundy u první a druhé generace psů (F1 a F2) bylo možné tyto genetické lokusy znovu získat, což vedlo ke stabilnějšímu střevnímu mikrobiomu. Budoucí výzkum, který propojí charakteristiky mikrobiomu s genetickými markery na úrovni jednotlivých jedinců, by mohl pomoci objasnit, jaké mechanismy stojí za specifickým složením střevního mikrobiomu u obratlovců (Minamoto et al. 2015; Melis et al. 2023).

U gastroenteropatie norských lundehundů se léčba zaměřuje na zmírnění příznaků, jelikož zatím nebyla objevena přesná příčina, kterou by bylo možné léčit. Neexistuje univerzální léčebný plán, který by vyhovoval všem jedincům, protože každý pes může na různé léčebné metody reagovat jinak. Navíc, u lundehundů nebyly provedeny žádné vědecké studie, které by testovaly různé léčebné postupy, takže nejsou k dispozici žádné statistické údaje o úspěšnosti léčby nebo o pravděpodobnosti uzdravení (Berghoff et al. 2007).

17 Genetická záchrana

„Genetická záchrana nemusí zachránit ohrožené populace v dlouhodobém horizontu, ale může získat čas zlepšením kondice a zvýšením velikosti populace v krátkodobém horizontu“ (Whiteley et al. 2015). Definice genetické záchrany spočívá ve zvyšování genetické variability malých izolovaných populací spontánně nebo člověkem pomocí zavedení nových členů do reprodukce konkrétní populace. Tato metoda má pozitivní vliv jak u volně žijících

druhů, tak u domácích zvířat. Při dlouhodobém užívání metody se zde však objevují rizika v podobě přemnožení (Melis et al. 2022). „Přestože jsou plemena psů domácích (*Canis lupus familiaris*) srovnatelná s malými a uzavřenými populacemi s vysokou frekvencí genetických poruch specifických pro dané plemeno, genetická záchrana křížením s jedinci jiného plemene není mezi chovateli zažitou praxí“ (Melis et al. 2022). Když je populace v nebezpečí vyhynutí, může být její jedinou šancí na přežití křížit se s jinými jedinci stejného nebo podobného druhu. Tento proces může mít své výhody a nevýhody, které se projeví na změnách v jejich fyzických a behaviorálních vlastnostech a jejich přizpůsobení se prostředí, stejně jako na zvýšení genetické rozmanitosti a snížení míry příbuzenského křížení. Tyto změny by mohly být prospěšné, když je alternativou nedělat nic a riskovat zánik. Proto se genetická záchrana jeví jako nejlepší možnost pro plemena, která mají malou genetickou variabilitu a velkou míru příbuzenského křížení (Stronen et al. 2017).

Výzkum genetického příspěvku zakladatelů a předků v populaci psů plemene lundehund ukazuje, že z původních 49 zakladatelů, když se počítá i zvíře s jedním neznámým rodičem jako poloviční zakladatel, bylo ve skutečnosti 43,5 zakladatelů. Z těchto zakladatelů jen 11 mělo potomky, kteří přispěli ke genetickému materiálu poslední generace v roce 2015. Nejvíce přispěl jeden samec s 10 potomky z 60. let, který představuje 35 % genetického materiálu v této generaci. Největší příspěvek však měla jedna fena, také z 60. let, s 18 potomky, která přispěla 41 % genetického materiálu. Tito dva předci dohromady představují 76 % genetické variability u jedinců narozených v první polovině roku 2015, což znamená, že většina genů v této generaci pochází právě od nich. Od roku 1996 se míra inbreedingu v populaci pohybuje stabilně mezi 36 a 38 %, s výjimkou dvou případů, kdy došlo k mírnému snížení na 34 % díky importu a použití jiných plemen. Trendy inbreedingu od 70. let ukazují, že se očekávané a skutečné hodnoty příliš neliší, což naznačuje, že snaha o vyhýbání se páření blízkých příbuzných neměla významný dopad na snížení míry inbreedingu vzhledem k tomu, že většina chovných jedinců má stejné předky (Kettunen et al. 2017).

Lundehundi mají velmi malou genetickou rozmanitost, což potvrdily molekulární genetické analýzy. (Melis et al. 2013) zjistili, že pozorovaná heterozygotnost je 0,075 pro 26 mikrosatelitních lokusů v norské populaci lundehundů. (Pfahler & Distl 2014) použili SNP markery (jednonukleotidový polymorfismus) a zjistili, že pozorovaná heterozygotnost je 0,047 a FIS- koeficient příbuznosti (0,87) je vysoký, což svědčí o tom, že jedinci jsou si velmi příbuzní (Kettunen et al. 2017). Podle jiné studie je pozorovaná heterozygotnost u norského lundehunda odhadnuta na 0,036-0,038 (Kropatsch et al. 2015). Když se to porovná s pěti dánskými plemeny psů, jejichž heterozygotnost byla odhadnuta na 0,27 až 0,36, je rozdíl zřejmý. Stejně tak nedávno provedená studie ukázala, že lundehund má mnohem menší genetickou diverzitu než tři další plemena severských špiců: norský buhund, islandský ovčák a norbotenský špic (Kettunen et al. 2017). Křížení lundehundů s geneticky zdravými jedinci z podobných plemen by mohlo vést k posílení genetické rozmanitosti a zlepšení celkového zdraví a pohody těchto psů. Strategický výběr zdravých kříženců by mohl přinést bezprostřední pozitivní efekty. Navíc, rozšíření genové základny by mohlo usnadnit vědcům identifikaci genů odpovědných za gastroenteropatii, což je nyní komplikované kvůli fixaci určitých alel

spojených s touto nemocí v populaci (Stronen et al. 2017). V současnosti se provádí křížení a chov s těmito třemi vybranými plemeny. „Norský klub lundehundů, organizace zodpovědná za chov a ochranu lundehundů, zahájil projekt křížení s cílem zlepšit zdraví a pohodu populace. Zejména je důležité snížit riziko rozvoje střevní lymfangiektázie a zlepšit plodnost, aniž by bylo ohroženo zachování charakteristických vlastností plemene. Norský Kennel Club, hlavní organizace chovatelských organizací, udělil povolení ke křížení tří fenotypově podobných plemen do lundehunda: norského buhunda, islandského ovčáka a norbotenského špice. Do dnešního dne bylo provedeno pouze několik pokusů o křížení a pouze dvě z těchto krytí vedla k vrhům“ (Kettunen et al. 2017). Tři kandidátská plemena, která byla vybrána norským Lundehund Clubem pro křížení, byla zvolena na základě morfolgie, chování, společné historie a předpokládané vysoké genetické příbuznosti s lundehundem (Stronen et al. 2017).

V rámci chovatelského programu je záměrem uchovat křížence tří různých plemen psů jako oddělené linie, každou s vlastní plemennou knihou. Tyto linie budou monitorovány po několik generací, než se rozhodne o jejich začlenění do populace norských lundehundů a zápisu do hlavní plemenné knihy (Melis et al. 2022). Správa malých populací zvířat se snaží udržet jejich genetickou rozmanitost a zároveň zlepšovat jejich genetické vlastnosti. Metoda zvaná Optimální výběr příspěvků (OCS-Optimal contribution selection) pomáhá dosáhnout těchto cílů tím, že určuje, jak moc by měl každý jedinec přispět k další generaci, aby se zvýšila celková genetická kvalita, aniž by se příliš zvyšovalo příbuzenství mezi nimi. Tato metoda je efektivní i v náročných podmínkách, kde existují různá omezení, a dokáže zajistit genetický pokrok. U populací, které jsou chráněny z důvodů zachování druhu, se při výběru jedinců pro chov bere v úvahu hlavně to, jak jsou si geneticky podobní, aby se zachovala jejich genetická jedinečnost (Kettunen et al. 2017). Metoda Optimální výběr příspěvků (OCS) s omezeními může dosáhnout podobných genetických zisků jako neomezený OCS, pokud omezení nevyhloučí nejlepší možné výsledky. V situacích, kde nelze OCS plně využít kvůli různým omezením, nabízí OCS s omezeními flexibilní a efektivní řešení, které se dá přizpůsobit specifickým potřebám chovatelských programů (Henryon et al. 2015). Změna pravidel pro maximální počet páření na jednoho samce vedla k výběru samců s nejnižší mírou příbuznosti s potenciálními partnery. Při limitu deseti páření na samce byli vybráni jen dva samci narození v roce 2014. S omezením na jedno páření na samce byla průměrná příbuznost mezi vybranými samci a partnery 72 %, oproti 77 % mezi všemi možnými páry. Při povolení pěti nebo deseti páření na samce klesla tato průměrná příbuznost na 64 %, respektive 38 %. Větší počet povolených páření na samce také vedl ke zkrácení generačního intervalu díky častějšímu využívání mladších samců (Kettunen et al. 2017). Psi vybraní pro tento projekt museli splňovat zdravotní standardy stanovené Norským kynologickým klubem (NKK), a každý kříženec mezi lundehundem a buhundem musel být schválen NKK. Vzhledem k tomu, že buhundi jsou větší než lundehundi, první generace kříženců byla vytvořena spářením buhundi matky s lundehundím otcem. Buhundi matky musely splňovat specifické zdravotní požadavky, včetně hodnocení dysplazie kyčelního kloubu stupně A nebo B, luxace česky stupně 0, absence dědičných očních poruch, přátelské povahy a celkově dobrého zdravotního stavu potvrzeného zdravotním průkazem. Lundehundí otcové museli splňovat stejné požadavky s výjimkou hodnocení dysplazie kyčelního kloubu. Mimo tyto podmínky měli také oba prokázat

reprodukční schopnost, a to na základě předchozích vrhů. První dvě generace kříženců mezi lundehundem a buhundem se narodily v roce 2014, a jejich potomci byli následně vraceni do linie lundehundů. Před zařazením do chovného programu byli tito kříženci podrobeni důkladnému hodnocení zdravotního stavu, morfologie a chování ve věku dvou let týmem odborníků, včetně certifikovaného rozhodčího. Dále byli vyšetřeni na dysplazii kyčelního kloubu, luxaci česky a dědičné oční choroby veterinářem akreditovaným NKK, jelikož tyto zdravotní problémy jsou známy u buhundů. Na rozdíl od nich lundehundi obvykle těmito problémy netrpí a NKK nevyžaduje pro jejich chov genetické testy, což napomáhá zachování genetické rozmanitosti. Jakýkoliv jedinec s vážnými behaviorálními problémy, jako je strach nebo agrese, nebo s vážnými zdravotními problémy, jako je monorchismus nebo pokročilá dysplazie kyčelního kloubu, je z chovného programu vyloučen (Melis et al. 2022). „Vlivem extrémně vysoké příbuznosti samotná OCS neumožní žádné zlepšení současné situace u lundehunda. To bylo jasně prokázáno invariantními řešeními OCS v regionech (globálně, severské země, Norsko). Pokud byli kříženci vyloučeni jako kandidáti na chov, nebylo dosaženo žádných příznivých změn v příbuznosti nezávisle na počtu povolených páření na jednoho samce“ (Kettunen et al. 2017).

Křížení mezi plemeny s vysokou mírou příbuzenské plemenitby, jako jsou norský buhund a islandský ovčák, může přinést krátkodobé genetické výhody. Přestože tyto plemena mají nižší genetickou variabilitu než norbotenský špic, křížení může zvýšit genetickou diverzitu a zlepšit zdraví potomstva. Výběr vhodných jedinců pro další chov by měl zohlednit různé charakteristiky, jako jsou morfologie a zdravotní stav, které se mohou lišit i mezi sourozenci. Navíc, i když byl původní záměr křížit hybridy zpět do lundehundů, další kombinace křížení mezi hybridy by mohla být uvažována, pokud by to přineslo další přínosy (Heber et al. 2013; Stronen et al. 2017).

Mezi hlavní důvody nezájmu chovatelů plemen psů praktikovat tuto metodu patří obavy z kontaminace čistoty plemene, ztráta specifických fenotypových rysů pro dané plemeno a riziko začlenění „nových“ genetických chorob od jiných plemen psů, což způsobí nežádoucí introgrese škodlivých alel. Stručně řečeno, pokud bude u plemene velký rozmanitý genofond, bude méně genetických poruch. Když se sníží genetická variabilita, je vyšší frekvence výskytu negativních alel a větší šance výskytu genetických poruch v genofondu. Možným řešením problému s vyřazením negativních alel z populace je vyřazení konkrétních členů, to ale může způsobit snížení počtu jedinců účastnících se reprodukce a tím narušení efektivní velikosti populace a genofondu (Melis et al. 2022). „Jedním z důležitých omezení programů outcrossingu pro malé populace, jak odhalily počítačové simulace různých šlechtitelských schémat, je to, že outcrossing následovaný zpětným křížením s původní populací může poskytnout pouze krátkodobý záchranný efekt, pokud se outcrossing nepřetržitě opakuje. To je také podpořeno dobře zdokumentovanými příklady genetické záchrany v malých a izolovaných populacích volně žijících živočichů, jako jsou vlci (*C. lupus*) v Isle Royal a lišky ostrovní (*Urocyon littoralis*)“ (Melis et al. 2022).

18 Diskuze

Norský lundehund patří do skupiny FCI V, mezi špice a primitivní plemena, a je zařazen do sekce 2, která zahrnuje severní lovecké psy bez požadavku na zkoušku výkonu. Jedná se o velmi vzácné a ohrožené plemeno psa s výjimečnými anatomickými rysy (FCI 2012). Pochází ze severu Norska z ostrova Væroy. Norský lundehund je známý díky svým anatomickým zvláštnostem, které mu usnadňovaly lov papuchalků na strmých skalách a život v tomto prostředí (Melis et al. 2022). Stáří plemene se odhaduje na více než 400 let. Během let 1942-1943, v důsledku 2. světové války a epidemie psinky, došlo k drastickému poklesu počtu jedinců norského lundehunda, přičemž zůstalo pouze přibližně 50 jedinců.

V tomto případě se informace z dostupných zdrojů rozcházejí. Studie z roku 2013 říká, že současná populace vznikla z pěti jedinců, kteří měli společnou babičku a tři měli společnou matku (Melis et al. 2013). (Bergvall a Shokrai 2014) uvádějí, že současná populace vznikla z šesti zbývajících členů, z nichž pět mělo společnou matku a odhaduje se, že v současnosti existuje přibližně 1500-2000 jedinců. Podle nejnovější studie od (Stronen et al. 2017) vznikla současná populace ze dvou členů. Studie od (Kettunen et al. 2017) tvrdí, že ztráta genetické diverzity u norského lundehunda vedla ke snížené variabilitě v barvě srsti, problémům s plodností a zvýšenému výskytu střevních onemocnění. Studie uvedla 43,5 zakladatelů z nichž 11 mělo potomky, kteří přispěli ke genetickému materiálu v této generaci. Značně přispěl jeden samec s deseti potomky z 60. let, což představuje 35 % genetického materiálu v této generaci, ale více potomky přispěla fena z 60. let s osmnácti potomky, kteří představují 41 % genetického materiálu. (Melis et al. 2013) stanovili koeficient příbuzenské plemenitby na hodnotu 0,003 pro všechny testované lokusy. Podle studie od (Pfahler a Distl 2014) byl koeficient inbreedingu 0,87 na základě 26 mikrosatelitních lokusů genotypovaných u 125 jedinců lundehundů. Analýza odhalila, že 38,8% genetické variace původní populace bylo ztraceno. V záznamech z roku 2014 byl průměrný koeficient příbuznosti mezi jedinci 35,6 % a míra příbuzenské plemenitby byla 33,9. Roční nárůst příbuzenské plemenitby byl odhadnut na 1 % (Kettunen et al. 2017). Podle informací z nejnovější studie od (Melis et al. 2022) se prokázalo, že lundehund vykazuje známky útlumu příbuzenské plemenitby sníženou plodností kvůli malé velikosti vrhu, problémy s pářením a nízkou kvalitou spermií. Dle této studie byla efektivní velikost populace odhadnuta na $N=13$ na základě údajů o původu a $N=28$ na základě molekulárních markerů. (Pfahler a Distl 2014) určili, že se během posledních 1000 generací snížila efektivní velikost populace z 24,7 na 13,4 po 800 generacích.

Pro genotypizaci se běžně využívají jednonukleotidové polymorfismy, známé také jako SNP analýza. Na základě výsledků při použití speciálních softwarů se u norského lundehunda potvrdila nízká genetická variabilita. Mezi důležité způsoby analýzy patří také genealogická analýza založená na informacích z rodokmenů, kdy se konkrétně u lundehundů od 90. let do dnes rozšířila hloubka rodokmenu na 19 generací (Kropatsch et al. 2015). Konkrétní analýza genetické diverzity byla popsána ve studii od (Melis et al. 2013), kde byl srovnán Nova Scotia Duck Tolling Retriever a norský lundehund. Proces genotypizace ukázal, že většina markerů byla v HW rovnováze, což odpovídá očekávanému modelu bez vlivu evolučních sil. U norského lundehunda bylo identifikováno dvanáct homozygotních markerů a čtrnáct heterozygotních markerů. Naproti tomu u Nova Scotia Duck Tolling Retrievera (tollera) byly všechny testované markery heterozygotní. Průměrný počet alel na lokus byl u lundehunda

1,731, zatímco u tollera to bylo 4,269. Tato data naznačují, že toller má vyšší genetickou variabilitu než lundehund. Alelická bohatost činila u tollera 3,828 a u lundehunda pouze 1,313. U těchto dvou plemen byla také porovnána pozorovaná a očekávaná heterozygotnost. U lundehundů se oba typy rovnaly 0,075 pro 26 mikrosatelitních lokusů a u tollera se pohybovaly od 0,554-0,568. Pro srovnání měla jiná plemena heterozygotnost 0,62 a alelickou bohatost 4,6 (Melis et al. 2013).

V rámci záchranného projektu vznikla studie od (Stronen et al. 2017), kde bylo hlavním předmětem zachránit toto plemeno křížením s norským buhundem, islandským ovčákem a norbotenským špicem. Na základě hodnot IBD (identita podle původu), bylo zjištěno, že míra podobnosti mezi lundehundy je velmi vysoká. U norských buhundů a islandských ovčáků je míra podobnosti nižší a u norbotenských špiců nejnižší. Byly zjištěny pozitivní a negativní korelace ve frekvenci alel napříč celým genomem. Pozitivní korelace prokázala, že mezi lundehundy a ostatními plemeny existuje selekce pro podobné vlastnosti. Negativní korelace mohou znamenat rozdílný výběr a genetický drift. Analýzy jiných plemen, než je norský lundehund, odhalily významné genetické korelace, což ukazuje na komplexní a rozmanitou genetickou variabilitu mezi těmito plemeny. Naproti tomu u norského lundehunda byly identifikovány rozsáhlé oblasti genomu s nízkou nebo žádnou alelickou diverzitou ve srovnání s ostatními plemeny. Studie od (Melis et al. 2022) se v rámci záchrany plemene rozhodla podrobně rozebrat křížení lundehunda s norským buhundem a s jejich potomky. Byla potvrzena vysoká genetická rozmanitost mezi lundehundy a buhundy. U buhundů byla zjištěna nejvyšší heterozygotnost a nejmenší počet homozygotních lokusů (1000). Lundehund vykazoval nejnižší heterozygotnost a nejvyšší počet homozygotních lokusů (7000). Heterozygotnost pozorovaná u norských lundehundů dosáhla hodnoty 0,043, zatímco u potomků první generace (F1) se tato hodnota zvýšila na 0,272, přičemž více než polovina zkoumaných lokusů byla homozygotní. (Melis et al. 2022).

Cílem chovatelského programu bylo uchovat křížence tří různých plemen jako oddělené linie, každá s vlastní plemennou knihou. Smyslem bylo udržení rozmanitosti a zlepšení genetických vlastností. Je důležité, aby každý jedinec přispíval k následující generaci s cílem zlepšit genetickou kvalitu populace, přičemž je nutné dbát na to, aby nedocházelo k nadměrnému zvyšování míry příbuznosti. Tento výběr zajišťuje OCS (optimální výběr příspěvků). Každý kříženec mezi lundehundem a buhundem musel být schválen NKK (Norským kynologickým klubem. Vzhledem k tomu, že buhundi jsou větší než lundehundi, preferovalo se páření buhundských fen s lundehundskými psy. Kandidáti pro křížení museli splňovat specifická zdravotní kritéria. Mezi ně patřila dysplazie kyčelního kloubu A nebo B, luxace česky stupně nula, absence dědičných poruch, dobrá reprodukční schopnost, přátelská povaha a celkově dobrý zdravotní stav. První generace kříženců, která se narodila v roce 2014, byla začleněna do plemenné linie lundehundů, což představovalo významný krok v ochraně a zachování tohoto plemene. Pro zvýšení genetické variability a snížení výskytu dědičných nemocí, které jsou výsledkem vysokého stupně příbuznosti, se doporučuje křížení norského lundehunda s pečlivě selektovanými plemeny. Tato strategie by měla přinést zlepšení biologické odolnosti lundehundů, přičemž by se měly uchovat jejich jedinečné charakteristiky a schopnost adaptace prostřednictvím přirozeného výběru (Kettunen et al. 2017; Melis et al. 2022; Stronen et al. 2017).

19 Závěr

Norský lundehund, vzácné norské plemeno psů, je ceněný pro svou rekreační a kulturně-historickou hodnotu, ale čelí hrozbě genetického úpadku kvůli vysoké míře příbuzenské plemenitby. Tato situace vede k poklesu biologické odolnosti a vitality. Přestože existují metody jako optimalizovaný chov a outcrossing (OCS), které se snaží genetickou diverzitu zvýšit, bez zavedení genů z jiných plemen se zdá, že tyto snahy nebudou úspěšné. Proto je pro záchranu lundehunda klíčové zahrnutí jedinců z jiných plemen do chovného programu (Kettunen et al. 2017). Lundehund vykazuje známky genetického úpadku, jako je menší počet štěňat ve vrhu a vysoký výskyt určitého syndromu, který může být dědičný a ovlivněn environmentálními faktory, a možná i mutací způsobující polydaktylii. Na rozdíl od jiných plemen, u lundehundů nebyly zaznamenány některé běžné dědičné poruchy, což naznačuje, že genetické úzké místo, kterým plemeno prošlo, mohlo vést k eliminaci některých škodlivých alel. (Melis et al. 2013). V případech, kdy je genetická variabilita v populaci na minimu, představuje migrace jediný způsob, jak do populace vnést nové genetické varianty a umožnit tak její udržitelný rozvoj a selekci. Je nezbytné podniknout okamžité kroky k posílení genetické diverzity u lundehundů. Zavedení jedinců z mezinárodních chovů se jeví jako nejlepší řešení pro zajištění budoucnosti tohoto unikátního plemene (Kettunen et al. 2017). Je doporučeno křížení lundehunda s pečlivě vybranými plemeny, aby se zvýšila genetická variabilita a snížila frekvence dědičných onemocnění, která je důsledkem vysoké míry příbuznosti uvnitř plemene. Tento postup by měl přispět k lepší biologické odolnosti lundehundů, zatímco by se měly zachovat jejich specifické vlastnosti a schopnost adaptace na přirozený výběr (Stronen et al. 2017). V rámci této genetické záchrany byly vybrány konkrétní plemena psů, jednalo se o islandského ovčáka, norbotenského špice a norského buhunda. Křížení mezi druhou generací (F2) psů z tří různých plemen, která jsou součástí našeho křížícího projektu, měl za cíl zvýšit a zachovat genetickou diverzitu. Důkladné posouzení fenotypů, které z těchto křížení vzejde, zejména s důrazem na Lundehund syndrom, by mohlo přispět k identifikaci genů spojených s touto chorobou. To by nám umožnilo selektivně vybírat žádoucí genetické varianty pro chovatelské programy (Melis et al. 2022)

20 Literatura

- Bekaert B, Larmuseau MHD, Vanhove MPM, Opdekamp A, Decorte R. 2012. Automated DNA extraction of single dog hairs without roots for mitochondrial DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics* **6**:277–281.
- Berg P, Nielsen J, Sørensen MK. 2006. EVA: Realized and predicted optimal genetic contributions.
- Berghoff N, Ruaux CG, Steiner JM, Williams DA. 2007. Gastroenteropathy in Norwegian Lundehunds. *COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTISING VETERINARIAN-NORTH AMERICAN EDITION-* **29**:456. VETERINARY LEARNING SYSTEMS CO., INC.
- Bergvall KE, Shokrai A. 2014. Clinical and histological characterization of multifocal, spontaneous, noninfectious alopecia in Norwegian puffin dogs (lundehunds). *Veterinary Dermatology* **25**:112.
- Braude S, Low BS, editors. 2010. 12. Conservation of Small Populations: Effective Population Sizes, Inbreeding, and the 50/500 Rule. Pages 125–138 *An Introduction to Methods and Models in Ecology, Evolution, and Conservation Biology*. Princeton University Press. Available from <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/9781400835454-017/html> (accessed March 24, 2024).
- Butlin RK. 2005. Recombination and speciation. *Molecular Ecology* **14**:2621–2635.
- Caballero A, Toro MA. 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetics Research* **75**:331–343.
- Carrington M, Cullen M. 2004. Justified chauvinism: advances in defining meiotic recombination through sperm typing. *Trends in Genetics* **20**:196–205. Elsevier.
- Chang ML, Terrill RL, Bautista MM, Carlson EJ, Dyer DJ, Overall KL, Hamilton SP. 2007. Large-Scale SNP Genotyping with Canine Buccal Swab DNA. *Journal of Heredity* **98**:428–437.
- Comer GC, Potter M, Ladd AL. 2018. Polydactyly of the Hand. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons* **26**:75–82.
- Crow JF. 2017. *An introduction to population genetics theory*. Scientific Publishers.
- DeGruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. 2016. Current Understanding of Dysbiosis in Disease in Human and Animal Models. *Inflammatory Bowel Diseases* **22**:1137–1150.
- Dobson FS, Chesser RK, Hoogland JL, Sugg DW, Foltz DW. 2004. The Influence of Social Breeding Groups on Effective Population Size in Black-tailed Prairie Dogs. *Journal of Mammalogy* **85**:58–66.

- FCI. 2012, February 22. NORSKÝ LUNDEHUND (NORSKÝ PAPUCHALČÍ PES). FCI. Available from https://www.cmku.cz/data/plemena_popisy/315_norsky_lundehund.doc.
- Fluck RA, Jaffe MJ. 1975. Cholinesterases from plant tissues. VI. Preliminary characterization of enzymes from *Solanum melongena* L. and *Zea mays* L. *Biochimica Et Biophysica Acta* **410**:130–134.
- Ghafouri-Kesbi F. 2010. Change in genetic size of small-closed populations: lessons from a domestic mammal population. *Genetics and Molecular Biology* **33**:657–662.
- Gutiérrez JP, Altarriba J, Díaz C, Quintanilla R, Cañón J, Piedrafita J. 2003. Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genetics Selection Evolution* **35**:43–63. EDP Sciences.
- Gutiérrez JP, Cervantes I, Molina A, Valera M, Goyache F. 2008. Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genetics Selection Evolution* **40**:359–378. EDP Sciences.
- Harvik R. 2010. Current Breeding status of the Norwegian Lundehund.
- Heber S, Varsani A, Kuhn S, Girg A, Kempnaers B, Briskie J. 2013. The genetic rescue of two bottlenecked South Island robin populations using translocations of inbred donors. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**:20122228. Royal Society.
- Hedhammar ÅA, Indrebø A. 2011. Rules, regulations, strategies and activities within the Fédération Cynologique Internationale (FCI) to promote canine genetic health. *The Veterinary Journal* **189**:141–146.
- Hedrick PW, Andersson L. 2011. Are dogs genetically special? *Heredity* **106**:712–713.
- Henryon M, Ostersen T, Ask B, Sørensen AC, Berg P. 2015. Most of the long-term genetic gain from optimum-contribution selection can be realised with restrictions imposed during optimisation. *Genetics Selection Evolution* **47**:21.
- Hruban V, Majzlík I. 2000. *Obecná genetika*. Česká zemědělská univerzita.
- Jansson M. 2014. Assessing inbreeding and loss of genetic variation in canids, domestic dog (*Canis familiaris*) and wolf (*Canis lupus*), using pedigree data. Department of Zoology, Stockholm University.
- Jeffreys AJ, Kauppi L, Neumann R. 2001. Intensely punctate meiotic recombination in the class II region of the major histocompatibility complex. *Nature Genetics* **29**:217–222. Nature Publishing Group.
- John B. 1973. The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts. *Chromosoma* **44**:123–146.
- Kania-Gierdziewicz J, Pałka S. 2019. Effect of inbreeding on fertility traits in five dog breeds. *Czech Journal of Animal Science* **64**:118–129.

- Kettunen A, Daverdin M, Helfjord T, Berg P. 2017. Cross-Breeding Is Inevitable to Conserve the Highly Inbred Population of Puffin Hunter: The Norwegian Lundehund. *PLOS ONE* **12**:e0170039. Public Library of Science.
- Kropatsch R, Melis C, Stronen AV, Jensen H, Epplen JT. 2015. Molecular Genetics of Sex Identification, Breed Ancestry and Polydactyly in the Norwegian Lundehund Breed. *Journal of Heredity* **106**:403–406.
- Kropatsch R, Streitberger K, Schulte-Middelmann T, Dekomien G, Epplen JT. 2011. On ancestors of dog breeds with focus on Weimaraner hunting dogs. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **128**:64–72. Wiley Online Library.
- Lacy RC. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biology* **8**:111–123.
- Leroy G. 2011. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. *The Veterinary Journal* **189**:177–182.
- Lewis TW, Abhayaratne BM, Blott SC. 2015. Trends in genetic diversity for all Kennel Club registered pedigree dog breeds. *Canine Genetics and Epidemiology* **2**:13.
- Lindblad-Toh K et al. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* **438**:803–819. Nature Publishing Group.
- Luo Z. 1992. Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genetics Selection Evolution* **24**:305–313. EDP Sciences.
- Maignel L, Boichard D, Verrier E. 1996. Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. *INTERBULL bulletin*:49–49.
- Masel J. 2011. Genetic drift. *Current Biology* **21**:R837–R838. Elsevier.
- Melis C, Billing AM, Wold P-A, Ludington WB. 2023. Gut microbiome dysbiosis is associated with host genetics in the Norwegian Lundehund. *Frontiers in Microbiology* **14**. Frontiers. Available from <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2023.1209158/full> (accessed April 15, 2024).
- Melis C, Borg ÅA, Espelien IS, Jensen H. 2013. Low neutral genetic variability in a specialist puffin hunter: the Norwegian Lundehund. *Animal Genetics* **44**:348–351.
- Melis C, Pertoldi C, Ludington WB, Beuchat C, Qvigstad G, Stronen AV. 2022. Genetic Rescue of the Highly Inbred Norwegian Lundehund. *Genes* **13**:163. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Metzger J, Pfahler S, Distl O. 2016. Variant detection and runs of homozygosity in next generation sequencing data elucidate the genetic background of Lundehund syndrome. *Bmc Genomics* **17**:535. Biomed Central Ltd, London.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research* **16**:1215.

- Millstein RL. 2016. Genetic Drift. Available from <https://seop.illc.uva.nl/entries/genetic-drift/#Bib> (accessed March 21, 2024).
- Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, Büyükleblebici O, Steiner JM, Jergens AE, Suchodolski JS. 2015. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* **6**:33–47. Taylor & Francis.
- Mueller JC. 2004. Linkage disequilibrium for different scales and applications. *Briefings in Bioinformatics* **5**:355–364.
- Nicholas FW, Wade CM. 2011. Canine genetics: A very Special Issue. *The Veterinary Journal* **189**:123–125.
- Parker HG, Kim LV, Sutter NB, Carlson S, Lorentzen TD, Malek TB, Johnson GS, DeFrance HB, Ostrander EA, Kruglyak L. 2004. Genetic Structure of the Purebred Domestic Dog. *Science* **304**:1160–1164. American Association for the Advancement of Science.
- Paryani MR. 2015. Syndactyly and polydactyly in a mixed-breed dog. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* **9**. Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran.
- Pfahler S, Distl O. 2014. A massive reduction of the genetic diversity in the Lundehund. *Animal Genetics* **45**:154–154.
- Pfahler S, Distl O. 2015. Effective Population Size, Extended Linkage Disequilibrium and Signatures of Selection in the Rare Dog Breed Lundehund. *PLOS ONE* **10**:e0122680. Public Library of Science.
- Primack RB, Kindlmann P, Jersáková J. 2001. *Biologické principy ochrany přírody* Vyd. 1. Portál, Praha.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, De Bakker PI, Daly MJ. 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics* **81**:559–575. Elsevier.
- Quignon P, Herbin L, Cadieu E, Kirkness EF, Hédan B, Mosher DS, Galibert F, André C, Ostrander EA, Hitte C. 2007. Canine Population Structure: Assessment and Impact of Intra-Breed Stratification on SNP-Based Association Studies. *PLOS ONE* **2**:e1324. Public Library of Science.
- Roff DA. 2012. *Evolutionary quantitative genetics*. Springer Science & Business Media.
- Rousset F. 2008. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* **8**:103–106.
- Schork NJ, Fallin D, Lanchbury JS. 2000. Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical Genetics* **58**:250–264.
- Singh J, Birbian N, Sinha S, Goswami A. 2014. A critical review on PCR, its types and applications. *Int J Adv Res Biol Sci* **1**:65–80.

- Snustad DP, Simmons MJ. 2017. Genetika. Page (Relichová J, editor, Doškař J, Fajkus J, Hořín P, Knoll A, Kuglík P, Šmarda J, Šmardová J, Veselská R, Vyskot B, translators)Druhé, aktualizované vydání. Masarykova univerzita, Brno.
- Stronen AV et al. 2017. Genetic rescue of an endangered domestic animal through outcrossing with closely related breeds: A case study of the Norwegian Lundehund. *PLOS ONE* **12**:e0177429. Public Library of Science.
- Sutter NB, Eberle MA, Parker HG, Pullar BJ, Kirkness EF, Kruglyak L, Ostrander EA. 2004. Extensive and breed-specific linkage disequilibrium in *Canis familiaris*. *Genome research* **14**:2388–2396. Cold Spring Harbor Lab.
- Vaysse A et al. 2011. Identification of Genomic Regions Associated with Phenotypic Variation between Dog Breeds using Selection Mapping. *PLOS Genetics* **7**:e1002316. Public Library of Science.
- Villegas M, Sommarin M, Brodelius PE. 2000. Effects of sodium orthovanadate on benzophenanthridine alkaloid formation and distribution in cell suspension cultures of *Eschscholtzia californica*. *Plant Physiology and Biochemistry* **38**:233–241.
- Vrba ES. 1985. Species and speciation. Development and speciation. Faunal case histories. *Transvaal Museum Monographs* **4**. The Transvaal Museum. Available from https://journals.co.za/doi/abs/10.10520/AJA090799001_79 (accessed April 6, 2024).
- Walters-Conte KB, Johnson DLE, Allard MW, Pecon-Slattery J. 2011. Carnivore-Specific SINEs (Can-SINEs): Distribution, Evolution, and Genomic Impact. *Journal of Heredity* **102**:S2–S10.
- Whiteley AR, Fitzpatrick SW, Funk WC, Tallmon DA. 2015. Genetic rescue to the rescue. *Trends in ecology & evolution* **30**:42–49. Elsevier.
- Wijnrocx K, Janssens S, Buys N. 2014. Effect of dog breed 'varieties' on population genetic structure. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* **79**:206–211. Universiteit Gent.

