

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra genetiky a šlechtění



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Studium genetické diverzity u plemene německý ovčák

Bakalářská práce

Autor práce: Tereza Vaňhová

Obor studia: Chov zájmových zvířat, specializace: Kynologie

Vedoucí práce: prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Studium genetické diverzity u plemene německý ovčák " 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 26.4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala mé rodině za psychickou podporu a babičce za pomoc s gramatickou kontrolou mé práce. Dále bych chtěla poděkovat prof. Luboši Vostrému Ph.D. za odborné vedení, rady i připomínky, a hlavně hladký průběh celého zpracování mé bakalářské práce.

Studium genetické diverzity u plemene německý ovčák

Souhrn

U Německého ovčáka, tak jako u jiných plemen psů došlo od založení plemene k významné ztrátě genetické diverzity. Dnes je převážná většina německých ovčáků alespoň z části inbrední, to znamená že jejich koeficient inbreedingu je vyšší než nula. Například v brazilské populaci bylo před rokem 2010 průměrně 75 % jedinců inbredních, po roce 2010 se poměr inbredních jedinců zvýšil na 96 %. Průměrný koeficient inbreedingu se postupně navyšoval až do roku 2006, od té doby zůstává konstantní nebo dochází k mírnému poklesu v závislosti na konkrétní populaci. Nejnižší průměrný koeficient inbreedingu z vybraných populací byl zjištěn u populace v Austrálii (1,2 %) a nejvyšší v Brazílii (3,8 %). Pozorovaná heterozygotnost napříč studii se pohybovala v rozmezí 0,52 – 0,595, což jsou hodnoty srovnatelné s ostatními plemeny. Hodnoty pozorované heterozygotnosti se pohybovaly v rozpětí od 0,47 u rotvajlera do 0,71 u jorkširského teriéra, pokud budeme brát v úvahu čistokrevné psy. Německý ovčák se pohyboval na spodní hranici pozorované heterozygotnosti mezi plemeny a ve srovnání s kříženci, jejichž průměrné hodnoty pozorované heterozygotnosti byly 0,73 a 0,748 je ztráta genetické diverzity patrná. Co se týče alelové bohatosti byly nejnižší hodnoty pozorovány právě u německého ovčáka (3,7) nejvyšší potom u belgického ovčáka malinois (5,6). V Jižní Africe bylo u kříženců pozorováno dokonce průměrně 9,9 alel na lokus. Efektivní velikosti populace (105 a 250) jsou dostatečné k udržení plemene tak jak je doposud chováno. Díky rozšíření německého ovčáka po celém světě a velké populační základně nejsou dopady ztráty genetické diverzity tak markantní jako u málo početných plemen psů. Přesto je zapotřebí chov německého ovčáka dále monitorovat, aby nedocházelo k nechtěnému nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby a případným genetickým poruchám plynoucích z inbrední deprese.

Klíčová slova: pes, koeficient příbuzenské plemenitby, efektivní velikost populace, genetický drift

Study of genetic diversity in the German Shepherd dog

Summary

The German shepherd, like other dog breeds, has experienced a significant loss of genetic diversity since the breed was founded. Today, the vast majority of German shepherds are at least partly inbred, that means their inbreeding coefficient is higher than zero. For example, in the Brazilian population, before 2010, on average 75 % of individuals were inbred, after 2010, the proportion of inbred individuals increased to 96 %. The average inbreeding coefficient gradually increased until 2006, since then it remains constant or slightly decreases depending on the specific population. The lowest average inbreeding coefficient of the selected populations was found in the population in Australia (1.2 %) and the highest in Brazil (3.8 %). Observed heterozygosity across studies ranged from 0.52 – 0.595, values comparable to other breeds. The values of observed heterozygosity ranged from 0.47 in the Rottweiler to 0.71 in the Yorkshire Terrier, if purebred dogs are considered. The German Shepherd was at the lower end of the observed heterozygosity between breeds. Compared to the crossbreeds, whose average values of observed heterozygosity were 0.73 and 0.748, the loss of genetic diversity is evident. Regarding allelic richness, the lowest values were observed in the German Shepherd (3.7) and the highest in the Belgian Malinois (5.6). In South Africa, an average of 9.9 alleles per locus was even observed in crossbreeds. Effective population sizes (105 and 250) are sufficient to maintain the breed as it is currently bred. Due to the expansion of the German Shepherd throughout the world and the large population base, the effects of the loss of genetic diversity are not as striking as in the few in number dog breeds. Still it is necessary to further monitor the breeding of the German Shepherd to prevent an unwanted increase the coefficient of inbreeding and possible genetic disorders resulting from inbreeding depression.

Keywords: loss of genetic diversity, inbreeding coefficient, dog, kinship mating

Obsah

| | |
|--|-----------|
| 1 Úvod | 8 |
| 2 Cíl práce | 9 |
| 3 Literární rešerše | 10 |
| 3.1 Německý ovčák | 10 |
| 3.1.1 Historie německého ovčáka | 10 |
| 3.1.2 Linie německého ovčáka | 11 |
| 3.1.3 Německý ovčák dnes | 13 |
| 3.1.3.1 Standard | 13 |
| 3.1.3.2 Posuzování úrovní znaků německých ovčáků v ČR | 13 |
| 3.1.3.3 Chov Německých ovčáků v ČR | 14 |
| 3.2 Genetická diverzita | 14 |
| 3.2.1 Hardy-Weinbergův zákon | 15 |
| 3.2.2 Genetický drift | 16 |
| 3.2.3 Bottle-neck efekt | 16 |
| 3.2.4 Efektivní velikost populace | 17 |
| 3.2.5 Příbuzenská plemenitba | 17 |
| 3.3 Metody studia genetické diverzity | 18 |
| 3.3.1 Rodokmenová analýza | 18 |
| 3.3.1.1 Koeficient příbuzenské plemenitby (inbreedingu) | 18 |
| 3.3.1.2 Výpočet koeficientu příbuzenské plemenitby z rodokmenu | 18 |
| 3.3.1.3 Koeficient příbuznosti (Původový koeficient) | 19 |
| 3.3.1.4 Omezení rodokmenové analýzy | 19 |
| 3.3.1.5 Efektivní počet zakladatelů a předků | 20 |
| 3.3.1.6 Hodnocení příbuzenské plemenitby v čase | 20 |
| 3.3.1.7 Odhad efektivní velikosti populace | 21 |
| 3.3.1.8 Wrightova F-Statistika | 21 |
| 3.3.1.9 Výpočty genetické diverzity | 22 |
| 3.3.2 Molekulárně genetické metody | 23 |
| 3.3.2.1 Polymorfismus | 23 |
| 3.3.2.2 Heterozygotnost | 24 |
| 3.3.2.3 Polymorfismus délky restrikčních fragmentů DNA | 24 |
| 3.3.2.4 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) | 25 |
| 3.3.2.5 Specifické markery | 25 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.3.2.6 | Analýza mikrosatelitů..... | 25 |
| 3.3.2.7 | Běhy homozygotnosti ROH (running of homozygotity)..... | 26 |
| 3.3.2.8 | Alelová bohatost | 26 |
| 3.3.2.9 | Polymorfní informační obsah <i>PIC</i> | 26 |
| 3.4 | Srovnání studií genetické diverzity u NO | 27 |
| 3.4.1 | Příbuzenská plemenitba a příbuzenské vztahy v populaci německých ovčáků v oblasti Krakova | 27 |
| 3.4.2 | Genetická diverzita Německého ovčáka pomocí analýzy původu..... | 28 |
| 3.4.3 | Vizualizace genomové diverzity u německých ovčáků | 31 |
| 3.4.4 | Srovnávací populační genetika německého ovčáka v Jižní Africe | 32 |
| 3.4.5 | Srovnání genetické diverzity německého ovčáka v rámci plemen..... | 34 |
| 4 | Závěr | 40 |
| 5 | Literatura..... | 41 |
| 6 | Seznam použitých zkratk a symbolů..... | 46 |

1 Úvod

Ztráta genetické diverzity je u domácích zvířat obecně známý problém. Vlivem šlechtění se určité ztrátě genetické diverzity bohužel nevyhneme. Při využití příbuzenské plemenitby, která je k ustálení požadovaných fenotypových znaků prakticky nutná, se snižuje fitness a vzniká riziko inbrední deprese. Se zvyšující se mírou inbreedingu se zvyšuje i pravděpodobnost výskytu zdravotních problémů v populaci. Řešení těchto genetických poruch je problém jak z hlediska ekonomického, tak etického. Na druhou stranu při dodržování správných chovatelských postupů a dostatečně velké populační základně se dá udržet zdravé plemeno i v případě využívání vzdálenější příbuzenské plemenitby. Je však důležité mít na paměti, že plemena psů ztratila podstatnou část genetické diverzity už při jejich zakládání vlivem efektu hrdla lahve. Počáteční ztráta je dále umocňována vlivem inbreedingu nebo využíváním populárních plemenů.

Výhodou studia genetické diverzity u psů je možnost čerpání dat z rodokmenů. Jestliže vezmeme v úvahu čistokrevná psí plemena, která jsou registrována pod organizacemi FCI nebo AKC, můžeme dosledovat generace předků až po jejich zakladatele pomocí počítačových softwarů speciálně navržených pro hodnocení parametrů genetické diverzity. Z databází se dá zjistit koeficient příbuzenské plemenitby, koeficient příbuznosti, efektivní počet zakladatelů a předků a další. Kromě analýzy rodokmenů jsou využívány i molekulárně genetické metody, kde se zkoumá alelová bohatost a míra heterozygotnosti na kterou potom navazuje F-statistika.

Německý ovčák je prvním plemenem šlechtěným pro služební účely. Historie jeho chovu v Německu sahá až do roku 1899, kdy vznikaly vůbec první plemenné knihy psů. Zakladatel plemene Max von Stephanitz měl za cíl vytvořit všestranného, dobře stavěného psa s dobrou povahou a vlčím vzezřením. Jeho vize se postupem času stala realitou a dnes je německý ovčák díky svému univerzálnímu využití a výborné cvičitelnosti nejrozšířenějším plemenem psa na světě. Proto vyvstává otázka, zda je právě německý ovčák v současnosti ohrožen ztrátou genetické diverzity.

Jelikož je německý ovčák celosvětově rozšířen, vznikly jednotlivé subpopulace v rámci kontinentů a států. Přestože je dnes import psů ze zahraničí běžnou záležitostí, tok genů mezi populacemi v rámci států je značně omezen. Proto se může ztráta genetické diverzity mezi jednotlivými subpopulacemi lišit.

2 Cíl práce

Cílem této práce je literární rozbor metod a postupů, které jsou využívány při studiu genetické diverzity, jak z pohledu genealogické, tak na základě molekulárně genetických dat. Práce bude zaměřena na problematiku ztráty genetické diverzity u plemene německý ovčák. Vědecká hypotéza: Plemeno německý ovčák není v současné době ovlivněno ztrátou genetické diverzity.

3 Literární rešerše

3.1 Německý ovčák

3.1.1 Historie německého ovčáka

Celá století existovali v různých oblastech Německa místní ovčáčtí psi. Jejich typ a stavba těla se měnily v souladu s terénem a způsobem práce s dobytkem. Vyskytovali se v různých formách, a to jak nízké, vyšší, štíhlejší nebo robustnější. V průběhu času vznikli ovčáčtí psi Duriňského a Württenberského typu. Počátkem 90. let 19. století si několik chovatelů povšimlo dobrých kvalit a líbivého vzhledu duryňského psa, který měl vzpřímené ucho, původní zbarvení vlka a živý temperament. Uvedenými vlastnostmi získal tento pes záhy velkou oblibu. Württenberští psi nebyli však tak oblíbení jako psi durinští. Často jim scházeli vzpřímené uši. Výhoda však byla v tom, že měli žádoucí držení ocasu, zatímco duryňský pes měl podsazený zadek a ocas prstencovitě stočený. Württenberský typ byl větší, silnější, měl dobře stavěný zadek a dobrou chůzi. Povahou byl celkem klidnější. Naproti tomu duryňský pes překypoval temperamentem. Křížením mezi württenberským a duriňským typem bylo dosaženo spojení a utužení dobrých vlastností, zatímco nežádoucí vlastnosti, jako sklopené ucho, podsazený zadek a prstencovitě stočený ocas byly odstraňovány. Křížením výše jmenovaných typů ovčáckých psů byly položeny základy chovu německého ovčáckého psa, který si získal za krátkou dobu oblibu v celém světě (Všolek 2020).

Oficiálně plemeno existuje od roku 1899, kdy byl uznán jeho standard. Na jeho vzniku měl významný podíl Max von Stephanitz, jízdní důstojník a hlavně kynolog. Měl přesnou představu o tom, jak má národní plemeno ovčáka vypadat a jaké má mít vlastnosti. Svě představy dokázal realizovat, a tak roku 1900 byla založena plemenná kniha německých ovčáků. Jako první zde byl zapsán Stephanitzův pes Horand von Grafrath, který se stal modelem pro vznik nového národního plemene (ČKNO 2024).

Zakladatel plemene byl Stephanitzem objeven 3. dubna 1899, kdy se on a další nadšenci pro ovčácké psy zúčastnili přehlídky pasteveckých psů. Pes, kterého zde uviděli, byl čilý, silný, ostražitý a výrazně přizpůsobený zamýšlenému cíli. Stephanitzovi se toto zvíře zdálo dokonalým ztělesněním ideálu pracovního a hlídacího psa. Zjevná inteligence a touha psí povahy sloužit byly skryty za divokým vlčím vzezřením. Stephanitz zvíře okamžitě koupil. Jeho původní jméno, Hektor Linksrhein, bylo změněno na Horand von Grafrath a pes byl zaregistrován jako německý ovčák S. Z. 1, první zápis v nové Stephanitzově organizaci Verein für Deutsche Schäferhunde. To je počátek německého chovatelského klubu známého jako S. V., největšího chovatelského klubu jednoho plemene na světě (Sammsová 2000).

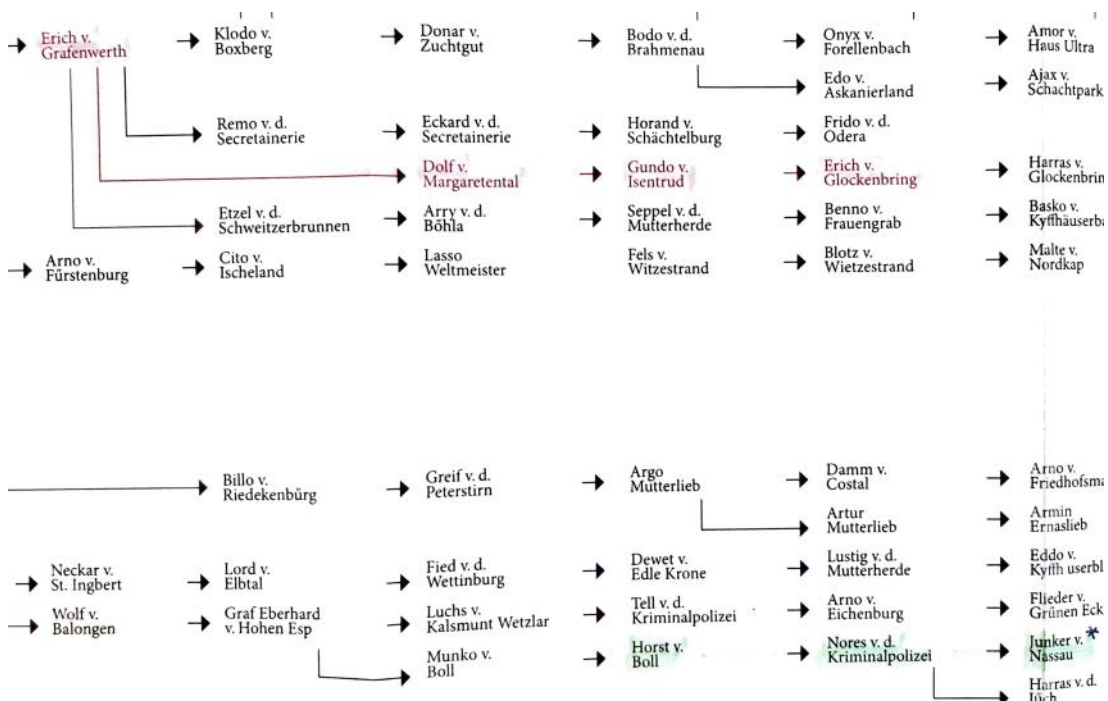
Horand se ukázal jako schopný krycí pes a vlastnosti, které si Stephanitz vysoce cenil, byly na první schůzi vyhlášeny jako žádoucí u psů a upevněny počáteční pečlivou chovatelskou politikou příbuzenské plemenitby – liniíovou plemenitbou (Sammsová 2000).

3.1.2 Linie německého ovčáka

Mluvíme-li o krevních liniích v chovu německého ovčáka, je třeba se zmínit o práci správce plemenné knihy Schallera z Augsburgu, který zpracoval dílo „Die wichtigen männlichen Linien in der Zucht des deutschen Schäferhundes“ (hlavní samčí krevní linie německého ovčáckého psa). Tyto samčí krevní linie se tvořily vývojem a rozšířením plemene, a to tím způsobem, že úspěšnější pes zplodil více potomků a z nich se našel opět jeden nebo více synů, kteří byli též úspěšní a opět byli k chovu často používáni, čímž vzniklo prodloužení určité linie po otci, ale po různých fenách. Přihlédneme-li k tomu, že fena může během svého života dát například 30 potomků proti tomu pes klidně 1000 potomků, pak je zřejmé, proč byl kladen důraz na samčí linie. Přestože nemůžeme přehlížet vliv fen na vývoj určitých linií, je nutno brát hlavní zřetel na samčí linie, kterými je chov značně prostoupen (Všolek 2020).

Podle Schallerových tabulek se vytvořilo celkem 32 hlavních linií, které byly rozděleny do tří hlavních skupin, a to skupinu Horandových linií (29), skupinu s Horandem příbuzných linií (2) a na linii Audixovu. Podle Všolka však není namístě uvádět všechny psy, kteří měli vliv na vznik jednotlivých linií, jelikož je dnešní chov jednotlivými liniemi protkáán tak, že není relevantní některé z nedostatků v chovu (například přerůstání nad standardní výšku) vztahovat přímo ke konkrétním předkům, když se dnes již s tímto nedostatkem nesetkáváme (Všolek 2020).

Oproti tomu jsou určité vady, které se v chovu vyskytují i dnes zvláště u některých linií. Slabé nervy, plachost a zbabělost přenášeli dále na potomstvo Horst v. Boll, Nores v. d. Kriminalpolizei a Junker v. Nassau. Tito psi přenášeli nejen špatnou povahu ale i úbytek pigmentu. Horst v. Boll a Nores v. d. Kriminalpolizei byli navíc nositeli neúplného chrupu. Další linií, která měla neúplný chrup byli psi Erich v. Grafenwerth, Dolf v. Margaretenal, Gundo v. Isentrud a Erich v. Glockenbring jak je znázorněno v rodokmenu (Všolek 2020).

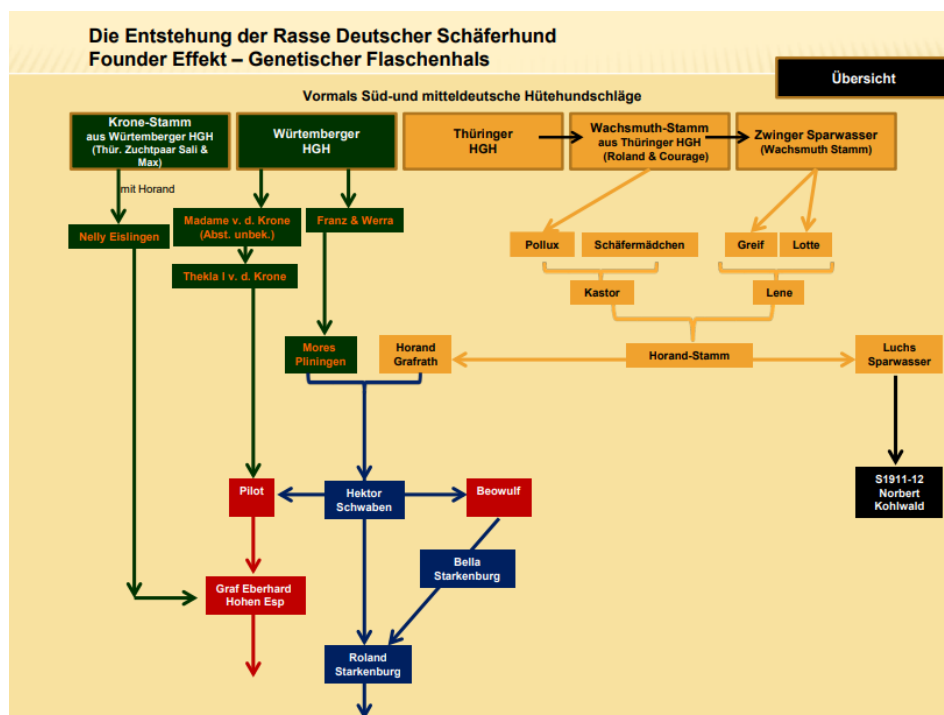


Obr. č. 1 Vady německých ovčáků v rodokmenu (Všolek 2020)

Růžově je vyznačena linie s neúplným chrupem, zeleně linie se slabou povahou, úbytkem pigmentu i neúplným chrupem. Hvězdičkou označený Junker v. Nassau měl již chrup úplný (Všolek 2020).

Praotcem všech německých ovčáků zapsaných do plemenné knihy byl Pollux 151 po rodičích Roland a Courage, oba neznámého původu. Též jeho syn Kastor 153 by měl nárok na tento titul, ale oba jmenované psy předčil Horand v. Grafrath tak, že ho právem nazýváme zakladatelem čistokrevného chovu německých ovčáků. Horandův bratr Luchs sice navazuje na dvě další linie, ale obě tyto linie ve srovnání s linií Horandovou byly úplně zatlačeny do pozadí (Všolek 2020).

Ve vývojovém procesu od roku 1899, přibližně deset generací od Horanda von Grafratha po Alexe von Westfalenheima a jeho syna Erich Grafenwerth na jedné straně a druhé straně od Horandova syna Hektora Schwabena přes jeho syna Pilota až po Donara Overstolzen se vyvinuly dvě samčí linie, které byly poměrně silné, pokud jde o jejich rozměry a pravděpodobně měly vliv na neúspěšnější chov svého času. Během tohoto období vývoje Horand přirozeně vytvořil další vedlejší linie, z nichž některé byly také hojně využívány v chovu a vytvořily základ široké genetické základny plemene. Vznik linií je znázorněn na obr. č. 2 (Quoll 2017).



Obr. č. 2 Rodokmen německého ovčáka

Tmavou barvou jsou znázorněni Würtenberští psi, žlutě psi durinští. Zakladatel plemene Horand von Grafrath (po linii Pollux – Kastor – Horand) je potomkem durynských psů. Spojení Horanda s Mores Pliningen, která je potomkem psů Wünterberských, dalo vzniku významného psa Hektor Schwaben, od kterého pokračují 2 hlavní linie. Červeně znázorněná linie přes jeho syna Pillota a modře několik generací trvající linie přes psa Roland Starckenburg až po Alexe von Westfalenheima a jeho syna Erich Grafenwerth (Quoll 2017).

Rodokmeny ukazují že celý chov německého ovčáka je příbuzný. Je samozřejmé že by nebylo možné zůstat pouze na této populační základně, protože by to mělo za následek degeneraci plemene. Aby k degeneraci nedocházelo, přibírali se do chovu psi a feny z venkovských ovčáckých kmenů i desítky let po vzniku plemene. Byli vybíráni hlavně při soutěžích v hlídání ovcí. Zdraví, tvrdí a odolní psi a feny pomocí nichž byla přiváděna „svěží krev“ do tzv. moderního chovu. Tyto psi považujeme za „starokrevníky“ kteří bývají v průkazech původu označováni HGH-Blut, U-Blut (Unbekanntes Blut – neznámá krev). Od těchto psů bylo potřeba získat hlavně dobrou konstituci, pevné nervy, temperament a chuť k práci a na jejich zevnějšek se nekladl důraz, jelikož se dá poměrně dobře zlepšit. Zkušenosti ukazují, že ve většině případů, kde bylo použito spojení „starokrevníka“ s fenou z moderního chovu, nedošlo k žádnému velkému poklesu exteriérových kvalit. Oproti tomu při spojení šampiona s výbornou fenou nastává pokles pracovní kvality u potomstva (Všolek 2020).

3.1.3 Německý ovčák dnes

3.1.3.1 Standard

Německý ovčák je pes o něco větší než plemena střední velikosti. Svým pohybem je klusák, čemuž odpovídá i stavba těla, která má tvar obdélníku. Výška v kohoutku u psa se pohybuje od 60 do 65 cm u psa a 55 až 60 cm u feny. Poměr délky těla k výšce je 10:9, to znamená, že rozdíl mezi výškou v kohoutku a délkou trupu je asi 7 – 8 cm (Všolek, 2020). Hlava musí odpovídat velikosti těla, uši jsou střední velikosti, vysoko nasazené, sbíhají se do špičky. Barva očí je tmavohnědá. Chrup úplný a skus nůžkový. Ocas má být dlouhý, sahající nejméně k hleznovému kloubu, v klidu i v pohybu je nesen svěšený dolů. Německý ovčák je chován ve dvou variantách srsti, dlouhé a krátké. Barva srsti může být černá s červenohnědými, hnědými, žlutými až světlešedými znaky. Celočerná, jednobarevně šedá nebo šedá s tmavým vlkošedým zbarvením, s černým sedlem a maskou. Nenápadné malé bílé znaky na hrudi nebo světlé zbarvení na vnitřních stranách končetin jsou přípustné, ač nežádoucí. Bílá barva není přípustná (ČMKU 2010).

Vylučujícími vadami jsou psi s prokázanou těžkou DKK, monorchidi a kryptorchidi, psi s vadami uší, popř. ocasu, psi s deformacemi, psi s vadami chrupu, psi přerostlí nebo nedorostlí více než o 2 cm, albinismus a bílá barva srsti (ČKNO 2024).

Německý ovčák musí být povahově vyrovnaný, pevných nervů, sebevědomý, absolutně přirozený (s výjimkou vydráždění), zcela dobromyslný, ale pozorný a ovladatelný. Musí mít odvahu, bojovnost a tvrdost, aby byl vhodný jako doprovodný, strážní, služební, pastevecký pes a pes k obraně (ČMKU 2010).

3.1.3.2 Posuzování úrovní znaků německých ovčáků v ČR

Úrovně znaků u německých ovčáků jsou posuzovány na výstavách a zkouškách. Pro uchovnění je potřeba účast na výstavě krajské, oblastní nebo klubové a obdržení hodnocení nejméně dobrý dosažené ve třídě mladých, dospívajících nebo pracovní, přičemž třída mladých je otevřena německým ovčákům od 12 měsíců. Ve všech druzích chovu je podmínkou složená

zkouška všestranného výcviku nejméně I. stupně – ZVV (podle národního zkušebního řádu) nebo IGP dříve IPO (podle mezinárodního zkušebního řádu) (ČKNO 2024).

Přestože německý ovčák je zatížen i jinými dědičnými nemocemi, z chovu je vylučující pouze dysplazie loketních a kyčelních kloubů. Dysplazie je v ČR hodnocena pětibodovou stupnicí A - 0 negativní, B - 1 hraniční, C - 2 lehký, D - 3 střední, E - 4 těžký, přičemž do chovu jsou povoleni psi maximálně s 2. stupněm tzn. hraniční dysplazií. RTG vyšetření se provádí mezi dvanácti a osmnácti měsíci věku, výsledek RTG vyšetření se následně musí zapsat do PP (ČKNO 2024).

Dalším hodnocením a potřebou pro zařazení do výběrového chovu je bonitace. Před ní je potřeba splnit předchozí body, výstavu, zkoušku a RTG vyšetření, vše s potřebnou úrovní a psovi musí být minimálně 18 měsíců. Provádí se zde hodnocení povahy, reakce na střelbu, zkouška odvahy a bojovnosti a kontrola exteriérových znaků: měření a vážení a předvedení v postoji a v pohybu. Výsledkem je pak zařazení do 1. či 2. třídy chovnosti, odklad nebo vyřazení z chovu. Další nutností je mít potvrzení DNA identity, které od roku 2020 musí být prováděno v Německu (ČKNO 2024).

3.1.3.3 Chov Německých ovčáků v ČR

Chov německých ovčáků je uskutečňován na několika úrovních. Nejvyšším je výběrový chov, „jenž se začal v Německu provádět od roku 1922“ (Všolek 2020). Pokud má pes splněnou bonitaci je zařazen do 1. nebo 2. třídy chovnosti. Fena tak může mít tři vrhy za dva roky a chovný pes může krýt v jednom roce maximálně čtyřicet fen, přičemž krytí musí být rozloženo rovnoměrně. Další úrovní je kontrolovaný chov. V tomto druhu chovu může fena odchovat jedenkrát do roka celý vrh, dovršením osmi let věku chovnost končí. Nejnižší úrovní je registrovaný chov, kde fena může mít maximálně dva vrhy za život a pes krýt nesmí. Volba chovného psa je záležitostí chovatele. Stejně tak volba feny, která má být kryta, je ponechána na vlastníku psa. Poradci chovu je jen zaslána kopie krycího listu a provádí kontrolu vrhu. PP výběrového a kontrolovaného chovu jsou barevně odlišeny (ČKNO 2024).

Při dodržování zásad sestavování přípravných plánů by se chovatelé měli snažit vybírat podobné jedince, podobné velikosti a s ohledem na zdraví. Pokud má např. fena DKK hraniční, pes by měl mít negativní. U německých ovčáků jde tedy o volný chov, kdy si krycího psa vybírá sám chovatel, a ne poradce chovu. Příbuzenská plemenitba na úrovni 2 – 3 a bližší je ČKNO zakázaná (ČKNO 2024).

3.2 Genetická diverzita

Jednou z univerzálních vlastností přírodních populací je fenotypová variabilita – rozmanitost. Mezi jedinci jakékoli populace existuje mnoho různých fenotypů ve většině znaků. Přesvědčivé údaje, svědčící o velkém rozšíření genetické variability, je možno získat v pokusech s umělým výběrem. Změny, ke kterým dochází v populaci působením umělého výběru, jsou často velmi výrazné (Relichová 2015). Od počátku domestikace prošel pes domácí obrovskou diverzifikací, takže dnes rozeznáváme přes 400 plemen po celém světě (Ostrander & Ruvinsky 2012). Velkolepá rozmanitost ve velikosti, srsti a stavbě těla, která charakterizuje

psa domácího, odráží nejen intenzitu umělé selekce, ale v konečném důsledku i genetickou variabilitu zakládajících populací (Vilà et al. 1999).

Genetické složení plemene určuje fyzické a fyziologické parametry, které tvoří jedince. Studie ukázaly, že v moderních psích populacích dochází ke ztrátě celkového množství genetického polymorfismu, obecně označovaného jako genetická diverzita. Genetická rozmanitost byla ovlivněna populačními úzkými hrdly, protože psi byli domestikováni z divoké populace a opět prostřednictvím selekce podle typu plemene. Zejména čistokrevní psi byli selektivně vyšlechtěni a v některých liniích úzce vyšlechtěni s dominantním použitím populárních plemenů, což vedlo ke snížení genetické rozmanitosti (Mortlock 2015).

3.2.1 Hardy-Weinbergův zákon

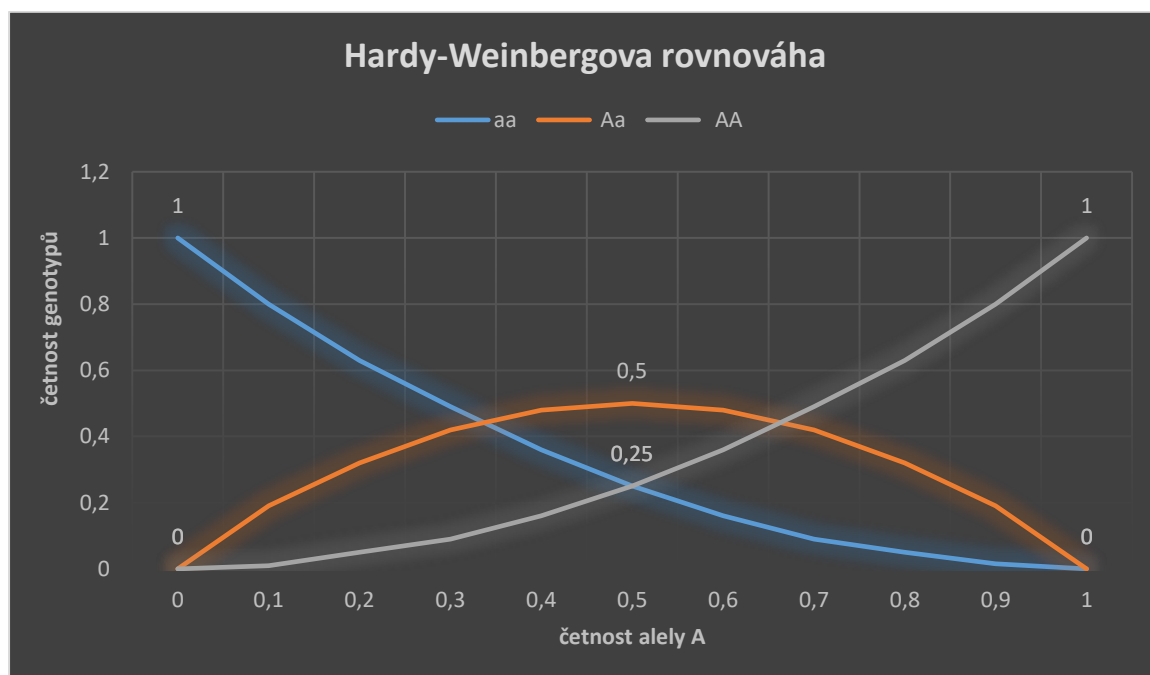
V první dekádě 20. století se nezávisle na sobě britský matematik G. H. Hardy a německý lékař Wilhelm Weinberg zabývali otázkami, zda mají odhady alelových četností nějakou prediktivní hodnotu a zda je můžeme použít k předpovědi četností genotypových. V roce 1908 každý publikoval práci popisující matematický vztah mezi alelovými a genotypovými četnostmi. Tento vztah, který se nyní nazývá Hardy-Weinbergův zákon, umožňuje z alelových četností v populaci předpovědět její genotypové četnosti (Snustad & Simons 2017).

Při předpokladu že je v populaci určitý gen, který segreguje dvě alely, A a a , a že četnost alely A je p a četnost alely a je q , jestliže bude mezi členy populace probíhat náhodné oplození, pak se v následující generaci budou tvořit diploidní genotypy náhodným spojováním haploidních vajíček a haploidních spermií. Pravděpodobnost, že vajíčko nebo spermie nese alelu A , je p a pravděpodobnost, že nese alelu a , je q . To znamená že pravděpodobnost vzniku homozygota AA v populaci je $p \times p = p^2$ a pravděpodobnost vzniku homozygota aa je $q \times q = q^2$. Heterozygot Aa může vzniknout dvěma způsoby: spermie A se spojí s vajíčkem a , nebo spermie a se spojí s vajíčkem A . Obě tyto možnosti se vyskytují se stejnou pravděpodobností $p \times q$, a proto bude pravděpodobnost vzniku zygoty Aa rovna $2pq$. Očekávané četnosti genotypů můžeme dostat rozvojem binomického výrazu $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$. V genetice populací se jim říká Hardy-Weinbergovy genotypové četnosti (Snustad & Simons 2017).

Základním předpokladem platnosti Hardy-Weinbergova principu je, že mezi členy populace dochází vzhledem k danému genu k náhodnému oplození. Při náhodném oplození a stejném přežití a reprodukci členů populace zůstávají Hardy-Weinbergovy genotypové četnosti a stejně tak alelové četnosti z generace na generaci stejné. Tento stav je znám jako Hardy-Weinbergova rovnováha (Snustad & Simons 2017).

Pro vytvoření modelu pravděpodobnosti genotypových četností jsou zapotřebí diploidní organismy, které se rozmnožují pohlavní cestou, jejich generace se nepřekrývají, oplození je náhodné, početnost populace je velmi velká, migrace je zanedbatelná, mutace lze zanedbat a na alely nepůsobí přírodní výběr (Relichová 2015).

Graf č. 1 Hardy-Weinbergova rovnováha (Relichová 2015)



3.2.2 Genetický drift

Genetickým driftem rozumíme náhodné posuny ve frekvenci jednotlivých alel v genofondu určité populace (Flegr 2005). Náhodný posun genů patří mezi disperzivní síly, které vedou ke zcela náhodným změnám alelových četností po řadu generací. Dochází k nim především v malých populacích v důsledku náhodného výběru vzorku mezi gametami, takzvanými chybami výběru. Velikost chyby výběru je vždy nepřímo úměrná intenzitě výběru. V populacích organismů to znamená, že čím menší je počet vzájemně se pářících jedinců v populaci, tím dochází k větším změnám alelových četností podmíněných náhodným posunem genů (Relichová 2015).

Velikosti populací jsou vždy konečné a často dokonce svým počtem silně omezené. V početně omezených populacích musí zákonitě docházet účinkem genetického driftu k fixaci alel nehledě na to, kolik bylo na začátku různých alel v populaci. Po dostatečném počtu generací v populaci zůstanou nositelé pouze jediné z nich. Fixace alely nastává tehdy, když její frekvence v populaci dosáhne 100 % (Flegr 2005).

3.2.3 Bottle-neck efekt

V evoluci má význam přechodné, mnohdy velmi drastické snížení velikosti populace, po kterém následuje opětovný nárůst počtu jedinců na původní velikost. Tomuto ději a genetickým a evolučním jevům, které ho provázejí, říkáme efekt hrdla láhve (bottle-neck efekt) (Flegr 2005).

Tento tzv. „bottleneck effect“ vzniká při změně podmínek prostředí, které se mohou vzhledem k existenci populace náhle zhoršit tak, že dojde k vážné restrikci početnosti populace. Tyto populace mohou během dalších generací obnovit svoji početnost, avšak vlivem genového

posunu může dojít k podstatné změně genetické struktury této populace, a tyto změny se uchovávají v dalších generacích (Relichová 2015).

Protože se genofondy původní i zakladatelské populace liší, může být i průběh jejich evoluce odlišný. Tento tzv. efekt zakladatele má řadu genetických důsledků a může vést až ke vzniku nového druhu (Flegr 2005).

Moderní psí plemena jsou produktem nejméně dvou populačních úzkých hrdel, z nichž první souvisí s domestikací od vlků (před přibližně 7 000 – 50 000 generacemi) a druhý je výsledkem intenzivního výběru k vytvoření plemene (před přibližně 50 – 100 generacemi) (Lindblad-Toh et al. 2005).

3.2.4 Efektivní velikost populace

Při studiu genetických dějů probíhajících na úrovni populace není ve většině případů ani tak důležitá nominální velikost populace, tj. počet jedinců v populaci, jako spíše parametr nazývaný efektivní velikost populace (Wright 1931).

Efektivní velikost populace N_e je velikost ideální panmiktické populace, ve které by genetické procesy jako např. změny ve frekvenci alel působením selekce či driftu, probíhaly stejnou rychlostí jako v reálné studované populaci. V panmiktické, v čase i početně stabilní populaci, která obsahuje stejný počet samců a samic, a v níž nedochází k překrývání generací či k dalším obdobným fenoménům, by byla efektivní velikost populace stejná jako velikost skutečně sledované populace odpovídající reálnému počtu jedinců. Jakmile některá z podmínek splněna není, je efektivní velikost populace menší (Flegr 2005).

Efektivní velikost populace (N_e) předpovídá ekvivalentní počet zvířat rovnoměrně se účastnících reprodukce v chovné generaci, a tak zohledňuje rozdíly ve využití samců a samic (Shariflou et al. 2011). Populace skládající se ze dvou samců a dvou samic má zhruba stejnou efektivní velikost jako populace složená z jednoho samce a dvaceti nebo třeba tisíce samic (Flegr 2005). Vyšší hodnoty efektivní velikosti populace předpovídají větší genetickou diverzitu (Shariflou et al. 2011).

3.2.5 Příbuzenská plemenitba

Inbreeding je určitý druh nenáhodného oplození, při kterém dochází k oplození mezi příbuznými jedinci častěji, než by se dalo očekávat na základě náhodnosti. Inbreeding, stejně jako pozitivní výběrové oplození, zvyšuje homozygotnost v populaci, protože příbuzní jedinci jsou po genetické stránce mezi sebou podobnější než jedinci nepříbuzní. Vlivy inbreedingu se dají vyjádřit kvantitativně v termínech redukce heterozygotnosti. To znamená, že můžeme měřit velikost inbreedingu srovnáním aktuálního podílu heterozygotních genotypů v populaci s podílem heterozygotů, kteří by se vyskytovali v populaci při náhodném oplození. (Relichová 2015).

Příbuzenskou plemenitbu můžeme také rozdělit na úzkou, což je příbuzenská plemenitba, na žádnou volnou generaci, blízkou, což je příbuzenská plemenitba na 1 – 2 volné generace a vzdálenou, což je příbuzenská plemenitba na 3 – 4 volné generace (Dostál 1995).

3.3 Metody studia genetické diverzity

3.3.1 Rodokmenová analýza

Rodokmenová analýza představuje klasický přístup ke studiu evoluce genetické diverzity, genetické struktury, historie a chovatelských postupů v rámci daného plemene. V důsledku selekčního tlaku, managementu v uzavřených populacích a historických úzkých hrdel došlo u mnoha plemen psů ke značnému příbuzenskému páření (Leroy 2011). Při správném vedení plemenných knih poskytují kompletní informace o populaci a jsou užitečné pro analýzu genetické diverzity a struktury populace (Goleman et al. 2021). Ve srovnání s využitím molekulárních dat je rodokmen nejjednodušším a nákladově nejefektivnějším způsobem, jak posoudit genetickou diverzitu a demografické parametry populace v posledních letech (Baena et al. 2021).

3.3.1.1 Koeficient příbuzenské plemenitby (inbreedingu)

Máme-li například lokus se dvěma alelami, A , a s četnostmi p a q , ($p + q = 1$). Při předpokladu, že aktuální četnost heterozygotů v populaci je H , kdyby v populaci bylo náhodné oplození pro daný gen, pak by četnost heterozygotů H_0 byla $2pq$. Vliv inbreedingu pak můžeme definovat jako $(H_0 - H) / H_0$. Tento poměr značíme symbolem F a nazývá se koeficient inbreedingu: $F = (H_0 - H) / H_0$ (Relichová 2015).

Koeficient inbreedingu tedy měří postupnou redukci heterozygotnosti v populaci, relativně k populaci s náhodným oplozením se stejnými četnostmi alel. Jestliže $F = 0$, což je stav bez inbreedingu (tj. náhodné oplození), pak se četnosti genotypů budou rovnat Hardy-Weinbergově podílům $p^2 : 2pq : q^2$. Je-li $F = 1$, což představuje úplný inbreeding, pak budou v populaci přítomni pouze homozygoti AA a aa v četnostech p a q (Relichová 2015).

Koeficient inbreedingu F má alternativní interpretaci v termínech pravděpodobnosti, velmi užitečnou pro výpočet F z rodokmenů. K vyjádření koeficientu inbreedingu v termínech pravděpodobnosti si představíme dvě alely přítomné na homologických lokusech u některého inbredního jedince. Tyto dvě alely mohou být identické původem, to znamená, že byly odvozeny replikací z jedné alely v nějaké původní populaci. Jsou-li dvě alely nějakého genu identické původem, nazýváme je autozygotní. Alely však nemusí představovat repliky jediné původní alely, tzn., že nejsou identické původem. Tyto se pak nazývají alozygotní. F potom můžeme v termínech pravděpodobnosti interpretovat tak, že koeficient inbreedingu je pravděpodobnost, že dvě alely genu určitého jedince jsou identické původem (autozygotní) (Relichová 2015).

3.3.1.2 Výpočet koeficientu příbuzenské plemenitby z rodokmenu

Vzorec pro výpočet koeficientu příbuzenské plemenitby, který se nejvíce používá (Wrightův vzorec) je:

$$F_x = \sum [0,5^{n+m+1} (1 + F_a)]$$

kde n znamená počet předků v rodokmenu ze strany otce mezi daným jedincem a společným předkem, m znamená počet generací předků v rodokmenu ze strany matky mezi daným jedincem a společným předkem a F_a znamená hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby společného předka. \sum značí součet hodnot pro všechny společné předky, je-li daný jedinec výsledkem příbuzenské plemenitby s více než jedním společným předkem. Není-li žádný ze společných předků výsledkem příbuzenské plemenitby, jeho vlastní $F_x = 0$, pak můžeme použít zjednodušený vzorec:

$$F_x = \sum(0,5^{n+m+1})$$

(Dostál 1995).

V analýze původu se koeficient příbuzenské plemenitby F_x obecně vztahuje k pravděpodobnosti „identické podle původu“ (*IBD*) pro daného jedince (Malécot 1948). Je to míra ztráty genetické diverzity pro jednotlivce (nikoli pro populaci) a neměla by být interpolována v populačním měřítku. Při zprůměrování na populaci není F měřítkem ztráty diverzity a genetického driftu, protože také souvisí s genetickou strukturou populace jako je existence subpopulací nebo specifický systém páření (Boichard et al. 1997).

3.3.1.3 Koeficient příbuznosti (Původový koeficient)

Ztrátu diverzity v důsledku *IBD* je možné vypočítat pomocí průměrného původového koeficientu Φ , nazývaného také coancestry (Crow & Kimura 1970). Koeficient příbuznosti mezi dvěma jedinci je definován jako pravděpodobnost, že dvě alely daného lokusu jsou *IBD*, což by odpovídalo stupni inbreedingu potenciálního potomka obou jedinců. V průměru za danou populaci odpovídá Φ pravděpodobnosti, že dvě náhodně vylosované alely jsou *IBD*, což činí průměr Φ lepším odhadem ztráty diverzity na populačním měřítku a vysvětluje, proč autoři doporučují minimalizovat průměrnou příbuznost pro ochranu genetické diverzity (Baumung & Sölkner 2003).

3.3.1.4 Omezení rodokmenové analýzy

Rozbory rodokmenů však mají určitá omezení, především kvůli omezenému rozsahu znalostí o původu a známému podílu registrovaných jedinců v historii plemene. To zaprvé znamená, že tyto analýzy jsou omezeny na daný počet generací, obecně odpovídající době, kdy se genealogie začaly evidovat počítačem nebo vzácněji počátku genealogické evidence v rámci plemene. U psů se většině studií podařilo vysledovat kompletní genealogie zpět do 60. nebo 70. let 20. století (Karjalainen & Ojala 1997; Mäki et al. 2001; Nielen et al. 2001; Leroy et al. 2006; Leroy 2009; Calboli et al. 2008; Głażewska 2008; Urfer 2009; Mäki 2010), některé studie byly rozšířeny dále v čase (Lüpke & Distl 2005; Oliehoek & Bijma 2009; Wellmann & Pfeiffer 2009), dokonce až do konce 19. století (Voges & Distl 2009).

Registrace jedinců s omezenými znalostmi rodokmenu nebo bez nich mohou také snížit rozsah celkových známých informací o původu a mohou způsobit zkreslení, protože blízké vztahy mezi některými jednotlivci nemusí být rozpoznány (Leroy 2011). Ekvivalentní kompletní generace (*EqG*) představuje nejběžnější indikátor pro měření úplnosti daného souboru rodokmenu. *EqG* se vypočítá jako součet $1/2 t$ za všechny známé předky, kde t je

generační číslo předka, které se rovná 1 pro rodiče, 2 pro prarodiče a tak dále (Maignel et al. 1996).

Druhé omezení analýzy rodokmenu souvisí s možnou existencí rodokmenových chyb, vyplývajících z chyb v registraci, podvodu nebo nezjištěného krytí (zejména u psů, kde jsou možné vrhy s více otcovstvími). Rodokmenové chyby mohou zavést zkreslení při výpočtu ukazatelů, jako je koeficient příbuzenské plemenitby (Baumung & Sölkner 2003). Průměrná chybovost v rodokmenu se u řady druhů hospodářských zvířat pohybuje kolem 10 % (Oliiehoek & Bijma 2009). U psů se rozsah rodokmenových chyb zdá být menší (Leroy 2011).

3.3.1.5 Efektivní počet zakladatelů a předků

Efektivní velikost populace předpovídá genetickou variaci v budoucích generacích. Oproti tomu efektivní počet zakladatelů ukazuje minulou genetickou variaci, která přispěla k plemeni. Pokud zakladatelé přispívají do genofondu rovným dílem, rovná se efektivní počet zakladatelů (f_e) skutečnému počtu zakladatelů. Celkový počet zakladatelů f značí počet předků s neznámými rodiči (Lacy 1989).

Efektivní počet zakladatelů (f_e) je definován jako počet zakladatelů vysvětlujících stejnou úroveň genetické diverzity, jaká byla pozorována u referenční populace (Lacy 1989). Efektivní počet zakladatelů je odhadován podle vzorce:

$$f_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^f q_i^2}$$

kde q_i je genetický příspěvek i -tého zakladatele k referenční populaci (Vostrá-Vydrová et al. 2016).

Efektivní počet předků (f_a) je minimální počet předků, ne nutně zakladatelů, což vysvětluje stejnou genetickou diverzitu jako referenční populace (Boichard et al. 1997). Efektivní počet předků je získáván stanovením mezního genetického příspěvku každého předka (Vostrá-Vydrová et al. 2016). Marginální příspěvek je genetický příspěvek předka, který ještě nebyl vysvětlen jiným předkem (Boichard et al. 1997):

$$f_a = \frac{1}{\sum_{i=1}^a p_i^2}$$

kde p_i je marginální genetický příspěvek předka, (i) a (a) je celkový počet předků (Vostrá-Vydrová et al. 2016).

Poměr mezi efektivním počtem zakladatelů a efektivním počtem předků (f_e/f_a) ukazuje, zda byla analyzovaná populace ovlivněna efektem hrdla lahve. K efektu hrdla lahve došlo v analyzované populaci, pokud je efektivní počet předků zřetelně nižší než efektivní počet zakladatelů, což znamená, že poměr f_e/f_a je odlišný od 1 (Boichard et al. 1997).

3.3.1.6 Hodnocení příbuzenské plemenitby v čase

Vzhledem k relativní povaze příbuzenské plemenitby (Kristensen & Sorensen 2005) je běžnější používat nárůst příbuzenské plemenitby v průběhu času (také nazývaný generace ΔF nebo míra příbuzenské plemenitby), protože škodlivý účinek příbuzenské plemenitby je

způsoben spíše rychlostí, kterou se v populaci hromadí příbuzenské páření (nebo skutečnost, že příbuzenské páření je „staré“ nebo „nové“) spíše než samotné příbuzenské páření (Ballou 1997).

ΔF lze vypočítat lineární regresí F v čase (Falconer & Mackay 1996) metodou založenou na míře příbuzenské plemenitby mezi dvěma po sobě jdoucími generacemi: $N_e F_t$

Uvážíme-li dvě po sobě následující generace t a $t-1$, lze míru příbuzenské plemenitby (ΔF_t) vypočítat pomocí rovnice:

$$\Delta F_t = \frac{F_{t+1} - F_t}{1 - F_t}$$

ve které F_{t+1} je průměrný koeficient příbuzenské plemenitby referenční populace a F_t průměrný koeficient příbuzenské plemenitby jejich rodičů (Leroy et al. 2013).

Míru příbuzenské plemenitby lze vypočítat také použitím přibližného odmocnění F pomocí EqG (Gutiérrez et al. 2009).

Gutiérrez et al. (2009) navrhli metodu, ve které se úroveň znalosti rodokmenu daného jedince i odhaduje počtem vysledovaných ekvivalentních kompletních generací (EqG_i). Přibližná míra individuálního inbreedingu ΔF_i se vypočítá podle rovnice:

$$\Delta F_i = 1 - \sqrt[EqG_i]{1 - F_i}$$

ve které F_i je koeficient inbreedingu jedince i (Leroy et al. 2013).

3.3.1.7 Odhad efektivní velikosti populace

Jednotlivé míry příbuzenské plemenitby jsou stanoveny jako průměr ΔF , což vede k následujícímu odhadu efektivní velikosti populace (N_e):

$$N_{eFi} = \frac{1}{2} \overline{\Delta F}$$

(Leroy et al. 2013).

Místo přímého použití míry příbuzenské plemenitby se k výpočtu skutečné efektivní velikosti populace (N_e) často používá následující vzorec:

$$N_e = \frac{1}{2} \Delta F$$

kteřý má tu výhodu, že odkazuje přímo na velikost populace. Je to také obvyklé měřítko pro hodnocení rizikového stavu populace (Gandini et al. 2004).

Ačkoli je obtížné spojit danou velikost populace s daným rizikem, přijatelné hodnoty ΔF na generaci by neměly být $< 0,5 - 1\%$ (odpovídající hodnotám N_e 50 – 100), aby se omezil rozsah inbrední deprese (Bijma 2000).

3.3.1.8 Wrightova F-Statistika

Jelikož efekt podobný inbreedingu způsobuje i podrozdělení populací, je měřen pomocí poklesu podílu heterozygotů tak, jak se měří vlivy nenáhodného oplození při inbreedingu.

Podrozdělená populace má tři úrovně struktury, a to jednotlivé organismy (I), subpopulace (S) a celkovou populaci (T). V této statistice je uvažována i možnost nenáhodného oplození uvnitř subpopulací jako při inbreedingu. Při zavedení označení heterozygotností H_I (heterozygotnost jedince v populaci), H_S (očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní subpopulaci s náhodným oplozením) a H_T (očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní celkové populaci s náhodným oplozením). H_I lze interpretovat jako průměrnou heterozygotnost všech genů jedince nebo jako pravděpodobnost heterozygotnosti jakéhokoli genu. Hladinu heterozygotnosti, která by se vyskytovala v subpopulaci s náhodným oplozením tedy označujeme jako H_S a hodnota H_T vyjadřuje, jaká by byla heterozygotnost při sloučení všech subpopulací a při náhodném oplození (Relichová 2015).

Podle těchto heterozygotností jsou odvozeny tři parametry Wrightovy F -statistiky a to F_{IS} , F_{ST} a F_{IT} . Hodnota F_{IS} značí snížení heterozygotnosti jedince kvůli nenáhodnému páření v subpopulaci. A je možno vypočítat podle vzorce:

$$F_{IS} = \frac{H_S - H_I}{H_S}$$

Vlivy rozdělení populace na subpopulace se měří veličinou nazvanou fixační index, která se značí F_{ST} . F_{ST} značí redukci heterozygotnosti subpopulace podmíněnou náhodným genovým posunem (genetickým driftem) a je počítána dle vzorce:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

Celkový koeficient inbreedingu jedince označený F_{IT} zahrnuje příspěvek způsobený nenáhodným oplozením uvnitř subpopulací (F_{IS}) a příspěvek způsobený samotným podrozdělením (F_{ST}). Veličina F_{IT} měří redukci heterozygotnosti jedince relativně k celkové populaci a je počítána následovně:

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_I}{H_T}$$

Hierarchická F -statistika definovaná v uvedených třech rovinách představuje různé typy „koeficientů inbreedingu“, které se liší jen v tom, k jaké se vztahují populaci. F_{IT} je nejobsáhlejší měřítko inbreedingu, neboť zahrnuje jak vlivy nenáhodného páření uvnitř subpopulací (F_{IS}), tak vlivy podrozdělení populace (F_{ST}). Matematický vztah mezi uvedenými třemi F koeficienty se dá vyjádřit rovnicí:

$$(1 - F_{IS})(1 - F_{ST}) = 1 - F_{IT}$$

(Relichová 2015).

3.3.1.9 Výpočty genetické diverzity

Genetickou diverzitu (GD) v referenční populaci lze vypočítat podle vzorce (Lacy 1989; Lacy 1995):

$$GD = 1 - \frac{1}{2f_g}$$

Kde f_g značí ekvivalent zakladatelského genomu, který zahrnuje informace zohledňující v sobě jak nerovnoměrné přispění zakladatelů, tak případný efekt hrdla lahve i náhodný genetický drift (Lacy 1989; Lacy 1995). Genetická diverzita ztracená v populaci od generace zakladatele se dá odhadnout pomocí $1 - GD$. Ztrátu genetické diverzity v důsledku nerovnoměrných genetických příspěvků zakladatelů lze odhadnout podle: $1 - GD^*$, kde:

$$GD^* = 1 - \frac{1}{2f_e}$$

(Caballero & Toro 2000).

Rozdíl mezi GD a GD^* ukazuje na ztrátu genetické diverzity v důsledku genetického driftu, který se nahromadil od založení populace (Lacy 1995).

3.3.2 Molekulárně genetické metody

S rozvojem molekulárních metod se naskytl možnost studovat variabilitu genomu přímo analýzou DNA. Tak byly odhaleny polymorfismy DNA typu RFLP (restriction fragment length polymorphism), SNP (single nucleotide polymorphism), CNV (copy number variation) a podobně (Relichová 2015).

Při hodnocení genetické variability v populacích se zaměřujeme zprv na odhad polymorfních lokusů v dané populaci a zadruhé na podíl heterozygotních lokusů u typického jedince populace. Jelikož nelze zkoumat každý lokus v organismu, je studium omezeno na určitý reprezentativní vzorek lokusů a získané výsledky se extrapolují na populaci jako celek (Relichová 2015).

Tradičními genetickými metodami je možno odhalit pouze geny, které jsou známy alespoň ve dvou formách, kdy je přítomnost některého genu zjišťována křížením jedinců s různými formami znaku determinována daným genem. Pokud geny nemají dědičnou alternativu, není je možno testovat pouze za pomoci tradičních genetických metod. Při využití molekulárních metod je možné zjistit, zda je daný gen v populaci polymorfní (Relichová 2015).

Genetická informace zakódovaná v nukleotidové sekvenci DNA strukturních genů se v procesu translace přeměňuje ve sledy aminokyselin, v molekulární bílkoviny. Vezmeme-li ke sledování vzorek bílkovin, u kterých není předem známo nic o jejich variabilitě v populaci a prokáže se, že některá z bílkovin je shodná svým sledem aminokyselin například u sta náhodně vybraných jedinců v populaci, znamená to, že gen kódující tuto bílkovinu není v populaci polymorfní. Naopak pokud jsou nalezeny různé varianty některé bílkoviny, je daný gen v populaci polymorfní (Relichová 2015).

3.3.2.1 Polymorfizmus

Pro některé účely je polymorfizmus dostačující mírou genetické variability v populacích, jenže má určité nedostatky. Četnost alel se totiž může pohybovat od vysokých hodnot až po velmi vzácné alely s nízkou četností. Ke stanovení hodnoty hranice hodnoty četnosti alely, která je ještě považována za polymorfní, bylo zavedeno kritérium polymorfizmu. Jedním z často používaných kritérií je, kdy četnost nejrozšířenější alely nepřevyšuje 0,95. Pokud nejrozšířenější alela převyšuje četnost 0,95 lokus není považován za polymorfní.

Hranice může být nastavena i na četnost nejrozšířenější alely 0,99, potom se polymorfní stávají i lokusy, které by se při hranici 0,95 jevíly jako monofornní (Relichová 2015).

Polymorfizmus není přesnou mírou genetické variability také proto, že hodnotí lokusy s velmi malou četností alel, kromě jedné z nich, jako rovnocenné s těmi polymorfními lokusy, u kterých četnosti více alel mají podobné hodnoty. Při předpokladu, že na jednom lokusu se nacházejí alely s četnostmi 0,95 a 0,05 a na druhém lokusu 20 alel každá s četností 0,05, je zřejmé že genetická variabilita na druhém lokusu je mnohem větší než na prvním, i když podle kritéria polymorfismu 0,95 budou oba hodnoceny stejně, jako lokusy polymorfní (Relichová 2015).

3.3.2.2 Heterozygotnost

V současné době se využívá častěji, jako míra genetické variability heterozygotnost populace tzn. průměrná četnost jedinců heterozygotních v určitých lokusech. Na rozdíl od polymorfismu nezahrnuje v sobě tato míra elementy volnosti a nepřesnosti. Při odhadu heterozygotnosti populace se nejdříve stanoví četnosti jedinců heterozygotních v každém lokusu a následně se vypočítá průměr pro všechny lokusy (Relichová 2015).

Spolehlivost heterozygotnosti vyplývá z toho, že je mírou pravděpodobnosti, že dvě alely daného lokusu náhodně vybrané z genofondu populace se projeví jako rozdílné. To ale platí jen pro populace s náhodným oplozením, proto se provádí výpočet očekávané heterozygotnosti. Ta se stanoví z četností alel za předpokladu, že oplození je náhodné. Při předpokladu, že v populaci existují čtyři alely určitého lokusu s četností p_1 , p_2 , p_3 a p_4 , budou očekávané četnosti homozygotů při náhodném oplození p_1^2 , p_2^2 , p_3^2 a p_4^2 . Očekávanou heterozygotnost na daném lokusu lze tedy vypočítat podle vzorce:

$$H_e = 1 - (p_1^2 + p_2^2 + p_3^2 + p_4^2)$$

Jestliže četnosti alel daného lokusu budou například 0,5; 0,3; 0,1 a 0,1, pak očekávaná hodnota heterozygotnosti bude 0,64 (Relichová 2015).

3.3.2.3 Polymorfizmus délky restrikčních fragmentů DNA

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) a AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism) jsou metody patřící mezi restrikční analýzy a jsou založeny na rozpoznání určité konkrétní sekvence vybranými restrikčními endonukleázami, které rozpoznávají určité konkrétní sekvence a v tom místě molekulu DNA přerušují. Následnou metodou gelové elektroforézy jsou detekovány fragmenty DNA různých velikostí, které jsou specifické pro daného jedince. Metoda AFLP je navíc kombinovaná s polymerázovou řetězovou reakcí (PCR – Polymerase Chain Reaction), kdy dojde k namnožení DNA fragmentů vybraných pomocí kombinace primerů. Tím je výrazně usnadněna jejich detekce. Výhodou obou metod je, že není potřeba předem znát žádnou sekvenci studovaného genotypu (Holubec et al. 2018).

3.3.2.4 SNP (Single Nucleotide Polymorphism)

Tato metoda je založena na faktu, že se mohou plemena či jedinci mezi sebou lišit v dané pozici genu pouze v jediném nukleotidu, který může mít dopad na některý hospodářsky důležitý znak (Clark et al. 2003). Tato jednobodová mutace může být detekována mnoha metodami. Nejlevnější metodou je prostá amplifikace cílové oblasti s tím, že primery se váží tak, aby došlo k amplifikaci pouze jedné z variant. Dražší metodou je opět amplifikace cílového úseku DNA a následná aplikace restriční endonukleázy, která přeruší vlákno DNA ve specifickém místě přesně podle přítomnosti či nepřítomnosti daného nukleotidu. Na následném elektroforetogramu jsou pak vidět buď kratší produkty štěpení nebo jeden původní nerozštěpený úsek DNA. Dalšími metodami jsou různé modifikace amplifikace nebo hybridizace, které vycházejí z faktu, že k alele obsahující v daném místě nukleotid „A“ se dokonale hybridizuje pouze alela obsahující nukleotid „T“. Míra hybridizace je detekována několika metodami. Dražší metody vyžadují obvykle speciální zařízení např. zařízení pro NGS, DNA čipy apod. Nicméně přes svou finanční nákladnost má tato metoda pro studium biodiverzity a popis genetických zdrojů význam a její význam ještě vzroste po nalezení většího množství jednobodových mutací markerujících důležité hospodářské znaky (Guo et al. 2014).

3.3.2.5 Specifické markery

Specifické markery jsou velmi ceněny šlechtiteli. Jejich vývoj je nejsnazší tam, kde je daný znak podmíněn pouze jedním genem. A protože takových znaků mnoho není, není dosud k dispozici ani mnoho specifických markerů. Ačkoli je jejich vývoj obvykle složitý a dlouhotrvající, jejich používání je jednoduché. Je založeno na PCR reakci s primery, které zaručují specifitu, přesnost a spolehlivost analýzy. Následnou elektroforézou jsou detekovány výsledné produkty PCR. Z hlediska práce s genetickými zdroji jsou zatím specifické markery uplatňovány jen omezeně, zejména protože jich ani není mnoho k dispozici. Většina důležitých hospodářských znaků je totiž založena polygenně, a proto mnohé publikované markery mají vypovídací hodnotu jen v rámci mapovacích populací, ve kterých byly vyvinuty (Leišová-Svobodová 2018).

3.3.2.6 Analýza mikrosatelitů

Analýza mikrosatelitů (SSR – Simple Sequence Repeat) je založena na detekci alelických variant úseků DNA, které obsahují repetitivní sekvence, např. „TCTCTCT...“, které snáze podléhají mutacím v důsledku chyb transkripce. Proto se vyznačují vysokou mírou variability i v rámci druhu a jsou specifické pro danou odrůdu či individuum. Proto se využívají při určování paternity zvířat i lidí nebo v kriminalistice. U rostlin a živočichů jsou využívány ke studiu biodiverzity, k charakterizaci odrůd a plemen a jejich identifikaci a ochraně. Další výhodou analýzy mikrosatelitů je jejich kodominantní charakter, kdy lze detekovat jak homozygotní, tak i heterozygotní sestavu alel. Analýza je vysoce reprodučibilní a spolehlivá. Proto se při práci s genetickými zdroji využívá dosud zdaleka nejčastěji pro studium biodiverzity a pro různé mapovací a populační studie (Roussel et al. 2005; Leisova-Svobodova et al. 2014; 2018).

Analýza mikrosatelitů probíhá jako individuální PCR reakce s primery buď specifickými pro úsek před a za mikrosatelitní oblastí, pak je detekován délkový polymorfismus daného mikrosatelitu. Druhou možností je užití primerů přímo opakujícího se mikrosatelitu, kdy je detekován délkový polymorfismus oblasti mezi mikrosatelity. Pro následnou gelovou elektroforézu se obvykle využívají sekvenátory, protože mají lepší rozlišovací schopnost a je možno analyzovat multiplexově obvykle čtyři reakce v jednom vzorku. Význam analýzy mikrosatelitů do budoucna pravděpodobně neporoste, ale zůstane spolehlivou metodou základní charakterizace genetických zdrojů organismů (Roussel et al. 2005; Leisova-Svobodova et al. 2014; 2018).

3.3.2.7 Běhy homozygotnosti ROH (running of homozygotity)

Jedním z důležitých parametrů při zkoumání příbuzenské plemenitby na úrovni populace je detekce běhů homozygotnosti. Dlouhé úseky homozygotního genomu (ROH) s největší pravděpodobností vznikají, když je jedinec potomkem příbuzných jedinců. Když se spáříli příbuzní jedinci, potomci nesou dlouhé části genomu, které jsou homozygotní a identické svým původem (*IBD*). Dlouhé ROH jsou s největší pravděpodobností odvozeny od nedávného předka, zatímco kratší, od vzdálenějšího předka. Výpočet toho, jak moc se genom jednotlivce vyskytuje jako ROH konkrétních délek (např. >1 Mb, >2 Mb a >4 Mb), poskytuje informace o úrovních inbreedingu ve vztahu k referenční populaci a konkrétním počtem generací před sledovanou populací (Curik et al. 2014). Podle Sams & Boyko, (2019) jsou i krátké běhy homozygotnosti užitečné pro výpočet metrik inbreedingu jako je např. koeficient příbuzenské plemenitby odhadnutý z ROH (F_{ROH}).

3.3.2.8 Alelová bohatost

Počet alel ve vzorku (alelová bohatost) je základním měřítkem genetické diverzity. Toto měření diverzity však bývá obtížné použít, protože se očekává, že velké vzorky budou obsahovat více alel než malé vzorky (Kalinowski 2005). Při hodnocení alelové bohatosti v souboru populací je zapotřebí, aby byly brány v úvahu variace velikosti vzorku. Jedním ze způsobů, jak toho dosáhnout, je odhadnout počet alel očekávaných ve vzorcích specifikované velikosti pomocí metody ředění používané v ekologii (Foulley & Ollivier 2006). Statistická technika zředování kompenzuje tento výběrový rozdíl (Kalinowski 2005).

3.3.2.9 Polymorfnní informační obsah *PIC*

Polymorfnní informační obsah měří schopnost markeru detekovat polymorfismy, a proto má obrovský význam při výběru markerů pro genetické studie. Čím vyšší je jeho schopnost detekovat polymorfismus mezi jednotlivci populace, tím větší je jeho hodnota. Rozlišujeme použití *PIC* pro dominantní a kodominantní markery (Serrote et al. 2020).

Hodnoty *PIC* pro kodominantní markery se pohybují od 0 (monomorfnní) do 1 (velmi vysoce informativní s několika alelami se stejnou frekvencí). Podle Botsteina et al. (1980), markery s hodnotami *PIC* vyššími než 0,5 jsou považovány za velmi informativní, hodnoty mezi 0,25 a 0,5 jsou poněkud informativní a hodnoty nižší než 0,25 nejsou příliš informativní. Například marker, který odhaluje šest alel, ale je zjištěno, že jedna z alel má velmi vysokou frekvenci, má nižší rozlišovací schopnost než marker se šesti alelami, ale s podobnými

frekvencemi (Smith et al. 1997). Pro genetické studie se proto spíše doporučují markery s hodnotami PIC nad 0,5, zatímco markery pod 0,25 se nedoporučují (Serrote et al. 2020).

U dominantních markerů hodnota PIC udává pravděpodobnost nalezení tohoto markeru ve dvou různých stavech buď přítomný nebo nepřítomný u dvou náhodně vybraných jedinců v populaci. Jeho hodnota se pohybuje od nuly pro monomorfní markery do 0,5 pro markery přítomné u 50 % jedinců a nepřítomné u zbývajících 50 %. Protože tyto markery mají pouze dvě možné alely, je definice PIC podobná heterozygotnosti. V dominantních markerech zpracováváme binární matici přítomnosti a nepřítomnosti pásů jako výsledek polymorfismu odhaleného markerem. Pokud uvažíme frekvenci pásem přítomných jako p a frekvenci nepřítomných jako q , můžeme stanovit následující obecnou rovnici pro odhad obsahu informací o polymorfismu (Serrote et al. 2020).

$$PIC = 1 - (p^2 + q^2)$$

Tato rovnice uvažuje polymorfismus založený na frekvencích homozygotních jedinců pro Hardy-Weinbergovu rovnováhu, je to zjednodušená rovnice pro rychlý výpočet PIC (Serrote et al. 2020). Serrote et al. (2020) navrhuje následující klasifikaci informativnosti pro dominantní markery na základě hodnot PIC : nízká (0 až 0,10), střední (0,10 až 0,25), vysoká (0,30 až 0,40) a velmi vysoká (0,40 až 0,50).

3.4 Srovnání studií genetické diverzity u NO

3.4.1 Příbuzenská plemenitba a příbuzenské vztahy v populaci německých ovčáků v oblasti Krakova

(Kania-Gierdziewicz et al. 2011) publikovali studii zabývající se hodnotami koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti u německých ovčáků v Polsku v oblasti Krakova.

Pro tuto studii byly využity čtyřgenerační rodokmeny 60 německých ovčáků (17 psů a 43 fen) narozených v letech 1994 až 2005 a registrovaných v Krakově pod pobočkou Polského kynologického svazu. Byly vypočteny koeficienty příbuzenské plemenitby (F_x) zvláště pro všech 60 psů. Hodnoty koeficientů inbreedingu byly rozděleny podle hodnot do čtyř skupin viz Tab. č. 1 (Kania-Gierdziewicz et al. 2011).

Tab. č. 1 Hodnoty inbreedingu F_x (Kania-Gierdziewicz et al. 2011)

| Hodnota inbreedingu F_x | Celkem psů | Z toho fen | Z toho psů |
|---------------------------|------------|------------|------------|
| 0 % | 6 | 1 | 5 |
| 0 % - 1,5 % | 39 | 11 | 28 |
| 1,5 – 6,5 % | 14 | 4 | 10 |
| > 6,5 % | 1 | 1 | 0 |

Koeficient příbuznosti (r_{XY}) pro všechny páry psů, a také pro páry pes a fena, byl odhadnut algoritmem s rekurzivní modifikací podle (Tier 1990), který využívá opakovatelnosti

některých částí výpočtů koeficientů inbreedingu a příbuznosti. Hodnoty koeficientů příbuznosti jsou uvedeny v tabulce č. 2 (Kania-Gierdziewicz et al. 2011).

Tab. č. 2 Hodnoty koeficientu příbuznosti r (Kania-Gierdziewicz et al. 2011)

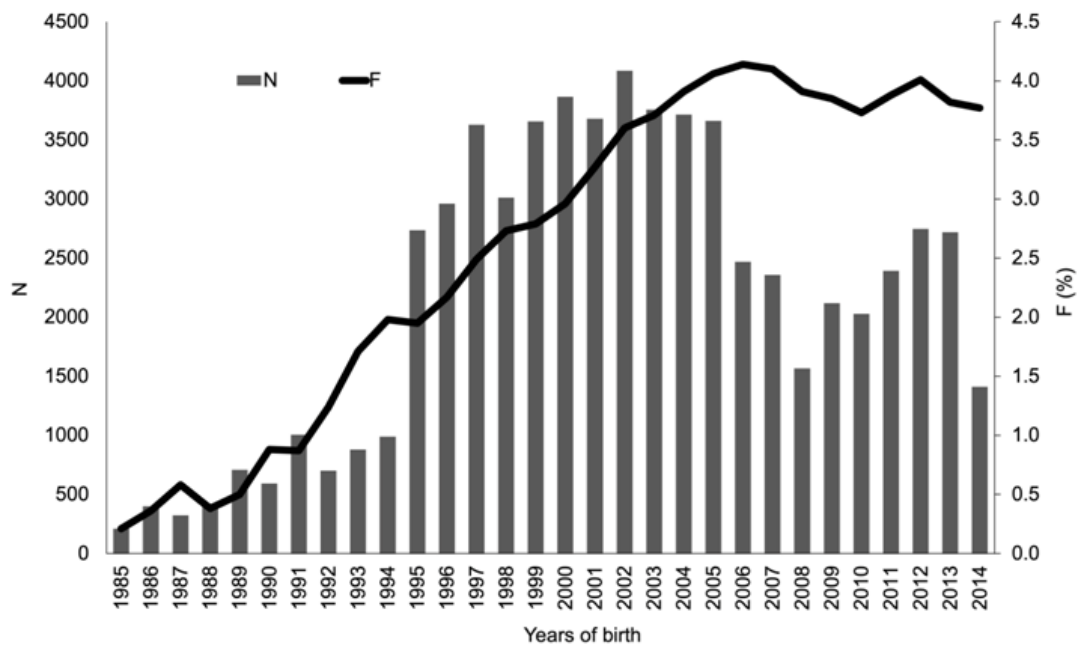
| Porovnání | Počet párů | Průměrný r_{XY} v % | Rozmezí hodnot r_{XY} v % |
|----------------------|------------|-----------------------|-----------------------------|
| Fena x pes | 731 | 4,33 | 0 – 51,69 |
| Nezávisle na pohlaví | 1770 | 3,91 | 0 – 51,79 |

Ze všech 60 psů bylo 54 inbredních (90 %). Průměr hodnoty F_x byl pro všechny psy 1,3 % a pro inbrední psy 1,4 %. Ve skupině 17 samců bylo 16 inbredních (přes 94 %) a ve skupině 43 samic 38 inbredních (88,4 %). Z celkově sestavených 1770 párů bylo přibližně 98,9 % párů příbuzných. Pro všechny páry byla hodnota r_{XY} 0,0391 a z celkového počtu 731 párů pes a fena bylo 99,2 % příbuzných. Průměrná hodnota r_{XY} u párů pes a fena byla 0,0433. V takové situaci je nutné monitorovat populaci krakovského německého ovčáka a provádět řádné krycí plány, aby se zabránilo dalšímu nárůstu příbuzenské plemenitby a příbuzenských vztahů (Kania-Gierdziewicz et al. 2011).

3.4.2 Genetická diverzita Německého ovčáka pomocí analýzy původu

Rozsáhlou studii genetické diverzity u německých ovčáků publikovali Bignardi & Santana-Júnior (2023), jejichž cílem bylo vyhodnotit stav genetické diverzity a populační strukturu německého ovčáka pomocí analýzy původu. Rodokmen brazilských německých ovčáků, který zahrnuje 77 938 zvířat narozených v letech 1970 až 2014, byl získán od „Sociedade Brasileira de Cães Pastores Alemães“ (SBCPA). Všechny parametry populace byly vypočteny pomocí analýzy původu, přičemž celá a referenční populace byla definována jako zvířata narozená v letech 2010 až 2014 (11 299 jedinců). Analýzy rodokmenu byly provedeny pomocí softwaru PEDIG (Boichard 2002) a CFC (Sargolzaei et al. 2006).

Průměrný generační interval v této populaci činil 3,9 roku. Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby (F_{IT}) zjistili Bignardi & Santana-Júnior (2023) pod 2 %, což pravděpodobně souvisí se změnami informací v rodokmenech. Koeficient příbuzenské plemenitby dosáhl maximální hodnoty 4 % v roce 2006 a zůstal téměř konstantní až do roku 2014, kdy byla jeho hodnota 3,8 % viz Obr. č. 3. Tento nárůst byl způsoben zejména zvyšujícím se množstvím rodokmenových dat. Téměř všichni psi byli inbrední. V populaci od roku 1970 do roku 2014 bylo celkem 74,69 % inbredních psů ($F_x > 0$) a v populaci od roku 2010 do roku 2014 to bylo už 96,34 % psů (Bignardi & Santana-Júnior 2023).



Obr. č. 3 Vývoj koeficientu F u NO v čase (Bignardi & Santana-Júnior 2023)

V rámci studie Bignardi a Santana-Júnior (2023) byly vypočítány další parametry genetické diverzity, které jsou shrnuty v tabulce č. 3.

Tab. č. 3 Ukazatele genetické diverzity u dvou referenčních populací NO (Bignardi & Santana-Júnior 2023)

| Populace | Populace od r. 1970 | Populace od r. 2010 |
|---|---------------------|---------------------|
| Počet zvířat | 77 938 | 11 299 |
| Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby F_{IT} v % | 2,63 | 3,86 |
| Maximální koeficient příbuzenské plemenitby v % | 44,4 | 33,49 |
| Množství inbredních psů v % | 74,69 | 96,34 |
| Efektivní velikost populace vypočtená pomocí individuální míry příbuzenské plemenitby (N_{eFi}) | 104,7 | 105,8 |
| Celkový počet zakladatelů | 3 535 | 2 183 |
| Celkový počet předků | 18 793 | 10 690 |
| Efektivní počet zakladatelů (f_e) | 113,7 | 103,7 |
| Efektivní počet předků (f_a) | 106,39 | 40,4 |
| Poměr f_a/f_e | 0,94 | 0,39 |
| 1 - GD (%) | 2,34 | 2,92 |
| 1 - GD^* (%) | 0,44 | 0,48 |
| GD^* - GD (%) | 1,9 | 2,44 |
| F_{IS} (%) | 0,81 | 0,98 |

Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby psů byl označen F_{IT} . Současná průměrná příbuzenská plemenitba populace (F_{IT}) byla větší, než se očekávalo při náhodném páření. Hodnota F_{IS} , která měří odchylku kauzality při páření, byla vyšší než nula, což naznačuje, že příbuzenské páření překročilo očekávanou úroveň náhodného páření (Bignardi & Santana-Júnior, 2023).

Ve studii byly identifikováni oblíbení samci (definovaní jako > 100 zaznamenaných potomků) a oblíbené matky (> 40 potomků). Oblíbených otců bylo 102 (1,83 % samců), zatímco populárních matek bylo 39 (0,30 % matek). Nejoblíbenějšími otci a matkami v této studii byli Willy von der Ehrenfeste (556 záznamů o potomcích) a Cheer Aus Agrigento (55 záznamů o potomcích) (Bignardi & Santana-Júnior 2023). Calboli et al. (2008) provedli studii na psech německého ovčáka ze Spojeného království a uvedli 4 % oblíbených otců a 1 % populárních matek. Efekt populárního plemeníka je jedním z nejvýznamnějších přispěvatelů ke

snížení genetické diverzity, vzrůstající inbreedingové depresi a dědičným poruchám (Wellmann & Pfeiffer 2009; Leroy & Baumung 2011).

Odhadované parametry odvozené z pravděpodobnosti původu genu f_a a f_e byly relativně nízké. Bylo to pravděpodobně způsobeno intenzivním používáním několika psů jako chovných zvířat. Nejnižší poměr f_a/f_e indikoval efekt hrdla lahve v rodokmenu německého ovčáka v Brazílii (Bignardi & Santana-Júnior 2023). Cecchi et al. (2009) pozorovali podobný vzorec v poměru f_a/f_e u italské populace německých ovčáků. Efekty hrdla lahve v rodokmenech jsou běžným problémem domácích populací a přispěly ke snížení genetické diverzity (Huby et al. 2003).

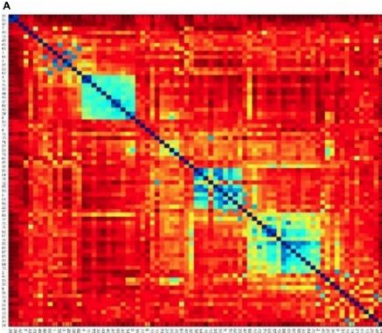
Nižší poměr f_a/f_e odráží vyšší dopad náhodného genetického driftu na ztrátu genetické diverzity v populaci. Přibližně 2,34 % genetické diverzity bylo ztraceno od první generace zakladatelů do roku 2014. V současné populaci od roku 2010 do roku 2014 byly ztraceny téměř 3 % genetické diverzity. Vzhledem k celé populaci bylo přibližně 19 % ztráty způsobeno nerovnoměrným podílem zakladatelů a zbývajících 81 % bylo způsobeno genetickým driftem. Tyto výsledky naznačují, že genetický drift je běžnou příčinou ztráty genetické diverzity u psů a zároveň potřebu přijmout opatření proti nadměrnému nárůstu inbreedingu a monitorovat efektivní velikost populace, aby se minimalizovala ztráta genetické diverzity (Bignardi & Santana-Júnior 2023).

3.4.3 Vizualizace genomové diverzity u německých ovčáků

Další studii zaměřenou na německé ovčáky publikovali Mortlock et al. (2015). Tato studie se zabývala genetickými vztahy u 82 psů. Bylo vybráno 28 psů a 54 fen z 50 různých chovatelských stanic ve věku od jednoho roku do deseti let. Všichni psi byli čistokrevní němečtí ovčáci z Austrálie. Psi byli identifikováni pro studii prostřednictvím Ligy německých ovčáků v Novém Jižním Walesu a na národních mistrovských výstavách. Cílem této studie bylo především přehledně prezentovat data genetických vztahů pomocí tzv. sítě Net-View, která umožňuje detekovat různé populační shluky v jednotlivých subpopulacích (Mortlock et al. 2015).

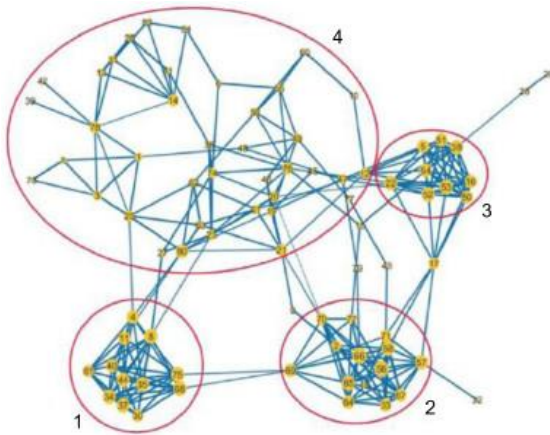
K vytvoření tohoto modelu genetických vazeb vedl složitý postup. Nejprve musely být postupy schváleny Výborem pro etiku zvířat Univerzity v Sydney podle příslušných protokolů. Následoval odběr krevních vzorků a Genomová DNA byla izolována z leukocytové frakce. Počáteční měření kvality a koncentrace DNA bylo odhadnuto měřením optické hustoty pomocí spektrofotometrie. Genotypizace DNA byla provedena pomocí SNP čipu s vysokou hustotou, který poskytl komplexní pokrytí celého genomu pomocí 173 650 rovnoměrně rozmístěných jednonukleotidových polymorfismů (SNP). Rozsáhlá molekulárně genetická data včetně dat SNP, musela být nejprve zpracována pro kontrolu kvality a upravena pomocí softwaru PLINK, aby se odstranily anomálie. Proto byla následná analýza provedena na zbylých 89 265 SNP pro všechny psy (Mortlock et al. 2015).

Pomocí výpočtů vzdálenosti sdílení alely byla sestavena matice genetické vzdálenosti opět pomocí nástrojů v sadě PLINK. Výsledná matice vzdálenosti byla použita jako vstup pro výpočet sítě a byla vizualizována pomocí barevně kódované tepelné mapy viz obrázků (Mortlock et al. 2015).



Obr. č. 4 Tepelná mapa zobrazující matici vztahů německého ovčáka (Mortlock et al. 2015)

Přítomnost tří populačních shluků je patrná ve světle modrém zbarvení. Matice vztahu německých ovčáků byla využita jako vstup pro výstavbu sítě v softwarovém programu Sorting Points into Neighborhoods a tento výstup byl ještě následně začleněn do softwarové platformy Cytoscape pro kompletní vizualizaci sítě viz Obr. č. 5 (Mortlock et al. 2015).



Obr. č. 5 Graf síťové vizualizace zobrazující genetické vztahy a stupeň příbuznosti mezi jednotlivými NO (Mortlock et al. 2015)

Graf síťové vizualizace vytvořený Cytoscape vykresluje genetické vztahy a stupeň příbuznosti mezi jednotlivými německými ovčáky na základě dat SNP. Jednotlivci jsou reprezentováni jako uzly a čáry mezi psy představují vztahy. Tři populační shluky jsou patrné díky kolokaci a silnějším liniím mezi příbuznými jedinci úměrné genetické vzdálenosti. V rámci studie byla také zjištěna efektivní velikost populace, kdy ze vzorku 82 psů byla $N_e = 43$ (Mortlock et al. 2015).

Vizualizace odráží přesné měření vztahu mezi dvěma zvířaty z molekulárních dat. Obvykle to vytváří složitou matici nebo analýzu, kterou je obtížné znázornit v jednoduchém formátu. Vizualizace komplexních dat má tu výhodu, že poskytuje okamžitý zdroj informací o spektru diverzity napříč subpopulací nebo dokonce napříč celou populací existujících psů v rámci plemene (Mortlock et al. 2015).

3.4.4 Srovnávací populační genetika německého ovčáka v Jižní Africe

Coutts a Harley (2010) publikovali studii zaměřenou na srovnání genetické diverzity pomocí molekulárních metod v rámci dvou populací německých ovčáků z Německa a z Jižní

Afriky a dále s původními kříženci z Jižní Afriky. Pro tuto studii bylo vybráno 28 čistokrevných NO z Německa, 78 čistokrevných NO z Jižní Afriky a 156 outbredních psů z Jižní Afriky. Analyzováno bylo celkem 15 polymorfních psích lokusů, čtyři mikrosatelitní markery byly vybrány z Projektu psího genomu, Centra pro výzkum rakoviny Hutchinson a dalších 11 bylo vybráno z International Society of Animal a genetického panelu pro ověření psího původu (Coutts & Harley 2010).

Populace německých ovčáků vykazovaly nižší počet alel na lokus, nižší průměr pozorované a očekávané heterozygotnosti a nižší hodnoty PIC , což ilustruje ztrátu diverzity u tohoto plemene oproti outbredním psům. Dále byla vypočítána hodnota F_{IS} . Následující údaje jsou shrnuty v tabulce č. 4 (Coutts & Harley 2010).

Tab. č. 4 Srovnání genetické diverzity u dvou populací NO a kříženců (Coutts & Harley 2010)

| | NO Jižní Afrika | NO Německo | Kříženci Jižní Afrika |
|---------------------|-----------------|------------|-----------------------|
| Počet psů | 73 | 28 | 156 |
| Počet alel na lokus | 5,4 | 5,5 | 9,9 |
| H_e | 0,61 | 0,615 | 0,831 |
| H_o | 0,585 | 0,595 | 0,748 |
| F_{IS} | 0,051 | 0,053 | 0,104 |
| PIC | 0,562 | 0,568 | 0,811 |

První německý ovčák byl do Jižní Afriky přivezen roku 1913. Od té doby do roku 1919 bylo v registru evidováno pouze 43 psů, 72 psů do roku 1935, do roku 1945 jich bylo registrovaných 354 a do roku 1955 registr čítal 649 psů. Takto malá velikost populace by měla za následek rychlý genetický drift ovlivňující frekvence alel a nevyhnutelné vysoké hladiny inbreedingu by způsobily další ztrátu diverzity. Bottle-neck efekt u německých ovčáků chovaných v Jižní Africe byl patrný (Coutts & Harley 2010).

Přestože autoři očekávali vyšší stupeň heterozygotnosti u populace z Německa, přímé srovnání mezi těmito dvěma populacemi však odhalily srovnatelné úrovně genetické diverzity a nevýznamnou genetickou diferenciaci. Zdánlivě neovlivněná heterozygotnost jihoafrické populace NO je však důsledkem skrytého přebytku heterozygotnosti v současné populaci. To nasvědčuje rozsáhlé úrovni toku genů, která byla v nedávné době usnadněna importem chovaných zvířat z Německa (Coutts & Harley 2010).

Jak populace psů z Německa, tak němečtí ovčáci z Jižní Afriky, vykazovali podobnou úroveň genetické diverzity. Plemeno je charakterizováno pouze mírnou ztrátou genetické diverzity ve srovnání s outbredními psy, a to navzdory tomu, že pochází z jediného zakladatele a v historii plemene prošlo rozsáhlou mírou inbreedingu (Coutts & Harley 2010).

3.4.5 Srovnání genetické diverzity německého ovčáka v rámci plemen

Většina studií zaměřených na genetickou diverzitu psů porovnává jednotlivá plemena mezi sebou. Tak jako v jedné z australských studií Shariflou et al. (2011), která je zaměřena na genealogickou analýzu 32 registrovaných psích plemen. Studie Shariflou et al. (2011) zahrnovala malé i velké registry plemen, z nichž nejpočetnějším byl registr německého ovčáka, který čítal 252 521 jedinců. Údaje o původu byly poskytnuty Australskou národní kynologickou radou. V genealogické analýze byla jako referenční populace použita zvířata se známými rodiči narozená v letech 2000 až 2009 včetně. Úplnost informací o původu byla určena ekvivalentními kompletními generacemi (EqG) v referenční populaci. U německého ovčáka byla hodnota $EqG = 4,8$. Nejnižší hodnotu ekvivalentní kompletní generace mělo plemeno Polský nížinný ovčák a to 1,7 a nejlépe vedený rodokmen byl zaznamenán u Australského teriéra s hodnotou $EqG = 10,1$. Další nejvyšší hodnota $EqG = 9,7$ byla také naměřena u plemene původem z Austrálie, a to u Australského honáckého psa. Efektivní velikost populace (N_e) byla odhadnuta z míry příbuzenské plemenitby za generaci pomocí vzorce: $N_e = 1/2 \Delta F$. Hodnoty N_e se pohybovaly od 26 u ibizského chrtu do 1090 u zlatého retrívra. U německého ovčáka byla zjištěna efektivní velikost populace 250 (Shariflou et al. 2011)

Tab. č. 5 Porovnání hodnot EqG a N_e v rámci plemen (Shariflou et al. 2011)

| Plemeno | Referenční populace | EqG | N_e |
|------------------------|---------------------|-------|-------|
| Německý ovčák | 34 870 | 4,8 | 250 |
| Zlatý retrívr | 31 834 | 6,7 | 1090 |
| Polský nížinný ovčák | 12 | 1,7 | 69 |
| Ibizský chrt | 54 | 3,4 | 26 |
| Australský honácký pes | 10 956 | 9,7 | 57 |
| Australský teriér | 3 352 | 10,1 | 49 |

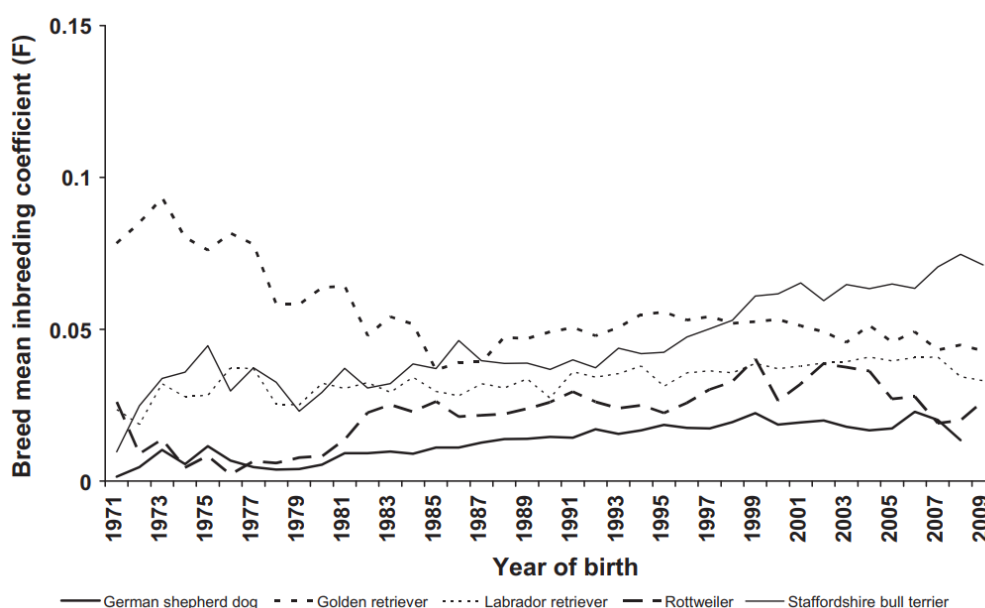
Počet pozorovaných zakladatelů (f) se pohyboval od 12 u středoasijského pasteveckého psa do 1893 u německého ovčáka, zatímco počet efektivních zakladatelů (f_e) se pohyboval od 8 u ibizského chrtu do 258 u plemene kavalír king Charles španěl. Pro efektivní počet předků (f_a) byly zjištěny srovnatelné výsledky jako v předchozích studiích (Leroy et al. 2006; Mäki). Podle očekávání byl počet pozorovaných zakladatelů (f) větší, než počet efektivních zakladatelů (f_e) u všech plemen, přičemž druhý termín udává počet zakladatelů, kteří by mohli vysvětlit pozorovanou genetickou diverzitu, pokud by každý zakladatel přispěl stejným dílem. Poměr (f_e/f) je relativně vysoký (průměr 0,5) u plemen s malým registrem, ale zhruba poloviční u plemen s většími registry. Je evidentní, že příspěvek zakladatele byl více nerovnoměrný u plemen s většími registry než u plemen s menšími registry. Průměrný poměr (f_a/f_e) pohyboval okolo hodnoty 0,5 bez ohledu na velikost sledované populace. Geografická izolace Austrálie od původních zemí většiny psích plemen předpovídá, že všechna plemena nemístního původu by měla být omezena efektem hrdla lahve. Avšak u některých importovaných plemen např. hladkosrsté kolie a německého ovčáka byla hodnota (f_a/f_e) vyšší než u původního australského

honáckého psa a australského teriéra. Porovnání koeficientů zakladatelů a předků u jednotlivých plemen je znázorněno v tabulce č. 6 (Shariflou et al. 2011).

Tab. č. 6 Porovnání koeficientů zakladatelů a předků v rámci plemen (Shariflou et al. 2011)

| Plemeno | f | f_e | f_a | f_e / f | f_a / f_e |
|---------------------------------|------|-------|-------|-----------|-------------|
| Německý ovčák | 1893 | 91 | 71 | 0,05 | 0,78 |
| Středoasijský pastevecký pes | 12 | 9 | 6 | 0,75 | 0,67 |
| Kavalír king charles španěl | 836 | 258 | 113 | 0,31 | 0,44 |
| Ibizský chrt | 15 | 8 | 4 | 0,53 | 0,5 |
| Krátkosrstá kolie | 135 | 48 | 36 | 0,36 | 0,75 |
| Australský teriér | 298 | 42 | 25 | 0,14 | 0,6 |
| Australský honácký pes | 546 | 87 | 59 | 0,16 | 0,68 |

Po založení registrů vykazovala většina plemen u většiny psů alespoň určitou úroveň příbuzenské plemenitby. Ve studii Shariflou et al. (2011) jsou za inbrední psy považováni psi s jakýmkoli známým společným původem mezi rodiči. Tento společný původ může být dost vzdálený, i když omezený hloubkou rodokmenu (E_{qG}). U devatenácti z 32 plemen je trend poklesu průměrného koeficientu inbreedingu po roce 2000. Kromě středoasijského ovčáckého psa, u kterého nebyli v datech pozorováni žádní inbrední jedinci, všech zbývajících 31 plemen vykazovalo alespoň určité úrovně příbuzenské plemenitby. Vývoj koeficientu příbuzenské plemenitby je u vybraných plemen znázorněn na Obr. č. 6 (Shariflou et al. 2011).



Obr. č. 6 Porovnání křivek koeficientu inbreedingu (F) v čase (Shariflou et al. 2011).

(Označení křivky zleva: německý ovčák, zlatý retrívr, labradorský retrívr, rotvajler a stafordširský bulteriér, na ose x rok 1971 – 2009 a na ose y hodnota koeficientu inbreedingu nepřevedena na %)

Ve studii Shariflou et al. (2011) byl zjišťován průměrný koeficient příbuzenské plemenitby i nárůst či pokles inbreedingu v čase. Příklady hodnot koeficientů inbreedingu u vybraných plemen jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Tab. č. 7 Porovnání koeficientů příbuzenské plemenitby (Shariflou et al. 2011)

| Plemeno | F (%) | $F \leq 10$ % | ΔF v celé populaci | ΔF v referenční populaci | Změna ΔF |
|-------------------------|---------|---------------|----------------------------|----------------------------------|------------------|
| Německý ovčák | 1,2 | 0,96 | 0,002 | -0,001 | Pokles |
| Bišon | 10,1 | 0,61 | 0,010 | -0,012 | Pokles |
| Labradorský retrívr | 3,4 | 0,89 | 0,003 | -0,001 | Pokles |
| Zlatý retrívr | 5,1 | 0,82 | 0,000 | -0,004 | Pokles |
| Rotvajler | 2,5 | 0,91 | 0,003 | -0,006 | Pokles |
| Stafordširský bulteriér | 5,2 | 0,81 | 0,005 | 0,005 | Žádná změna |
| Lakeland teriér | 6,1 | 0,73 | 0,009 | 0,030 | Rychlejší nárůst |

Jedním ze způsobů, jak zabránit nadměrnému nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby, je zabránit páření mezi blízkými příbuznými. Úzká příbuzenská plemenitba 1. stupně (kdy dochází ke spojení otce s dcerou, matky se synem nebo bratra se sestrou) ze všech příbuzných spojení napříč plemeny byla zjištěna 2,6 %. Příbuzenská plemenitba 2. stupně, tzn. na jednu volnou generaci byla zjištěna v 9,8 % případů. U zbylých 87,6 % šlo o příbuzenskou plemenitbu alespoň na dvě volné generace a vzdálenější. Průměrné procento páření prvního stupně (2,6 %) je zajímavé v souvislosti s tím, že tento typ páření byl v roce 2009 zakázán Kennel Clubem ve Spojeném království s následným tlakem na podobný zákaz v Austrálii. Zatímco dobře známé nežádoucí důsledky takového páření postačují k ospravedlnění podobného zákazu v Austrálii, relativně nízký výskyt páření prvního stupně naznačuje, že obecně se australští chovatelé takovému páření vyhýbají (Shariflou et al. 2011).

Analýza úplných údajů o původu pro 32 australských plemen psů je v široké shodě s jinými národními analýzami struktury plemene psů, které ukazují, že průměrný koeficient příbuzenské plemenitby je typicky pod 10 % pro jednotlivá plemena. Efektivní velikosti populace jsou často nižší než ideální a často se prokazují nerovnoměrné genetické příspěvky zakladatelů. Analýza chování chovatelských stanic ukazuje, že 91 % všech chovatelských stanic uvedených v datech dodržuje relativně bezrizikové chovatelské praktiky tím, že se vyhýbá nadměrnému využívání populárních psů a blízké příbuzenské plemenitbě. Plemena s registrací nižší než 25 000 psů jsou ve srovnání s běžnějšími plemeny ohrožena zvýšenou mírou

příbuzenské plemenitby. Obecně se zdá, že míra inbreedingu v posledních letech klesá, což je pravděpodobně způsobeno rostoucím povědomím o genetických principech a lepším přístupem ke genealogickým zdrojům, jako jsou webové prohlížeče rodokmenů psů (Shariflou et al. 2011).

Další studie srovnávající genetickou diverzitu v rámci plemen tentokrát z pohledu molekulární genetiky je zaměřena na populární plemena psů ve Velké Británii. Ve studii Mellanby et al. (2013) byla zkoumána struktura populace a genetická diverzita třinácti plemen psů a kříženců. Skupina zvířat použitá v této studii představuje populaci veterinární kliniky a přiřazení k plemeni bylo založeno na zprávě majitele nebo posouzení veterináře. Výsledky genotypu pro 15 mikrosatelitních markerů byly načteny do programu Structure. Bylo detekováno dvanáct subpopulací reprezentující jednotlivá plemena, ve kterých většina jedinců vykazovala < 10 % příspěvek od jiných subpopulací. Výjimkou bylo plemeno jack russell teriér, které bylo stejně různorodé jako kříženci a netvořilo soudržnou skupinu. Genetická diverzita byla také zkoumána pomocí úrovně příbuzenské plemenitby F_{IS} a pozorovaných a očekávaných heterozygotností H_o a H_e viz Tab. č. 8 (Mellanby et al. 2013).

Tab. č. 8 Srovnání genetické diverzity plemen z Velké Británie (Mellanby et al. 2013)

| plemeno | H_e | H_o | F_{IS} | F_{ST} |
|----------------------------|-------|-------|----------|----------|
| Německý ovčák | 0,54 | 0,52 | 0,041 | 0,23 |
| Boxer | 0,51 | 0,51 | - 0,003 | 0,26 |
| West highland white teriér | 0,52 | 0,49 | 0,058 | 0,26 |
| Jack russell teriér | 0,76 | 0,75 | 0,016 | 0,11 |
| Jorkširský teriér | 0,66 | 0,73 | -0,093 | 0,16 |
| Rotvajler | 0,55 | 0,47 | 0,172 | 0,24 |
| Zlatý retrívr | 0,6 | 0,54 | 0,114 | 0,2 |
| Kříženec | 0,76 | 0,73 | 0,033 | 0,1 |

Pozitivní hodnoty F_{IS} ukazují na příbuzenskou plemenitbu a vysoké úrovně heterozygotnosti svědčí o značném outbreedingu. Nejrozmanitějšími skupinami byli kříženci a jack russell teriéři, těsně následováni jorkširskými teriéry, zatímco nejinbrednějšími plemeny byli zlatý retrívr a rotvajler. Nejnižší heterozygotnost byla zjištěna u boxerů, německých ovčáků a west highland white teriérů. Relativní genetické vzdálenosti mezi plemeny byly zkoumány výpočtem středních párových hodnot F_{ST} pro každé plemeno, vysoká hodnota F_{ST} mezi dvěma populacemi ukazuje, že jsou reprodukčně oddělené. Všechna párová srovnání mezi skutečnými plemeny ukázala významné hodnoty F_{ST} , což potvrzuje očekávané snížení toku genů mezi plemeny v důsledku oddělení chovných linií. Nejvíce se odlišovala plemena boxer a west highland white teriér. Nejméně odlišnou skupinou byla skupina kříženců, těsně následovaná skupinou jack russell teriérů (Mellanby et al. 2013).

Většina plemen včetně německého ovčáka vykazovala vysokou úroveň homozygotnosti ve srovnání s kříženci (Mellanby et al. 2013). Přestože byl u německého ovčáka zjištěn nejvyšší počet genetických poruch (69) nebyla nalezena korelace mezi nízkými heterozygotnostmi nebo

vysokými koeficienty příbuzenské plemenitby a počtem nebo závažností dědičných stavů uváděných ve studii (Asher et al. 2009).

Německý ovčák je v České republice nejpočetnějším plemenem. Za rok 2020 bylo v plemenné knize zapsáno 4621 psů a za rok 2021 se stav ještě navýšil a registrováno bylo 5786 psů. V počtu registrací za rok 2021 následovala plemena jezevčík, stafordširský bulteriér, labradorský retrívr, border kolie, čivava, australský ovčák, zlatý retrívr, jorkširský teriér, belgický ovčák – malinois (Panýrková 2022), přičemž osm z těchto plemen bylo zahrnuto do rozsáhlé studie genetické diverzity 61 plemen psů z Francie (Leroy et al. 2009). Genealogické rozbory byly provedeny pomocí rodokmenů francouzského chovatelského klubu a celkem 1514 psů bylo genotypováno pomocí 21 mikrosatelitních markerů. Srovnání genealogických a molekulárních dat na příkladu osmi plemen je uvedeno v tabulkách č. 9 a č. 10 (Leroy et al. 2009).

Tab. č. 9 Rodokmenová analýza osmi plemen chovaných v ČR (Leroy et al. 2009)

| Plemeno | F (%) | Φ (%) | f_e | f_a |
|---------------------------|---------|------------|-------|-------|
| Německý ovčák | 1,8 | 0,7 | 152 | 129 |
| Jezevčík hladkosrstý | 5 | 1,1 | 241 | 78 |
| Labradorský retrívr | 2,2 | 0,7 | 345 | 97 |
| Border kolie | 0,8 | 0,7 | 95 | 90 |
| Australský ovčák | 1,1 | 1,2 | 167 | 55 |
| Zlatý retrívr | 1,3 | 0,6 | 243 | 106 |
| Jorkširský teriér | 3,4 | 0,9 | 145 | 86 |
| Belgický ovčák – malinois | 4,3 | 2,1 | 106 | 44 |

Tab. č. 10 Molekulární analýza osmi plemen chovaných v ČR (Leroy et al. 2009)

| plemeno | H_e | H_o | F_{IS} (%) | A_r |
|---------------------------|-------|-------|--------------|-------|
| Německý ovčák | 0,55 | 0,52 | 4,3 | 3,7 |
| Jezevčík hladkosrstý | 0,63 | 0,57 | 9,2 | 4,7 |
| Labradorský retrívr | 0,6 | 0,58 | 2,1 | 4,4 |
| Border kolie | 0,66 | 0,6 | 8,2 | 5,2 |
| Australský ovčák | 0,66 | 0,65 | 1,4 | 5,2 |
| Zlatý retrívr | 0,58 | 0,58 | 0,2 | 3,9 |
| Jorkširský teriér | 0,7 | 0,71 | -2,4 | 4,9 |
| Belgický ovčák – malinois | 0,72 | 0,69 | 4,4 | 5,6 |

Podle (Leroy et al. 2009) lze porovnat tyto výsledky s výsledky nalezenými v jiných studiích. Například ve studii z Finska Mäki et al. (2001) byla střední hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby mírně vyšší 2,3 % u německého ovčáka, 3 % u zlatého retrívra a 2,3 % u labradorského retrívra oproti studii z Francie Leroy et al. (2009), kde byly zjištěny střední hodnoty F u německého ovčáka 1,8 %, u zlatého retrívra 1,3 % a 2,2 % u labradorského retrívra. To lze snadno vysvětlit rozdíly ve velikosti populace a v podmínkách chovu. Tato tři plemena měla průměrně nižší EqG ve studii Mäki et al. (2001).

Příbuzenské páření nepřesahující 3,25 % by mělo být považováno za bezpečné, protože si zachová dostatečně vysokou genetickou rozmanitost v rámci plemene. Obecně se uznává, že efektivní velikost populace (N_e) 100 je optimální pro udržení zdraví populace, zatímco jakákoli efektivní velikost populace pod 50 povede ke zvýšení příbuzenské plemenitby, což může nakonec vést k zániku plemene (Comhaire 2014).

4 Závěr

Plemeno německý ovčák bylo od svého založení v roce 1899 šlechtěno pro pracovní využití. Kladl se důraz na výkonnost a zdraví jedinců a na odchylkách od standardu exteriérových znaků tolik nezáleželo. Postupem času se však německý ovčák rozšířil mezi laickou společností a začal se chovat i pro čistě výstavní účely. To mělo za následek šlechtění jedinců co nejbližší se podobající standardu. Pravděpodobnost, že bude mít vítěz výstavy potomstvo vhodné pro získávání dalších výstavních titulů je poměrně vysoká, a tak začal problém s využíváním populárních plemenů, kdy se z chovu vytrácí geny ostatních samců, kteří nebyli do chovu zařazeni. Dnes už díky tomu dochází k regulacím ze strany chovatelských klubů a počet krytí jedním samcem je omezen. Přesto ale pozorovaná heterozygotnost významně klesla a je potřeba do chovu zařazovat všechny zdravé jedince napříč populací.

Pro ustálení exteriérových znaků začala být využívána příbuzenská plemenitba již v začátcích chovu, dnes je využívána zejména v chovu výstavních linií k udržení exteriérových znaků a vzdálenější příbuzenská plemenitba může být využita i u špičkových pracovních psů k upevnění jejich pracovních vlastností. Míra průměrného koeficientu inbreedingu se liší napříč jednotlivými subpopulacemi v rámci států. Přestože je podstatná část populace německého ovčáka inbrední, za pomoci striktních chovatelských postupů v posledních letech dochází ke stagnaci či dokonce mírnému poklesu koeficientu inbreedingu. Samotný nárůst koeficientu inbreedingu nekoreluje s množstvím a závažností genetických poruch, dokud není překročena kritická hranice efektivní velikosti populace. Po překročení kritické hranice, která zároveň vede ke zvyšování příbuzenské plemenitby, se zvyšuje i riziko inbrední deprese a pokud není situace řešena, může dojít až k zániku plemene.

Zjištěná efektivní velikost populace německého ovčáka je zatím dostatečná pro udržení zdravé populace a zachování podmínek chovu tak, jak jsou nastaveny například v České republice. To znamená umožnění příbuzenské plemenitby na úrovni 2 – 3 a vzdálenější a možnost výběru chovného páru samotným chovatelem bez účasti poradce chovu. Plemeno německý ovčák není v současné době ovlivněno ztrátou genetické diverzity, avšak některé subpopulace mohou být do budoucna více ohroženy, proto je zapotřebí vývoj genetické diverzity dále monitorovat.

5 Literatura

- Asher L, Diesel G, Summers JF, Mcgreevy PD, Collins LM. 2009. Inherited defects in pedigree dogs. Part 1: Disorders related to breed standards. *The Veterinary Journal* **182**:402-411.
- Baena MM, Gervásio IC, Rocha RFB, Procópio AM, De-Moura RS, Meirelles SLC. 2020. Population structure and genetic diversity of Mangalarga Marchador horses. *Livestock Science* **239**:1-8
- Ballou JD. 1997. Ancestral Inbreeding Only Minimally Affects Inbreeding Depression in Mammalian Populations. Online. *Journal of Heredity* **88**:169-178.
- Bignardi AB, Santana-Júnior ML. 2023. Genetic diversity of Shepherd dog using pedigree analysis. *Ciência Rural* **53** (e1678-4596) DOI: 10.1590/0103-8478cr20210827.
- Bijma P, Woolliams JA. 2000. Prediction of Rates of Inbreeding in Populations Selected on Best Linear Unbiased Prediction of Breeding Value. *Genetics* **156**:361-373.
- Boichard D. 2002. Pedig: A Fortran Package for Pedigree Analysis Suited for Large Populations. Page 28. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier.
- Boichard D, Maignel L, Verrier É. 1997. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetics Selection Evolution* **29**:5-23.
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* **32(3)**:314-331.
- Buer CS, Muday GK, Djordjevic MA. 2007. Flavonoids Are Differentially Taken Up and Transported Long Distances in Arabidopsis. *Plant Physiology* **145**:478-490.
- Caballero A, Toro MA. 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetical Research* **75**:331-343.
- Calboli FCF, Sampson J, Fretwell N, Balding DJ. 2008. Population Structure and Inbreeding From Pedigree Analysis of Purebred Dogs. *Genetics* **179**:593-601.
- Cecchi F, Bramante A, Mazzanti E, Ciampolini R. 2016. A colony of dog guides: analysis of the genetic variability assessed by pedigree data. *Italian Journal of Animal Science* **8**:48-50.
- Clark SE, Hayes PM, Henson CA. 2003. Effects of single nucleotide polymorphisms in β -amylase1 alleles from barley on functional properties of the enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry* **41**:798-804.
- Comhaire FH. 2014. The Relation between Canine Hip Dysplasia, Genetic Diversity and Inbreeding by Breed. *Open Journal of Veterinary Medicine* **4**:67-71.
- Coutts NJ, Harley EH. 2010. Comparative population genetics of the German shepherd dog in South Africa. *South African Journal of Science* **105** (e1996-7489) DOI: 10.4102/sajs.v105i3/4.65.

- Crow JF, Kimura M. 1970. *An Introduction to Population Genetics Theory*. Harper & Row Publishers, New York.
- Curik I, Ferencaković M, Sölkner J. 2014. Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science* **166**:26-34
- ČKNO. 2024. Available from <http://www.ceskyklub-no.cz/> (accessed January 2024).
- ČMKU. 2010. Německý ovčák – standard platný od 23.12.2010. Thuin Belgie. Available from <https://www.cmku.cz/cz/seznam-plemen-159/189> (accessed January 2024).
- Dostál J. 2008. *Chov psů – Genetika v kynologické praxi*. Dona, České Budějovice.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Benjamin-Cummings Publishing Company, San Francisco.
- Flegr J. 2005. *Evoluční biologie*. Academia, Praha.
- Foulley JL, Ollivier L. 2006. Estimating allelic richness and its diversity. *Livestock Science* **101**:150-158.
- Głazewska I. 2008. Genetic diversity in Polish Hounds estimated ancestry analysis. *Livestock Science* **113**:296-301.
- Goleman M, Balicki I, Radko A, Rozempolska-Rucińska I, Zięba G. 2021. Pedigree and Molecular Analyses in the Assessment of Genetic Variability of the Polish Greyhound. *Animals* (e2076-2615) DOI: 10.3390/ani11020353.
- Guo G, Dondup D, Zhang L, Hu S, Yuan X, Zhang J. 2014. Identification of SNPs in barley (*Hordeum vulgare* L.) by deep sequencing of six reduced representation libraries. *The Crop Journal* **2**:419-425.
- Gutiérrez JP, Cervantes I, Goyache F. 2009 Improving the estimation of realized effective population sizes in farm animals. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **126**:327-332.
- Holubec V, Smekalova T, Leisova-Svobodova L. 2019 Morphological and molecular evaluation of the Far East fruit genetic resources of *Lonicera caerulea* L.-vegetation, ethnobotany, use and conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution* **66**:121-141.
- Huby M, Griffon L, Moureaux S, Rochambeau DH, Danchin-Burge C, Étienne V. 2003. Genetic variability of six French meat sheep breeds in relation to their genetic management. Online. *Genetics Selection Evolution* **35** (e1297-9686) DOI: 10.1186/1297-9686-35-7-637.
- Kalinowski ST. 2005. Hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes* **5**:187-189.
- Kania-Gierdziewicz J, Kalinowska B, Gierdziewicz M. 2011. Inbreeding and relationship in the German Shepherd dog population in area of Cracow Branch of Polish Kennel Club. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* **7**:21-29.
- Karjalainen L, Ojala M. 1997. Generation intervals and inbreeding coefficients in the Finnish Hound and the Finnish Spitz. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **114**:33-41.

- Kristensen TN, Sørensen AC. 2005. Inbreeding – lessons from animal breeding, evolutionary biology and conservation genetics. *Animal Science* **80**:121-133.
- Lacy RC. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biology* **8**:111-123.
- Leišová-svobodová L, Phillips J, Martinussen I, Holubec V. 2018. Genetic differentiation of *Rubus chamaemorus* populations in the Czech Republic and Norway after the last glacial period. *Ecology and Evolution* (e2045-7758) DOI: 10.1002/ece3.4101.
- Leišová-Svobodová L, Tomková L, Sedláček T, Psota V, Kučera L. 2014 The application of microsatellite analysis in barley malting quality breeding programmes. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* **50**:268-277
- Leroy G. 2011. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. *The Veterinary Journal* **189**:177-182.
- Leroy G, Baumung R. 2011. Mating practices and the dissemination of genetic disorders in domestic animals, based on the example of dog breeding. *Animal Genetics* **42**:66-74.
- Leroy G, Mary-Huard, T, Verrier E, Danvy S, Charvolin E, Danchin-Burge C. 2013. Methods to estimate effective population size using pedigree data: Examples in dog, sheep, cattle and horse. *Genetics Selection Evolution* **45** (e1297-9686) DOI: 10.1186/1297-9686-45-1.
- Leroy G, Rognon X, Varlet A, Joffrin C, a VERRIER, E. 2006. Genetic variability in French dog breeds assessed by pedigree data. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **123**:1-9.
- Leroy G, Verrier E, Meriaux JC, Rognon X. 2009. Genetic diversity of dog breeds: within-breed diversity comparing genealogical and molecular data. *Animal Genetics* **40**:323-332.
- Lindblad-Toh K, et al. 2005. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature* **438**:803-819.
- Lüpke L, Distl O. 2005. Microsatellite marker analysis of the genetic variability in Hanoverian Hounds. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **122**:131-139.
- Maignel L, Boichard D, Verrier E. 1996. Genetic Variability of French Dairy Breeds Estimated From Pedigree Infonnation. Pages 49-49. *Interbull Bulletin*, Veldhoven.
- Malécot G. 1948. *Les mathématiques de l'hérédité*. Barnéoud frères, Francie.
- Mäki K, Groen AF, Liinamo AE, Ojala M. 2001. Population structure, inbreeding trend and their association with hip and elbow dysplasia in dogs. *Animal Science* **73**:217-228
- Mäki K. 2010. Population structure and genetic diversity of worldwide Nova Scotia Duck Tolling Retriever and Lancashire Heeler dog populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **127**:318-326.
- Mellanby RJ, Ogden R, Clements DN, French AT, Gow AG, Powell R, Corcoran B, Schoeman JP, Summers KM. 2013. Population structure and genetic heterogeneity in popular dog breeds in the UK. *The Veterinary Journal* **196**:92-97.

- Mortlock SA, Booth R, Mazrier H, Khatkar MS, Williamson P. 2015. Visualization of Genome Diversity in German Shepherd Dogs. *Bioinformatics and Biology Insights* **9s2** (e1177-9322) DOI: 10.4137/BBI.S30524.
- Nielen ALJ, Van-Der-BEEK S, Ubbink GJ, Knol BW. 2001. Epidemiology: Population parameters to compare dog breeds. *Online. Veterinary Quarterly* **23**:43-49.
- Oliehoek PA, Bijma P. 2009. Effects of pedigree errors on the efficiency of conservation decisions. *Genetics Selection Evolution* **41** (e1297-9686) DOI: 10.1186/1297-9686-41-9.
- Ostrander EA, Ruvinsky A. 2012. *The genetics of the dog*. CABI Publishing, Wallingford.
- Panýrková I. 2022. eCanis.cz. Available from https://www.ecanis.cz/clanky/top-tricitka-plemen-v-roce-2021_2269.html (accessed January 2024).
- Quoll VL. 2017. Zuchtanlageprüfung Teil I. Die Wesensbeurteilung. Available from https://www.wusv.org/fileadmin/Documents/Vortraege/Zucht/Die_Linien_in_der_Zucht_des_Deutschen_Schaeferhundes.pdf (accessed January 2024).
- Relichová J. 2015. *Genetika populací*. Masarykova univerzita, Brno.
- Roswitha B, Johann S. 2003. Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genetics Selection Evolution* **35** (e1297-9686) DOI: 10.1186/1297-9686-35-5-369.
- Roussel V, Leisova L, Exbrayat F, Stehno Z, Balfourier F. 2005. SSR allelic diversity changes in 480 European bread wheat varieties released from 1840 to 2000. *Theoretical and Applied Genetics* **111**:162-170.
- Samms S. 2000. *Německý ovčák*. Fortuna Print, Praha.
- Sams AJ, Boyko AR. 2019. Fine-Scale Resolution of Runs of Homozygosity Reveal Patterns of Inbreeding and Substantial Overlap with Recessive Disease Genotypes in Domestic Dogs. *G3 Genes|Genomes|Genetics* **9**:117-123.
- Sargolzaei M, Iwaisaki H, Colleau JJ. 2006. CFC: A tool for monitoring genetic diversity. Pages 27-28. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte.
- Serrote CML, Reiniger LRS, Silva KB, Rabaiolli SMS, Stefanel CM. 2020. Determining the Polymorphism Information Content of a molecular marker. *Gene* **726** (e03781119) DOI: 10.1016/j.gene.2019.144175.
- Shariflou MR, James JW, Nicholas FW, Wade CM. 2011. A genealogical survey of Australian registered dog breeds. *The Veterinary Journal* **189**:203-210.
- Smith JSC, Chin ECL, Shu H, Smith OS, Wall SJ, Senior ML, Mitchell SE, Kresovich S, Ziegler J. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theoretical and Applied Genetics* **95**:163-173.
- Snustad DP, Simmons MJ. 2017. *Genetika*. Masarykova univerzita, Brno.
- Tier B. 1990. Computing inbreeding coefficients quickly. *Genetics Selection Evolution* **22** (e1297-9686) DOI: 10.1186/1297-9686-22-4-419.

- Urfer SR. 2009. Inbreeding and fertility in Irish Wolfhounds in Sweden: 1976 to 2007. *Acta Veterinaria Scandinavica* **51** (e1751-0147) DOI: 10.1186/1751-0147-51-21.
- Vila C. 1999. Phylogenetic relationships, evolution, and genetic diversity of the domestic dog. *Journal of Heredity* **90**:71-77.
- Voges S, Distl O. 2009. Inbreeding trends and pedigree analysis of Bavarian mountain hounds, Hanoverian hounds and Tyrolean hounds. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **126**:357-365.
- Vostrá-Vydrová H, Vostrý L, Hofmanová B, Krupa E, Zavadilová L. 2016. Pedigree analysis of the endangered Old Kladruber horse population. *Livestock Science* **185**:17-23.
- Všolek K. 2020. Německý ovčák. Naše vojsko, Praha.
- Wellmann R, Pfeiffer I. 2009. Pedigree analysis for conservation of genetic diversity and purging. *Genetics Research* **91**:209-219.
- Wright S. Evolution in mendelian populations. 1931. *Genetics* **16**:97-159.

6 Seznam použitých zkratek a symbolů

A_r – alelová bohatost

AFLP – polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů

CFC – software pro zpracování informací o původu

CNV – variace počtu kopií

ČKNO – Český klub německých ovčáků

ČMKU – Českomoravská kynologická unie

DKK – dysplazie kyčelního kloubu

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EqG – ekvivalentní kompletní generace

F – koeficient inbreedingu (příbuzenské plemenitby)

F_a – koeficient příbuzenské plemenitby společného předka

f_a – efektivní počet předků

f_a / f_e – parametr efektu hrdla lahve

f_e – efektivní počet zakladatelů

f_e / f – poměr efektivního příspěvku zakladatele

f_e / f_a – parametr efektu hrdla lahve

F_{IS} – snížení heterozygotnosti v důsledku nenáhodného páření

F_{IT} – celkový koeficient inbreedingu, zahrnuje podíl nenáhodného páření v subpopulaci a vliv genetického driftu

F_{ST} – vliv rozdělení populace na subpopulace a genetického driftu

F_x – koeficient inbreedingu jedince

GD – genetická diverzita

H_e – heterozygotnost očekávaná

H_o – heterozygotnost pozorovaná

i – jedinec

IBD – identické podle původu (Dvě nebo více alel, které jsou identickými kopiemi stejné alely předků, zděděné od společného předka.)

IGP – mezinárodní zkušební řád sportovní kynologie

IPO – mezinárodní zkušební řád sportovní kynologie (dřívější označení)

N_e – efektivní velikost populace

NGS – sekvenování nové generace – nejnovější technika molekulárně-genetického vyšetření, která umožňuje efektivní „čtení“ velkého množství genetických sekvencí (úseků DNA) najednou

NO – německý ovčák

p – četnost dominantní alely

PCR – polymerázová řetězová reakce

PEDIG – software pro zpracování informací o původu

PIC – *polymorfni* informační obsah

PLINK – software pro zpracování molekulárně genetických dat

PP – průkaz původu

q – četnost recesivní alely

r – koeficient příbuznosti

RFLP – polymorfismus délky restrikčních fragmentů

ROH – běhy homozygotnosti

RTG – rentgenové záření

SNP – jednonukleotidový polymorfismus

SSR – simple sequence repeats – jednoduché opakující se sekvence

t – generace

tj. – to je

tzn. – to znamená

tzv. – tak zvaný

ZVV – zkouška všestranného výcviku

ΔF – míra příbuzenské plemenitby (vývoj inbreedingu v průběhu času)

Φ – koeficient příbuznosti

