

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra genetiky a šlechtění

**Odhad genetické proměnlivosti v ohrožených populacích s
využitím genealogických i molekulárně genetických informací**

.....
doktorská disertační práce

Autor: Ing. Karolína Machová

Školitel: prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D.

**Konzultanti: Ing. Jana Rychtářová, Ph.D.
Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.**

Praha 2023

[Sem zadejte text.]

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou doktorskou disertační práci "Odhad genetické proměnlivosti v ohrožených populacích s využitím genealogických i molekulárně genetických informací" vypracovala samostatně a použila jsem vědecké a odborné literatury, která je citována v práci a uvedena v seznamu literatury. Jako autorka uvedené práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 2. 8. 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své rodině a budoucímu manželovi za nekonečnou podporu, svým kolegům Janu Caltovi a Ladislavu Tichému za jejich ostrovtip, který naše studium dělal snesitelné, a vedoucímu doktorské disertační práce prof. Ing. Luboši Vostrému, Ph.D. a konzultantkám práce Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. a Ing. Janě Rychtářové, Ph.D. za odborné vedení, rady i pomoc během celého doktorského studia. Velký dík chci touto cestou vyjádřit i kolegům z katedry živočišné produkce Univerzity v Leónu, kteří mě přijali do svého týmu během odborné stáže a pomáhali mi i po jejím skončení s nejdůležitější fází mého doktorského výzkumu.

Vznik doktorské disertační práce byl podpořen těmito projekty:

Grant ministerstva zemědělství ČR QK1910156

SGS granty Fakulty agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů ČZU SV22-12-21360, SV21-5-21360, SV19-07-21360

[Sem zadejte text.]

Odhad genetické proměnlivosti v ohrožených populacích s využitím genealogických i molekulárně genetických informací

Souhrn

Problematika genetické rozmanitosti je v posledních letech stále diskutovanější. Ve volné přírodě dochází k úbytku druhové diverzity hlavně ztrátou přirozených habitatů a hospodářské druhy ohrožuje globalizace a intenzifikace chovu. Monitoring a přesný odhad genetické variability i jejích ztrát je nezbytným předpokladem zachování druhů, poddruhů a plemen pro budoucnost. Cílem této práce byla podrobná analýza genetické variability dvou plemen valašské a šumavské ovce a volně žijícího zubra evropského. Prostřednictvím řady genetických analýz byla vyhodnocena data z rodokmenu a molekulárně genetických markerů. U obou plemen ovcí i u zubra byly zaznamenány ztráty genetické diverzity. U valašské ovce je ztráta výraznější než u šumavské ovce, genofond šumavské ovce je však nehomogenní a ve srovnání s jinými plemeny se jeví jako složený ze dvou subpopulací. Stupeň genetické diverzity šumavské a valašské ovce byl srovnatelný napříč různými druhy analýz, ať už byl vypočítán na základě rodokmenů nebo molekulárních markerů. Hodnoty genetické variability zaznamenané u zubra jsou rovněž nízké, ale zároveň ještě silně nadhodnocené vlivem metodiky záznamů rodokmenové knihy. Podařilo se ale díky nim odhalit genetický vliv nížino-kavkazské linie v nížinné linii, která je udržována jako čistokrevný poddruh. U obou plemen ovcí byly identifikovány oblasti s vysokým stupněm homozygotnosti, v nichž by se potenciálně mohly nacházet geny specifické pro plemeno konzervované v těchto oblastech vlivem selekce. Variabilita ovčích plemen ve starším historickém měřítku je ze vzorků získaných z živých jedinců sledovatelná pomocí nerekombinantních úseků DNA. Rešerše provedená v této oblasti naznačila možný původ a společné vzdálené předky obou českých národních plemen ovcí. Nicméně oblast zkoumání variability specificky samčího regionu chromozomu Y a mitochondriální DNA ovcí je stále ještě v začátcích.

Klíčová slova: genetická diverzita, mikrosatelity, SNP, genealogická analýza, haplotypy, plemena ovcí, zubr evropský

Estimation of genetic variability of endangered populations using genealogical and molecular genetic information

Abstract

The issue of genetic diversity has been increasingly discussed in recent years. In the wild, there is a decrease in species diversity mainly due to the loss of natural habitats, and economic species are threatened by globalization and intensification of breeding. Monitoring and accurate estimation of genetic variability and its losses is a prerequisite for the preservation of species, subspecies, and breeds for the future. The aim of this work was a detailed analysis of the genetic variability of two breeds of Wallachian and Sumava sheep and wild European bison. Pedigree data and molecular genetic markers were evaluated through a series of genetic analyses. Losses of genetic diversity were recorded in both sheep breeds and European bison. In the Wallachian sheep, the loss is more pronounced than in the Sumava sheep, however, the gene pool of the Sumava sheep is more heterogenous compared to other breeds and appears to be composed of two subpopulations. The degree of genetic diversity of Sumava and Wallachian sheep was comparable across different types of analyses, whether calculated based on pedigrees or molecular markers. The values of genetic variability recorded in the European bison are also low, but at the same time still strongly overestimated due to the influence of the pedigree book record methodology. Those records, however, revealed a genetic influence of the lowland-Caucasian line in the lowland line, which is maintained as a pure-blood subspecies. Regions of high homozygosity were identified in both sheep breeds, potentially harboring breed-specific genes conserved in these regions through selection. Variability of sheep breeds on an older historical scale is traceable from samples obtained from living individuals using non-recombinant stretches of DNA. Research carried out in this area indicated a possible origin and common remote male ancestors of both Czech national sheep breeds. However, the field of investigating the variability of the male-specific region of the Y chromosome and mitochondrial DNA in sheep is still in its beginnings.

Key words: genetic diversity, microsatellites, SNP, genealogical analysis, haplotypes, sheep breeds, European bison.

[Sem zadejte text.]

Obsah

1	Úvod	8
2	Literární přehled	10
2.1	Genetická diverzita	10
2.2	Příčiny ztráty genetické diverzity u malých přežvýkavců	11
2.2.1	Nadměrné využívání některých plemenků	12
2.2.2	Fragmentace na striktně oddělená plemena	12
2.2.3	Sociálně-ekonomický tlak a intenzivní umělá selekce	13
2.2.4	Vysoce nakažlivá infekční onemocnění	14
2.3	Inbrední deprese u malých přežvýkavců.....	16
2.4	Očišťující efekt inbreedingu	17
2.5	Metody hodnocení genetické diverzity z hlediska původu informačního zdroje	19
2.5.1	Teoretická hodnocení genetické diverzity	19
2.5.2	Hodnocení neutrální a funkční molekulární genetické diverzity.....	20
2.6	Parametry hodnocení genetické diverzity z hlediska velikosti konzervační jednotky	28
2.6.1	Parametry genetické diverzity na úrovni části genomu	28
2.6.2	Parametry genetické diverzity na úrovni jedince.....	29
2.6.3	Parametry genetické diverzity na úrovni populace.....	37
2.6.4	Parametry genetické diverzity pro porovnání více populací	43
3	Cíl a vědecká hypotéza práce	47
3.1	Cíl práce	47
3.2	Vědecká hypotéza	47
4	Publikované práce.....	48
4.1	Machová K, Milerski M, Rychtářová J, Hofmanová B, Vostrá-Vydrová H, Moravčíková N, Kasarda R, Vostrý L. 2021. Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds. Small Ruminant Research 195:106301.....	49

4.2	Machová K, Štruncová P, Calta J, Tichý L, Vostrý L. 2022b. Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity. PLOS ONE 17:e0277456.....	56
4.3	Machová K, Hofmanová B, Rychtářová J, Vostrý L, Moravčíková N, Kasarda K. 2020. Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic. Acta fytotechnica et zootechnica 23:38–45.	74
4.4	Machová K, Marina H, Arranz JJ, Pelayo R, Rychtářová J, Milerski M, Vostrý L, Suárez-Vega A. 2023. Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. Animal 17: 100690.....	83
4.5	Machová K, Málková A, Vostrý L. 2022a. Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes. Genes 13:613.	96
5	Souhrnné výsledky a diskuse.....	111
5.1	Hodnocení genetické diverzity dvou českých původních plemen ovcí (Machová et al. 2021)	111
5.2	Genealogická analýza populace zubra evropského (Machová et al. 2022b)	113
5.3	Analýza genetické variability 26 plemen ovcí v ČR (Machová 2020).....	115
5.4	Genetická diverzita dvou původních plemen ovcí pomocí genomové analýzy jednonukleotidových polymorfismů (Machová et al. 2023).....	117
5.5	Expanze ovcí po domestikaci v kontextu mitochondriálních a Y chromozomových haploskupin a haplotypů (Machová et al. 2022a).....	120
6	Závěr	123
7	Seznam použité literatury	126
8	Seznam zkratk.....	171

[Sem zadejte text.]

1 Úvod

Otázka genetické diverzity se v posledních několika desetiletích stala hodně diskutovanou kvůli zvyšování industrializace zemědělství a s ní postupující genetickou uniformitou plodin i hospodářských zvířat. Rozmanitost plemen hospodářských zvířat je však nezbytná pro budoucí přizpůsobení různým onemocněním, produkčním systémům, měnícím se klimatickým i tržním podmínkám (FAO 2019). Obecně se proto záchranné programy zaměřují hlavně na ohrožená lokální plemena (Notter 1999). Ta bývají obvykle hůře zmapovaná, ale obecně vykazují daleko větší genetickou variabilitu než celosvětově rozšířená plemena s jedinečnými ekonomicky žádoucími vlastnostmi (FAO 2015).

K celkové genetické rozmanitosti nejvíce přispívají původní plemena ovcí z ekonomicky rozvinutých zemí, která by tak z hlediska priority ochrany měla mít přednost před těmi z rozvojových zemí (Zhang et al. 2018a). Tento fakt je ale třeba brát s rezervou, protože právě z rozvojových zemí je nejhorší dostupnost informací i samotných vzorků. Navíc, na každé unikátní funkční alele záleží a plemena z extrémních podmínek mají výrazně vyšší šanci, že se u nich taková jedinečná genetická varianta bude vyskytovat (Sponenberg et al. 2018). Pokud by došlo k její ztrátě, tak bude definitivní, protože šance na vznik stejné alely mutací je téměř nulová.

Zachováním stávající genetické diverzity hospodářských plemen se zabývá globální akční plán pro genetické zdroje – Global Plan of Action for Animal Genetic Resources, který byl vypracován a přijat členskými zeměmi FAO v roce 2007 (Boettcher et al. 2014). Skládá se ze dvou funkčních částí: podávání zpráv z procesu provádění akčního plánu a z monitoringu samotných genetických zdrojů (Boettcher et al. 2014). Počátkem 90. let však už FAO začala budovat globální databázi pro genetické zdroje zvířat – Global Databank for Animal Genetic Resources, v níž shromažďuje data o plemenech hospodářských zvířat z celého světa a na jejímž základě byl vytvořen roku 1995 informační systém Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS) (FAO 2015). DAD-IS shromažďuje informace o genetických zdrojích zvířat ze 182 zemí a poskytuje databázi informací o plemenech hospodářských zvířat z celého světa, jako jsou počty zvířat, užitkovost, nástroje managementu chovu, reference, odkazy a kontakty na regionální a národní koordinátory chovu živočišných genetických zdrojů (FAO 2019).

Základem každého chovu je vhodný management, aby byla zachována co nejvyšší vnitropopulační genetická diverzita (Ferreira de Camargo 2019). Udržování jakéhokoli plemene pro užitkové účely je vlastně neustálým konfliktem mezi požadavky na dobrou užitkovost (snaha o uniformitu populace) a dobrou životaschopností celé populace (snaha o co největší rozmanitost) (Sponenberg et al. 2019). To se však ne vždy daří vhodně skloubit, a proto počet plemen ohrožených vyhynutím stále roste. Mezi roky 2005 a 2014 se počet těchto plemen zvýšil o 2 procenta (FAO 2019). U lokálních plemen ovcí se počet ohrožených zvýšil z 235 v roce 2000 na 370 v roce 2020, u lokálních plemen koz pak ve stejném období z 94 na 152 (FAO 2021). Mezi hlavní důvody vyhynutí těchto genetických zdrojů patří právě nedostatky v chovných programech, měnící se požadavky trhu a politiky v oblasti řízení živočišných genetických zdrojů, degradace přírodních zdrojů, změna klimatu a epidemie nemocí (FAO 2019).

Pro hospodářská zvířata je tedy nezbytné, aby si udržela vysokou genetickou diverzitu pro případnou změnu podmínek, které na ně působí. Výzkum ale prokázal, že pro přežití populace ve stálém prostředí nemusí být malá genetická diverzita vůbec důležitá (Johnson et al. 2008; Robinson et al. 2018; Huson et al. 2020). Hlavně neutrální genetická diverzita, na kterou se zaměřuje většina populačně genetických studií, nemá přímý vztah k funkční rozmanitosti a životaschopnosti populace (Holderegger et al. 2006; Teixeira & Huber 2021). Je však možné využít ji pro hodnocení toku genů, migraci nebo disperzi (Holderegger et al. 2006). Rovněž je časté využití její vazby s funkčními úseky DNA při QTL mapování (Beraldi et al. 2007; Poissant et al. 2012; Bolormaa et al. 2017), mapování genetických příměsí (Shriner 2013) a při GWAS studiích (Esmaili-Fard et al. 2021; Serrano et al. 2021; Krivoruchko et al. 2021; Zhao et al. 2021).

Pro vyhodnocení genetické diverzity plemen hospodářských zvířat, ať už z pohledu teoretické, neutrální nebo funkční genetické diverzity, existuje celá řada metod. Tato práce je zaměřená především na metody běžně používané u malých přežvýkavců a aplikuje je na české genové rezervy – valašskou a šumavskou ovci.

2 Literární přehled

2.1 Genetická diverzita

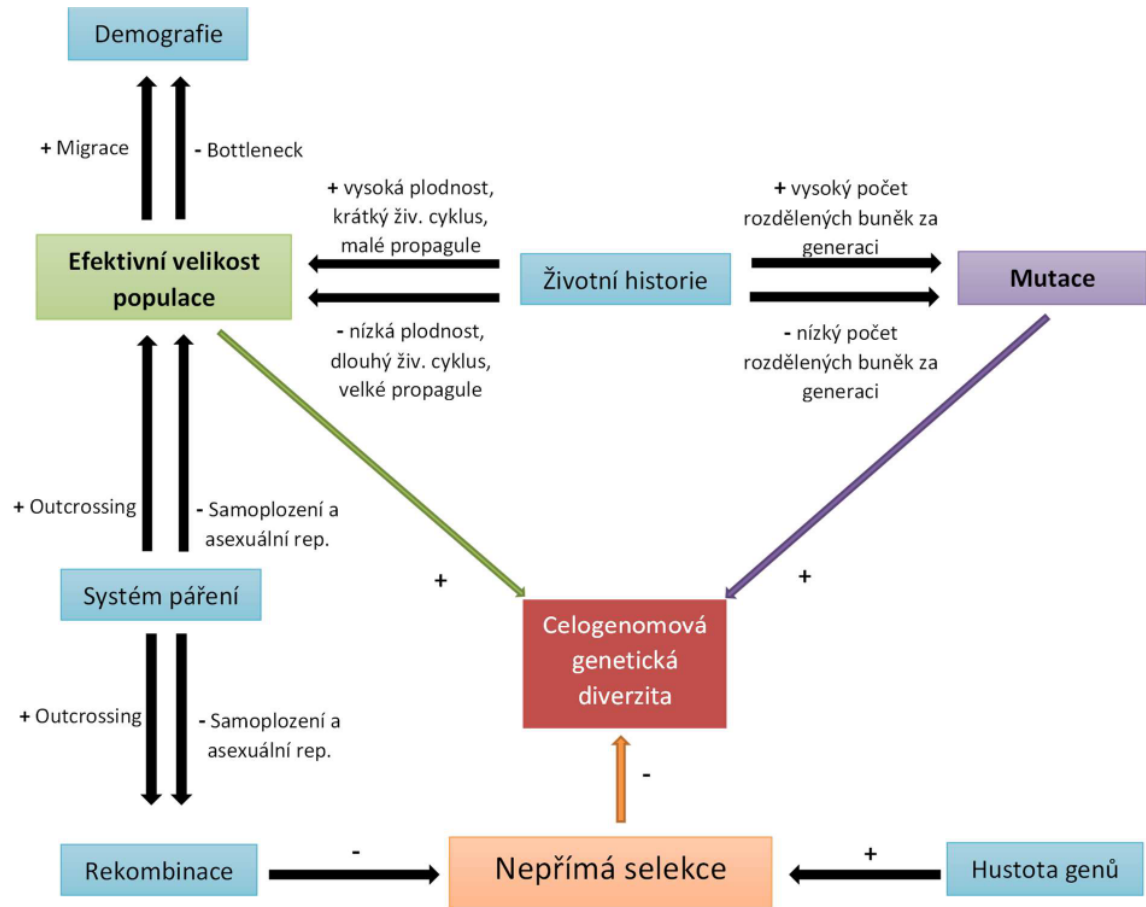
Biologickou diverzitu popisujeme jako rozsah veškeré různorodosti, kterou můžeme v přírodě nalézt (Mészáros 2018). Lze ji analyzovat na základě různých charakteristik: fenotypových (morfologických), cytologických, biochemických a molekulárních (Saravanan et al. 2022). Genetickou diverzitou je ale míněn rozsah variability (polymorfismus) přímo v sekvenci DNA (Ellegren & Galtier 2016).

Z molekulárního hlediska existují tři hlavní typy variability, a to jednonukleotidové polymorfismy (SNP), delece nebo inserce různých délek a variace počtů a délek repetitivních sekvencí (VNTR) (Vignal et al. 2002). Nové alely se objevují s každou další generací spontánní mutací díky replikačním chybám nebo působením mutagenů a z teoretického hlediska tedy můžeme genetickou diverzitu označit za výsledek rovnováhy mezi zánikem a vznikem těchto vloh (Ellegren & Galtier 2016). Rychlost mutací se v rámci různých úrovnových celků jaderného genomu snižuje směrem od jednotlivých genů až k variabilitě na chromozomální úrovni (Hodgkinson & Eyre-Walker 2011), která se ještě navíc významně liší mezi autozomy a gonozomy (Ellegren & Galtier 2016). Výrazné rozdíly v mutačních rychlostech existují rovněž mezi jadernou a mitochondriální DNA, mezi zárodečnou a somatickou linií buněk, jakožto i mezi různými druhy (Lynch 2010).

U hospodářských plemen zvířat je možno ji měřit ve třech formách: intrapopulační (v rámci populace), interpopulační (mezi různými populacemi jednoho plemene) a meziplenné (Saravanan et al. 2022). Na populační úrovni plemen dochází k neustálému souboji mezi snahou fixovat určité alely v populaci (selekcí) a náhodným kolísáním alelických frekvencí (genetickým driftem) (Mészáros 2018). Tato vzájemná kompetice je spolu s přírodním výběrem hlavním evolučním mechanismem, který u velkých populací favorizuje častěji prospěšné mutace, oproti tomu u malých populací často náhodně udržuje ty neprospěšné (Hallatschek et al. 2007). V lidském chovu se k těmto třem silám přidává ještě inbreeding a umělá selekce – dva klíčové procesy domestikace (Mignon-Grasteau et al. 2005). Každé plemeno, jak ho známe dnes, se tedy vyvinulo působením mutací, náhodným genetickým driftem a selekčními tlaky klimatu, endemických chorob a parazitů, výživy a umělého lidského výběru (Barker 2001).

2.2 Příčiny ztráty genetické diverzity u malých přežvýkavců

Genetická diverzita malých přežvýkavců je ovlivňována podobnými faktory, jako je tomu u ostatních hospodářských zvířat hlavně u skotu. Oproti volně žijícím populacím, které trpí především fragmentací habitatu (následně populace), onemocněními a změnou klimatu ve větší či menší míře zaviněné člověkem, ale i působením přirozených mechanismů, jak je znázorňuje obr. 1, jsou populace domestikovaných malých přežvýkavců přímo vázané na aktivity člověka.



Obr. 1. Přehled determinant genetické diverzity. Efektivní velikost populace, rychlost mutací a související selekce jsou hlavními faktory ovlivňujícími diverzitu. Tyto faktory jsou zase řízeny několika dalšími parametry. Směr korelace je označen symboly „+“ a „-“. Převzato z Ellegren a Galtier (2016).

2.2.1 Nadměrné využívání některých plemenků

Zvýšení selekčního tlaku výběrem malého počtu plemenných zvířat, které se na následné generaci podílí největší měrou, snižuje efektivní velikost populace (N_e) a zvyšuje podíl příbuzenské plemenitby (Taberlet et al. 2008). Nadměrné využití se týká především samců, protože reprodukční potenciál samic je omezenější i přes to, že moderní biotechnologické postupy v reprodukci přežvýkavců značně pokročily i v tomto ohledu (de Souza-Fabjan et al. 2014; Bartlewski et al. 2016). U malých přežvýkavců zůstává tento problém stále méně výrazný, než je tomu u skotu (Baes et al. 2019), kde se vlivem masové produkce mražených inseminačních dávek uplatňují preferovaní plemenci v reprodukci napříč kontinenty. Nicméně i tak má umělá inseminace ovcí a koz v některých oblastech významný podíl na celkové reprodukci, převážně v Jižní Americe a Australsko-Asijské oblasti (Faigl et al. 2012), z Evropských zemí hlavně ve Francii (Raoul & Elsen 2020). U ovcí ani koz není stále vyzkoumána univerzálně vhodná metodika mražení inseminačních dávek (Tabarez et al. 2017; Zadeh Hashem et al. 2017; Allai et al. 2018; Lv et al. 2019), a proto umělá inseminace stále neprohlubuje problém nadměrně vyžívaných samců tolik jako u skotu.

2.2.2 Fragmentace na striktně oddělená plemena

Za posledních 200 let došlo k dramatickému rozdělení populací hospodářských zvířat na jednotlivá plemena, mezi kterými najednou nebyl žádoucí tok genů kvůli požadavkům na splnění plemenného standardu (Taberlet et al. 2008). Populace, které od počátku své domestikace prošly jen malými selekčními tlaky, byly náhle roztrženy na přesně definovaná plemena pod silným tlakem umělé selekce (Taberlet et al. 2011). Když dojde k fragmentaci populace, tak všechny faktory působící na ztrátu genetické diverzity (inbreeding, genetický drift, selekce, ...) začnou působit mnohem větší silou, než by tomu bylo u celistvé populace se stejnou celkovou velikostí (Frankham et al. 2004). První problémy, které se obvykle objeví u inbredních populací či populací s převládající liniíovou plemenitbou, jsou problémy s reprodukcí (Sponenberg et al. 2017). V tomto okamžiku obvykle přicházejí na řadu chovatelské snahy o záchranu populace s osvěžením nebo přilítím krve nebo zpřísnění selekce ve snaze očistit populaci od škodlivých alel. Obojí postup má svoje úskalí. Přikřížení zvířat z jiné populace sice zvýší heterozygotnost, může ale vyústit v takzvanou outbrední depresi, jako se tomu stalo například u populace východoafrického krátkorohého zebu (Murray et al. 2013). Příliv nových alel může snížit adaptaci na místní vlivy prostředí, způsobit škodlivé epistatické

interakce genů u prvních generací po křížení (Rollinson et al. 2014), ale i zanést do populace nové škodlivé alely recesivní nebo s malým účinkem, které se projeví až za několik generací. Na druhou stranu silná selekce obvykle inbrední depresi ještě zhorší, i když existují výjimky, kdy dané vysoce inbrední plemeno nebo linie přežívá s dobrým fitness po generace (Sponenberg et al. 2017).

2.2.3 Sociálně-ekonomický tlak a intenzivní umělá selekce

Domácí ovce (*Ovis aries Linnaeus, 1758*) a kozy (*Capra hircus Linnaeus, 1758*) jsou pod vlivem selekce směřované k produkci masa, mléka, případně vlny už počátku jejich domestikace. Snaha o co největší genetický zisk ale vede k nárůstu příbuzenského páření (Baes et al. 2019). Jedním z jeho důsledků je ztráta alel, které se selektovaným znakem přímo nesouvisí nebo s ním nejsou ve vazbě (Marsden et al. 2016). Dalším důsledkem je pak nárůst homozygotnosti v oblastech souvisejících s konkrétním selektovaným znakem (Marchesi et al. 2018). Ve výsledku inbreeding působí i na snížení míry odpovědi na selekci vlivem snížené aditivní genetické variability v populaci nejen u zvoleného znaku (Kristensen & Sørensen 2005).

Chov ovcí se v posledních desetiletích vlivem socioekonomických změn přeorientoval směrem k intenzivnějšímu chovu několika málo vysoce produktivních kosmopolitních plemen (Dalvit et al. 2009). V minulém století se produktivita orné půdy zvyšovala o 2 % ročně vlivem rychlého technického i genetického pokroku. Následkem toho poklesla cena obilí i jiných plodin a pro řadu zemědělců se tak stalo levnějším krmít obilím než výhradně spoléhat na pastvu, což razantně změnilo celé systémy chovu. Nově vyšlechtěná zvířata s vysokou produkcí spolu s pokročilými technologiemi chovu vytlačily tradiční systémy chovu do ústraní kvůli jejich vyšší rizikovosti (Mendelsohn 2003). Situaci vedoucí k rychlým ztrátám genetické diverzity ještě zhoršilo nevhodné používání BLUP modelu plemenných hodnot. S ním se sice maximalizuje odpověď na selekci, ale může vést k výběru blízce příbuzných jedinců (van Wyk et al. 2009). Vybraní příbuzní jedinci pak dále zvyšují úroveň příbuzenské plemenitby do budoucna (van Wyk et al. 2009). Tento postup není ideální rovněž proto, že úspěšnost budoucího zlepšování produkce může záviset na genetické diverzitě, která se za současných selekčních podmínek jeví jako neutrální a může zcela vymizet kvůli pouhému nezdokumentování prospěšnosti (Tapio et al. 2006a).

S nástupem genomické selekce se logicky předpokládalo, že tento důsledek vymizí, protože genomická selekce na základě celého genomu by měla zdůraznit rozdíly mezi sourozenci a snižovat tak šanci na jejich současný výběr na základě přesnějšího odhadu komponentu mendelistické dědičnosti a tím i plemenných hodnot (Daetwyler et al. 2007). Jak ale ukazuje řada studií u skotu, tak opak je často pravdou (Forutan et al. 2018; Mekanjuola et al. 2020; Scott et al. 2021; Ablondi et al. 2022). V důsledku genomické selekce se snižuje generační interval a variabilita mendelistického vzorkování, které opět vede ke zvýšení inbreedingu, snížení efektivní velikosti populace a náhodné fixaci nebo ztrátě alel, ať už vlivem genetického driftu nebo selekce (Mekanjuola et al. 2020). Proto byl navržen alternativní přístup genomické selekce na základě principu kontribuční selekce s cílem udržet pod kontrolou inbreeding – optimální kontribuční genomická selekce (Sonesson et al. 2012; Woolliams et al. 2015). Hlavním principem je maximalizace genetické odezvy za dané úrovně příbuzenské plemenitby na základě příbuznosti kandidátů na selekci a zohledněním jejich genetického příspěvku (Dagnachew & Meuwissen 2016).

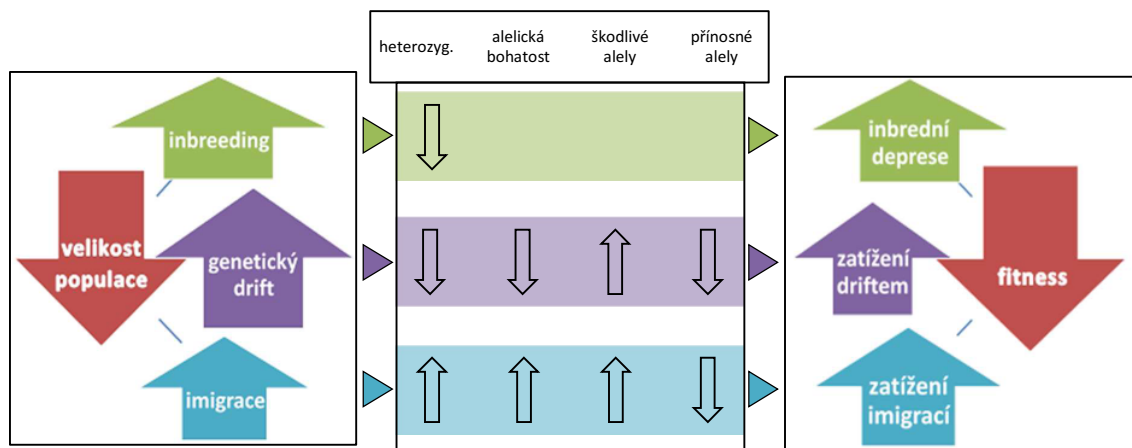
U ovcí a koz byla genomická selekce implementována s přirozeným zpožděním oproti skotu a ani v dnešní době není tolik rozšířená. U ovcí je její systematické zařazení hlavně záležitostí zemí s nejvíce rozvinutými systémy chovu a největší produkcí jako je Čína, Austrálie, Nový Zéland, Rusko a Francie (Caro-Petrovic et al. 2021). Existuje totiž celá řada faktorů, které snižují ekonomické i technologické přínosy genomické selekce u ovcí: (i) pro produkci potomků je testováno jen málo samců, (ii) testování potomků je levnější než u skotu, (iii) generační interval je krátký, (iv) ekonomická hodnota kandidáta na selekci nevyváží vysoké náklady na genotypizaci, (v) společné použití umělé inseminace a přirozené plemenitby a použití čerstvého spermatu ovlivňují pouze kapacitu testování potomstva (Shumbusho et al. 2016). Pravděpodobně v důsledku nízkého využití genomické selekce u ovcí zatím tedy ani nebyl publikován žádný případ snížení diverzity a fitness zapříčiněný jejím zavedením. Dokonce by v chovech ovcí mohla paradoxně přispět k jejímu zachování tím, že doplní často nepřesné a neúplné rodokmeny, zpřesní odhady příbuznosti a tím i omezí nechtěnou příbuzenskou plemenitbu (Rupp et al. 2016).

2.2.4 Vysoce nakažlivá infekční onemocnění

Mezinárodní obchod s živočišnými produkty i živými zvířaty neustále narůstá a s ním i rizika rozšiřování infekčních chorob zvířat i zoonóz (Sherman 2011). World Organisation of Animal

Health eviduje 11 onemocnění postihující výhradně ovce a kozy: artritida/encefalitida koz, nakažlivá agalactie, nakažlivá kozí pneumonie, maedi-visna, nemoc ovčí v Nairobi, ovčí epididymitida, mor malých přežvýkavců, salmonelóza, scrapie, ovčí a kozí neštovice (OIE 2021). Některá z těchto onemocnění, třeba mor malých přežvýkavců, mohou mít v některých stádech až 100 % morbiditu (Liu et al. 2018). Velké snížení počtu jedinců v populaci vede k vyššímu vlivu náhody a stochastických efektů, které přímo ohrožují její existenci (O'Brien & Evermann 1988). U malých přežvýkavců jsou tyto vlivy (změna poměru pohlaví, nehody, úspěch predátorů, ...) ve velké míře eliminovány člověkem. I pokud tyto efekty populace překoná, stále zůstává v ohrožení, protože efekt hrdla lahve může mít za následek vyšší výskyt projevů inbrední deprese, jako tomu bylo například u plemene veluws heideschaap po epidemii slintavky a kulhavky v Nizozemsku (Windig et al. 2004). Jedním z projevů inbrední deprese může být i vyšší náchylnost k dalším onemocněním a takováto epidemie následující efekt hrdla lahve může opět přispět k dalším ztrátám genofondu (O'Brien & Evermann 1988; Selvaggi & Dario 2011).

Poslední čtyři výše zmiňované faktory vedou ke zmenšení velikosti populace, která často vyústí v takzvaný Alleeho efekt, jímž ekologové označují dvoustupňový proces zániku malých populací. Tento jev vztažený na chov hospodářských zvířat je popsán na obrázku 1.



Obrázek 1 V prvním kroku vlivem snížení populace dojde k nárůstu příbuzenské plemenitby, narušení vyváženého stavu mezi přírodním výběrem a driftem a případně může dojít i k imigraci vlivem chovatelských snah o záchranu plemene. To ovlivní genetickou strukturu populace na úrovni heterozygotnosti, alelické bohatosti, frekvencích škodlivých i prospěšných alel. Tyto změny genetické variability způsobí pokles fitness populace prostřednictvím inbrední deprese, zátěže genetického driftu nebo zátěže migrací (Luque et al. 2016).

2.3 Inbrední deprese u malých přežvýkavců

Inbrední deprese je obecné označení pro zhoršení vlastností souvisejících s produkcí, velikostí jedinců, reprodukci a celkově životaschopností populace zatížené inbreedingem (Curik et al. 2001). Důvodem může být silnější přirozená selekce v souvislosti se znaky spojenými s fitness (ve volné přírodě i v lidském chovu) případně produkčními vlastnostmi (v lidském chovu) (Kristensen & Sørensen 2005). Inbreeding způsobuje nárůst podílu homozygotních úseků v genomu, které jsou identické dle původu (Stoffel et al. 2021). Ohledně mechanismu působení škodlivých alel přítomných v těchto homozygotních úsecích jsou diskutovány hlavně dvě teorie. Podle jedné je inbrední deprese způsobená částečně recesivními škodlivými alelami, podle druhé za ni může zvýšený počet homozygotních alel na lokusech, na kterých panuje výhoda heterozygotního založení, takzvaná „overdominance“ (Charlesworth & Willis 2009). Dalším faktorem, který může hrát roli ve vzniku inbrední deprese jsou epistatické interakce mezi dominantními efekty mezi různými lokusy. Pokud se heterozygotnost na těchto lokusech snižuje, snižuje se i příznivý vliv kombinace těchto genů (Paige 2010). Navíc je stále častěji diskutována možnost epigenetického působení na vznik i zánik inbrední deprese (Nebert et al. 2010; Johannes & Colomé-Tatché 2011; Han et al. 2020; Larison et al. 2021). Tyto skutečnosti narušují lineární vztah mezi stupněm inbreedingu a inbrední depresí a dělají hypotézy v této oblasti obtížně prokazatelné (Howard et al. 2017).

U ovcí je vliv inbreedingu na vznik inbrední deprese poměrně dobře prozkoumán a byl zaznamenán u reprodukčních znaků jako je fertilita, fekundita a prolifkace u samic (Selvaggi et al. 2010) a velikost vrhu (Tao et al. 2020). Dále má značný vliv na růstové produkční vlastnosti jako je váha při narození (Analla et al. 1998; Selvaggi et al. 2010; Pedrosa et al. 2010; Mokhtari et al. 2014; Eteqadi et al. 2014; Drobik & Martyniuk 2016), váha ve dvou měsících (Analla et al. 1998; Selvaggi et al. 2010; Pedrosa et al. 2010; Mokhtari et al. 2014; Drobik & Martyniuk 2016), třech měsících (Analla et al. 1998; Eteqadi et al. 2014), šesti měsících (Pedrosa et al. 2010; Eteqadi et al. 2014; Gholizadeh & Ghafouri-Kesbi 2016), devíti měsících (Gholizadeh & Ghafouri-Kesbi 2016) i roce věku (Gholizadeh & Ghafouri-Kesbi 2016), průměrné denní přírůstky (Selvaggi et al. 2010; Gholizadeh & Ghafouri-Kesbi 2016) i vlastnosti jatečně upraveného těla (Kiya et al. 2019). V neposlední řadě způsobuje sníženou rezistenci vůči patogenům (Selvaggi & Dario 2011) a zhoršenou, byť minimálně, mléčnou užitkovost (Špehar et al. 2022). Výzkum u koz v tomto směru nijak nezaostává. Negativní vliv

příbuzenské plemenitby byl pozorován u znaků mléčné užitkovosti nádoje (Vostra-Vydrova et al. 2020; Paiva et al. 2020; Luigi-Sierra et al. 2022) a počtu somatických buněk (Luigi-Sierra et al. 2022), reprodukčních znaků váhy vrhu (Mahmoudi et al. 2018) a velikosti vrhu (Mahmoudi et al. 2018) i znaků užitkovosti v produkci srsti, jako je váha srsti (Wang et al. 2013; Rashidi et al. 2015; Dai et al. 2015), délka srsti (Dai et al. 2015) a průměr vlákna (Wang et al. 2013), který je při snaze o produkci jemné srsti naopak žádoucím jevem.

2.4 Očišťující efekt inbreedingu

V souvislosti s teoriemi o mechanismu vzniku inbrední deprese je rovněž často diskutováno působení takzvaného „purging“ efektu, očišťujícího efektu příbuzenského křížení, který způsobí vymizení škodlivých alel z populace (Curik et al. 2020). I když byl tento jev častokrát pozorován (Mc Parland et al. 2009; Moreno et al. 2015; Robinson et al. 2018; Curik et al. 2020), je stále nejasné, jakým způsobem a za jakých podmínek k němu dochází. Celá myšlenka očišťujícího efektu inbreedingu je založena na hypotéze, která předpokládá, že u inbredních potomků inbredních rodičů se bude méně projevovat inbrední deprese než u inbredních potomků outbredních rodičů, protože již jejich rodiče prošli sítím přirozené selekce a je tedy malá šance, že jsou nositeli škodlivých alel (Templeton & Read 1984). Kristensen a Sørensen (2005) shrnují podmínky jeho působení do čtyř bodů.

1. Průměrný účinek škodlivých mutací bude silný ve vztahu k efektivní velikosti populace.
2. Selektivní vlivy, které panují mezi lokusy, jsou spíše slabé (např. epistáze).
3. K příbuzenské plemenitbě nedochází skokově, ale postupně po několik generací.
4. Nedochází k přimísení škodlivých alel imigrací.

Jako první se „purging“ efekt pokusil kvantifikovat Slatis (1960), jeho myšlenku rozvedl Ballou (1997) a ve svém lineárním regresním modelu zkombinoval negativní působení inbreedingu s pozitivním vzájemným působením ancestrálního inbreedingu a inbreedingu. Jeho model později ještě upravili Boakes a Wang (2005) a Suwanleeho a kol. (2007) pak na jeho základě vytvořil nový typ ancestrálního koeficientu inbreedingu. Jako druzí publikovali svůj model pro očišťující efekt inbreedingu Kalinowski a kol. (2000), v jejichž modelu hraje hlavní roli selekce eliminující škodlivé alely z populace hned, jakmile se objeví ve stavu identity dle původu:

$$S = S_0^{(-B_{founders}fn)},$$

kde S_0 značí životaschopnost neinbredních jedinců, f_n je podíl genomu každého jedince, který je IBD (identický dle původu) s IBD alelami poprvé v linii tohoto jedince, $B_{founders}$ reprezentuje počet letálních ekvivalentů zanesených do populace zakladateli (Kalinowski et al. 2000). Jako třetí se touto problematikou zabývali Gulisija a Crow (2007). Jejich přístup je založen na výpočtu tzv. vyjádřené příležitosti k očišťujícímu efektu, tedy potenciálem pro snížení genetického zatížení, které vyvstalo v současné generaci kvůli přítomnosti inbredních předků:

$$O_{Ei} = \sum_j 2F_{i(j)}F_j,$$

kde $F_{i(j)}$ je pravděpodobnost, že alela u jedince i bude autozygotní a bude odvozena od alely předka j , jedná se tedy o koeficient částečné příbuzenské plemenitby. F_j je koeficient inbreedingu předka j a to celé je vynásobeno dvěma, kvůli tomu, že homozygotní předek přeneše alelu se 100% pravděpodobností a ne 50% (Gulisija & Crow 2007). Jejich metoda je uplatnitelná hlavně ve velmi dobře zaznamenaných krátkých rodokmenech pouze pro zcela recesivní a vážně škodlivé alely s nízkou frekvencí. V roce 2012 prezentovala svůj inbreeding-purge model Garciová-Doradová (2012). Rozsah očisty v něm určují míra inbreedingu nebo efektivní velikost populace s počtem generací probíhajícího inbreedingu. Model je založen na tzv koeficientu očištění inbreedingu g_t , který je pro každou škodlivou alelu očekávanou hodnotou součinu Wrightova koeficientu inbreedingu a její frekvence v generaci t děleno frekvencí v generaci předků (García-Dorado 2012):

$$g_t = E \left(\frac{f_t q_t}{q_0} \right).$$

Tento koeficient inbreedingu je ovlivněn očištěním koeficientem představujícím posílení selekce probíhající příbuzenskou plemenitbou (García-Dorado 2012). Tento model byl následně ještě upraven, aby mohl být koeficient očištění inbreedingu aplikován i na rodokmeny s překrývajícími se generacemi a zahrnout údaje o kondici jedince do předpovědi důsledků společného působení inbreedingu a očišťujícího efektu (García-Dorado et al. 2016). Mezitím vytvořili nový koeficient historického inbreedingu předků Baumung a kol. (2015) se svým programem Grain. Svým způsobem navázali na Kalinowského a Balloua, ale jejich koeficient bere v úvahu, jak často byla alela v genomu jedince ve stavu IBD a zohledňuje tedy míru pravděpodobnosti očištění v závislosti na tom, jak často prodělaly alely příbuzenské křížení v minulosti – byly víckrát vystaveny selekci, a tedy jsou potenciálně méně škodlivé (Baumung et al. 2015).

Tým Lópeze-Cortegana porovnával oba typy přístupů, jak využití ancestrálního inbreedingu, tak inbreeding-purge model (López-Cortegano et al. 2018). Oba podle nich mají své limity. První má tendenci nadhodnocovat míru inbrední deprese, pokud příbuzenská plemenitba působí po dlouhou dobu. Tím dojde k nepřesným odhadům pro vývoj fitness na základě průměrných odhadů účinků očišťujícího efektu i inbreedingu. Druhý přístup při dlouhodobém působení inbreedingu podhodnocuje inbrední depresi, což je však u dostatečně velkých populací kompenzováno současně podhodnoceným očištným efektem, takže výsledný odhad fitness je poměrně přesný. Nicméně obecně doporučují využití inbreeding-purge modelu (López-Cortegano et al. 2018). Oba tyto přístupy však opomíjejí vliv změn životního prostředí v roli přirozeného nebo umělého výběru, ovlivňujících velikost inbrední deprese, a v důsledku tedy i na analýzu očišťujícího efektu inbreedingu (Curik et al. 2020).

2.5 Metody hodnocení genetické diverzity z hlediska původu informačního zdroje

2.5.1 Teoretická hodnocení genetické diverzity

Do této kategorie je možné zařadit genealogické analýzy spolu se všemi ukazateli genetické variability založené na výpočtech pravděpodobností identity alel na základě příbuzenských vztahů ve sledované populaci. Pečlivé zhodnocení současného stavu genetické rozmanitosti daného plemene je nezbytným prvním krokem k jeho záchraně a genealogická analýza je pro to výborným nástrojem (Joezy-Shekalgorabi et al. 2016). Není totiž finančně náročná a data jsou pro ni často dobře dostupná, protože informace o rodokmenu se běžně zaznamenávají v průběhu let (Sobieraj-Kmieciak et al. 2020). I přes překotný nástup molekulárně genetických metod tak zůstávají genealogické analýzy užitečným a hojně využívaným nástrojem hodnocení genetické diverzity i v současnosti jak u koz (Joezy-Shekalgorabi et al. 2016, 2017; Hidalgo-Moreno et al. 2020; Mandal et al. 2021), tak u ovcí (Mokhtari et al. 2013; Borges Barbosa et al. 2020; Mallick et al. 2020; Illa et al. 2020; Hashemi & Ghavi Hossein-Zadeh 2020). Mají však rovněž řadu nedostatků: (i) předpokládají, že zakladatelé rodokmenu nejsou příbuzní, a tedy nesou dvě různé alely na všech lokusech; (ii) neumožňují odhadnout genetické vztahy mezi subpopulacemi, pokud u nich nejsou zaznamenány rodokmenové souvislosti; (iii) předpokládají, že vlastní sourozenci sdílejí přesně 50 % genů; (iiii) u celé řady lokálních plemen neexistují rodokmenové záznamy kvůli extensivnímu charakteru systémů chovu (Eusebi et al. 2019).

Hlavním úkolem genealogických analýz genetické diverzity je kromě zhodnocení stávajícího managementu chovu navrhnout co nejlepší systém připarování a optimální kontribuční selekci (OCS) pro další generace za účelem udržet inbreeding v přijatelných mezích (Meuwissen 2009). Celogenomové metriky inbreedingu pro to nejsou dostačující, protože dva jedinci se stejnou hodnotou celogenomové příbuzenské plemenitby se mohou výrazně lišit v zátěži, kterou nesou (homozygotnost v některých oblastech může být škodlivější než v jiných), a jejich spojení bude mít tak heterogenní charakter (Howard et al. 2017). Proto byly vyvinuty metody optimální kontribuční selekce (OCS) zohledňující příbuznost mezi všemi páry jedinců i jejich plemenných hodnot v minulosti a současnosti (Meuwissen et al. 2020). I tento přístup je však v současnosti vytlačován přístupy založenými na molekulárně genetických markerech (Gómez-Romano et al. 2016).

Některé studie hodnotící genetickou variabilitu plemen ovcí a koz kombinují použití jak genealogických, tak molekulárně genetických dat, za účelem postihnoutí výhod i nevýhod obou přístupů. Například Rodríguez-Ramilo a kol. (2019) charakterizovali rozdíly v odhadech genetické diverzity založených na rodokmenech a SNP u plemen lacaune, manech tête rousse, manech tête noire a basco-béarnaise. Srovnání mikrosatelitů s rodokmenovou analýzou provedli Rochus a Johansson (2017) u plemene švédské ovce gute a Paiva a kol. (2011) u brazilské somali. Stejně porovnání mikrosatelitů a rodokmenů bylo provedeno už i u koz týmem Baldursdottir a kol. (2012) u plemene islandská koza. Všechny tyto studie zaznamenaly podhodnocení parametrů genetické diverzity na základě genealogických záznamů oproti využití molekulárně genetických dat.

Nejčastěji používané parametry hodnocení genetické diverzity prostřednictvím rodokmenů jsou koeficient inbreedingu, průměrná příbuznost, efektivní velikost populace, genetický konzervační index (*GCI*), ekvivalentní počet kompletních generací (*CGE*), ztráta genetické diverzity, parametry hodnotící přispění předků a zakladatelů, Wrightovy *F* statistiky a generační intervaly.

2.5.2 Hodnocení neutrální a funkční molekulární genetické diverzity

Popis všech možných metod, kterými je možné sledovat skutečnou genetickou diverzitu malých přežvýkavců je nad rámec této práce. Většina z nich však používá společný prostředek k mapování genomu a tím je takzvaný marker. Při hodnocení diverzity se jedná o polymorfismus v genetické nebo peptidické sekvenci, který je použit pro sledování genetické

variability a příbuznosti v populaci. Souhrnnou tabulku různých molekulárních (genetických) markerových systémů používaných pro hodnocení genetické diverzity savců zobrazuje tabulka 1. Tato práce se ale zaměřuje hlavně na použití mikrosatelitů a SNP.

Tabulka 1 Vlastnosti jednotlivých markerových systému. Převzato a upraveno z Ortega a Maldonado (2020).

Markerový systém	Cena	Dědičnost	Variabilita	Počet lokusů	Porovnatelnost mezi studii
alozymy	nízká	kod-bip	nízká	nízký	nízká
RAPD	nízká	dom-bip	nízká	nízký	nízká
RFLP	nízká	kod-bip	nízká	nízký	střední
MtDNA	nízká	matrilieární	nízká/střední	nízký	vysoká
Microsatelity	střední	kod-bip	vysoká	vysoký	nízká*
SNPs	střední	kod-bip	střední/vysoká	vysoký	vysoká
RADseq	nízká	kod-bip	střední/vysoká	vysoký	nízká
Cílený záchyt sondami	střední	různá	střední/vysoká	vysoký	vysoká
Introny	střední	kod-bip	střední/vysoká	vysoký	vysoká
Sekvenování exonů	vysoká	kod-bip	nízká/střední	vysoký	vysoká
UCEs	střední	kod-bip	nízká	nízký	vysoká
WGS	vysoká	kod-bip	vysoká	vysoký	vysoká

* Nízkou porovnatelnost dat z mikrosatelitů mezi studii lze vylepšit použitím vysokorychlostního sekvenování. „dom“ = dominantní; „kod“ = kodominantní; „bip“ = biparentální.

2.5.2.1 Analýzy na základě krátkých tandemových repetic (mikrosatelitů)

Tandemové repetice jsou úseky DNA stávající se z krátkých opakujících se sekvencí nukleotidů různé délky (Gündüz et al. 2016). Na základě délky jejich základní jednotky se rozdělují na mikrosatelity o délce 1-6 nukleotidových bází (Chistiakov et al. 2006) a minisatelity měřící obvykle od 10 do 60 bází (Wasko & Galetti 2003). Mikrosatelity jsou v genomu rozmístěny náhodně, kdežto minisatelity se vyskytují blíže k telomerám chromozomů (Yaro et al. 2017). Mikrosatelity lze podle délky základní jednotky ještě dále dělit na mono-, di-, tri-, tetra-, penta- a hexanukleotidové, přičemž mezi délkou základní jednotky a celkovou délkou mikrosatelitu existuje nepřímá úměrnost (Fan & Chu 2007). Krátké tandemové repetice (STR) nebo

mikrosatelity (SSR) patří mezi nejvíce polymorfní markery, které jsou zároveň v eukaryotickém genomu velmi hojné (Viryanski 2019). To je také důvod jejich častého využívání pro studium diverzity, protože jsou nákladově efektivnější i při použití menšího množství vzorků a zároveň není potřeba ani tolik markerů jako třeba u SNP (Tall et al. 2005).

Velkou výhodou mikrosatelitů je využitelnost stejných primerů pro další příbuzné druhy zvířat. Pro ovce nebo kozy je tak možné využívat mikrosatelitní primery vyvinuté pro skot a naopak (Engel et al. 1996). Přesto, že základní sekvence mikrosatelitu je v rámci druhu hospodářského zvířete stejná, počet jejích opakování se liší jak mezi plemeny, tak mezi samotnými jedinci (Demir et al. 2021). FAO a Poradní skupina ISAG-FAO pro genetickou rozmanitost zvířat navrhly panely po 30 mikrosatelitních markerech pro studium genetické rozmanitosti u 9 druhů hospodářských zvířat (mezi nimi i ovcí a koz) kvůli lepší porovnatelnosti různých studií (FAO 2011). Řada autorů však z různých důvodů tento panel nepoužívá nebo používá jen část mikrosatelitů (Baumung et al. 2004; Groeneveld et al. 2010).

I tak jsou mikrosatelity užitečným nástrojem sledování diverzity uvnitř populací, rozdílů mezi populacemi, genetických vzdáleností a úspěšné realizace ex-situ záchranných programů (Viryanski 2019). Například Loukovitis a kol. (2022) hodnotili šest stád ohroženého maďarského merina a objevili nízkou genetickou odlišnost daných stád spolu s vysokým stupněm variability uvnitř stád, které zřejmě způsobila snaha chovatelů vyhnout se příbuzenskému křížení. Zároveň se jim podařilo identifikovat dvě stáda nesoucí unikátní alely, na které by se v budoucnu měla záchranná plemenářská práce zaměřit. Nízkou diverzitu mezi různými populacemi našli také Dayo a kol. (2022) u ovce djallonké v Guinea-Bissau, a to dokonce mezi populacemi odlišných morfotypů. U Tuniského plemene sicilio-sarde byl nalezen zcela odlišný jev, kdy se chovatelé potýkají s nízkou genetickou odlišností jak mezi populacemi, tak v rámci nich, a tedy i inbreedingem (ben Sassi-Zaidy et al. 2022).

Nejde ale pouze o identifikaci populací vhodných pro zařazení do záchranných programů, ale i konkrétních jedinců nesoucích co největší množství cenné genetické variability – jedince s největšími rozdíly v genetických vzdálenostech (Yaro et al. 2017). Díky mikrosatelitům je rovněž možné zařadit jedince do plemene i v případech, když rodokmeny jsou nejasné a zároveň neexistuje výrazná fenotypová diferenciací (Baumung et al. 2006). V neposlední řadě je nutné zmínit roli mikrosatelitů v parentálních testech. Jejich prostřednictvím sice nelze genetickou variabilitu vyhodnocovat, ale významně přispívají ke zpřesnění rodokmenových

analýz odhalením chyb v rodokmenu (Al-Atiyat 2015) a potažmo i molekulárních analýz, u nichž je důležitý výběr nepříbuzných jedinců (Harris & Kotze 2002; Sollero et al. 2009; Mastrangelo et al. 2014).

K vyhodnocení genetické diverzity pomocí mikrosatelitních dat se používá řada genetických parametrů. Tradičně se rozdělují na vnitrodruhové a mezidruhové, případně vnitroplemenné a meziplemenné. Do vnitroplemenných se řadí průměrný počet efektivních alel (N_E), průměrný počet alel na lokus (N_A), alelická bohatost (AR), očekávaná a pozorovaná heterozygotita (H_E), (H_O), polymorfni informační obsah (PIC), test Hardy-Weinbergovy rovnováhy a Wrightův vnitropopulační fixační index (F_{IS}). Do meziplemenných se řadí zbylé dva Wrightovy fixační indexy F_{IT} a F_{ST} , celá řada genetických distancí, které přehledně shrnují například Laval a kol. (2002), a metody genetického shlukování, které je možno dále rozdělit na přístupy založené na modelu (maximum-likelihood, Bayesovské metody) a na tzv. geometrické přístupy (Beugin et al. 2018).

2.5.2.2 Analýzy jednonukleotidových polymorfismů (SNP)

SNP je polymorfismus vyskytující se v různých oblastech sekvence DNA, kdy je jeden nukleotid zaměněn za jiný (Kawęcka et al. 2016). Ačkoliv se teoreticky může vyskytnout náhrada jakýmkoliv ze zbylých tří nukleotidových bází, v reálu jsou nejčastěji bialelické, a aby se mohly označit za SNP, musí být frekvence minoritní alely alespoň 1 % (Vignal et al. 2002). Existují tři hlavní důvody, proč u SNP převažuje bialelická forma. Prvním je náhodnost a velice nízká frekvence mutací, která činí zhruba 10^{-8} mutací na nukleotid v neutrálních oblastech za generaci (Crow 1995). Pravděpodobnost, že k tomu dojde dvakrát na stejném místě, je proto velmi nízká. Druhým důvodem je jejich rychlé spontánní vymizení v důsledku genetického driftu nebo se na nějakou dobu udržují v populaci jako vzácné alely s četností <1 % (Brookes 1999). A třetím důvodem je působení mutačních mechanismů ve směru dvakrát nižší četnosti vzniku tranzicí bází (purin-purin nebo pyrimidin-pyrimidin) než transverzí (purin-pyrimidin nebo pyrimidin-purin) (Vignal et al. 2002). V důsledku jejich nižší variability je jejich informační obsah zákonitě nižší než u mikrosatelitů – zhruba pět SNP má stejný informační přínos jako jeden mikrosatelit (Beuzen et al. 2000).

Jako novou možnou technologií použitelnou jako molekulárně genetický marker ji navrhl Eric S. Lander v roce 1996 (Yang et al. 2013). Výhodou použití SNP v dnešní podobě je v nízké míře chybovosti, jednodušší kalibrace mezi laboratořemi oproti mikrosatelitům, a tedy i

hromadění většího množství dat z různých laboratoří a samozřejmě dostupnost velkého počtu známých markerů (Kawęcka et al. 2016). Dnešní studie genetické diverzity hospodářských zvířat jsou založeny na identifikaci SNP pomocí tzv. čipů. Fungují na principu hybridizace daných fragmentů DNA s DNA sondami nacházejících se ve velké hustotě na čipu (Yang et al. 2013). Pro SNP analýzy u hospodářských zvířat jsou stále více používané mikročipy s velkým množstvím SNP (čipy o 50 000 SNP a více), kterými lze prozkoumat genetickou variabilitu v celém genomu pomocí vazebné nerovnováhy (Gurgul et al. 2014). Nepoužívají se ale pouze pro studium variability, ale také pro identifikaci vloh pro zdraví (al Kalaldehy et al. 2019; Lopes et al. 2020) a produkci (Lee et al. 2012; van der Westhuizen et al. 2019; Xu et al. 2021), selekčních znaků (Wang et al. 2020; Zinovieva et al. 2020) a vhodných SNP pro testování parentity (Zhang et al. 2018b; Gebrehiwot et al. 2021). Využití komerčních čipů s vysokou hustotou obecně závisí na třech faktorech: (i) stále vysoké ceně genotypizace; (ii) vývoji čipu jako takového kvůli existenci velkého množství plemen, včetně syntetických; (iii) rozdílných účincích DNA markerů v populacích oddělených prostředím i geneticky (Koopae & Koshkoiyeh 2014).

Klíčovým principem pro využití SNP čipů je vazebná nerovnováha (LD), která je základním konceptem všech jejich dalších aplikací, jako je výpočet koeficientu inbreedingu, efektivní velikosti populace i alelických frekvencí v populaci a jejich změn (Mészáros 2018). Vazebná nerovnováha však není v průběhu generací stabilní vlivem probíhající meiotické rekombinace, která s větší pravděpodobností postihuje od sebe vzdálenější lokusy (Brookes 1999). V závislosti na hustotě SNP markerů je možné zaměřit se na různá historická období vývoje druhu, plemene nebo populace, po vzoru čím kratší vzdálenost mezi markery, tím starší událost můžeme odhadovat. U ovcí například i společné haplotypy zůstávají ve velké míře zachovány pro relativně kratší vzdálenosti než u jiných domácích zvířat, což ukazuje na jediného domestikačního předka ovce (Kijas et al. 2012a). U hospodářských zvířat silně působí umělý výběr ustalující přenášení specifických vlastností z generace na generaci, a formuje tak specifický vzor LD pro celé populace (Liu et al. 2017). Tento vzor LD je dále základem celogenomových asociačních studií (GWAS), genomické předpovědi a mapování QTL (Brookes 1999). Jejich úspěšnost pro konkrétní plemeno ale záleží na volbě dostatečné hustoty markerů, kterou je možné odvodit z rozpadu LD, tj. závislosti pravděpodobnosti výskytu LD na vzdálenostech dvojic markerů (Zhao et al. 2014). Pro detekci asociace v populaci s LD

přetrvávající na velké vzdálenosti nebude potřeba taková hustota markerů jako pro populaci, v níž LD přetrvává pouze na krátké vzdálenosti (Meadows et al. 2008).

U malých přežvýkavců se pro studium genetické diverzity nejčastěji používají SNP čipy o střední a vysoké hustotě. Na čipu se střední hustotou o padesáti tisících SNP hodnotili například Meyermans a kol. (2020) genetickou variabilitu belgických dojných plemen ovcí a na základě této analýzy potom navrhli možná opatření pro její udržení. Jiný tým zase pomocí stejného čipu odhalili 6-30% zastoupení merinového genotypu u různých severoafrických plemen ovcí (ben Jemaa et al. 2019a). Pomocí SNP čipu s vysokou hustotou byla zkoumána i genetická variabilita různých chovných skupin kompozitních plemen ovcí terminal sire na Novém Zélandu pro účely genomického odhadu a genomické selekce (Brito et al. 2017b). Čipy s nižší hustotou SNP se u ovcí a koz k tomuto účelu používají výjimečně, i když k základnímu porovnání diverzity plemen se jednotky tisíc SNP ukázaly jako dostačující (McKay et al. 2008; Sveistiene & Tapio 2021).

Vedle všech výše popsaných parametrů, které jsou aplikovatelné jak na mikrosatelity, tak na SNP, existují i takové, které jsou využitelné pouze pro SNP analýzy. Jedná se o parametry založené na runs of homozygosity (ROH, dlouhé úseky homozygotních genotypů) a haploblocích. Haplobloky jsou přilehlé SNP v silné vazebné nerovnováze, které se používají pro hledání plemenně specifických významných funkčních oblastí genomu (Jónás et al. 2017).

2.5.2.3 Analýzy paternálních a maternálních haplotypů

Trochu speciálním případem sledování genetické diverzity savců je molekulární analýza úseků DNA specifických pro jedno pohlaví. Pro tento typ výzkumu se u přežvýkavců využívá mitochondriálního genomu u samic a nerekombinujících úseků na chromozomu Y u samců. Studium variability se u samčího mitochondriálního genomu nezaměřuje výhradně na celý mitogenom (Lancioni et al. 2013; Mustafa 2021), ale často jen na některé hypervariabilní úseky, jako je nekódující oblast takzvané D-smyčky (kontrolního regionu) (Rannamäe et al. 2016; Yamanaka et al. 2019; Ma et al. 2021), cytochrom *b* (Zhang et al. 2016; Prihandini et al. 2020) nebo jen jednoho z hypervariabilních segmentů kontrolního regionu (D-smyčky) (Pereira et al. 2006; Phyu et al. 2017; di Lorenzo et al. 2018; Li et al. 2021b). U samčího Y chromozomu se vědci zaměřují přímo na různé SNP (Edwards et al. 2011; Ma et al. 2021), mikrosatelity (Edwards et al. 2011; Ma et al. 2021) případně i sekvenaci částí (i celých) konkrétních genů (Rannamäe et al. 2016; Zhang et al. 2016, 2022; Yamanaka et al. 2019).

U ovcí se metoda porovnávání samičích mitochondriálních haplotypů používá ke studiu variability od roku 1996, kdy Phua a Wood (2009) identifikovali na základě mitochondriálního polymorfismu D-smyčky první dvě haploskupiny A a B. Hlavní průlom nastal v roce 1998, kdy Hiedlerův a kol. (1998a) sekvenoval kompletní mitochondriální genom ovce. Od té doby významně přispěla k objasnění původu ovce domácí, jak fylogenetickému (Hiendleder et al. 1998b; Rezaei et al. 2010; Meadows et al. 2011), tak zeměpisnému (Tapio et al. 2006b), k přesnému taxonomickému zařazení jejích blízkých příbuzných (Wu et al. 2003; Bunch et al. 2006) nebo studiu původu plemen (Gáspárdy et al. 2021, 2022) a jejich příbuznosti (Ibrahim et al. 2020; Wanjala et al. 2021; Kurukulasuriya et al. 2022).

D-smyčka je dlouhá 1180 bp a je umístěna mezi tRNA prolinu a fenylalaninu (Hu & Gao 2016). U ovcí ji lze rozdělit do tří částí: 5'-periferní doména (pravá doména), centrální konzervovaná doména (cca 200 bp) a 3'-periferní doména (levá doména) (Saccone et al. 1991). Obsahuje velké množství variabilních i hypervariabilních úseků (Wood & Phua 2009). V oblasti pravé domény se nachází pro studium ovčích mitogenomů nejčastěji používaný hypervariabilní region D-smyčky (HVR1) (Mohammadhashemi et al. 2010). Velkou míru variability v sobě nese rovněž střídání 75 b dlouhých repetitivních sekvencí D-smyčky (Xiang-Long et al. 2006):



Obrázek 2 Obdélníky představují první až páté opakování hlavní sekvence, ve které může být navíc ještě mutace. T? představuje přítomnost/nepřítomnost vložené T báze mezi dvě repetice.

Cytochrom *b* je vůbec jedním z nejrozšířenějších genů pro studium taxonomie savců (Gillman et al. 2009). Obsahuje totiž jak rychleji, tak pomaleji se vyvíjející pozice kodonů i jiné oblasti nebo domény (Farias et al. 2001). Rovněž se jedná o jeden z nejdéle a zároveň nejlépe popsaných mitochondriálních genů včetně jeho produktů (Esposti et al. 1993). Variabilita jeho sekvence je dána vyšší mutační rychlostí než u ostatních částí mitochondriálního genomu (Castresana 2001).

Ovčí specificky samčí region chromozomu Y (MSY) je studován z hlediska diverzity mnohem kratší dobu než samičí mtDNA. Je to hlavně z důvodu nízké nukleotidové variability DNA Y chromozomu u savců obecně (Hellborg & Ellegren 2003) i konkrétně přímo v oblasti MSY (Chan et al. 2012; Bidon et al. 2014). K odhalení prvního SNP u ovce v MSY došlo teprve

v roce 2004 (Meadows et al. 2004). Nyní je již známo více než 770 SNP a jeden mikrosatelitní lokus *SRYM18* (Li et al. 2021a). *SRYM18* je složený mikrosatelit v genu proteinu určujícího pohlaví (*SRY*), který obsahuje pentanukleotidovou $[TTTTG]_m$ a dinukleotidovou $[TG]_n$ repetici oddělenou buď inzercí nebo delecí (indel G/-) (Meadows & Kijas 2009). *SRY* a *DDX3Y* (gen kódující ATP-dependentní RNA helikázu) zatím zůstávají jedinými geny v regionu MSY ovce, u kterých byl objeven polymorfismus využitelný ke studiu genetické variability ovcí (Meadows et al. 2004; Zhang et al. 2022).

2.6 Parametry hodnocení genetické diverzity z hlediska velikosti konzervační jednotky

2.6.1 Parametry genetické diverzity na úrovni části genomu

2.6.1.1 Shannonův informační obsah

I přes to, že v této disertační práci byl Shannonův informační obsah využit k popisu variability na jednotlivých lokusech, lze jej aplikovat i na vyšší úrovně genetické organizace, jako jsou druhy i celé ekosystémy (Konopiński 2020). V případě genetické diverzity má vzorec pro jeho výpočet podobu:

$$H_A = - \sum p_i \log_2 p_i,$$

Kde p_i představuje podíl jedinců s i genotypem (Peakall & Smouse 2009).

2.6.1.2 Polymorfní informační obsah

Jedná se o pravděpodobnost, s jakou bude možné díky markeru odvodit na základě genotypu potomka, kterou ze dvou alel zdědil od konkrétního rodiče, pokud nebude uvažován crossing-over (Guo & Elston 1999). Jako první tento index definovali Botstein a kolektiv jako

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

p_i je frekvence i -té alely v populaci, n počet alel na lokus (Botstein et al. 1980).

2.6.2 Parametry genetické diverzity na úrovni jedince

2.6.2.1 Koeficienty inbreedingu založené na rodokmenu

Koeficient inbreedingu založený na ztrátě předků (Z_n)

Koeficient inbreedingu založený na ztrátě předků byl jedním z prvních definovaných vůbec. Je založen na předpokladu, že pokud se v některé z generací předků sledovaného jedince vyskytla blízká příbuzenská plemenitba, tak bude některý z předků v rodokmenu figurovat vícekrát a sníží tedy celkový počet předků v rodokmenu (Pearl 1913). Koeficient inbreedingu ztráty předků je procentickým vyjádřením rozdílu mezi maximálním možným (p) a skutečným (q) počtem předků v u dané generaci ($n+1$) (Pearl 1913):

$$Z_n = \frac{100(p_{n+1} - q_{n+1})}{p_{n+1}}$$

Koeficient inbreedingu podle Wrighta (F_x), rodokmenový inbreeding (F_{PED})

Jedná se o nejznámější vyjádření inbreedingu vůbec. Sewall Wright svůj výpočet koeficientu inbreedingu založil na předpokladu, že pokud je jedinec inbrední, tak jeho rodiče musí v rodokmenu spojovat původové linie od společného předka či předků (Wright 1922). Společný předek může být samozřejmě zapojen do více linií nebo být sám inbrední, v takovém případě:

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

Kde suma značí součet všech původových linií ke společným předkům, n a n' jsou počty volných generací ze strany otce, respektive matky, a F_A koeficient inbreedingu sledovaného předka (Wright 1922).

S příchodem moderní výpočetní techniky se vyvíjely i metody a algoritmy výpočtu koeficientu inbreedingu, byť stále založené na původních Wrightových předpokladech. Henderson (1976) například představil způsob výpočtu inverzní matice příbuznosti přímo z rodokmenu bez nutnosti počítání celé matice a její následné inverze. Na něj navázal Quaas (1976), který dále urychlil výpočetní proces modifikací umožňující nalezení diagonálních prvků matice příbuznosti bez nutnosti jejího uložení do paměti. Výpočet koeficientu inbreedingu je tak možno získat podle následujícího vzorce:

$$A_{ii} = \sum_{j=1}^i L_{ij}^2 D_{jj},$$

kde A_{ii} je i -tý diagonální prvek matice příbuznosti A , který se rovná koeficientu inbreedingu zvířete i plus 1 (Quaas 1976). Výpočetní proces byl ale stále časově náročný a výrazněji ho urychlili až později vytvořené algoritmy (Tier 1990; Golden et al. 1991; Meuwissen & Luo 1992; VanRaden 1992; Colleau 2002). Colleauova metoda výpočtu inbreedingu nepřímo z koeficientů příbuznosti se ještě dočkala vylepšení pro případ překrývajících se generací (Sargolzaei et al. 2005), podobně metoda VanRadena přiřazující průměrné hodnoty koeficientu inbreedingu jedincům s neznámými rodiči v roce jejich narození byla následně upravena pro rekursivní postup výpočtu (Aguilar & Misztal 2008). Zatím poslední úspěšnou úpravu algoritmu pro dosažení rychlejší metody výpočtu provedl Nilforooshan (2022), jeho metoda je však náročnější na využití paměti.

Ancestrální koeficient inbreedingu (F_a)

Jako první formuloval výpočet koeficientu inbreedingu předků (ancestrálního) Ballou (1997), a to na základě myšlenky očišťujícího efektu historického inbreedingu v generacích předků. Podle teorie očišťujícího efektu inbreedingu má rozmnožující se inbrední předek menší šanci předat škodlivé alely, a tedy inbrední zvíře s inbredními předky by mělo mít menší předpoklady k projevu inbrední deprese než inbrední zvíře s neinbredními předky (Templeton & Read 1984). Ancestrální koeficient inbreedingu tedy charakterizuje rozsah příbuzenské plemenitby mezi předky jedince a lze jej definovat jako kumulativní podíl genomu jedince, který byl již vystaven příbuzenské plemenitbě v generaci předků:

$$F_a = [F_{a(s)} + (1 - F_{a(s)})F_s + F_{a(d)} + (1 - F_{a(d)})F_d]/2,$$

kde F značí inbrední koeficienty a indexy s a d jejich hodnoty pro samce, respektive samice (Ballou 1997). Tento přístup měl ale řadu nedostatků, a proto přišli Suwanlee a kol. (2007) s upravenou metodou genetického droppingu. Podle ní dostane každý zakladatel přiřazeny dvě jedinečné alely a genotypy jejich potomků ze skutečného rodokmenu jsou generovány podle pravidel mendelistické dědičnosti. Alely, které se vyskytly v rodokmenu poprvé ve stavu IBD, jsou označeny a započítávají se do ancestrálního inbreedingu předků. Trochu jiný přístup rovněž založený na genetickém droppingu, ale nezaložený na kumulativní povaze ancestrálního inbreedingu navrženu Ballouem, zvolili Kalinowski a kol. (2000). Standartní rodokmenový

koeficient inbreedingu rozložili na dvě složky – historickou zahrnující alely, které prošly inbreedingem v minulosti, a současnou, která reflektuje alely identické původem poprvé. V každé generaci modelovali klesající pravděpodobnost úmrtí jedinců z genetické příčiny prostřednictvím odhadu zmenšujícího se podílu genomů, které nebyly vystaveny selekci.

Baumung a kol. (2015) přišli ještě s jinou metodou výpočtu s názvem historický koeficient předků (A_{HC}). Tato metoda výpočtu sice staví na stejném principu menší škodlivosti alel, které se už v minulosti vyskytly v IBD sestavě, ale na rozdíl od Balloua a Kalinowského a kol. zohledňuje i kolikrát tomu tak byl. Pokud selekce vůči recesivním vlohám je menší než 100 %, tak je A_{HC} dobrým ukazatelem příbuzenské plemenitby předků, protože pravděpodobnost očišťujícího efektu je tím vyšší, čím častěji byly alely během segregace v rodokmenu přítomny ve stavu IBD (Baumung et al. 2015). Mezi koeficienty inbreedingu založené na historické příbuzenské plemenitbě a rodokmenových záznamech můžeme zařadit i takzvaný očišťující koeficient inbreedingu (g_i). Ten měří očekávanou frekvenci recesivních škodlivých lokusů v homozygotním stavu, jako funkci očištného koeficientu (d) vztaženému ke škodlivým účinkům s recesivní povahou. Tedy jakým způsobem působí očišťující efekt na dříve naakumulovaný inbreeding a jak jeho efektivita narůstá s efektivní velikostí populace (García-Dorado 2012).

Původový koeficient (F_z)

Původový koeficient, jak ho stanovil Malécot (1948) a později jako inbrední koeficient i Crudenová (1949), stojí někde na pomezí koeficientu inbreedingu a příbuznosti. Je definován jako pravděpodobnost, že dva náhodně vybrané geny od dvou jedinců (X a Y) ze sledované populace budou identické dle původu (Jakubec et al. 2010). Pokud genotypy těchto dvou jedinců označíme jako tu a vw , potom se inbrední koeficient jejich potomka Z (původový koeficient f_{XY}) vypočítá:

$$F_z = \frac{f_{TV} + f_{TW} + f_{UV} + f_{UW}}{4}$$

Hodnoty f zde zobrazují příspěvy čtyř předků T, U, V a W z generace prarodičů (Cruden 1949).

2.6.2.2 Genomické koeficienty inbreedingu

Koeficient inbreedingu založený na nadbytku homozygotnosti (F_{HOM})

Původně byl představen v roce 1953, tehdy ještě označen jako f (Li & Horvitz 1953). Nyní se pro tento koeficient založený na rozdílu mezi očekávaným a pozorovaným počtem homozygotních genotypů používá hlavně označení F_{HOM} (Schiavo et al. 2020; Alemu et al. 2021; Caivio-Nasner et al. 2021), dále F_H (Nietlisbach et al. 2019; Zilko et al. 2020), F_{PLINK} (Huisman et al. 2016), LHR (Wang 2014), F_{IS} (McGivney et al. 2020), F_{SNP} (Saura et al. 2015; Rodríguez-Ramilo et al. 2020), F_{EH} (Brito et al. 2017a) a $F_{L\&H}$ (Villanueva et al. 2021). Je možné jej definovat následovně:

$$F_{HOM} = 1 - \frac{\sum_{k=1}^p x_k(2 - x_k)}{\sum_{k=1}^p 2p_k(1 - p_k)}$$

kde x_k je počet minoritních alel SNP k , p_k je jejich frekvence a p je počet známých SNP (Yengo et al. 2017).

Koeficienty inbreedingu na základě diagonálních elementů genomických matic příbuznosti (F^I , F^{II} , F^{III})

Stejně jako předcházející F_{HOM} náleží F^I , F^{II} a F^{III} do kategorie koeficientů, jejichž přesnost velmi závisí na frekvencích alel daných markerů, které jsou odhadnuty pouze z dostupných vzorků sledované populace (Gazal et al. 2014). První z těchto koeficientů (značen rovněž F_{GCTAI}) je založen na rozptylu aditivních genetických hodnot, tedy na hodnotách diagonály genetické matice příbuznosti vytvořené na základě informací z SNP (VanRaden 2008; Yang et al. 2011):

$$F^I = \frac{1}{S} \sum_{k=1}^S \left(\frac{(x_k - 2p_k)^2}{2p_k(1 - p_k)} - 1 \right)$$

Druhý je založen na větší míře homozygotnosti (Yang et al. 2011). Počítá se rovněž z diagonálních elementů genetické matice příbuznosti druhým způsobem navrženým VanRadem (2008), tedy vážením každého z markerových lokusů převrácenou hodnotou jejich očekávaného rozptylu. To je hlavní rozdíl oproti jeho první metodě, která využívá pro vážení sumu rozptylů všech markerů:

$$F^{II} = 1 - \frac{1}{S} \sum_{k=1}^S \frac{(2 - x_k)x_k}{2p_k(1 - p_k)}$$

Třetí a poslední vychází z korelace mezi sjednocujícími se gametami (Yang et al. 2010):

$$F^{III} = \frac{1}{S} \sum_{k=1}^S \frac{x_k^2 - (1 + 2p_k)x_k + 2p_k^2}{2p_k(1 - p_k)}$$

S je celkový počet markerů, x_k je počet minoritních alel markeru k a p_k je aktuální frekvence minoritní alely v populaci (Caballero et al. 2021). U všech těchto koeficientů existuje velký nesoulad v jejich označování. F^I se označuje rovněž jako F_{GRM} (Zhang et al. 2015; Alemu et al. 2021; Cortellari et al. 2022), F_{VR} (Brito et al. 2017a; Rodríguez-Ramilo et al. 2020), F_{VR1} (Villanueva et al. 2021; Caballero et al. 2022) nebo F_{GCTA1} (Gazal et al. 2014), F^{II} různí autoři označují jako F_{GCTA2} (Gazal et al. 2014), F_{GRM2} (Solé et al. 2017) nebo F_{VR2} (Villanueva et al. 2021; Caballero et al. 2022). Označení F_{GRM} se ale používá i pro F^{III} (Huisman et al. 2016; Béréanos et al. 2016), stejně tak označení F_{GCTA3} (Gazal et al. 2014), F_{alt} (Nietlisbach et al. 2019), F_{Yang} (Eynard et al. 2016) nebo F_{AYN} (Villanueva et al. 2021), F_{UNI} (Yengo et al. 2017; Solé et al. 2017; Alemu et al. 2021; Polak et al. 2021) případně pouze F_U (Gurgul et al. 2020).

Koeficient inbreedingu na základě maximální věrohodnosti

Jeho odhady jsou založeny na pravděpodobnostním modelu vzorkovaných dat. V případě odhadu inbreedingu to znamená, že jednotku vzorkování tvoří dva jedinci, oba testovaní na daném počtu lokusů (Milligan 2003). Původně byla tato metoda vyvinuta pro porovnání párové příbuznosti (Milligan 2003; Anderson & Weir 2007), přičemž založena byla hlavně na práci Thompsona, který pomocí rovnice pravděpodobností porovnával poměry pravděpodobnosti markerových dat v rámci vztahu dvou jednotlivců (Thompson 1975):

$$L(\Delta) = Pr(S_i|\Delta) = \sum_j Pr(S_i|S_j) \Delta_j.$$

Pr udává pravděpodobnost pozorování konkrétní alelické kombinace S_i pro dva jedince na jednom lokusu, podle stupně příbuznosti Δ a distribuci alelických frekvencí (Milligan 2003). Pravděpodobnost celkového počtu vzorkovaných L lokusů je tedy součin tohoto vztahu napříč lokusy, mezi nimiž není vazba (Huang et al. 2015). Tento původní vztah byl následně upraven pro možnou strukturalizaci populace, tedy případ, kdy sledovaní jedinci pochází ze subpopulace a známy jsou alelické frekvence pouze populace celkové (Anderson & Weir 2007). Hall a kol. (2012) vypracovali další tři metody maximální věrohodnosti při odhadu koeficientu inbreedingu. První metoda pracuje s odhadem pouze pro jednoho jedince se známými frekvencemi alel, druhá v sobě spojuje jak odhad koeficientu inbreedingu, tak frekvencí alel u

skupiny jedinců, a třetí je ošetřena o případnou přítomnost nulových alel a zobecňuje tedy druhou metodu. Podobný algoritmus použil i Wang (2022b), i když výrazně složitější, jelikož zahrnuje genetickou strukturu. Odhaduje společně příbuznost i frekvenci alel iterativně ze stejného vzorku multilokusových genotypů a zároveň zohledňuje malé velikosti vzorků i možný inbreeding.

Koeficient inbreedingu odhadnutý metodou momentů

Jedná se o techniku odhadu parametrů statistického modelu, nachází hodnoty parametrů, které vedou ke shodě mezi momenty vzorku a momenty populace (Hazelton 2011). Jinými slovy, odhady koeficientu inbreedingu založené na této metodě párují momenty vzorku s odpovídajícími momenty rozdělení pravděpodobnosti (Bink et al. 2008). Metoda momentů není tolik využívána pro odhad inbreedingu jako metoda maximální věrohodnosti, existuje však několik obecně uznávaných odhadů vyvozených z koeficientů příbuznosti.

Prvním je index podobnosti S_{XY} , který je definován jako průměrná frakce genů na lokusu referenčního jedince, pro něhož existuje u sledovaného jedince jiný gen ve stavu identickém dle původu (Li et al. 1993). S jeho pomocí odvozený vzorec odhadu příbuznosti pro jeden lokus vypadá následovně:

$$r_{xy} = \frac{S_{XY} - S_0}{1 - S_0},$$

kde S_{XY} je index podobnosti nabývající na základě shodných alel velikosti 0; 0,5; 0,75 a 1, U udává hodnotu podobnosti na lokusu mezi dvěma nepříbuznými jedinci u panmikticky se rozmnožující populace $S_0 = \sum_{i=1}^n p_i^2 (2 - p_i)$ (Lynch & Ritland 1999).

Druhým je odhad původně vyvinutý pro použití na datech z alozymových markerů, který umožňuje odhad příbuznosti jak pro pár, tak skupinu jedinců (Queller & Goodnight 1989). Jeho vzorec pro odhad příbuznosti dvou jedinců stanovili Lynch a Ritland (1999) pro jedince x (s geny a, b) a y (s geny c, d):

$$r_{xy} = \frac{0,5(S_{ac} + S_{ad} + S_{bc} + S_{bd}) - p_a - p_b}{1 + S_{ab} - p_a - p_b}.$$

p značí frekvence daných alel a S indikační proměnnou pro sdílení párů alel daných jedinců, která nabývá hodnoty 1, pokud je gen IBD nebo 0, pokud není (Wang 2002).

Další, v pořadí třetí, typ odhadu stanovili Lynch a Ritland (1999) pro molekulární kodominantní markery použité u náhodně se rozmnožujících populacích. Pro jeden lokus má odhad následující podobu:

$$r_{xy} = \frac{p_a(S_{bc} + S_{bd}) + p_b(S_{ac} + S_{ad}) - 4p_a p_b}{(1 + S_{ab})(p_a + p_b) - 4p_a p_b}.$$

Pro více lokusů je tato metoda oproti předchozím dvěma popsaným metodám výpočetně jednodušší a vykazuje menší sampling variance (Lynch & Ritland 1999).

V pořadí čtvrtý přístup pro odhad příbuznosti dvou jedinců z outbreední populace pomocí kodominantních markerů navrhl Wang (2002):

$$r_{xy} = \frac{4P_1 + 3P_2 - 2(1 + a_2)}{2(1 - a_2)}.$$

Tento vztah platí pro bialelický lokus, P_1 a P_2 jsou pravděpodobnosti kombinací všech čtyř, respektive tří shodných alel, a a_2 značí součet alelických frekvencí (Wang 2002).

Koeficient inbreedingu na základě běhů homozygotnosti (F_{ROH}) a homozygotních segmentů dle původu (F_G)

Dlouhé homozygotní úseky chromozomální DNA neboli běhy homozygotnosti (ROH), byly prvně objeveny u lidí v roce 1999 (Broman & Weber 1999). Jejich použití pro stanovení individuálního koeficientu inbreedingu na základě předpokladu identity dle původu, bylo navrženo o téměř desetiletí později (McQuillan et al. 2008).

$$F_{ROH} = \frac{d_{ROH}}{d_{autozomů}},$$

kde d_{ROH} je suma délky všech ROH zvířete a $d_{autozomů}$ je celková délka genomu pokrytá sledovanými SNP (Schiavo et al. 2020).

K jejich detekci se nejčastěji používají přístupy založené na pravidlech, které jsou dány parametry jako minimální délka ROH, maximální povolená vzdálenost mezi sousedícími markery, velikost okna nebo počet chybějících nebo heterozygotních genotypů (McQuillan et al. 2008; Purfield et al. 2017; Purcell & Chang 2019). Dále to jsou metody založené na modelu, které využívají pro klasifikaci oken po sobě jdoucí markery jako IBS nebo IBD na základě pravděpodobnosti vzniku chyb v genotypování a frekvencí alel markerů (Wang et al. 2009;

Pemberton et al. 2012). Třetím rozšířeným přístupem je identifikace úseků homozygotních dle původu (HBD) s pomocí Markovových skrytých modelů (HMM). HBD jsou párem haplotypů, zděděných od společného předka, u nichž nedošlo během generací k přerušení mutací nebo rekombinací (Druet & Gautier 2017). Skládají se tedy z úseků ROH a shodné haplotypové sekvence jsou identické dle původu (Bertrand et al. 2019). HMM pak charakterizují genom jako soubor segmentů identických a neidentických dle původu (Leutenegger et al. 2003). Tento původní „dvoustavový“ model rozšířili Druet a Gautier (2017) o další třídy segmentů založené na jejich délce potažmo stáří. Ukázalo se však, že tento přístup má tendenci zkreslovat stáří HBD segmentů ve směru k nedávnému vzniku inbreedingu, hlavně u populací s obecně vysokou úrovní příbuzenské plemenitby (Druet et al. 2020). Proto byl model upraven tak, aby docházelo k postupnému modelování po sobě jdoucích vnořených úrovních od nejdelší očekávané délky úseků HBD k nejkratší (Druet & Gautier 2022). Nespornou výhodou tohoto přístupu je jeho možnost použití pro odhad inbreedingu přímo v konkrétní časové vrstvě tak, že jeho míra není závislá na inbreedingu vzniklém v novějších časových vrstvách (Druet & Gautier 2022). Celogenomový odhad inbreedingu jedince vyjadřuje následující vztah:

$$F_G = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^M \phi_m = \sum_{c=1}^{K-1} F_G^{(c)}.$$

Jedná se o zprůměrovanou hodnotu napříč genomem jednotlivých odhadů pro M markerů, případně součet realizovaných koeficientů inbreedingu pro všechny skupiny K , tedy c ($c \in (1, K-1)$) (Druet & Gautier 2022).

F odhadovaný z ROH je považován za nejúčinnější metodu detekce efektů příbuzenské plemenitby v porovnání s řadou alternativních odhadů inbreedingu (Keller et al. 2011; Schäler et al. 2020; Dadousis et al. 2022).

2.6.2.3 Genetický konzervační index (GCI)

GCI je založen na předpokladu, že k udržení dostatečné genetické diverzity je potřeba udržet v populaci co nejširší spektrum alel ze zakladatelské populace. Na základě tohoto indexu je možné stanovit chovnou hodnotu jedince podle hypotetických příspěvků zakladatelů do jeho genomu (Alderson 1992):

$$GCI = \frac{1}{\sum p_i^2},$$

kde p_i je podíl genů zakladatele i v rodokmenu jedince (Alderson 1992). Ideální jedinec by měl rovnoměrné přispění všech zakladatelů ve svém genomu, a tedy i nejvyšší hodnotu GCI . Jednoduchost tohoto indexu s sebou přináší řadu nedostatků, jakým je jeho neporovnatelnost mezi populacemi, nezohledňování míry chovu na nezakládající jedince v dalších generacích rodokmenu a závislost na úplnosti rodokmenových záznamů (Alderson 1992).

2.6.3 Parametry genetické diverzity na úrovni populace

2.6.3.1 Průměrný koeficient příbuznosti (r_{xy})

Koeficient příbuznosti udává pravděpodobnost, s jakou jsou dvě alely od dvou náhodně vybraných jedinců z populace identické dle původu (Blouin 2003). Stejně jako koeficient inbreedingu je možné jej počítat jak z rodokmenu, tak z molekulárních markerů, jak pro jedince, tak zprůměrované na celou populaci (Taylor 2015). Odhady z rodokmenu mají svá omezení stejně jako u koeficientu inbreedingu. I za předpokladu, že je rodokmen přesný a úplný, je výpočet zatížen možnou chybou v generaci zakladatelů, u nichž se předpokládá nepříbuznost a outbrední původ (Städele & Vigilant 2016). Stejně tak odhady založené na genetických markerech mohou být velmi zkreslené při použití nevhodného způsobu výpočtu, a to zvláště u nemodelových druhů, u nichž může být známo málo markerů navíc s nízkou informativností (Taylor 2015). V praxi se používají především dva typy metod výpočtu r_{xy} na základě markerů: metody momentů a metody maximální věrohodnosti (Speed & Balding 2015). Ty nejvýznamnější z nich už byly popsány výše jako metody výpočtu koeficientu inbreedingu. V teoretických odhadech jsou frekvence alel známé z referenční populace předků, při jejich aplikaci na reálné podmínky je r_{xy} většinou odhadováno pomocí hodnot vypočítaných přímo ze vzorku jedinců, který je k dispozici (Wang 2014; Goudet et al. 2018). Nicméně počítání příbuznosti i alelických četností z jednoho a toho samého vzorku s sebou nese přirozeně výrazné zkreslení hodnot v důsledku korelace (Wang 2017). Proto řada autorů navrhuje, aby byly chápány právě jako korelace homologních genů uvnitř a mezi jedinci nebo rozdíly v pravděpodobnostech IBD (Powell et al. 2010; Wang 2014, 2017; Goudet et al. 2018).

2.6.3.2 Wrightovy fixační indexy (F_{IS} , F_{ST} , F_{IT})

Wright (1965) vyvinul systém fixačních indexů F_{IS} , F_{ST} , F_{IT} (korelací mezi sjednocujícími se gametami) pro popis vlastností hierarchicky rozdělených populací. Jeho přístup přiřazuje gametám číselné hodnoty a omezuje se na neutrální dialektické lokusy, je tedy trochu umělý

(Nagylaki 1998). Pozdější studie je ale rozšířily a upravily na základě rozdílů v pozorované a očekávané heterozygotnosti podle HWE (Nei 1977; Hedrick 2005), jako funkci složek rozptylu u analýzy rozptylu (Weir & Cockerham 1984; Excoffier et al. 1992; Slatkin 1995) nebo na základě času koalescence (Slatkin 1991). Jistou protiváhou těchto přístupů je Jostovo D , které měří genetickou diverzitu na základě efektivního počtu alel (Jost 2008). Je však vhodným ukazatelem spíše v případech, kdy je výzkum zaměřen na jeden konkrétní lokus a jeho mutační charakteristiky, a ne pro sledování celých demografických procesů zahrnujících genetický drift a migraci (Ryman & Leimar 2009). Původní F_{ST} a Neiova úprava G_{ST} mají řadu nedostatků, ale i nenahraditelných výhod, a jako nulový model (standard) budou sloužit pro porovnání se všemi alternativními přístupy i do budoucna (Ma et al. 2015).

F_{ST} je korelací mezi náhodnými gametami v rámci subpopulací a gametami obsaženými v celé populaci (Wright 1965). Pokud má hodnotu blízkou své dolní hranici (0), vyjadřuje vysokou míru podobnosti alelických frekvencí u všech subpopulací, pokud se blíží své horní hranici (1), znamená to rozdílné alelické frekvence mezi všemi subpopulacemi (Dogan & Dogan 2016). Vysoké hodnoty F_{ST} mohou být, ve vztahu k určitým částem genomu, dokonce znakem pozitivní direkcionální selekce (Toghiani et al. 2017). Je přímo závislý na míře příbuzenského páření v každé subpopulaci a struktuře populace mezi subpopulacemi a nese tedy informaci o rozdělení celkové populace (Ma et al. 2015), ve své původní formě však nezohledňuje vliv mutací (Verity & Nichols 2014). F_{ST} na základě různých hodnot heterozygotnosti celkové populace ve vztahu k jejím subpopulacím je možné stanovit jako:

$$F_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T},$$

kde H_T je průměrná heterozygotnost celkové populace a H_S průměrná pozorovaná heterozygotnost subpopulací (Nei 1977).

F_{IS} je podle původní Wrightovy definice průměrnou hodnotou korelace mezi sjednocujícími se gametami a gametami jejich vlastní subpopulace za všechny subpopulace (Wright 1965). Na základě Neiovy definice jako poměrů rozdílů genových heterozygotností lze F_{IS} vyjádřit následujícím vztahem:

$$F_{IS} = \frac{(H_S - H_O)}{H_S},$$

kde H_S je průměrná heterozygotnost očekávaná při HWE uvnitř subpopulací a H_O průměrná pozorovaná heterozygotnost uvnitř subpopulací. F_{IS} se dá rovněž vyjádřit jako koeficient inbreedingu jednotné populace, který je založen na porovnání pozorované frekvence heterozygotnosti (H_O) s očekávanou (H_E), která by v této populaci existovala, pokud by se tato populace nacházela v HWE a k žádné příbuzenské plemenitbě by nedocházelo (Meirmans 2019):

$$F_{IS} = 1 - \left(\frac{H_O}{H_E} \right)$$

F_{IT} je korelaci mezi spojujícími se gametami vytvářejícími jedince a gametami celkové populace (Wright 1965), nebo alternativně, odchylkou četností genotypů od předpokladů na základě HWE ve vztahu k celé populaci (Holsinger & Weir 2009). F_{IT} stejně jako F_{IS} může nabývat záporných hodnot a dá se vyjádřit následujícím vztahem (Nei 1977):

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

Vztah mezi výše popsanými parametry lze vyjádřit vztahem (Wright 1965):

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

2.6.3.3 Původové koeficienty a koeficienty genetické diverzity

Původové koeficienty a z nich vycházející koeficienty genetické diverzity se týkají výhradně rodokmenových analýz. Hodnotí ztráty genetické diverzity ve sledované populaci relativně vůči populaci zakladatelů, kteří jsou definováni jako jedinci bez známých rodičů (Lacy 1989). Všichni zakladatelé přispívají hypotetickým podílem genů do genetického souboru populace a součet těchto podílů musí být roven jedné (Boichard et al. 1997). První dva původové koeficienty (efektivní počet zakladatelů f_e a ekvivalent počtu genomů zakladatelů f_{ge}) stanovil Lacy (1989) následovně:

$$f_e = \frac{1}{\sum(p_i^2)}$$

p_i značí podíl genů zakladatele, kterým přispěl do další generace. f_e vyjadřuje efektivní počet zakladatelů, kteří by mohli teoreticky dát vzniknout populaci se stejnou alelickou rozmanitostí a počtem potomků v průběhu generací jako ve sledované populaci, pokud by všichni přispěli do následujících generací stejně (Lacy 1989). Pokud by všichni zakladatelé přispěli stejnou

měrou, pak by se počty skutečných a efektivních zakladatelů rovnaly, pokud ne, ztráta rozmanitosti bude vyjádřena jejich rozdílem (Lacy 1989).

$$f_{ge} = 1 / \sum_j^{Nf} (p_j^2 / r_j)$$

V tomto vzorci je část alel, kterou přispěl zakladatel j označena p_j , r_j je podíl zakladatele zachovaný až do referenční populace a Nf udává celkový počet zakladatelů (Ballou & Lacy 1995). Na rozdíl od f_e zahrnuje f_{ge} do odhadu ztráty variability rovněž v průběhu generací působící genetický drift a efekt hrdla lahve (Lacy 1989).

Třetí původový koeficient se nazývá efektivní počet předků (f_a) a na rozdíl od f_e určuje minimální množství předků, kteří by stačili k vytvoření stejné genetické variability jako má sledovaná populace za předpokladu rovnoměrných příspěvků (Boichard et al. 1997). Při výpočtu jsou předci (k) vybíráni sestupně na základě jejich marginálních příspěvků (p_k), tedy genetického podílu, který ještě nebyl vysvětlen některým z již vybraných předků (Boichard et al. 1997):

$$f_a = 1 / \sum_{k=1}^f p_k^2.$$

Na základě pravděpodobnosti genového původu tak musí být od každého příspěvku předka odečteny příspěvky jeho předků (Boichard et al. 1997).

S použitím výše popsaných odhadů je možné stanovit původ a relativní míru zachované nebo ztracené genetické diverzity v průběhu generací. Na základě f_{ge} je možné vypočítat ztrátu variability ($1 - GD$) v důsledku působení genetického driftu a nerovnoměrného přispění zakladatelů (Lacy 1995):

$$GD = 1 - \frac{1}{2f_{ge}}.$$

S pomocí f_e je možné stanovit ztrátu genetické diverzity ($1 - GD^*$) způsobenou pouze nerovnoměrným přispěním zakladatelů (Caballero & Toro 2000):

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

Odečtením GD^* od GD se získá vliv samotného genetického driftu na populaci od jejího vzniku (Lacy 1995). Druhý způsob výpočtu je dosažení takzvaného efektivního počtu nezakladatelů f_n (Bignardi & Santana Júnior 2023) případně N_{enf} (Caballero & Toro 2000). f_n je možné vypočítat na základě vztahu:

$$f_n = \frac{2N}{\sum_{k=1}^t (1 + V_{k,t})(1 - \bar{F}_{k-1})}$$

kde $V_{k,t}$ značí průměrný příspěvek předků v generaci k potomkům v generaci t a \bar{F}_{k-1} je průměrný koeficient inbreedingu v generaci $k - 1$ (Caballero & Toro 2000).

2.6.3.4 Efektivní velikost populace

Efektivní velikost populace je definována jako počet jedinců, kteří by při rozmnožování v idealizované populaci dali vzniknout stejné míře inbreedingu, jako v dané sledované populaci (Falconer & Mackay 1989). Při zohlednění systematických efektů, jako je selekce, mutace, rekombinace a migrace, určuje N_e distribuci a množství celkové genetické variace přítomné v populaci (Wang 2005). Při zpětném pohledu je možné díky ní odvodit rozsah i vzorce genetických variací v populaci spolu s evolučními mechanismy, které se na tom podílejí (Barton & Charlesworth 1998). Rovněž umožňuje odhadnout ztrátu a distribuci neutrální genetické variability a pravděpodobnost fixace alel v budoucnu (Robertson 1961).

Na rozdíl od volně žijících populací existuje u hospodářských zvířat možnost jejího stanovení i prostřednictvím demografických parametrů, což jako první prezentoval Sewall Wright (Wright 1931), jehož výpočty dále upravovala a rozvíjela řada autorů. Například stanovení na základě poměru pohlaví (Falconer & Mackay 1989):

$$N_e = \frac{4N_m \times N_f}{N_m + N_f}$$

kde N_m a N_f jsou skutečné počty samců a samic. Dále rozdíl v reprodukčním úspěchu vlivem různé velikosti následujících generací (Falconer & Mackay 1989), nestejně velikosti rodin a překryvu generací (Emigh & Pollak 1979; Hill 1979). Tyto výpočty vycházející přímo z rodokmenu je možné využít pouze u populací chovaných v zajetí. Realizovaná efektivní velikost populace tedy může vycházet i z nárůstu koeficientu inbreedingu ΔF (Cervantes et al. 2008):

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

nebo nárůstu příbuznosti c (Cervantes et al. 2010):

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

Novější způsob využívá k výpočtu efektivní velikosti populace vazebnou nerovnováhu na autozomech. První publikace popisující vztah LD a N_e pocházející z konce 60. let minulého století uvažovaly jako hlavní příčinu LD genetický drift (Hill & Robertson 1968; Ohta & Kimura 1969). Další odhady zahrnující faktory jako vzdálenost markerů, frekvence rekombinace, velikost vzorku a další, byly rozvíjeny postupně celou řadou autorů v průběhu několika desítek let (Sved 1971; Sved & Feldman 1973; Hill 1981; McVean 2002; Hayes et al. 2003). V současnosti je pro analýzy s vysokou hustotou markerů asi nejčastěji využíván Corbinův způsob výpočtu (Corbin et al. 2012) vycházející z původní rovnice zohledňující míru rekombinace (Sved 1971) a lineární nárůst N_e s počtem generací t (Hayes et al. 2003):

$$N_{T(t)} = (4f(c_t))^{-1} (E[r_{adj|c_t}^2]^{-1} - a),$$

kde N_t je efektivní velikost populace t před generacemi vypočtená jako $t = (2f(ct))^{-1}$ (Hayes et al. 2003).

2.6.3.5 Průměrný počet alel na lokus či alelická bohatost (N_A), alelická diferenciace (A_{ST})

Průměrný počet alel na lokus jako ukazatel ztráty genetické diverzity, ukazující na pokles velikosti populace a na existenci efektu hrdla lahve, navrhli už Nei a kol. (1975). Použití alelické bohatosti jako míry genetické diverzity má však jedno hlavní úskalí, a to vysokou závislost na velikosti vzorku a četnosti vzorkování (Kalinowski 2004). El Mousadik a Petit (1996) proto výpočet alelické bohatosti upravili s využitím metody rarefrakce (Hurlbert 1971) tak, aby všem sledovaným populacím byla dána stejná váha a bylo je tedy mezi sebou možno porovnat. Jejich metoda byla později rozšířena, aby byla přizpůsobena hierarchickému vzorkování a zohledňovala i počty privátních alel (Kalinowski 2004). Kromě rarefrakční metody existuje i metoda extrapoláční, která je založena na přičtení očekávaného počtu chybějících alel k počtu alel pozorovaných v populaci na základě počtu sledovaných genů v populaci a alelickým frekvencím pozorovaným v celkové populaci (Foulley & Ollivier 2006). Odlišný přístup zvolili Caballero a Rodríguez-Ramilo (2010) a vytvořili nový parametr pro

porovnání alelické vzdálenosti mezi populacemi, který už není možné označit za alelickou bohatost, ale za alelickou diferenciaci (A_{ST}). Na rozdíl od alelické bohatosti navržené El Mousadikem a Petittem závisí nejen na průměrné alelické bohatosti populace a jejích subpopulací, ale rovněž na konkrétním rozdělení alel v subpopulacích. Jedná se o parametr patřící do skupiny absolutních alelických diferenciací, kam se dále řadí alelické diferenciace založené na Shannonově entropii nebo Jostovo D (Jost et al. 2018).

Obecně alelická bohatost je vedle heterozygotnosti cenným zdrojem doplňujících informací pro programy záchrany populací, protože je na rozdíl od heterozygotnosti více spojena s odpovědí na dlouhodobou selekci (Caballero & García-Dorado 2013; Vilas et al. 2015), stejně jako je citlivější na změny frekvencí alel během efektu hrdla lahve (Luikart 1998; Broquet et al. 2010). V případě konzervačních opatření u populací rozdělených do subpopulací se alelická bohatost jeví efektivnějším indikátorem genetické diverzity a populační management by měl usilovat o její maximalizaci více než o maximalizaci očekávané heterozygotnosti (López-Cortegano et al. 2019).

2.6.4 Parametry genetické diverzity pro porovnání více populací

2.6.4.1 Genetické vzdálenosti

Genetické vzdálenosti udávají míru evoluční divergence mezi populacemi počítáním alelických substitucí na sledovaných lokusech (Deza & Deza 2014). Na základě distribucí alel lze odhadnout genomický rozdíl mezi celými populacemi i jejich subpopulacemi, a tedy celou strukturu kterou je možné vyobrazit pomocí kladogramu či fenogramu (Dogan & Dogan 2016). Velké genetické vzdálenosti jsou interpretovány jako důsledky divergence před dlouhou dobou nebo malého toku genů mezi populacemi za předpokladu, že evoluční mechanismy (genetický drift, migrace, ...) působí stále stejnou měrou (Gaggiotti & Excoffier 2000). Ve studiích populací přežvýkavců se nejčastěji používají následující tři typy výpočtů genetických vzdáleností:

Reynolds–Weir–Cockerhamova genetická vzdálenost (D_W)

Reynolds-Weir-Cockerhamova genetická vzdálenost byla definována na základě modelu zohledňujícího pouze vliv genetického driftu na frekvence alel v populaci, který vychází z koeficientu příbuznosti jako rovnoměrně rostoucí funkce od času divergence (Reynolds et al.

1983). Patří mezi takzvané euklidovské vzdálenosti, které vychází ze sumy čtverců rozdílů alelických frekvencí (Laval et al. 2002). Pro dvě populace x a y je její výpočet následující:

$$D_W = -\ln(1 - \theta),$$

kde θ je koeficient příbuznosti vypočítaný z rozptylu mezi (a) a uvnitř (b) populací x a y jako $a/(a+b)$ (Reynolds et al. 1983). Tato genetická vzdálenost je nejvhodnější pro studium krátkodobých evolučních procesů, jaké se vyskytují například u plemen hospodářských zvířat, u nichž jsou mutace zanedbatelným zdrojem variability (Tomiuk et al. 1998; Laval et al. 2002).

Neiova standární genetická vzdálenost (D)

Tato metoda výpočtu genetické vzdálenosti byla popsána před více než 50 lety, a i přesto je stále hojně využívanou v molekulárně genetických studiích z celého světa (Kandoussi et al. 2021; Odjakova et al. 2022; Sharma et al. 2022). I když byla tato metoda později upravena do formy nezkreslené Neiovy vzdálenosti (Nei et al. 1983), tak se stále hojně používá ve své původní formě:

$$D = -\ln \frac{J_{XY}}{\sqrt{J_X J_Y}},$$

v níž J_X , J_Y a J_{XY} označují aritmetické průměry pravděpodobností, kdy dva jedinci vybraní z populace x , y nebo jeden z každé z nich, budou sdílet na konkrétním lokusu stejnou alelu (Nei 1972). Neiova standární genetická vzdálenost patří mezi angulární distance definované na základě kosinu úhlu koeficientu příbuznosti mezi vektory alelických frekvencí (X a Y) dvou sledovaných populací (Laval et al. 2002). Předpokládá vznik variability mezi populacemi jak v důsledku mutace, tak působením genetického driftu. Pokud je populace v rovnováze, nepůsobí žádná selekce, mutace jsou neutrální a vznikají konstantní rychlostí na všech lokusech, pak variabilita roste lineárně s časem divergence (Nei 1972). Není vhodná k vyhodnocení velmi dlouhých evolučních časů u velkých populací s rychlou mutační rychlostí, ani pro populace, jejichž populace zakladatelů nejsou v HWE (Tomiuk et al. 1998). Je ale nejvhodnější (v původní formě) pro odhad evolučních časů z mikrosatelitních markerů (Takezaki & Nei 1996).

Cavalli-Sforza-Edwardsova tětivová vzdálenost (D_{ch})

Cavalli-Sforza-Edwardsovy vzdálenosti (oblouková a tětivová) byly stanoveny při tvorbě evolučního modelu založeného na principu větvení Brownova pohybu a ovlivněného pouze

genetickým driftem a náhodným výběrem (Cavalli-Sforza & Edwards 1967). Stejně jako Neiova standardní a Neiova nezkreslená vzdálenost patří mezi angulární vzdálenosti (Laval et al. 2002). Je definována vztahem:

$$D_{ch} = \frac{2\sqrt{2}}{\pi n} \sum_{j=1}^n 1 - \sum_{i=1}^{m_j} \sqrt{x_{ij}y_{ij}},$$

kde x_{ij} a y_{ij} jsou počty jedinců nesoucích alelu j na lokusu i , což je možné vyjádřit i jako kosinus úhlové vzdálenosti θ mezi dvěma populacemi x a y ($\cos \theta = \sum_{i=1}^{m_j} \sqrt{x_{ij}y_{ij}}$) (Cavalli-Sforza & Edwards 1967). Navazuje tak na Bhattacharyyaovu vzdálenost stanovenou o dvě desetiletí dříve (Bhattacharyya 1946). Oproti Neiově distanci má dvě hlavní výhody, první spočívá v možnosti změny velikosti populací v čase, druhá ve standardizaci vzdáleností na míru genetického driftu, tedy do jisté míry nezávislosti na počátečních alelických četnostech (Macholán 2014a). Spolu s nezkreslenou Neiovou distancí je nejvhodnější pro konstrukci fylogenetických stromů z mikrosatelitů jak pro model nekonečných alel, tak pro krokový mutační model (Takezaki & Nei 1996).

2.6.4.2 Metody odhadu struktury populace nezaložené na modelu (PCA)

V porovnání s metodami založenými na modelu jsou nemodelové metody robustnější, jejich výpočet je rychlejší, a je tedy možné je použít pro soubory dat velkých rozměrů (Wang 2022a). Typickým a v populační genetice hojně využívaným zástupcem této kategorie je analýza principiálních komponent. Jedná se o dimenziální redukci, při níž jsou vybrány hlavní dimenze (principiální komponenty) na základě jejich vysvětlující hodnoty, tedy rozptylu dat promítnutých na danou komponentu (Lee et al. 2009). Sledované genotypy jsou při vizualizaci promítány do prostoru vymezeného osami zvolených principiálních komponent a vykreslené vzdálenosti mezi jejich shluky odrážejí do určité míry skutečné genetické a případně i geografické vzdálenosti mezi nimi (Elhaik 2022). V populační genetice přežvýkavců se jedná o v poslední době velice oblíbenou metodu pro odhad struktury populací a genetické podobnosti mezi nimi, zvláště pro bialelické markery (Gebrehiwot et al. 2020; Eydivandi et al. 2021; Bhuiyan et al. 2021; Chen et al. 2022; Nel et al. 2022). Při interpretaci výsledků analýzy principiálních komponent (PCA) je ale nutné zohledňovat její limity. PCA vystihuje celkovou různorodost mezi jednotlivci, v níž je ale zahrnuta jak složka variability mezi skupinami, tak uvnitř skupin (Jombart et al. 2010). Dále ji silně ovlivňuje vzorkování, hlavně nestejná velikost

vzorků různých populací nebo malá relativní velikost vzorku ovlivňující strukturu jeho genetického rozptylu (McVean 2009). V neposlední řadě limituje interpretaci výsledků PCA neschopnost rozlišit mezi různými populačně genetickými vlivy vedoucími ke stejnému stupni diverzity (McVean 2009).

2.6.4.3 Metody odhadu struktury populací založené na modelu

Tento přístup je založen na pravděpodobnostním rámci vystavěném z populačně genetického modelu (Wang 2022a). Jinými slovy tyto metody aplikují na matici příbuznosti mezi jedinci klastrovací algoritmy (Lawson & Falush 2012). Podle nich je možno je rozdělit na dva hlavní typy – typ bayesovský využívající Monte Carlo metodu Markovových řetězců (MCMC), který je využíván např. programem STRUCTURE (Pritchard et al. 2000), a typ maximální pravděpodobnosti, který používají např. FRAPPE (Tang et al. 2005), sNMF (Frichot et al. 2014) a ADMIXTURE (Alexander et al. 2009). Oba dva typy jsou blíže příbuzné, metoda maximální věrohodnosti odhaduje za předpokladu určité hypotézy pravděpodobnost, s jakou mohla vzniknout sledovaná data, bayesovská metoda kombinuje tuto pravděpodobnost (aposteriorní) ještě *s a priori* předpokladem (apriorní) (Macholán 2014b). V populačně genetických studiích to obvykle znamená aplikaci nezávislých apriorních rozdělení pravděpodobností podle parametrů alelického profilu každé populace a posteriorních rozdělení pravděpodobností získaných pomocí algoritmů MCMC (De Iorio et al. 2015). ML metody se místo na posteriorní vzorkování zaměřují na maximalizaci pravděpodobnosti pozorování genotypu markeru na lokusu při daných frekvencích alel předků a z celkového podílu genetických příměsí, které maximalizují pravděpodobnost vzniku daného genotypu, určují členství v jednotlivých skupinách (populacích, subpopulacích, ...) (Tang et al. 2005; Alexander et al. 2009).

3 Cíl a vědecká hypotéza práce

3.1 Cíl práce

Cílem práce je zhodnotit ztrátu genetické proměnlivosti ohrožených populací přežvýkavců s ohledem na rodokmenové a molekulárně genetické informace.

3.2 Vědecká hypotéza

S využitím molekulárně genetických informací, v porovnání s genealogickými daty, dojde k zpřesnění odhadu genetické diverzity uvnitř a mezi ohroženými populacemi.

4 Publikované práce

Tato disertační práce je předkládána formou souboru vědeckých článků, vznikla na základě níže uvedených čtyřech prvoautorských publikací publikovaných v časopisech databáze Web of Knowledge s indexem Impact Factor a jedné publikované práce v časopise databáze Scopus.

Machová K, Milerski M, Rychtářová J, Hofmanová B, Vostrá-Vydrová H, Moravčíková N, Kasarda R, Vostrý L. 2021. Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds. *Small Ruminant Research* **195**:106301.

Machová K, Štruncová P, Calta J, Tichý L, Vostrý L. 2022b. Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity. *PLOS ONE* **17**:e0277456.

Machová K, Hofmanová B, Rychtářová J, Vostrý L, Moravčíková N, Kasarda K. 2020. Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica* **23**:38–45.

Machová K, Marina H, Arranz JJ, Pelayo R, Rychtářová J, Milerski M, Vostrý L, Suárez-Vega A. 2023. Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *Animal* **17**: 100690.

Machová K, Málková A, Vostrý L. 2022a. Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes. *Genes* **13**:613.

4.1 Machová K, Milerski M, Rychtářová J, Hofmanová B, Vostrá-Vydrová H, Moravčíková N, Kasarda R, Vostrý L. 2021. Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds. *Small Ruminant Research* **195**:106301.



Contents lists available at ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres

Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds

Karolína Machová^{a,*}, Michal Milerski^b, Jana Rychtářová^b, Barbora Hofmanová^a,
Hana Vostrá-Vydrová^{a,b}, Nina Moravčíková^c, Radovan Kasarda^c, Luboš Vostrý^a

^a Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 00, Prague, Suchbát, Czech Republic

^b Institute of Animal Science, Přátelství 815, 104 01, Prague, Uhřetěves, Czech Republic

^c Faculty of Agrobiolgy and Food Resources, Slovak University of Agriculture in Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76, Nitra, Slovak Republic

ARTICLE INFO

Keywords:

Wallachian sheep
Sumava sheep
Indigenous breeds
Genealogical analysis

ABSTRACT

Based on pedigree information, the population structure, within-breed genetic variability and causes of genetic variability losses in Wallachian sheep (WS), and Sumava sheep (SS) were studied. The maximum number of generations observed in both WS and SS was 16, and the equivalent number of complete generations 5.66 and 4.35, respectively. The average generation intervals were in WS and SS 4.33 and 4.72 years, respectively. A span of four years, 2015–2018, was used as the reference population (animals from the last generation). The average inbreeding coefficient and average relatedness coefficient were 5 % and 9 % for WS, while both were 3 % for SS. The rate of the inbreeding coefficient was 0.5 % in WS and 1 % in SS. The effective number of founders, effective number of ancestors and effective number of founder genomes were 104, 50 and 22.8 for SS and 39, 21 and 10.28 for WS. The effective population size based on an increase in the inbreeding coefficient and computed based on average coancestry were 50.61 and 64.5 in WS and 99.56 and 166.14 in SS. These results indicate a low value of genetic diversity in Wallachian sheep. The loss of variability was caused by the bottleneck effect and partly also genetic drift and the unequal contribution of the founders.

1. Introduction

A genealogical analysis is still an efficient method for genetic diversity evaluation in the 21st century. If a sufficient pedigree size and completeness are available, it provides a great deal of information on total genetic diversity. Such information is essential for the identification of endangered populations and the implementation of conservation measures.

Currently, many indigenous farm animal breeds are endangered by a loss of genetic diversity across the continents and species, including pigs (Krupa et al., 2015; Pattison et al., 2007), sheep and goats (Hasinah et al., 2015; Lenstra et al., 2017; Qwabe et al., 2013; Sharma et al., 2016), horses (Pinheiro et al., 2013; Vostrá-Vydrová et al., 2016) and cattle (Browett et al., 2018; Jemaa et al., 2019; Sudrajad et al., 2017). The main reasons for loss of genetic diversity are the pressures of modern agriculture and the latest animal product manufacturing methods. Not only within-breed diversity but also entire breeds can disappear. It should be noted that the disappearing genetic variability is

mostly unknown and undocumented. Many valuable genes have been lost forever, even though they could be beneficial in the future (Bruford et al., 2003).

Europe, Caucasus and North America are the regions that have incurred the highest loss of genetic diversity of breeds. It is caused by specialised systems of animal production with a small number of dominant breeds in these regions and a considerably lower amount of information in other regions. At the same time, in the European-Caucasian region, the highest number of breeds has been included in conservation programmes (FAO, 2020).

The indigenous breed of Wallachian sheep belongs to the group of Racka sheep (with spiral-shaped horns) originated in the Balkan Peninsula. Wallachian sheep were introduced into the area of the Czech Republic in the 15th–16th century after Wallachians colonisation of the Carpathian Mts. (Milerski, 2019a). It is a triple-purpose breed kept for meat, milk and wool. The animals of this coarse wool breed are very modest, long-lived and adapt themselves well to extreme climate conditions.

* Corresponding author.

E-mail address: machovakarolina@af.czu.cz (K. Machová).

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106301>

Received 24 June 2020; Received in revised form 19 November 2020; Accepted 8 December 2020

Available online 13 December 2020

0921-4488/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Sumava sheep replaced autochthonous sheep, and their gene pool is from the Czech rustic sheep (Horák, 2012). However, the origin of rustic sheep is not precisely known. Primitive Northern, Eastern and Central European sheep contributed to the formation of this indigenous sheep. Subsequent large-scale crossing with breeds of the Merino type led to the almost full extinction of the Sumava sheep that were partly preserved only in small flocks in the foothills and mountain areas of the Sumava Mts. (Milerski, 2019b). Gradual regeneration was carried out by the selection of phenotypically similar individuals (Jandurová et al., 2005) and, since the 1950s, by further crossing with phylogenetically related breeds (Horák, 2012). Hence, proportions of Cheviot, Tsigai alba, East Friesian sheep, Kent and Texel breeds can be found in their current gene pool (Milerski, 2019b).

Both breeds have influenced sheep farming in the mountain and foothills areas of Central Europe for many years. However, they have a role in modern farming systems. These are resistant animals with good grazing ability, and they are excellent for landscape maintenance, agrotourism and hybridisation programmes in production flocks.

The genealogical analysis of indigenous sheep breeds has been described in some studies (Gowane et al., 2014; Goyache et al., 2003; Rochus and Johansson, 2017; Venkataramanan et al., 2013). Previously, two pedigree studies of the indigenous and Improved Wallachian sheep have been conducted in Slovakia (Oravcová and Krupa, 2011; Oravcová and Margefín, 2011). No such study has been carried out for Wallachian and Sumava sheep.

The objective of this study was to analyse the within-breed genetic variability of Wallachian and Sumava sheep and to describe the demographic structure of their populations based on pedigree information.

2. Material and methods

2.1. Data

Pedigrees of two Czech national sheep breeds included in the gene resource conservation programme, Wallachian sheep and Sumava sheep, were analysed. The pedigree data of Wallachian sheep contained 10 637 animals registered in the years 1983–2019, and the Sumava sheep pedigree contained 58 852 animals registered in 1975–2019. For all animals with unrecorded sex, sex was assigned based on their position in reproduction as a dam or a sire.

A reference population was created from individuals born in the years (2015–2018) to evaluate the current gene pool of WS and SS. The year 2019 was not included because data for that year were not complete at the time of data processing. The span of four years was chosen because, among small ruminants, four years covers roughly the whole last generation, and it has been used for the creation of a reference population by many authors (Gowane et al., 2014; Mokhtari et al., 2013; Sheikhlou and Abbasi, 2016). In the Wallachian sheep, the reference population comprised 4 619 animals, including 2 321 females and 2 298 males. In the Sumava sheep, the reference population had 8 877 animals, including 4 500 females and 4 377 males.

2.2. Pedigree completeness

An evaluation of pedigree completeness is essential for correct interpretation of the results of the genealogical analysis. Four parameters of pedigree completeness were evaluated before this analysis: the mean of complete generation equivalent (CGE) (Boichard et al., 1997), the maximum number of generations, number of complete generations (CG) (Mwangi et al., 2016), and pedigree completeness index (PCI) (MacCluer et al., 1983).

2.3. Genetic variability

The pedigree data were used to estimate the genetic variability of the analysed populations. The genetic variability was estimated based on

the probability of gene origin and the probability of identity by descent by the following parameters:

- Inbreeding coefficient (Meuwissen and Luo, 1992), average inbreeding coefficients per registration year, rate of inbreeding (Gutierrez and Goyache, 2005) and average relatedness (Dunner et al., 1998).
- Genetic conservation index (GCI) (Alderson, 1992).
- Ancestors and founders with the highest genetic contributions, the total number of ancestors and founders, the effective number of ancestors (f_a) (Boichard et al., 1997), the effective number of founders (f_e) (Lacy, 1989), and the effective number of founder genomes (f_{ge}) (Lacy, 1989).
- The loss of genetic diversity based on genetic drift and a bottleneck effect ($1 - GD$) and the loss of genetic diversity based on unequal contributions of founders ($1 - GD^*$) according to Caballero and Toro (2000).

2.4. Effective population size

Effective population size (realised effective population size) from an individual increase in inbreeding (Gutiérrez et al., 2008) and an increase in the pairwise coancestry between individuals (Cervantes et al., 2011) was calculated.

All parameters of the genealogical analysis were computed using the programme Endog version 4.8 (Gutiérrez et al., 2010).

3. Results

3.1. Basic demographic data

The pedigree records for the Wallachian sheep were collected from 1983 to 2019. In a total of 255, animals with an unknown birth date were considered as founders. The pedigree of the Sumava sheep dates back to 1975 and contains 5 027 individuals with unknown dates of birth. The numbers of individuals registered in each of the years are shown in Supplementary Figure S1.

The Sumava sheep population size rapidly increased after 1996. Since 2000, the number of animals has been relatively constant. The development of the Wallachian sheep population was somewhat more balanced, and it steadily increased until 2018.

The use of sires and dams in reproduction is shown in Supplementary Figures S2a, b (WS) and S3a, b (SS). The sires that became fathers of a single offspring accounted for the highest percentage, in both the Wallachian sheep (16 %) and the Sumava sheep (75 %). Wallachian sheep fathers with more than thirty offspring represented only 2.3 % of the total number of fathers. The most frequently used sire produced 251 offsprings. Approximately 94.8 % of the total number of 5 113 registered males were excluded from breeding, i.e., 5 % positive selection. In dams, the selection was 42 % (2 322 dams out of 5 522 females).

The Sumava sheep sires with a single offspring accounted for three-quarters of the total number of registered males. Sires with more than 46 offspring accounted for 1.5 % of all sires. The most frequently used sire produced 528 offspring. Selection among all sires in the total population was 13.7 % (3 190 out of 23 365). Selection in dams was the same as in the Wallachian sheep 42 % (14 920 dams out of 35 487 females).

The average generation interval for the WS reference population was 4.33 years for both dams and sires. The values between the particular categories were as follows: sire-son = 4.22, sire-daughter = 4.05, dam-son = 4.28, and dam-daughter = 4.63. In SS, the average generation interval was 4.72. Genetic intervals for the particular pathways were as follows: sire-son = 4.58, sire-daughter = 4.66, dam-son = 4.81, and dam-daughter = 4.83.

3.2. Evaluation of pedigree completeness

A maximum of 16 generations could be traced back in the pedigree of the Wallachian sheep. The average number of complete generation equivalents (*CGE*) was 5.66. The pedigree completeness index (*PCI*) of the WS reference population was 1 for five generations back. In the Sumava sheep population, the maximum number of generations traced back was 16, and the average number of *CGE* was 4.35. The value of *PCI* for the SS reference population was 1. For the two reference populations, information about the pedigree can be taken as complete. In the WS pedigree, 50 % pedigree completeness was obtained in the sixth generation back, but in SS, it was between the fifth and fourth generation back. Pedigree completeness in further generations is illustrated in Supplementary Figure S4.

3.3. Inbreeding coefficient (*F*) and average relatedness (*AR*) coefficient

The rate of inbreeding coefficient computed based on *CGE* was 0.97 % in the Wallachian sheep during the entire studied period. The ΔF in the Sumava sheep was 0.48 %. The trends of *F* for SS and WS during the studied period are illustrated in Fig. 1. Average values of inbreeding coefficient and average relatedness for the WS reference population were 0.53 (*F*) and 0.92 (*AR*), respectively. In SS, the values of both parameters were lower, with an inbreeding coefficient of 0.031 and an average relatedness coefficient of 0.026.

The inbreeding coefficient in the Wallachian sheep showed dramatic fluctuations until 2011. When the number of registered animals per year exceeded 500, its trend was stabilised. On the other hand, *F* in the Sumava sheep steadily increased to almost 4 %, despite the larger pedigree size and the balanced development of the population observed since 1999 (Fig. 1).

3.4. Genetic conservation index (*GCI*)

The average *GCI* gradually increased in both breeds during the studied period. It reached the highest values in 2018, when its average value for newly registered animals was 21.5 % in WS and 49.4 % in SS, as illustrated in Fig. 2.

3.5. Probability of gene origin

All parameters of the probability of gene origin in the reference populations of both breeds are documented in Table 2. The WS reference population was composed of 156 founders, while the reference

population of SS consisted of 782 founders. The effective number of 39 founders accounted for 25 % of the total number of WS founders, while in SS, the effective number of 104 founders accounted for 13.3 % of the total. The number of main ancestors that contributed to 50 % of the genetic variability was 8 for WS and 19 for SS. The most important ancestor that contributed to the WS reference population had a contribution of 11.6 %. The marginal contribution of the most important ancestor in SS was approximately 7.7 %. The cumulative genetic contributions of the ancestors and founders are shown in Supplementary Figures S5a and S5b. In both breeds, both curves are very steep at first, which indicates the high genetic proportion from a small number of ancestors. The effective number of founders was distinctly different from the effective number of ancestors in both breeds. Their ratio indicates a strong bottleneck effect. The effect of genetic drift was approximately identical in WS and SS. The ratio of the founder genome equivalent to the effective number of founders revealed that up to 74 % of the original genetic variability in WS and 78 % in SS were transferred to the current population due to the effect of genetic drift.

In the studied period, total loss of genetic diversity in WS were 4.9 %, and less than 1 % of these losses were caused by founders' unequal contributions, while a major portion was due to genetic drift. In SS, total losses of genetic variability reached about half that value (2.2 %), while the roles of genetic drift and founders' unequal contributions were similar. The main indicators of genetic diversity are summarised in Table 1.

3.6. Effective population size (N_e)

The effective population size based on an increase in the inbreeding coefficient (N_{eF}) was 50.61 animals in WS and 99.56 animals in SS. The effective population size computed based on average coancestry was 64.50 in WS and 166.14 in SS.

4. Discussion

This study is the first genealogical analysis performed on the Czech genetic resources of sheep breeds. High informativeness of the input data is essential to provide the most accurate estimate of studied parameters. For this reason, the values of the maximum number of generations that can be traced back and *CGE* and *PCI* should be as high as possible. In both studied breeds, the pedigree depth was 16 generations back, and the values of *CGE* (5.66 and 4.35) can be considered as very good in comparison with other breeds. These numbers are much higher than those in the Brazilian Somali sheep of 2.93 (Figueredo et al., 2019),

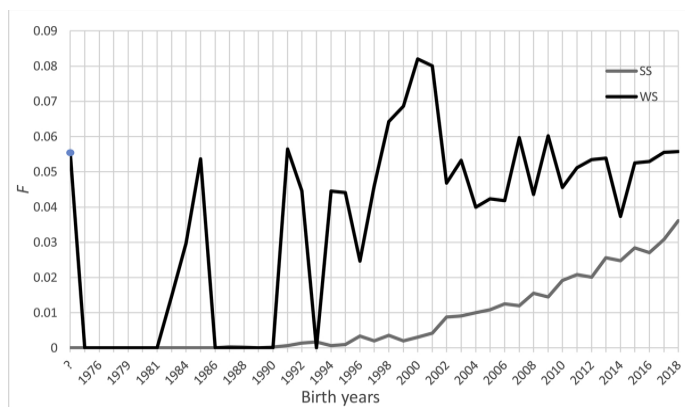


Fig. 1. The trend of inbreeding coefficient (*F*) in Wallachian (1983–2018) and Sumava sheep (1975–2018). The question mark denotes animals with an unknown date of birth.

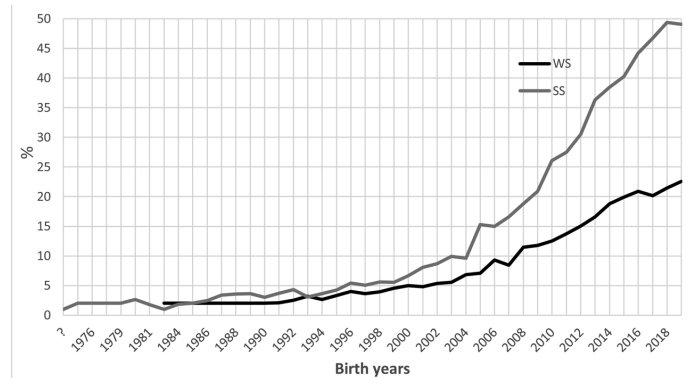


Fig. 2. An increase in genetic conservation index (GCI) during the registration years in both breeds.

Table 1

Probability parameters of gene origin and genetic diversity of the reference population.

Reference population	SS	WS
Number of animals	8877	4619
Total number of founders (f)	782	156
Effective number of founders (f_e)	104	39
Effective number of ancestors (f_a)	50	21
Founder genome equivalent (f_{ge})	22.797	10.276
Effective number of founders/effective number of ancestors (f_e/f_a)	2.080	1.857
Founder genome equivalent/effective number of founders (f_{ge}/f_e)	0.219	0.263
Effective population size based on an individual increase of inbreeding (N_{ei})	99.558	50.615
Effective population size based on an average increase of coancestry (N_{ec})	166.139	64.496
Average inbreeding coefficient (F)	0.031	0.053
Average relatedness (AR)	0.026	0.092
Increase of inbreeding per generation (ΔF)	0.005	0.010
Losses of genetic diversity through:		
Uneven contribution of founders and genetic drift GD	0.022	0.049
Uneven contribution of the founders GD ^a	0.005	0.013
Genetic drift	0.017	0.036

Indian Nilagiri sheep of 3.75 (Venkataraman et al., 2013), Segureña sheep of 1.23 (Barros et al., 2017) and Xalda sheep of Asturias of 1.09 (Goyache et al., 2003). The PCI values for the whole population of WS for three generations back were as follows: 97.90, 95.62, and 91.10. These values for SS were somewhat lower: 89.34, 81.11, and 71.58. Still, these values indicate the high pedigree completeness and the high quality of records in the most recent years of sheep breeding, when considering that these values for the reference population are constantly increasing.

The average generation intervals computed in this study (4.22 and 4.58) were higher compare to other native breeds that are usually from 3 to 3.5 (Goyache et al., 2003; Sheikhloou and Abbasi, 2016; Tahmoorespur and Sheikhloou, 2011; Venkataraman et al., 2013). In WS and SS, there is no distinct difference in generation interval between the particular pathways, which means that both males and females are used for breeding for approximately the same length of time. This situation is different in the population of the indigenous Wallachian sheep in Slovakia, where the rams are quickly exchanged in each flock, and their generation interval is shorter. However, this Slovak study included a very small population of 137 individuals (Oravcová and Krupa, 2011). According to Ghafouri-Kesbi (2012), a higher generation interval is indirectly proportional to the interannual loss of genetic diversity. For conservation flocks, the longest possible generation interval is desirable

because it reduces the increase in inbreeding, although it also decreases genetic gain.

The excessive use of individual sires significantly contributes to a decrease in genetic variability. The reproductive potential of females compared to males is limited without the use of biotechnologies, as confirmed in Supplementary Figures S2b and S3b. The representation of sires in the flock seems relatively balanced in both of these breeds because, as shown in Supplementary Figures S2a and S3a, the majority of the males contribute only with a small number of offspring. Even a single, excessively used sire can significantly diminish the genetic variability of a breed if the reproduction of its offspring is also excessive. These ancestors can be identified based on their high relative contribution to the reference population.

The average genetic conservation index was gradually increasing in both breeds. The increase in GCI was steeper in SS than in WS. The highest interannual increase between 2012 and 2013 was almost 5.8 % in SS. The mating of animals explains the lower value of GCI in WS with different proportions of the founder population genotype. In SS, more than 45 % of the founder population has been conserved in the current population, while in WS, it has only been 20 %. A rising GCI indicates an increasing number of founders in the pedigrees of individuals, which implies good breeding practices on farms related to efficient use of particular animals in breeding.

The founder contributions to the reference population of each breed were unequal. Selection (either natural or artificial) reduced the number of ancestors necessary to explain the current variability to 21. To explain 50 % diversity of the reference population, the same low number of ancestors as in Brazilian Somali sheep would be sufficient (Figueredo et al., 2019). The situation in SS is not much better. Although this breed has a higher number of records in the pedigree, 19 ancestors would be sufficient to produce the current population variability. This number is lower than Barros et al. (2017) found for the Segureña breed (425) or that Oravcová and Margetín (2011) found for the Improved Wallachian (246) and Tsigai sheep (107). The f_{ge} , it is a relative parameter comprising founders' unequal contributions, bottleneck effects and random genetic drift related to the particular population of founders (Lacy, 1989). Conservation of original diversity in SS was twice as successful as in WS.

The average inbreeding coefficient in WS fluctuated highly during the period of breed regeneration due to the need to increase the stocks at the cost of distant or close inbreeding. Since 2000, it has stabilised around a value 0.05. On the other hand, it has been rapidly increasing in SS since 2000. Leroy (2014) reported the deterioration of various traits due to inbreeding depression in sheep and cattle on average by 0.56 % per 1 % increase in inbreeding. The birth weight of a lamb seems to be a very important area with an inbreeding depression effect. Its decrease

per 1 % increase in F across breeds is from 0.001 % to 12.9 % (Barczak et al., 2009; Gholizadeh and Ghafouri-Kesbi, 2016; Selvaggi et al., 2010; van Wyk et al., 2009). The manifestation of the inbreeding depression can be seen in the number of lambs born per total number of lambings in relation to a 1 % increase in the dam's inbreeding. Van Wyk et al. (2009) studied this phenomenon and found a decrease of 0.04 % lambs in Elsenburg Dormer sheep, as well as Selvaggi et al. (2010). The latter reported revealed a decrease of 1.03 % in Leccese sheep. The increase in F has a cumulative effect, and in the WS breed, it could increase the total inbreeding coefficient by 6–7 % over 30 years. According to the CGRFA - Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture (2013), based on ΔF , this breed would belong to an intermediate category between the vulnerable and endangered breeds.

The inbreeding coefficient is complemented by average relatedness because its values are predictive for the long-term development of F . If AR is high, it is difficult to choose suitable unrelated individuals for mating (Goyache et al., 2003). The individuals within both reference populations are genetically related. Nevertheless, the relatedness in SS is not very high (2.6 %); it is higher than in the Segureña breed (0.06 %) as determined by Barros et al. (2017) but lower than in the Xalda sheep of Asturias (3.6 %) described by Goyache et al. (2003), or the Malpura sheep (5.1 %) described by Gowane et al., 2014. The average relatedness of the WS reference population is much higher (9.2 %) compared to SS. When selecting the animals for breeding, it will be necessary to examine their relatedness and select individuals with the lowest possible AR .

According to the CGRFA (2013) recommendation for the populations included in the vulnerable category, an effective population size higher than 50 animals should be maintained, and this requirement is met in both studied breeds. A comparison of two parameters, the effective population size N_{eF} and N_{eC} , shows the population structure and the possible effect of preferred rams on the formation of subpopulations. When the ratio N_{eF}/N_{eC} is higher than one, the population consists of several subpopulations (Cervantes et al., 2011). In both Wallachian and Sumava sheep, the value of this ratio was smaller than two (1.67 in SS and 1.27 in WS). Despite of the fact showed that the genetic diversity of their populations is not very high because of the historical development, the current management of these breeds seems to be optimal.

5. Conclusion

The historical development of a population can be determined from pedigree data. The results of the evaluation of the gene origin indicate that the populations have lost a significant part of their genetic variability compared to the original population of founders. Based on the values suggesting an average increase in inbreeding and effective population size in the reference population, it is concluded that both breeds. Mainly Wallachian sheep have probably been influenced by inbreeding depression. Wallachian sheep are on the edge of critical values, and for the Sumava sheep, the inbreeding coefficient is increasing rapidly while the population size stagnates. However, with good management, the breeds have a good chance of maintaining their present genetic diversity, because both breeds also have a cryopreservation programme.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgements

The study was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project No. QK1910156) and MZE-RO0719 and by the Slovak Research and Development Agency (project no. APVV-17-0060).

This study was also supported by SGS grant provided by the Czech University of Life Sciences in Prague, Faculty of Agrobiological, Natural and Food Resources.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106301>.

References

- Alderson, G.L.H., 1992. A system to maximize the maintenance of genetic variability in small populations. *Genet. Conserv. Domest. Livest.* 2, 18–29.
- Barczak, E., Wolc, A., Wójtowski, J., Ślósarz, P., Szwaczkowski, T., 2009. Inbreeding and inbreeding depression on body weight in sheep. *J. Anim. Feed Sci.* 18, 42–50. <https://doi.org/10.22358/jafs/66366/2009>.
- Barros, E.A., Brasil, L.H., de, A., Tejero, J.P., Delgado-Bermejo, J.V., Ribeiro, M.N., 2017. Population structure and genetic variability of the Segureña sheep breed through pedigree analysis and inbreeding effects on growth traits. *Small Rumin. Res.* 149, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.02.009>.
- Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E., 1997. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29, 5. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-29-1-5>.
- Browett, S., McHugo, G., Richardson, I.W., Magee, D.A., Park, S.D.E., Fahey, A.G., Kearney, J.F., Correia, C.N., Randhawa, I.A.S., MacHugh, D.E., 2018. Genomic characterisation of the indigenous Irish Kerry cattle breed. *Front. Genet.* 9 <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00051>.
- Bruford, M.W., Bradley, D.G., Luikart, G., 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nat. Rev. Genet.* <https://doi.org/10.1038/nrg1203>.
- Caballero, A., Toro, M.A., 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genet. Res.* 75, 331–343. <https://doi.org/10.1017/S0016672399004449>.
- Cervantes, I., Goyache, F., Molina, A., Valera, M., Gutiérrez, J.P., 2011. Estimation of effective population size from the rate of coancestry in pedigreed populations. *J. Anim. Breed. Genet.* 128, 56–63. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2010.00881.x>.
- CGRFA, 2013. Draft Guidelines on in Vivo Conservation of Animal Genetic Resources, En. FAO, Rome, pp. 1–174.
- Dunner, S., Checa, M.L., Gutiérrez, J.P., Martín, J.P., Cañon, J., 1998. Genetic analysis and management in small populations: the Asturcon pony as an example. *Genet. Sel. Evol.* 30, 397. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-30-4-397>.
- FAO, 2020. Sustainable Development Goals [WWW Document]. URL <http://www.fao.org/sustainable-development-goals/indicators/252/en/> (accessed 5.13.20).
- Figueredo, J.S., Cruz, J.F., Sousa, L.S., Teixeira Neto, M.R., Carneiro, P.L.S., Brito, N.D., Pinheiro, R.G.S., Lacerda, K.S.O., Mottin, V.D., 2019. Genetic diversity and population structure estimation of Brazilian Somali sheep from pedigree data. *Small Rumin. Res.* 179, 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.09.010>.
- Ghafouri-Kesbi, F., 2012. Using pedigree information to study genetic diversity and re-evaluating a selection program in an experimental flock of Afshari sheep. *Arch. Anim. Breed.* 55, 375–384. <https://doi.org/10.5194/aab-55-375-2012>.
- Gholizadeh, M., Ghafouri-Kesbi, F., 2016. Inbreeding depression in growth traits of Baluchi sheep. *Small Rumin. Res.* 144, 184–190. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.09.012>.
- Gowane, G.R., Chopra, A., Misra, S.S., Prince, L.L.L., 2014. Genetic diversity of a nucleus flock of Malpura sheep through pedigree analyses. *Small Rumin. Res.* 120, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.04.016>.
- Goyache, F., Gutiérrez, J.P., Fernandez, I., Gomez, E., Alvarez, I., Diez, J., Royo, L.J., 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, 95–105. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2003.00378.x>.
- Gutiérrez, J.P., Goyache, F., 2005. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122, 172–176. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2005.00512.x>.
- Gutiérrez, J.P., Cervantes, I., Molina, A., Valera, M., Goyache, F., 2008. Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genet. Sel. Evol.* 40, 359–378. <https://doi.org/10.1051/gse:2008008>.
- Gutiérrez, J.P., Goyache, F., Cervantes, I., 2010. ENDOG v4.8: A Computer Program for Monitoring Genetic Variability of Populations Using Pedigree Information.
- Hasinah, H., Inouu, I., Subandriyo, S., 2015. Indonesian efforts to conserve gembong goats. *Int. J. Sci. Eng.* 8, 88–94. <https://doi.org/10.12777/ijse.8.2.88-94>.
- Horák, F., 2012. Chováme Ovce. Ve spolupráci se Svazem chovatelů ovčí a koz v ČR vydalo nakl. Brázda, Praha.
- Jandurová, O.M., Kott, T., Kottová, B., Czerneková, V., Milerski, M., 2005. Genetic relationships among sumava, Valachian and improved valachian sheep. *Small Rumin. Res.* 57, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.06.021>.
- Jemaa, S.Ben, Thamri, N., Mnara, S., Rebours, E., Rocha, D., Boussaha, M., 2019. Linkage disequilibrium and past effective population size in native Tunisian cattle. *Genet. Mol. Biol.* 42, 52–61. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0342>.
- Krupa, E., Krupova, Z., Zakova, E., Kasarda, R., Svitakova, A., 2015. Population analysis of the local endangered Přestice Black-Pied pig breed. *PoljoprivredaAgriculture* 21, 155–158. <https://doi.org/10.18047/poljo.21.1.sup.36>.
- Lacy, R.C., 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol.* 8, 111–123. <https://doi.org/10.1002/zoo.1430080203>.
- Lenstra, J.A., Tigchelaar, J., Biebach, I., Hallsson, J.H., Kantanen, J., Nielsen, V.H., Pompanon, F., Naderi, S., Rezaei, H.-R., Saether, N., Ertugrul, O., Grossen, C., Camenisch, G., Vos-Loohuis, M., van Straten, M., de Poel, E.A., Windig, J.,

- Oldenbroek, K., 2017. Microsatellite diversity of the Nordic type of goats in relation to breed conservation: how relevant is pure ancestry? *J. Anim. Breed. Genet.* 134, 78–84. <https://doi.org/10.1111/jbg.12226>.
- Leroy, G., 2014. Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Anim. Genet.* 45, 618–628. <https://doi.org/10.1111/age.12178>.
- MacCluer, J.W., Boyce, A.J., Dyke, B., Weitkamp, L.R., Pfenning, D.W., Parsons, C.J., 1983. Inbreeding and pedigree structure in Standardbred horses. *J. Hered.* 74, 394–399. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109824>.
- Meuwissen, T.H.E., Luo, Z., 1992. Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24, 305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-24-4-305>.
- Milerski, M., 2019a. Metodika Uchování Genetického Zdroje Zvířat Plemeno : Valašská Ovce. Národní referenční středisko pro genetické zdroje zvířat VÚZV, Praha.
- Milerski, M., 2019b. Metodika Uchování Genetického Zdroje Zvířat Plemeno : Sumavská Ovce. Národní referenční středisko pro genetické zdroje zvířat VÚZV, Praha.
- Mokhtari, M.S., Shahrabak, M.M., Esmailzadeh, A.K., Abdollahi-Arpanahi, R., Gutierrez, J.P., 2013. Genetic diversity in Kermani sheep assessed from pedigree analysis. *Small Rumin. Res.* 114, 202–205. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2013.07.001>.
- Mwangi, S., Muasya, T.K., Iatsia, E.D., Kahi, A.K., 2016. Assessment of the genetic variability using pedigree analysis of the Sahiwal breed in Kenya. *Anim. Genet. Resour. génétiques Anim. généticos Anim.* 59, 7–14. <https://doi.org/10.1017/S2078633616000199>.
- Oravcová, M., Krupa, E., 2011. Pedigree analysis of the former Valachian sheep. *Slovak J. Anim. Sci.* 44, 6–12.
- Oravcová, M., Margetín, M., 2011. Preliminary assessment of trends in inbreeding and average relatedness of the former Valachian sheep. *Slovak J. Anim. Sci.* 44, 90–96.
- Pattison, J., Drucker, A.G., Anderson, S., 2007. The cost of conserving livestock diversity? Incentive measures and conservation options for maintaining indigenous Pelón pigs in Yucatan, Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 39, 339–353. <https://doi.org/10.1007/s11250-007-9022-4>.
- Pinheiro, M., Kjollerström, H.J., Oom, M.M., 2013. Genetic diversity and demographic structure of the endangered Sorraia horse breed assessed through pedigree analysis. *Livest. Sci.* 152, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.017>.
- Qwabe, S.O., van Marle-Köster, E., Visser, C., 2013. Genetic diversity and population structure of the endangered Namaqua Afrikaner sheep. *Trop. Anim. Health Prod.* 45, 511–516. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0250-x>.
- Rochus, C.M., Johansson, A.M., 2017. Estimation of genetic diversity in Gute sheep: pedigree and microsatellite analyses of an ancient Swedish breed. *Hereditas* 154, 4. <https://doi.org/10.1186/s41065-017-0026-4>.
- Selvaggi, M., Dario, C., Peretti, V., Ciotola, F., Carnicella, D., Dario, M., 2010. Inbreeding depression in Lecce sheep. *Small Rumin. Res.* 89, 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2009.12.005>.
- Sharma, R., Kumar, B., Arora, R., Ahlawat, S., Mishra, A.K., Tantiya, M.S., 2016. Genetic diversity estimates point to immediate efforts for conserving the endangered Tibetan sheep of India. *Meta Gene* 8, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2016.01.002>.
- Sheikhloo, M., Abbasi, M.A., 2016. Genetic diversity of Iranian Lori-Bakhtiari sheep assessed by pedigree analysis. *Small Rumin. Res.* 141, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.07.009>.
- Sudrajad, P., Seo, D.W., Choi, T.J., Park, B.H., Roh, S.H., Jung, W.Y., Lee, S.S., Lee, J.H., Kim, S., Lee, S.H., 2017. Genome-wide linkage disequilibrium and past effective population size in three Korean cattle breeds. *Anim. Genet.* 48, 85–89. <https://doi.org/10.1111/age.12488>.
- Tahmoorespur, M., Sheikhloo, M., 2011. Pedigree analysis of the closed nucleus of Iranian Baluchi sheep. *Small Rumin. Res.* 99, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.01.017>.
- van Wyk, J.B., Fair, M.D., Cloete, S.W.P., 2009. Case study: The effect of inbreeding on the production and reproduction traits in the Elsenburg Dormer sheep stud. *Livest. Sci.* 120, 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.10.005>.
- Venkataramanan, R., Subramanian, A., Sivaselvam, S.N., Sivakumar, T., Sreekumar, C., Anilkumar, R., Iyue, M., 2013. Pedigree analysis of the nilagiri sheep of South India. *Anim. Genet. Resour.* 53, 11–18. <https://doi.org/10.1017/S2078633613000301>.
- Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Krupa, E., Zavadilová, L., 2016. Pedigree analysis of the endangered Old Kladruber horse population. *Livest. Sci.* 185, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2016.01.001>.

4.2 Machová K, Štruncová P, Caltá J, Tichý L, Vostrý L. 2022b. Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity. PLOS ONE 17:e0277456.

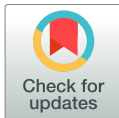
RESEARCH ARTICLE

Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity

Karolína Machová^{1*}, Pavla Štruncová, Jan Calta, Ladislav Tichý, Luboš Vostrý

Department of Genetics and Breeding, Czech University of Life Sciences (CZU), Prague, Czech Republic

* machovakarolina@af.czu.cz



Abstract

In 1919, the European bison population became extinct in the wild. The rescue of the lowland subspecies and the whole species was achieved mainly thanks to individuals from the Białowieża Forest (Polish-Belarusian border). There are currently two breeding lines—the lowland (purebred *B. b. Bonasus*) founded by 7 individuals and the lowland-Caucasian (hybrids of *B. b. Bonasus* and *B. b. caucasicus*) founded by 12 individuals. This genealogical study was conducted on 15,071 individuals recorded in the pedigree book between 1881 and 2020. Its objective was to determine the level of genetic variability and inbreeding almost 100 years after the rescue measures were initiated. The completeness of the pedigree of the reference population was 77% in the fifth generation backwards. A maximum of 23 generations can be traced back in the pedigree. The average inbreeding coefficient and the mean average relatedness of the reference population were very high, about 17% and 16% respectively. No significant amount of new inbreeding was discovered. The reference population has lost 9.11% of the total genetic diversity compared to the population of founders. A male of the Caucasian subspecies *Kaukasus* was discovered among the ancestors of the lowland lineage reference population. The effective population size calculated based on the increase in inbreeding was 23.93 individuals, based on complete generations equivalent it was 16.1 individuals. Wright's F-statistics showed very small differences in genotypic frequencies between individuals within the two lineages in the reference population ($F_{IS} = 0.10$), between individuals and the total population ($F_{IT} = 0.04$) and low differentiation between lineages ($F_{ST} = 0.06$). The population of the European bison from the Białowieża Forest is generally very uniform but still shows good fitness.

OPEN ACCESS

Citation: Machová K, Štruncová P, Calta J, Tichý L, Vostrý L (2022) Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity. PLoS ONE 17(11): e0277456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456>

Editor: Paolo Ruggeri, Natural History Museum of London, UNITED KINGDOM

Received: August 10, 2022

Accepted: October 28, 2022

Published: November 11, 2022

Copyright: © 2022 Machová et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its [Supporting Information files](#).

Funding: L. V. - the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Project No. QK1910156), <https://eagri.cz/public/web/en/mze/>; K. M. - Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources (SGS grant No. SV21-5-21360), <https://www.af.czu.cz/en> The funders had no role in study design, data collection and

Introduction

The Wisent or European bison (*Bison bonasus*) is Europe's largest herbivore inhabiting almost the entire continent during the middle and late Holocene [1]. It belongs to the genus *Bovini* and is crossable with other genera *Bos* and *Bison* members, while fertility is preserved in female F1 hybrids [2]. Originally, there were two species of wild aurochs present in Europe since ancient times, in addition to the wisent, it was also *Bos primigenius*, which became extinct

analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

in 1627 [3]. Wisent had to face a similar fate. It became extinct in Western Europe in the eleventh century [1] and during the Middle Ages, its numbers continued to decline due to habitat fragmentation and hunting [4]. In the eighteenth century, its area of distribution was limited to only two areas—Białowieża Forest in present Poland and the Caucasian region in the Kuban region (Russia). Both populations were almost extinct after the First World War, and the last refuges remained zoos, the Ascania-Nova reserve in Ukraine, and populations of imported animals from Białowieża Forest in southwestern Upper Silesia [5]. In 1919, with the last individual killed in the Białowieża Forest, it became extinct in the wild.

In 1923, for the first time, a systematic effort appeared to preserve this species in two subspecies, Caucasian *B. b. caucasicus* and lowland *B. b. bonasus*. However, the catalogue of living animals already numbered only about 50 individuals, in which the Caucasian subspecies were represented by only one bull [6]. The next record speaks of a total of 69 animals, some of which were subspecies hybrids [7]. In 1932 the pedigree book was finally published [8]. By the end of the 1930s, it was already clear that not enough purebred animals were alive to keep the two purebred subspecies of wisent, so only the lowland subspecies and its hybrids with the Caucasian subspecies were preserved [9]. At the same time, efforts were made to create a supportive population formed by crossing surplus male wisents with American bison cows and gradually crossing back their offspring with wisents [10]. Unfortunately, some purebred herds were subsequently contaminated with American bison or even domestic cattle from hybrid animals. On the first of January 1947, there were only 97 purebred wisents in Europe [9]. However, all of these animals, which participated in reproduction after the First World War, originated from only 12 completely different pairs of allelic sets [11]. Several couples from the original seventeen founders only had a single offspring or a single inbred grandchild.

After the Second World War, a somewhat chaotic period of entries in the pedigree book began. Firstly, no records were kept at all during the war, secondly, part of the records was destroyed during the war by bombing (because of this, records continued to be kept from number 471) and thirdly, there were several years of delays between recording and issuing records [8]. During such a long time, some individuals managed to be born and die without being recorded. The first release of bison into the wild took place in 1952 in Białowieża Forest [12]. However, the number of animals has grown so much at that time, that the bison was reintroduced to several areas of eastern Europe in the 1960s - Russia, Ukraine, Lithuania, Byelorussia, Kirghizia [13–15]. The current wild populations are in Belarus, Bulgaria, Germany, Latvia, Lithuania, Poland, Romania, the Russian Federation, Slovakia, and Ukraine and include around 2,500 adults [16]. These wild populations are maintained naturally with minimal human intervention in reproduction (eg: in the form of the introduction of new animals). Their basic units are often meeting and mixing herds of females and young bulls, which dominant adult males join only for the purpose of reproduction [17]. In captive and semi-captive breeding facilities, bison reproduction is controlled by humans in the direction of sustainable variability, i.e., exchange of animals and mating of closely unrelated individuals.

With this specific development, the re-created wisent population was in the viewfinder of scientists from the beginning. Mainly due to the study of a high degree of inbreeding and its effect on fitness [11,18,19]. Above the primary studies based on the pedigree book, molecular genetic research based on the study of allozymes [20,21], nuclear genes [22–24], and the mitochondrial genome [25–27] began to predominate with the advent of the 90s of the 20th century. They all came to similar conclusions, namely that the genetic diversity of the bison is low, and this was also confirmed by more modern methods based on microsatellites [28–31] and SNPs [32–34]. In addition, some introgression of the Caucasian genes into one of the Białowieża Forest populations, which was considered a purebred lowland, was revealed [35].

The low variability of the bison genome can be attributed to the low number of founders—only 17 individuals. Of these, only one male Plebejer (No. 45) established the lowland lineage and five males the Caucasian-lowland lineage, of which only three (45 Plebejer, 100 Kaukasus, 15 Bergründer) also contributed with male offspring to the population [36]. The degree of inbreeding is 44% in the lowland lineage, while it is 26% in the lowland-Caucasian lineage [4]. Although the value of the average inbreeding coefficient is lower in the second lineage, there are apparent signs of inbred depression, namely shortening or lengthening of the neurocranium and narrowing of the splanchnocrania [18]. In contrast, no obvious signs of inbreeding depression have yet been recorded for the lowland lineage [36]. This may be due to the enhancement effect of genes that have resulted in a fitness increase of the species [37]. Or by the fact that the founders of the lowland lineage did not carry genes that would burden the population and thus reduce the fitness of the population [36].

However, we cannot underestimate possible inbreeding depression in the lowland lineage, even though it has not yet been recorded. The close relationship of individuals is a risk factor for example for genetically based diseases. One of them could be an inflammation of the penis and foreskin (posthitis), which was the cause of 8% male mortality in the western part of Białowieża Forest between 1952 and 2000 [4] and also appears in the lowland lineage [38]. The disease probably has a genetic predisposition based on the fixation of a harmful recessive allele [28]. However, no significant match was found between the MHC II genotype of DRB3 and the incidence of this disease [39]. Even the mitochondrial heteroplasmy found in animals in the Białowieża Forest does not appear to be related to the disease [40]. The first candidate genes were not identified until 2014 by Oleński et al. [41] on the 15th chromosome in the range of 2Mb. The same team of authors repeated the same genome-wide association study five years later on a larger number of animals, including clinical information on disease severity, evaluated by a more reliable statistical method and more strict quality controls for SNPs [38]. They discovered on chromosome 25 the candidate gene for posthitis coding protein periplakin (PPL) associated with skin development [38].

All this knowledge is difficult to apply to breeding without information from the pedigree book. However, extensive genealogical analysis of bison has not been performed for more than 20 years. This paper aims to describe the pedigree structure of a wisent based on pedigree books and to identify the main factors that affect the genetic diversity of the European bison and its possible losses.

Materials and methods

The data were obtained through the Białowieża National Park, which has a pedigree book on its website registered since 1947 [42]. All information, date of birth, the inclusion of the new bison in the book, date of death, and all other changes (mother or father changes, sex specification) have been supplemented over the years (even respectively) to the books to the section of corrections and transfers. The pedigree dates to 1881 and contained 15,071 animals born until 2020. The reference population for genetic analysis was determined according to the list of all living bison, i.e., animals that could potentially give rise to future generations, as of 31 December 2020. The following populations were also used as reference populations for lineage comparison: REF 1—lowland-Caucasian lineage, REF 2—lowland lineage.

The completeness of the pedigree was determined by the maximum number of generations traced, defined as the number of generations between the individual and his farthest ancestor [43]. In addition, the complete generations equivalent (CGE) was calculated as the arithmetic mean of the sum of the expected genetic benefits of ancestors to the individual from the reference population [44], and the pedigree completeness index (PCI), which is a method based on

the expected genetic contributions of maternal and paternal lineages to the reference population [45]. In this study, 5 generations back were considered for *PCI* computation.

The inbreeding coefficient of the individual was computed according to Meuwissen and Luo [46]. Average values for the birth year (only animals with a known date of birth were included) or generation were used to show the changes in inbreeding over time. The increase of inbreeding coefficient between the two generations in the whole population was calculated as a regression coefficient from the means of the individual inbreeding coefficients per maximum number of generations or *CGE* [47]. Furthermore, ancestral and new inbreeding were computed according to Kalinowski et al. [48] with the program Grain v2.2 [49,50]. As an additional indicator of inbreeding was chosen average relatedness, defined as twice the probability that two randomly selected alleles from a population are identical in origin [51]. It was obtained based on the kinship matrix of individuals from which are the *AR* (average relatedness) coefficients obtained as a line vector based on the equation described by Dunner et al. [52].

The probability of gene origin was computed on the reference population. The effective number of founders (f_e) and ancestors (f_a), the total number of founders and ancestors, as well as the founder genome equivalent (f_{ge}) were computed. The f_e and f_a were calculated based on the method established by Lacy [53] and adjusted according to Boichard et al. [44]:

$$f_e = \frac{1}{\sum (p_i^2)},$$

$$f_a = 1 / \sum_{k=1}^f p_k^2,$$

where p_i expresses the share of genes that the founder i contributed to the creation of the next generation of descendants; p_k is a marginal contribution of each ancestor k as its genetic contribution, which is determined by the proportion of genes it contributes, and this proportion (or part of it) has not yet been explained by the contribution of its ancestor selected before it. Founder genome equivalent (f_{ge}) was estimated according to Caballero and Toro [54] as half the reciprocal of the average relatedness of the reference population.

In the next step, founders and ancestors with the biggest genetic contribution to the reference population were identified. Genetic variability losses were calculated as follows:

Loss of genetic diversity (1-*GD*) due to genetic drift and the bottleneck effect [55]:

$$GD = 1 - \frac{1}{2f_{ge}},$$

loss due to the unequal contribution of the founders [54]:

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

and loss due to genetic drift (as the difference between the two previous ones).

Based on the birth dates of the animals, generation intervals were calculated, defined as the average age of the parents at the birth of their offspring used for reproduction [56]. The average age of the parents at the birth of the offspring was also computed. The parameter is calculated for four paths, namely: father-son, father-daughter, mother-son, and mother-daughter. Effective population size N_e was found in two ways. Firstly, by regressing the birth data for the

whole population or a given reference population:

$$N_e = \frac{1}{2b},$$

where b is the individual inbreeding coefficient over the CGE. Secondly, through an increase in the inbreeding of an individual in a given population [57]:

$$\bar{N}_{eF} = \frac{1}{2\Delta F}$$

Wright's F-statistic [58] was used to compare both wisent lineages, calculated according to Caballero and Toro [54,59] in program R using the package kinship2 [60] kinship matrix computation. The degree of individual inbreeding (F_{IS}) relative to the subpopulation in which it is found was used to determine the predominance of heterozygosity or homozygosity due to non-random mating within the subpopulation. The fixation index (F_{ST}) was used to determine the level of genetic variability between lineages. And the total inbreeding coefficient (F_{IT}) was used to evaluate the loss/increase of genetic diversity in the population from an individual's perspective.

All other genetic parameters and demographic data were processed in the program Endog 4.8 [47,61].

Results

Basic demographic data and completeness of the pedigree

The total number of individuals registered in the pedigree book from 1881 to 31 December 2020 was 15,071. Of these, 1,646 lacked all the necessary data (father, mother and sex). Beside of these, there were 116 individuals with no gender determination, mostly due to death at birth or shortly thereafter. Pedigree analysis was performed on 6,797 females and 6,512 males. From 1960 to 1980, the number of animals born doubled every ten years. Between 1960 and 1970, 1,244 calves were born, and between 1970 and 1980, the total number increased by 2,232 to 4,827. The reference population numbered 1,971 individuals, of which 1,195 were females, 773 were males and 3 individuals had unknown sex.

A maximum of 23 ± 6.31 generations and 10 ± 2.55 complete generations could be traced in the reference population, which coincided with the results for the entire population. The mean CGE value for the reference population was 7.85 ± 3.65 (8.98 ± 3.61) before the inclusion records from 2020) and 6.72 ± 3.62 for the entire population. The PCI of the reference population for the last five generations was 90.08%, 88.74%, 86.20%, 83.64%, 77.26%. PCI was more than less constant from the 6th to the 9th generation back, but from the tenth generation it goes down sharply and before the 13th generation, the pedigree contains only minimal information. Its values over the generations for the whole reference population and both lineages are shown in Fig 1.

From 1881 to 1920, 25 males out of 48 were used in breeding. As the population grew, so did the number of offspring per male and the number of males used in breeding. Since 1970, about 189 males have been used every ten years. Of the total number of males, 1,289 (19.80%) participated in reproduction, i.e., 5,222 males never reproduced until the end of 2020. The average number of offspring per reproducing male is 9.73 ± 10.53 .

A strong selection also occurred in females. Out of the total number of 6,795, 2,621 (38.57%) of them participated in reproduction, i.e. almost 4,174 did not reproduce until the end of 2020. The average number of offspring per female involved in reproduction is 4.74 ± 3.47 . Most calves were born by a female 106 Friga (20 calves), who died in 26 years. Fig 2 shows the numbers of males and females involved in reproduction with different numbers of calves.

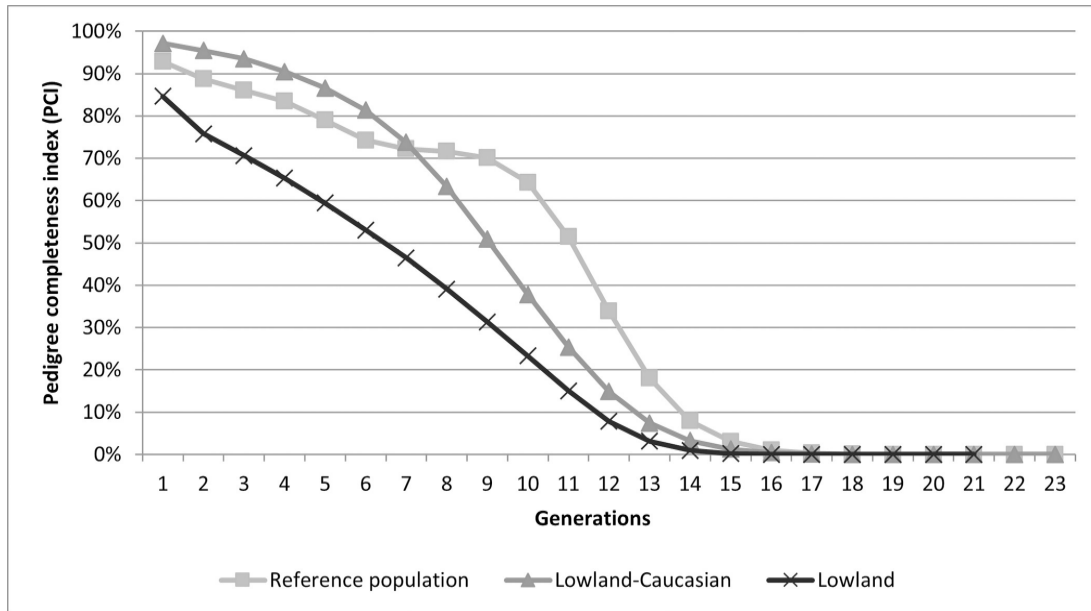


Fig 1. PCI values in maximum traceable generations for both lineages in the reference population.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.g001>

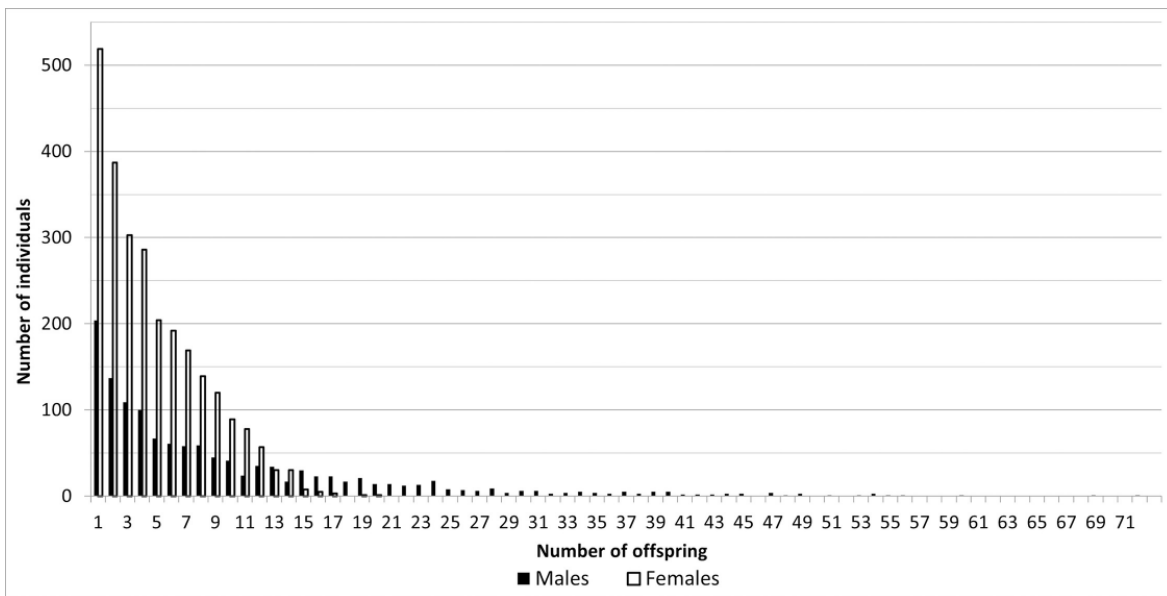


Fig 2. The number of males and females involved in reproduction with a given number of offspring.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.g002>

Inbreeding coefficient and average relatedness

The highest value of the coefficient of inbreeding was 71.83% and was found in five animals, which were in the 15th generation. These were individuals with registration numbers: 12022, 12587, 12907, 13199, and 13872. Their AR to the whole pedigree was $27.90 \pm 0.00\%$. Their parents are female Placka (11221) and male Plawiant (8940). The highest value of AR was 33.40% in the male Plisch (229). In the reference population, it was 28.14% in the male Sphinx (9054). The average value of F and AR for the whole population was $17.81 \pm 15.36\%$ and $16.07 \pm 8.94\%$ and for the reference population $17.02 \pm 15.10\%$ and $16.11 \pm 7.96\%$. A comparison of AR and the average F for each generation is shown in Table 1. The distribution of the inbreeding coefficient in the reference population is shown in Fig 3.

The most common range of the inbreeding coefficient was between 10–20% in 641 animals, and 511 animals had an inbreeding coefficient of up to 10%. No individual had this coefficient higher than 72%. A comparison of the development of the average inbreeding coefficient over time (1881–2020) with the number of registered animals is shown in Fig 4.

There was a 3% difference between ancestral inbreeding (F_{a-Kal}) and total inbreeding (F). F had a value of 0.17 ± 0.15 , while F_{a-Kal} had only 0.14 ± 0.13 . There was no disproportionately large recent inbreeding present in the whole pedigree.

Table 1. Average inbreeding coefficient and average relatedness in maximum generations.

Max. num. of gen.	Num. of animals	Mean F (%)	SD F (%)	The proportion of inbred animals (%)	Mean F of inbred animals (%)	SD F of inbred (%)	Mean AR (%)	SD AR (%)
0	2321	0.00	0.00	-	-	-	0.04	0.57
1	182	0.00	0.00	-	-	-	0.68	2.91
2	81	13.10	12.33	54.22	24.17	3.12	3.30	6.69
3	53	20.28	16.39	67.92	29.05	11.09	12.90	10.73
4	100	28.75	16.08	83.00	34.64	9.75	19.91	8.81
5	90	20.74	20.01	55.56	37.33	10.21	16.42	10.54
6	125	23.42	16.90	80.80	28.98	13.76	17.65	10.34
7	151	22.97	17.79	82.12	27.98	15.59	19.19	8.50
8	203	22.97	14.18	95.57	24.04	13.55	20.26	7.43
9	318	23.61	14.60	90.88	25.98	13.13	20.55	7.35
10	472	24.92	15.19	88.56	28.14	13.02	21.40	7.18
11	715	25.75	13.87	94.13	27.36	12.65	21.93	6.30
12	902	24.41	15.55	88.03	27.73	13.50	20.91	6.05
13	1109	24.30	15.22	91.34	26.60	13.86	20.43	6.03
14	1361	22.82	15.00	89.71	25.44	13.57	19.40	5.94
15	1326	22.04	15.60	87.48	25.20	14.09	18.92	5.53
16	1320	19.44	14.64	85.83	22.65	13.30	18.15	5.11
17	1124	20.73	12.61	95.02	21.18	11.98	18.95	4.35
18	1149	18.19	12.86	92.60	19.64	12.24	18.14	4.31
19	846	17.14	10.66	97.16	17.64	10.39	18.78	3.68
20	706	16.88	10.18	96.60	17.47	9.84	18.80	3.56
21	336	17.73	11.17	96.42	18.39	10.82	18.58	3.32
22	75	15.88	9.19	98.67	16.09	9.01	17.84	2.80
23	5	13.69	8.70	80.00	17.11	4.15	15.87	5.93

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.t001>

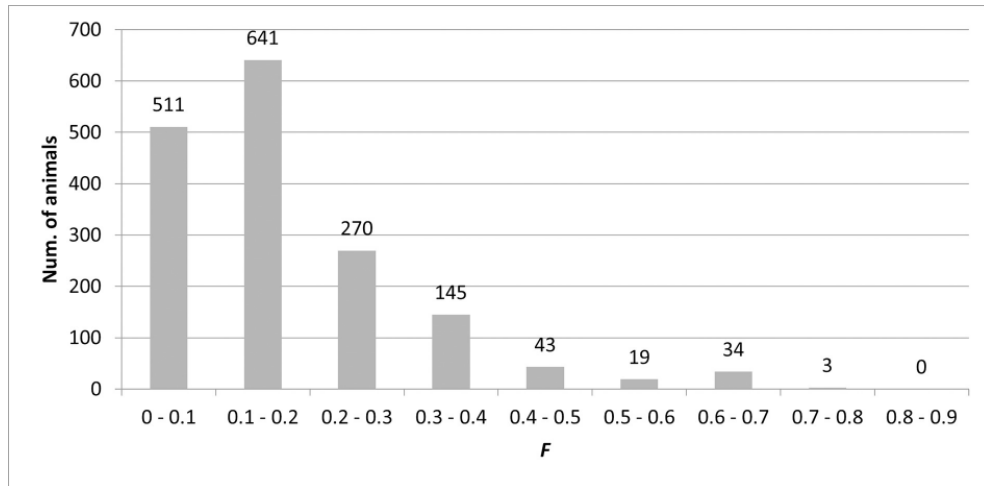


Fig 3. Range of inbreeding coefficient (F) in the reference population.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.g003>

Contribution of ancestors and founders to the reference population and loss of genetic diversity

The contribution of 17 founders to the reference population is shown in Table 2. The male 45 Plebejer (22.73%) and the female 42 Planta (15.05%) had the largest contributions. The total number of founders in the pedigree identified according to the definition of the founder [44], who participated in the reference population is 354. Male 4129 Kabir (2.90%), 3881 Kalvados (1.94%) and 4130 Kader (1.26%) and female 3882 Kamina (2.41%) also contributed to the reference population noticeably, but they were not among the first 17 original founders. Others accounted for less than 1%.

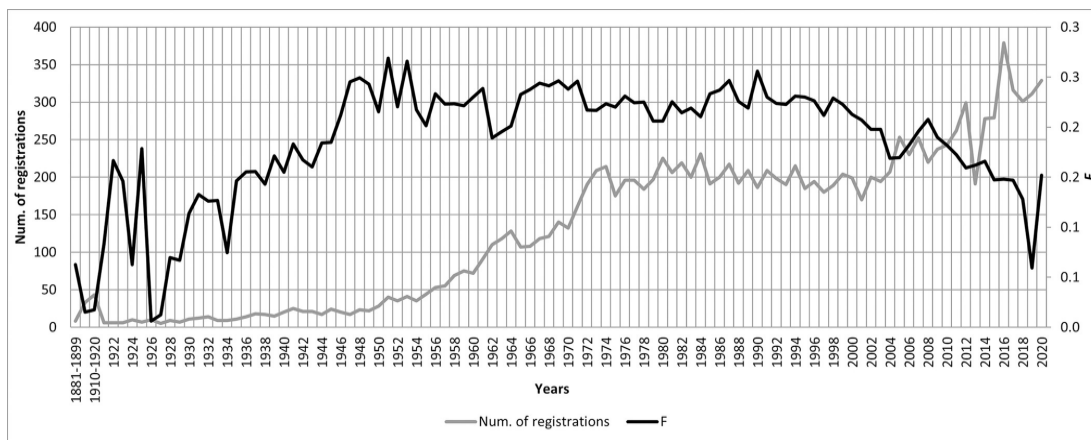


Fig 4. Coefficient of inbreeding (F) and number of individuals born between 1881 and 2020.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.g004>

Table 2. Contribution of the original 17 founders to the reference population.

Reg. num.	45	42	89	16	100	96	85	86	7
Contribution	23.49%	15.56%	6.57%	4.65%	3.39%	3.20%	2.62%	2.62%	2.02%
Reg. num.	95	1	2	32	33	46	123	122	
Contribution	1.92%	1.01%	1.01%	0.73%	0.73%	0.64%	0.42%	0.25%	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.t002>

For the reference population, the effective number of founders (f_e) was 11 and the effective number of ancestors (f_a) was also 11. The result of comparing these values (f_a/f_e) was 1, so no bottleneck effect was observed. The genome equivalent of the founders (f_{ge}) of the entire population was 6.22 and 5.49 for the reference population. Only four ancestors would be needed to explain the 50% genetic contribution to the reference population. The total loss of genetic diversity of the reference population compared to the total population was found to be 9.11%. Of which, the loss caused by accidental genetic drift explains 4.56%, and 4.55% of the loss of genetic diversity is caused by the uneven contribution of the founders.

Population recovery rate

The effective population size of the reference population calculated via the individual increase in inbreeding was 23.93 ± 4.26 , and via regression on equivalent generations, it was 16.1. Generation intervals and the mean age of parents at the birth of the first offspring were in the reference population almost the same, 9.09 ± 3.94 and 9.08 ± 3.93 years, respectively. There were 722 animals in the reference population, whose offspring were already involved in breeding. The shortest generation interval in the reference population was from mother to son (8.56 ± 4.10 years), as well as in the whole population (8.69 ± 3.91 years). The mean age at birth of offspring was slightly lower in the whole population (8.98 ± 3.97) than in the reference population (9.08 ± 3.93). Both parameters (see Table 3) show high deviations from the mean (up to 4.25 years) in the reference population.

Lineage comparison

The lowland lineage includes 3,735 individuals (1,737 males and 1,973 females), and the lowland-Caucasian 9,659 individuals (4,807 females and 4,750 males). Pedigree completeness showed slightly better results in the lowland-Caucasian lineage, 87% in the third generation

Table 3. Generation interval and mean age at birth of the offspring in the reference population.

	Num. animals	Interval (years)	Standard deviation (years)
Generation interval			
Father-son	164	8.86	± 3.76
Father-daughter	515	9.01	± 3.60
Mother-son	162	8.56	± 4.08
Mother-daughter	511	9.40	± 4.25
Total	1352	9.09	± 3.94
Mean age at the birth of the first offspring			
Father-son	579	8.84	± 3.67
Father-daughter	941	8.97	± 3.72
Mother-son	571	9.01	± 4.06
Mother-daughter	928	9.39	± 4.20
Total	3019	9.08	± 3.93

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.t003>

and 77% in the fifth, while the lowland lineage showed 70% *PCI* in the third generation and only 59% *PCI* in the fifth (Graph 1). The average coefficient of inbreeding and the average relatedness do not differ much between the lineages. For the lowland lineage, $F = 17.81\% \pm 15.36\%$ and $AR = 16.07\% \pm 8.94$, for the lowland-Caucasian, $F = 17.91\% \pm 15.35\%$ and $AR = 16.16\% \pm 8.89\%$. For animals from the reference population belonging to the lowland lineage, $F = 17.02\% \pm 14.80\%$ and $AR = 16.42\% \pm 7.55\%$, for animals from the reference population belonging to the lowland-Caucasian lineage, $F = 17.28\% \pm 15.16\%$ and $AR = 16.26\% \pm 7.89\%$.

The effective number of founders and ancestors of the lowland lineage was 7 and 7, respectively. The f_{ge} was 3.76. The genetic loss of this lineage was caused by 7.14% due to an uneven contribution of the founders and by 6.16% due to genetic drift. In total, it lost 13.30% of the total variability. For the lowland-Caucasian lineage, f_e and f_a were 11 and 9, respectively, and the effective number of the founders' genomes was 4.32. The bottleneck effect is therefore noticeable in this lineage. The genetic loss for this lineage was calculated to be 11.58% and was caused also by both the uneven distribution of founders (4.55%) and genetic drift (7.03%). The largest contribution of the founders in both lineages was made by the male 45 Plebejer (lowland—33.53%, lowland-Caucasian—17.99%) and the female 42 Planta (lowland—18.62%, lowland-Caucasian—14.81%).

In the reference population of the lowland-Caucasian lineage, female 42 Planta (14.23%) and male 45 Plebejer (17.41%) were the most contributing founders. Other important founders were females 89 Bilma (9.77%), 16 Plavia (Musche) (6.09%) and 96 Gatzczyna (5.06%). The contribution of the founding male 100 Kaukasus was 5.35%. The genetic variability of the reference population of this lineage could be explained by 164 ancestors. Of these, 229 Plisch (22.65%), 163 Borusse (12.73%), 87 Bill (Tor) (7.67%), 4457 Spratzer (6.17%) and 45 Plebejer (6.08%) were the most contributing male ancestors. Most contributing female ancestors were 89 Bilma (9.77%) and 106 Frigga (4.64%). The contribution of the original 17 founders to the lowland-Caucasian lineage is shown in Table 4A.

In the reference population of the lowland lineage, a very low contribution of male 100 Kaukasus was recorded, namely 0.02%. The genetic variability of the lowland lineage part of the reference population could be theoretically completely explained by 207 ancestors. Female 42 Planta (16.50%) and male 45 Plebejer (31.88%) were the most contributing founders, followed by the male Kabir contributed the most (7.14%). Other ancestors and founders accounted for less than 5%. The contribution of the original 17 founders to the lowland lineage is shown in Table 4B.

Table 4. a. The contribution of the original 17 founders to the lowland-Caucasian lineage part of the reference population. b. The contribution of the original 17 founders to the lowland lineage part of the reference population.

Reg. num.	45	42	89	16	100	96	85	86	95
Contribution	17.41%	14.23%	9.77%	6.09%	5.35%	5.06%	3.83%	3.83%	3.03%
SD	7.66%	5.71%	4.22%	2.45%	2.82%	2.10%	1.58%	1.58%	1.32%
Reg. num.	7	1	2	32	33	46	123	122	
Contribution	2.89%	1.44%	1.44%	1.16%	1.16%	1.01%	0.27%	0.16%	
SD	1.20%	0.60%	0.60%	0.82%	0.82%	1.00%	0.23%	0.14%	
Reg. num.	45	42	16	89	86	85	123	7	122
Contribution	31.88%	16.50%	2.18%	1.12%	0.55%	0.55%	0.67%	0.55%	0.40%
SD	20.40%	9.73%	2.05%	1.23%	0.60%	0.60%	0.64%	0.53%	0.38%
Reg. num.	1	2	33	32	96	95	100	46	
Contribution	0.28%	0.28%	0.01%	0.01%	0.02%	0.01%	0.02%	<0.01%	
SD	0.26%	0.26%	0.08%	0.08%	0.23%	0.17%	0.32%	0.07%	

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277456.t004>

The total fixation index of F_{ST} is 0.06, which means that the monitored lineages are not genetically different. A positive F_{IS} value suggests that homozygous individuals may predominate in the population, but its value of 0.10 is also very low. The F_{IT} value was also low, only 0.04.

Discussion

This study focuses on the whole registered population of European bison (animals from enclosure-based centres, semi-wild breeding centres, or returned from freedom). Nearly 100 years have passed since the first rescue attempts. The size of the worldwide population has increased more than 23 times compared to the 84 purebred individuals living in early 1937 [9]. According to the IUCN Red List, in about a century, the European bison went from the category of extinct in the wild to the category of near threatened [16]. The maximum number of generations 23 is proportional to the age of the population since it is the longest line of ancestors that can be found in the family tree. The average age of the parents of the next generation would be somewhere between 4–5 years of age. However, the mean value of the equivalent of complete generations is significantly lower, almost 7.85 ± 3.65 CGE for the reference population and 6.72 ± 3.62 CGE for the whole pedigree. CGE simply tells how many ancestors are known. The smaller the number, the fewer ancestors are known. The CGE value we calculated is low even though it is certain, that all animals undoubtedly come from the same ancestors from Białowieża Forest [62], and thus it should be possible to trace all individuals back to these ancestors. The pedigree book has been struggling with errors in entries since the beginning of its existence. Although most of them are corrected with the release of the next part in the section "Additions and corrections to former lists", a certain degree of error can be assumed and naturally brings some limitations to our study. In addition, a lot of information is lost by removing some animals from the register due to a lack of information about the animals, or just by releasing them into the wild. Likewise, an animal from a freedom or semi-freedom breeding centre included in the register has no information about its ancestors and can therefore be considered a founder. Despite this, the quality of the European bison pedigree is comparable with pedigrees of production breeds of cattle. For example, for the reference populations of the Danish breeds Danish Holstein, Danish Jersey, and Danish Red, the following CGE values of 7.20, 7.36, 6.77 were observed and PCI values of 0.94, 0.9 and 0.93, respectively [63]. Not so high CGE was found in the breed Brown Swiss in Germany—6.24 [64], in Lidia cattle breed—5.5 [65] or Normand cattle in Colombia—5.21 [66].

The completeness of the pedigree also affects the coefficients used to analyze the origin of the genes, for example, the effective number of founders or the genome equivalent of the founders [44]. Their values are naturally very low in the European bison population due to its historical development. Its closed family tree has only 12 original genotypes since its inception. The variability of this population can therefore only decrease if we neglect the effect of a mutation. In this study, however, values related to founders are non-negligible influenced by individuals with unknown ancestors, who are understood as other founders by the program we used. In addition, errors in the pedigree, loss of alleles through genetic drift, and the assumption of absolute unrelatedness of ancestors affect the accuracy of the coefficients of gene origin. Therefore, the actual values will be even lower. Closed populations with such a small number of founding animals normally occur in the wild and some even go through in situ speciation [67]. However, the emergence of such populations is more often captured in new breeds of domesticated animals or laboratory strains, in the creation of which humans are directly involved [68–71]. The most common problem of such populations is severe inbred depression [72]. In some cases, however, the population is cleansed of strongly deleterious mutations due

to a bottleneck, and the population is then still viable for hundreds of years [73]. This could hopefully be the case for the European bison, whose population shows no severe signs of inbred depression [36].

To identify losses of genetic variability caused by both the bottleneck effect and the uneven use of some individuals for breeding, the ratio between the effective number of ancestors and founders— f_a / f_e —was used. Its 1 value shows no reduction in reproducing animals, and it could be logical because the first bottleneck effect cannot be seen in our data—the records of individuals living before that event do not exist. The second bottleneck effect caused by the Second World War is also not apparent. The presence of false founders is the main effect to blame, because, before the last pedigree book was included in the file, the value of this ratio was 1.13. The others are a low number of animals living at that time and an overall small number of founders. The f_{ge} / f_e ratio (0.50) suggests that random drift had a greater effect on the diversity of the reference population. The contribution of the founders to the reference population is very unbalanced. Most involved were Planta and Plebejer (15.05% and 22.73%) whose share since 1954 (18.8% Planta, Plebejer 26.4%) slightly fluctuates [11]. Founders 1, 2, 7, 32, 33, 46, 122, and 123 still contributed only minimally. Very surprising was the finding of a small relative share of the founder Kaukasus in the reference population of the lowland lineage. This is a significant finding that should be reviewed in the pedigree book for error. Otherwise, it would mean that the lowland lineage is not as pure as it was originally thought. However, the actual genetic contribution of the Kaukasus may have long since been swept away by genetic drift.

Regarding the values of the average inbreeding coefficient and average relatedness, the numbers we find differ from previous studies. The Olech and Perzanowski study [74] dealt with two herds in the Bieszczady, in the first herd in Stuposiana the F was 13.70%, in the second herd in Komańcza it was even 37.63%, and the average relatedness was 24.44% and 32.98%, respectively. Previous research focused on the diversity of both lineages also reached significantly higher values. Olech mentions values of nearly 50% in the lowland and 30% in the lowland-Caucasian individuals born 1996–2002 [75]. These findings indicate that the 17% inbreeding, which we measured in both lineages in the reference population, must be strongly underestimated in this context. A close relative of the European bison, the American Bison, has also undergone several bottleneck effects, and its current population was founded on less than 100 individuals [76]. However, the European bison shows lower genetic variability than the American bison, according to a study by Skotarczak et al. [77]. This was done on 4,269 American bison, with an inbreeding coefficient of 3.26% (17.81% for the European bison), with the highest value recorded at 46.87% (71.83% for the European bison). The value of the average relatedness was also very low—0.31%, compared to the AR of the European bison—16.07%. The absence of recent inbreeding indicates good breeding management. However, this fact must be taken with caution, due to the inclusion of individuals with unknown parents.

The effective size of the population is very small, the number of individuals that would cause the same increase in inbreeding as the reference population is only 23.93 animals. This coincides with the effective population size computed based on microsatellite analysis of 71 individuals born in the Białowieża Forest between 1996 and 2005, which was 28 [78]. This value is less than half the minimum effective size of 50 individuals, which is the goal of management to minimize inbreeding for the survival of the population in the short term [79]. A lower value was found for the American bison, namely, $N_e = 11.64$ [77]. Malhado et al. [80] also found a lower value for buffalo Jafarabadi, $N_e = 10.4 \pm 3.69$. Despite the rapid growth of the bison population in recent decades, the value of N_e is very low and could hardly truly grow in the future. As with most other diversity parameters monitored here, its increase (or decrease

in case of inbreeding) over the years is mainly due to the inclusion of animals from wildlife as founders, even though they share the same gene pool. The current bison population appears to be healthy. After nearly a century of inbreeding, this could be a purging effect of inbreeding or, in the case of herds kept in captivity for a long time, adaptation to captivity. This study included all types of breeding from free range to captive breeding, so determining the extent of these effects was not possible.

Supporting information

S1 File.
(XLSX)

Acknowledgments

We would like to thank professor Wanda Olech-Piasecka PhD chairwoman of the board of the the Bison Specialist Group–Europe for giving us consent to use the bison pedigree books for our study.

Author Contributions

Conceptualization: Ladislav Tichý, Luboš Vostrý.

Data curation: Karolína Machová, Pavla Štruncová, Jan Calta.

Formal analysis: Ladislav Tichý, Luboš Vostrý.

Investigation: Karolína Machová, Pavla Štruncová.

Methodology: Karolína Machová.

Software: Karolína Machová, Jan Calta.

Supervision: Luboš Vostrý.

Visualization: Karolína Machová.

Writing – original draft: Karolína Machová, Pavla Štruncová.

Writing – review & editing: Ladislav Tichý, Luboš Vostrý.

References

1. Benecke N. The Holocene distribution of European bison—the archaeozoological record Distribución Holocena del bisonte europeo—el registro arqueozoológico. *Munibe (Antropologia-Arkeologia)*. 2005; 421–428.
2. Zhang K, Lenstra JA, Zhang S, Liu W, Liu J. Evolution and domestication of the Bovini species. *Anim Genet*. 2020; 51: 637–657. <https://doi.org/10.1111/age.12974> PMID: 32716565
3. Szafer W. The Ure-ox, extinct in Europe since the seventeenth century: an early attempt at conservation that failed. *Biol Conserv*. 1968; 1: 45–48. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(68\)90014-1](https://doi.org/10.1016/0006-3207(68)90014-1)
4. Pucek Z, Belousova IP, Krasiński ZA, Olech W. European bison: status survey and conservation action plan. IUCN Gland, Switzerland and Cambridge; 2004.
5. Ahrens TG. The Present Status of the European Bison or Wisent. *J Mammal*. 1921; 2: 58. <https://doi.org/10.2307/1373684>
6. Ahrens TG. Proposals for the Preservation of the Wisent. *Science* (1979). 1923; 58: 107–107. <https://doi.org/10.1126/science.58.1493.107> PMID: 17834061
7. Thone F. Nature Ramblings: Wisent. *The Science News-Letter*. 1927; 12: 207. <https://doi.org/10.2307/3902414>
8. Mohr E. The studbook of the European bison *Bison bonasus*. *International Zoo Yearbook*. 1967; 7: 187–188. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.1967.tb00384.x>

9. Glover R. The Wisent or European Bison. *J Mammal*. 1947; 28: 333. <https://doi.org/10.2307/1375356>
10. Bison Blood Being Bred out of Wisent Hybrids. *The Science News Letter*. 1933; 24: 423.
11. Slatis HM. An Analysis of Inbreeding in the European Bison. *Genetics*. 1960; 45: 275–87. <https://doi.org/10.1093/genetics/45.3.275> PMID: 17247924
12. de Bont R. Extinct in the Wild. 1st ed. In: Bont RD, Lachmund J, editors. *Spatializing the History of Ecology*. 1st ed. New York: Routledge; 2017. p. 53. <https://doi.org/10.4324/9781315191041-9/EXTINCT-WILD-RAF-DE-BONT>
13. Perzanowski K, Kozak I. The Carpathian bison *Bison bonasus*: its past and future. *Biosphere conservation*. 2000; 2: 75–81. https://doi.org/10.20798/biospherecons.2.2_75
14. Zablotskaya MM. Problems of the restitution of European bison *Bison bonasus* L. in Russia The Prioksko-Terrasny State Nature Biosphere Reserve named after M. European Bison Conservation Newsletter. 2016; 9: 17–22.
15. Perzanowski K, Olech W, Kozak I. Constraints for re-establishing a meta-population of the European bison in Ukraine. *Biol Conserv*. 2004; 120: 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.03.006>
16. Plumb G, Kowalczyk R, Hernandez-Blanco JA. *Bison bonasus* (European Bison). In: *The IUCN Red List of Threatened Species 2020* [Internet]. 2020 [cited 20 Apr 2021]. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-3.RLTS.T2814A45156279.en>
17. Pucek Z, Belousova IP, Krasińska M, Krasiński ZA, Olech W. *European bison*. Pucek Z, editor. *Białowieża: Mammal Research Institute, Polish Academy of Sciences*; 2002.
18. Kobryńczuk F. *Bisoniana LXXXVI*. The influence of inbreeding on the shape and size of the skeleton of the European bison. *Acta Theriol (Warsz)*. 1985; 30: 379–422. <https://doi.org/10.4098/AT.arch.85-27>
19. Olech W. *BISONIANA XCVIII* Analysis of Inbreeding in European Bison. *Acta Theriol (Warsz)*. 1987; 32: 373–387.
20. Gebczyński M, Tomaszewska-Guszkiewicz K. Genetic variability in the European bison. *Biochem Syst Ecol*. 1987; 15: 285–288. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(87\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0305-1978(87)90032-9)
21. Hartl GB, Pucek Z. Genetic Depletion in the European Bison (*Bison bonasus*) and the Significance of Electrophoretic Heterozygosity for Conservation. *Conservation Biology*. 1994; 8: 167–174. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1994.08010167.x>
22. Udina IG, Shaikhaev GO. *Bisoniana 116*. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) of exon 2 of the *MhcBibo-DRB3* gene in European bison *Bison bonasus*. *Białowieża*; 1998. pp. 75–82.
23. Cronin MA, Cockett N. Kappa-casein polymorphisms among cattle breeds and bison herds. *Anim Genet*. 1993; 24: 135–138. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1993.tb00256.x> PMID: 8101056
24. Burzyńska B, Topczewski J. Genotyping of *Bison bonasus* K-casein gene following DNA sequence amplification. *Anim Genet*. 1995; 26: 335–336. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1995.tb02669.x> PMID: 7486252
25. Tiedemann R, Nadlinger K, Pucek Z. *Bisoniana 117*. Mitochondrial DNA-RFLP analysis reveals low levels of genetic variation in European bison *Bison bonasus*. *Acta Theriol (Warsz)*. 1998; 43: 83–87.
26. Burzyńska B, Olech W, Topczewski J. Phylogeny and genetic variation of the European bison *Bison bonasus* based on mitochondrial DNA D-loop sequences. *Acta Theriol (Warsz)*. 1999; 44: 253–262. <https://doi.org/10.4098/AT.arch.99-24>
27. Janecek LL, Honeycutt RL, Adkins RM, Davis SK. Mitochondrial Gene Sequences and the Molecular Systematics of the Artiodactyl Subfamily Bovinae gene for inferring phylogenetic relationships among 107. *Mol Phylogenet Evol*. 1996; 6: 107–119.
28. Luenser K, Fickel J, Lehnen A, Speck S, Ludwig A. Low level of genetic variability in European bisons (*Bison bonasus*) from the Białowieża National Park in Poland. *Eur J Wildl Res*. 2005; 51: 84–87. <https://doi.org/10.1007/s10344-005-0081-4>
29. Kostyunina O V., Mikhailova ME, Dotsev A V., Zemlyanko II, Volkova V V., Fornara MS, et al. Comparative Genetic Characteristics of the Russian and Belarusian Populations of Wisent (*Bison bonasus*), North American Bison (*Bison bison*) and Cattle (*Bos taurus*). *Cytol Genet*. 2020; 54: 116–123. <https://doi.org/10.3103/S0095452720020085>
30. Gralak B, Krasińska M, Niemczewski C, Krasiński ZA, Żurkowski M. Polymorphism of bovine microsatellite DNA sequences in the lowland European bison. *Acta Theriol (Warsz)*. 2004; 49: 449–456. <https://doi.org/10.1007/BF03192589>
31. Dotsev A V., Aksenova P V., Volkova V V., Kharzinova VR, Kostyunina O V., Mnatsekanov RA, et al. Study of Allele Pool and Genetic Structure of Russian Population of Lowland-Caucasian Line of European Bison (*Bison bonasus*). *Russ J Genet Appl Res*. 2018; 8: 31–36. <https://doi.org/10.1134/S2079059718010057>

32. Pertoldi C, Wójcik JM, Tokarska M, Kawałko A, Kristensen TN, Loeschcke V, et al. Genome variability in European and American bison detected using the BovineSNP50 BeadChip. *Conservation Genetics*. 2010; 11: 627–634. <https://doi.org/10.1007/s10592-009-9977-y>
33. Kaminski S, Olech W, Olenski K, Nowak Z, Rusc A. Single nucleotide polymorphisms between two lines of European bison (*Bison bonasus*) detected by the use of Illumina Bovine 50 K BeadChip. *Conserv Genet Resour*. 2012; 4: 311–314. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9535-z>
34. Oleński K, Kamiński S, Tokarska M, Hering DM. Subset of SNPs for parental identification in European bison Lowland-Białowieża line (*Bison bonasus bonasus*). *Conserv Genet Resour*. 2018; 10: 73–78. <https://doi.org/10.1007/s12686-017-0768-3>
35. Tokarska M, Bunevich AN, Demontis D, Sipko T, Perzanowski K, Baryshnikov G, et al. Genes of the extinct Caucasian bison still roam the Białowieża Forest and are the source of genetic discrepancies between Polish and Belarusian populations of the European bison, *Bison bonasus*. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2015; 114: 752–763. <https://doi.org/10.1111/bij.12470>
36. Tokarska M, Pertoldi C, Kowalczyk R, Perzanowski K. Genetic status of the European bison *Bison bonasus* after extinction in the wild and subsequent recovery. *Mamm Rev*. 2011; 41: 151–162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2010.00178.x>
37. Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. THE BOTTLENECK EFFECT AND GENETIC VARIABILITY IN POPULATIONS. *Evolution (N Y)*. 1975; 29: 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1975.tb00807.x> PMID: 28563291
38. Oleński K, Hering DM, Tokarska M, Iacolina L, Stronen A V., Pertoldi C, et al. A refined genome-wide association study of posthitis in lowland Białowieża population of the European bison (*Bison bonasus*). *Eur J Wildl Res*. 2020; 66: 4. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1341-z>
39. Radwan J, Kawałko A, Wójcik JM, Babik W. MHC-DRB3 variation in a free-living population of the European bison, *Bison bonasus*. *Mol Ecol*. 2006; 16: 531–540. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03179.x> PMID: 17257111
40. Wójcik JM, Kawałko A, Tokarska M, Jaarola M, Vallenback P, Pertoldi C. Post-bottleneck mtDNA diversity in a free-living population of European bison: implications for conservation. *J Zool*. 2009; 277: 81–87. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2008.00515.x>
41. Oleński K, Tokarska M, Hering D, Puckowska P, Ruść A, Pertoldi C, et al. Genome-wide association study for posthitis in the free-living population of European bison (*Bison bonasus*). *Biol Direct*. 2015; 10: 2. <https://doi.org/10.1186/s13062-014-0033-6> PMID: 25585689
42. BPN. Żubr. In: Białowiecki Park Narodowy [Internet]. 2007. Available: https://bpn.com.pl/index.php?option=com_content&task=view&id=1133&Itemid=213.
43. Maignell L, Boichard D, Vetiel E. Genetic Variability of French Dairy Breeds Estimated From Pedigree Information. *Interbull Bulletin*. 1996; 49–56.
44. Boichard D, Maignell L, Verrier É. The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetics Selection Evolution*. 1997; 29: 5. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-29-1-5>
45. MacCluer JW, Boyce AJ, Dyke B, Weitkamp LR, Pfenning DW, Parsons CJ. Inbreeding and pedigree structure in Standardbred horses. *Journal of Heredity*. 1983; 74: 394–399. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a109824>
46. Meuwissen THE, Luo Z. Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genetics Selection Evolution*. 1992; 24: 305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-24-4-305>
47. Gutiérrez JP, Goyache F, Cervantes I. ENDOG v4.8: A Computer Program for Monitoring Genetic Variability of Populations Using Pedigree Information. Madrid; 2010. Available: https://webs.ucm.es/info/prodanim/html/JP_Web.htm#_Endog_3.0:_A.
48. Kalinowski ST, Hedrick PW, Miller PS. Inbreeding Depression in the Speke's Gazelle Captive Breeding Program. *Conservation Biology*. 2000; 14: 1375–1384. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2000.98209.x>
49. Doekes HP, Curik I, Nagy I, Farkas J, Kövér G, Windig JJ. Revised Calculation of Kalinowski's Ancestral and New Inbreeding Coefficients. *Diversity (Basel)*. 2020; 12. <https://doi.org/10.3390/d12040155>
50. Baumung R, Farkas J, Boichard D, Mészáros G, Sölkner J, Curik I. GRain: a computer program to calculate ancestral and partial inbreeding coefficients using a gene dropping approach. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2015; 132: 100–108. <https://doi.org/10.1111/jbg.12145> PMID: 25823836
51. Gutiérrez JP, Altarriba J, Díaz C, Quintanilla R, Cañón J, Piedrafita J. Pedigree analysis of eight Spanish beef cattle breeds. *Genetics Selection Evolution*. 2003; 35: 43–63. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-35-1-43> PMID: 12605850

52. Dunner S, Checa ML, Gutierrez JP, Martin JP, Cañon J. Genetic analysis and management in small populations: the Asturcon pony as an example. *Genetics Selection Evolution*. 1998; 30: 397. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-30-4-397>
53. Lacy RC. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biol*. 1989; 8: 111–123. <https://doi.org/10.1002/zoo.1430080203>
54. Caballero A, Toro MA. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genet Res*. 2000; 75: 331–343. <https://doi.org/10.1017/S0016672399004449> PMID: 10893869
55. Lacy RC. Clarification of genetic terms and their use in the management of captive populations. *Zoo Biol*. 1995; 14: 565–577. <https://doi.org/10.1002/zoo.1430140609>
56. James JW. A note on selection differential and generation length when generations overlap. *Animal Science*. 1977; 24: 109–112. <https://doi.org/10.1017/S0003356100039271>
57. Gutiérrez JP, Cervantes I, Molina A, Valera M, Goyache F. Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genetics Selection Evolution*. 2008; 40: 359–378. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-40-4-359> PMID: 18558071
58. Wright S. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution (N Y)*. 1965; 19: 395. <https://doi.org/10.2307/2406450>
59. Caballero A, Toro MA. Analysis of genetic diversity for the management of conserved subdivided populations. *Conservation Genetics*. 2002; 3: 289–299. <https://doi.org/10.1023/A:1019956205473>
60. Sinnwell J, Therneau T, Schaid D, Atkinson E, Mester C. kinship2. 2020. Available: <https://cran.r-project.org/web/packages/kinship2>.
61. Gutierrez JP, Goyache F. A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2005; 122: 172–176. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2005.00512.x> PMID: 16130468
62. Kowalczyk R, Krasieńska M, Kamiński T, Górny M, Struś P, Hofman-Kamińska E, et al. Movements of European bison (*Bison bonasus*) beyond the Białowieża Forest (NE Poland): range expansion or partial migrations? *Acta Theriol (Warsz)*. 2013; 58: 391–401. <https://doi.org/10.1007/s13364-013-0136-y> PMID: 24244043
63. Sørensen AC, Sørensen MK, Berg P. Inbreeding in Danish Dairy Cattle Breeds. *J Dairy Sci*. 2005; 88: 1865–1872. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72861-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72861-7) PMID: 15829680
64. Wirth A, Duda J, Distl O. Genetic Diversity and the Impact of the Breed Proportions of US Brown Swiss in German Brown Cattle. *Animals*. 2021; 11: 152. <https://doi.org/10.3390/ani11010152> PMID: 33440788
65. Cortés O, Eusebi P, Dunner S, Sevane N, Cañon J. Comparison of diversity parameters from SNP, microsatellites and pedigree records in the Lidia cattle breed. *Livest Sci*. 2019; 219: 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.11.006>
66. Sarmiento DR, Tullo E, Rizzi R. Pedigree-based analysis of genetic variability in the registered Normande cattle breed in Colombia. *Anim Prod Sci*. 2017; 57: 422. <https://doi.org/10.1071/AN15057>
67. Whittaker RJ, Fernández-Palacios JM, Matthews TJ, Borregaard MK, Triantis KA. Island biogeography: Taking the long view of nature's laboratories. *Science (1979)*. 2017; 357: eaam8326. <https://doi.org/10.1126/science.aam8326> PMID: 28860356
68. Huson HJ, Sonstegard TS, Godfrey J, Hambrook D, Wolfe C, Wiggans G, et al. A Genetic Investigation of Island Jersey Cattle, the Foundation of the Jersey Breed: Comparing Population Structure and Selection to Guernsey, Holstein, and United States Jersey Cattle. *Front Genet*. 2020; 11: 11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00366> PMID: 32362912
69. Okumura K, Saito M, Isogai E, Wakabayashi Y. The Japanese Wild-Derived Inbred Mouse Strain, MSM/Ms in Cancer Research. *Cancers (Basel)*. 2021; 13: 1026. <https://doi.org/10.3390/cancers13051026> PMID: 33804471
70. Yuan R, Flurkey K, Meng Q, Astle MC, Harrison DE. Genetic Regulation of Life Span, Metabolism, and Body Weight in Pohn, a New Wild-Derived Mouse Strain. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2013; 68: 27–35. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls104> PMID: 22570136
71. Machová K, Kranjčevićová A, Vostrý L, Krupa E. Analysis of Genetic Diversity in the Czech Spotted Dog. *Animals*. 2020; 10: 1416. <https://doi.org/10.3390/ani10081416> PMID: 32823819
72. Kyriazis CC, Wayne RK, Lohmueller KE. Strongly deleterious mutations are a primary determinant of extinction risk due to inbreeding depression. *Evol Lett*. 2021; 5: 33–47. <https://doi.org/10.1002/evl3.209> PMID: 33552534
73. Robinson JA, Brown C, Kim BY, Lohmueller KE, Wayne RK. Purging of Strongly Deleterious Mutations Explains Long-Term Persistence and Absence of Inbreeding Depression in Island Foxes. *Current Biology*. 2018; 28: 3487–3494.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.08.066> PMID: 30415705

74. Olech W, Perzanowski K. A genetic background for reintroduction program of the European bison (*Bison bonasus*) in the Carpathians. *Biol Conserv*. 2002; 108: 221–228. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00108-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00108-8)
75. Olech W. Wpływ inbrodu osobniczego i inbrodu matki na przeżywalność cieląt zubra (*Bison bonasus*). Wydawn. SGGW; 2003.
76. Skotarczak E, Szwaczkowski T, Ćwiertnia P. Effects of inbreeding, sex and geographical region on survival in an American bison (*Bison bison*) population under a captive breeding program. *Eur Zool J*. 2020; 87: 402–411. <https://doi.org/10.1080/24750263.2020.1797194>
77. Skotarczak E, Ćwiertnia P, Szwaczkowski T. Pedigree structure of American bison (*Bison bison*) population. *Czech Journal of Animal Science*. 2018; 63: 507–517. <https://doi.org/10.17221/120/2017-CJAS>
78. TOKARSKA M, KAWAŁKO A, WÓJCIK JM, PERTOLDI C. Genetic variability in the European bison (*Bison bonasus*) population from Białowieża forest over 50 years. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2009; 97: 801–809. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01203.x>
79. Franklin IR. Evolutionary change in small populations. *Conservation Biology—An evolutionary-ecological perspective*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, U.S.A.; 1980. pp. 135–145. Available: <https://downloads.regulations.gov/FWS-R4-ES-2014-0065-0208/content.pdf>.
80. Malhado CHM, Malhado ACM, Carneiro PLS, Ramos AA, Carrillo JA, Pala A. Inbreeding depression on production and reproduction traits of buffaloes from Brazil. *Animal Science Journal*. 2013; 84: 289–295. <https://doi.org/10.1111/asj.12006> PMID: 23590501

4.3 Machová K, Hofmanová B, Rychtářová J, Vostrý L, Moravčíková N, Kasarda K. 2020. Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic. Acta fytotechnica et zootechnica 23:38–45.

Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic

Karolína Machová^{a*}, Barbora Hofmanová^a, Jana Rychtářová^b, Luboš Vostrý^a,
Nina Moravčíková^c, Radovan Kasarda^c

^a Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Prague – Suchbát, Czech Republic

^b Institute of Animal Science, Prague – Uhřetěves, Czech Republic

^c Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic



Licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



In this study, the intra- and inter-population level of genetic diversity of 26 transboundary and local sheep breeds reared in the Czech Republic was analysed. A total of 14,999 animals genotyped for 11 microsatellite markers were included to describe the gene pool of the breeds. The level of genetic diversity was derived from the proportion of heterozygous animals among and within breeds. The average polymorphic information content (0.745) and Shannon's index (1.361) showed a high genetic variability of the applied set of genetic markers. The average observed heterozygosity (0.683 ± 0.009), as well as F_{IS} index (-0.025 ± 0.004), pointed to a sufficient proportion of heterozygotes concerning the loss of genetic diversity. The deficit of heterozygotes was most evident in Cameroonian sheep ($F_{IS} = 0.036$). The Nei's genetic distances and Wright's F_{ST} indexes showed that the analysed breeds are genetically differentiated to separate clusters with Cameroonian sheep as the most genetically distant breed. Individual variation accounted for 83.2 % of total diversity conserved across breeds, whereas 16.8 % of genetic similarity resulted from the inter-population reduction in heterozygosity.

Keywords: microsatellite analysis, genetic diversity, sheep, transboundary and local breed

1 Introduction

Ancient European sheep population was created through two main immigration events from Southwest Asia during the 4th and 5th millennium B.P.. During the first one, primitive breeds came in, which were pushed out and crossed by breeds specialised on the secondary production in the second wave (Chessa et al., 2009). Along with the development of society and agriculture, more productive sheep have been bred and then spread during the European colonisation over the world (Taberlet et al., 2008). Two centuries ago, a great turnout of breeding practices occurred, when bigger selection affords started unifying many populations into breed standards (Taberlet et al., 2008). This selection pressure is now even enhanced by modern reproductive biotechnologies (Taberlet et al., 2008). Nevertheless, artificial insemination with frozen-thawed semen is not widely used in sheep so far (Faigl et al., 2012; Raoul and Elsen, 2020). Current inter- and intra-continental transmission of livestock genotypes still accelerates in the direction from developed to developing countries. Higher sheep products demand initiates breeding of high-yielding sheep breeds, and their commercial use all over the world threatens local genetic sources (FAO, 2007).

Transboundary breeds are usually not endangered by low numbers of individuals or population fragmentation. However, they could be threatened by the loss of genetic diversity as well as

* **Corresponding author:** Karolína Machová. Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Department of Genetic and Breeding, Kamýcká 129,165 00 Praha 6 – Suchbát, Czech Republic. E-mail: machovakarolina@af.czu.cz

indigenous breeds. Assessment of their genetic variability could identify more valuable animals or lineages for breeding. In the Czech Republic, there are 28 FAO registered transboundary sheep from a total of 36 registered breeds (FAO, 2020). After the year 1989, most of the breeds imported from western Europe were bred with local populations by absorbent crossing. Czech populations of the same breeds could be so quite genetically distant from western populations and more diverse in comparison to western countries. This study aimed to investigate the genetic diversity through microsatellite (STR) markers analysis of sheep breeds in the Czech Republic.

2 Material and methods

2.1 Animal sampling and molecular analysis

Data were from parentage testing, which was going on in the Czech Republic from 2010 to 2015. The original dataset consisted of 15,041 animals representing 30 sheep breeds. Four of them were excluded from the analysis due to the low number of animals (<25). The reduced dataset included 14,999 individuals from 26 breeds: Alpine (AL, n = 106), Berrichon du Cher (BE, n = 251), Cameroon (CA, n = 225), Clun Forest (CF, n = 364), Dorper (DP, n = 34), East Frisian (EF, n = 491), German Black-headed (GB, n = 88), German Grey Heath (GG, n = 297), Hampshire (HA, n = 116), Charollais (CH, n = 764), Jacob (JA, n = 40), Kent (KE, n = 1,288), Kerry Hill (KH, n = 59), Lein (LE, n = 37), Lacaune (LA, n = 1,085), Merinolandschaf (ML, n = 324), Oxford Down (OD, n = 458), Ouessant (OU, n = 88), Romanov (RO, n = 764), Sumava (SU, n = 474), Skudde (SD, n = 31), Shetland (SH, n = 54), Suffolk (SF, n = 5,343), Valachian (VA, n = 340), Texel (TE, n = 1,269), and Zwartbles (ZW, n = 609).

The minimum animal genotyping call rate for STR markers was set to 99.5%. Of the 25 STR markers used in parentage testing, only 11 (CSR247, D5S2, INRA005, INRA063, MAF065, MAF209, MAF214, MCM527, OARCP049, OARFCB020, and SPS115) met this threshold. Except for SPS115, all listed STR markers are recommended by ISAG/FAO for parentage testing in sheep.

2.2 Statistical analysis

Most of the basic genetic diversity estimators including the effective number of alleles, observed heterozygosity, expected heterozygosity, mean number of alleles per locus, Wright's F statistics and Shannon's information index were computed using GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2006; Peakall and Smouse, 2012). Polymorphic information content was calculated by Cervus 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007). Test of Hardy-Weinberg equilibrium was performed in the internet version of GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995; Rousset, 2008) by Markov Chain Monte Carlo method (dememorisation 1,000, batches 100, iterations per batch 5,000). Subsequently, Wright's F_{ST} index according to Weir and Cockerham (1984), Nei's standard genetic distance described by Nei (1978) and G_{ST} as an analogue to F_{ST} adjusted for bias were calculated by GenAlex 6.5 (Peakall and Smouse, 2006; Peakall and Smouse, 2012). The F_{ST} and G_{ST} were calculated using 999 permutations and 1,000 bootstraps.

3 Results and discussion

In this study, 26 sheep breeds reared in the Czech Republic were investigated through STR markers analysis. A total of 180 alleles across the 11 analysed STR markers were detected. All of them indicated deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (Table 1), which signals a high impact of factors such as migration, gene flow or relatives mating on the genetic variability conserved in the dataset. Evaluation of each locus in concrete population revealed that less than 26 % of deviations were significant ($P < 0.05$) (data not shown). The number of alleles per locus ranged from 8 (D5S2) to 27 (OARCP049) (data not shown). All the studied loci were polymorphic in each breed, except for locus CSR247 in DP population (data not shown). Only 27 private alleles were found in 16 breeds, 10 of them exceeded more than 0.5 % frequency. The highest frequency of private alleles, approximately 45 %, was detected in LA. The highest number of private alleles (5) was reported for loci INRA063 and OARCB020 (data not shown).

The mean number of alleles ranged from 3.727 (KH) to 12.273 (SF) (Table 2). Mean number of alleles per breed was similar to the study of Tolone et al. (2012), who analysed Comisana, Pinzirita, Sarda and Valle del Belice Sicilian breeds and reported values from 5.66 to 9.44. Mean number of alleles per locus across analysed breeds was also in agreement with the study of Naqvi et al. (2017) in Pakistan breeds (5.73 to 7.62), Othman et al. (2016) in local Egyptian breeds (5.82 to 8.18) and Loukovitis et al. (2016) in 13 local Greek breeds (4.59 to 7.34).

Informativeness of surveyed loci and breeds was evaluated through Shannon's information index and polymorphic information content (Table 1). Shannon's information index is not so widely used for genetic diversity as for ecology diversity measures possibly due to its difficult interpretation (Hennink and Zeven, 1990). Generally, it reflects the level of genetic markers effectiveness and genetic diversity inside the population (Moravčíková et al., 2016). The average Shannon's information index across loci showed informativeness at level 1.361. Similarly, the polymorphic information content pointed to the high level of polymorphisms across analysed STR markers, and only MAF214 showed a value lower than 0.5.

Average expected heterozygosity over loci ranged from 0.491 (MAF214) to 0.754 (OARFCB020) (Table 1). The highest average expected heterozygosity was observed for SU (0.790) and the lowest for CA (0.509) (Table 2). Similarly, the observed heterozygosity was the highest for SU (0.792) and the lowest for CA (0.493). The fact that SU breed had the greatest heterozygosity is quite surprising. SU is one of the Czech autochthonous breeds and has been included in the program of Czech genetic reserves since 1992, and therefore no hybrids should appear in the studbook since then. This indicates that even if the gene pool of SU is limited by small population size, its management is better compared to evaluated transboundary breeds. Except for CA, GG, CH, OU, RO, and SF, the expected heterozygosity was lower than the observed (Table 2). The level of heterozygosity within breeds was in agreement with previous studies in different sheep breeds (Peter et al., 2007; Jyotsana et al., 2010; Jawasreh et al., 2018; Bravo et al., 2019). In general, the results showed that the heterozygosity across and within breeds was sufficient concerning the potential loss of genetic diversity in the next generations.

Table 1 Mean number of alleles (MNA), effective number of alleles (N_E), Shannon's information index (I), polymorphic information content (PIC), observed (H_O) and expected heterozygosity (H_E), F_{IS} index, 95 % confidence interval (F_{IS} 95 %), and Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) computed for each locus

Locus	MNA	N_E	I	PIC	H_O	H_E	F_{IS}	F_{IS} 95 %	HWE
CSRD247	7.077	2.798	1.142	0.645	0.592	0.582	-0.011	-0.039; 0.041	***
D5S2	4.308	2.640	1.077	0.580	0.624	0.602	-0.034	-0.064; 0.04>	***
INRA005	8.962	4.273	1.612	0.840	0.739	0.736	-0.004	-0.021; 0.025	***
INRA063	8.692	3.611	1.474	0.777	0.720	0.698	-0.032	-0.056; 0.036	***
MAF065	5.731	3.070	1.256	0.758	0.676	0.656	-0.031	-0.056; 0.035	***
MAF209	7.692	3.689	1.454	0.802	0.700	0.680	-0.026	-0.052; 0.040	***
MAF214	4.923	2.214	0.891	0.452	0.500	0.491	-0.018	-0.041; 0.035	***
MCM527	6.000	3.336	1.319	0.773	0.689	0.669	-0.032	-0.060; 0.043	***
OARCP049	9.692	4.561	1.669	0.876	0.773	0.749	-0.034	-0.056; 0.034	***
OARFCB020	8.192	4.360	1.606	0.850	0.776	0.754	-0.029	-0.045; 0.024	***
SPS115	7.346	3.893	1.471	0.841	0.724	0.707	-0.021	-0.052; 0.048	***
Mean	7.147	3.495	1.361	0.745	0.683	0.666	-0.025		
Standard error	0.187	0.080	0.023	0.038	0.009	0.008	0.004		

*** = $P < 0.001$

Table 2 Number of individuals (N), mean number of alleles (MNA), effective number of alleles (N_E), Shannon's information index (I), observed (H_O) and expected (H_E) heterozygosity, and F_{IS} index computed for each sheep breed

Breed	N	MNA	N_E	I	H_O	H_E	F_{IS}
AL	106	5.091	3.218	1.305	0.738	0.671	-0.096
BE	251	6.909	3.264	1.319	0.682	0.662	-0.028
CA	225	5.545	2.280	0.987	0.493	0.509	0.036
CF	364	6.545	3.352	1.324	0.658	0.653	-0.005
DP	34	4.636	3.123	1.181	0.628	0.614	-0.021
EF	491	6.182	2.439	1.080	0.558	0.556	-0.002
GB	88	7.636	3.997	1.476	0.736	0.703	-0.049
GG	297	8.000	4.013	1.533	0.723	0.725	0.001
HA	116	6.909	4.015	1.486	0.726	0.702	-0.036
CH	764	9.636	3.685	1.508	0.694	0.698	0.004
JA	40	4.636	2.892	1.171	0.625	0.612	-0.019
KE	1,288	9.636	4.117	1.547	0.714	0.711	-0.003
KH	59	3.727	2.571	1.032	0.630	0.572	-0.094
LE	37	4.636	2.906	1.167	0.683	0.610	-0.110
LA	1,085	10.000	4.522	1.653	0.744	0.735	-0.012
ML	324	10.000	4.552	1.676	0.766	0.759	-0.009
OD	458	7.000	3.449	1.345	0.694	0.680	-0.018
OU	88	4.818	3.073	1.208	0.634	0.649	0.022
RO	764	7.727	3.571	1.373	0.675	0.680	0.008
SU	474	10.273	5.024	1.810	0.792	0.790	-0.002
SD	31	4.364	2.862	1.141	0.654	0.608	-0.075
SF	5,343	12.273	3.783	1.469	0.672	0.673	0.001
SH	54	5.727	3.763	1.434	0.785	0.717	-0.094
TE	1,269	9.000	3.221	1.375	0.674	0.667	-0.011
VA	340	8.273	3.777	1.495	0.732	0.715	-0.024
ZW	609	6.636	3.403	1.292	0.649	0.641	-0.009

AL – Alpine; BE – Berrichon du Cher; CA – Cameroon; CF – Clun Forest; DP – Dorper; EF – East Frisian; GB – German Black-headed; GG – German Grey Heath; HA – Hampshire; CH – Charollais; JA – Jacob; KE – Kent; KH – Kerry Hill; LE – Lein; LA – Lacaune; ML – Merinolandschaf; OD – Oxford Down; OU – Ouessant; RO – Romanov; SU – Sumava; SD – Skudde; SH – Shetland; SF – Suffolk; VA – Valachian; TE – Texel; ZW – Zwartbles

The average F_{IT} value (0.146) showed the prevalence of homozygotes in the analysed dataset (Table 3). However, the F_{IS} values indicated that at the intra-population level most of the breeds were not significantly affected by inbreeding (mean $F_{IS} = -0.025$) (Table 2). Only six breeds (CA, GG, CH, OU, RO, and SF) showed a slight deficiency of heterozygotes, with CA exhibiting the strongest decrease of heterozygosity ($F_{IS} = 0.036$) (Table 2). Such value close to zero could be hardly considered as inbreeding. More interesting is that most of the F_{IS} values were negative (Table 2), similarly to the study of Niu et al. (2012). This point to prevailing outcrossing within breeds.

The genetic differences among breeds were quite remarkable, according to average F_{ST} (0.168) and G_{ST} (0.164) (Table 3). Individual variation affected 83.2% of total diversity, and 16.8% of genetic similarity was caused by inter-population reduction in heterozygosity. Genetic differentiation among the analysed breeds was higher than that reported in five Moroccan sheep breeds (3.6%; Gaouar et

al., 2016), Saudi Arabia sheep (3.6 %; Mahmoud et al., 2020), three Colombian indigenous sheep (5.4 %; Ocampo et al., 2017) and 10 Iranian fat-tailed breeds (2 %; Vahidi et al., 2016). Our results are similar to values reported for breeds reared in Kosovo and Albania (13.9 %; Hoda and Bytyqi, 2017), Namaqua Afrikaner sheep from South Africa (10.6 %; Qwabe et al., 2013), or to a comparative study focused on Punjab Urial sheep (15.9 %; Pichler et al., 2017).

Table 3 Wright's F statistics and Nei's G_{ST}

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	G_{ST}
CSRD247	-0.017	0.224	0.237	0.234
D5S2	-0.035	0.122	0.152	0.148
INRA005	-0.003	0.160	0.163	0.159
INRA063	-0.032	0.127	0.154	0.151
MAF065	-0.030	0.139	0.164	0.161
MAF209	-0.030	0.136	0.161	0.157
MAF214	-0.018	0.162	0.177	0.174
MCM527	-0.030	0.139	0.164	0.161
OARCP049	-0.032	0.134	0.160	0.157
OARFCB020	-0.029	0.106	0.131	0.128
SPS115	-0.025	0.161	0.181	0.178
Mean	-0.026	0.146	0.168	0.164
Standard error	0.003	0.009	0.008	0.025

Table 5 Comparison of pairwise F_{ST} between the same breeds in the present study (CZ) and in the Hungarian study (HU) of Neubauer et al. (2015)

Breeds	CZ	HU
CH vs. LA	0.047	0.730
CH vs. ML	0.058	0.118
CH vs. GB	0.052	0.076
CH vs. SF	0.054	0.084
CH vs. TE	0.059	0.149
LE vs. ML	0.082	0.067
LE vs. GB	0.050	0.051
LE vs. SF	0.052	0.066
LE vs. TE	0.060	0.071
ML vs. GB	0.041	0.094
ML vs. SF	0.054	0.099
ML vs. TE	0.063	0.122
GB vs. SF	0.049	0.052
GB vs. TE	0.054	0.096
SF vs. TE	0.065	0.111

GB – German Black-headed; CH – Charollais; LA – Lacaune; LE – Lein; ML – Merinolandschaf; SF – Suffolk; TE – Texel

Pairwise F_{ST} values among all breeds are reported in Table 4 (see page 46). The F_{ST} showed that, overall, LA, SU, and ML are less distinctive than any other breed. Neubauer et al. (2015) studied genetic diversity of CH, LA, ML, GB, SF, and TE breeds based on STR markers and they reported

different genetic relationships among breeds compared to our study (e.g. CH vs. TE). A full comparison is provided in Table 5.

According to Nei's genetic distances (Table 4, see page 45), the highest genetic similarity was found between ML and LA breeds (0.179), while the genetically most distant breeds were ZW and CA (1.838). The CA seems the most distant to other breeds followed by SD, OU and DP. However, results should be interpreted with caution because some genotypes were missing (8 % in KH, locus D5S2; 25 % in OU, locus MCM527; 25 % SU, locus MCM527). Jawasreh et al. (2018) observed similar genetic distances for SF vs. RO (0.42), but different for CH vs. SF (0.41) and RO vs. CH (0.24). Nevertheless, this could be caused by a partially divergent set of STR markers.

4 Conclusions

In summary, this study through 11 highly polymorphic STR markers revealed good genetic management in most of the studied sheep breeds. Negative values of Wright's fixation indexes indicated breeding of genetically distant animals or exchange of unrelated individuals between populations and farms. Only CA, GG, CH, OU, RO, and SF breeds deviated from this scheme. For these populations, it would be beneficial to reconsider existing breeding schemes or introduce genetic material from abroad. Analysed breeds were genetically distinguishable from each other. However, some of them (LA, SF, and ML) exhibited a high level of similarity. Generally, the monitored breeds showed sufficient genetic variability that reflects correct breeding practices in particular farms. However, it is necessary to consider that the genotyping data come from parentage testing (production of breeding rams), which may bias the overall view on the gene pool of selected breeds in the Czech Republic.

Acknowledgements

This study was supported by the Czech University of Life Sciences, Prague (Project No. SV19-07-21360).

References

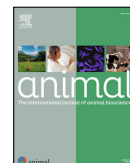
- Bravo, S. et al. (2019). Genetic diversity and phylogenetic relationship among araucana creole sheep and Spanish sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 172, 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.01.007>
- Chessa, B. et al. (2009). Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*, 324(5926), 532–536. <https://doi.org/10.1126/science.1170587>
- Faigl, V. et al. (2012). Artificial insemination of small ruminants - A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 60(1), 115–129. <https://doi.org/10.1556/AVet.2012.010>
- FAO. (2007). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Edited by D. P. Barbara Rischkowsky. Rome, Italy.
- FAO. (2020). Domestic Animal Diversity Information System. Retrieved from <http://www.fao.org/dad-is/transboundary-breed/en/>
- Gaouar, S. B. S., Kdidi, S. and Ouragh, L. (2016). Estimating population structure and genetic diversity of five Moroccan sheep breeds by microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 144, 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.07.021>
- Hennink, S. and Zeven, A. C. (1990). The interpretation of Nei and Shannon-Weaver within population variation indices. *Euphytica*, 51(3), 235–240. <https://doi.org/10.1007/BF00039724>
- Hoda, A. and Bytyqi, H. (2017). Genetic diversity of sheep breeds from Albania and Kosova by microsatellite markers and mtDNA. *Albanian Journal of Agricultural Science*, 13-17.
- Jawasreh, K. et al. (2018). Genetic diversity and population structure of local and exotic sheep breeds in Jordan using microsatellites markers. *Veterinary World*, 11(6), 778–781. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.778-781>
- Jyotsana, B. et al. (2010). Genetic features of Patanwadi, Marwari and Dumba ssheep breeds (India) inferred by microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 93(1), 57–60. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.03.008>
- Kalinowski, S. T., Taper, M. L. and Marshall, T. C. (2007). Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16(5), 1099–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2007.03089.x>

- Loukovitis, D. et al. (2016). Genetic diversity of Greek sheep breeds and transhumant populations utilizing microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 136, 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.02.008>
- Mahmoud, A. H. et al. (2020). Genetic variability of sheep populations of Saudi Arabia using microsatellite markers. *Indian Journal of Animal Research*, 54(4), 409–412. <http://dx.doi.org/10.18805/ijar.B-775>
- Moravčíková, N. et al. (2016). Genetic diversity of Old Kladruber and Nonius horse populations through microsatellite variation analysis. *Acta Agriculturae Slovenica*, Supplement 5, 45–49.
- Naqvi, A. N. et al. (2017). Assessment of genetic diversity and structure of major sheep breeds from Pakistan. *Small Ruminant Research*, 148, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.12.032>
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583–590.
- Neubauer, V. et al. (2015). Genetic diversity and population structure of Zackel sheep and other Hungarian sheep breeds. *Archives Animal Breeding*, 58(2), 343–50. <https://doi.org/10.5194/aab-58-343-2015>
- Niu, L. L. et al. (2012). Genetic variability and individual assignment of Chinese indigenous sheep populations (*Ovis aries*) using microsatellites. *Animal Genetics*, 43(1), 108–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02212.x>
- Ocampo, R. J. et al. (2017). Genetic characterization of Colombian indigenous ssheep. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 30(2), 116–25. <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rccp.v30n2a03>
- Othman, O. E. M. et al. (2016). Sheep diversity of five Egyptian breeds: Genetic proximity revealed between desert breeds: Local sheep breeds diversity in Egypt. *Small Ruminant Research*, 144, 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.10.020>
- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539. <https://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Peakall, R. and Smouse, P. E. (2006). Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6(1), 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Peter, C. et al. (2007). Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern ssheep breeds. *Animal Genetics*, 38(1), 37–44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2007.01561.x>
- Pichler, R. et al. (2017). Short tandem repeat (STR) based genetic diversity and relationship of domestic sheep breeds with primitive wild Punjab Urial sheep (*Ovis vignei punjabiensis*). *Small Ruminant Research*, 148, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.12.024>
- Qwabe, S. O., van Marle-Köster, E. and Visser, C. (2013). Genetic diversity and population structure of the endangered Namaqua Afrikaner ssheep. *Tropical Animal Health and Production*, 45(2), 511–516. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0250-x>
- Raoul, J. and Elsen, J.-M. (2020). Effect of the rate of artificial insemination and paternity knowledge on the genetic gain for French meat sheep breeding programs. *Livestock Science*, 232, 103932. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103932>
- Raymond, M. and Rousset, F. (1995). GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86(3), 248–249. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
- Rousset, F. (2008). Genepop'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8(1), 103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Taberlet, P. et al. (2008). Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology*, 17(1), 275–284. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2007.03475.x>
- Tolone, M. et al. (2012). Genetic diversity and population structure of Sicilian sheep breeds using microsatellite markers. *Small Ruminant Research*, 102(1), 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.010>
- Vahidi, S. M. F. et al. (2016). Multilocus genotypic data reveal high genetic diversity and low population genetic structure of Iranian indigenous sheep. *Animal Genetics*, 47(4), 463–470. <https://doi.org/10.1111/age.12429>
- Weir, B. S. and Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6), 1358–1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>

Table 4 Values of F_{ST} (below diagonal) and Nei's genetic distance (above diagonal). AL - Alpine; BE - Berrichon du Cher; CA - Cameroonian; CF - Clun Forest; DP - Dorper; EF - East Friesian; GB - German Black-headed; GG - German Grey Heath; HA - Hampshire; CH - Charollais; JA - Jacob; KE - Kent; KH - Kerry Hill; LE - Lein; LA - Lacauze; ML - Merinolandschaf; OD - Oxford Down; OU - Ouessant; RO - Romanov; SU - Sumava; SD - Skudde; SH - Shetland; SF - Suffolk; VA - Valachian; TE - Texel; ZW - Zwartbles

	AL	BE	CA	CF	DP	EF	GB	GG	HA	CH	JA	KE	KH	LE	LA	ML	OD	OU	RO	SU	SD	SF	SH	TE	VA	ZW	
AL	0.000	0.473	1.013	0.511	0.671	0.694	0.426	0.424	0.449	0.511	0.463	0.546	0.768	0.629	0.418	0.415	0.618	0.601	0.584	0.488	0.785	0.491	0.447	0.428	0.532	0.610	AL
BE	0.085	0.000	0.790	0.487	0.691	0.573	0.387	0.528	0.422	0.522	0.592	0.518	0.626	0.522	0.360	0.320	0.555	0.832	0.427	0.408	0.740	0.577	0.460	0.399	0.606	0.670	BE
CA	0.184	0.162	0.000	0.905	0.738	0.828	0.949	0.395	0.997	1.025	0.771	0.844	0.686	1.117	0.667	0.522	0.948	1.173	0.715	0.604	0.733	0.934	0.796	1.069	0.661	1.838	CA
CF	0.089	0.089	0.182	0.000	0.706	0.517	0.362	0.447	0.447	0.540	0.690	0.547	0.625	0.403	0.366	0.390	0.444	0.766	0.404	0.501	0.718	0.527	0.559	0.508	0.554	0.537	CF
DP	0.117	0.122	0.172	0.129	0.000	0.570	0.482	0.643	0.696	0.578	0.700	0.714	0.870	0.663	0.544	0.452	0.515	0.930	0.625	0.469	1.029	0.633	0.624	0.555	0.657	0.762	DP
EF	0.132	0.121	0.201	0.113	0.140	0.000	0.342	0.522	0.394	0.432	0.447	0.536	0.619	0.386	0.379	0.500	0.530	0.710	0.364	0.448	0.657	0.282	0.707	0.369	0.359	0.454	EF
GB	0.071	0.067	0.171	0.066	0.092	0.084	0.000	0.414	0.253	0.285	0.453	0.495	0.402	0.405	0.299	0.258	0.315	0.582	0.330	0.353	0.789	0.246	0.349	0.298	0.433	0.393	GB
GG	0.068	0.082	0.101	0.073	0.110	0.106	0.063	0.000	0.404	0.447	0.541	0.473	0.485	0.550	0.270	0.294	0.673	0.525	0.345	0.376	0.496	0.425	0.346	0.632	0.416	0.774	GG
HA	0.074	0.075	0.177	0.078	0.127	0.089	0.046	0.062	0.000	0.285	0.509	0.422	0.728	0.346	0.313	0.384	0.353	0.500	0.431	0.366	0.522	0.192	0.411	0.368	0.458	0.403	HA
CH	0.083	0.088	0.182	0.089	0.109	0.089	0.052	0.068	0.049	0.000	0.456	0.410	0.546	0.351	0.290	0.378	0.383	0.524	0.439	0.317	0.760	0.292	0.488	0.335	0.501	0.413	CH
JA	0.091	0.116	0.173	0.126	0.142	0.110	0.091	0.096	0.095	0.087	0.000	0.443	0.668	0.428	0.405	0.498	0.565	0.686	0.515	0.318	0.736	0.394	0.550	0.397	0.346	0.590	JA
KE	0.086	0.088	0.166	0.089	0.122	0.104	0.079	0.070	0.067	0.062	0.084	0.000	0.663	0.530	0.249	0.350	0.459	0.555	0.498	0.317	0.578	0.355	0.466	0.460	0.385	0.544	KE
KH	0.142	0.128	0.162	0.131	0.168	0.151	0.090	0.098	0.133	0.113	0.142	0.124	0.000	0.697	0.437	0.315	0.572	0.903	0.583	0.547	1.071	0.589	0.538	0.755	0.421	0.890	KH
LE	0.114	0.104	0.217	0.086	0.143	0.094	0.083	0.098	0.069	0.068	0.098	0.093	0.150	0.000	0.340	0.445	0.423	0.797	0.490	0.366	0.624	0.294	0.632	0.350	0.478	0.411	LE
LA	0.066	0.063	0.136	0.063	0.096	0.080	0.050	0.042	0.051	0.047	0.076	0.040	0.091	0.067	0.000	0.179	0.371	0.552	0.380	0.336	0.421	0.297	0.373	0.369	0.329	0.467	LA
ML	0.063	0.055	0.114	0.065	0.081	0.098	0.041	0.042	0.058	0.058	0.087	0.054	0.070	0.082	0.027	0.000	0.344	0.610	0.350	0.344	0.677	0.320	0.402	0.404	0.378	0.531	ML
OD	0.100	0.095	0.175	0.083	0.108	0.117	0.057	0.093	0.064	0.068	0.107	0.076	0.114	0.088	0.061	0.054	0.000	0.786	0.492	0.379	0.980	0.332	0.664	0.282	0.503	0.440	OD
OU	0.103	0.130	0.205	0.123	0.157	0.144	0.094	0.086	0.087	0.090	0.127	0.093	0.158	0.139	0.086	0.089	0.121	0.000	0.650	0.490	1.099	0.481	0.751	0.695	0.723	0.657	OU
RO	0.092	0.077	0.157	0.073	0.116	0.084	0.058	0.057	0.072	0.071	0.097	0.077	0.118	0.094	0.060	0.056	0.085	0.106	0.000	0.403	0.740	0.447	0.523	0.446	0.515	0.590	RO
SD	0.068	0.064	0.120	0.074	0.084	0.090	0.051	0.048	0.052	0.047	0.062	0.046	0.097	0.069	0.044	0.041	0.057	0.072	0.059	0.000	0.651	0.377	0.365	0.255	0.333	0.519	SU
SU	0.129	0.127	0.166	0.129	0.174	0.140	0.128	0.088	0.096	0.120	0.140	0.100	0.184	0.124	0.079	0.105	0.148	0.162	0.122	0.097	0.000	0.601	0.560	0.913	1.160	SD	
SF	0.086	0.101	0.180	0.093	0.127	0.075	0.049	0.071	0.037	0.054	0.083	0.063	0.125	0.065	0.052	0.054	0.062	0.089	0.080	0.059	0.112	0.000	0.517	0.349	0.322	0.308	SF
SH	0.072	0.077	0.152	0.089	0.109	0.131	0.057	0.051	0.066	0.075	0.098	0.071	0.106	0.110	0.056	0.056	0.095	0.109	0.081	0.048	0.100	0.084	0.000	0.549	0.403	0.674	SH
TE	0.075	0.075	0.195	0.088	0.109	0.086	0.054	0.091	0.064	0.059	0.083	0.076	0.142	0.075	0.060	0.063	0.057	0.114	0.076	0.044	0.143	0.065	0.085	0.000	0.454	0.313	TE
VA	0.084	0.095	0.136	0.090	0.115	0.083	0.069	0.061	0.071	0.076	0.071	0.060	0.087	0.091	0.049	0.053	0.079	0.107	0.081	0.046	0.099	0.059	0.062	0.076	0.000	0.668	VA
ZW	0.104	0.116	0.248	0.097	0.147	0.103	0.075	0.113	0.071	0.072	0.114	0.090	0.164	0.082	0.078	0.085	0.085	0.118	0.102	0.079	0.169	0.062	0.108	0.063	0.107	0.000	ZW

4.4 Machová K, Marina H, Arranz JJ, Pelayo R, Rychtářová J, Milerski M, Vostrý L, Suárez-Vega A. 2023. Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *Animal* 17: 100690.



Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms



Karolína Machová^{a,*}, Héctor Marina^b, Juan Jose Arranz^b, Rocío Pelayo^b, Jana Rychtářová^c, Michal Milerski^c, Luboš Vostrý^a, Aroa Suárez-Vega^b

^a Department of Genetics and Breeding, Czech University of Life Sciences (CZU), Prague, Czech Republic, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Kamýcká 129, 165 00 Praha, Suchbátol, Czech Republic

^b Department of Animal Production, University of Leon, Leon, Spain, Veterinary Faculty, Campus de Vegazana, s/n, 24071 Leon, Spain

^c Institute of Animal Science, Prague, Czech republic, Přátelství 815, 104 00 Praha, Uhřetěves, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 August 2022

Revised 22 November 2022

Accepted 24 November 2022

Available online 1 December 2022

Keywords:

Domestic sheep

Genetic variability

Inbreeding

Indigenous breeds

Population structure

ABSTRACT

Wallachian and Sumava sheep are autochthonous breeds that have undergone a significant bottleneck effect and subsequent restoration efforts. The first objective of this study was to evaluate the degree of genetic variability of both breeds and, therefore, the current management of the breeding. The second was to determine whether these two breeds still retain their genetic uniqueness in relation to each other and other breeds, despite regenerative interventions. Our data consisted of 48 individuals of Sumava and 37 individuals of Wallachian sheep. The comparison data contained 25 other breeds (primarily European) from the HapMap dataset generated by the International Sheep Genomics Consortium. When comparing all 27 breeds, the Czech breeds clustered with 15 other breeds and formed a single branch with them according to Nei's distances. At the same time, however, the clusters of both breeds were integral and easily distinguishable from the others when displayed with principal component analysis (PCA). Population substructure analysis did not show any common genetic ancestry of the Czech national breeds and breeds used for regeneration or, eventually, breeds whose ancestral population was used for regeneration. The average values of F_{ST} were higher in Wallachian sheep ($F_{ST} = 0.14$) than in Sumava sheep ($F_{ST} = 0.08$). The linkage disequilibrium (LD) extension per autosome was higher in Wallachian than in Sumava sheep. Consequently, the N_e estimates five generations ago were 68 for Sumava versus 34 for Wallachian sheep. Both native Czech breeds exhibit a wide range of inbreeding based on the excess of homozygosity (F_{HOM}) among individuals, from -0.04 to 0.16 in Sumava and from -0.13 to 0.12 in Wallachian. Average inbreeding based on runs of homozygosity was 0.21 in Sumava and 0.27 in Wallachian. Most detected runs of homozygosity (ROH) were less than 5 Mb long for both breeds. ROH segments longer than 15 Mb were absent in Wallachian sheep. Concerning putative selection signatures, a total of 471 candidate genes in Wallachian sheep within 11 hotspots and 653 genes within 13 hotspots in Sumava sheep were identified. Czech breeds appear to be well differentiated from each other and other European breeds. Their genetic diversity is low, especially in the case of the Wallachian breed. Sumava is not so threatened by low diversity but has a larger share of the non-native gene pool.

© 2022 The Author(s). Published by Elsevier B.V. on behalf of The Animal Consortium. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Implications

The genetic diversity of small breeds can be threatened by inbreeding depression and inappropriately performed regeneration. The results of this study show that both breeds retain their genetic differences from the breeds directly used for regeneration or their closely related breeds after more than 50 years since the regenerative interventions. However, at the time, it is clear that this is not a permanent solution for populations of this type. The

breeds are again threatened by inbreeding. This study demonstrates the importance of monitoring genetic variability in small breeds for early intervention in breeding management, which can prevent its further losses.

Introduction

In a worldwide climate-changing scenario, keeping animals adapted to harsh environmental conditions becomes increasingly important. In this sense, local sheep breeds constitute an important genetic resource due to their rusticity and adaptability to various agroecological environments. Despite this, more than 100 local

* Corresponding author.

E-mail address: machovakarolina@af.czu.cz (K. Machová).

breeds of sheep and goats have been lost in the last few decades, and a similar number of them face imminent extinction (FAO, 2022). This phenomenon is mainly caused by the spread of commercial breeds with specialised production, the overuse of a small number of rams (exacerbated by artificial insemination), and modern selection procedures (Kijas et al., 2012a).

In the Czech Republic, Sumava and Wallachian sheep are breeds characterised by their adaptability, resistance to harsh conditions and suitability to extensive management systems in submontane and montane regions (Ptáček et al., 2017). They are breeds with very good grazing ability and walkability. Both breeds have a tripartite efficiency (meat, milk, wool) and are included in the Czech genetic reserves, in the case of Sumava sheep since 1992 and Wallachian sheep since 1999. Sumava sheep has a genetic origin in Czech peasant sheep, but it did not obtain the status of the breed until 1986 (Horák, 2012). Since the second half of the last century, it has been regenerated by crossing with phylogenetically related breeds such as Texel, Cigaya, Lincoln, Kent, Leicester, or Improved Wallachian sheep (Milerski, 2019a). Ancestors Wallachian sheep came to the Czech lands around the 14th century from the Eastern Carpathians. As with the Sumava sheep, the improvement of Wallachian sheep started in the 1950s (Lincoln, East Frisian sheep), which resulted in the emergence of an independent Slovak Improved Wallachian sheep breed. However, in the Czech Republic, the original Wallachian sheep was renewed based on breeding a few individuals with the original phenotype (Milerski, 2019b).

The crucial assumption for preserving local breeds is maintaining their genetic diversity. However, breeding programmes find this challenging because these populations are usually very small, and inbreeding practices cannot be avoided (Liu et al., 2021). The knowledge of the genetic variability, historical development and kinship in the population is crucial for their conservation. For Wallachian and Sumava sheep, previous studies have analysed within-breed genetic variability using pedigree and microsatellite information (Machová et al., 2021, 2020). Nowadays, the availability of medium- and high-density single nucleotide polymorphism (SNP) arrays provides an opportunity to accurately investigate genetic variability at the molecular level through the evaluation of genome-wide linkage disequilibrium (LD) extension (Chitneedi et al., 2017; García-Gómez et al., 2012; Getachew et al., 2020), effective population size (N_e) (Chitneedi et al., 2017; Pasandideh et al., 2020) and homozygosity analysis (Chitneedi et al., 2017; Dzomba et al., 2021; Getachew et al., 2020). In livestock genetics, runs of homozygosity (ROH) regions, consisting of continuous homozygous loci assumed to originate from the same ancestor, are commonly used for inbreeding detection (Addo et al., 2021; Rodríguez-Ramilo et al., 2019; Signer-Hasler et al., 2019). Long ROH segments indicate recent inbreeding (<5 generations), whereas shorter segments indicate a more historical effect (≤ 50 generations), because of interruption due to recombination (Mastrangelo et al., 2017; Meyermans et al., 2020b). The present study aims to characterise the genetic diversity and inbreeding levels in Sumava and Wallachian sheep using a medium-density (50 K) SNP array and to compare our results with previous estimates based on pedigree and microsatellite markers. Furthermore, these two breeds are compared with other breeds of sheep (Kijas et al., 2012a) to evaluate their relationship. Eventually, the information provided by this study will drive the breeding management of Sumava and Wallachian sheep.

Material and methods

Our dataset contained 85 DNA samples of two Czech indigenous sheep breeds, Sumava (48) and Wallachian (37). Individuals were

randomly selected from farms in Northern Moravia and Southwest Czechia, these breeds' most important breeding areas. One individual from each family was selected from each breeding (unrelated individuals). Sumava and Wallachian sheep come from 8 and 10 breedings, respectively. Nasal swaps were collected, which were subsequently processed by the Neogen laboratory. In addition to our original data, 25 different breeds ($n = 1\,028$) from the Sheep HapMap dataset generated by the International Sheep Genomics Consortium (ISGC) were used to know the genetic relationships of our populations with other breeds of sheep, mainly European. The breeds taken from the ISGC dataset were as follows: African Dorper (21), African White Dorper (6), Australian Suffolk (109), Black Headed Mountain sheep (24), Castellana (23), Churra (90), East Friesian Brown (39), East Friesian White (9), Finnsheep (99), German Texel (46), Irish Suffolk (52), Karakas (18), Meat Lacune (78), Merinolandschaf (24), Milk Lacune (103), New Zealand Romney (24), Norduz (20), Old Norwegian Spaelsau (15), Rasa Aragonesa (22), Sakiz (22), Scottish Texel (80), Spael-white (32), Swiss Black-Brown Mountain sheep (24), Swiss White Alpine sheep (24), and Valais Blacknose sheep (24).

Genotyping and quality control

DNA samples corresponding to the Sumava and Wallachian breeds were genotyped using GGP Ovine 50 K SNP bead chip (Neogen) and Illumina GenomeStudio Software v2.0.5, with a total number of 45 205 genotyped SNPs with known positions according to the sheep reference genome Oar_Texel_v4.0. Only SNPs with GC greater than 0.8 were used for further analysis. Quality control of these SNPs was performed with PLINK v1.9 software (Chang et al., 2015; Purcell and Chang, 2019). SNPs with minor allele frequency (MAF) < 0.1, genotyping rate < 0.9 and Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) $P < 10^{-6}$ were excluded. In the second step, individuals with more than 10% of missing genotypes and sex chromosomes were also excluded from the data set.

To make our data mergeable with those obtained from ISGC genotyped on the 50 K Illumina ovine bead chip, it was necessary to use only common SNPs for both chips. We performed an additional quality control procedure to merge both datasets, applying the parameters described previously for Czech breeds, except for the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) threshold, which was increased to $P < 10^{-5}$. Additionally, LD pruning was performed for comparative analysis between breeds. Independent pairwise command parameters were set to the size of the SNP window of 50, the number of SNPs per step 5, and the r^2 threshold to 0.2. Based on these settings, 10 780 SNPs and 1 113 individuals were kept for further analysis.

Linkage disequilibrium

Using the SNPs remaining after the quality control step for Sumava and Wallachian sheep, we used Haploview v4.2 software (Barrett et al., 2005) to calculate LD for each pair of SNPs, using the commands ld-window-kb 1 000 and ld-window-r2 0. In the first step, a comparison among physical distances between pairs of markers was made (<20 kb, 20–40 kb, 40–60 kb, 60–100 kb, 100–200 kb, 200–500 kb, 0.5–1 Mb). In the second step, all pairwise LD combinations of SNPs with a distance smaller than 500 kb apart were computed separately for both breeds and all autosomes. The average LD and average LD of adjacent SNPs across each chromosome were also calculated.

Genetic diversity, inbreeding and effective population size

Genetic diversity within Sumava and Wallachian sheep populations was estimated by calculating the observed heterozygosity

(H_0) and expected heterozygosity (H_E) were computed with PLINK v1.9. The inbreeding coefficient (F_{HOM}) based on observed versus expected heterozygosity was also estimated using PLINK. To compare absolute levels to these relative levels of inbreeding, the inbreeding coefficient based on ROH (F_{ROH}) was also computed with SNP1101 v1.0 (Sargolzaei, 2014). Two different estimates for F_{ROH} were used. The first is based on a comparison of the total length of ROH with the full length of the genotype $F_{ROH/length}$, and the second is based on a proportion of SNPs included in the ROH to the total number of genotyped SNPs $F_{ROH/SNPs}$.

Effective population size (N_e) trends for these breeds were estimated from LD as implemented in SNeP v1.1 (Barbato et al., 2015). This approach of N_e estimation across generations is based on the relationship between LD decline and distance between adjacent markers in the presence of mutations (Corbin et al., 2012):

$$N_{T(t)} = (4f(c_t))^{-1} (E[r_{adj}^2 | c_t]^{-1} - \infty),$$

where $N_{T(t)}$ is the effective population size t generations ago computed as $t = (2f(c_t))^{-1}$ (Hayes et al., 2003), and c_t is the specific recombination rate for a certain physical distance between the SNPs. For this study, Sved and Feldman's approximation was used (Sved and Feldman, 1973) for the recombination rate modification. r_{adj}^2 is the LD adjusted for sampling bias, and α is a constant correcting the occurrence of mutations. For our analysis, values of minor allele frequency (MAF) and α were set to 0.1 and 2.2, respectively, as investigated by (Corbin et al., 2012). To make our outputs more comparable to previous studies, the maximum distance between SNPs was set at 10 Mb to estimate N_e since the fifth generation (Addo et al., 2021; Deniskova et al., 2019; Liu et al., 2021; Mastrangelo et al., 2017). An adjustment of r^2 was also performed due to the limited sample size.

Population differentiation, principal component analysis, and model base structure

The pairwise F_{ST} matrix (Weir and Cockerham, 1984) among all 27 populations was calculated using HIERFSTAT (Goudet, 2005) in R (R Core Team, 2020). Genetic relatedness based on a variance-standardised relationship matrix was used to perform a principal component analysis (PCA).

The neighbour-joining trees were modelled based on Nei's distance matrix computed and visualised in R. SNPs without genomic information in at least one sample were removed (847 SNPs). The number of clusters was selected according to the lowest value of the Bayes information criterion.

Taking into account the expected historical admixture of the Czech autochthonous breeds (Sumava and Wallachian) with the East Friesian White and Brown, German Texel, and New Zealand Romney breeds, we selected these six populations to investigate their admixture and their genetic structure with ADMIXTURE v1.3.0 (Alexander et al., 2009). The most probable number of clusters (K) in the data set was obtained using the default cross-validation procedure based on the estimation of the prediction errors for each K (Alexander and Lange, 2011).

Runs of homozygosity analysis

The identification of ROH for Sumava and Wallachian sheep was carried out with the PLINK v1.9 program. The settings were as follows: minimum length of ROH – 1 Mb; maximum missing SNPs in ROH per window – 2; maximum heterozygous SNPs per window – 1; minimum scanning window hit rate – 0.05; the maximum gap between adjacent SNPs and minimum SNP density per ROH was set as in Abied et al. (2020) – 250 kb and 70 kb, respectively; scanning window and minimum number of SNPs in ROH (l) were 18 kb

for both, as recommended by (Meyermans et al., 2020a). Our value 18 of the minimum number of SNPs (l) was calculated according to the formula (Purfield et al., 2017), originally proposed by (Lencz et al., 2007), to minimise false-positive ROH:

$$l = \log_e(\infty / n_s \times n_i) / (\log_e(1 - het))$$

where n_s is the number of genotyped SNPs per individual; n_i is the number of genotyped individuals of the breed; ∞ (set for our study at 0.05) means the percentage of false-positive ROH, and het is the mean heterozygosity computed for all SNPs. Values after the first pruning were substituted. The same value was obtained for both Wallachian and Sumava sheep.

All identified ROH were subdivided into four categories by length (1–5 Mb, 5–10 Mb, 10–15 Mb, >15 Mb). Only the first three categories were needed for the Wallachian sheep. The average density of SNPs and the average number of ROH per individual were estimated for each category, as well as the count of ROH on each chromosome.

For the detection of ROH islands (or ROH hotspots, in other words), an approach based on the percentage of occurrence of SNPs in ROH was chosen. PLINK v1.9 generated output from ROH detection was used for the calculation – the number of certain SNP occurrences divided by the number of animals in each breed. The top 1% of most frequently observed SNPs in ROH were selected as potential genomic regions highly associated with ROH in each breed. SNPs with greater frequency than 1% and a distance \leq 1 Mb between themselves were identified as ROH islands. The number of genes contained in each ROH island was determined in the National Center for Biotechnology Information database (NCBI, 2015) based on the range between the first and last SNPs of each ROH. Additionally, 0.5 Mb was subtracted/added to the chromosome coordinates of these two SNPs to avoid the exclusion of some genes based solely on the mismatch between the physical positions of the SNPs in the Oar_v4.0 genome assembly and our Neogen BeadChip. Only genes with a complete sequence in the given range were considered.

Results

Quality control

Of 45 205 SNPs genotyped in this study, 551 were duplicates, 134 SNPs were not mapped, and 241 were located on sex chromosomes. Thus, 44 654 SNPs mapped onto the 26 sheep autosomes were subjected to quality control. Of the 97 genotyped animals, all individuals had missed less than 10% of their genotype. The number of markers for Sumava removed during quality control was 8 405 SNPs: 1 134 SNPs were deleted due to low call rate (<0.90); 5 737 SNPs did not reach minimum MAF (<0.1); 53 markers were not in HWE ($P < 10^{-6}$). The number of markers for Wallachian removed during quality control was 12 610 SNPs: 1 267 SNPs were deleted due to low call rate (<0.90); 9 819 SNPs did not reach the minimal MAF (<0.1), and 43 markers were not in HWE ($P < 10^{-6}$). The total number of markers used in the Czech breed analysis was 36 249 SNPs in Sumava and 32 044 in Wallachian.

The total dataset for comparison with European breeds was created based on identical SNPs. These 19 634 SNPs were also subjected to quality control. Of the 1 113 genotyped animals, all individuals had less than 10% of their genotype missing and passed the quality control. The number of markers removed during the quality control was 8 148 SNPs: no SNPs were deleted due to the low call rate (<0.90); 100 SNPs did not reach the minimum MAF (<0.1); additional 8 048 markers were not in HWE ($P < 10^{-5}$).

Subsequently, LD pruning excluded 706 additional SNPs. Therefore, 10 780 SNP markers were kept for further analysis.

Linkage disequilibrium

The LD decay for both studied breeds is presented in Fig. S1. Autosomal SNP pairs were sorted into 20 kb bins according to their increasing mutual distance. Then, an average value of r^2 was calculated for each bin and plotted as a function of the genomic distance between markers (SNPs). The shortest distances (up to 120 kb, where ended the sharpest decrease) showed the highest r^2 according to expectations. r^2 reached a value of 0.59 in the first bin 0–20 kb in Sumava sheep; between 100 and 120 kb, it was 0.37 and only 0.27 in the last bin. Wallachian sheep had overall higher values of r^2 , which started at 0.66 in the first bin, followed by a value of 0.45 between 100 and 120 kb and ended with 0.33 at 5 Mb. The decrease in r^2 and D' values depending on the physical distance of the marker pairs in both breeds is shown in Table S1.

Higher levels of average LD per autosome were observed in Wallachian than in Sumava sheep for all and adjacent SNPs. Overall average values of r^2 and D' in Wallachian sheep led in the intervals of 0.15–0.22 and 0.56–0.67, respectively. In Sumava sheep, these intervals were 0.08–0.17 for the coefficient r^2 and 0.37–0.53 for the coefficient D' . Furthermore, chromosome 6 reached a significantly higher level of LD in the Sumava breed compared to the other autosomes included in the analysis. However, the Wallachian breed did not show statistical differences in LD between autosomes. Table S2 compares the average values of LD on each chromosome for all SNP pairs and adjacent SNP pairs in both breeds.

Genetic diversity and effective population size for Sumava and Wallachian sheep

In the Sumava breed, 36 249 filtered loci with 96% polymorphic SNPs remained on average. This value was significantly lower in Wallachian sheep – only 74%. Furthermore, the observed heterozygosity (H_O) and the expected heterozygosity (H_E) were slightly higher in Sumava than in Wallachian sheep. Sumava showed $H_O = 0.42 \pm 0.11$ and $H_E = 0.43 \pm 0.08$. In the Wallachian sheep, $H_O = 0.41 \pm 0.12$ and $H_E = 0.40 \pm 0.09$. A total of 466 loci in the Sumava and 255 loci in the Wallachian breed deviated significantly from HWE ($P < 0.01$).

An estimation of the effective population size (N_e) of both breeds is depicted in Fig. 1. As expected, Sumava sheep had larger N_e for all displayed generations than Wallachian sheep but suffered approximately a steeper decline between the 60th and 600th generation. In the most recent time frame (five generations ago), the Sumava breed had $N_e = 68$, and the Wallachian breed had $N_e = 34$.

Runs of homozygosity in Sumava and Wallachian sheep

There were 1 886 ROH in total in the Sumava breed and 1 995 ROH in the Wallachian breed. The distribution of ROH across all chromosomes is shown in Fig. S2A and B for Sumava and Wallachian sheep, respectively. Most detected ROH were less than 5 Mb long for both breeds. On average, the ROH of the Sumava sheep were longer than that of the Wallachian and reached even larger absolute lengths. However, Wallachian sheep showed ROH longer on average in the categories 5–10 Mb and 10–15 Mb. Furthermore, the mean density of SNPs in ROH was comparable in both breeds. All these characteristics are explained in detail in Table 1.

There were no shared ROH islands shared between the Wallachian and Sumava breeds. Regarding the number of genes contained in each ROH island ± 0.5 Mb, a total of 471 candidate genes were identified in Wallachian sheep distributed to 11 hotspots and 653 genes within 13 hotspots in Sumava sheep, as shown in Table S3. The SNPs within the ROH hotspots above the 1% threshold for Sumava and Wallachian sheep are shown in Fig. 2.

Inbreeding in Sumava and Wallachian sheep

The average inbreeding values for both Czech breeds are shown in Table 2. Both breeds exhibit a wide range of inbreeding (F_{HOM}) among individuals, from – 0.04 to 0.16 in Sumava and from – 0.13 to 0.12 in Wallachian (data not shown). Values obtained from F_{ROH} were much higher on average, reaching 21% in Sumava and 27% in Wallachian sheep (data not shown). Based on the proportion of SNPs in ROH ($F_{ROH/SNPs}$), the inbreeding estimate reached, on average, slightly higher values than the one that considered their length ($F_{ROH/length}$). Inbreeding based on the excess of homozygosity mainly had very low to negative values, despite the presence of animals with relatively high F_{HOM} in the dataset.

PCA results are shown in Fig. 3. The principal components 1, 2 and 3 explained 24.4, 19.11 and 18.6%, respectively, of the total

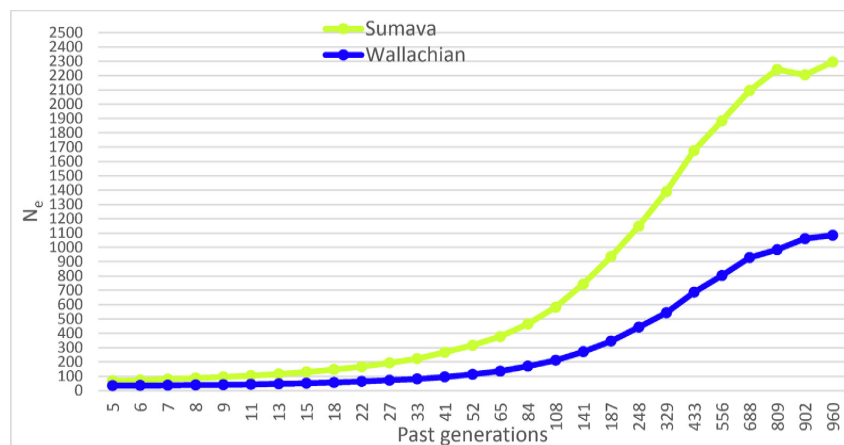


Fig. 1. Estimates of the effective population size (N_e) for Sumava and Wallachian sheep for 5–960 generations ago.

Table 1
Descriptive statistics for ROH in Sumava and Wallachian sheep.

	N ROH	Mean density	ROH/individual	Mean ROH length (b)
Sumava				
1–5 Mb	1 626	58.839	21.021	2 913 387
5–10 Mb	234	61.066	3.271	2 951 468
10–15 Mb	23	59.575	0.313	3 036 947
15–20 Mb	3	48.874	0.042	6 369 466
Total	1 886	59.109	24.646	2 925 116
Wallachian				
1–5 Mb	1 873	60.264	18.541	2 448 172
5–10 Mb	104	61.178	0.919	2 288 401
10–15 Mb	18	57.635	0.270	2 305 839
Total	1 995	60.288	18.541	2 438 559

Abbreviations: ROH = runs of homozygosity.

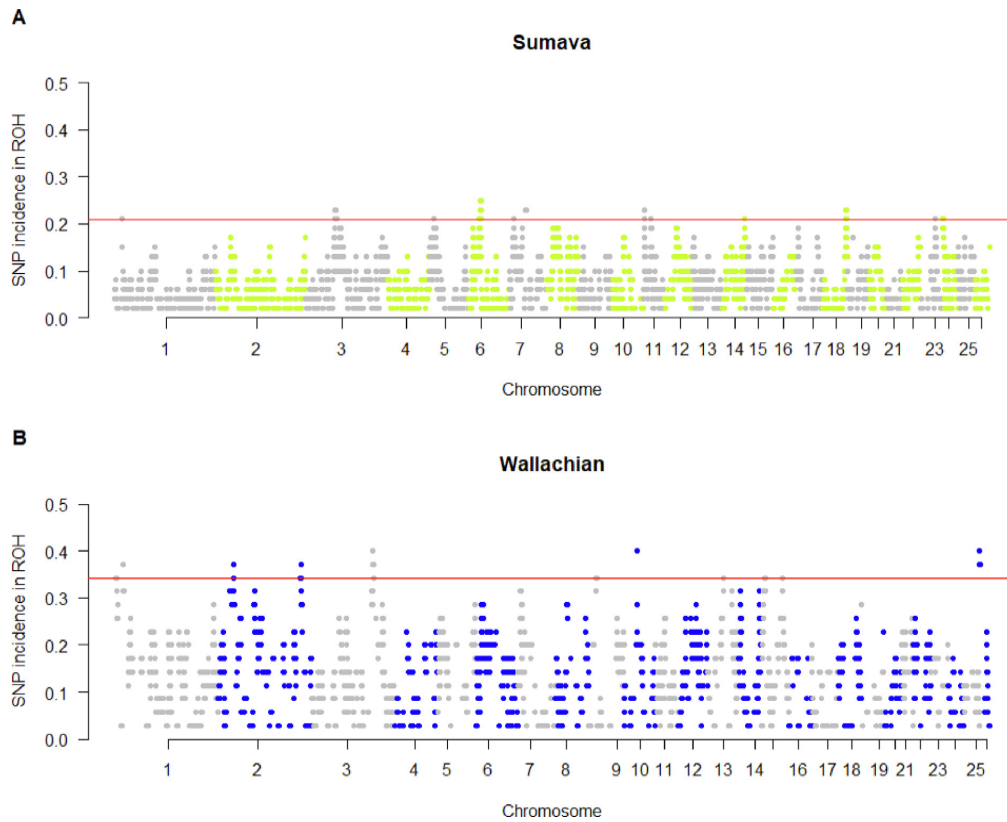


Fig. 2. Runs of homozygosity (ROH) hotspots lie above the redline representing a 1% threshold of SNPs incidence in the total number of ROH: (A) 0.208 for Sumava sheep and (B) 0.343 for Wallachian sheep.

Table 2
Comparison of two types of inbreeding in Sumava and Wallachian sheep.

Breed	$F_{HOM} \pm SD$	$F_{ROH/length} \pm SD$	$F_{ROH/SNPs} \pm SD$
Sumava	0.01 ± 0.039	0.06 ± 0.037	0.07 ± 0.036
Wallachian	-0.02 ± 0.059	0.14 ± 0.045	0.14 ± 0.048

Abbreviations: ROH = runs of homozygosity; F_{HOM} = coefficient of inbreeding based on the excess of homozygosity; $F_{ROH/length}$ = coefficient of inbreeding based on ROH length; $F_{ROH/SNPs}$ = coefficient of inbreeding based on the proportion of SNPs in ROH.

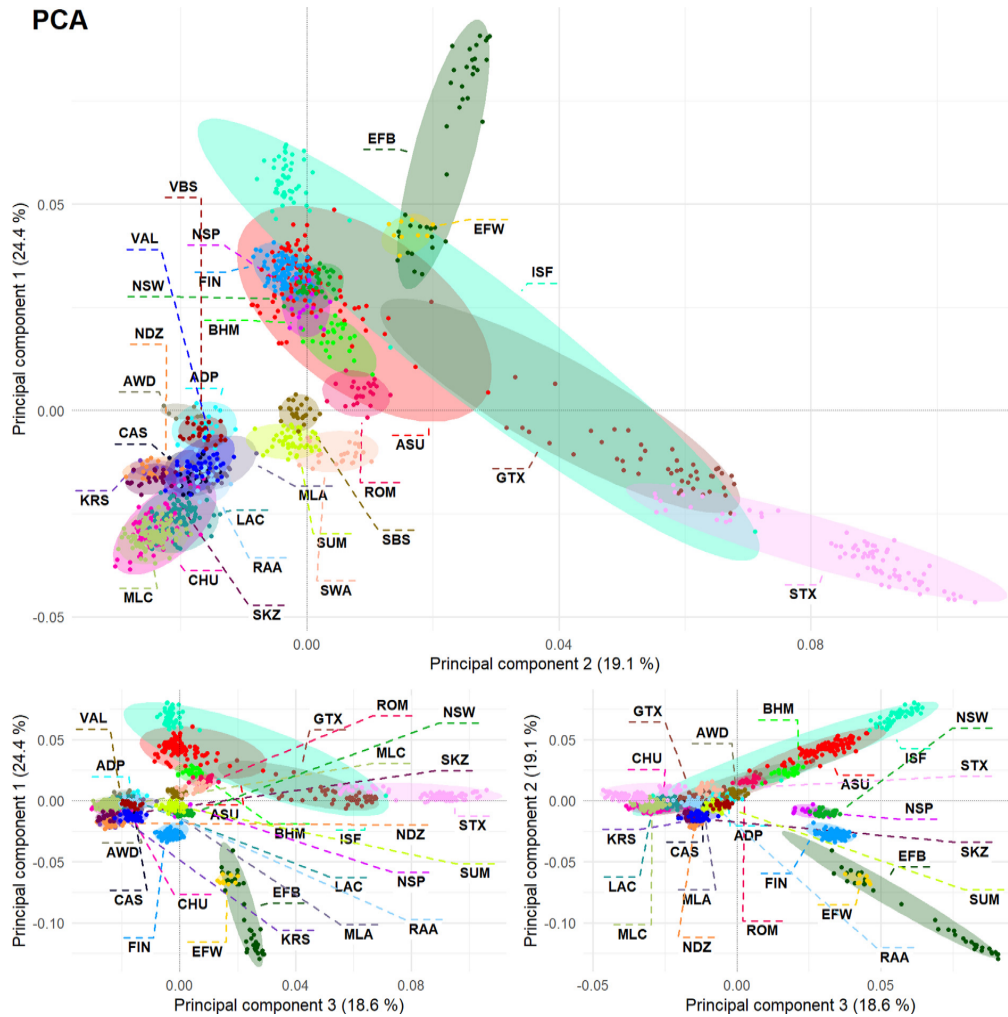


Fig. 3. Results of the principal component analysis based on a variance-standardised relationship matrix performed on the 27 sheep breeds included in this study. Abbreviations: ADP = African Dorper; AWD = African White Dorper; ASU = Australian Suffolk; BHM = Black Headed Mountain sheep; CAS = Castellana; CHU = Churra; EFB = East Friesian Brown; EFW = East Friesian White; FIN = Finnsheep; GTX = German Texel; ISF = Irish Suffolk; KRS = Karakas; MLC = Meat Lacaune; MLA = Merinolandschaf; LAC = Milk Lacaune; ROM = New Zealand Romney; NDZ = Norduz; NSP = Old Norwegian Spaelsau; RAA = Rasa Aragonesa; SKZ = Sakiz; STX = Scottish Texel; NSW = Spaelwhite; SUM = Sumava sheep; SBS = Swiss Black-Brown Mountain sheep; SWA = Swiss White Alpine sheep; VAL = Wallachian sheep; VBS = Valais Blacknose sheep.

variation associated with breed distinctiveness according to their variance-standardised relationship. Sumava and Wallachian sheep tend to group with Sakiz, African Dorper, African White Dorper, Karakaz, Norduz, Valais Blacknose sheep, German Texel, New Zealand Romney, Swiss Black-Brown Mountain sheep, Swiss White Alpine sheep, Merinolandschaf, Meat Lacaune and Castellana.

Values of the fixation index were computed for each pair of breeds. The resulting matrix of relative genetic distinctiveness is displayed in Table S4. The most different breeds, according to the average of the F_{ST} values, seemed to be both African Dorpers and both breeds of East Friesian sheep, followed by Sakiz, Wallachian sheep, and Valais Blacknose sheep. In contrast, Sumava sheep showed low differentiation from Rasa Aragonesa, Castellana, Australian Suffolk and both Lacaune populations. The highest F_{ST} values were observed when comparing African Dorper with East

Friesian White and East Friesian Brown sheep – $F_{ST} = 0.215$ and $F_{ST} = 0.213$, respectively. The smallest difference ($F_{ST} = 0.022$) was found between Milk and Meat Lacaune.

Fig. 4 shows the clustering of populations by neighbour-joining trees based on Nei's genetic distances among individuals when comparing 15 (Fig. 4A) and 6 (Fig. 4B) breeds, respectively. The 15 breeds are those that cluster together in PCA analysis. The six populations are those that, based on historical information, have an expected relationship to Czech autochthonous breeds. The graphical representation of the entire data set (27 populations) includes six clusters and is depicted in Fig. S3. In the last graph, German Texel and Scottish Texel clustered together, Norduz with Finnsheep and the two Spaels. Individual branches were observed for both Suffolks and the two East Friesian populations. The rest of the included breeds remained undistinguished. For the 15 selected

breeds, only three populations made their own branches: German Texel, Valachian Blacknose, and Wallachian sheep. Sakiz, African Dorpers, Karacas and Norduz created another cluster and the remaining 7, the last one. The smallest dendrogram focused on six breeds and consisted of only two multibreed branches. Sumava and New Zealand Romney shared one of these clusters, and the second was composed of both breeds of East Friesian sheep.

Model-based structure analysis

For population structure analysis (Fig. 5), the same six breeds were chosen as for Fig. 4B. The most likely number of clusters was $K = 7$. The common pattern of genetic ancestry showed only East Friesian Brown and White; the rest of the breeds clustered separately. A minor admixture of New Zealand Romney could be found in Sumava and German Texel.

Discussion

The conservation of livestock genetic resources constitutes a challenging mission, even more so for breeds with limited population size in a country where sheep farming constitutes only a minority of livestock production. Regular evaluation of the results of these efforts is therefore desirable. This study builds on two previous studies dealing with indigenous breeds of Czech sheep (Machová et al., 2021, 2020). It provides the first overview of their population structure and diversity based on SNP analysis. To obtain a global context for our data, the 25 breeds of the ISGC database were used to assess genetic similarity and the possible relation between two Czech autochthonous breeds and other European breeds. The number of samples represents 0.5–1% of the studied populations. Due to the small population size of both breeds and the selection of unrelated individuals, it is a sufficient amount for the given type of genetic diversity type, and it is in agreement with other published studies in other indigenous breeds (Ben Jemaa et al., 2019; Eydivandi et al., 2020; Kumar et al., 2018; Mukhina et al., 2022).

Sumava sheep had overall lower levels of inbreeding than Wallachian sheep, which agrees with our previous results (Machová et al., 2021, 2020). This could be due to its larger population or/and regeneration efforts, which were more intensive than in Wallachian sheep. High levels of F_{HOM} are caused by animals with heterozygosity higher than randomly expected at the genome-wide level. No correlation between F_{HOM} and F_{ROH} observed by other authors (Ghoreishifar et al., 2020; Zhang et al., 2015) was found in our data. F_{ROH} as the absolute rate of inbreeding, reflected comparable levels of inbreeding in Sumava with those found in Ovino delle Langhe (0.052), Valle del Belice (0.067), and Sopravisana (0.052) studied by Persichilli et al. (Persichilli et al., 2021). Similar results were found in the Swiss indigenous breeds Bundner Oberlander (0.615), Swiss Black-Brown Mountain (0.641), and Swiss Mirror sheep (0.762) (Signer-Hasler et al., 2019). While the inbreeding rate in Sumava can be classified as a better average among autochthonous breeds, Wallachian sheep are among those with higher values. When we compare our results with the Polish Olkuska breed, F_{ROH} values 0.096, 0.124, and 0.082 found for three sub-populations of this breed are higher than in Sumava but lower than in Wallachian (Sobieraj-Kmieciak et al., 2020). In other Polish breeds, the F_{ROH} values were similar to those obtained from Wallachian: Świniarka (0.17), Wrzosówka (0.10) and Polish Merino of Colored Variety (0.15) (Gurgul et al., 2021).

The identification of specific ROH showed, in some respects contrasting results with the mean values of inbreeding. Even though the Wallachian showed higher values of inbreeding, including the one based on ROH, the average number of ROH per individ-

ual was higher in the Sumava sheep. In addition, the average length in Sumava reached 2.9 Mb, while Wallachian was only about 2.4 Mb. Animals from the Sumava breed also had more ROH than those from the Wallachian breed. Thus, these results suggest that while Wallachian ROH estimates are mainly products of the distant past, Sumava length ROH indicate a relatively recent inbreeding, which could have happened approximately three generations ago, according to cattle estimates (Ferenčaković et al., 2013). The ROH islands can be used to identify specific selection signatures throughout the breed genome, elucidating the genetic nature of unique breed-specific traits (Liu et al., 2021). Domestication, artificial selection, and environmental influences have shaped these breeds' characteristics for centuries. Both Czech breeds do not share any ROH hotspots, although they came from the same, relatively small state. Nothing like this has been observed in national breeds, even from significantly larger countries such as South Africa (Dzomba et al., 2021), Russia (Yurchenko et al., 2019), China (Liu et al., 2021), and India (Saravanan et al., 2021), where it would be easier to believe a historically separated development. The most probable explanation for the results obtained in Czech breeds will be the insufficient size of the sample, a too strict selection threshold for ROH islands, or the random selection of genetically very distant individuals.

Sheep generally have lower LD values than other domestic animals, such as cattle, pigs, and dogs (Al-Mamun et al., 2015). In autochthonous Czech breeds, a rapid decline of LD was observed after 25 kb. On average, higher levels of LD were observed in Sumava than in Wallachian sheep. In the context of other breeds, LD levels studied on SNPs distant < 50 kb and on 50 K SNP panel, Sumava belongs to the average, while Wallachian showed high levels of LD. For example, close values to the Sumava's mean r^2 value ($r^2 = 0.1$) were found in Xinjiang type of Chinese Merino ($r^2 = 0.13$) (Liu et al., 2017), Frizarta ($r^2 = 0.09$) (Kominakis et al., 2017), Australian Merino ($r^2 = 0.12$) (Al-Mamun et al., 2015) and Santa Inês ($r^2 = 0.05$) (Alvarenga et al., 2018). Higher levels of LD, like those from Wallachian sheep, are common for local breeds such as Barbaresca ($r^2 = 0.18$) (Nel et al., 2022), Churra ($r^2 = 0.17$), (García-Gómez et al., 2012) or Zandi ($r^2 = 0.18$) (Ghoreishifar et al., 2019). The average r^2 found in Sumava between adjacent SNPs lies somewhere between the values recorded by Zhao et al. (Zhao et al., 2014) in Sunite ($r^2 = 0.12$), German Mutton Merino ($r^2 = 0.20$) and Dorper ($r^2 = 0.22$). However, the values of Sumava are somewhat underestimated from this comparison because the distance between syntenic SNPs in the study of Zhao et al. (Zhao et al., 2014) was shorter (~57 kb) than in ours (~70–80 kb – data not shown). The values among adjacent SNPs in Wallachian were expectedly higher ($r^2 = 0.26$), close to the breeds evaluated on the High-Density SNP chip, like Lamb Supreme ($r^2 = 0.27$), Primera ($r^2 = 0.26$), or Texel ($r^2 = 0.26$) from New Zealand (Brito et al., 2017).

The estimation of historical effective population size (N_e) by the rate of LD decay is a widely spread method of modelling the evolution of genetic diversity of populations (Chitneedi et al., 2017; Liu et al., 2017; Nel et al., 2022; Prieur et al., 2017). The declining trend N_e in both studied breeds is a predictable phenomenon, as both Czech breeds are affected by reducing the effective size of the population – a small number of breeding males, the bottleneck effect, and the absence of migration (Charlesworth, 2009). Although an increase in N_e has already been identified in livestock populations (Brito et al., 2017; Prieur et al., 2017), most authors have observed similar decline trends as in our study (Ghoreishifar et al., 2019; Kominakis et al., 2017; Liu et al., 2021; Moosanezhad Khabisi et al., 2021; Pasandideh et al., 2020; Purfield et al., 2017), because the only long-acting mechanism that reduces LD (and thus increases N_e computed from LD) is the long-term effects of random mating and recombination (Qanbari, 2020;

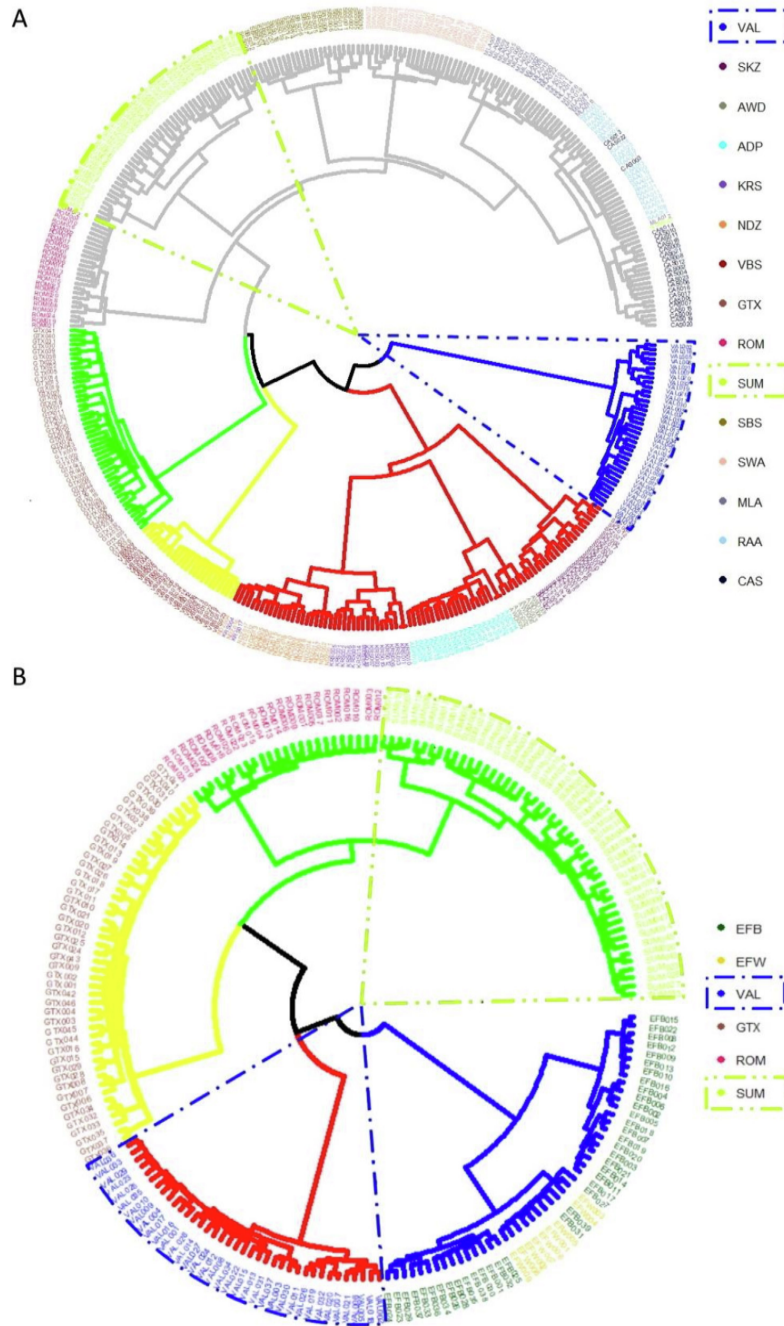


Fig. 4. Dendrogram based on Nei's genetic distances between animals of 15 sheep breeds in 5 branches: blue branch = Wallachian sheep; red branch = Sakiz, African Dorper, African White Dorper, Karakas, Norduz; yellow branch = Valais Blacknose sheep; green branch = German Texel; grey branch = New Zealand Romney, Sumava sheep, Swiss Black-Brown Mountain sheep, Swiss White Alpine sheep, Merinolandschaf, Meat Lacaune, Castellana. Dendrogram based on Nei's genetic distances between animals of 6 breeds in the four branches: blue branch = East Friesian Brown, East Friesian White; red branch = Wallachian sheep; yellow branch = German Texel; green branch = New Zealand Romney, Sumava sheep. Abbreviations: ADP = African Dorper; AWD = African White Dorper; CAS = Castellana; EFB = East Friesian Brown; EFW = East Friesian White; GTS = German Texel; KRS = Karakas; MLC = Meat Lacaune; MLA = Merinolandschaf; ROM = New Zealand Romney; NDZ = Norduz; SKZ = Sakiz; SUM = Sumava sheep; SBS = Swiss Black-Brown Mountain sheep; SWA = Swiss White Alpine sheep; VAL = Wallachian sheep; VBS = Valais Blacknose sheep.

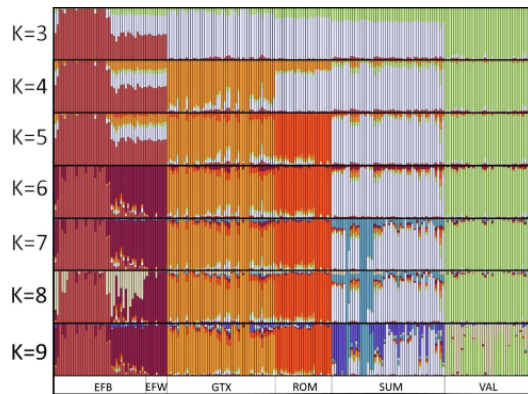


Fig. 5. Model-based clustering of 6 sheep breeds: East Friesian Brown, East Friesian White, German Texel, New Zealand Romne, Sumava sheep, Wallachian sheep, for modelled ancestral population $K = 3 - 9$, while the most likely number of clusters was $K = 7$. Abbreviations: EFB = East Friesian Brown; EFW = East Friesian White; GTX = German Texel; ROM = New Zealand Romney; SUM = Sumava sheep; VAL = Wallachian sheep.

Slatkin, 2008). Considering the last 40 generations, our findings are very similar to those obtained from the German White-headed Mutton population with the same methodology (Addo et al., 2021). The German White-headed Mutton had N_e slightly over 50 animals in the past five generations, which remained from the original 200 after a 35-generation-long decline (Addo et al., 2021). The same trend of N_e , with significantly lower values compared to other Sicilian breeds, was found in Barbaresca sheep by Mastrangelo et al. (2017b). On the contrary, Kyrgyz breeds showed notably higher values of N_e , between 176 and 660 animals in the 5th generation (Deniskova et al., 2019). Nosrati et al. (2021) compared breeds among different locations and continents, and breeds from Central Europe showed the lowest N_e drop curves; even so, the two breeds we monitored would belong to the lowest among them.

In the present study, the relationship between the two indigenous Czech breeds and other European sheep breeds was investigated with various approaches (F_{ST} , PCA, Admixture, neighbour-joining trees), and all of them pointed to their apparent uniqueness. Both Czech breeds made homogeneous clusters without significantly deviating individuals in the PCA graphical output based on the variance-standardised relationship matrix. However, the proximity of these breeds and among about 13 other European breeds was evident. The neighbour-joining trees revealed only one individual of Sumava sheep, who shared a common branch with the Castellana and Rasa Aragonesa breeds. On a smaller scale, the entire population of Sumava showed greater proximity to the New Zealand Romney than the other breeds used for its regeneration - East Friesian and Texel. However, not all of them were present in our dataset, and a significant genetic influence of other regenerative breeds thus cannot be excluded.

On the contrary, Admixture analysis revealed distinct ancestries in Sumava, which remained stable in several K -values. Some even affected almost the entire monitored genotype of the individual. Nevertheless, this admixture should not be interpreted as the influence of one additional breed because the value of K estimates the smallest number of populations involved in creating variability of our selected six breeds, which is probably smaller than the number

of different events (bottlenecks, populations splits and mergings, gene flow between a new population and its ancestral population, ...) that significantly affected the sample. In future, it would be appropriate to check whether this is a remnant of historical outcrossing or modern, created by including crossed animals in the herdbook.

Calculated F_{ST} values can be divided into three categories based on the degree of isolation of populations (from the least to the most isolated): 0–0.05, 0.05–0.15, and 0.15–0.25 (Grasso et al., 2014). Breeds from the same region traditionally have lower fixation indexes between pairs of them due to lower gene flow among populations, as was confirmed for the following sheep breeds: Berber and D'Man from Morocco; Hamra, Beni-Guil and Ouled-Djellal from Algeria; Ouled-Djellal from Morocco; and Sardi and Timahdite from Northwest Africa, whose pairwise F_{ST} does not exceed 0.67 value (Belabdi et al., 2019). For goats kept in the same region, the F_{ST} estimates were lower (<0.05) (Ouchene-Khelifi et al., 2018). Although the same pattern was observed in various sheep breeds and locations in the world, for example, in Tibet breeds, $F_{ST} = 0.03 - 0.09$ (Xiong et al., 2020), in Sicilian breeds, $F_{ST} = 0.03 - 0.05$ (Mastrangelo et al., 2014), and in Kazakh breeds, $F_{ST} = 0.02 - 0.04$ (Pozharskiy et al., 2020). This is not the case for the two Czech breeds analysed here, whose $F_{ST} = 0.10$ indicates only moderate gene flow between them in a range typical for well-differentiated breeds originating from different regions of Europe (Kijas et al., 2012b). There is a strong correlation and consistency that allows direct comparison between F_{ST} values obtained from microsatellites and SNPs (Laoun et al., 2020; Zimmerman et al., 2020). Compared to our previous study, the F_{ST} values obtained from the SNPs array were almost double those obtained from the microsatellites between Wallachian and Sumava and between them and other breeds as well (Machová et al., 2020). The number of individuals used in the previous study was significantly greater (Wallachian = 340, Sumava = 474), but the overall variability detectable by the markers was significantly lower, even though polyallelic microsatellites were used (Machová et al., 2020).

Conclusions

In this study, we evaluated the genetic variability of two indigenous Czech sheep breeds based on a 50 K SNP-Chip panel and compared it with 25 different breeds. Both breeds appeared to be well differentiated between each other and among other European breeds. Due to inbreeding and the effective population size, their genetic diversity is low, especially in the case of the Wallachian breed. Sumava, on the other hand, is facing a significant foreign gene pool. This study identified several regions with a high degree of homozygosity; further studies should focus on these regions to determine breed-specific genes under the influence of selection. The degree of genetic diversity within Sumava and Wallachian breeds is roughly consistent with the results obtained from pedigrees and microsatellite markers, contrary to the degree of inter-population genetic diversity (F_{ST}), which was significantly different.

Supplementary material

Supplementary material to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100690>.

Ethics approval

Not applicable.

Data and model availability statement

None of the data was deposited in an official repository. The datasets used and analysed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request. Data obtained from Sheep HapMap are available from the International Sheep Genomics Consortium (ISGC). Still, restrictions apply to the availability of these data, which were used under license for the current study and therefore are not publicly available. Data are, however, available from the authors upon reasonable request and with permission of the International Sheep Genomics Consortium (ISGC).

Author ORCIDs

Karolína Machová: <https://orcid.org/0000-0002-7365-3972>.
R. Pelayo: <https://orcid.org/0000-0002-9827-1292>.
H. Marina: <https://orcid.org/0000-0001-9226-2902>.
J.J. Arranz: <https://orcid.org/0000-0001-9058-131X>.
J. Rychtářová: <https://orcid.org/0000-0003-0992-4579>.
M. Milerski: <https://orcid.org/0000-0003-0773-8705>.
A. Suárez-Vega: <https://orcid.org/0000-0002-7726-4288>.

Author contributions

K. Machová: Conceptualisation, Investigation, Visualisation, Writing - Original Draft, Writing - Review and Editing; **H. Marina:** Software, Writing - Original Draft; **J.J. Arranz:** Methodology, Supervision; **R. Pelayo:** Project administration, Writing - Original Draft; **J. Rychtářová:** Data Curation; **M. Milerski:** Data Curation; **L. Vostřný:** Writing - Review and Editing, Supervision; **A. Suárez-Vega:** Methodology, Writing - Original Draft.

Declaration of interest

None.

Acknowledgements

The ovine SNP50 HapMap dataset used for the analyses described was provided by the International Sheep Genomics Consortium and obtained from www.sheepmap.org in agreement with the ISGC Terms of Access.

Financial support statement

This research is financially supported by grant QK1910156 from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic and an SGS grant SV22-12-21360 from the Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources CZU.

References

- Abied, A., Xu, L., Sahlou, B.W., Xing, F., Ahbara, A., Pu, Y., Lin, J., Berihulay, H., Islam, R., He, X., Mwacharo, J.M., Zhao, Q., Ma, Y., 2020. Genome-Wide Analysis Revealed Homozygosity and Demographic History of Five Chinese Sheep Breeds Adapted to Different Environments. *Genes (Basel)* 11, 1480. <https://doi.org/10.3390/genes11121480>.
- Addo, S., Klingel, S., Thaller, G., Hinrichs, D., 2021. Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. *PLoS One* 16, e0250608.
- Alexander, D.H., Lange, K., 2011. Enhancements to the ADMIXTURE algorithm for individual ancestry estimation. *BMC Bioinformatics* 12, 246. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-246>.
- Alexander, D.H., Novembre, J., Lange, K., 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* 19, 1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>.
- Al-Mamun, H.A., Clark, S.A., Kwan, P., Gondro, C., 2015. Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetics Selection Evolution* 47, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0169-6>.
- Alvarenga, A.B., Rovadoski, G.A., Petrini, J., Coutinho, L.L., Morota, G., Spangler, M.L., Pinto, L.F.B., Carvalho, G.G.P., Mourão, G.B., 2018. Linkage disequilibrium in Brazilian Santa Inês breed, *Ovis aries*. *Scientific Reports* 8, 8851. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27259-7>.
- Barbato, M., Orozco-terWengel, P., Tapio, M., Bruford, M.W., 2015. SNeP: a tool to estimate trends in recent effective population size trajectories using genome-wide SNP data. *Frontiers in Genetics* 6, 109. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00109>.
- Barrett, J.C., Fry, B., Maller, J., Daly, M.J., 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21, 263–265. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth457>.
- Belabdi, I., Ouhrouch, A., Lafri, M., Gaouar, S.B.S., Ciani, E., Benali, A.R., Ould Ouelhadj, H., Haddioui, A., Pompanon, F., Blanquet, V., Taurisson-Mouret, D., Harkat, S., Lenstra, J.A., Benjelloun, B., da Silva, A., 2019. Genetic homogenization of indigenous sheep breeds in Northwest Africa. *Scientific Reports* 9, 7920. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44137-y>.
- Ben Jemaa, S., Kdidi, S., Gdura, A.M., Dayhum, A.S., Eldaghayes, I.M., Boussaha, M., Rebours, E., Yahyaoui, M.H., 2019. Inferring the population structure of the Maghreb sheep breeds using a medium-density SNP chip. *Animal Genetics* 50, 526–533. <https://doi.org/10.1111/age.12831>.
- Brito, L.F., McEwan, J.C., Miller, S.P., Pickering, N.K., Bain, W.E., Dodds, K.G., Schenkel, F.S., Clarke, S.M., 2017. Genetic diversity of a New Zealand multi-breed sheep population and composite breeds' history revealed by a high-density SNP chip. *BMC Genetics* 18, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0492-8>.
- Chang, C.C., Chow, C.C., Tellier, L.C., Vattikuti, S., Purcell, S.M., Lee, J.J., 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience* 4, 7. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>.
- Charlesworth, B., 2009. Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics* 10, 195–205. <https://doi.org/10.1038/nrg2526>.
- Chitneedi, P.K., Arranz, J.J., Suarez-Vega, A., García-Gómez, E., Gutiérrez-Gil, B., 2017. Estimations of linkage disequilibrium, effective population size and ROH-based inbreeding coefficients in Spanish Churra sheep using imputed high-density SNP genotypes. *Animal Genetics* 48, 436–446. <https://doi.org/10.1111/age.12564>.
- Corbin, L.J., Liu, A.Y.H., Bishop, S.C., Woolliams, J.A., 2012. Estimation of historical effective population size using linkage disequilibria with marker data. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 129, 257–270. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2012.01003.x>.
- Denisikova, T., Dotsev, A., Lushihina, E., Shakhin, A., Kunz, E., Medugorac, I., Reyer, H., Wimmers, K., Khayat-zadeh, N., Sölkner, J., Sermyagin, A., Zhunushev, A., Brem, G., Zinovieva, N., 2019. Population Structure and Genetic Diversity of Sheep Breeds in the Kyrgyzstan. *Frontiers in Genetics* 10, 1311. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01311>.
- Dzomba, E.F., Chimonyo, M., Pierneef, R., Muchadeyi, F.C., 2021. Runs of homozygosity analysis of South African sheep breeds from various production systems investigated using OvineSNP50k data. *BMC Genomics* 22, 7. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07314-2>.
- Eydivandani, S., Sahana, G., Momen, M., Moradi, M.H., Schönherz, A.A., 2020. Genetic diversity in Iranian indigenous sheep vis-à-vis selected exogenous sheep breeds and wild mouflon. *Animal Genetics* 51, 772–787. <https://doi.org/10.1111/age.12985>.
- FAO, 2022. Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS). Retrieved on 1 October 2022 from www.fao.org/dad-is/risk-status-of-animal-genetic-resources/en.
- Ferenčaković, M., Hamzić, E., Gredler, B., Solberg, T.R., Klemetsdal, G., Curik, I., Sölkner, J., 2013. Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 130, 286–293. <https://doi.org/10.1111/jbg.12012>.
- García-Gómez, E., Sahana, G., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J.-J., 2012. Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. *BMC Genetics* 13, 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-43>.
- Getachew, T., Haile, A., Mészáros, G., Rischkowsky, B., Huson, H.J., Gizaw, S., Wurzinger, M., Mwai, A.O., Sölkner, J., 2020. Genetic diversity, population structure and runs of homozygosity in Ethiopian short fat-tailed and Awassi sheep breeds using genome-wide 50k SNP markers. *Livestock Science* 232, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103899> 103899.
- Ghoreishifar, S.M., Moradi-Shahrbabak, H., Parna, N., Davoudi, P., Khansefid, M., 2019. Linkage disequilibrium and within-breed genetic diversity in Iranian Zandi sheep. *Archives of Animal Breeding* 62, 143–151. <https://doi.org/10.5194/aab-62-143-2019>.
- Ghoreishifar, S.M., Moradi-Shahrbabak, H., Fallahi, M.H., Jalil Sarghale, A., Moradi-Shahrbabak, M., Abdollahi-Arpanahi, R., Khansefid, M., 2020. Genomic measures of inbreeding coefficients and genome-wide scan for runs of homozygosity islands in Iranian river buffalo, *Bubalus bubalis*. *BMC Genetics* 21, 16. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-0824-y>.
- Goudet, J., 2005. hierfstat, a package for *r* to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5, 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>.
- Grasso, A.N., Goldberg, V., Navajas, E.A., Iriarte, W., Gimeno, D., Aguilar, I., Medrano, J.F., Rincón, G., Ciappesoni, G., 2014. Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale,

- Merino and Creole sheep. *Genetics and Molecular Biology* 37, 389–395. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572014000300011>.
- Gurgul, A., Jasielczuk, I., Miksza-Cybulska, A., Kawęcka, A., Szmatoła, T., Krupiński, J., 2021. Evaluation of genetic differentiation and genome-wide selection signatures in Polish local sheep breeds. *Livestock Science* 251, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104635>.
- Hayes, B.J., Visscher, P.M., McPartlan, H.C., Goddard, M.E., 2003. Novel Multilocus Measure of Linkage Disequilibrium to Estimate Past Effective Population Size. *Genome Research* 13, 635–643. <https://doi.org/10.1101/gr.387103>.
- Horák, F., 2012. Chováme ovce. Ve spolupráci se Svazem chovatelů ovcí a koz v ČR vydalo nakladatelství Brázda, Praha, Czech Republic.
- Kijas, J.W., Lenstra, J.A., Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L.R., San Cristobal, M., Servin, B., McCulloch, R., Whan, V., Gietzen, K., Paiva, S., Barendse, W., Ciani, E., Raadsma, H., McEwan, J., Dalrymple, B., 2012a. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biology* 10, e1001258.
- Kijas, J.W., Miller, J.E., Hadfield, T., McCulloch, R., Garcia-Gamez, E., Porto Neto, L.R., Cockett, N., 2012b. Tracking the Emergence of a New Breed Using 49,034 SNP in Sheep. *PLoS One* 7, e41508.
- Kominakis, A., Hager-Theodorides, A.L., Saridaki, A., Antonakos, G., Tsiamis, G., 2017. Genome-wide population structure and evolutionary history of the Frizarta dairy sheep. *Animal* 11, 1680–1688. <https://doi.org/10.1017/S1757173117000428>.
- Kumar, C., Song, S., Dewani, P., Kumar, M., Parkash, O., Ma, Y., Malhi, K.K., Yang, N., Mwacharo, J.M., He, X., Jiang, L., 2018. Population structure, genetic diversity and selection signatures within seven indigenous Pakistani goat populations. *Animal Genetics* 49, 592–604. <https://doi.org/10.1111/age.12722>.
- Laoun, A., Harkat, S., Lafri, M., Gaouar, S.B.S., Belabdi, I., Ciani, E., de Groot, M., Blanquet, V., Leroy, G., Rognon, X., da Silva, A., 2020. Inference of Breed Structure in Farm Animals: Empirical Comparison between SNP and Microsatellite Performance. *Genes (Basel)* 11, 57. <https://doi.org/10.3390/genes11010057>.
- Lencz, T., Lambert, C., DeRosse, P., Burdick, K.E., Morgan, T.V., Kane, J.M., Kucherlapati, R., Malhotra, A.K., 2007. Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 19942–19947. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710021104>.
- Liu, S., He, S., Chen, L., Li, W., Di, J., Liu, M., 2017. Estimates of linkage disequilibrium and effective population sizes in Chinese Merino (Xinjiang type) sheep by genome-wide SNPs. *Genes and Genomics* 39, 733–745. <https://doi.org/10.1007/s13258-017-0539-2>.
- Liu, J., Shi, L., Li, Y., Chen, L., Garrick, D., Wang, L., Zhao, F., 2021. Estimates of genomic inbreeding and identification of candidate genes that differ between Chinese indigenous sheep breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 12, 95. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00608-9>.
- Machová, K., Hofmanová, B., Rychtářová, J., Vostrý, L., Moravčíková, N., Kasarda, K., 2020. Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica* 23, 38–45. <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.38-45>.
- Machová, K., Milerski, M., Rychtářová, J., Hofmanová, B., Vostrá-Vydrová, H., Moravčíková, N., Kasarda, R., Vostrý, L., 2021. Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds. *Small Ruminant Research* 195, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106301>.
- Mastrangelo, S., di Gerlando, R., Tolone, M., Tortorici, L., Sardina, M.T., Portolano, B., 2014. Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genetics* 15, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12863-014-0108-5>.
- Mastrangelo, S., Portolano, B., Di Gerlando, R., Ciampolini, R., Tolone, M., Sardina, M.T., 2017. Genome-wide analysis in endangered populations: a case study in Barbaresca sheep. *Animal* 11, 1107–1116. <https://doi.org/10.1017/S1757173116002780>.
- Meyermans, R., Gorssen, W., Buys, N., Janssens, S., 2020a. How to study runs of homozygosity using PLINK? A guide for analyzing medium density SNP data in livestock and pet species. *BMC Genomics* 21, 94. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6463-x>.
- Meyermans, R., Gorssen, W., Wijnrocx, K., Lenstra, J.A., Vellema, P., Buys, N., Janssens, S., 2020b. Unraveling the genetic diversity of Belgian Milk Sheep using medium-density SNP genotypes. *Animal Genetics* 51, 258–265. <https://doi.org/10.1111/age.12891>.
- Milerski, M., 2019a. Metodika uchování genetického zdroje zvířat Plemeno: Šumavská ovce. Národní referenční středisko pro genetické zdroje zvířat VÚŽV, Praha, Czech Republic.
- Milerski, M., 2019b. Metodika uchování genetického zdroje zvířat Plemeno: Valašská ovce. Národní referenční středisko pro genetické zdroje zvířat VÚŽV, Praha, Czech Republic.
- Moosanezhad Khabisi, M., Asadi Foozi, M., Lv, F.-H., Esmailzadeh, A., 2021. Genome-wide DNA arrays profiling unravels the genetic structure of Iranian sheep and pattern of admixture with worldwide coarse-wool sheep breeds. *Genomics* 113, 3501–3511. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.07.019>.
- Mukhina, V., Svishcheva, G., Voronkova, V., Stolpovsky, Y., Piskunov, A., 2022. Genetic Diversity, Population Structure and Phylogeny of Indigenous Goats of Mongolia Revealed by SNP Genotyping. *Animals* 12, 1–15. <https://doi.org/10.3390/ani12030221>.
- NCBI. 2015. Oar_v4.0. Retrieved on 3 November 2022 from www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000298735.2.
- Nel, C., Gurman, P., Swan, A., van der Werf, J., Snyman, M., Dzama, K., Gore, K., Scholtz, A., Cloete, S., 2022. The genomic structure of isolation across breed, country and strain for important South African and Australian sheep populations. *BMC Genomics* 23, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-08020-3>.
- Nosrati, M., Asadollahpour Nanaei, H., Javanmard, A., Esmailzadeh, A., 2021. The pattern of runs of homozygosity and genomic inbreeding in world-wide sheep populations. *Genomics* 113, 1407–1415. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.03.005>.
- Ouchene-Khelifi, N.-A., Lafri, M., Pompanon, F., Ouhrouch, A., Ouchene, N., Blanquet, V., Lenstra, J.A., Benjelloun, B., da Silva, A., 2018. Genetic homogeneity of North-African goats. *PLoS One* 13, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202196>.
- Pasandideh, M., Gholizadeh, M., Rahimi Mianji, G., 2020. Estimation of Effective Population Size and Genomic Inbreeding Coefficients in Baluchi Sheep Using Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). *Iranian Journal of Applied Animal Science* 10, 287–295.
- Persichilli, C., Senczuk, G., Pasqualino, L., Anzalone, D.A., Negrini, R., Ajmone Marsan, P., Colli, L., Pilla, F., Mastrangelo, S., 2021. Genome-wide diversity of Pagliarola sheep residual population and its conservation implication. *Italian Journal of Animal Science* 20, 1695–1705. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1970033>.
- Pozharskiy, A., Khamzina, A., Gritsenko, D., Khamzina, Z., Kassymbekova, S., Karimov, N., Karymsakov, T., Tlevlesov, N., 2020. SNP genotyping and population analysis of five indigenous Kazakh sheep breeds. *Livestock Science* 241, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104252>.
- Priour, V., Clarke, S.M., Brito, L.F., McEwan, J.C., Lee, M.A., Brauning, R., Dodds, K.G., Auvray, B., 2017. Estimation of linkage disequilibrium and effective population size in New Zealand sheep using three different methods to create genetic maps. *BMC Genetics* 18, 68. <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0534-2>.
- Práček, M., Ducháček, J., Stádník, L., Fantová, M., 2017. Analysis of Genotype, Dam's Litter Size and Their Interaction on Selected Productive Traits of Origin Wallachian and Sumava Sheep in the Czech Republic. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis* 65, 473–479. <https://doi.org/10.11118/actaun201765020473>.
- Purcell, S., Chang, C., 2019. PLINK 1.9. Retrieved on 11 September 2021 from www.cog-genomics.org/plink/1.9/.
- Purfield, D.C., McParland, S., Wall, E., Berry, D.P., 2017. The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. *PLoS One* 12, e0176780.
- Qanbari, S., 2020. On the Extent of Linkage Disequilibrium in the Genome of Farm Animals. *Frontiers in Genetics* 10, 1304. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01304>.
- R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rodríguez-Ramilo, S.T., Elsen, J.M., Legarra, A., 2019. Inbreeding and effective population size in French dairy sheep: Comparison between genomic and pedigree estimates. *Journal of Dairy Science* 102, 4227–4237. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15405>.
- Saravanan, K.A., Panigrahi, M., Kumar, H., Bhusan, B., Dutt, T., Mishra, B.P., 2021. Genome-wide analysis of genetic diversity and selection signatures in three Indian sheep breeds. *Livestock Science* 243, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104367>.
- Sargolzaei, M., 2014. SNP1101 User's Guide Version 1.0. HiggsGene Solutions Inc., Guelph, Canada.
- Signer-Hasler, H., Burren, A., Ammann, P., Drögemüller, C., Flury, C., 2019. Runs of homozygosity and signatures of selection: a comparison among eight local Swiss sheep breeds. *Animal Genetics* 50, 512–525. <https://doi.org/10.1111/age.12828>.
- Slatkin, M., 2008. Linkage disequilibrium—understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Reviews Genetics* 9, 477–485. <https://doi.org/10.1038/nrg2361>.
- Sobieraj-Kmieciak, A., Drobik-Czwarono, W., Nowak-Życzyńska, Z., Wojciechowska, M., Demars, J., Bodin, L., Martyniuk, E., 2020. Genome analysis in local breeds: A case study on Olkuszka sheep. *Livestock Science* 231, <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.103880>.
- Sved, J.A., Feldman, M.W., 1973. Correlation and probability methods for one and two loci. *Theoretical Population Biology* 4, 129–132. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(73\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0040-5809(73)90008-7).
- Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358–1370. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb05657.x>.
- Xiong, H., He, X., Li, J., Liu, X., Peng, C., Xi, D., Deng, W., 2020. Genetic diversity and genetic origin of Lanping black-boned sheep investigated by genome-wide single-nucleotide polymorphisms (SNPs). *Archives of Animal Breeding* 63, 193–201. <https://doi.org/10.5194/aab-63-193-2020>.
- Yurchenko, A.A., Denisikova, T.E., Yudin, N.S., Dotsev, A.V., Khamiruev, T.N., Selionova, M.I., Egorov, S.V., Reyer, H., Wimmers, K., Brem, G., Zinovieva, N.A., Larkin, D.M., 2019. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. *BMC Genomics* 20, 294. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5537-0>.
- Zhang, Q., Calus, M.P., Gulbrandtsen, B., Lund, M.S., Sahana, G., 2015. Estimation of inbreeding using pedigree, 50K SNP chip genotypes and full sequence data in three cattle breeds. *BMC Genetics* 16, 88. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0227-7>.

Zhao, F., Wang, G., Zeng, T., Wei, C., Zhang, L., Wang, H., Zhang, S., Liu, R., Liu, Z., Du, L., 2014. Estimations of genomic linkage disequilibrium and effective population sizes in three sheep populations. *Livestock Science* 170, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.10.015>.

Zimmerman, S.J., Aldridge, C.L., Oyler-McCance, S.J., 2020. An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern. *BMC Genomics* 21, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06783-9>.

4.5 Machová K, Málková A, Vostrý L. 2022a. Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes. Genes 13:613.

Review

Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes

Karolína Machová ^{1,*} , Anežka Málková ² and Luboš Vostrý ¹ 

- ¹ Department of Genetics and Breeding, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýčká 129, 165 00 Prague, Czech Republic; vostry@af.czu.cz
- ² Department of Animal Science, Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, 165 00 Prague, Czech Republic; malkovaa@af.czu.cz
- * Correspondence: machovakarolina@af.czu.cz

Abstract: Mitochondrial DNA and nonrecombinant parts of Y-chromosome DNA are a great tool for looking at a species' past. They are inherited for generations almost unaffected because they do not participate in recombination; thus, the time of occurrence of each mutation can be estimated based on the average mutation rate. Thanks to this, male and female haplogroups guide confirming events in the distant past (potential centers of domestication, settlement of areas, trade connections) as well as in modern breeding (crossbreeding, confirmation of paternity). This research focuses mainly on the development of domestic sheep and its post-domestication expansion, which has occurred through human trade from one continent to another. So far, five mitochondrial and five Y-chromosome haplogroups and dozens of their haplotypes have been detected in domestic sheep through studies worldwide. Mitochondrial DNA variability is more or less correlated with distance from the domestication center, but variability on the recombinant region of the Y chromosome is not. According to available data, central China shows the highest variability of male haplogroups and haplotypes.

Keywords: domestication; mitochondrial haplogroups; matrilineal inheritance; patrilineal inheritance; Y chromosome haplotypes



Citation: Machová, K.; Málková, A.; Vostrý, L. Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes. *Genes* **2022**, *13*, 613. <https://doi.org/10.3390/genes13040613>

Academic Editors: Tomasz Szwaczkowski and Martino Cassandro

Received: 18 February 2022
Accepted: 26 March 2022
Published: 29 March 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Domestic sheep (*Ovis orientalis* Linnaeus, 1758), together with domestic goat (*Capra aegagrus hircus* Linnaeus, 1758), were among the first livestock to be domesticated through several domestication events between the eleventh and eighth millennia BP [1–3]. Throughout almost ten millennia, domestic sheep have spread with the help of man to almost all continents, different climatic zones, and altitudes. This adaptability and production variability are naturally rooted in its genome. Indeed, most of this functional genetic diversity comes from wild ancestors in which they have already been segregated [4,5]. Scientists are increasingly seeking functional genes that cause this natural adaptability due to their potential use in marker-assisted selection [6–8].

The urial (*Ovis vignei* Blyth, 1841) was first considered the main ancestor of domestic sheep, and only after the number of chromosomes in individual related species of the genus *Ovis* was revealed, the scientific public leaned towards the theory of a single ancestor, the European mouflon (*Ovis orientalis musimon* Pallas, 1811) [9]. According to the latest findings supported by several mtDNA haplotype studies [10–13], the direct ancestor of the domestic sheep appears to be the Asian mouflon (*Ovis gmelinii* Gmelin, 1774), while a close relative of the sheep, the European mouflon, appears only to be a feralized remnant of the originally domesticated sheep. This statement was confirmed when the same retrotypes were found in the Corsican, Cypriot, and Sardinian mouflons as in primitive Nordic sheep breeds [14].

Modern breeds are characterized by a high frequency and fixation of the retrotype called *enJSRV-18*. In contrast, primitive populations, including the European mouflon, do not carry this retrotype. Instead, they either have a high frequency of *enJSRV-7* or are generally deficient in insertional polymorphic *enJSRVs*, including *enJSRV-7* [14].

Molecular genetic methods provide information today on the dispersion and genetic diversity of domestic sheep. Over the last few decades, significant progress has been made in the genomic sequencing of animals, including sheep [15]. However, many methods targeting specific sections of the genome are also used to study the genetic diversity of sheep: the study of haplotypes (mitochondrial and non-recombinant parts of the Y chromosome), autosomal microsatellite markers, and, most recently, single nucleotide polymorphisms, SNPs [16]. With the increasing amount of genetic information available, our information on the origin, development, adaptation mechanisms, and variability of livestock is becoming more accurate [15]. For the study of development and origin, information from Y or mt haplotypes of primitive national breeds, or even better directly from archaeological finds, is particularly valuable [17]. Indigenous breeds are not expected to have a larger proportion of newly introduced genes, as their development is closely linked to the development of ethnic groups, which usually still breed them in the traditional pastoral way in certain areas for many centuries and millennia [18–20].

Some studies even point to the possibility of using recombinant sections of gonosomes. Diversity on the X chromosome and autosomal chromosomes in wild and domestic sheep across continents revealed a decrease in the diversity of single nucleotide polymorphisms (SNPs) on the X chromosome compared to autosomes [21]. On the other hand, a smaller number of selective SNPs are found on the X chromosome, probably because most target loci and genes that are long-term are affected by human selection and are located on autosomes. Chessa et al. [22] focused on these loci and demonstrated that even in the functional regions of the sheep genome, there is considerable genetic variability, reflecting years of adaptation, natural or artificial selection, migration, and crossing. They can, therefore, also be used to study current biodiversity.

This review aims to summarize the current knowledge about the colonization dispersion of domestic sheep based on the two most used approaches to this issue, the study of the variability of mitochondrial and nonrecombinant Y DNA. The meta-analysis in the form of graphical outputs focused on recent local and transboundary breeds. Commercial or improved breeds (e.g., Texel) were not included in the dataset.

2. Mitochondrial Haplogroups and Haplotypes

MtDNA is inherited through the maternal lineage and, thus, lacks recombination. At the same time, it mutates five to ten times faster than nuclear DNA [23]. This may be due to a lack of repair mechanisms or the formation of free radicals during the phosphorylation process [24]. The hypervariable region of the mtDNA regulatory region is one of the most available and effective markers for population genetic studies, which allows monitoring of the maternal lineage of the gene pool and the related phylogenetic relationships, structure, and diversity of the population [25].

Assuming that humans take only part of the animal population from the original domestication center when colonizing new areas, mtDNA haplotype studies should logically reflect the geographical progression of the domestication of sheep. Thus, the greatest diversity of mitochondrial haplotypes in sheep can be expected in the Eastern Mediterranean [26]. For autosomal diversity or diversity on the X chromosome, no higher values in the area of domestication were confirmed. Certainly, the recent breeds kept in these areas no longer represent the genotype of the original thin-tailed sheep, which were one of the first to spread further around the world [21].

Of the specific regions monitored in sheep mtDNA, researchers most often focus on the D-loop region and the cytochrome-b-coding region [27]. More than 900 haplotypes have been found for cytochrome b [28]. It is currently assumed that there are up to six different haplogroups into which they can be divided, called A, B, C, D, E, and X. However,

haplogroup X has so far only been described by a single study [29], and no subsequent studies have confirmed its existence. Based on genetic material from archaeological finds, it is assumed that there were originally more haplogroups and that some of them became extinct [30]. A and B are the most common groups in sheep from Europe (B) and Asia (A) and were also the first to be identified [10,31]. C is more genetically variable than the previous two groups but has nothing in common with any wild-type sheep. To a small extent, this type occurs in native Portuguese sheep, as well as in the Caucasus, the Middle East, and Asia. The D and E haplogroups are two of the rarest and were found in the North Caucasus region [26]. D also appears to be the haplogroup closest to the common ancestor of sheep and mouflon [32]. The last haplogroup was found at the Anatolian mouflon (*Ovis gmelini anatolica* Valenciennes, 1856), and it is very close to groups E and C [29]. The period of formation of these haplogroups is assumed to be sometime in the period of 5–35 thousand years ago, which is more than 150 thousand years later than the expected separation of the Cypriot mouflon (*Ovis gmelini ophion* Blyth, 1841) [13,32].

In addition to the study of population dispersion, the mitochondrial genome is also used for phylogenetic analyses of the genus *Ovis*. For example, according to a study that analyzed mitochondrial cytochrome b sequences [13], argali (*Ovis ammon* (Linnaeus, 1758)) was the first of the genus *Ovis* to diverge in Europe. The Meadows collective came to a somewhat different dating based on a study of complete mitogenomes in domestic and wild sheep [33]. They determined a calibration point based on the sequence of cytochrome b of an already extinct relative of the genus *Myotragus*, which separated 5.35 mya (million years ago) [33]. Based on this, they estimated the cleavage of the two major mitochondrial haplogroups, A and B, from the unfrequented C and E to 0.92 mya, and the separation of C from E to 0.26 mya. Sanna's team reached a different estimate of the diversification of mitochondrial haplogroups on samples of whole mtDNA sequences (see Figure 1) [32]. The first separation of the two major branches of haplogroups (C, E and A, B, D) happened 0.3 mya, according to Sanna's team. Haplogroup D (0.24 mya) was the first to be separated, groups A and B (0.17 mya) were further distinguished, and C and E (0.12 mya) were the last [32]. Table 1 provides a comparison of the estimates of five different studies of the three main divergence points preceding the formation of individual mitochondrial haplogroups.

Table 1. Comparison of approximated divergence times in million years ago (mya) of Argali, Urial and main mitochondrial haplogroup branches (A, B, D) between different studies.

Study	Data Origin	Times of Divergence in Mya		
		Argali	Urial	Branch of A, B, D haplogroups
Rezaei et al. (2010) [13]	Cytochrome b sequence	1.72	1.26	-
Meadows et al. (2011) [33]	Whole mitogenome	2.13	-	0.92
Lv et al. (2015) [34]	Whole mitogenome	2.93	2.60	0.89
Sanna et al. (2015) [32]	Whole mitogenome	1.11	0.89	0.30
Deng et al. (2020) [35]	Whole mitogenome	2.93	2.60	1.02

In any case, it is not possible to assume a connection between the divergence of any of the five haplogroups and the post-domestication expansion, which according to archaeological findings, dates as far back as the eighth millennium BP [3,36]. Based on molecular genetic data, this may have happened two millennia earlier [14,35]. For lineage B, a primary haplotype may have already been identified in 2019, when a lineage B haplotype was found in the Sardinian mouflon and which was estimated to split about 110,000 years ago, about 30,000 years earlier than the expected division of the European mouflon from sheep lineage B [37].

The sheep probably got to North America by migrating from Asia across the Bering Strait. Bighorn sheep (*Ovis canadensis* (Shaw, 1804)) and Alaskan sheep (*Ovis dalli* (Nelson, 1884)) are monophyletic from the Siberian snow sheep (*Ovis nivicola* (Eschscholtz, 1829)) from which

they separated about 1.6 million years ago [13]. Similar conclusions were reached in later studies [32,38].

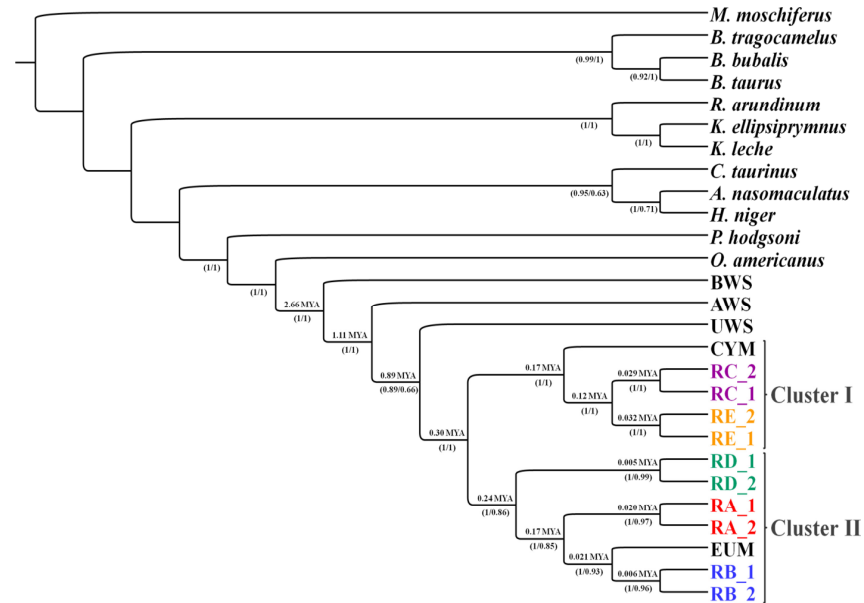


Figure 1. Root phylogram obtained by Bayesian inference from 28 haplogroups. The labels below the nodes indicate bootstrap values for maximum similarity. Above the nodes are the molecular datings in millions of years. Cluster 1 contains three groups, one with haplogroup E (RE), the other with haplogroup C (RC), and the third with all Cypriot mouflons (CYM) and some Anatolian mouflons. The second cluster has a total of four groups. Three haplogroups of domestic sheep were divided according to haplotypes D, A, B (RD, RA, RB), and European mouflon (EUM). Some Anatolian mouflons are also included in haplogroup A. BWS, AWS, UWS means *Ovis canadensis* (bighorn sheep), *Ovis vignei* (urial), and *Ovis ammon* (argali), respectively. Taken from [32].

2.1. Europe

The high diversity of sheep mitochondrial lineages could be due to domestication from several developmentally related ancestors [32]. For this reason, the complete dominance of haplogroup B mtDNA in Europe (Figure 2) indicates the expansion of the European population from only a few individuals. Such a low diversity was already present in herds in the Black Sea area before the Neolithic expansion [39]. With the Neolithic expansion, progress through Europe accelerated. Sheep reached central Anatolia about 10,000 years ago [1]. From there, two main dispersal routes led to Europe, via the Mediterranean Sea and through the Danubian valley. These two European pathways were also confirmed by research of small ruminant lentiviruses (SRLVs) [40]. The Mediterranean route led from Cyprus through the Balkan Peninsula and the Apennine Peninsula to Corsica and Sardinia from which northern Italy and southern France were further inhabited. Domesticated sheep reached the Iberian Peninsula around 7500 BP. The Danube road led through river valleys to Central Europe [1]. Sheep entered the Alps, either way, more than 5000 years ago [41]. However, there was probably another dispersal route to Europe, which led through Caucasus, Russia to northern Europe [11]. Lineage B was probably the first to reach Finland, followed by lineage A in the early Middle Ages [42]. Lineage A has spread across Europe through wool-refining efforts, but the origin of lineages C and D in Central Europe remains unclear. They could have come to Europe with a prehistoric man or much later, for example, during the Ottoman expansion [43]. This is consistent with the current

findings of these two lineages, mainly in the Balkans and the Iberian Peninsula (Figure 3), which has been under Arab rule for almost seven centuries.

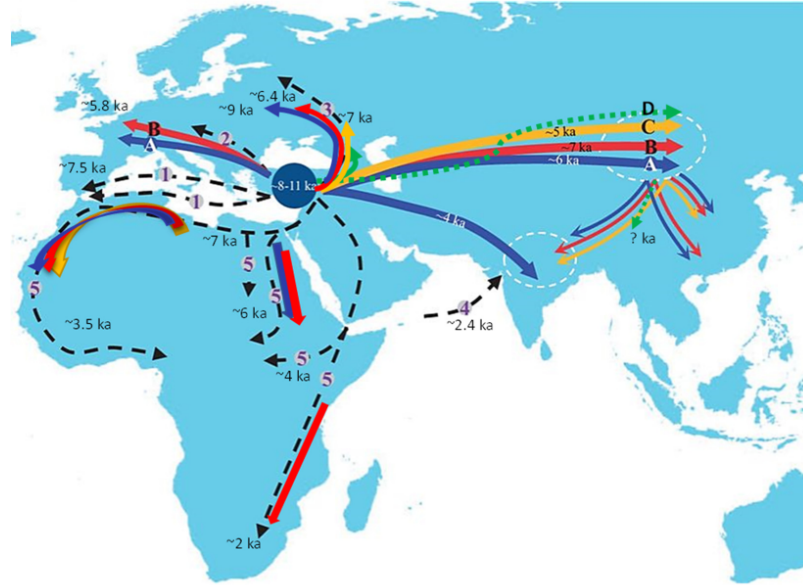


Figure 2. The main dispersal routes of sheep from the place of domestication over Eurasia and Africa estimated in thousands of years BP. **A**, **B**, **C**, **D** = routes of major mitochondrial lines [34,44]; 1 = Mediterranean route [1,9]; 2 = Danubian route [1,9]; 3 = route to northern Europe [45]; 4 = routes of ancient sea transport to the Indian subcontinent [46]; 5 = African routes [47–50]. Taken and modified from [34].

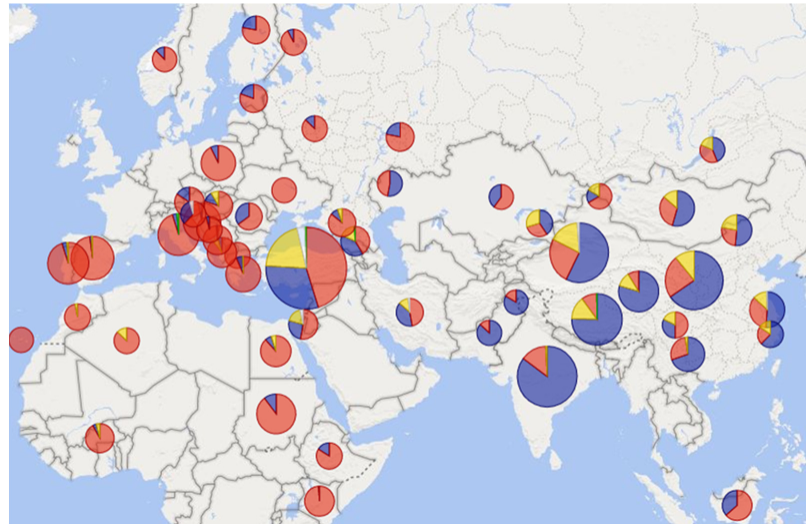


Figure 3. Types and frequencies of mitochondrial haplogroups in different regions of the Eastern Hemisphere. Color resolution of haplogroups: **A**, **B**, **C**, **D**, **E**. The data used to create this map diagram with Power BI are a compilation of data from studies: [12,17–20,25,26,29,34,42–46,48–76]. On a scale of 21–866 samples per pie chart.

2.2. Asia

The colonization of Asia was a little more complicated (Figure 2). The study evaluated the optimal model based on the ABC analysis of mitochondrial lineages, which most likely occurred during the colonization of Asia, and revealed the next three steps [34]:

1. Lineage A spread first to the Mongolian Plateau and the Indian subcontinent. Later, it expanded from the Mongolian Plateau to northern and southwestern China. According to [77], lineage A was the most abundant lineage in ancient Bronze Age China (95.5%). Its abundance increased from west to east.
2. Lineage B headed first on the Mongolian Plateau and colonized northern and southwestern China and India from there.
3. Lineage C also first colonized the Mongolian Plateau. From there it headed to northern China and then to the Indian subcontinent.

The fourth lineage, D, was also found in Central Asia, specifically in the south of the Tibetan Plateau in one of the local breeds, Linzhou [44]. However, currently there are no relevant estimates of the time or route of its arrival at this location.

The mainland route to Asia, however, may not have been the only one. Another possibility of importing the maternal lineages A and B to India seems to be the sea route from the ancient port of Lóthal at the mouth of the Indus river [46]. At the time of Harappan culture (~2.4 thousand BP), this place had trade links with Africa and West Asia. The Mongolian Plateau was identified as the area with the highest variability [34]. Even several cases of heteroplasmy were found there, which must have existed in this area for several millennia [51]. The Mongolian Plateau acted as a migratory hub from which the lineages spread from the Middle East to Asia [34,52]. Specifically for lineages A and B, high nucleotide diversity is found in India [19,34] and for lineage C in northern China [34]. According to some authors, this diversity is so significant that it cannot come from the same domesticated animals that gave rise to these lineages in the more eastern areas. Therefore, independent domestication events could also have occurred on the Indian subcontinent [46] or in China [53,78].

So far, no study has confirmed that the Indonesian region has any original breed of sheep. The current breeds are, therefore, mainly descendants of European breeds imported by the Dutch in the second half of the 19th century [54] or fat-tailed sheep brought by Arab traders in the early 18th century [79]. However, these imported breeds were often crossed with local thin-tailed sheep of unknown origin, which were imported even earlier, probably by traders from Asia. [54]. This is probably the source of haplogroup A in Indonesia.

2.3. Africa

Evidence of the presence of sheep in Africa dates back to a much earlier time than in Southeast Asia [47]. Sheep probably penetrated North Africa through two routes about 7000 years ago. The first is the same colonization dispersion that crossed the Mediterranean Basin, the second led across Sinai, then down to and over the Red Sea [1]. There were several scattering routes on the African continent itself, south to the Middle Nile Valley, west to central Sahara, and north to Libya. Another possibility remains the spread of sheep from the Mediterranean along the northern shores of Africa. The last route discussed in Africa is the direct trade link between East Africa and the Arabian Peninsula [47]. As in Europe, mitochondrial haplogroup B is dominant in Africa (Figure 3), as confirmed in different locations—South Africa [80], Sudan [48], Kenya [49], West Africa, and the Canary Islands [50].

2.4. America and Australia

The settlement of the other two continents of America and Australia is already a matter of modern history. The first sheep brought to Central America by the Spaniards were either hair type (West African furry sheep) or coarse wool type (Churro breed from Iberia), which were later crossed with merino and gave rise to the Creole type of sheep [9]. However, it is

highly probable that other breeds from the area of the Iberian Peninsula, such as Manchega, Latxa, Castellana, or Rasa Aragonesa, also contributed to the creation of Creole sheep [81].

The first hairy sheep were brought to America from the Canary Islands by Columbus and the first colonists and later along with slaves from other parts of West Africa [82]. West African sheep arrived in America in the early seventeenth century, and their contribution to the gene pool of contemporary hairy American sheep is the most significant [83]. A strong European influence was revealed in the gene pool of Creole fur sheep, which is, however, most likely caused by a later cross with merino sheep [84]. Whole-genome structural analysis of Spangler et al. showed the main influence of European breeds, especially Creole wool breeds [83]. Based on the mitochondrial maternal lineage, the origin cannot be specified because in the West African, European, and Canary sheep, maternal lineage B, which is also present in America, predominates [50]. However, another mitochondrial analysis found in Mexican Creole sheep several mitochondrial haplotypes common to both Creole sheep and two strains of Spanish sheep—Churra (Churra, Laxta, Churra Galega Mirandesa, Braganana) and Entrefino (Aragonesa, Manchega, Castellana, Castellana Stela) [81]. H2 haplotype was identified as the main ancestral mitochondrial haplotype in Mexican Creole sheep and haplotypes H21 and H32, present in both Cuba and Mexico as the possible original ones derived from hairy sheep [85].

However, it is already very difficult to study the evolution of “native” Creole sheep through genetics. The main reason is a strong disruption of the original gene pool by importing and crossing commercial breeds in the 19th and 20th centuries to Mexico [85–87] and other Central and South American countries [88,89].

The first sheep were brought to Australia from India, South Africa (thick-tailed), and Spain (merino) after 1788 and from the British Isles (Saxony Merino, Southdown, Romney) after 1840 [9]. It was, therefore, possible to assume the existence of the same lineages and most of the haplotypes (mt and Y) as in the populations from which Australian breeds originated. This expectation was confirmed by a study carried out on 18 breeds kept in Australia, which revealed 55% abundance of lineage B and 45% abundance of lineage A [69].

3. Haplogroups and Haplotypes of Male Y Chromosomes

The mutation rate of the male-specific region of the Y chromosome (MSY) is about fifty times lower than that of mtDNA, i.e., about 0.93×10^{-10} mutations per generation per site [35]. However, as with mitochondrial haplotypes, their use to study the phylogeny of a species is complicated by the fact that all members of the genus *Ovis* can interbreed and form fertile hybrids. Such insertion of a distant paternal or maternal lineage into a gene pool of another species often occurs in areas of overlap of distribution areas [13,18,29,64,90,91]. Estimates of urial and argali cleavage time have been performed in sheep based on male haplotypes so far only by [35]. In this case, the urial haplotype grouped with Asian mouflon haplotypes, in contrast to the mitochondrial genome where it formed a separate branch.

A key finding for the use of male haplotypes to study the population expansion of sheep populations was the discovery of eight SNP sites ($\sigma Y1$ – $\sigma Y8$) in the sex-determining gene (SRY) on MSY [92]. And only one of them ($\sigma Y1$) showed variability even within the species and not only between them [93]. Subsequently, the microsatellite marker *SRYM18* was discovered and thanks to it, the first 18 Y chromosomal haplotypes H1–H18 were defined [93].

In general, not as many studies have been performed in the field of research on male sheep haplotypes as in the mitochondrial genome (Figure 4). The first large worldwide study revealed, with the help of two markers (SRY SNP $\sigma Y1$ and microsatellite *SRYM18*) in domestic sheep, seven male haplotypes (H4–H10) that form two haplogroups [92]. Further research has taken over this methodological approach, including the nomenclature of the identified haplotypes. Follow-up studies revealed another H12 haplotype-specific for the Turkish Sakiz breed [93,94]. Other new haplotypes were subsequently discovered in Croatia—H18 [58] and northern China—H19, Ha, Hb [95,96]. Paternal genetic diversity of sheep has also been studied in Estonia and Finland on samples from the Bronze and

Iron Ages [17]. However, only one SNP marker on the SRY gene (*G-oY1*) was monitored; thus, it does not provide any further information on the variability of the male genome in Europe [17].

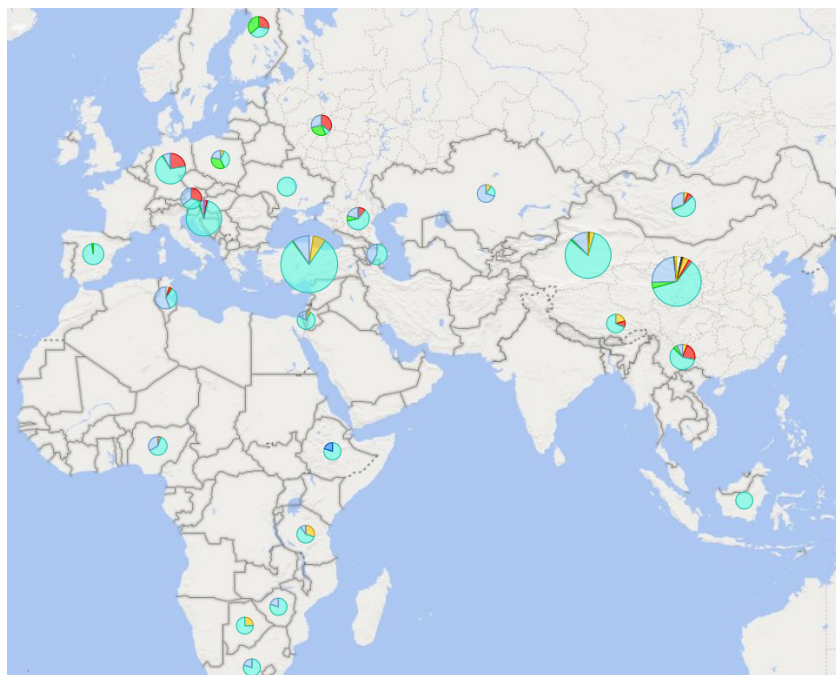


Figure 4. Species and frequencies of male haplotypes based on microsatellite markers in different areas of the Eastern Hemisphere. Color resolution of haplotypes: H4 H5 H6 H7 H8 H9 H10 H12 H18 H19 Ha Hb. The data are a compilation of the results of five studies [58,92–96]. On a scale of 5–386 samples per pie chart.

The last breakthrough in this area was made in 2020 when whole-genome sequences were used to create a new set of MSY 495 SNPs in sheep [35]. Based on 179 samples of rams sequenced in the whole genome, they identified 49 different Y haplotypes. Based on a selection of 79 SNPs and two others published in previous studies (*oY1*; *oY2*), the study identified 58 other different haplotypes for domestic sheep belonging to four haplogroups: *y-HA*, *y-HB*, *y-HC*, and *y-HD* [35]. A total of 614 sheep from populations all over the world performed this genotyping. However, only native breeds were selected for our review (Figure 5).

Based on the genome-wide study of breeds from all over the world, a certain weak relationship was found between the degree of genetic variability and the distance from the domestication center [8]. For haplotypes inherited solely by paternal or maternal lineage, this phenomenon should be more pronounced because they are not affected by the recombination process and are transmitted from generation to generation in practically unchanged form. So far, however, current research does not suggest anything like this (Figures 4 and 5).

Overall, the highest variability of male haplotypes is in sheep populations from areas close to the original center of domestication in the Middle East [95]. However, more data will be needed to support this assumption. Current findings so far point to the greatest variability in central China; see Figure 4. In contrast, the diversity of mitochondrial lines so far supports this assumption, as all known lines have been found in Turkey and Israel (Figure 3)—in the supposed original place of domestication.

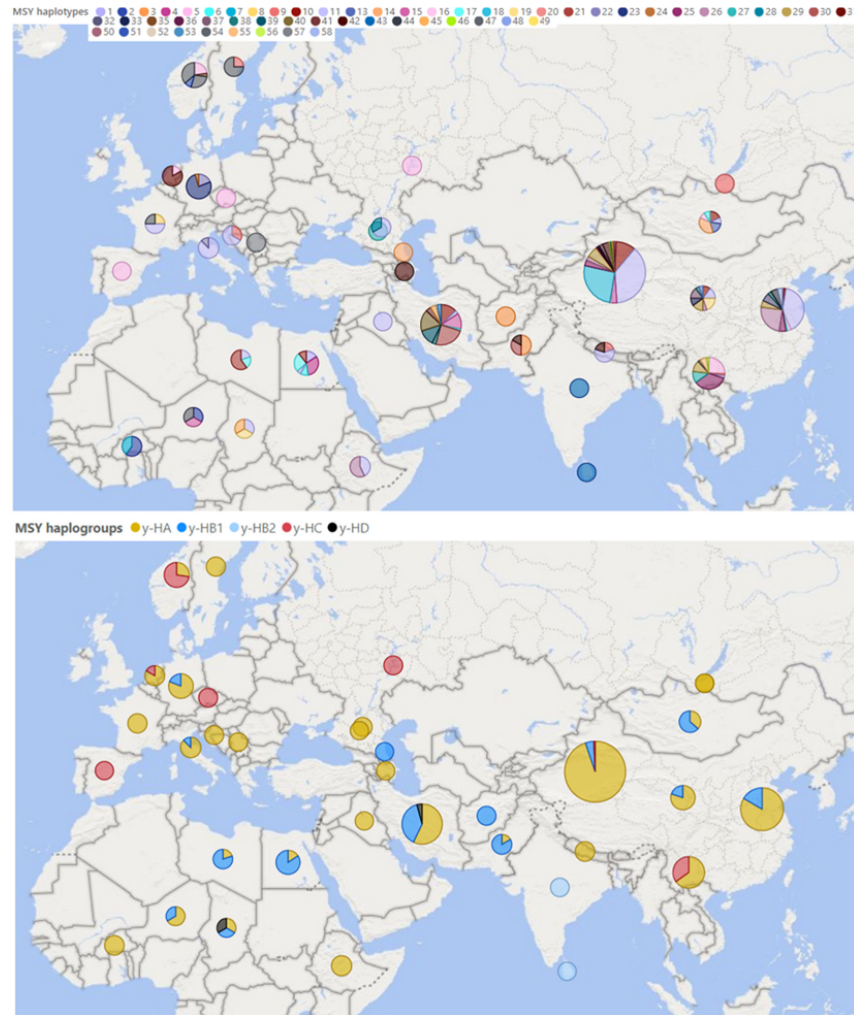


Figure 5. Male Y haplotypes and haplogroups occurring in native sheep breeds in the Eastern Hemisphere. Illustrated with program Power BI (Microsoft, 2022) [55]. The pictured data were taken over together with the nomenclature of the included haplotypes (H1–11; H13–33; H35–58) and haplogroups (y-HA; y-HB1; y-HB2; y-HC; y-HD) [35]. On a scale of 1–135 samples per pie chart.

4. Historical Background

It can be concluded that the highest diversity of the genome can be found as close as possible to the place of origin, as has been shown, for example, in humans [97]. For sheep, research in this area is a bit more complicated. Due to the controlled reproduction and trade of animals over long distances practically from the beginning of breeding, it is possible to infer a faster and more rapid spread of genetic material than was the case in humans. Initially, sheep farming focused mainly on meat, and specialization in secondary production elements, such as wool and milk, probably did not occur until many millennia later in Asia (7–6 thousand years BP) and millennia later in Europe [14,35,98]. Specialization in wool production probably originated in Southwest Asia and only then spread to Europe, which is confirmed by the study of retroviruses [14] and by the analysis of DNA of European sheep from the Bronze Age [99]. The introduction of a new breed into Central Europe in the late

Stone Age is also indicated by archaeological findings. A comparison with older findings confirmed the increase in the body frame of sheep breeds bred in the area of Bohemia and Moravia [100] and since the beginning of the Bronze age as well in Hungary [101]. Another example is the spread of merino sheep from the Iberian Peninsula since the second half of the 15th century throughout Europe [102]. Most primitive breeds today have withstood the second wave of migration to Europe in a semi-wild or wild state in isolated areas without predators or outside areas economically prone to introgression [14].

The first expansion of sheep went along with man mainly overland to Europe, Africa, and then deeper into Asia during the Mesolithic and Neolithic periods. Sheep reached other continents (America and Australia) much later with the first European colonists. The use of haplotypes to study the distribution of domestic sheep and its breeds in modern history is almost impossible by modern modes of transport. Particularly, commercially used breeds create something like a “global population” in which it is not possible to exclude the genetic proximity of individuals on different continents. Mitochondrial and Y haplotypes do not generate sufficiently genetically unique markers to study genetic diversity at this level. However, their potential for studying the phylogeny of the species, and especially its population dispersion, remains untapped.

5. Conclusions

The aim of this study was to capture the process of monitoring the dispersion and development of domestic sheep populations in different parts of the world through the study of male and female non-recombinant sections of DNA. The current review supports the existence of one domestication center in the Middle East. Nevertheless, crossbreeding with wild sheep species has probably often happened and occasionally continues to occur even now. This could be the reason why central China shows such high variability in male haplotypes. However, it can also be caused by the extinction of these variants in the Middle East, with Central Asia being a kind of reservoir of variability originating from the ancient sheep brought in from the fertile crescent.

The main challenge for the future is to involve more countries and regions while increasing the number of animals used for sequencing. Only based on a larger amount of these data combined with the genetic material from excavations, it will be possible to identify other domestication centers or refute their existence. It would also be necessary to unify the methodology and nomenclature of haplotypes for better comparability of the results of different research. But perhaps we may never know the truth because a vast amount of information is already lost forever.

Author Contributions: Conceptualization, investigation, visualization, writing—original draft preparation, K.M.; writing—review and editing, A.M.; supervision, L.V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ministry of Agriculture, Czech Republic No. QK1910156 and by the Czech University of Life Sciences, Czech Republic, SGS grant No. SV21-5-21360.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Zeder, M.A. Out of the Fertile Crescent: The Dispersal of Domestic Livestock through Europe and Africa. In *Human Dispersal and Species Movement*; Boivin, N., Petraglia, M., Crassard, R., Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2017; pp. 261–303.
2. Zeder, M.A. Animal Domestication in the Zagros: A Review of Past and Current Research. *Paléorient* **1999**, *25*, 11–25. [[CrossRef](#)]
3. Baird, D.; Fairbairn, A.; Jenkins, E.; Martin, L.; Middleton, C.; Pearson, J.; Asouti, E.; Edwards, Y.; Kabukcu, C.; Mustafaoğlu, G.; et al. Agricultural Origins on the Anatolian Plateau. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2018**, *115*, E3077–E3086. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Luigi-Sierra, M.G.; Mármol-Sánchez, E.; Amills, M. Comparing the Diversity of the Casein Genes in the Asian Mouflon and Domestic Sheep. *Anim. Genet.* **2020**, *51*, 470–475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Wright, D. Article Commentary: The Genetic Architecture of Domestication in Animals. *Bioinform. Biol. Insights* **2015**, *9* (Suppl. S4), 11–20. [[CrossRef](#)]
6. Lv, F.-H.; Agha, S.; Kantanen, J.; Colli, L.; Stucki, S.; Kijas, J.W.; Joost, S.; Li, M.-H.; Ajmone Marsan, P. Adaptations to Climate-Mediated Selective Pressures in Sheep. *Mol. Biol. Evol.* **2014**, *31*, 3324–3343. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Salces-Ortiz, J.; González, C.; Martínez, M.; Mayoral, T.; Calvo, J.H.; Serrano, M. Looking for Adaptive Footprints in the HSP90AA1 Ovine Gene. *BMC Evol. Biol.* **2015**, *15*, 7. [[CrossRef](#)]
8. Kijas, J.W.; Lenstra, J.A.; Hayes, B.; Boitard, S.; Porto Neto, L.R.; San Cristobal, M.; Servin, B.; McCulloch, R.; Whan, V.; Gietzen, K.; et al. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biol.* **2012**, *10*, e1001258. [[CrossRef](#)]
9. Ryder, M.L. Sheep. In *Evolution of Domesticated Animals*; Manson, I.L., Ed.; Longman Group Limited: London, UK; New York, NY, USA, 1984; pp. 63–84.
10. Hiendleder, S.; Kaupé, B.; Wassmuth, R.; Janke, A. Molecular Analysis of Wild and Domestic Sheep Questions Current Nomenclature and Provides Evidence for Domestication from Two Different Subspecies. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **2002**, *269*, 893–904. [[CrossRef](#)]
11. Tapio, M.; Marzanov, N.; Ozerov, M.; Činkulov, M.; Gonzarenko, G.; Kiselyova, T.; Murawski, M.; Viinalass, H.; Kantanen, J. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian, and Central Asian Areas. *Mol. Biol. Evol.* **2006**, *23*, 1776–1783. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Mariotti, M.; Valentini, A.; Marsan, P.A.; Pariset, L. Mitochondrial DNA of Seven Italian Sheep Breeds Shows Faint Signatures of Domestication and Suggests Recent Breed Formation. *Mitochondrial DNA* **2013**, *24*, 577–583. [[CrossRef](#)]
13. Rezaei, H.R.; Naderi, S.; Chintauan-Marquier, I.C.; Taberlet, P.; Virk, A.T.; Naghash, H.R.; Rioux, D.; Kaboli, M.; Pompanon, F. Evolution and Taxonomy of the Wild Species of the Genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* **2010**, *54*, 315–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Chessa, B.; Pereira, F.; Arnaud, F.; Amorim, A.; Goyache, F.; Mainland, I.; Kao, R.R.; Pemberton, J.M.; Beraldi, D.; Stear, M.J.; et al. Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science* **2009**, *324*, 532–536. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Wang, B.; Chen, L.; Wang, W. Genomic Insights into Ruminant Evolution: From Past to Future Prospects. *Zool. Res.* **2019**, *40*, 476–487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Kijas, J.W.; Townley, D.; Dalrymple, B.P.; Heaton, M.P.; Maddox, J.F.; McGrath, A.; Wilson, P.; Ingersoll, R.G.; McCulloch, R.; McWilliam, S.; et al. A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure of Sheep Breeds. *PLoS ONE* **2009**, *4*, e4668. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Rannamäe, E.; Lõugas, L.; Niemi, M.; Kantanen, J.; Maldre, L.; Kadõrova, N.; Saarma, U. Maternal and Paternal Genetic Diversity of Ancient Sheep in Estonia from the Late Bronze Age to the Post-Medieval Period and Comparison with Other Regions in Eurasia. *Anim. Genet.* **2016**, *47*, 208–218. [[CrossRef](#)]
18. Zhao, Y.-X.; Yang, J.; Lv, F.-H.; Hu, X.-J.; Xie, X.-L.; Zhang, M.; Li, W.-R.; Liu, M.-J.; Wang, Y.-T.; Li, J.-Q.; et al. Genomic Reconstruction of the History of Native Sheep Reveals the Peopling Patterns of Nomads and the Expansion of Early Pastoralism in East Asia. *Mol. Biol. Evol.* **2017**, *34*, 2380–2395. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Pardeshi, V.C.; Kadoo, N.Y.; Sainani, M.N.; Meadows, J.R.S.; Kijas, J.W.; Gupta, V.S. Mitochondrial Haplotypes Reveal a Strong Genetic Structure for Three Indian Sheep Breeds. *Anim. Genet.* **2007**, *38*, 460–466. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Nigussie, H.; Mwacharo, J.M.; Osama, S.; Agaba, M.; Mekasha, Y.; Kebede, K.; Abegaz, S.; Pal, S.K. Genetic Diversity and Matrilineal Genetic Origin of Fat-Rumped Sheep in Ethiopia. *Trop. Anim. Health Prod.* **2019**, *51*, 1393–1404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Chen, Z.-H.; Zhang, M.; Lv, F.-H.; Ren, X.; Li, W.-R.; Liu, M.-J.; Nam, K.; Bruford, M.W.; Li, M.-H. Contrasting Patterns of Genomic Diversity Reveal Accelerated Genetic Drift but Reduced Directional Selection on X-Chromosome in Wild and Domestic Sheep Species. *Genome Biol. Evol.* **2018**, *10*, 1282–1297. [[CrossRef](#)]
22. Chessa, S.; Giambra, I.J.; Brandt, H.; Caroli, A.M.; Gootwine, E.; Erhardt, G. Genetic Diversity within Economically Important Loci in European, Middle Eastern, and African Sheep Breeds: An Insight into Their Development. *Small Rumin. Res.* **2017**, *155*, 72–80. [[CrossRef](#)]
23. Brown, W.M.; George, M.; Wilson, A.C. Rapid Evolution of Animal Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 1967–1971. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Rafia, P.; Tarang, A. Sequence Variations of Mitochondrial DNA Displacement-Loop in Iranian Indig . . . : Elektronické Publikace Dostupné Na ČZU. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* **2016**, *6*, 363–368.
25. Mukhametzharova, I.; Islamov, Y.; Shauyenov, S.; Ibrayev, D.; Atavliyeva, S.; Tarlykov, P. Genetic Characterization of Kazakh Native Sheep Breeds Using Mitochondrial DNA. *Online J. Biol. Sci.* **2018**, *18*, 341–348. [[CrossRef](#)]
26. Meadows, J.R.S.; Cemal, I.; Karaca, O.; Gootwine, E.; Kijas, J.W. Five Ovine Mitochondrial Lineages Identified from Sheep Breeds of the near East. *Genetics* **2007**, *175*, 1371–1379. [[CrossRef](#)]
27. Yağci, S.; Baş, S.; Kiraz, S. Study of Mitochondrial DNA (MtDNA) D-Loop Region Polymorphism in Şavak Akkaraman Sheep. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* **2020**, *44*, 323–330. [[CrossRef](#)]
28. National Center for Biotechnology Information NCBI. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ipg/ADI57605.1> (accessed on 26 June 2020).

29. Demirci, S.; Koban Baştanlar, E.; Dağtaş, N.D.; Pişkin, E.; Engin, A.; Özer, F.; Yüncü, E.; Doğan, Ş.A.; Togan, İ. Mitochondrial DNA Diversity of Modern, Ancient and Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New Insights on the Evolutionary History of Sheep. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e81952. [[CrossRef](#)]
30. Dymova, M.A.; Zadorozhny, A.V.; Mishukova, O.V.; Khrapov, E.A.; Druzhkova, A.S.; Trifonov, V.A.; Kichigin, I.G.; Tishkin, A.A.; Grushin, S.P.; Filipenko, M.L. Mitochondrial DNA Analysis of Ancient Sheep from Altai. *Anim. Genet.* **2017**, *48*, 615–618. [[CrossRef](#)]
31. Wood, N.J.; Phua, S.H. Variation in the Control Region Sequence of the Sheep Mitochondrial Genome. *Anim. Genet.* **2009**, *27*, 25–33. [[CrossRef](#)]
32. Sanna, D.; Barbato, M.; Hadjisterkotis, E.; Cossu, P.; Decandia, L.; Trova, S.; Pirastru, M.; Leoni, G.G.; Naitana, S.; Francalacci, P.; et al. The First Mitogenome of the Cyprus Mouflon (*Ovis Gmelini Ophion*): New Insights into the Phylogeny of the Genus *Ovis*. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0144257. [[CrossRef](#)]
33. Meadows, J.R.S.; Hiendleder, S.; Kijas, J.W. Haplogroup Relationships between Domestic and Wild Sheep Resolved Using a Mitogenome Panel. *Heredity* **2011**, *106*, 700–706. [[CrossRef](#)]
34. Lv, F.-H.; Peng, W.-F.; Yang, J.; Zhao, Y.-X.; Li, W.-R.; Liu, M.-J.; Ma, Y.-H.; Zhao, Q.-J.; Yang, G.-L.; Wang, F.; et al. Mitogenomic Meta-Analysis Identifies Two Phases of Migration in the History of Eastern Eurasian Sheep. *Mol. Biol. Evol.* **2015**, *32*, 2515–2533. [[CrossRef](#)]
35. Deng, J.; Xie, X.-L.; Wang, D.-F.; Zhao, C.; Lv, F.-H.; Li, X.; Yang, J.; Yu, J.-L.; Shen, M.; Gao, L.; et al. Paternal Origins and Migratory Episodes of Domestic Sheep. *Curr. Biol.* **2020**, *30*, 4085–4095.e6. [[CrossRef](#)]
36. Çakırlar, C. The Evolution of Animal Husbandry in Neolithic Central-West Anatolia: The Zooarchaeological Record from Ulucak Höyük (c. 7040–5660 Cal. BC, Izmir, Turkey). *Anatol. Stud.* **2012**, *62*, 1–33. [[CrossRef](#)]
37. Mereu, P.; Pirastru, M.; Barbato, M.; Satta, V.; Hadjisterkotis, E.; Manca, L.; Naitana, S.; Leoni, G.G. Identification of an Ancestral Haplotype in the Mitochondrial Phylogeny of the Ovine Haplogroup B. *PeerJ* **2019**, *7*, e7895. [[CrossRef](#)]
38. Dotsev, A.V.; Kunz, E.; Shakhin, A.V.; Petrov, S.N.; Kostyunina, O.V.; Okhlopkov, I.M.; Deniskova, T.E.; Barbato, M.; Bagirov, V.A.; Medvedev, D.G.; et al. The First Complete Mitochondrial Genomes of Snow Sheep (*Ovis Nivicola*) and Thinhorn Sheep (*Ovis Dalli*) and Their Phylogenetic Implications for the Genus *Ovis*. *Mitochondrial DNA Part B* **2019**, *4*, 1332–1333. [[CrossRef](#)]
39. Scheu, A.; Geörg, C.; Schulz, A.; Burger, J.; Benecke, N. The Arrival of Domesticated Animals in South-Eastern Europe as Seen from Ancient DNA. In *Population Dynamics in Prehistory and Early History*; Kaiser, E., Burger, J., Schier, W., Eds.; Walter de Gruyter: Berlin, Germany, 2012; pp. 45–54. [[CrossRef](#)]
40. Molaei, V.; Bazzucchi, M.; De Mia, G.M.; Otarod, V.; Abdollahi, D.; Rosati, S.; Lühken, G. Phylogenetic Analysis of Small Ruminant Lentiviruses in Germany and Iran Suggests Their Expansion with Domestic Sheep. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 2243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Olivieri, C.; Ermini, L.; Rizzi, E.; Corti, G.; Luciani, S.; Marota, I.; De Bellis, G.; Rollo, F. Phylogenetic Position of a Copper Age Sheep (*Ovis aries*) Mitochondrial DNA. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e33792. [[CrossRef](#)]
42. Niemi, M.; Bläuer, A.; Iso-Touru, T.; Nyström, V.; Harjula, J.; Taavitsainen, J.-P.; Storå, J.; Lidén, K.; Kantanen, J. Mitochondrial DNA and Y-Chromosomal Diversity in Ancient Populations of Domestic Sheep (*Ovis aries*) in Finland: Comparison with Contemporary Sheep Breeds. *Genet. Sel. Evol.* **2013**, *45*, 2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Gáspárdy, A.; Berger, B.; Zabavnik-Piano, J.; Kovács, E.; Annus, K.; Zenke, P.; Sáfár, L.; Maróti-Agóts, Á. Comparison of MtDNA Control Region among Descendant Breeds of the Extinct Zaupel Sheep Revealed Haplogroup C and D in Central Europe. *Vet. Med. Sci.* **2021**, *7*, 2330–2338. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Liu, J.; Ding, X.; Zeng, Y.; Yue, Y.; Guo, X.; Guo, T.; Chu, M.; Wang, F.; Han, J.; Feng, R.; et al. Genetic Diversity and Phylogenetic Evolution of Tibetan Sheep Based on MtDNA D-Loop Sequences. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0159308. [[CrossRef](#)]
45. Tapio, I.; Värvi, S.; Bennewitz, J.; Maleviciute, J.; Fimland, E.; Grisliis, Z.; Meuwissen, T.H.E.; Miceikiene, I.; Olsaker, I.; Viinalass, H.; et al. Prioritization for Conservation of Northern European Cattle Breeds Based on Analysis of Microsatellite Data. *Conserv. Biol.* **2006**, *20*, 1768–1779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Singh, S.; Kumar, S., Jr.; Kolte, A.P.; Kumar, S. Extensive Variation and Sub-Structuring in Lineage A MtDNA in Indian Sheep: Genetic Evidence for Domestication of Sheep in India. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e77858. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Muigai, A.W.T.; Hanotte, O. The Origin of African Sheep: Archaeological and Genetic Perspectives. *Afr. Archaeol. Rev.* **2013**, *30*, 39–50. [[CrossRef](#)]
48. Gornas, N.; Weimann, C.; El Hussien, A.; Erhardt, G. Genetic Characterization of Local Sudanese Sheep Breeds Using DNA Markers. *Small Rumin. Res.* **2011**, *95*, 27–33. [[CrossRef](#)]
49. Resende, A.; Gonçalves, J.; Muigai, A.W.T.; Pereira, F. Mitochondrial DNA Variation of Domestic Sheep (*Ovis aries*) in Kenya. *Anim. Genet.* **2016**, *47*, 377–381. [[CrossRef](#)]
50. Álvarez, I.; Capote, J.; Traoré, A.; Fonseca, N.; Pérez, K.; Cuervo, M.; Fernández, I.; Goyache, F. Mitochondrial Analysis Sheds Light on the Origin of Hair Sheep. *Anim. Genet.* **2013**, *44*, 344–347. [[CrossRef](#)]
51. Kim, Y.S.; Tseveen, K.; Batsukh, B.; Seong, J.; Kong, H.S. Origin-Related Study of Genetic Diversity and Heteroplasmy of Mongolian Sheep (*Ovis arie*) Using Mitochondrial DNA. *J. Anim. Reprod. Biotechnol.* **2020**, *35*, 198–206. [[CrossRef](#)]
52. Ganbold, O.; Lee, S.-H.; Seo, D.; Paek, W.K.; Manjula, P.; Munkhbayar, M.; Lee, J.H. Genetic Diversity and the Origin of Mongolian Native Sheep. *Livest. Sci.* **2019**, *220*, 17–25. [[CrossRef](#)]

53. Xiao, P.; Niu, L.L.; Zhao, Q.J.; Chen, X.Y.; Wang, L.J.; Li, L.; Zhang, H.P.; Guo, J.Z.; Xu, H.Y.; Zhong, T. New Insights into Mitogenomic Phylogeny and Copy Number in Eight Indigenous Sheep Populations Based on the ATP Synthase and Cytochrome c Oxidase Genes. *Animal* **2018**, *12*, 1341–1349. [[CrossRef](#)]
54. Ibrahim, A.; Budisatria, I.G.S.; Widayanti, R.; Artama, W.T. The Genetic Profiles and Maternal Origin of Local Sheep Breeds on Java Island (Indonesia) Based on Complete Mitochondrial DNA D-Loop Sequences. *Vet. World* **2020**, *13*, 2625–2634. [[CrossRef](#)]
55. Arora, R.; Yadav, H.S.; Mishra, B.P. Mitochondrial DNA Diversity in Indian Sheep. *Livest. Sci.* **2013**, *153*, 50–55. [[CrossRef](#)]
56. Ćinkulov, M.; Popovski, Z.; Porcu, K.; Tanaskovska, B.; Hodžić, A.; Bytyqi, H.; Mehmeti, H.; Margeta, V.; Djedović, R.; Hoda, A.; et al. Genetic Diversity and Structure of the West Balkan Pramenka Sheep Types as Revealed by Microsatellite and Mitochondrial DNA Analysis. *J. Anim. Breed. Genet.* **2008**, *125*, 417–426. [[CrossRef](#)]
57. Dudu, A.; Ghiță, E.; Costache, M.; Georgescu, S.E. Origin and Genetic Diversity of Romanian Racka Sheep Using Mitochondrial Markers. *Small Rumin. Res.* **2016**, *144*, 276–282. [[CrossRef](#)]
58. Ferencakovic, M.; Curik, I.; Pérez-Pardal, L.; Royo, L.J.; Cubric-Curik, V.; Fernández, I.; Álvarez, I.; Kostelic, A.; Sprem, N.; Krapinec, K.; et al. Mitochondrial DNA and Y-Chromosome Diversity in East Adriatic Sheep. *Anim. Genet.* **2013**, *44*, 184–192. [[CrossRef](#)]
59. Ghernouti, N.; Bodinier, M.; Ranebi, D.; Maftah, A.; Petit, D.; Gaouar, S.B.S. Control Region of MtDNA Identifies Three Migration Events of Sheep Breeds in Algeria. *Small Rumin. Res.* **2017**, *155*, 66–71. [[CrossRef](#)]
60. Gorkhali, N.A.; Han, J.L.; Ma, Y.H. Mitochondrial DNA Variation in Indigenous Sheep (*Ovis aries*) Breeds of Nepal. *Trop. Agric. Res.* **2015**, *26*, 632. [[CrossRef](#)]
61. Guangxin, E.; Yong-Ju, Z.; Ri-Su, N.; Yue-Hui, M.; Jia-Hua, Z.; Li-Peng, C.; Xiao-Yu, Q.; Zhong-Quan, Z.; Ya-Wang, S.; Xin, W.; et al. Meta-Analysis Evidence of Maternal Lineages in Chinese Tibetan Sheep Using MtDNA D-Loop Panel. *Mitochondrial DNA Part A* **2017**, *28*, 579–583. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Guo, J.; Du, L.-X.; Ma, Y.-H.; Guan, W.-J.; Li, H.-B.; Zhao, Q.-J.; Li, X.; Rao, S.-Q. A Novel Maternal Lineage Revealed in Sheep (*Ovis aries*). *Anim. Genet.* **2005**, *36*, 331–336. [[CrossRef](#)]
63. Hamadallahmad, A.; Almezaiad, M.; Javadmanesh, A. Genetic Similarity Comparison between Some Iranian and Middle Eastern Sheep Breeds Using Mitochondrial Control Region Sequencing. *DYSONA Life Sci.* **2020**, *1*, 20–24. [[CrossRef](#)]
64. Hussain, T.; Babar, M.E.; Wajid, A. Extra Nuclear DNA Control Region and Cytochrome b Gene Based Phylogeny Kashmir: Implications Towards Conservation. *JAPS J. Anim. Plant Sci.* **2016**, *26*, 1890–1893.
65. Kandoussi, A.; Boujenane, I.; Auger, C.; Serranito, B.; Germot, A.; Piro, M.; Maftah, A.; Badaoui, B.; Petit, D. The Origin of Sheep Settlement in Western Mediterranean. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 10225. [[CrossRef](#)]
66. Kiricki, K.; Noce, A.; Cam, M.A.; Mercan, L.; Amills, M. The Analysis of Mitochondrial Data Indicates the Existence of Population Substructure in Karayaka Sheep. *Small Rumin. Res.* **2018**, *162*, 25–29. [[CrossRef](#)]
67. Koseniuk, A.; Słota, E. Mitochondrial Control Region Diversity in Polish Sheep Breeds. *Arch. Anim. Breed.* **2016**, *59*, 227–233. [[CrossRef](#)]
68. Liu, J.; Lu, Z.; Yuan, C.; Wang, F.; Yang, B. Phylogeography and Phylogenetic Evolution in Tibetan Sheep Based on MT-CYB Sequences. *Animals* **2020**, *10*, 1177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Meadows, J.R.S.; Li, K.; Kantanen, J.; Tapio, M.; Sipos, W.; Pardeshi, V.; Gupta, V.; Calvo, J.H.; Whan, V.; Norris, B.; et al. Mitochondrial Sequence Reveals High Levels of Gene Flow Between Breeds of Domestic Sheep from Asia and Europe. *J. Hered.* **2005**, *96*, 494–501. [[CrossRef](#)]
70. Mustafa, S.I.; Schwarzacher, T.; Heslop-Harrison, J.S. Complete Mitogenomes from Kurdistani Sheep: Abundant Centromeric Nuclear Copies Representing Diverse Ancestors. *Mitochondrial DNA Part A* **2018**, *29*, 1180–1193. [[CrossRef](#)]
71. Oner, Y.; Calvo, J.H.; Elmaci, C. Investigation of the Genetic Diversity among Native Turkish Sheep Breeds Using MtDNA Polymorphisms. *Trop. Anim. Health Prod.* **2013**, *45*, 947–951. [[CrossRef](#)]
72. Othman, O.E.; Pariset, L.; Balabel, E.A.; Mariotti, M. Genetic Characterization of Egyptian and Italian Sheep Breeds Using Mitochondrial DNA. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* **2015**, *13*, 79–86. [[CrossRef](#)]
73. Pariset, L.; Mariotti, M.; Gargani, M.; Joost, S.; Negrini, R.; Perez, T.; Bruford, M.; Ajmone Marsan, P.; Valentini, A. Genetic Diversity of Sheep Breeds from Albania, Greece, and Italy Assessed by Mitochondrial DNA and Nuclear Polymorphisms (SNPs). *Sci. World J.* **2011**, *11*, 1641–1659. [[CrossRef](#)]
74. Sharma, R.; Ahlawat, S.; Sharma, H.; Sharma, P.; Panchal, P.; Arora, R.; Tantiya, M.S. Microsatellite and Mitochondrial DNA Analyses Unveil the Genetic Structure of Native Sheep Breeds from Three Major Agro-Ecological Regions of India. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 20422. [[CrossRef](#)]
75. Sulaiman, Y.; Wu, C.; Zhao, C. Phylogeny of 19 Indigenous Sheep Populations in Northwestern China Inferred from Mitochondrial DNA Control Region. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* **2011**, *6*, 71–79. [[CrossRef](#)]
76. Yüncü, E.; Demirci, S.; Koban Baştanlar, E.; Doğan, Ş.A.; Taşdemir, U.; Togan, İ. Comparative Study of Three Simple Molecular Approaches in Search of MtDNA Haplogroup Identification of Domestic Sheep. *Small Rumin. Res.* **2013**, *114*, 64–71. [[CrossRef](#)]
77. Cai, D.; Tang, Z.; Yu, H.; Han, L.; Ren, X.; Zhao, X.; Zhu, H.; Zhou, H. Early History of Chinese Domestic Sheep Indicated by Ancient DNA Analysis of Bronze Age Individuals. *J. Archaeol. Sci.* **2011**, *38*, 896–902. [[CrossRef](#)]
78. Chen, S.-Y.; Duan, Z.-Y.; Sha, T.; Xiangyu, J.; Wu, S.-F.; Zhang, Y.-P. Origin, Genetic Diversity, and Population Structure of Chinese Domestic Sheep. *Gene* **2006**, *376*, 216–223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

79. Udo, H.M.J.; Budisatria, I.G.S. Fat-Tailed Sheep in Indonesia; an Essential Resource for Smallholders. *Trop. Anim. Health Prod.* **2011**, *43*, 1411–1418. [[CrossRef](#)]
80. Horsburgh, K.A.; Rhines, A. Genetic Characterization of an Archaeological Sheep Assemblage from South Africa's Western Cape. *J. Archaeol. Sci.* **2010**, *37*, 2906–2910. [[CrossRef](#)]
81. Alonso, R.A.; Ulloa-Arvizu, R.; Gayosso-Vázquez, A. Mitochondrial DNA Sequence Analysis of the Mexican Creole Sheep (*Ovis aries*) Reveals a Narrow Iberian Maternal Origin. *Mitochondrial DNA Part A* **2017**, *28*, 793–800. [[CrossRef](#)]
82. Delgado, J.V.; Perezgrovas, R.; Camacho, M.E.; Fresno, M.; Barba, C. The Wool-Less Canary Sheep and Their Relationship with the Present Breeds in America. *Anim. Genet. Resour. Inf.* **2000**, *28*, 27–34. [[CrossRef](#)]
83. Spangler, G.L.; Rosen, B.D.; Ilori, M.B.; Hanotte, O.; Kim, E.-S.; Sonstegard, T.S.; Burke, J.M.; Morgan, J.L.M.; Notter, D.R.; Van Tassell, C.P. Whole Genome Structural Analysis of Caribbean Hair Sheep Reveals Quantitative Link to West African Ancestry. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0179021. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Muigai, A.W.T.; Hirbo, J.; Sharkey, S.; Rege, J.E.O.; Blackburn, H.; Hanotte, O. Genetic diversity and relationships of hair sheep breeds of the Americas: First results. In Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, 19–23 August 2002; pp. 1–4.
85. Campos, E.; Cuéllar, J.; Salvador, O.; García-Trejo, E.A.; Pereira, F. The Genetic Diversity and Phylogeography of Mexican Domestic Sheep. *Small Rumin. Res.* **2020**, *187*, 106109. [[CrossRef](#)]
86. Parsons, D.; Nicholson, C.F. Assessing Policy Options for Agricultural Livestock Development: A Case Study of Mexico's Sheep Sector. *Cogent Food Agric.* **2017**, *3*, 1313360. [[CrossRef](#)]
87. Macias-Cruz, U.; Álvarez-Valenzuela, F.D.; Correa-Calderón, A.; Molina-Ramírez, L.; González-Reyna, A.; Soto-Navarro, S.; Avendaño-Reyes, L. Pelibuey Ewe Productivity and Subsequent Pre-Weaning Lamb Performance Using Hair-Sheep Breeds Under a Confinement System. *J. Appl. Anim. Res.* **2009**, *36*, 255–260. [[CrossRef](#)]
88. Revelo, H.A.; López-Alvarez, D.; Landi, V.; Rizzo, L.; Alvarez, L.A. Mitochondrial DNA Variations in Colombian Creole Sheep Confirm an Iberian Origin and Shed Light on the Dynamics of Introduction Events of African Genotypes. *Animals* **2020**, *10*, 1594. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. Bravo, S.; Larama, G.; Quiñones, J.; Paz, E.; Rodero, E.; Sepúlveda, N. Genetic Diversity and Phylogenetic Relationship among Araucana Creole Sheep and Spanish Sheep Breeds. *Small Rumin. Res.* **2019**, *172*, 23–30. [[CrossRef](#)]
90. Hu, X.-J.; Yang, J.; Xie, X.-L.; Lv, F.-H.; Cao, Y.-H.; Li, W.-R.; Liu, M.-J.; Wang, Y.-T.; Li, J.-Q.; Liu, Y.-G.; et al. The Genome Landscape of Tibetan Sheep Reveals Adaptive Introgression from Argali and the History of Early Human Settlements on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Mol. Biol. Evol.* **2019**, *36*, 283–303. [[CrossRef](#)]
91. Barbato, M.; Hailer, F.; Orozco-terWengel, P.; Kijas, J.; Mereu, P.; Cabras, P.; Mazza, R.; Pirastru, M.; Bruford, M.W. Genomic Signatures of Adaptive Introgression from European Mouflon into Domestic Sheep. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 7623. [[CrossRef](#)]
92. Meadows, J.R.S.; Hanotte, O.; Drögemüller, C.; Calvo, J.; Godfrey, R.; Coltman, D.; Maddox, J.F.; Marzanov, N.; Kantanen, J.; Kijas, J.W. Globally Dispersed Y Chromosomal Haplotypes in Wild and Domestic Sheep. *Anim. Genet.* **2006**, *37*, 444–453. [[CrossRef](#)]
93. Meadows, J.R.S.; Kijas, J.W. Re-Sequencing Regions of the Ovine Y Chromosome in Domestic and Wild Sheep Reveals Novel Paternal Haplotypes. *Anim. Genet.* **2009**, *40*, 119–123. [[CrossRef](#)]
94. Parmaksiz, A.; Oymak, A.; Yüncü, E.; Demirci, S.; Koban Baştanlar, E.; Özkan Ünal, E.; Togan, İ.; Özer, F. Türkiye'den 12 Yerli Karagül, Karacabey Merinosu ve Anadolu Yaban Koyununda (*Ovis gmelinii anatolica*) Y-Kromozom Polimorfizmleri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* **2018**, *24*, 821–828. [[CrossRef](#)]
95. Zhang, M.; Peng, W.-F.; Yang, G.-L.; Lv, F.-H.; Liu, M.-J.; Li, W.-R.; Liu, Y.-G.; Li, J.-Q.; Wang, F.; Shen, Z.-Q.; et al. Y Chromosome Haplotype Diversity of Domestic Sheep (*Ovis aries*) in Northern Eurasia. *Anim. Genet.* **2014**, *45*, 903–907. [[CrossRef](#)]
96. Wang, Y.; Xu, L.; Yan, W.; Li, S.; Wang, J.; Liu, X.; Hu, J.; Luo, Y. Y Chromosomal Haplotype Characteristics of Domestic Sheep (*Ovis aries*) in China. *Gene* **2015**, *565*, 242–245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Li, J.Z.; Absher, D.M.; Tang, H.; Southwick, A.M.; Casto, A.M.; Ramachandran, S.; Cann, H.M.; Barsh, G.S.; Feldman, M.; Cavalli-Sforza, L.L.; et al. Worldwide Human Relationships Inferred from Genome-Wide Patterns of Variation. *Science* **2008**, *319*, 1100–1104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
98. Becker, C.; Benecke, N.; Grabundžija, A.; Küchelmann, H.-C.; Pollock, S.; Schier, W.; Schoch, C.; Schrakamp, I.; Schütt, B.; Schumacher, M. The Textile Revolution. Research into the Origin and Spread of Wool Production between the Near East and Central Europe. *eTopoi J. Anc. Stud.* **2016**, *6*, 102–151.
99. Sabatini, S.; Bergerbrant, S.; Brandt, L.Ø.; Margaryan, A.; Allentoft, M.E. Approaching Sheep Herds Origins and the Emergence of the Wool Economy in Continental Europe during the Bronze Age. *Archaeol. Anthropol. Sci.* **2019**, *11*, 4909–4925. [[CrossRef](#)]
100. Kysely, R. The Size of Domestic Cattle, Sheep, Goats and Pigs in the Czech Neolithic and Eneolithic Periods: Temporal Variations and Their Causes. *Archaeofauna* **2016**, *25*, 33–78.
101. Bokonyi, S. The Development and History of Domestic Animals in Hungary: The Neolithic Through the Middle Ages. *Am. Anthropol.* **1971**, *73*, 640–674. [[CrossRef](#)]
102. Landi, V.; Lasagna, E.; Ceccobelli, S.; Martinez, A.; Santos-Silva, F.; Vega-Pla, J.L.; Panella, F.; Allain, D.; Palihere, I.; Murawski, M.; et al. An Historical and Biogeographical Assessment of European Merino Sheep Breeds by Microsatellite Markers. *Small Rumin. Res.* **2019**, *177*, 76–81. [[CrossRef](#)]

5 Souhrnné výsledky a diskuse

Tato kapitola pojednává o výsledcích publikovaných prací a rozvádí je v širším kontextu. Detailní výsledky a metodiky jednotlivých prací jsou detailně popsány v podkapitolách 4.1–4.5. Pro větší přehlednost je každé práci věnována samostatná podkapitola uváděna v pořadí, ve kterém byly práce seřazeny v předchozím oddílu.

5.1 Hodnocení genetické diverzity dvou českých původních plemen ovcí (Machová et al. 2021)

V současnosti je existence mnoha původních hospodářských plemen zvířat napříč kontinenty a druhy ohrožena ztrátou genetické diverzity, včetně prasat (Pattison et al. 2007; Krupa et al. 2015), ovcí a koz (Qwabe et al. 2013; Hasinah et al. 2015; Sharma et al. 2016; Lenstra et al. 2017), koní (Pinheiro et al. 2013; Vostra-Vydrova et al. 2016) i skotu (Sudrajad et al. 2017; Browett et al. 2018; ben Jemaa et al. 2019b). Nejvíce ohrožený je sdružený region Evropy, Kavkazu a Severní Ameriky kvůli všeobecnému zaměření na intenzivní chovy, v nichž převládá malé množství plemen s vysokou produkcí (FAO 2020). Z akutní potřeby záchranných opatření pro ohrožená plemena vyplývá i potřeba monitoringu genetické diverzity, v němž i v 21. století má své stálé místo genealogická analýza.

Naše studie vůbec poprvé provedla analýzu rodokmenu dvou plemen ovcí (valašské a šumavské ovce) zařazených do genetických rezerv České republiky. Pro co nejhodnotnější výstup z genealogické analýzy je nezbytný kvalitní vstup v podobě vysoce informativního rodokmenu. V rámci naší studie jsme se zaměřili na dva hlavní ukazatele, efektivní počet kompletních generací (*CGE*) a na index kompletnosti rodokmenu (*PCI*). Oba rodokmeny námi sledovaných plemen dosahovaly velmi dobrých hodnot jak *PCI* (1 pro pátou generaci nazpět od referenční populace), tak *CGE* (5,66 u valašské a 4,35 u šumavské). Pro srovnání, jiná původní plemena mají *CGE* výrazně nižší, například indická nilagiri 3,75 (Venkataramanan et al. 2013), španělská segureña 1,23 (Barros et al. 2017) nebo xalda 1,09 (Goyache et al. 2003).

Podle Ghafouri-Kesbi (2012) ovlivňuje nepřímo roční ztrátu genetické diverzity generační interval, protože čím je delší, tím pomalejší bude nárůst inbreedingu. I v tomto ohledu jsou se svým generačním intervalem delším než čtyři roky obě česká plemena lepší než jiná plemena pohybující se obvykle mezi třemi až pěti lety (Goyache et al. 2003; Tahmoorespur & Sheikhloo

2011; Venkataramanan et al. 2013; Sheikhlou & Abbasi 2016). Tento efekt generačního intervalu na genetickou diverzitu je ale spíše kosmetický, protože na její skutečnou hodnotu v rámci populace nemá žádný vliv. Důležitější roli hraje využívání samců v populaci. Ve slovenských chovech ovcí dochází k rychlé výměně samců ve stádech valašské ovce a jejich generační interval je kratší než u obou českých plemen (Oravcová & Krupa 2011), u nichž nebyl pozorován žádný výrazný rozdíl v délce generačního intervalu samců a samic.

Hlavní ukazatele genetické diverzity nejsou příznivé, zvláště u valašské ovce. Konkrétně konzervace genetické diverzity základní populace je u valašské ovce o polovinu menší než u ovce šumavské ($f_{ge} = 10,3$ vs. $f_{ge} = 22,8$). Podobné je to i u průměrného koeficientu inbreedingu ($F = 5\%$ vs. $F = 3\%$) a jeho nárůstu za generaci ($\Delta F = 1\%$ vs. $\Delta F = 0,5\%$), který je u ovce valašské naopak asi o polovinu vyšší. Tyto hodnoty nejsou v absolutním měřítku nijak vysoké, pokud ale vezmeme do úvahy metaanalýzu provedenou (Leroy 2014), znamenaly by tyto hodnoty u valašské a šumavské ovce téměř stejnoměrný (0,97 % na 1 % ΔF po standardizaci na směrodatnou odchylkou produkčního znaku) každoroční pokles produkce vlny. Průměrná příbuznost, jakožto prediktor dlouhodobého vývoje inbreedingu v uzavřené populaci, je u valašské ovce ($AR = 9,2\%$) výrazně vyšší nejen ve srovnání s ovci šumavskou ($AR = 2,6\%$), ale i v mezinárodním kontextu. Například u ovce malpura byla zaznamenána hodnota AR 5,1 % (Gowane et al. 2014), u ovce xalda 3,6 % (Goyache et al. 2003) a u ovce segureña pouze 0,1 % (Barros et al. 2017). U plemen segureña a xalda však mohou být hodnoty silně zkresleny malou hloubkou rodokmenu (Goyache et al. 2003; Barros et al. 2017). Efektivní velikost populace vypočítaná na základě individuálního nárůstu inbreedingu je u valašské ovce přesně na hranici 50 jedinců stanovených Komisí genetických zdrojů pro výživu a zemědělství (CGRFA 2013) jako kritérium pro umístění do kategorie plemen „ohrožená“. U šumavské ovce je situace o něco lepší, ale stejně u tohoto koeficientu nedosahuje ani 100 hypotetických jedinců ($N_{eF} = 99,6$). Efektivní velikost populace vypočtená na základě nárůstu příbuznosti je u obou plemen o něco lepší, konkrétně u šumavské ovce 166,1 a u valašské 64,5.

Celkově lze shrnout, že obě populace ztratily značnou část genetické variability oproti původní zakladatelské populaci. Podle hodnot průměrného nárůstu inbreedingu a efektivní velikosti populace u referenční populace je možné usuzovat, že se obě plemena, hlavně však valašská ovce, mohou potýkat s důsledky inbrední deprese. Valašská ovce se pohybuje na hranici kritických hodnot N_e i ΔF a u šumavské ovce se rychle zvyšuje koeficient inbreedingu, přičemž

populace stagnuje. Při dobrém managementu chovu ale mají dobrou šanci na udržení současné genetické diverzity, protože obě plemena mají i kryokonzervační program.

5.2 Genealogická analýza populace zubra evropského (Machová et al. 2022b)

Oproti předcházející genealogické analýze u ovcí je analýza rodokmenových knih zubra evropského (*Bison bonasus* (Linnaeus, 1758)) v řadě ohledů specifická. Na druhou stranu, přesto že je zubr samostatným živočišným druhem, je značná (v minulosti dokonce výhradní) část jeho populace pod lidskou kontrolou. Historicky jeho populace totiž poklesla natolik, že i mezi plemeny hospodářských zvířat by byla s tak obrovským efektem hrdla lahve ojedinelá. Současný genofond populace zubra totiž vychází z pouhých 12 rozdílných genotypů (Slatis 1960). Od doby prvních záchranných pokusů ale uplynulo už více než 100 let a současná populace čítá už více jak 2,5 tisíce dospělců a z kategorie míry ohrožení druhu „vyhynulý v přírodě“ se dostala až na „téměř ohrožený“ (Plumb et al. 2020).

Výsledky studie ukázaly poměrně vysoké hodnoty maximálního počtu sledovatelných generací (23) i CGE (6,72) v porovnání s námi studovanými plemeny ovcí ($CGE_v = 5,66$; $CGE_s = 4,5$), ale dokonce i s produkčními chovy skotu, u nichž by se dala očekávat vyšší čísla vzhledem k tomu, že jsou dlouhodobě kompletně chována v zajetí. Například u dánských plemen skotu (holštýnsko-fríský skot, jersey, dánský červený skot) byly vypočítány hodnoty $CGE = 7,20$, $CGE = 7,36$, respektive $CGE = 6,77$ (Sørensen et al. 2005). Ještě menších hodnot dosahovalo plemeno brown swiss v Německu ($CGE = 6,24$) (Wirth et al. 2021), španělského lidijského plemene ($CGE = 5,50$) (Cortés et al. 2019), nebo plemene normand v Kolumbii ($CGE = 5,21$) (Sarmiento et al. 2017). Toto srovnání má samozřejmě svoje limity v celkovém stáří rodokmenu plemene a nejednotnosti celosvětových záznamů, které oba snižují CGE ať už absolutně (rodokmen sahá jen několik generací zpět) nebo relativně (větším množstvím neznámých předků). Tímto druhým faktorem je významně limitována i informativnost rodokmenu zubra. Hlavním důvodem je navracení jedinců z volné přírody do rodokmenových záznamů. O těchto jedincích už neexistují záznamy o původu a vystupují tak v rodokmenu jako noví zakladatelé, i když jimi být nemohou.

S přihlédnutím k úplnosti rodokmenu by tak všechny sledované koeficienty měly být chápány jako chybné, protože skutečná hodnota musí být v této konkrétní populaci zákonitě nižší. S dalšími zařazenými jedinci se tento problém jen prohlubuje, jak jsme sledovali během naší

studie na poměru mezi efektivním počtem předků a zakladatelů. Rok před zařazením tehdy poslední rodokmenové knihy z roku 2020 byla hodnota tohoto poměru 1,13, se zařazením záznamů z roku 2021 už jen 1,0. Co se týče hodnot průměrného koeficientu inbreedingu a průměrné příbuznosti, je situace obdobná. Studie zabývající se dvěma stády v Bieszczadech zaznamenala jejich průměrnou příbuznost 24,44 %, respektive 32,98 %, a průměrný F 13,70 % a 37,63 % (Olech & Perzanowski 2002). I pro celé linie byly dosud vypočítány vyšší hodnoty koeficientu inbreedingu než v této studii (zhruba 17 % pro nížinnou i nížino-kavkazskou linii). V letech 1996-2002 se jeho hodnoty u nově narozených zvířat pohybovaly okolo 50 % pro nížinnou a 30 % pro nížino-kavkazskou linii (Olech 2003).

Blízký příbuzný bizona evropského bizon americký rovněž prošel několika efekty hrdla lahve a jeho současná populace byla založena na méně než 100 jedincích (Skotarczak et al. 2020). I tak vykazuje populace zubra nižší genetickou variabilitu při porovnání výsledků této studie s hodnocením provedeným Skotarczak a kol. (2018). Ta byla provedena na 4 269 bizonech, u nichž průměrný F dosahoval 3,26 % a nejvyšší naměřený F 46,87 %, přičemž u zubra tato studie ukázala průměrný F 17,881 % a maximální 71,83 %. Velmi nízká byla i hodnota AR 0,31 %, oproti 16,07 % AR pozorované u zubra. Jinak tomu bylo v případě efektivní velikosti populace. N_e vypočtená na základě nárůstu bizona amerického čítala 11,64 hypotetických jedinců (Skotarczak et al. 2018), kdežto u zubra 23,93. Podobná hodnota byla zaznamenána rovněž u buvola jafarabadi, $N_e = 10,40$ (Malhado et al. 2013). Hodnotu $N_e = 28$, tedy velmi blízkou té, která byla získána během této studie, vypočítali na základě mikrosatelitní analýzy v Bělověžském pralese u 71 zvířat narozených v letech 1996 až 2005 Tokarska a kol. (2009).

Uzavřené populace s tak malým počtem zakládajících jedinců se běžně ve volné přírodě vyskytují a některé dokonce procházejí in situ speciací (Whittaker et al. 2017). Vznik takových populací je však častěji zachycen u nových plemen domestikovaných zvířat nebo laboratorních kmenů, na jejichž vzniku se přímo podílí člověk (Yuan et al. 2013; Huson et al. 2020; Machová et al. 2020; Okumura et al. 2021). Nejčastějším problémem takových populací je těžká inbrední deprese (Kyriazis et al. 2021). V některých případech je však populace díky efektu hrdla lahve očištěna od silně škodlivých mutací a populace je pak nadále životaschopná i po stovky let (Robinson et al. 2018). To by snad mohl být i případ zubra evropského, jehož populace nevykazuje žádné závažné známky inbrední deprese (Tokarska et al. 2015). V případě chovů držených v zajetí by stejně tak mohla mít podobný efekt adaptace na chov v zajetí, tato studie

ale zahrnovala všechny typy chovu (chov ve volnosti, chov částečně v zajetí, chov v zajetí), které jedinci mohli během svého života i střídat, takže není možné určit rozsah těchto vlivů.

5.3 Analýza genetické variability 26 plemen ovcí v ČR (Machová 2020)

Genealogická analýza má neopomenutelné limity, kterými byly ovlivněny předcházející dvě studie. Jsou to především chyby v zápisu do rodokmenu, neúplnost rodokmenu a omezenost na mendelistickou dědičnost vloh (Leroy 2011). Pro komplexní zhodnocení genetické variability případně možnou srovnatelnost její míry s dalšími populacemi je nutné využít molekulární genetické metody. Řada autorů využívá pro tyto účely právě mikrosatelity jako dostupné a vysoce informativní markery (Rochus & Johansson 2017; Škorput et al. 2018; Zeng et al. 2019; Goleman et al. 2019). Ze stejného důvodu byly použity mikrosatelity i v této studii zaměřené na zhodnocení vnitrodruhové genetické diverzity a zároveň mezidruhové diverzity šumavské a valašské ovce v kontextu dalších 24 plemen chovaných v České republice.

Celkový počet alel na lokusech se pohyboval v rozmezí mezi 8 a 27 alelami. Jedinečné alely byly nalezeny pouze u 16 plemen v celkovém počtu 27, z nichž pouze deset přesáhlo četnost větší než 0,5 %. Nejvíce jich bylo nalezeno na lokusech INRA063 a OARCB020 (5). Průměrný počet alel na plemeno byl v rozpětí 3,73 – 12,27. Podobné hodnoty v užším rozpětí (5,66 – 9,44) získali u lokálních plemen i Tolone kol. (2012) u sicilských ovcí, Naqvi a kol. (2017) u pákistánských (5,73 – 7,62), Othman a kol. (2016) u egyptských (5,82 – 8,18) a Loukovitis a kol. (2016) u řeckých ovcí (4,59 – 7,34).

Průměrná očekávaná heterozygotnost (H_E) napříč lokusy se pohybovala od 0,49 do 0,75. Nejvyšší H_E mezi plemeny byla pozorována u šumavské ovce ($H_E = 0,79$) a nejnižší u kamerunské ovce ($H_E = 0,51$). V podstatě stejných hodnot u nich dosahovala i heterozygotnost pozorovaná. Skutečnost, že šumavská ovce měla na sledovaných lokusech největší heterozygotnost je poměrně překvapivé, protože už od roku 1992 je zařazena mezi české genetické rezervy a v její plemenné knize by se tedy neměli vyskytovat žádní kříženci. Z pozorovaných hodnot tak vyplývá, že i když je její genofond limitován malou velikostí populace, jeho management je lepší ve srovnání s ostatními hodnocenými přeshraničními plemeny. Celková úroveň heterozygotnosti byla u sledovaných plemen v souladu s předchozími studiemi provedenými na různých plemenech ovcí (Peter et al. 2007; Jyotsana et al. 2010; Jawasreh et al. 2018; Bravo et al. 2019). Výsledky ukázaly dostatečnou úroveň

heterozygotnosti uvnitř plemen i mezi nimi, co se týče potenciální ztráty genetické diverzity v příštích generacích.

Průměrná hodnota F_{IT} (0,15) ukázala na prevalenci homozygotů, hodnoty F_{IS} většiny plemen však nenaznačovaly, že by na vnitropopulační úrovni byla plemena významně ovlivněna inbreedingem (prům. $F_{IS} = -0,03$). Pouze šest plemen vykazovalo mírný deficit heterozygotů, z nich nejvyšší kamerunská ovce $F_{IS} = 0,04$). Hodnotu takto blízkou nule nelze považovat za důkaz, byť mírné, příbuzenské plemenitby. Většina hodnot F_{IS} byla ale záporná, podobně jako u studie Niu a kol. (2012), což je možné chápat jako důsledek převládajícího outcrossingu uvnitř plemen. Genetické rozdíly mezi plemeny byly na základě průměrných hodnot F_{ST} a G_{ST} poměrně výrazné. Genetická diference mezi nimi byla vyšší než u pěti marockých (3,6 % (Gaouar et al. 2016)), tří saúdkoarabských (3,6 % (Mahmoud et al. 2018)) a kolumbijských (5,4 % (Ocampo et al. 2017)) i 10 íránských tlustoocasých plemen ovcí (2 % (Vahidi et al. 2016)). Nejnižší stupeň genetické odlišnosti podle F_{ST} vykazovaly lacaune, šumavská ovce a merinolandshaf. Výsledky této studie jsou blízké hodnotám publikovaným pro plemena z Kosova a Albánie (13,9 % (Hoda & Bytyqi 2017)), pro plemeno namaqua afrikaner z Jihoafrické republiky (10,6 % (Qwabe et al. 2013)) nebo ve srovnávací studii zaměřené na pandžábskou urial (15,9 % (Pichler et al. 2017)).

Podle Neiových genetických vzdáleností byla nejvyšší genetická podobnost zjištěna mezi plemeny merinolandshaf a lacaune (0,18), zatímco nejméně geneticky podobná si byla plemena zwartbles a kamerunská ovce (1,84). Kamerunská ovce se jeví být ostatním sledovaným plemenům geneticky nejvzdálenější. Podobná genetická vzdálenost byla pozorována (Jawasreh et al. 2018) v Jordánsku při porovnávání plemene suffolk s romanovskou ovcí (0,42), ale srovnání charollais a suffolk (0,41) nebo charollais a romanovské ovce (0,24) ukázalo výrazně odlišné hodnoty oproti této studii (0,29, resp. 0,44). To by však mohlo být způsobeno částečně odlišnou sadou markerů.

Studovaná plemena obecně vykazovala dobrou genetickou variabilitu, která odráží správné chovatelské postupy v jednotlivých chovech. Vyšší úroveň podobnosti vykazovala pouze plemena lacaune, suffolk a merinolandschaf. Je však nutné vzít v úvahu fakt, že analyzovaná data pocházejí z testování rodičovství (produkce plemenných beranů), což celkový pohled na genofond může mírně zkreslit. Významnějším limitem této studie by mohla být absence

některých genotypů. U plemene Kerry Hill chybělo 8 % genotypů na lokusu D5S2 a u šumavské ovce a ouessantské ovce chybělo 25 % genotypů na lokusu MCM527.

5.4 Genetická diverzita dvou původních plemen ovcí pomocí genomové analýzy jednonukleotidových polymorfismů (Machová et al. 2023)

Mikrosatelity jsou sice velice informativní markery, ale při počtu 11 kusů, jako v předcházející studii, nemohou ani zdaleka postihnout variabilitu napříč celým genomem. Dále se ukázalo, že rozlišovací kapacita tohoto počtu markerů nemusí být dostačující ani pro určení příslušnosti jedinců k plemenům, natož pro identifikaci novější „evoluční“ události, jako je vznik plemene (Deniskova et al. 2016). I když i menší množství vhodných mikrosatelitů může stačit pro vysoce přesné výsledky (Yilmaz et al. 2018). Šance na vazbu mikrosatelitu s významným lokusem (produkce, onemocnění, odolnost, ...) je ale daleko menší než u SNP. Proto byly v další fázi hodnocení genetické diverzity šumavské a valašské ovce v kontextu 25 plemen z databáze ISGC (International Sheep Genomics Consortium) využity jednonukleotidové polymorfismy.

Počet vzorků představuje 0,5 – 1 % z celkového početního stavu sledovaných populací. Vzhledem k malé velikosti populace obou plemen a selekci nepřibuzných jedinců je to dostatečné množství pro daný typ studie genetické diverzity a je v souladu s dalšími publikovanými studiemi u jiných původních plemen (Kumar et al. 2018; ben Jemaa et al. 2019a; Eydivandi et al. 2020; Mukhina et al. 2022). Po kontrole kvality bylo použito celkem 36 249 SNP pro šumavskou ovci a 32 044 pro ovci valašskou. Pro porovnání diverzity českých plemen s 25 dalšími hlavně evropskými plemeny bylo použito 10 780 společných SNP pro 1 113 jedinců.

Šumavská ovce vykazovala nižší úroveň příbuzenské plemenitby než ovce valašská, což souhlasí s předchozími výsledky analýz rodokmenů a mikrosatelitů (Machová 2020; Machová et al. 2021). To by mohlo být způsobeno její větší populací nebo/a regeneračními opatřeními, které bylo u šumavské ovce v začátcích chovu intenzivnější než u valašské ovce. Nebyla pozorována žádná korelace mezi F_{HOM} a F_{ROH} jako u jiných autorů (Zhang et al. 2015; Ghoreishifar et al. 2020). F_{ROH} jakožto absolutní míra inbreedingu byla u šumavské ovce ($F_{ROH} = 0,07$) srovnatelná s plemeny ovino delle langhe (0,05), valle del belice (0,07) a sopravissana (0,05), které studovali Persichilli a kol. (2021). Podobné hodnoty získali i Signer-Hasler a kol. (2019) u původních švýcarských plemen bundner oberlander (0,06) a swiss black – brown mountain (0,06). Zatímco inbreeding šumavské ovce lze řadit k lepšímu průměru mezi

autochtonními plemeny, valašská ovce ($F_{ROH} = 0,14$) patří k těm s vyššími hodnotami. To je vidět i na porovnání s polským plemenem olkuská ovce, hodnoty F_{ROH} zjištěné u tří jeho subpopulací jsou sice vyšší než u šumavské ovce, ale nižší než u valašské ovce (Sobieraj-Kmiecik et al. 2020). Ostatní polská plemena mají hodnoty blízké valašské ovci: swiniarka (0,17), wrzosówka (0,10) a barevná varieta polského merina (0,15) (Gurgul et al. 2021).

Identifikace konkrétních ROH ukázala v některých ohledech kontrastní výsledky s průměrnou úrovní inbreedingu. I přesto, že valašská ovce vykazovala vyšší hodnoty příbuzenské plemenitby, včetně té založené na ROH, její průměrný počet ROH přepočtený na jedince byl nižší než u šumavské ovce. Průměrná délka ROH šumavského plemene dosahovala až 2,9 Mb, zatímco u valašského to bylo jen asi 2,4 Mb a jejich celkový počet byl nižší. Tyto výsledky tedy naznačují, že zatímco u valašských ovcí vznikly ROH ve vzdálené minulosti, u šumavských ovcí jsou důsledkem relativně nedávného příbuzenského křížení vzniklého, soudě podle odhadů u skotu (Ferenčaković et al. 2013), zhruba před třemi generacemi. Ostrůvky ROH lze použít k identifikaci specifických znaků selekce v genomu plemene a objasnit tak genetickou povahu jedinečných rysů specifických pro zkoumané plemeno (Liu et al. 2021). Domestikace, umělý výběr a prostředí utvářely vlastnosti těchto plemen po staletí. Obě česká plemena nesdílejí mezi sebou žádné ostrůvky ROH, přestože pocházejí ze stejného státu. Nic takového nebylo pozorováno u dalších národních plemen, a to ani z výrazně větších zemí jako je Jihoafrická Republika (Dzomba et al. 2021), Rusko (Yurchenko et al. 2019), Čína (Liu et al. 2021) a Indie (Saravanan et al. 2021), kdy by bylo snazší uvěřit historicky oddělenému vývoji. Nejpravděpodobnějším vysvětlením proto bude nedostatečná velikost vzorku, malé množství SNP, příliš přísný selekční práh pro ostrůvky ROH nebo náhodný výběr geneticky velmi vzdálených jedinců.

Ovce mají obecně nižší hodnoty vazebné nerovnováhy (LD) než ostatní domácí zvířata, jako jsou skot, prasata a psi (Al-Mamun et al. 2015). U autochtonních českých plemen byl pozorován rychlý pokles LD po 25 kb. Průměrné hodnoty LD u valašské ovce byly vyšší než u šumavské. V kontextu ostatních plemen u SNP vzdálených méně než 50 kb na panelu 50 K SNP (Al-Mamun et al. 2015; Kominakis et al. 2017; Liu et al. 2017; Alvarenga et al. 2018) patřila šumavská ovce k průměru, zatímco valašská ovce k těm s nejvyššími hodnotami LD. Vyšší hladiny LD podobné těm zjištěným u valašské ovce jsou běžné u lokálních plemen např.: barbaresca ($r^2 = 0,18$) (Nel et al. 2022), churra ($r^2 = 0,17$) (García-Gámez et al. 2012), nebo zandi ($r^2 = 0,18$) (Ghoreishifar et al. 2019).

Odhad historické efektivní populace na základě rozpadu LD je široce rozšířená metoda modelování vývoje genetické diverzity populací (Liu et al. 2017; Chitneedi et al. 2017; Prieur et al. 2017; Nel et al. 2022). Klesající trend N_e u obou studovaných plemen je předvídatelný jev, neboť obě česká plemena jsou ovlivněna snižováním N_e – malým počtem chovných samců, efektem hrdla lahve, absencí migrace (Charlesworth 2009). Přestože i nárůst N_e již byl v populačních studiích hospodářských zvířat zaznamenán (Brito et al. 2017b; Prieur et al. 2017), většina autorů ale obvykle pozoruje podobné trendy poklesu jako v této studii (Kominakis et al. 2017; Purfield et al. 2017; Ghoreishifar et al. 2019; Pasandideh et al. 2020; Moosanezhad Khabisi et al. 2021; Liu et al. 2021), protože jediný dlouhodobě působící mechanismus, který snižuje LD, jsou náhodné páření a rekombinace (Slatkin 2008; Qanbari 2020). S ohledem na posledních 40 generací jsou hodnoty N_e prezentované v této studii podobné těm u německého white-headed mutton (Addo et al. 2021). Německá bělohlavá ovce měla v posledních pěti generacích N_e jen lehce přes 50 jedinců po 35 generací trvajícím poklesu z odhadovaných původních 200 (Addo et al. 2021). Nosrati a kol. (2021) porovnávali plemena z různých lokalit a kontinentů a plemena ze střední Evropy vykazovala nejnižší křivky poklesu N_e , i tak by mezi nimi však česká národní plemena patřila k těm nejnižším.

V této studii byl různými postupy zkoumán i vztah dvou českých plemen s ostatními evropskými i světovými plemeny a všechny potvrdily jejich genetickou jedinečnost. Obě plemena vytvořila homogenní shluky bez výraznějších odchylek jedinců v PCA na základě rozptylově standardizované matice příbuznosti. Nicméně blízkost těchto plemen s dalšími zhruba 13 byla evidentní. Kladogramy vytvořené metodou neighbour-joining odhalily pouze jediného jedince šumavské ovce, který sdílel větev s plemeny castellana a rasa aragonesa. V menším měřítku vykazovala populace šumavské ovce větší blízkost k novozélandskému romney než k ostatním plemenům použitým historicky k její regeneraci. Ne všechny z nich ale byly v datovém souboru obsaženy, takže nelze vyloučit významný genetický vliv jiných plemen. Naopak analýza příměsí předků odhalila u šumavské ovce výrazné příměsi, které zůstávaly stabilní v různých hodnotách K . Některé dokonce přes celý genotyp jedince. Neměly by však být interpretovány jako vliv jednoho dalšího plemene, protože hodnota K odhaduje nejmenší počet populací podílejících se na vytváření variability vybraných šesti plemen, který v reálu bude pravděpodobně menší než počet různých událostí, jež významně ovlivnily vzorek.

Vypočtené hodnoty F_{ST} lze rozdělit do tří kategorií podle stupně izolovanosti populací (od nejméně do nejvíce izolovaných): 0–0,05, 0,05–0,15 a 0,15–0,25 (Grasso et al. 2014). Plemena

ze stejného regionu mají mezi sebou tradičně nižší fixační indexy kvůli velkému toku genů mezi populacemi (Belabdi et al. 2019). Ačkoliv byl tento stejný vzorec pozorován u různých plemen ovcí v různých světových lokalitách (Mastrangelo et al. 2014; Xiong et al. 2020; Pozharskiy et al. 2020), pro zde analyzovaná česká plemena to neplatí, protože jejich vzájemné $F_{ST} = 0,1$ indikuje pouze mírný tok genů mezi nimi v hodnotách typických spíše pro výrazně oddělená plemena z různých evropských regionů (Kijas et al. 2012b). Na základě silné korelace a konzistence srovnání mezi hodnotami F_{ST} z mikrosatelitů a SNP (Laoun et al. 2020; Zimmerman et al. 2020) je možné přímé srovnání s předchozí studií. Ve srovnání s naší předchozí studií byly hodnoty F_{ST} získané z SNP téměř dvojnásobné oproti hodnotám získaným z mikrosatelitů mezi valašskou a šumavskou ovcí i mezi nimi a jinými plemeny (Machová 2020). Počet jedinců použitých v předchozí studii byl signifikantně větší ale celková variabilita detekovatelná pomocí markerů byla významně nižší, i když byly použity polyalelické mikrosatelity (Machová 2020).

5.5 Expanze ovcí po domestikaci v kontextu mitochondriálních a Y chromozomových haploskupin a haplotypů (Machová et al. 2022a)

Molekulárně genetické metody dnes poskytují nejen informace o genetické diverzitě domácích ovcí, ale i o jejich vývoji a původu. Pro studie tohoto typu jsou cenné zejména informace z Y chromozomových nebo mitochondriálních haplotypů primitivních lokálních plemen, nebo ještě lépe, přímo z archeologických nálezů (Rannamäe et al. 2016). U obou těchto případů je velká pravděpodobnost zachování původních vloh. Indigenní plemena obvykle nemají větší zastoupení nově zavlečených genů, protože je jejich vývoj úzce spjat s vývojem etnických skupin, které je v určitých oblastech obvykle i po mnoho staletí až tisíciletí chovají tradičním pasteveckým způsobem (Pardeshi et al. 2007; Zhao et al. 2017; Nigussie et al. 2019). Pro studium pohlavně specifických haplotypů se využívají stejné metody jako pro studium genetické diverzity – sekvenování části genotypu, mikrosatelitní markery i SNP (Kijas et al. 2009).

Mitochondriální DNA (mtDNA) se dědí po mateřské linii, a proto u ní nedochází k rekombinaci. Zároveň mutuje pětikrát až desetkrát rychleji než jaderná DNA. Hypervariabilní oblast regulační oblasti mtDNA je jedním z nejdostupnějších a nejučinnějších markerů pro populačně genetické studie, který umožňuje sledování genofondu mateřské linie (Mukhametzharova et al. 2018). Za předpokladu, že lidé při kolonizaci nových oblastí odeberou

pouze část zvířecí populace z původního domestikčního centra, by studie haplotypů mtDNA měly logicky odrážet geografický postup domestikace ovcí. Největší diverzitu mitochondriálních haplotypů u ovcí lze tedy očekávat ve východním Středomoří (Meadows et al. 2007). U autozomů nebo na X chromozomu ale nebyly potvrzeny vyšší hodnoty variability v oblasti domestikace. Plemena chovaná v současnosti v těchto místech již nejsou ta samá původní tenkoocasá plemena, která se jako první rozšířila dále do světa (Chen et al. 2018).

V současnosti bylo objeveno asi šest různých haploskupin, nazývané A, B, C, D, E a X. Haploskupina X však byla dosud popsána pouze jedinou studií a žádné následné studie její existenci nepotvrdily (Demirci et al. 2013). A a B jsou nejběžnější haploskupiny u ovcí z Evropy (B) a Asie (A) a byly také první identifikované (Hiendleder et al. 2002; Wood & Phua 2009). C je geneticky více variabilní než předchozí dvě skupiny, ale na rozdíl od nich nemá podobnost s žádnou divokou ovcí. V malé míře se tento typ vyskytuje u původních portugalských ovcí a také na Kavkaze, na Středním východě a v Asii. Haploskupiny D a E jsou dvě z nejvzácnějších a byly nalezeny v oblasti severního Kavkazu (Meadows et al. 2007). Na základě genetického materiálu z archeologických nálezů se předpokládá, že původně bylo haploskupin více a některé z nich vyhynuly (Dymova et al. 2017).

Četnost mutací v samčím nerekombinujícím úseku chromozomu Y (MSY) je asi padesátkrát nižší než u mtDNA, tj. asi $0,93 \times 10^{-10}$ mutací na lokusu za generaci (Deng et al. 2020). Stejně jako u mitochondriálních haplotypů je však jejich použití ke studiu fylogeneze druhu komplikováno skutečností, že všichni zástupci rodu *Ovis* se mohou křížit a vytvářet plodné hybridy. Klíčovým zjištěním pro použití samčích haplotypů ke studiu populační expanze populací ovcí byl objev osmi SNP (oY1–oY8) v genu určujícím pohlaví na MSY (Meadows et al. 2006). Však pouze jeden z nich (oY1) vykazoval variabilitu jak v rámci druhu, tak mezi druhy (Meadows & Kijas 2009). Následně byl objeven mikrosatelitní marker SRYM18 a díky němu bylo definováno prvních 18 Y chromozomálních haplotypů H1–H18 (Meadows & Kijas 2009). Poslední průlom v této oblasti byl učiněn v roce 2020, kdy byly použity celogenomové sekvence k vytvoření nové sady MSY 495 SNP u ovcí. Na základě 79 SNP a dvou dalších publikovaných v předchozích studiích (oY1; oY2) tato studie identifikovala 58 dalších různých haplotypů patřících do čtyř haploskupin: y-HA, y-HB, y-HC a y-HD (Deng et al. 2020).

Současné poznatky podporují existenci jediného domestikčního centra na Blízkém východě. I mimo toto prvotní centrum domestikace však pravděpodobně docházelo (a občas i dnes

dochází) ke křížení s volně žijícími druhy ovcí. To by mohl být důvod, proč střední Čína vykazuje tak vysokou variabilitu samčích Y haplotypů. Ke stejnému výsledku ale mohlo vést i vymírání těchto variant na Blízkém východě. V takovém případě by byla střední Asie jakýmsi genetickým rezervoárem těchto původních variant pocházejících ze starověkých ovcí z úrodného půlměsíce.

6 Závěr

Celosvětové klima se mění, a proto je stále důležitější chovat plemena schopná se přizpůsobit různým drsným podmínkám prostředí. Bohužel původní plemena nesoucí cenné vlohy pro přizpůsobení místním agroekologickým podmínkám se celosvětově vytrácí. I české genetické rezervy šumavská a valašská ovce byly a jsou stále ohroženy rozšířením plemen se specializovanou produkcí přesto, že historicky byly ekonomicky klíčovými plemeny hospodářských zvířat v horských a podhorských oblastech a ovlivňovaly i tamní kulturu. Postupně sice získávají svou roli i v moderních zemědělských systémech, protože mají dobrou pastevní schopnost pro údržbu krajiny, jsou odolná a hodí se pro agroturistiku i pro využití v hybridizačních programech. Stále se však jedná o málopočetná plemena, která mohou být ohrožena příbuzenskou plemenitbou.

Odhady genetické variability získané na základě genealogické analýzy naznačují, že populace ztratily značnou část své genetické variability oproti původní populaci zakladatelů. Vzhledem k mezigeneračnímu zvyšování koeficientu inbreedingu a nízké hodnotě efektivní velikosti populace u referenční populace je zřejmé, že obě plemena mohou být ohrožena výskytem inbrední deprese, především ovce valašská. Valašská ovce se pohybuje na hranici kritických hodnot v řadě ukazatelů. Šumavská ovce je na tom o něco lépe, ale rychle u ní narůstá koeficient inbreedingu při stagnující velikosti populace. Při srovnání s genealogickou analýzou zebra evropského, který také prošel silným efektem hrdla lahve, vyvstává otázka, zda podobné studie u zvířat chovaných částečně volně a částečně v zajetí vůbec provádět. Vypočítané hodnoty koeficientů určujících míru genetické diverzity jsou u zebra sice vysoké, ale z hlediska historického vývoje jeho populace určitě výrazně podhodnocující skutečnost. Vzhledem k managementu chovu se jejich hodnoty dokonce meziročně snižují, což přirozeně není možné.

Prostřednictvím 11 vysoce polymorfních STR markerů se podařilo zhodnotit genetickou variabilitu šumavské a valašské ovce v kontextu dalších plemen chovaných v České republice. Je však nutné vzít v úvahu, že genotypizační údaje pocházejí z testování rodičovství (produkce plemenných beranů), což může celkový pohled na genofond vybraných plemen zkreslit. Většina sledovaných populací má na základě záporných hodnot Wrightových fixačních indexů dobrý genetický management. Chovatelé zřejmě dbají na rozmnožování nepříbuzných zvířat a výměnu chovných zvířat mezi chovy. Do této skupiny patří i šumavská a valašská ovce. Šumavská ovce vykazovala dokonce vůbec nejvyšší heterozygotnost ze všech sledovaných

plemen. Druhou skupinu tvořila plemena kamerunská, ouessantská, šedá vřesová, romanovská ovce, suffolk a charollais. U této druhé skupiny by bylo vhodné přehodnotit stávající šlechtitelská opatření případně obohatit genetický fond o dovezená zvířata ze zahraničí. Ani jedno z obou sledovaných českých plemen nejevilo známky výraznější genetické blízkosti s jiným plemenem. Nejvyšší blízkost mezi sebou vykazovala na základě Neiových genetických distancí plemena lacaune, suffolka a merinolandschaf.

I v mezinárodním srovnání s 25 dalšími plemeny prostřednictvím 50tisícového SNP čipu se obě česká plemena projevovala jako dobře odlišená. Podle hodnot koeficientu inbreedingu a efektivní velikosti populace je jejich genetická diverzita nízká, zejména v případě valašské ovce. Toto zjištění je v dobré shodě s prvotní genealogickou analýzou. Šumavská ovce má výrazně nehomogenní genofond, který může být například důsledkem regeneračních snah nebo dlouhodobé genetické izolovanosti některých chovů. V rámci této studie se rovněž podařilo identifikovat několik oblastí s vysokým stupněm homozygotnosti, na které by se měly budoucí studie zaměřit ve snaze odhalit geny specifické pro tato plemena. Celkově lze shrnout, že stupeň genetické variability u šumavské a valašské ovce byl při použití různých metodických postupů (rodokmen, mikrosatelity, SNP) podobný. Stupeň mezipopulační genetické diverzity se však podle očekávání výrazně lišil.

Mitochondriální DNA a nerekombinantní části DNA chromozomu Y jsou skvělým nástrojem pro nahlédnutí do minulosti druhu. Dědí se po generace téměř neovlivněně, protože se neúčastní rekombinace; čas výskytu každé mutace lze tedy odhadnout na základě průměrné rychlosti mutace. Díky tomu samčí a samičí haploskupiny dokládají chovatelsky významné události v dávné minulosti (potenciální centra domestikace, osidlování oblastí, obchodní spojení) i v moderním chovu (křížení, potvrzování otcovství). V rámci této práce byla rešerše zaměřena především na vývoj domácích ovcí a jejich postdomestikační expanzi, ke které došlo prostřednictvím lidského obchodu z jednoho kontinentu na druhý. U domácích ovcí bylo dosud celosvětově zjištěno pět mitochondriálních a pět haploskupin Y-chromozomu a desítky jejich haplotypů. Vzhledem k původu šumavské a valašské ovce se dá předpokládat jejich příslušnost právě k v Evropě dominující mitochondriální haploskupině B, nicméně žádná studie to prozatím nezkoumala. Y chromozomové haploskupiny a haplotypy u českých národních plemen oproti tomu již zkoumány byly, ale jen na velmi malém počtu vzorků (<5).

Genetická variabilita ohrožených populací byla vyhodnocena různými populačně genetickými metodami a jejich porovnáním došlo ke zpřesnění odhadu genetické diverzity šumavské a valašské ovce. Celkový odhad genetické diverzity zebra evropského prostřednictvím provedené genealogické analýzy zpřesněn nebyl. Došlo ale k odhalení dosud nepublikované genetické příměsi nížino-kavkazské linie do nížinného poddruhu.

7 Seznam použité literatury

- Ablondi M, Sabbioni A, Stocco G, Cipolat-Gotet C, Dadousis C, Kaam J-T van, Finocchiario R, Summer A. 2022. Genetic Diversity in the Italian Holstein Dairy Cattle Based on Pedigree and SNP Data Prior and After Genomic Selection. *Frontiers in Veterinary Science* **8**.
- Addo S, Klingel S, Thaller G, Hinrichs D. 2021. Genetic diversity and the application of runs of homozygosity-based methods for inbreeding estimation in German White-headed Mutton sheep. *PLOS ONE* **16**:e0250608.
- Aguilar I, Misztal I. 2008. Technical Note: Recursive Algorithm for Inbreeding Coefficients Assuming Nonzero Inbreeding of Unknown Parents. *Journal of Dairy Science* **91**:1669–1672.
- al Kalaldehy M, Gibson J, Duijvesteijn N, Daetwyler HD, MacLeod I, Moghaddar N, Lee SH, van der Werf JHJ. 2019. Using imputed whole-genome sequence data to improve the accuracy of genomic prediction for parasite resistance in Australian sheep. *Genetics Selection Evolution* **51**.
- Al-Atiyat RM. 2015. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep. *Electronic Journal of Biotechnology* **18**:116–121.
- Alderson GLH. 1992. A system to maximize the maintenance of genetic variability in small populations. Pages 18–29 in Alderson L, Bodo I, editors. *Genetic conservation of domestic livestock*. CABI Publishing. Available from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19930104745>.
- Alemu SW, Kadri NK, Harland C, Faux P, Charlier C, Caballero A, Druet T. 2021. An evaluation of inbreeding measures using a whole-genome sequenced cattle pedigree. *Heredity* **126**:410–423.
- Alexander DH, Novembre J, Lange K. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research* **19**:1655–1664.
- Allai L, Benmoula A, Marciane da Silva M, Nasser B, El Amiri B. 2018. Supplementation of ram semen extender to improve seminal quality and fertility rate. *Animal Reproduction Science* **192**:6–17.

- Al-Mamun HA, A Clark S, Kwan P, Gondro C. 2015. Genome-wide linkage disequilibrium and genetic diversity in five populations of Australian domestic sheep. *Genetics Selection Evolution* **47**:1–14.
- Alvarenga AB, Rovadoscki GA, Petrini J, Coutinho LL, Morota G, Spangler ML, Pinto LFB, Carvalho GGP, Mourão GB. 2018. Linkage disequilibrium in Brazilian Santa Inês breed, *Ovis aries*. *Scientific Reports* **8**:8851.
- Analla M, Montilla JM, Serradilla JM. 1998. Analyses of lamb weight and ewe litter size in various lines of Spanish Merino sheep. *Small Ruminant Research* **29**:255–259.
- Anderson AD, Weir BS. 2007. A Maximum-Likelihood Method for the Estimation of Pairwise Relatedness in Structured Populations. *Genetics* **176**:421–440.
- Baes CF, Makanjuola BO, Miglior F, Marras G, Howard JT, Fleming A, Maltecca C. 2019. Symposium review: The genomic architecture of inbreeding: How homozygosity affects health and performance. *Journal of Dairy Science* **102**:2807–2817.
- Baldursdottir BK, Kristjansson T, Hallsson JH. 2012. Diversity of the Icelandic goat breed assessed using population data. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science* **62**:53–65.
- Ballou JD. 1997. Ancestral Inbreeding Only Minimally Affects Inbreeding Depression in Mammalian Populations. *Journal of Heredity* **88**:169–178.
- Ballou JD, Lacy RC. 1995. Identifying Genetically Important Individuals for Management of Genetic Variation in Pedigreed Populations. Pages 76–111 in Ballou JD, Gilpin M, Foose TJ, editors. *Population Management for Survival and Recovery, Analytical Methods and Strategies in Small Population Management*. Columbia University Press, New York.
- Barker JS. 2001. Conservation and management of genetic diversity: a domestic animal perspective. *Canadian Journal of Forest Research* **31**:588–595.
- Barros EA, Brasil LH de A, Tejero JP, Delgado-Bermejo JV, Ribeiro MN. 2017. Population structure and genetic variability of the Segureña sheep breed through pedigree analysis and inbreeding effects on growth traits. *Small Ruminant Research* **149**:128–133. Available from <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0921448817300329>.

- Bartlewski PM, Seaton P, Franco Oliveira ME, Kridli RT, Murawski M, Schwarz T. 2016. Intrinsic determinants and predictors of superovulatory yields in sheep: Circulating concentrations of reproductive hormones, ovarian status, and antral follicular blood flow. *Theriogenology* **86**:130–143.
- Barton NH, Charlesworth B. 1998. Why Sex and Recombination? *Science* **281**:1986–1990.
- Baumung R, Cubric-Curik V, Schwend K, Achmann R, Solkner J. 2006. Genetic characterisation and breed assignment in Austrian sheep breeds using microsatellite marker information. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **123**:265–271.
- Baumung R, Farkas J, Boichard D, Mészáros G, Sölkner J, Curik I. 2015. GRAIN : a computer program to calculate ancestral and partial inbreeding coefficients using a gene dropping approach. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **132**:100–108.
- Baumung R, Simianer H, Hoffmann I. 2004. Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **121**:361–373.
- Belabdi I et al. 2019. Genetic homogenization of indigenous sheep breeds in Northwest Africa. *Scientific Reports* **9**.
- ben Jemaa S, Kdidi S, Gdura AM, Dayhum AS, Eldaghayes IM, Boussaha M, Rebours E, Yahyaoui MH. 2019a. Inferring the population structure of the Maghreb sheep breeds using a medium-density SNP chip. *Animal Genetics* **50**:526–533.
- ben Jemaa S, Thamri N, Mnara S, Rebours E, Rocha D, Boussaha M. 2019b. Linkage disequilibrium and past effective population size in native Tunisian cattle. *Genetics and Molecular Biology* **42**:52–61.
- ben Sassi-Zaidy Y, Mohamed-Brahmi A, Nouairia G, Charfi-Cheikhrouha F, Djemali M, Cassandro M. 2022. Genetic Variability and Population Structure of the Tunisian Sicilo-Sarde Dairy Sheep Breed Inferred from Microsatellites Analysis. *Genes* **13**.
- Beraldi D, McRae AF, Gratten J, Pilkington JG, Slate J, Visscher PM, Pemberton JM. 2007. Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the free-living Soay sheep (*Ovis aries*). *International Journal for Parasitology* **37**:121–129.

- Béréños C, Ellis PA, Pilkington JG, Pemberton JM. 2016. Genomic analysis reveals depression due to both individual and maternal inbreeding in a free-living mammal population. *Molecular Ecology* **25**:3152–3168.
- Bertrand AR, Kadri NK, Flori L, Gautier M, Druet T. 2019. RZooRoH: An R package to characterize individual genomic autozygosity and identify homozygous-by-descent segments. *Methods in Ecology and Evolution* **10**:860–866.
- Beugin M, Gayet T, Pontier D, Devillard S, Jombart T. 2018. A fast likelihood solution to the genetic clustering problem. *Methods in Ecology and Evolution* **9**:1006–1016.
- Beuzen ND, Stear MJ, Chang KC. 2000. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal* **160**:42–52.
- Bhattacharyya A. 1946. On a Measure of Divergence between Two Multinomial Populations on JSTOR. *The Indian Journal of Statistics* **7**:401–406.
- Bhuiyan MSA, Lee S-H, Hossain SMJ, Deb GK, Afroz MF, Lee S-H, Bhuiyan AKFH. 2021. Unraveling the Genetic Diversity and Population Structure of Bangladeshi Indigenous Cattle Populations Using 50K SNP Markers. *Animals* **11**.
- Bidon T, Janke A, Fain SR, Eiken HG, Hagen SB, Saarma U, Hallström BM, Lecomte N, Hailer F. 2014. Brown and Polar Bear Y Chromosomes Reveal Extensive Male-Biased Gene Flow within Brother Lineages. *Molecular Biology and Evolution* **31**:1353–1363.
- Bignardi AB, Santana Júnior ML. 2023. Genetic diversity of Shepherd dog using pedigree analysis. *Ciência Rural* **53**.
- Bink MCAM, Anderson AD, van de Weg WE, Thompson EA. 2008. Comparison of marker-based pairwise relatedness estimators on a pedigreed plant population. *Theoretical and Applied Genetics* **117**:843–855.
- Blouin MS. 2003. DNA-based methods for pedigree reconstruction and kinship analysis in natural populations. *Trends in Ecology & Evolution* **18**:503–511.
- Boakes E, Wang J. 2005. A simulation study on detecting purging of inbreeding depression in captive populations. *Genetical Research* **86**:139–148.

- Boettcher P, Hoffmann I, Baumung R, Pilling D, Wieczorek M, Scherf B. 2014. The Global Plan of Action for Animal Genetic Resources: its History and Future. Proceedings, 10 th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- 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.
- Bolormaa S, Swan AA, Brown DJ, Hatcher S, Moghaddar N, van der Werf JH, Goddard ME, Daetwyler HD. 2017. Multiple-trait QTL mapping and genomic prediction for wool traits in sheep. *Genetics Selection Evolution* **49**:62.
- Borges Barbosa AC, De Souza Romano G, Del Solar Velarde JM, Sterman Ferraz JB, Pedrosa VB, Batista Pinto LF. 2020. Pedigree analysis of Santa Inês sheep and inbreeding effects on performance traits. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* **11**:590–604.
- 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**:314.
- Bravo S, Larama G, Quiñones J, Paz E, Rodero E, Sepúlveda N. 2019. Genetic diversity and phylogenetic relationship among araucana creole sheep and Spanish sheep breeds. *Small Ruminant Research* **172**:23–30.
- Brito LF, Kijas JW, Ventura R v., Sargolzaei M, Porto-Neto LR, Cánovas A, Feng Z, Jafarikia M, Schenkel FS. 2017a. Genetic diversity and signatures of selection in various goat breeds revealed by genome-wide SNP markers. *BMC Genomics* **18**.
- Brito LF, McEwan JC, Miller SP, Pickering NK, Bain WE, Dodds KG, Schenkel FS, Clarke SM. 2017b. Genetic diversity of a New Zealand multi-breed sheep population and composite breeds' history revealed by a high-density SNP chip. *BMC Genetics* **18**:1–11.
- Broman KW, Weber JL. 1999. Long Homozygous Chromosomal Segments in Reference Families from the Centre d'Étude du Polymorphisme Humain. *The American Journal of Human Genetics* **65**:1493–1500.
- Brookes AJ. 1999. The essence of SNPs. *Gene* **234**:177–186.

- Broquet T, Angelone S, Jaquier J, Joly P, Lena J-P, Lengagne T, Plenet S, Luquet E, Perrin N. 2010. Genetic Bottlenecks Driven by Population Disconnection. *Conservation Biology* **24**:1596–1605.
- Browett S, McHugo G, Richardson IW, Magee DA, Park SDE, Fahey AG, Kearney JF, Correia CN, Randhawa IAS, MacHugh DE. 2018. Genomic Characterisation of the Indigenous Irish Kerry Cattle Breed. *Frontiers in Genetics* **9**.
- Bunch TD, Wu C, Zhang Y-P, Wang S. 2006. Phylogenetic Analysis of Snow Sheep (*Ovis nivicola*) and Closely Related Taxa. *Journal of Heredity* **97**:21–30.
- Caballero A, Fernández A, Villanueva B, Toro MA. 2022. A comparison of marker-based estimators of inbreeding and inbreeding depression. *Genetics Selection Evolution* **54**.
- Caballero A, García-Dorado A. 2013. Allelic Diversity and Its Implications for the Rate of Adaptation. *Genetics* **195**:1373–1384.
- Caballero A, Rodríguez-Ramilo ST. 2010. A new method for the partition of allelic diversity within and between subpopulations. *Conservation Genetics* **11**:2219–2229.
- 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.
- Caballero A, Villanueva B, Druet T. 2021. On the estimation of inbreeding depression using different measures of inbreeding from molecular markers. *Evolutionary Applications* **14**:416–428.
- Caivio-Nasner S, López-Herrera A, González-Herrera LG, Rincón JC. 2021. Diversity analysis, runs of homozygosity and genomic inbreeding reveal recent selection in Blanco Orejinegro cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **138**:613–627.
- Caro-Petrovic V, Ruzic-Muslic D, Maksimovic N, Cekic B, Cosic I, Selionova M, Petrovic M. 2021. Some aspects of DNA analysis in the selection of small ruminants. *Biotechnology in Animal Husbandry* **37**:161–170.
- Castresana J. 2001. Cytochrome b Phylogeny and the Taxonomy of Great Apes and Mammals. *Molecular Biology and Evolution* **18**:465–471.

- Cavalli-Sforza LL, Edwards AW. 1967. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures. *American journal of human genetics* **19**:233–257.
- Cervantes I, Goyache F, Molina A, Valera M, Gutiérrez JP. 2008. Application of individual increase in inbreeding to estimate realized effective sizes from real pedigrees. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **125**:301–310.
- Cervantes I, Goyache F, Molina A, Valera M, Gutiérrez JP. 2010. Estimation of effective population size from the rate of coancestry in pedigreed populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **128**:56–63.
- CGRFA. 2013. Draft Guidelines on in Vivo Conservation of Animal Genetic Resources. Pages 1–174 FAO. Rome. Available from <http://www.fao.org/3/mg135e/mg135e.pdf>.
- Chan Y-C, Roos C, Inoue-Murayama M, Inoue E, Shih C-C, Vigilant L. 2012. A comparative analysis of Y chromosome and mtDNA phylogenies of the *Hylobates* gibbons. *BMC Evolutionary Biology* **12**.
- Charlesworth B. 2009. Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nature Reviews Genetics* **10**:195–205.
- Charlesworth D, Willis JH. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics* **10**:783–796.
- Chen Q et al. 2022. Whole-Genome Sequencing Reveals the Genomic Characteristics and Selection Signatures of Hainan Black Goat. *Genes* **13**.
- Chen Z-H, Zhang M, Lv F-H, Ren X, Li W-R, Liu M-J, Nam K, Bruford MW, Li M-H. 2018. Contrasting Patterns of Genomic Diversity Reveal Accelerated Genetic Drift but Reduced Directional Selection on X-Chromosome in Wild and Domestic Sheep Species. *Genome Biology and Evolution* **10**:1282–1297.
- Chistiakov DA, Hellemans B, Volckaert FAM. 2006. Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: A review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* **255**:1–29.
- Chitneedi PK, Arranz JJ, Suarez-Vega A, García-Gámez E, Gutiérrez-Gil B. 2017. Estimations of linkage disequilibrium, effective population size and ROH-based inbreeding

- coefficients in Spanish Churra sheep using imputed high-density SNP genotypes. *Animal Genetics* **48**:436–446.
- Colleau J-J. 2002. An indirect approach to the extensive calculation of relationship coefficients. *Genetics Selection Evolution* **34**:409–421.
- Corbin LJ, Liu AYH, Bishop SC, Woolliams JA. 2012. Estimation of historical effective population size using linkage disequilibria with marker data. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **129**:257–270.
- Cortellari M, Negro A, Bionda A, Grande S, Cesarani A, Carta A, Macciotta N, Biffani S, Crepaldi P. 2022. Using Pedigree and Genomic Data toward Better Management of Inbreeding in Italian Dairy Sheep and Goat Breeds. *Animals* **12**.
- Cortés O, Eusebi P, Dunner S, Sevane N, Cañón J. 2019. Comparison of diversity parameters from SNP, microsatellites and pedigree records in the Lidia cattle breed. *Livestock Science* **219**:80–85.
- Crow JF. 1995. Spontaneous Mutation as a Risk Factor. *Exp Clin Immunogenet* **12**:121–128.
- Cruden D. 1949. The computation of inbreeding coefficients For closed populations. *Journal of Heredity* **40**:248–251.
- Curik I, Kövér G, Farkas J, Szendrő Z, Romvári R, Sölkner J, Nagy I. 2020. Inbreeding depression for kit survival at birth in a rabbit population under long-term selection. *Genetics Selection Evolution* **52**:39.
- Curik I, Sölkner J, Stipic N. 2001. The influence of selection and epistasis on inbreeding depression estimates. *J. Anim. Breed. Genet* **118**. Blackwell Wissenschafts-Verlag. Available from www.blackwell.de/synergy.
- Dadousis C, Ablondi M, Cipolat-Gotet C, van Kaam J-T, Marusi M, Cassandro M, Sabbioni A, Summer A. 2022. Genomic inbreeding coefficients using imputed genotypes: Assessing different estimators in Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science* **105**:5926–5945.
- Daetwyler HD, Villanueva B, Bijma P, Woolliams JA. 2007. Inbreeding in genome-wide selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **124**:369–376.

- Dagnachew BS, Meuwissen THE. 2016. A fast Newton–Raphson based iterative algorithm for large scale optimal contribution selection. *Genetics Selection Evolution* **48**.
- Dai S, Wang C, Wang Z, Wang Z, Zhang Y, Na Q, Li J, Wang R. 2015. Inbreeding and its effects on fleece traits of Inner Mongolia cashmere goats. *Small Ruminant Research* **128**:50–53.
- Dalvit C, De Marchi M, Zanetti E, Cassandro M. 2009. Genetic variation and population structure of Italian native sheep breeds undergoing in situ conservation1. *Journal of Animal Science* **87**:3837–3844.
- Dayo G-K et al. 2022. Morphological and microsatellite DNA diversity of Djallonké sheep in Guinea-Bissau. *BMC Genomic Data* **23**.
- De Iorio M, Favaro S, Teh YW. 2015. Bayesian Inference on Population Structure: From Parametric to Nonparametric Modeling. Pages 135–151 *Nonparametric Bayesian Inference in Biostatistics*. Springer International Publishing, Cham.
- de Souza-Fabjan JMG, Panneau B, Duffard N, Locatelli Y, de Figueiredo JR, de Figueirêdo Freitas VJ, Mermillod P. 2014. In vitro production of small ruminant embryos: Late improvements and further research. *Theriogenology* **81**:1149–1162.
- Demir E, Karsli T, Balcioglu MS. 2021. A comprehensive review on genetic diversity and phylogenetic relationships among native Turkish cattle breeds based on microsatellite markers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **45**:1–10.
- Demirci S, Koban Baştanlar E, Dağtaş ND, Pişkin E, Engin A, Özer F, Yüncü E, Doğan ŞA, Togan İ. 2013. Mitochondrial DNA Diversity of Modern, Ancient and Wild Sheep (*Ovis gmelinii anatolica*) from Turkey: New Insights on the Evolutionary History of Sheep. *PLOS ONE* **8**:e81952. Available from <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0081952>.
- Deng J et al. 2020. Paternal Origins and Migratory Episodes of Domestic Sheep. *Current Biology* **30**:4085-4095.e6.
- Deniskova TE, Sermiyagin AA, Bagirov VA, Okhlopkov IM, Gladyr EA, Ivanov R V., Brem G, Zinovieva NA. 2016. Comparative analysis of the effectiveness of STR and SNP markers for intraspecific and interspecific differentiation of the genus *Ovis*. *Russian Journal of Genetics* **52**:79–84.

- Deza MM, Deza E. 2014. Encyclopedia of Distances. Page Encyclopedia of Distances. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- di Lorenzo P et al. 2018. Mitochondrial DNA variants of Podolian cattle breeds testify for a dual maternal origin. PLOS ONE **13**.
- Dogan İ, Dogan N. 2016. Statistical Measures for Genetic Differentiation: Review. *Turkiye Klinikleri Journal of Biostatistics* **8**:180–186.
- Drobik W, Martyniuk E. 2016. Inbreeding and its impact on the prolific Polish Olkuska sheep population. *Small Ruminant Research* **137**:28–33.
- Druet T, Gautier M. 2017. A model-based approach to characterize individual inbreeding at both global and local genomic scales. *Molecular Ecology* **26**:5820–5841.
- Druet T, Gautier M. 2022. A hidden Markov model to estimate homozygous-by-descent probabilities associated with nested layers of ancestors. *Theoretical Population Biology* **145**:38–51.
- Druet T, Oleński K, Flori L, Bertrand AR, Olech W, Tokarska M, Kaminski S, Gautier M. 2020. Genomic Footprints of Recovery in the European Bison. *Journal of Heredity* **111**:194-203.
- Dymova MA, Zadorozhny A V., Mishukova O V., Khrapov EA, Druzhkova AS, Trifonov VA, Kichigin IG, Tishkin AA, Grushin SP, Filipenko ML. 2017. Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Altai. *Animal Genetics* **48**:615–618.
- Dzomba EF, Chimonyo M, Pierneef R, Muchadeyi FC. 2021. Runs of homozygosity analysis of South African sheep breeds from various production systems investigated using OvineSNP50k data. *BMC Genomics* **22**:7.
- Edwards CJ et al. 2011. Dual Origins of Dairy Cattle Farming – Evidence from a Comprehensive Survey of European Y-Chromosomal Variation. PLOS ONE **6**.
- el Mousadik A, Petit RJ. 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theoretical and Applied Genetics* **92**:832–839.

- Elhaik E. 2022. Principal Component Analyses (PCA)-based findings in population genetic studies are highly biased and must be reevaluated. *Scientific Reports* **12**.
- Ellegren H, Galtier N. 2016. Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics* **17**:422–433.
- Emigh TH, Pollak E. 1979. Fixation probabilities and effective population numbers in diploid populations with overlapping generations. *Theoretical Population Biology* **15**:86–107.
- Engel SR, Linn RA, Taylor JF, Davis SK. 1996. Conservation of Microsatellite Loci across Species of Artiodactyls: Implications for Population Studies. *Journal of Mammalogy* **77**:504–518.
- Esmaeili-Fard SM, Gholizadeh M, Hafezian SH, Abdollahi-Arpanahi R. 2021. Genome-wide association study and pathway analysis identify NTRK2 as a novel candidate gene for litter size in sheep. *PLOS ONE* **16**:e0244408.
- Esposti MD, de Vries S, Crimi M, Ghelli A, Patarnello T, Meyer A. 1993. Mitochondrial cytochrome b: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1143**:243–271.
- Eteqadi B, Ghavi Hossein-Zadeh N, Shadparvar AA. 2014. Population structure and inbreeding effects on body weight traits of Guilan sheep in Iran. *Small Ruminant Research* **119**:45–51.
- Eusebi PG, Martinez A, Cortes O. 2019. Genomic Tools for Effective Conservation of Livestock Breed Diversity. *Diversity* **12**:8.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**:479–491.
- Eydivandi S, Roudbar MA, Karimi MO, Sahana G. 2021. Genomic scans for selective sweeps through haplotype homozygosity and allelic fixation in 14 indigenous sheep breeds from Middle East and South Asia. *Scientific Reports* **11**.
- Eydivandi S, Sahana G, Momen M, Moradi MH, Schönherz AA. 2020. Genetic diversity in Iranian indigenous sheep vis-à-vis selected exogenous sheep breeds and wild mouflon. *Animal Genetics* **51**:772–787.

- Eynard SE, Windig JJ, Hiemstra SJ, Calus MPL. 2016. Whole-genome sequence data uncover loss of genetic diversity due to selection. *Genetics Selection Evolution* **48**.
- Faigl V, Vass N, Jávora A, Kulcsár M, Solti L, Amiridis G, Cseh S. 2012. Artificial insemination of small ruminants — A review. *Acta Veterinaria Hungarica* **60**:115–129.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1989. *Introduction to quantitative genetics* 3. Longman Scientific & Technical, Harlow.
- Fan H, Chu J-Y. 2007. A Brief Review of Short Tandem Repeat Mutation. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* **5**:7–14.
- FAO. 2011. *Molecular Genetic Characterization of Animal Genetic Resources*, 9th edition. FAO Animal Production and Health Guidelines, Rome. Available from <http://www.fao.org/3/i2413e/i2413e00.pdf> (accessed August 27, 2021).
- FAO. 2015. The second report on the state of the world's fao commission on genetic resources for food and agriculture assessments. Pages in Scherf BD, Pilling D, editors. *AO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments*, Rome.
- FAO. 2019. *Biodiversity and the livestock sector – Guidelines for quantitative assessment (Draft for public review)*. Rome.
- FAO. 2020. *Sustainable Development Goals*. Available from <http://www.fao.org/sustainable-development-goals/indicators/252/en/> (accessed May 13, 2020).
- FAO. 2021. *Trend in Risk Status*. Available from <http://www.fao.org/dad-is/trend-in-risk-status/en/> (accessed July 26, 2021).
- Farias IP, Ortí G, Sampaio I, Schneider H, Meyer A. 2001. The Cytochrome b Gene as a Phylogenetic Marker: The Limits of Resolution for Analyzing Relationships Among Cichlid Fishes. *Journal of Molecular Evolution* **53**:89–103.
- Ferenčaković M, Hamzić E, Gredler B, Solberg TR, Klemetsdal G, Curik I, Sölkner J. 2013. Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **130**:286–293.
- Ferreira de Camargo GM. 2019. The role of molecular genetics in livestock production. *Animal Production Science* **59**:201.

- Forutan M, Ansari Mahyari S, Baes C, Melzer N, Schenkel FS, Sargolzaei M. 2018. Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics* **19**:1–12.
- Foulley J-L, Ollivier L. 2006. Estimating allelic richness and its diversity. *Livestock Science* **101**:150–158.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA, McInnes KH. 2004. *A Primer of Conservation Genetics*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Frichot E, Mathieu F, Trouillon T, Bouchard G, François O. 2014. Fast and Efficient Estimation of Individual Ancestry Coefficients. *Genetics* **196**:973–983.
- Gaggiotti OE, Excoffier L. 2000. A simple method of removing the effect of a bottleneck and unequal population sizes on pairwise genetic distances. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **267**:81–87.
- Gaouar SBS, Kdidi S, Ouragh L. 2016. Estimating population structure and genetic diversity of five Moroccan sheep breeds by microsatellite markers. *Small Ruminant Research* **144**:23–27.
- García-Dorado A. 2012. Understanding and Predicting the Fitness Decline of Shrunk Populations: Inbreeding, Purging, Mutation, and Standard Selection. *Genetics* **190**:1461–1476.
- García-Dorado A, Wang J, López-Cortegano E. 2016. Predictive Model and Software for Inbreeding-Purging Analysis of Pedigreed Populations. *G3 Genes|Genomes|Genetics* **6**:3593–3601.
- García-Gámez E, Sahana G, Gutiérrez-Gil B, Arranz J-J. 2012. Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. *BMC Genetics* **13**:43.
- Gáspárdy A, Berger B, Zabavnik-Piano J, Kovács E, Annus K, Zenke P, Sáfár L, Maróti-Agóts Á. 2021. Comparison of mtDNA control region among descendant breeds of the extinct Zaupel sheep revealed haplogroup C and D in Central Europe. *Veterinary Medicine and Science* **7**:2330-2338.

- Gáspárdy A, Zenke P, Kovács E, Annus K, Posta J, Sáfár L, Maróti-Agóts Á. 2022. Evaluation of Maternal Genetic Background of Two Hungarian Autochthonous Sheep Breeds Coming from Different Geographical Directions. *Animals* **12**.
- Gazal S, Sahbatou M, Perdry H, Letort S, Génin E, Leutenegger A-L. 2014. Inbreeding Coefficient Estimation with Dense SNP Data: Comparison of Strategies and Application to HapMap III. *Human Heredity* **77**:49–62.
- Gebrehiwot NZ, Strucken EM, Aliloo H, Marshall K, Gibson JP. 2020. The patterns of admixture, divergence, and ancestry of African cattle populations determined from genome-wide SNP data. *BMC Genomics* **21**.
- Gebrehiwot NZ, Strucken EM, Marshall K, Aliloo H, Gibson JP. 2021. SNP panels for the estimation of dairy breed proportion and parentage assignment in African crossbred dairy cattle. *Genetics Selection Evolution* **53**.
- Ghafouri-Kesbi F. 2012. Using pedigree information to study genetic diversity and re-evaluating a selection program in an experimental flock of Afshari sheep. *Archives Animal Breeding* **55**:375–384.
- Gholizadeh M, Ghafouri-Kesbi F. 2016. Inbreeding depression in growth traits of Baluchi sheep. *Small Ruminant Research* **144**:184–190.
- Ghoreishifar SM, Moradi-Shahrbabak H, Fallahi MH, Jalil Sarghale A, Moradi-Shahrbabak M, Abdollahi-Arpanahi R, Khansefid M. 2020. Genomic measures of inbreeding coefficients and genome-wide scan for runs of homozygosity islands in Iranian river buffalo, *Bubalus bubalis*. *BMC Genetics* **21**.
- Ghoreishifar SM, Moradi-Shahrbabak H, Parna N, Davoudi P, Khansefid M. 2019. Linkage disequilibrium and within-breed genetic diversity in Iranian Zandi sheep. *Archives Animal Breeding* **62**:143–151.
- Gillman LN, Keeling DJ, Ross HA, Wright SD. 2009. Latitude, elevation and the tempo of molecular evolution in mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**:3353–3359.

- Golden BL, Brinks JS, Bourdon RM. 1991. A performance programmed method for computing inbreeding coefficients from large data sets for use in mixed-model analyses. *Journal of Animal Science* **69**:3564–3573.
- Goleman M, Balicki I, Radko A, Jakubczak A, Fornal A. 2019. Genetic diversity of the Polish Hunting Dog population based on pedigree analyses and molecular studies. *Livestock Science* **229**:114–117.
- Gómez-Romano F, Villanueva B, Fernández J, Woolliams JA, Pong-Wong R. 2016. The use of genomic coancestry matrices in the optimisation of contributions to maintain genetic diversity at specific regions of the genome. *Genetics Selection Evolution* **48**:2.
- Goudet J, Kay T, Weir BS. 2018. How to estimate kinship. *Molecular Ecology* **27**:4121–4135.
- Gowane GR, Chopra A, Misra SS, Prince LLL. 2014. Genetic diversity of a nucleus flock of Malpura sheep through pedigree analyses. *Small Ruminant Research* **120**:35–41.
- Goyache F, Gutierrez JP, Fernandez I, Gomez E, Alvarez I, Diez J, Royo LJ. 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **120**:95–105.
- Grasso AN, Goldberg V, Navajas EA, Iriarte W, Gimeno D, Aguilar I, Medrano JF, Rincón G, Ciappesoni G. 2014. Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genetics and Molecular Biology* **37**:389–395.
- Groeneveld LF et al. 2010. Genetic diversity in farm animals - a review. *Animal Genetics* **41**:6–31.
- Gulisija D, Crow JF. 2007. INFERRING PURGING FROM PEDIGREE DATA. *Evolution* **61**:1043–1051.
- Gündüz Z, Yilmaz O, Cemal İ, Biçer O. 2016. A Comparison of Old and Modern Type DNA Marker Technologies and Their Impact on Animal Breeding Programs. *Journal of the Institute of Science & Technology* **6**:175–180.
- Guo X, Elston RC. 1999. Linkage Information Content of Polymorphic Genetic Markers. *Human Heredity* **49**:112–118.

- Gurgul A, Jasielczuk I, Miksza-Cybulska A, Kawęcka A, Szmatoła T, Krupiński J. 2021. Evaluation of genetic differentiation and genome-wide selection signatures in Polish local sheep breeds. *Livestock Science* **251**:104635.
- Gurgul A, Jasielczuk I, Semik-Gurgul E, Pawlina-Tyszko K, Szmatoła T, Polak G, Bugno-Poniewierska M. 2020. Genetic Differentiation of the Two Types of Polish Cold-blooded Horses Included in the National Conservation Program. *Animals* **10**.
- Gurgul A, Semik E, Pawlina K, Szmatoła T, Jasielczuk I, Bugno-Poniewierska M. 2014. The application of genome-wide SNP genotyping methods in studies on livestock genomes. *Journal of Applied Genetics* **55**:197–208.
- Hall N, Mercer L, Phillips D, Shaw J, Anderson AD. 2012. Maximum likelihood estimation of individual inbreeding coefficients and null allele frequencies. *Genetics Research* **94**:151–161.
- Hallatschek O, Hersen P, Ramanathan S, Nelson DR. 2007. Genetic drift at expanding frontiers promotes gene segregation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**:19926–19930.
- Han W et al. 2020. Genome-wide analysis of the role of DNA methylation in inbreeding depression of reproduction in Langshan chicken. *Genomics* **112**:2677–2687.
- Harris E, Kotze A. 2002. Review of Genetic Characterization of Domesticated Animal Genetic Resources in Southern Africa. Page 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Montpellier, France.
- Hashemi M, Ghavi Hossein-Zadeh N. 2020. Population genetic structure analysis of Shall sheep using pedigree information and effect of inbreeding on growth traits. *Italian Journal of Animal Science* **19**:1195–1203.
- Hasinah H, Inounu I, Subandriyo S. 2015. Indonesian Efforts to Conserve Gembrong Goats. *International Journal of Science and Engineering* **8**:88–94.
- Hayes BJ, Visscher PM, McPartlan HC, Goddard ME. 2003. Novel Multilocus Measure of Linkage Disequilibrium to Estimate Past Effective Population Size. *Genome Research* **13**:635–643.

- Hazelton ML. 2011. Methods of Moments Estimation. Pages 816–817 International Encyclopedia of Statistical Science. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- Hedrick PW. 2005. A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* **59**:1633–1638.
- Hellborg L, Ellegren H. 2003. Low Levels of Nucleotide Diversity in Mammalian Y Chromosomes. *Molecular Biology and Evolution* **21**:158–163.
- Henderson CR. 1976. A Simple Method for Computing the Inverse of a Numerator Relationship Matrix Used in Prediction of Breeding Values. *Biometrics* **32**:69–83.
- Hidalgo-Moreno JA, Núñez-Domínguez R, García-Muñiz JG, Ramírez-Valverde R, Larios-Sarabia N, Ben Zaabza H. 2020. Genetic diversity and population structure of Boer and Nubian goats in Mexico. *Small Ruminant Research* **187**:106093.
- Hiendleder S, Kaupe B, Wassmuth R, Janke A. 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **269**:893–904.
- Hiendleder S, Lewalski H, Wassmuth R, Janke A. 1998a. The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. *Journal of Molecular Evolution* **47**:441–448.
- Hiendleder S, Mainz K, Plante Y, Lewalski H. 1998b. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. *Journal of Heredity* **89**:113–120.
- Hill WG. 1979. A Note on Effective Population Size With Overlapping Generations. *Genetics* **92**:317–322.
- Hill WG. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetical Research* **38**:209–216.
- Hill WG, Robertson A. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theoretical and Applied Genetics* **38**:226–231.
- Hoda A, Bytyqi H. 2017. Genetic diversity of sheep breeds from Albania and Kosova by microsatellite markers. *Albanian journal of agricultural science*:6–11.

- Hodgkinson A, Eyre-Walker A. 2011. Variation in the mutation rate across mammalian genomes. *Nature Reviews Genetics* **12**:756–766.
- Holderegger R, Kamm U, Gugerli F. 2006. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology* **21**:797–807.
- Holsinger KE, Weir BS. 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews Genetics* **10**:639–650.
- Howard JT, Pryce JE, Baes C, Maltecca C. 2017. Invited review: Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability. *Journal of Dairy Science* **100**:6009–6024.
- Hu X, Gao L. 2016. The complete mitochondrial genome of domestic sheep, *Ovis aries*. *Mitochondrial DNA* **27**:1425–1427.
- Huang K, Guo ST, Shattuck MR, Chen ST, Qi XG, Zhang P, Li BG. 2015. A maximum-likelihood estimation of pairwise relatedness for autopolyploids. *Heredity* **114**:133–142.
- Huisman J, Kruuk LEB, Ellis PA, Clutton-Brock T, Pemberton JM. 2016. Inbreeding depression across the lifespan in a wild mammal population. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**:3585–3590.
- Hurlbert SH. 1971. The Nonconcept of Species Diversity: A Critique and Alternative Parameters. *Ecology* **52**:577–586.
- Huson HJ, Sonstegard TS, Godfrey J, Hambrook D, Wolfe C, Wiggans G, Blackburn H, VanTassell CP. 2020. A Genetic Investigation of Island Jersey Cattle, the Foundation of the Jersey Breed: Comparing Population Structure and Selection to Guernsey, Holstein, and United States Jersey Cattle. *Frontiers in Genetics* **11**.
- Ibrahim A, Budisatria IGS, Widayanti R, Artama WT. 2020. The genetic profiles and maternal origin of local sheep breeds on Java Island (Indonesia) based on complete mitochondrial DNA D-loop sequences. *Veterinary World* **13**:2625–2634.
- Illa SK, Gollamoori G, Nath S. 2020. Evaluation of selection program by assessing the genetic diversity and inbreeding effects on Nellore sheep growth through pedigree analysis. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **33**:1369–1377.

- Jakubec V, Bezdíček J, Louda F. 2010. Selekce – inbríding - hybridizace. Agrovýzkum Rapotín s.r.o, Šumperk.
- Jawasreh KI, Ababneh MM, Ismail ZB, Younes AMB, Al Sukhni I. 2018. Genetic diversity and population structure of local and exotic sheep breeds in Jordan using microsatellites markers. *Veterinary World* **11**:778–781.
- Joezy-Shekalgorabi S, Maghsoudi A, Taheri-Yeganeh A, Rajabi-Marand B. 2016. Pedigree analysis of Cashmere goat breed of South Khorasan. *Italian Journal of Animal Science* **15**:590–594.
- Joezy-Shekalgorabi S, Maghsoudi A, Taheri-Yeganeh A, Rajabi-Marand B. 2017. Genetic variability of Iranian adani goat breed using pedigree analysis. *Journal of Animal and Plant Sciences* **27**:1774–1780.
- Johannes F, Colomé-Tatché M. 2011. Concerning epigenetics and inbreeding. *Nature Reviews Genetics* **12**:376–376.
- Johnson JA, Tingay RE, Culver M, Hailer F, Clarke ML, Mindell DP. 2008. Long-term survival despite low genetic diversity in the critically endangered Madagascar fish-eagle. *Molecular Ecology* **18**.
- Jombart T, Devillard S, Balloux F. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* **11**.
- Jónás D, Ducrocq V, Croiseau P. 2017. Short communication: The combined use of linkage disequilibrium-based haploblocks and allele frequency-based haplotype selection methods enhances genomic evaluation accuracy in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* **100**:2905–2908.
- Jost L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* **17**:4015–4026.
- Jost L, Archer F, Flanagan S, Gaggiotti O, Hoban S, Latch E. 2018. Differentiation measures for conservation genetics. *Evolutionary Applications* **11**:1139–1148.
- Jyotsana B, Jakhesara S, Prakash V, Rank DN, Vataliya PH. 2010. Genetic features of Patanwadi, Marwari and Dumba sheep breeds (India) inferred by microsatellite markers. *Small Ruminant Research* **93**:57–60.

- Kalinowski ST. 2004. Counting Alleles with Rarefaction: Private Alleles and Hierarchical Sampling Designs. *Conservation Genetics* **5**:539–543.
- Kalinowski ST, Hedrick PW, Miller PS. 2000. Inbreeding Depression in the Speke's Gazelle Captive Breeding Program. *Conservation Biology* **14**:1375–1384.
- Kandoussi A, Badaoui B, Boujenane I, Piro M, Petit D. 2021. How have sheep breeds differentiated from each other in Morocco? Genetic structure and geographical distribution patterns. *Genetics Selection Evolution* **53**.
- Kawęcka A, Gurgul A, Miksza-Cybulska A. 2016. The Use of SNP Microarrays for Biodiversity Studies of Sheep – A Review. *Annals of Animal Science* **16**:975–987.
- Keller MC, Visscher PM, Goddard ME. 2011. Quantification of Inbreeding Due to Distant Ancestors and Its Detection Using Dense Single Nucleotide Polymorphism Data. *Genetics* **189**:237–249.
- Kijas JW et al. 2009. A Genome Wide Survey of SNP Variation Reveals the Genetic Structure of Sheep Breeds. *PLOS ONE* **4**:e4668.
- Kijas JW et al. 2012a. Genome-Wide Analysis of the World's Sheep Breeds Reveals High Levels of Historic Mixture and Strong Recent Selection. *PLoS Biology* **10**:e1001258.
- Kijas JW, Miller JE, Hadfield T, McCulloch R, Garcia-Gamez E, Porto Neto LR, Cockett N. 2012b. Tracking the Emergence of a New Breed Using 49,034 SNP in Sheep. *PLOS ONE* **7**:e41508.
- Kiya CK, Pedrosa VB, Muniz KFA, Gusmão AL, Batista LFP. 2019. Population structure of a nucleus herd of Dorper sheep and inbreeding effects on growth, carcass, and reproductive traits. *Small Ruminant Research* **177**:141–145.
- Kominakis A, Hager-Theodorides AL, Saridaki A, Antonakos G, Tsiamis G. 2017. Genome-wide population structure and evolutionary history of the Frizarta dairy sheep. *Animal* **11**:1680–1688.
- Konopiński MK. 2020. Shannon diversity index: a call to replace the original Shannon's formula with unbiased estimator in the population genetics studies. *PeerJ* **8**.

- Koopae HK, Koshkoiyeh AE. 2014. SNPs genotyping technologies and their applications in farm animals breeding programs: review. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **57**:87–95.
- Kristensen TN, Sørensen AC. 2005. Inbreeding – lessons from animal breeding, evolutionary biology and conservation genetics. *Animal Science* **80**:121–133.
- Krivoruchko A, Sermyagin A, Saprikina T, Golovanova N, Kvochko A, Yatsyk O. 2021. Genome wide associations study of single nucleotide polymorphisms with productivity parameters in Jalgin merino for identification of new candidate genes. *Gene Reports* **23**:101065.
- Krupa E, Krupova Z, Zakova E, Kasarda R, Svitakova A. 2015. Population analysis of the local endangered Přeštice Black-Pied pig breed. *Poljoprivreda/Agriculture* **21**:155–158.
- Kumar C et al. 2018. Population structure, genetic diversity and selection signatures within seven indigenous Pakistani goat populations. *Animal Genetics* **49**:592–604.
- Kurukulasuriya M, Silva P, Pichler R, Thiruvankadan AK, Ramasamy S, Periasamy K. 2022. Population structure and genetic relatedness of Sri Lankan Jaffna Local sheep with major South Indian breeds. *Small Ruminant Research* **206**.
- Kyriazis CC, Wayne RK, Lohmueller KE. 2021. Strongly deleterious mutations are a primary determinant of extinction risk due to inbreeding depression. *Evolution Letters* **5**:33–47.
- Lacy RC. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biology* **8**:111–123.
- Lacy RC. 1995. Clarification of genetic terms and their use in the management of captive populations. *Zoo Biology* **14**:565–577.
- Lancioni H, di Lorenzo P, Ceccobelli S, Perego UA, Miglio A, Landi V, Antognoni MT, Sarti FM, Lasagna E, Achilli A. 2013. Phylogenetic Relationships of Three Italian Merino-Derived Sheep Breeds Evaluated through a Complete Mitogenome Analysis. *PLOS ONE* **8**.
- Laoun A et al. 2020. Inference of Breed Structure in Farm Animals: Empirical Comparison between SNP and Microsatellite Performance. *Genes* **11**.

- Larison B et al. 2021. Epigenetic models developed for plains zebras predict age in domestic horses and endangered equids. *Communications Biology* **4**:1412.
- Laval G, SanCristobal M, Chevalet C. 2002. Measuring genetic distances between breeds: use of some distances in various short term evolution models. *Genetics Selection Evolution* **34**:481–507.
- Lawson DJ, Falush D. 2012. Population Identification Using Genetic Data. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* **13**:337–361.
- Lee C, Abdool A, Huang C-H. 2009. PCA-based population structure inference with generic clustering algorithms. *BMC Bioinformatics* **10**.
- Lee K-T, Lee Y-M, Alam M, Choi BH, Park MR, Kim K-S, Kim T-H, Kim J-J. 2012. A Whole Genome Association Study on Meat Quality Traits Using High Density SNP Chips in a Cross between Korean Native Pig and Landrace. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **25**:1529–1539.
- Lenstra JA et al. 2017. Microsatellite diversity of the Nordic type of goats in relation to breed conservation: how relevant is pure ancestry? *Journal of Animal Breeding and Genetics* **134**:78–84.
- Leroy G. 2011. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. *The Veterinary Journal* **189**:177–182.
- Leroy G. 2014. Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Animal Genetics* **45**:618–628.
- Leutenegger A-L, Prum B, Génin E, Verny C, Lemaître A, Clerget-Darpoux F, Thompson EA. 2003. Estimation of the Inbreeding Coefficient through Use of Genomic Data. *The American Journal of Human Genetics* **73**:516–523.
- Li CC, Horvitz DG. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *American journal of human genetics* **5**:107–117.
- Li CC, Weeks DE, Chakravarti A. 1993. Similarity of DNA Fingerprints Due to Chance and Relatedness. *Human Heredity* **43**:45–52.

- Li R et al. 2021a. A Hu sheep genome with the first ovine Y chromosome reveal introgression history after sheep domestication. *Science China Life Sciences* **64**:1116–1130.
- Li R, Sun J, Zhao Y, Xiao H, Chen S. 2021b. Maternal origins, population structure and demographic history of ten Chinese indigenous goat breeds from Yunnan. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **138**:108–121.
- Liu F, Li J, Li L, Liu Y, Wu X, Wang Z. 2018. Peste des petits ruminants in China since its first outbreak in 2007: A 10-year review. *Transboundary and Emerging Diseases* **65**:638–648.
- Liu J, Shi L, Li Y, Chen L, Garrick D, Wang L, Zhao F. 2021. Estimates of genomic inbreeding and identification of candidate regions that differ between Chinese indigenous sheep breeds. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **12**:95.
- Liu S, He S, Chen L, Li W, Di J, Liu M. 2017. Estimates of linkage disequilibrium and effective population sizes in Chinese Merino (Xinjiang type) sheep by genome-wide SNPs. *Genes & Genomics* **39**:733–745.
- Lopes F et al. 2020. Genome-enabled prediction for health traits using high-density SNP panel in US Holstein cattle. *Animal Genetics* **51**:192–199.
- López-Cortegano E, Bersabé D, Wang J, García-Dorado A. 2018. Detection of genetic purging and predictive value of purging parameters estimated in pedigreed populations. *Heredity* **121**:38–51.
- López-Cortegano E, Pérez-Figueroa A, Caballero A. 2019. METAPOPOP2: Re-implementation of software for the analysis and management of subdivided populations using gene and allelic diversity. *Molecular Ecology Resources* **19**:1095–1100.
- López-Cortegano E, Pouso R, Labrador A, Pérez-Figueroa A, Fernández J, Caballero A. 2019. Optimal Management of Genetic Diversity in Subdivided Populations. *Frontiers in Genetics* **10**.
- Loukovitis D, Siasiou A, Mitsopoulos I, Lymberopoulos AG, Laga V, Chatziplis D. 2016. Genetic diversity of Greek sheep breeds and transhumant populations utilizing microsatellite markers. *Small Ruminant Research* **136**:238–242.

- Loukovitis D, Szabó M, Chatziplis D, Monori I, Kusza S. 2022. Genetic diversity and substructuring of the Hungarian merino sheep breed using microsatellite markers. *Animal Biotechnology*:1–9.
- Luigi-Sierra MG et al. 2022. Genomic patterns of homozygosity and inbreeding depression in Murciano-Granadina goats. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **13**.
- Luikart G. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *Journal of Heredity* **89**:238–247.
- Luque GM, Vayssade C, Facon B, Guillemaud T, Courchamp F, Fauvergue X. 2016. The genetic Allee effect: a unified framework for the genetics and demography of small populations. *Ecosphere* **7**:e01413.
- Lv C, Wu G, Hong Q, Quan G. 2019. Spermatozoa Cryopreservation: State of Art and Future in Small Ruminants. *Biopreservation and Biobanking* **17**:171–182.
- Lynch M. 2010. Evolution of the mutation rate. *Trends in Genetics* **26**:345–352.
- Lynch M, Ritland K. 1999. Estimation of Pairwise Relatedness With Molecular Markers. *Genetics* **152**:1753–1766.
- Ma L, Ji Y-J, Zhang D-X. 2015. Statistical measures of genetic differentiation of populations: Rationales, history and current states. *Current Zoology* **61**:886–897.
- Ma Z-J, Li G-Z, Chen S-M, Han J-L, Hanif Q. 2021. Rich maternal and paternal genetic diversity and divergent lineage composition in wild yak (*Bos mutus*). *Animal Biotechnology*:1–4.
- Macholán M. 2014a. Distanční metody. Pages 85–106 *Základy fylogenetické analýzy*. Masarykova univerzita, Brno.
- Macholán M. 2014b. Bayesovská analýza. Pages 125–142 *Základy fylogenetické analýzy*. Masarykova univerzita, Brno.
- Machová K. 2020. Genetic variability analysis of 26 sheep breeds in the Czech Republic. *Acta fytotechnica et zootechnica* **23**:38–45.
- Machová K, Kranjčevićová A, Vostrý L, Krupa E. 2020. Analysis of Genetic Diversity in the Czech Spotted Dog. *Animals* **10**:1416.

- Machová K, Málková A, Vostrý L. 2022a. Sheep Post-Domestication Expansion in the Context of Mitochondrial and Y Chromosome Haplogroups and Haplotypes. *Genes* **13**:613.
- Machová K, Marina H, Arranz JJ, Pelayo R, Rychtářová J, Milerski M, Vostrý L, Suárez-Vega A. 2023. Genetic diversity of two native sheep breeds by genome-wide analysis of single nucleotide polymorphisms. *animal* **17**:100690.
- Machová K, Milerski M, Rychtářová J, Hofmanová B, Vostrá-Vydrová H, Moravčíková N, Kasarda R, Vostrý L. 2021. Assessment of the genetic diversity of Two Czech autochthonous sheep breeds. *Small Ruminant Research* **195**:106301.
- Machová K, Štruncová P, Calta J, Tichý L, Vostrý L. 2022b. Genealogical analysis of European bison population revealed a growing up population despite very low genetic diversity. *PLOS ONE* **17**:e0277456.
- Mahmoud AH, Tarboush FMA, Rady A, Abul Farah KMA-AM, Mohammed OB. 2018. Genetic variability of sheep populations of Saudi Arabia using microsatellite markers. *Indian Journal of Animal Research* **54**: 409-412.
- Mahmoudi P, Rashidi A, Razmkabir M. 2018. Inbreeding effects on some reproductive traits in Markhoz goats. *Animal Production Science* **58**.
- Makanjuola BO, Miglior F, Abdalla EA, Maltecca C, Schenkel FS, Baes CF. 2020. Effect of genomic selection on rate of inbreeding and coancestry and effective population size of Holstein and Jersey cattle populations. *Journal of Dairy Science* **103**:5183–5199.
- Malécot G. 1948. *Les mathématiques de l'hérédité*. Libraires de l'académie de médecine, Paris.
- Malhado CHM, Malhado ACM, Carneiro PLS, Ramos AA, Carrillo JA, Pala A. 2013. Inbreeding depression on production and reproduction traits of buffaloes from Brazil. *Animal Science Journal* **84**:289–295.
- Mallick PK, Chauhan I, Thirumaran SMK, Pourouchttamane R, Kumar A. 2020. Genetic Variability of Bharat Merino Sheep Derived from Pedigree Information. *Indian Journal of Animal Research* **54**:1324-1331.
- Mandal A, Baneh H, Roy R, Notter DR. 2021. Genetic diversity and population structure of Jamunapari goat in India using pedigree analysis. *Tropical Animal Health and Production* **53**:218.

- Marchesi JAP et al. 2018. Relationship of runs of homozygosity with adaptive and production traits in a paternal broiler line. *Animal* **12**:1126–1134.
- Marsden CD, Ortega-Del Vecchyo D, O'Brien DP, Taylor JF, Ramirez O, Vilà C, Marques-Bonet T, Schnabel RD, Wayne RK, Lohmueller KE. 2016. Bottlenecks and selective sweeps during domestication have increased deleterious genetic variation in dogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**:152–157.
- Mastrangelo S, di Gerlando R, Tolone M, Tortorici L, Sardina MT, Portolano B. 2014. Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genetics* **15**:1–10.
- McParland S, Kearney F, Berry DP. 2009. Purging of inbreeding depression within the Irish Holstein-Friesian population. *Genetics Selection Evolution* **41**:16.
- McGivney BA, Han H, Corduff LR, Katz LM, Tozaki T, MacHugh DE, Hill EW. 2020. Genomic inbreeding trends, influential sire lines and selection in the global Thoroughbred horse population. *Scientific Reports* **10**:466.
- McKay SD et al. 2008. An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. *BMC Genetics* **9**:37.
- McQuillan R et al. 2008. Runs of Homozygosity in European Populations. *The American Journal of Human Genetics* **83**:359–372.
- McVean G. 2009. A Genealogical Interpretation of Principal Components Analysis. *PLoS Genetics* **5**.
- McVean GAT. 2002. A Genealogical Interpretation of Linkage Disequilibrium. *Genetics* **162**:987–991.
- Meadows JR, Chan EK, Kijas JW. 2008. Linkage disequilibrium compared between five populations of domestic sheep. *BMC Genetics* **9**.
- Meadows JRS, Cemal I, Karaca O, Gootwine E, Kijas JW. 2007. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near east. *Genetics* **175**:1371–1379. *Genetics*.

- Meadows JRS, Hanotte O, Drögemüller C, Calvo J, Godfrey R, Coltman D, Maddox JF, Marzanov N, Kantanen J, Kijas JW. 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal Genetics* **37**:444–453.
- Meadows JRS, Hawken RJ, Kijas JW. 2004. Nucleotide diversity on the ovine Y chromosome. *Animal Genetics* **35**:379–385.
- Meadows JRS, Hiendleder S, Kijas JW. 2011. Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity* **106**:700–706.
- Meadows JRS, Kijas JW. 2009. Re-sequencing regions of the ovine Y chromosome in domestic and wild sheep reveals novel paternal haplotypes. *Animal Genetics* **40**:119–123.
- Meirmans PG. 2019. Hardy–Weinberg Equilibrium. Pages 118–126 *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier.
- Mendelsohn R. 2003. The challenge of conserving indigenous domesticated animals. *Ecological Economics* **45**:501–510.
- Mészáros G. 2018. Genomic descriptors of biodiversity – A review. *Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment* **69**:73–83.
- Meuwissen T. 2009. Genetic management of small populations: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science* **59**:71–79.
- Meuwissen THE, Luo Z. 1992. Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genetics Selection Evolution* **24**:305.
- Meuwissen THE, Sonesson AK, Gebregiwergis G, Woolliams JA. 2020. Management of Genetic Diversity in the Era of Genomics. *Frontiers in Genetics* **11**.
- Meyermans R, Gorssen W, Wijnrocx K, Lenstra JA, Vellema P, Buys N, Janssens S. 2020. Unraveling the genetic diversity of Belgian Milk Sheep using medium-density SNP genotypes. *Animal Genetics* **51**:258–265.
- Mignon-Grasteau S et al. 2005. Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science* **93**:3–14.
- Milligan BG. 2003. Maximum-Likelihood Estimation of Relatedness. *Genetics* **163**:1153–1167.

- Mohammadhashemi A, Pirany N, Roz BBK, Nassiry M. 2010. Determination of mitochondrial D-loop sequence of Iranian Moghani sheep breed. *Advances in Animal Biosciences* **1**.
- Mokhtari MS, Shahrabak MM, Esmailzadeh AK, Abdollahi-Arpanahi R, Gutierrez JP. 2013. Genetic diversity in Kermani sheep assessed from pedigree analysis. *Small Ruminant Research* **114**:202–205.
- Mokhtari MS, Shahrabak MM, Esmailzadeh AK, Shahrabak HM, Gutierrez JP. 2014. Pedigree analysis of Iran-Black sheep and inbreeding effects on growth and reproduction traits. *Small Ruminant Research* **116**:14–20.
- Moosanezhad Khabisi M, Asadi Foozi M, Lv F-H, Esmailzadeh A. 2021. Genome-wide DNA arrays profiling unravels the genetic structure of Iranian sheep and pattern of admixture with worldwide coarse-wool sheep breeds. *Genomics* **113**:3501–3511.
- Moreno E, Pérez-González J, Carranza J, Moya-Laraño J. 2015. Better Fitness in Captive Cuvier's Gazelle despite Inbreeding Increase: Evidence of Purging? *PLOS ONE* **10**:e0145111.
- Mukhametzharova I, Islamov Y, Shauyenov S, Ibrayev D, Atavliyeva S, Tarlykov P. 2018. Genetic Characterization of Kazakh Native Sheep Breeds Using Mitochondrial DNA. *OnLine Journal of Biological Sciences* **18**:341–348.
- Mukhina V, Svishcheva G, Voronkova V, Stolpovsky Y, Piskunov A. 2022. Genetic Diversity, Population Structure and Phylogeny of Indigenous Goats of Mongolia Revealed by SNP Genotyping. *Animals* **12**:1–15.
- Murray GG et al. 2013. Genetic susceptibility to infectious disease in East African Shorthorn Zebu: a genome-wide analysis of the effect of heterozygosity and exotic introgression. *BMC Evolutionary Biology* **13**:246.
- Mustafa S. 2021. The Complete Mitogenome of the Iraqi Awassi Sheep Breed and the Maternal Lineage Utilizing High Throughput Sequencing Raw Reads. *Journal of Bangladesh Agricultural University* **19**:465–470.
- Nagylaki T. 1998. Fixation Indices in Subdivided Populations. *Genetics* **148**:1325–1332.

- Naqvi AN, Mahmood S, Vahidi SMF, Abbas SM, Utsunomiya YT, Garcia JF, Periasamy K. 2017. Assessment of genetic diversity and structure of major sheep breeds from Pakistan. *Small Ruminant Research* **148**:72–79. Elsevier B.V.
- Nebert DW, Gálvez-Peralta M, Shi Z, Dragin N. 2010. Inbreeding and epigenetics: beneficial as well as deleterious effects. *Nature Reviews Genetics* **11**:662–662.
- Nei M. 1972. Genetic Distance between Populations. *The American Naturalist* **106**:283–292.
- Nei M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics* **41**:225–233.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**:1–10.
- Nei M, Tajima F, Tateno Y. 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution* **19**:153–170.
- Nel C, Gurman P, Swan A, van der Werf J, Snyman M, Dzama K, Gore K, Scholtz A, Cloete S. 2022. The genomic structure of isolation across breed, country and strain for important South African and Australian sheep populations. *BMC Genomics* **23**:1–19.
- Nietlisbach P, Muff S, Reid JM, Whitlock MC, Keller LF. 2019. Nonequivalent lethal equivalents: Models and inbreeding metrics for unbiased estimation of inbreeding load. *Evolutionary Applications* **12**:266–279.
- Nigussie H, Mwacharo JM, Osama S, Agaba M, Mekasha Y, Kebede K, Abegaz S, Pal SK. 2019. Genetic diversity and matrilineal genetic origin of fat-rumped sheep in Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production* **51**:1393–1404.
- Nilforooshan MA. 2022. A new computational approach to Henderson's method of computing the inverse of a numerator relationship matrix. *Livestock Science* **257**.
- Niu LL, Li HB, Ma YH, Du LX. 2012. Genetic variability and individual assignment of Chinese indigenous sheep populations (*Ovis aries*) using microsatellites. *Animal Genetics* **43**:108–111.

- Nosrati M, Asadollahpour Nanaei H, Javanmard A, Esmailizadeh A. 2021. The pattern of runs of homozygosity and genomic inbreeding in world-wide sheep populations. *Genomics* **113**:1407–1415.
- Notter DR. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science* **77**:61.
- O'Brien SJ, Evermann JF. 1988. Interactive influence of infectious disease and genetic diversity in natural populations. *Trends in Ecology & Evolution* **3**:254–259.
- Ocampo RJ, A Martinez R, Rocha JJ, Cardona H. 2017. Genetic characterization of Colombian indigenous sheep. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* **30**:116–125.
- Odjakova T, Todorov P, Radoslavov G, Hristov P. 2022. Microsatellite Genotyping of Two Bulgarian Sheep Breeds. *Diversity* **14**.
- Ohta T, Kimura M. 1969. Linkage disequilibrium at steady state determined by random genetic drift and recurrent mutation. *Genetics* **63**:229–238.
- OIE. 2021. Animal Diseases – OIE - World Organisation for Animal Health. Available from https://www.oie.int/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases/?_tax_animal=terrestrials%2Csheep-and-goats (accessed January 11, 2022).
- Okumura K, Saito M, Isogai E, Wakabayashi Y. 2021. The Japanese Wild-Derived Inbred Mouse Strain, MSM/Ms in Cancer Research. *Cancers* **13**:1026.
- Olech W. 2003. Wpływ inbredu osobniczego i inbredu matki na przeżywalność cieląt zubra (*Bison bonasus*). Wydawn. SGGW.
- Olech W, Perzanowski K. 2002. A genetic background for reintroduction program of the European bison (*Bison bonasus*) in the Carpathians. *Biological Conservation* **108**:221–228.
- Oravcová M, Krupa E. 2011. Pedigree analysis of the former Valachian sheep. *Slovak Journal of Animal Science* **44**.
- Othman OEM, Payet-Duprat N, Harkat S, Laoun A, Maftah A, Lafri M, Da Silva A. 2016. Sheep diversity of five Egyptian breeds: Genetic proximity revealed between desert breeds: Local sheep breeds diversity in Egypt. *Small Ruminant Research* **144**:346–352.

- Paige KN. 2010. The Functional Genomics of Inbreeding Depression: A New Approach to an Old Problem. *BioScience* **60**:267–277.
- Paiva RDM, de Sousa JER, Ferreira J, Cunha EE, de Paiva MPSLM, Gouveia AMG, Facó O. 2020. Population structure and effect of inbreeding on milk yield of Saanen goats in Brazilian production systems. *Small Ruminant Research* **192**.
- Paiva SR, Facó O, Faria DA, Lacerda T, Barretto GB, Carneiro PLS, Lobo RNB, McManus C. 2011. Molecular and pedigree analysis applied to conservation of animal genetic resources: the case of Brazilian Somali hair sheep. *Tropical Animal Health and Production* **43**:1449–1457.
- Pardeshi VC, Kadoo NY, Sainani MN, Meadows JRS, Kijas JW, Gupta VS. 2007. Mitochondrial haplotypes reveal a strong genetic structure for three Indian sheep breeds. *Animal Genetics* **38**:460–466.
- Pasandideh M, Gholizadeh M, Rahimi Mianji G. 2020. Estimation of Effective Population Size and Genomic Inbreeding Coefficients in Baluchi Sheep Using Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). *Iranian Journal of Applied Animal Science* **10**:287–295.
- Pattison J, Drucker AG, Anderson S. 2007. The cost of conserving livestock diversity? Incentive measures and conservation options for maintaining indigenous Pelón pigs in Yucatan, Mexico. *Tropical Animal Health and Production* **39**:339–35
- Peakall R, Smouse P. 2009. GenAlEx Tutorial 1 Introduction to Population Genetic Analysis.
- Pearl R. 1913. A Contribution Towards an Analysis of the Problem of Inbreeding. Source: *The American Naturalist* **47**:577–614.
- Pedrosa VB, Santana ML, Oliveira PS, Eler JP, Ferraz JBS. 2010. Population structure and inbreeding effects on growth traits of Santa Inês sheep in Brazil. *Small Ruminant Research* **93**:135–139.
- Pemberton TJ, Absher D, Feldman MW, Myers RM, Rosenberg NA, Li JZ. 2012. Genomic Patterns of Homozygosity in Worldwide Human Populations. *The American Journal of Human Genetics* **91**:275–292.

- Pereira F, Davis SJM, Pereira L, McEvoy B, Bradley DG, Amorim A. 2006. Genetic Signatures of a Mediterranean Influence in Iberian Peninsula Sheep Husbandry. *Molecular Biology and Evolution* **23**:1420–1426.
- Persichilli C, Senczuk G, Pasqualino L, Anzalone DA, Negrini R, Ajmone Marsan P, Colli L, Pilla F, Mastrangelo S. 2021. Genome-wide diversity of Pagliarola sheep residual population and its conservation implication. *Italian Journal of Animal Science* **20**:1695–1705.
- Peter C, Bruford M, Perez T, Dalamitra S, Hewitt G, Erhardt G. 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Animal Genetics* **38**:37–44.
- Phyu PP, Pichler R, Soe O, Aung PP, Than M, Shamsuddin M, Diallo A, Periasamy K. 2017. Genetic diversity, population structure and phylogeography of Myanmar goats. *Small Ruminant Research* **148**:33–42.
- Pichler R et al. 2017. Short tandem repeat (STR) based genetic diversity and relationship of domestic sheep breeds with primitive wild Punjab Urial sheep (*Ovis vignei punjabiensis*). *Small Ruminant Research* **148**:11–21.
- Pinheiro M, Kjöllnerström HJ, Oom MM. 2013. Genetic diversity and demographic structure of the endangered Sorraia horse breed assessed through pedigree analysis. *Livestock Science* **152**:1–10.
- Plumb G, Kowalczyk R, Hernandez-Blanco JA. 2020. Bison bonasus (European Bison). Available from <https://www.iucnredlist.org/species/2814/45156279> (accessed April 20, 2021).
- Poissant J, Davis CS, Malenfant RM, Hogg JT, Coltman DW. 2012. QTL mapping for sexually dimorphic fitness-related traits in wild bighorn sheep. *Heredity* **108**:256–263.
- Polak G, Gurgul A, Jasielczuk I, Szmatoła T, Krupiński J, Bugno-Poniewierska M. 2021. Suitability of Pedigree Information and Genomic Methods for Analyzing Inbreeding of Polish Cold-Blooded Horses Covered by Conservation Programs. *Genes* **12**.
- Powell JE, Visscher PM, Goddard ME. 2010. Reconciling the analysis of IBD and IBS in complex trait studies. *Nature Reviews Genetics* **11**:800–805.

- Pozharskiy A, Khamzina A, Gritsenko D, Khamzina Z, Kassymbekova S, Karimov N, Karymsakov T, Tlevlesov N. 2020. SNP genotyping and population analysis of five indigenous Kazakh sheep breeds. *Livestock Science* **241**.
- Prieur V, Clarke SM, Brito LF, McEwan JC, Lee MA, Brauning R, Dodds KG, Auvray B. 2017. Estimation of linkage disequilibrium and effective population size in New Zealand sheep using three different methods to create genetic maps. *BMC Genetics* **18**:68.
- Prihandini PW, Primasari A, Luthfi M, Efendy J, Pamungkas D. 2020. Genetic Diversity of Mitochondrial DNA Cytochrome b in Indonesian Native and Local Cattle Populations. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* **25**.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* **155**:945–959.
- Purcell S, Chang C. 2019. PLINK 1.9. Available from www.cog-genomics.org/plink/1.9/ (accessed November 9, 2022).
- Purfield DC, McParland S, Wall E, Berry DP. 2017. The distribution of runs of homozygosity and selection signatures in six commercial meat sheep breeds. *PLOS ONE* **12**:e0176780.
- Qanbari S. 2020. On the Extent of Linkage Disequilibrium in the Genome of Farm Animals. *Frontiers in Genetics* **10**.
- Quaas RL. 1976. Computing the Diagonal Elements and Inverse of a Large Numerator Relationship Matrix. *Biometrics* **32**:949–953.
- Queller DC, Goodnight KF. 1989. Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution* **43**:258–275.
- Qwabe SO, van Marle-Köster E, Visser C. 2013. Genetic diversity and population structure of the endangered Namaqua Afrikaner sheep. *Tropical Animal Health and Production* **45**:511–516.
- Rannamäe E, Lõugas L, Niemi M, Kantanen J, Maldre L, Kadõrova N, Saarma U. 2016. Maternal and paternal genetic diversity of ancient sheep in Estonia from the Late Bronze Age to the post-medieval period and comparison with other regions in Eurasia. *Animal Genetics* **47**:208–218.

- Raoul J, Elsen J-M. 2020. Effect of the rate of artificial insemination and paternity knowledge on the genetic gain for French meat sheep breeding programs. *Livestock Science* **232**:103932.
- Rashidi A, Mokhtari MS, Gutiérrez JP. 2015. Pedigree analysis and inbreeding effects on early growth traits and greasy fleece weight in Markhoz goat. *Small Ruminant Research* **124**:1–8.
- Reynolds J, Weir BS, Cockerham CC. 1983. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* **105**:767–779.
- Rezaei HR, Naderi S, Chintauan-Marquier IC, Taberlet P, Virk AT, Naghash HR, Rioux D, Kaboli M, Pompanon F. 2010. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **54**:315–326.
- Robertson A. 1961. Inbreeding in artificial selection programmes. *Genetics Research* **89**:275–280.
- Robinson JA, Brown C, Kim BY, Lohmueller KE, Wayne RK. 2018. Purging of Strongly Deleterious Mutations Explains Long-Term Persistence and Absence of Inbreeding Depression in Island Foxes. *Current Biology* **28**:3487-3494.e4.
- Rochus CM, Johansson AM. 2017. Estimation of genetic diversity in Gute sheep: pedigree and microsatellite analyses of an ancient Swedish breed. *Hereditas* **154**:4.
- Rodríguez-Ramilo ST, Elsen JM, Legarra A. 2019. Inbreeding and effective population size in French dairy sheep: Comparison between genomic and pedigree estimates. *Journal of Dairy Science* **102**:4227–4237.
- Rodríguez-Ramilo ST, Reverter A, Sánchez JP, Fernández J, Velasco-Galilea M, González O, Piles M. 2020. Networks of inbreeding coefficients in a selected population of rabbits. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **137**:599–608.
- Rollinson N, Keith DM, Houde ALS, Debes P V., McBride MC, Hutchins JA. 2014. Risk Assessment of Inbreeding and Outbreeding Depression in a Captive-Breeding Program. *Conservation Biology* **28**:529–540.

- Rupp R, Mucha S, Larroque H, McEwan J, Conington J. 2016. Genomic application in sheep and goat breeding. *Animal Frontiers* **6**:39–44.
- Ryman N, Leimar O. 2009. G_{ST} is still a useful measure of genetic differentiation - a comment on Jost's *D*. *Molecular Ecology* **18**:2084–2087.
- Saccone C, Pesole G, Sbisá E. 1991. The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: Structure-function model and evolutionary pattern. *Journal of Molecular Evolution* **33**:83–91.
- Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Bhushan B. 2022. Advanced software programs for the analysis of genetic diversity in livestock genomics: a mini review. *Biological Rhythm Research* **53**:358–368.
- Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Bhushan B, Dutt T, Mishra BP. 2021. Genome-wide analysis of genetic diversity and selection signatures in three Indian sheep breeds. *Livestock Science* **243**:1–9.
- Sargolzaei M, Iwaisaki H, Colleau J-J. 2005. A fast algorithm for computing inbreeding coefficients in large populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **122**:325–331.
- Sarmiento DR, Tullo E, Rizzi R. 2017. Pedigree-based analysis of genetic variability in the registered Normande cattle breed in Colombia. *Animal Production Science* **57**:422.
- Saura M, Fernández A, Varona L, Fernández AI, de Cara M, Barragán C, Villanueva B. 2015. Detecting inbreeding depression for reproductive traits in Iberian pigs using genome-wide data. *Genetics Selection Evolution* **47**.
- Schäler J, Krüger B, Thaller G, Hinrichs D. 2020. Comparison of ancestral, partial, and genomic inbreeding in a local pig breed to achieve genetic diversity. *Conservation Genetics Resources* **12**:77–86.
- Schiavo G, Bovo S, Bertolini F, Tinarelli S, Dall'Olio S, Nanni Costa L, Gallo M, Fontanesi L. 2020. Comparative evaluation of genomic inbreeding parameters in seven commercial and autochthonous pig breeds. *Animal* **14**:910–920.
- Scott BA, Haile-Mariam M, Cocks BG, Pryce JE. 2021. How genomic selection has increased rates of genetic gain and inbreeding in the Australian national herd, genomic information nucleus, and bulls. *Journal of Dairy Science* **104**:11832–11849.

- Selvaggi M, Dario C. 2011. High mortality in Leccese inbred lambs. *Small Ruminant Research* **99**:34–36.
- Selvaggi M, Dario C, Peretti V, Ciotola F, Carnicella D, Dario M. 2010. Inbreeding depression in Leccese sheep. *Small Ruminant Research* **89**:42–46.
- Serrano M, Ramón M, Calvo JH, Jiménez MÁ, Freire F, Vázquez JM, Arranz JJ. 2021. Genome-wide association studies for sperm traits in Assaf sheep breed. *Animal* **15**:100065.
- Sharma R, Ahlawat S, Sehrawat R, Aggarwal RAK, Chandran PC, Kamal RK, Dey A, Tantia MS. 2022. Morphometric characteristics and microsatellite markers based diversity and differentiation recognizes the first prospective cattle breed from the Jharkhand state of India. *Animal Biotechnology* **26**:1–13.
- Sharma R, Kumar B, Arora R, Ahlawat S, Mishra AK, Tantia MS. 2016. Genetic diversity estimates point to immediate efforts for conserving the endangered Tibetan sheep of India. *Meta Gene* **8**:14–20.
- Sheikhlou M, Abbasi MA. 2016. Genetic diversity of Iranian Lori-Bakhtiari sheep assessed by pedigree analysis. *Small Ruminant Research* **141**:99–105.
- Sherman DM. 2011. The spread of pathogens through trade in small ruminants and their products. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* **30**:207–217.
- Shriner D. 2013. Overview of Admixture Mapping. *Current Protocols in Human Genetics* **76**.
- Shumbusho F, Raoul J, Astruc JM, Palhiere I, Lemarié S, Fugeray-Scarbel A, Elsen JM. 2016. Economic evaluation of genomic selection in small ruminants: a sheep meat breeding program. *Animal* **10**:1033–1041.
- Signer-Hasler H, Burren A, Ammann P, Drögemüller C, Flury C. 2019. Runs of homozygosity and signatures of selection: a comparison among eight local Swiss sheep breeds. *Animal Genetics* **50**:512–525.
- Škorput D, Gvozdanović K, Klišanić V, Menčik S, Karolyi D, Margeta P, Kušec G, Djurkin Kušec I, Luković Z, Salajpal K. 2018. Genetic diversity in Banija spotted pig: pedigree and microsatellite analyses. *Journal of Central European Agriculture* **19**:871–876.

- Skotarczak E, Ćwiertnia P, Szwaczkowski T. 2018. Pedigree structure of American bison (*Bison bison*) population. *Czech Journal of Animal Science* **63**:507–517.
- Skotarczak E, Szwaczkowski T, Ćwiertnia P. 2020. Effects of inbreeding, sex and geographical region on survival in an American bison (*Bison bison*) population under a captive breeding program. *The European Zoological Journal* **87**:402–411.
- Slatis HM. 1960. An analysis of inbreeding in the European bison. *Genetics* **45**:275–287.
- Slatkin M. 1991. Inbreeding coefficients and coalescence times. *Genetical Research* **58**:167–175.
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics* **139**:457–462.
- Slatkin M. 2008. Linkage disequilibrium — understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Reviews Genetics* **9**:477–485.
- Sobieraj-Kmiecik A, Drobik-Czwaro W, Nowak-Życzyńska Z, Wojciechowska M, Demars J, Bodin L, Martyniuk E. 2020. Genome analysis in local breeds: A case study on Olkuska sheep. *Livestock Science* **231**:103880.
- Solé M, Gori A-S, Faux P, Bertrand A, Farnir F, Gautier M, Druet T. 2017. Age-based partitioning of individual genomic inbreeding levels in Belgian Blue cattle. *Genetics Selection Evolution* **49**:1–18.
- Sollero BP, Paiva SR, Faria DA, Guimarães SEF, Castro STR, Egito AA, Albuquerque MSM, Piovezan U, Bertani GR, Mariante A da S. 2009. Genetic diversity of Brazilian pig breeds evidenced by microsatellite markers. *Livestock Science* **123**:8–15.
- Sonesson AK, Woolliams JA, Meuwissen TH. 2012. Genomic selection requires genomic control of inbreeding. *Genetics Selection Evolution* **44**.
- Sørensen AC, Sørensen MK, Berg P. 2005. Inbreeding in Danish Dairy Cattle Breeds. *Journal of Dairy Science* **88**:1865–1872.
- Speed D, Balding DJ. 2015. Relatedness in the post-genomic era: is it still useful? *Nature Reviews Genetics* **16**:33–44.

- Špehar M, Ramljak J, Kasap A. 2022. Estimation of genetic parameters and the effect of inbreeding on dairy traits in Istrian sheep. *Italian Journal of Animal Science* **21**:331–342.
- Sponenberg DP, Beranger J, Martin A. 2017. *Managing Breeds for a Secure Future : Strategies for Breeders and Breed Associations (Second Edition)*. 5m Publishing, Sheffield, United Kingdom.
- Sponenberg DP, Beranger J, Martin AM, Couch CR. 2018. Conservation of rare and local breeds of livestock. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* **37**:259–267.
- Städele V, Vigilant L. 2016. Strategies for determining kinship in wild populations using genetic data. *Ecology and Evolution* **6**:6107–6120.
- Stoffel MA, Johnston SE, Pilkington JG, Pemberton JM. 2021. Genetic architecture and lifetime dynamics of inbreeding depression in a wild mammal. *Nature Communications* **12**:2972.
- Sudrajad P, Seo DW, Choi TJ, Park BH, Roh SH, Jung WY, Lee SS, Lee JH, Kim S, Lee SH. 2017. Genome-wide linkage disequilibrium and past effective population size in three Korean cattle breeds. *Animal Genetics* **48**:85–89.
- Suwanlee S, Baumung R, Sölkner J, Curik I. 2007. Evaluation of ancestral inbreeding coefficients: Ballou's formula versus gene dropping. *Conservation Genetics* **8**:489–495.
- Sved JA. 1971. Linkage disequilibrium and homozygosity of chromosome segments in finite populations. *Theoretical Population Biology* **2**:125–141.
- Sved JA, Feldman MW. 1973. Correlation and probability methods for one and two loci. *Theoretical Population Biology* **4**:129–132.
- Sveistiene R, Tapio M. 2021. SNPs in Sheep: Characterization of Lithuanian Sheep Populations. *Animals* **11**.
- Tabarez A, García W, Palomo MJ. 2017. Effect of the type of egg yolk, removal of seminal plasma and donor age on buck sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research* **149**:91–98.
- Taberlet P, Coissac E, Pansu J, Pompanon F. 2011. Conservation genetics of cattle, sheep, and goats. *Comptes Rendus Biologies* **334**:247–254.

- Taberlet P, Valentini A, Rezaei HR, Naderi S, Pompanon F, Negrini R, Ajmone-Marsan P. 2008. Are cattle, sheep, and goats endangered species? *Molecular Ecology* **17**:275–284.
- Tahmoorespur M, Sheikloo M. 2011. Pedigree analysis of the closed nucleus of Iranian Baluchi sheep. *Small Ruminant Research* **99**:1–6.
- Takezaki N, Nei M. 1996. Genetic Distances and Reconstruction of Phylogenetic Trees From Microsatellite DNA. *Genetics* **144**:389–399.
- Tall SB, Chenyabuga WS, Fimland E, Syrsta O, Meuwissen T, Klungland H. 2005. Use of DNA technologies for the conservation of animal genetic resources: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science* **55**:1–8.
- Tang H, Peng J, Wang P, Risch NJ. 2005. Estimation of individual admixture: Analytical and study design considerations. *Genetic Epidemiology* **28**:289–301.
- Tao L, He X, Wang F, Zhong Y, Pan L, Wang X, Gan S, Di R, Chu M. 2020. Luzhong mutton sheep: inbreeding and selection signatures. *Journal of Animal Science and Technology* **62**:777–789.
- Tapio I et al. 2006a. Prioritization for Conservation of Northern European Cattle Breeds Based on Analysis of Microsatellite Data. *Conservation Biology* **20**:1768–1779.
- Tapio M, Marzanov N, Ozerov M, Činkulov M, Gonzarenko G, Kiselyova T, Murawski M, Viinalass H, Kantanen J. 2006b. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian, and Central Asian Areas. *Molecular Biology and Evolution* **23**:1776–1783.
- Taylor HR. 2015. The use and abuse of genetic marker-based estimates of relatedness and inbreeding. *Ecology and Evolution* **5**:3140–3150.
- Teixeira JC, Huber CD. 2021. The inflated significance of neutral genetic diversity in conservation genetics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **118**:e2015096118.
- Templeton AR, Read B. 1984. Factors eliminating inbreeding depression in a captive herd of speke's gazelle (*Gazella spekei*). *Zoo Biology* **3**:177–199.
- Thompson EA. 1975. The estimation of pairwise relationships. *Annals of Human Genetics* **39**:173–188.

- Tier B. 1990. Computing inbreeding coefficients quickly. *Genetics Selection Evolution* **22**:419–430.
- Toghiani S, Chang L-Y, Ling A, Aggrey SE, Rekaya R. 2017. Genomic differentiation as a tool for single nucleotide polymorphism prioritization for Genome wide association and phenotype prediction in livestock. *Livestock Science* **205**:24–30.
- Tokarska M et al. 2015. Genes of the extinct Caucasian bison still roam the Białowieża Forest and are the source of genetic discrepancies between Polish and Belarusian populations of the European bison, *Bison bonasus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **114**:752–763.
- Tokarska M, Kawalko A, Wójcik JM, Pertoldi C. 2009. Genetic variability in the European bison (*Bison bonasus*) population from Białowieża forest over 50 years. *Biological Journal of the Linnean Society* **97**:801–809.
- Tolone M, Mastrangelo S, Rosa AJM, Portolano B. 2012. Genetic diversity and population structure of Sicilian sheep breeds using microsatellite markers. *Small Ruminant Research* **102**:18–25.
- Tomiuk J, Gulbrandsen B, Loeschke V. 1998. Population differentiation through mutation and drift – a comparison of genetic identity measures. *Genetica* **102**:545–558.
- Vahidi SMF et al. 2016. Multilocus genotypic data reveal high genetic diversity and low population genetic structure of Iranian indigenous sheep. *Animal Genetics* **47**:463–470.
- van der Westhuizen L, MacNeil MD, Scholtz MM, Naser FWC. 2019. Identification of genomic regions that contribute to wet carcass syndrome in sheep. *South African Journal of Animal Science* **49**:845–856.
- van Wyk JB, Fair MD, Cloete SWP. 2009. Case study: The effect of inbreeding on the production and reproduction traits in the Elsenburg Dormer sheep stud. *Livestock Science* **120**:218–224.
- VanRaden PM. 1992. Accounting for Inbreeding and Crossbreeding in Genetic Evaluation of Large Populations. *Journal of Dairy Science* **75**:3136–3144.
- VanRaden PM. 2008. Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *Journal of Dairy Science* **91**:4414–4423.

- Venkataramanan R, Subramanian A, Sivaselvam SN, Sivakumar T, Sreekumar C, Anilkumar R, Iyue M. 2013. Pedigree analysis of the Nilagiri sheep of South India. *Animal Genetic Resources/Ressources génétiques animales/Recursos genéticos animales* **53**:11–18.
- Verity R, Nichols RA. 2014. What is genetic differentiation, and how should we measure it- G_{ST} , D , neither or both? *Molecular Ecology* **23**:4216–4225.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* **34**:275–305.
- Vilas A, Pérez-Figueroa A, Quesada H, Caballero A. 2015. Allelic diversity for neutral markers retains a higher adaptive potential for quantitative traits than expected heterozygosity. *Molecular Ecology* **24**:4419–4432.
- Villanueva B, Fernández A, Saura M, Caballero A, Fernández J, Morales-González E, Toro MA, Pong-Wong R. 2021. The value of genomic relationship matrices to estimate levels of inbreeding. *Genetics Selection Evolution* **53**.
- Viryanski D. 2019. Microsatellite markers-a tool for molecular characterization of cattle genetic resources. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* **25**:158–165.
- Vostra-Vydrova H, Hofmanova B, Moravcikova N, Rychtarova J, Kasarda R, Machova K, Brzakova M, Vostry L. 2020. Genetic diversity, admixture and the effect of inbreeding on milk performance in two autochthonous goat breeds. *Livestock Science* **240**.
- Vostra-Vydrova H, Vostry L, Hofmanova B, Schmidova J, Vesela Z. 2016. Inter and intra genetic variability in sire lines of Czech endangered draft horse breeds. *Acta fytotechnica et zootechnica* **19**:112–115.
- Wang J. 2002. An Estimator for Pairwise Relatedness Using Molecular Markers. *Genetics* **160**:1203–1215.
- Wang J. 2005. Estimation of effective population sizes from data on genetic markers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **360**:1395–1409.
- Wang J. 2014. Marker-based estimates of relatedness and inbreeding coefficients: an assessment of current methods. *Journal of Evolutionary Biology* **27**:518–530.

- Wang J. 2017. Estimating pairwise relatedness in a small sample of individuals. *Heredity* **119**:302–313.
- Wang J. 2022a. Fast and accurate population admixture inference from genotype data from a few microsatellites to millions of SNPs. *Heredity* **129**:79–92.
- Wang J. 2022b. A joint likelihood estimator of relatedness and allele frequencies from a small sample of individuals. *Methods in Ecology and Evolution* **13**:2443–2462.
- Wang S, Haynes C, Barany F, Ott J. 2009. Genome-wide autozygosity mapping in human populations. *Genetic Epidemiology* **33**:172–180.
- Wang Y, Niu Z, Zeng Z, Jiang Y, Jiang Y, Ding Y, Tang S, Shi H, Ding X. 2020. Using High-Density SNP Array to Reveal Selection Signatures Related to Prolificacy in Chinese and Kazakhstan Sheep Breeds. *Animals* **10**:1633.
- Wang Z et al. 2013. Estimation of genetic parameters for fleece traits in yearling Inner Mongolia Cashmere goats. *Small Ruminant Research* **109**:15–21.
- Wanjala G, Bagi Z, Kusza S. 2021. Meta-Analysis of Mitochondrial DNA Control Region Diversity to Shed Light on Phylogenetic Relationship and Demographic History of African Sheep (*Ovis aries*) Breeds. *Biology* **10**.
- Wasko AP, Galetti PM. 2003. PCR primed with minisatellite core sequences yields species-specific patterns and assessment of population variability in fishes of the genus *Brycon*. *Journal of Applied Ichthyology* **19**:109–113.
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**:1358–1370.
- Whittaker RJ, Fernández-Palacios JM, Matthews TJ, Borregaard MK, Triantis KA. 2017. Island biogeography: Taking the long view of nature's laboratories. *Science* **357**:eaam8326.
- Windig JJ, Eding H, Moll L, Kaal L. 2004. Effects on inbreeding of different strategies aimed at eliminating scrapie sensitivity alleles in rare sheep breeds in The Netherlands. *Animal Science* **79**:11–20.
- Wirth A, Duda J, Distl O. 2021. Genetic Diversity and the Impact of the Breed Proportions of US Brown Swiss in German Brown Cattle. *Animals* **11**:152.

- Wood NJ, Phua SH. 2009. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal Genetics* **27**:25–33.
- Woolliams JA, Berg P, Dagnachew BS, Meuwissen THE. 2015. Genetic contributions and their optimization. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **132**:89–99.
- Wright S. 1922. Coefficients of Inbreeding and Relationship. Source: *The American Naturalist* **56**:330–338.
- Wright S. 1931. Evolution in Mendelian Populations. *Genetics* **16**:97–159.
- Wright S. 1965. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution* **19**:395.
- Wu CH, Zhang YP, Bunch TD, Wang S, Wang W. 2003. Mitochondrial control region sequence variation within the argali wild sheep (*Ovis ammon*): evolution and conservation relevance. *Mammalia* **67**.
- Xiang-Long L, Yuan-Fang G, Zheng-Zhu L, Gui-Ru Z, Rong-Yan Z, Xiao-Min J, Lan-Hui L, Hai-Liang W. 2006. Study on Tandem Repeat Sequence Variation in Sheep mtDNA D-loop Region. *Acta Genetica Sinica* **33**:1087–1095.
- Xiong H, He X, Li J, Liu X, Peng C, Xi D, Deng W. 2020. Genetic diversity and genetic origin of Lanping black-boned sheep investigated by genome-wide single-nucleotide polymorphisms (SNPs). *Archives Animal Breeding* **63**:193–201.
- Xu S-S, Gao L, Shen M, Lyu F. 2021. Whole-Genome Selective Scans Detect Genes Associated With Important Phenotypic Traits in Sheep (*Ovis aries*). *Frontiers in Genetics* **12**.
- Yamanaka H et al. 2019. Kazakhstani native cattle reveal highly divergent mtDNA from *Bos taurus* and *Bos indicus* lineages with an absence of *Bos indicus* Y chromosome. *Animal Science Journal* **90**:29–34.
- Yang J et al. 2010. Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nature Genetics* **42**:565–569.
- Yang J, Lee SH, Goddard ME, Visscher PM. 2011. GCTA: A Tool for Genome-wide Complex Trait Analysis. *The American Journal of Human Genetics* **88**:76–82.

- Yang W, Kang X, Yang Q, Lin Y, Fang M. 2013. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *Journal of Animal Science and Biotechnology* **4**:2.
- Yaro M, Munyard KA, Stear MJ, Groth DM. 2017. Molecular identification of livestock breeds: a tool for modern conservation biology. *Biological Reviews* **92**:993–1010.
- Yengo L, Zhu Z, Wray NR, Weir BS, Yang J, Robinson MR, Visscher PM. 2017. Detection and quantification of inbreeding depression for complex traits from SNP data. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **114**:8602–8607.
- Yilmaz O, Cemal İ, Coşkun B, Ograk YZ, Ata N, Karaca O. 2018. Comparison of different paternity test panels in sheep. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* **42**:633–641.
- Yuan R, Flurkey K, Meng Q, Astle MC, Harrison DE. 2013. Genetic Regulation of Life Span, Metabolism, and Body Weight in Pohn, a New Wild-Derived Mouse Strain. *The Journals of Gerontology: Series A* **68**:27–35.
- Yurchenko AA et al. 2019. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. *BMC Genomics* **20**:294.
- Zadeh Hashem E, Haddad R, Eslami M. 2017. Evaluation of ram semen enrichment with oleic acid on different spermatozoa parameters during low temperature liquid storage. *Small Ruminant Research* **150**:30–39.
- Zeng L, Chen N, Yao Y, Dang R, Chen H, Lei C. 2019. Analysis of Genetic Diversity and Structure of Guanzhong Horse Using Microsatellite Markers. *Animal Biotechnology* **30**:95–98.
- Zhang M, Peng W-F, Hu X-J, Zhao Y-X, Lv F-H, Yang J. 2018a. Global genomic diversity and conservation priorities for domestic animals are associated with the economies of their regions of origin. *Scientific Reports* **8**:11677.
- Zhang Q, Calus MP, Guldbbrandsen B, Lund MS, Sahana G. 2015. Estimation of inbreeding using pedigree, 50k SNP chip genotypes and full sequence data in three cattle breeds. *BMC Genetics* **16**:88.

- Zhang T, Guo L, Shi M, Xu L, Chen Y, Zhang L, Gao H, Li J, Gao X. 2018b. Selection and effectiveness of informative SNPs for paternity in Chinese Simmental cattle based on a high-density SNP array. *Gene* **673**:211–216.
- Zhang X, Liao Z, Tang S, Yuan Z, Li F, Yue X. 2022. A mutation modulating *DDX3Y* gene expression cosegregates with the major Y-chromosomal haplogroups and with testis size in Hu sheep. *Animal Genetics* **53**:193–202.
- Zhang Y et al. 2016. Strong and stable geographic differentiation of swamp buffalo maternal and paternal lineages indicates domestication in the China/Indochina border region. *Molecular Ecology* **25**:1530–1550.
- Zhao F, Wang G, Zeng T, Wei C, Zhang L, Wang H, Zhang S, Liu R, Liu Z, Du L. 2014. Estimations of genomic linkage disequilibrium and effective population sizes in three sheep populations. *Livestock Science* **170**:22–29.
- Zhao H et al. 2021. Genome-wide association studies detects candidate genes for wool traits by re-sequencing in Chinese fine-wool sheep. *BMC Genomics* **22**:127.
- Zhao Y-X et al. 2017. Genomic Reconstruction of the History of Native Sheep Reveals the Peopling Patterns of Nomads and the Expansion of Early Pastoralism in East Asia. *Molecular Biology and Evolution* **34**:2380–2395.
- Zilko JP, Harley D, Hansen B, Pavlova A, Sunnucks P. 2020. Accounting for cryptic population substructure enhances detection of inbreeding depression with genomic inbreeding coefficients: an example from a critically endangered marsupial. *Molecular Ecology* **29**:2978–2993.
- Zimmerman SJ, Aldridge CL, Oyler-McCance SJ. 2020. An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern. *BMC Genomics* **21**:1–16.
- Zinovieva NA, Dotsev AV, Sermyagin AA, Deniskova TE, Abdelmanova AS, Kharzinova VR, Sölkner J, Reyher H, Wimmers K, Brem G. 2020. Selection signatures in two oldest Russian native cattle breeds revealed using high-density single nucleotide polymorphism analysis. *PLOS ONE* **15**.

8 Seznam zkratek

FAO	Organizace pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
CGRFA	Komise genetických zdrojů pro výživu a zemědělství (Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture)
DAD-IS	Informační systém diverzity domácích zvířat (Domestic Animal Diversity Information System)
GWAS	Celogenomová asociační studie (genome-wide association study)
HBD	Úseky homozygotní dle původu na úrovni jedince (homozygous-by-descent)
HMM	Markovův skrytý model (Hidden Markov Model)
HWE	Hardy-Weinbergova rovnováha (Hardy-Weinberg equilibrium)
IBD	Úseky DNA identické dle původu (identity-by-descent)
IBS	Úseky DNA identické dle stavu (identity-by-state)
ISAG	Mezinárodní společnost pro genetiku zvířat (International Society for Animal Genetics)
ISGC	Mezinárodní konsorcium pro genomiku ovcí (International Sheep Genomics Consortium)
LD	Vazebná nerovnováha (linkage disequilibrium)
MCMC	Monte Carlo metoda Markovových řetězců (Markov chain Monte Carlo method)
MSY	Specificky samčí region chromozomu Y (male-specific region of the Y chromosome)
OCS	Optimální kontribuční selekce (optimal contribution selection)
PCA	Analýza principiálních komponent (principal component analysis)
QTL	Lokusy kvantitativních vlastností (quantitative trait loci)

RADseq	Sekvenování DNA s restrikčním místem (restriction site associated DNA sequencing)
RAPD	Náhodná amplifikace polymorfni DNA (random amplification of polymorphic DNA)
RFLP	Polymorfismus délky restrikčních fragmentů (restriction fragment length polymorphism)
ROH	Dlouhé úseky homozygotních genotypů (runs of homozygosity)
SNP	Jednonukleotidové polymorfismy (single nucleotide polymorphism)
SSR	Jednoduchá repetitivní sekvence (simple sequence repeat)
STR	Krátké tandemová repetice (short tandem repeat)
UCE	Ultrakonzervovaný elementy (ultraconserved element)
VNTR	Tandemové repetice s proměnným počtem opakování (variable number tandem repeat)
WGS	Celogenomové sekvenování (whole genome sequencing)