

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství

Studijní obor: Agroekologie

Zadávací katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Metodické aspekty hodnocení genetické diverzity skotu

(Methodical aspects of genetic diversity of cattle)

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

Autor: Angelina Mijailović

České Budějovice, 2015

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
Fakulta zemědělská  
Akademický rok: 2012/2013

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Angelina MIJAILOVIČ**  
Osobní číslo: **Z11176**  
Studijní program: **B4131 Zemědělství**  
Studijní obor: **Agroekologie**  
Název tématu: **Metodické aspekty hodnocení genetické diverzity skotu**  
Zadávající katedra: **Katedra genetiky, šlechtění a výživy**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Úkolem bakalářské práce je sepsat literární rešerši zabývající se vybranými problémy genetické diverzity skotu. Práce bude zaměřena zejména na metodické aspekty hodnocení genetické diverzity. Budou popsány markery používané k hodnocení diverzity, vč. střednědobého výhledu, kdy se předpokládá přechod k SNP. Popsány budou rovněž biometrické metody používané k hodnocení vnitropopulační i mezipopulační diverzity. Součástí práce bude přehled dostupných statistických balíků, jejich stručný popis a vzájemné srovnání.

Práce bude členěna do kapitol:

- 1) úvod
- 2) literární přehled
- 3) závěr - shrnutí zjištěných výsledků

Při zpracování práce budou dodržena obvyklá formální pravidla.

---

Rozsah grafických prací: **3 - 5 tabulek**  
Rozsah pracovní zprávy: **30 stran textu**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**  
Seznam odborné literatury:

Wellmann R., Hartwig S., Bennewitz J., (2012): Optimum contribution selection for conserved populations with historic migration. *Genetics Selection Evolution*, 44, Article Number 34, DOI: 10.1186/1297-9686-44-34.

Caballero A., Rodriguez-Ramilo S. T. (2010): A new method for the partition of allelic diversity within and between subpopulations. *Conservation Genetics*, 11, 2219-2229.


Frkonja A., Gredler B., Schnyder U., Curik I., Soelkner J., (2012): Prediction of breed composition in an admixed cattle population. *Animal Genetics*, 43, 696-703.

Blackburn H. D. (2012): Genetic Selection and Conservation of Genetic Diversity. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, Special Issue, 249-254.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.**  
Katedra genetiky, šlechtění a výživy

Datum zadání bakalářské práce: **27. března 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. dubna 2014**

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.  
děkan

UNIVERSITA  
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
Katedra genetiky  
L.S.

  
prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 27. března 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne ..... Podpis studenta .....

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat prof. Ing. Jindřichu Čítkovi, CSc. Za odborné vedení práce a za podporu a trpělivost při jejím vytváření.

Dále bych chtěla poděkovat příteli, rodině a přátelům, kteří mi byli při studiu podporou.

## **Abstrakt**

Cílem bakalářské práce je popsat metody hodnocení genetické diverzity. Na začátku je popsána biologická diverzita a její rozdělení se zaměřením na genetickou diverzitu. Dále jsou popsány mutace, segregace, rekombinace, migrace, selekce, genetický drift, inbreeding. Práce se dále zabývá polymorfismem, zejména jednoduchými bodovými polymorfismy (SNP), VNTR a mikrosatelity. Jsou popsány genetické markery, markery asistovaná selekce a genomová selekce. U vnitropopulační genetické diverzity jsou popsány biometrické metody, u mezipopulační genetické diverzity poté genetické distance a některé nejčastěji používané programové balíky. V závěru práce jsou popsány fylogenetické stromy a jejich druhy s uvedenými příklady využití v praxi.

**Klíčová slova:** genetická diverzita, polymorfismus, genetické markery, biometrické metody, genetické vzdálenosti, programové balíky, fylogenetické stromy

## **Abstrakt**

The aim of this thesis is to describe methods for assessing genetic diversity. At the beginning is described biological diversity and its distribution with focus on genetic diversity. Furthermore, mutations, segregation, recombination, migration, selection, genetic drift, and inbreeding are described. The work also deals with the polymorphisms including SNP, VNTR and microsatellites. They are described as genetic markers, marker assisted selection and genomic selection. For within-population genetic diversity the text deals with biometric methods, the part describing interpopulation genetic diversity is concerned to distances and software packages. Finally, the phylogenetic trees and their types are described with examples of use in practice.

**Keywords:** genetic diversity, polymorphism, genetic markers, biometric methods, genetic distances, software packages, phylogenetic trees

## **OBSAH:**

<b>1. Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2. Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>2. 1 Biologická diverzita</b> .....	<b>9</b>
<b>2. 1. 1 Definice biologické diverzity</b> .....	<b>9</b>
<b>2. 1. 2 Úrovně biologické diverzity</b> .....	<b>9</b>
2. 1. 2. 1 Ekosystémová diverzita .....	10
2. 1. 2. 2 Druhová diverzita .....	11
2. 1. 2. 3 Genetická diverzita.....	12
<b>2. 1. 3 Genetická diverzita u hospodářských zvířat</b> .....	<b>13</b>
<b>2. 2 Mutace</b> .....	<b>15</b>
<b>2. 2. 1 Jednorázová a opakovaná mutace</b> .....	<b>15</b>
<b>2. 2. 2 Rozdělení mutací podle fyzické povahy</b> .....	<b>16</b>
<b>2. 2. 3 Mutace na úrovni celých úseků DNA</b> .....	<b>17</b>
<b>2. 2. 4 Spontánní a indukované mutace</b> .....	<b>17</b>
<b>2. 3 Segregace</b> .....	<b>18</b>
<b>2. 4 Rekombinace</b> .....	<b>18</b>
<b>2. 5 Migrace</b> .....	<b>19</b>
<b>2. 6 Selektce</b> .....	<b>19</b>
<b>2. 7 Genetický drift</b> .....	<b>20</b>
<b>2. 8 Inbreeding</b> .....	<b>21</b>
<b>2. 9 Polymorfismus</b> .....	<b>22</b>
<b>2. 9. 1 Polymorfismus DNA</b> .....	<b>22</b>
2. 9. 1. 1 Bodový polymorfismus (SNP).....	22
2. 9. 1. 2 Polymorfismus repetitivních sekvencí (VNTR) .....	23
<b>2. 10 Genetické markery</b> .....	<b>25</b>
<b>2. 11 Kvantitativní a kvalitativní znaky v populacích</b> .....	<b>26</b>

2. 11. 1 Kvalitativní znaky .....	26
2. 11. 1. 1 Krevní skupiny .....	27
2. 11. 2 Kvantitativní znaky .....	28
<b>2. 12 Markery asistovaná selekce (MAS).....</b>	<b>28</b>
2. 12. 1 Genomová selekce .....	30
<b>2. 13 Vnitropopulační genetická diverzita .....</b>	<b>31</b>
2. 13. 1 Heterozygotnost.....	31
2. 13. 1. 1 Koncept heterozygotnosti .....	32
2. 13. 2 Polymorfní informační obsah (PIC).....	33
2. 13. 3 Efektivní počet alel .....	33
2. 13. 4 Fixační index .....	33
2. 13. 4. 1 Wrightova F – statistika .....	34
<b>2. 14 Mezipopulační genetická diverzita .....</b>	<b>35</b>
2. 14. 1 Genetické distance .....	35
2. 14. 1. 1 Druhy měření genetických distancí .....	35
2. 14. 1. 1. 1 Neiova standardní genetická distance.....	36
2. 14. 1. 1. 2 Cavalli-Sforzova genetická distance.....	36
2. 14. 1. 1. 3 Reynolds, Weir a Cockerhamova genetická distance .....	37
2. 14. 2 Programové balíky .....	37
2. 14. 2. 1 PHYLIP (Phylogeny Inference Package) .....	37
2. 14. 2. 2 DISPAN (Genetic Distance and Phylogenetic Analysis).....	38
<b>2. 15 Fylogenetické stromy.....</b>	<b>38</b>
2. 15. 1 Dendrogramy .....	39
2. 15. 1. 1 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean) .....	40
2. 15. 1. 2 Neighbour-joining .....	40
2. 15. 2 Kladogramy.....	41
2. 15. 3 Příklady použití dendrogramů ve studiích.....	42
<b>3. Závěr .....</b>	<b>44</b>
<b>4. Zdroje:.....</b>	<b>45</b>
<b>Přílohy.....</b>	<b>54</b>



## 1. Úvod

Pro celkovou světovou rovnováhu je důležitá biologická diverzita, především pak genetická diverzita. Do bohatosti genetické diverzity zasahuje především vnitrodruhová diverzita. Genetickou diverzitu také ovlivňují procesy jako je mutace, rekombinace, segregace, inbreeding a řada dalších.

Všechny organismy mají společného předka, od kterého došlo k jejich postupnému vývoji, až po dnešní jedince. Právě výzkum genomu umožňuje určení propojení jednotlivých druhů či jedinců.

U plemen hospodářských zvířat dochází již po řadu let k vývoji, ke kterému přispívá jak přírodní výběr, tak i výběr člověka. U hospodářských zvířat člověk v průběhu času vybíral nejvhodnější jedince. Výsledky prvotních výběrů nebyly příliš pozitivní, až postupem času díky získání zkušeností se výsledky zlepšily.

V dnešní době máme možnost využívat řadu metod, které k pozitivnímu výběru přispívají a zároveň umožňují i jeho rychlejší průběh. Mezi tyto metody jsou primárně řazeny biometrické metody, které čítají řadu dalších postupů.

V současné době je k dispozici řada postupů, které výzkum genetických informací usnadňují a umožňují, aby výsledky byly co nejpřesnější. Výzkum není dnes zpracován pouze slovně. Porovnání výsledků usnadňují grafy, statistiky, či stanovené hodnoty, podle kterých se poté vyhodnocují výsledky.

Cílem předkládané bakalářské práce bylo shrnout některé metodické aspekty hodnocení genetické diverzity hospodářských zvířat se zaměřením na skot.

## **2. Literární rešerše**

### **2. 1 Biologická diverzita**

#### **2. 1. 1 Definice biologické diverzity**

Biologickou diverzitu definoval v roce 1989 Světový fond ochrany přírody (World Wildlife Fund - WWF) jako „bohatství života na Zemi, miliony rostlin, živočichů a mikroorganismů, včetně genů, které obsahují a složité ekosystémy, které vytvářejí životní prostředí“ (Primack et al., 2001).

Úmluva o biologické rozmanitosti (dále jen „Úmluva“) byla podepsána na konferenci OSN o životním prostředí a rozvoji v Rio de Janeiru v červnu 1992 (Ministerstvo životního prostředí, 2005). Pro ČR vstoupila v platnost 3. března 1994. Úmluva je celosvětově hodnocena jako klíčový dokument v ochraně biologické rozmanitosti a to na všech třech úrovních, tedy genové, druhové a ekosystémové (Ministerstvo životního prostředí, 2005).

Úmluva je podmíněna plněním tří požadavků (Ministerstvo životního prostředí, 2005):

- ochrana biologické rozmanitosti
- udržitelné využívání složek biologické rozmanitosti
- přístup ke genetickým zdrojům, spravedlivé a rovnocenné rozdělování přínosů plynoucích z jejich využívání

Biologická rozmanitost je spojena především s rozmanitostí živých organismů a ekosystémů. Biodiverzita, ale zahrnuje i složitost vztahů v rámci společenstva organismů tedy biocenóz či celých ekosystémů, kdy musíme brát na zřetel rovněž i abiotické složky prostředí (Švecová et al., 2007). Biodiverzita zahrnuje miliony různých druhů, které žijí na naší planetě a je bohatší i díky genetickým rozdílům v rámci druhu (Swingland, 2001). Z pohledu vývoje organismů je biodiverzita výsledkem dlouhodobé evoluce a jejím projevem jsou např. adaptace, mutace a genetický posun tzv. „drift“ (Švecová et al., 2007).

#### **2. 1. 2 Úrovně biologické diverzity**

O biologické diverzitě musíme uvažovat na čtyřech úrovních (Primack et al., 2011). Biologická diverzita na úrovni druhů zahrnuje veškeré organismy žijící na Zemi, od bakterií a jednobuněčných organismů, až po říše mnohobuněčných rostlin, živočichů a hub. Biologická rozmanitost, chápaná v jemnějším měřítku, představuje genetickou variabilitu v rámci druhu, a to jak mezi geograficky

oddělenými populacemi, tak mezi jedinci jedné populace. Biologická diverzita, to je také různorodost ve společenstvech, v nichž druhy žijí, v ekosystémech, ve kterých tato společenstva existují a rozmanitost interakcí mezi těmito úrovněmi. Všechny zmíněné úrovně biologické diverzity jsou nezbytné pro zachování druhů, přirozených společenstev a zároveň jsou důležité pro potřeby člověka (Primack et al., 2001).

Druhovú diverzita reprezentuje řadu evolučních a ekologických adaptací druhů na určité životní prostředí. Poskytuje lidem různé zdroje, které může používat v případě potřeby, např. v druhově bohatém tropickém deštném lese lze nalézt širokou škálu rostlinných a živočišných produktů, které jsou využitelné jako potrava, úkryt, ochrana nebo jako léky v medicíně (Primack et al., 2011).

Genetická diverzita je nezbytná pro reprodukční vitalitu druhu, odolnost vůči nemocím a schopnost adaptace na změny životních podmínek. Genetická diverzita zdomácnělých zvířat a rostlin je zvláště důležitá pro šlechtitelské programy, nezbytné pro udržení a zlepšení vlastností druhů využívaných v zemědělství (Primack et al., 2001).

Ekosystémová diverzita představuje celkovou odpověď všech druhů na různé environmentální podmínky. Biologická společenstva, která se nalézají v pouštích, na loukách, mokřadech a lesích, nabízejí lidem životně důležité služby, např. brání povodním, půdní erozi, filtrují vzduch a vodu (Primack et al., 2011).

Kulturní diverzita má vliv na utváření krajiny prostřednictvím rozmanitých způsobů obhospodařování (Primack et al., 2011).

### **2. 1. 2. 1 Ekosystémová diverzita**

Přírodní společenstvo je definováno jako soubor populací různých druhů, žijících společně na jednom stanovišti, vnímaný současně s interakcemi mezi těmito druhy. Příkladem může být třeba společenstvo bakterií a prvoků v bachoru přežvýkavců nebo společenstvo velkých kopytníků afrických savan (Primack et al., 2001).

Ekosystémová diverzita je definována, ale nemůže být jednotná v rámci celosvětového měřítka. Tato diverzita má rozsah spíše lokální či regionální. Je ovlivňována klimatem, kyselostí a zásaditostí půd. Důležitou roli hrají i abiotické složky (Swingland, 2001).

Uvnitř biologického společenstva využívá každý druh svůj specifický soubor zdrojů, které vytvářejí jeho niku. Nika rostlinného druhu může sestávat z typu půdy,

na níž rostlina roste, množství slunečního záření a vlhkosti, kterou vyžaduje, systému opylování a mechanismu šíření semen. Nika živočicha obsahuje typ životního prostoru, vhodné teplotní rozmezí, požadovanou potravu, velikost teritoria, vodu pro napájení. Každá součást niky se může stát limitujícím zdrojem, jakmile začne omezovat velikost populace (Primack et al., 2001).

Složení společenstev je často ovlivněno konkurencí a predací, nosnou kapacitou prostředí a mutualistickými vztahy (Primack et al., 2001).

### **2. 1. 2. 2 Druhov**

Je poměrně spolehlivým indikátorem stavu životního prostředí; klesá v důsledku vymírání druhů, kdy dochází ke snížení velikosti populace a existuje zde silná vazba na genetickou diverzitu (Švecová et al., 2007). Zahnuje veškeré druhy, které se nacházejí na Zemi (Primack et al., 2001).

Druh může být obecně definován dvěma způsoby (Primack et al., 2001):

1) morfologická definice druhu - Druh je skupina jedinců, která je některou vlastností morfologicky, fyziologicky nebo biochemicky odlišná od jiných skupin. K odlišení téměř identicky vypadajících druhů, např. bakterií, se stále častěji využívá rozdílů v sekvencích DNA a dalších molekulárních znaků.

2) biologická definice druhu - Druh je skupina jedinců, kteří jsou schopni vzájemně se křížit mezi sebou a vytvářet plodné potomky.

Druhov

Rozdělení druhů v rámci celé zeměkoule není rovnoměrné. Počet druhů se zmenšuje směrem od rovníku k pólům. Z toho vyplývá, že s největší diverzitou se setkáváme v tropických oblastech, hůře jsou na tom poté oblasti mírného pásu a nejnižší je v polárních oblastech. Toto je způsobeno životními podmínkami. Organismy vyhledávají místa s větším zdrojem energie, vody, primární produkcí a základním kamenem tedy fotosyntézou (Švecová et al., 2007).

### 2. 1. 2. 3 Genetická diverzita

Týká se rozmanitosti genů v rámci populací a druhů. Popisuje odlišné populace v rámci stejného druhu a rozdílné jedince v rámci určité populace (Vačkář, 2005).

I příslušníci jednoho druhu se navzájem více či méně liší. Tato zjevná variabilita je výsledkem odlišností dědičné informace, různých vlivů vnějšího prostředí a interakce dědičné informace s vnějším prostředím. Variabilita dědičné informace významně přispívá k vnitrodruhové variabilitě, ale není její jedinou příčinou (Švecová et al., 2007).

Genetická diverzita v rámci druhu je často ovlivněna reprodukčním chováním jedinců v populaci. Populace je skupina jedinců schopných se vzájemně křížit a produkovat potomstvo. Druh může zahrnovat jednu či více oddělených populací, populace může tvořit jen několik jedinců nebo i miliony jedinců (Primack et al., 2001).

Jedinci v populaci se navzájem geneticky liší. Genetická variabilita vzrůstá s rostoucí velikostí populace, protože jedinci mají mírně odlišné geny (Primack et al., 2001). Ke zvýšení genetické variability mohou přispět nově vznikající varianty genů, mutantní alely. Genetická variabilita je dána především samotným obrovským množstvím genetické informace zakódované v molekule DNA (Relichová, 1997).

Jednotlivé alely genu mohou rozdílně ovlivňovat vývoj a fyziologii organismu. Šlechtitelé zemědělských plodin a zvířat využívají genetické variability k vyšlechtění výnosnějších a odolnějších kmenů domestikovaných druhů, např. pšenice, kukuřice, skotu a drůbeže (Primack et al., 2001).

Při přenosu genů na potomky, prostřednictvím pohlavních buněk, se podle principu segregace a kombinace může vytvořit obrovské množství geneticky rozmanitých pohlavních buněk (Relichová, 1997). Vznikají tak nové kombinace rodičovských chromosomů v geneticky jedinečném potomkovi (Primack et al., 2001). Principy segregace a kombinace genů, které formuloval J. G. Mendel již před více než sto lety, jsou základními principy v genetice. Později byla prokázána důležitá výjimka z principu nezávislé kombinace genů. Spektrum kombinací zůstává zachované, pouze pravděpodobnost některých kombinací genů v gametách je nižší. Týká se to genů lokalizovaných na stejném chromosomu, jež mají tendenci rozcházet se do gamet společně a mohou rekombinovat pouze po fyzické výměně částí párových chromosomů mechanismem tzv. crossing-overu. Kombinace a

rekombinace genů tak představují při přenosu genetické informace z rodičů na potomky dva hlavní mechanismy zajišťující genetickou rozmanitost gamet, a tím i potomků z těchto gamet vzniklých (Relichová, 1997). Ačkoliv jsou mutace základem genetické variability, schopnost druhů náhodně přeskupovat alely do různých kombinací při sexuálním rozmnožování dramaticky zvyšuje možnosti genetické variability (Primack et al., 2001).

Soubor všech genů a alel v populaci vytváří genofond populace, zatímco jednotlivé kombinace alel jedince, které jsou jeho genotypem. Fenotyp jedince představuje morfologické, fyziologické a biochemické charakteristiky, které jsou projevem jeho genotypu v určitém prostředí (Primack et al., 2011).

Genetická variabilita populace je dána jak počtem genů, které mají více než jednu alelu v genomu – jsou tzv. polymorfní, tak počtem alel každého polymorfního genu. Polymorfní geny umožňují jedincům v populaci být heterozygotní pro daný gen, tj. obdržet od každého z rodičů jinou alelu tohoto genu. Genetická variabilita umožňuje druhu adaptaci na změny podmínek prostředí, např. na vyšší teplotu nebo vypuknutí nové nemoci. Obecně platí, že vzácné druhy mají nižší genetickou variabilitu než druhy široce rozšířené, a proto jsou při změnách podmínek prostředí náchylnější k vyhynutí (Primack et al., 2001).

### **2. 1. 3 Genetická diverzita u hospodářských zvířat**

Genetická diverzita je nejlépe známa u hospodářských a domácích zvířat, ale také u hospodářských rostlin dále u hospodářsky významných dřevin a hospodářsky významných ryb (Švecová et al., 2007).

Řada zemí v dnešní době vykonává velké úsilí pro zachování genetických zdrojů a tedy udržení vysoké genetické diverzity pomocí in situ nebo ex situ (Blackburn, 2012).

V posledních desetiletích byla místní plemena domestikovaných druhů zvířat křížena s ekonomicky výhodnějšími plemeny. Toto křížení mělo za následek, že došlo k řadě genetických příspěvků od migrantů. Optimální výběr by mohl vést k maximalizaci genové rozmanitosti, ale také by mohlo dojít k zániku místních plemen (Wellman et al., 2012).

Genetická diverzita je nedílnou součástí života, sama je pak výsledkem působení přírodní selekce u volně žijících druhů. Jejím významem je umožnění přežití druhů a umožňuje získávání objektů pro šlechtění. Čím více je genetické

variability v populaci, tím lépe populace přežívá a její vývoj je rychlejší. Geneticky fixované rozdíly mezi plemeny jsou výsledkem umělé selekce. V rámci plemene dochází k omezování diverzity a směřování genofondu k určenému cíli (Čítek, 2004).

Mezi zdroje genetické variability řadíme (Čítek, 2004):

- segregaci
- mutaci
- rekombinaci

U některých plemen se setkáváme s unikátním genomem, který se určuje podle míry polymorfismu. Aby plemeno mělo unikátní genom, je nutné, aby plnilo tyto podmínky (Čítek, 2004):

- výskyt vzácných alel
- odhad genetických distancí
- jednoduché srovnání plemen z hlediska alelických frekvencí na jednoduchých lokusech
- odchylky od teoretického genotypového složení populace v lokusech pro biochemický polymorfismus

Metody hodnocení genetické diverzity jsou nejčastěji podle stupně polymorfismu a to polymorfismu DNA, biochemického, morfologického, imunologického. Pro nás je nejdůležitější DNA polymorfismus, který dále hodnotíme podle bodového polymorfismu a mikrosatelitů, neboli repetitivních sekvencí (Čítek, 2004).

Genetická diverzita tedy umožňuje kontinuální vývoj druhů na základě příbuzenských subpopulací. Je předpokladem dalšího vývoje a přizpůsobení organismů změnám životního prostředí, kdy k jejímu snižování dochází zejména u vyšlechtěných plemen a jde o důležitý indikátor pro chov domácích zvířat (Švecová et al., 2007).

## 2. 2 Mutace

Obecně jsou mutace náhlé změny genetické informace a změny jejího přenosu v organismu (Urban, Vyhnánek, 2006). Mutace jsou významným zdrojem variability. Působením mutací vznikají nové alely daného genu, které ovlivňují podobu příslušného znaku. Přispívají k širší variabilitě potomstva a mohou mít klíčový význam pro jeho přežití a další vývoj. Některé mutace jsou škodlivé, neboť ve svých důsledcích způsobují těžké vývojové vady, poruchy metabolismu a v některých případech i nádorové onemocnění. Jsou známy i tzv. letální mutace způsobující úmrtí jedince ještě před narozením (tj. ve stadiu embrya nebo plodu). Jiné letální alely jsou naopak pro své nositele přínosem, neboť podmiňují vznik takových znaků, které zvyšují životaschopnost jedince, popř. jeho odolnost vůči nepříznivým vnějším vlivům. Díky této schopnosti se mutace významně uplatňují při vývoji živých organismů, a jsou proto základním předpokladem evoluce (Kočárek, 2008).

Pokud hovoříme o mutacích, myslíme tím změny v genetické sekvenci (Loewe, 2008). Mutace lze považovat za náhodnou a neusměrněnou změnu genotypu. Jejich prostřednictvím se mění dominantní alela na recesivní a naopak. Tak se může vlivem náhodné mutace (popř. většího počtu mutací) zvýšit v populaci frekvence jedné z alel. V některých případech vzniká mutací nová alela, která je vůči stávající dominantní alele kodominantní (Kočárek, 2008). Tyto změny se vyskytují v mnoha různých úrovních a mohou mít rozdílné důsledky. V biologických systémech, které jsou schopny reprodukce, je nutné se zaměřit, zda se jedná o mutace dědičné, což znamená, že mutace přechází dědičně na potomky nebo mají mutace vliv pouze na jedince, který je nese (Loewe, 2008).

### 2. 2. 1 Jednorázová a opakovaná mutace

Rozeznáváme mutaci jednorázovou a opakovanou. Pro změnu genových četností v populaci je jednorázová mutace málo významná, zatímco opakovaná mutace je běžným procesem a je proto velmi důležitá (Jakubec, Bezdíček, 2010).

#### Jednorázová mutace

Objeví-li se ve veliké populaci pouze jeden nově vzniklý gen mutací, má tento gen zanedbatelný význam pro genové četnosti, protože má jen mizivou možnost se v populaci projevit. Význam má jen tehdy, jsme-li schopni tento gen odhalit a pomocí selekce a záměrným připárením v populaci rozmnožit. Výsledkem



tedy je, že jediná jednorázová mutace nemůže za nepřítomnosti selekce způsobit trvalou změnu v genovém, resp. genotypovém složení populace (Jakubec, Bezdíček, 2010).

#### Opakovaná mutace

Mutace jednotlivých genů se v daném případě opakují pravidelně s charakteristickou četností, která se podle četných zdrojů pohybuje v rozmezí  $10^{-5}$  až  $10^{-6}$  za jednu generaci. Ve velké populaci je četnost mutovaného genu natolik velká, že nemůže dojít k úplné ztrátě tohoto genu (Jakubec, Bezdíček, 2010).

### **2. 2. 2 Rozdělení mutací podle fyzické povahy**

Mutace můžeme rozdělit podle celé řady kritérií. Podle jejich fyzické povahy je můžeme dělit na mutace bodové (genové), mutace na úrovni úseků DNA (řetězcové), na úrovni chromosomů a na úrovni celého genomu. S mutacemi se můžeme setkat v jaderné DNA i v DNA organelové. Charakter vyznávajících mutací, tj. mutací, jejichž projevy postupem času slábnou, vykazují „mutace“, ke kterým došlo v průběhu transkripce RNA, a které tedy vůbec nejsou vázány na DNA. U jednobuněčných organismů s krátkou generační dobou a dlouhou životností mRNA může takováto mutace vyznívat i mnoho generací. U mnohobuněčných organismů zase může k mutaci dojít až v průběhu ontogeneze či u dospělého organismu, takže buňky obsahující danou mutaci se mohou vyskytovat pouze v některých tkáních. Pokud se tyto tzv. somatické mutace nedostanou do orgánů a tkání geminálních, nemají žádný přímý evoluční význam (Flegr, 2005).

Bodové mutace (obr. č. 1) spočívají nejčastěji v záměně jednoho nukleotidu druhým; jedná se o tzv. záměnové mutace, substitute. Jestliže je nukleotid s určitým typem báze, např. pyrimidinem (C, T), nahrazen nukleotidem s jiným typem báze např. purinem (A, G), jedná se o transverzi, jestliže nukleotidem s bází stejného typu, jedná se o tranzici. Dále mezi bodové mutace patří delece a inserce, při nichž se v určitém místě DNA mění počet nukleotidů. Frekvence jednotlivých typů mutací se velice liší a závisí nejen na typu organismu a na genomu, ve kterém se mutace vyskytuje, ale i nukleotidech, které se vyskytují poblíž dané pozice (Flegr, 2005).

### **2. 2. 3 Mutace na úrovni celých úseků DNA**

Tyto mutace můžeme opět rozdělit na několik typů. Při delecích, inzercích a duplikacích je určitý úsek DNA ztracen či se naopak zmnoží. Zmnožený úsek může buď bezprostředně sousedit s původním úsekem (tandemová duplikace), nebo se může ocitnout ve zcela odlišné oblasti genomu. Nejsnáze se mohou duplikovat úseky, které jsou již samy tandemově duplikovány. V místech tandemových duplikací totiž může docházet mezi dvěma homologními chromosomy k nesprávnému párování a posléze k nereciproké rekombinaci, v jejímž důsledku dojde na jednom chromosomu k delecí a na druhém k inzerci určitého úseku DNA. Při translokacích dochází k přemístění určitého úseku DNA na jiné místo v genomu. Jedná-li se o reciprokovou translokaci, vymění si na chromosomech dva úseky DNA vzájemně místo, při transpozici se přemístí pouze jediný úsek DNA. Při inverzi je určitý úsek DNA z chromosomu vystřižnut a vložen do stejného místa v opačné orientaci. U savců se v případě drtivé většiny chromosomálních přestaveb jedná o translokace (Flegr, 2005).

### **2. 2. 4 Spontánní a indukované mutace**

Spontánní mutace jsou takové mutace, které vznikají bez zjevné vnější příčiny. Mohou být skutečně spontánní, tj. vznikat v důsledku malého množství metabolických poruch organismu, nebo mohou být vyvolány neznámou látkou přítomnou ve vnějším prostředí. Indukované mutace jsou pak takové mutace, které vznikají v organismech po působení fyzikálních nebo chemických látek s mutagenním účinkem, tj. navozujících změny v DNA (nebo RNA, u některých virů). Takové faktory či látky se označují jako mutageny; řadíme k nim například ionizující a ultrafialové záření a velké množství chemických látek (Snustad, Simmons, 2009).

### 2. 3 Segregace

U heterozygota se dvě alely v průběhu tvorby gamet od sebe oddělují, segregují se (obr. č. 2). Tato věta je výrokem o genetickém přenosu. Alela se spolehlivě přenáší do další generace, i když byla u heterozygota přítomna s jinou alelou. Biologickou podstatou tohoto děje je párování a následná separace homologických chromosomů během meiózy (Snustad, Simmons, 2009).

Podrobněji lze popsat princip segregace takto: Během prvního meiotického dělení se oba homologické chromosomy párují, jeden přitom pochází od matky, druhý od otce. Pokud je matka homozygotní pro alelu  $A$  určitého genu na tomto chromosomu a otec homozygotní pro odlišnou alelu  $a$  stejného genu, jejich potomci musí být heterozygoti, tj.  $Aa$ . V anafázi prvního meiotického dělení se párové chromosomy od sebe oddělují a pohybují se k opačným pólům buňky. Jeden z nich nese alelu  $A$  a druhý alelu  $a$ . Toto fyzické oddělení párových chromosomů způsobí vzájemnou segregaci obou alel, které se posléze dostanou do dvou různých dceřiných buněk. Mendelův princip segregace je tedy založen na rozchodu homologických chromosomů během anafáze prvního meiotického dělení (Snustad, Simmons, 2009).

### 2. 4 Rekombinace

Rekombinované gamety vznikají jako výsledek crossing-overu (obr. č. 3) mezi homologickými chromosomy. Tento proces vyžaduje fyzickou výměnu mezi chromosomy. K aktu výměny dochází v profázi prvního meiotického dělení, když se párují replikované chromosomy. I když jsou přítomny čtyři homologické chromatidy, které tvoří tzv. tetrády, překřížení v každém místě nastává jen mezi dvěma chromatidami. U každé z chromatid dojde v místě překřížení ke zlomu a části chromatid se znovu spojí tak, že vytvoří rekombinanty (obr. č. 4). Zbývající dvě chromatidy nejsou v daném místě rekombinované. To znamená, že každý crossing-over vytváří dvě rekombinované chromatidy ze čtyř (Snustad, Simmons, 2009).

Rekombinace je často potlačena v místě centromery a zvýšená v blízkosti telomer, ale ani jedno z těchto pozorování neplatí pro všechny chromosomy (Nachman, 2002).

I když se výměny v určitém místě zúčastní pouze dvě chromatidy, může na jiném místě dojít k výměně mezi jinými dvěma chromatidami. V chromatidových tetrádách tedy existuje možnost mnohonásobných výměn. Mohou nastat například

dvě, tři nebo dokonce čtyři různé výměny – obvykle nazývané jako dvojitý, trojnásobný nebo čtyřnásobný crossing-over. Je třeba si uvědomit, že výměnou mezi sesterskými chromatidami nevznikají genetičtí rekombinanti, poněvadž sesterské chromatidy jsou identické (Snustad, Simmons, 2009).

## 2. 5 Migrace

Migrace, také někdy nazývaná genetický tok, je jakýkoliv pohyb genů z jedné populace do populace druhé (Walser, 2014).

Velmi často jsou druhy organismů geograficky rozdělovány do subpopulací. Za migraci považujeme stav, kdy se jedinci pohybují mezi těmito subpopulacemi. Jedinci mohou imigrovat, emigrovat nebo reemigrovat (obr. č. 5) z dané populace (Urban, Vyhnánek, 2006).

Množství toků genů, které se dějí mezi populacemi, se liší v závislosti na velkém množství druhů organismů. Populace jsou vůči migraci jistým způsobem omezeny, jelikož záleží na způsobu jejich pohybu. Můžeme tedy předpokládat, že např. pro ptactvo je migrace jednodušší než pro hraboše (Walser, 2014).

Migrace se také využívá mezi dvěma populacemi, které jsou po delší dobu izolované. Tento způsob ovlivnění genetické struktury populací se provádí zejména při šlechtění zvířat (Urban, Vyhnánek, 2006).

Migrace se vyskytuje především v okamžiku, kdy se zvyšuje velikost populace. Přispívá k udržení vysoké genetické rozmanitosti (Berthier et al., 2006).

Rychlost migrace je spojena s frekvencí rozmnožování a vzdáleností. Často se objevuje i s osidlováním nové oblasti (Hipkins, 2006).

## 2. 6 Selekcce

Selekcce je jeden z nejnámějších procesů ovlivňujících genetickou diverzitu a je to jediný proces, který umožňuje populacím nejlepší způsob adaptace na prostředí (Hipkins, 2006).

Jedná se o hlavní evoluční sílu a nástroj záměrného zlepšování domestikovaných živočichů a samozřejmě i kulturních rostlin s cílem změny genového složení populace, tedy šlechtění. Je to způsob, kterým se dá zvyšovat nebo snižovat frekvence alel v populaci. Působí jak na znaky kvalitativní, tak na znaky kvantitativní (Urban, Vyhnánek, 2006).

Selekcce využívá obecné proměnlivosti jedinců uvnitř populace. Vychází

z kontroly užítkovosti, sběru dat o užítkovosti, využití informací o užítkovosti vlastní a příbuzných jedinců pro odhad plemenné hodnoty plemenných zvířat a vlastní selekce jedinců pro sestavení rodičovských párů, za účelem zvýšení užítkovosti a stabilizace potřebných užítkových vlastností (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Selekci můžeme rozlišovat podle řady kritérií a to na selekci pozitivní, kdy dochází k výběru rozmnožujících se jedinců se žádanými vlastnostmi a na selekci negativní, kdy dochází k vyřazování jedinců. Dále můžeme rozdělit selekci na přirozenou, ke které dochází působením přirozených faktorů nebo na selekci umělou, kdy o výběru jedinců rozhoduje člověk (Urban, Vyhnanek, 2006).

Pro průběh přirozené selekce musí být přítomné rozdíly v kondici, způsobu přežití mezi ostatními jedinci a tudíž i genetický základ pro tyto rozdíly. Postupem času, což čítá generace, ti jedinci, kteří jsou vhodnější pro dané životní prostředí nebo jsou schopni delšího života a produkují více potomků, kteří jsou schopni zdědit adaptivní vlastnosti, tudíž mají vyšší frekvenci alel, které umožňují adaptaci na dané prostředí, v lokalitě zůstávají (Hipkins, 2006).

Jedinci s extrémně nízkou či vysokou užítkovostí jsou často v daném prostředí méně přizpůsobeni daným podmínkám. Předpokládá se, že se jedná o jedince s nízkým stupněm homozygotnosti a tudíž s vysokým stupněm heterozygotnosti (Jakubec, Bezdíček, 2010).

## **2. 7 Genetický drift**

Pokud se sníží velikost populace, začne se uplatňovat disperzní proces, který mění frekvence genů v malých populacích. Tento proces probíhá nesystematickými a náhodnými procesy. Proces neúplného a náhodného předání genů z jedné generace do druhé se nazývá náhodný posun, neboli genetický drift (Urban, Vyhnanek, 2006).

Probíhá-li genetický drift ve velmi malé populaci, po určité době může dojít k fixaci jedné z alel a populace je pak tvořena pouze homozygoty jednoho typu. Druhá alela se v populaci přestane vyskytovat. Která z alel bude tzv. fixována, je náhodný jev (Otová, Mihalová, 2012).

Genetický drift je jednoduchá změna genetické rozmanitosti (Hipkins, 2006). V malých populacích z důvodů náhodného výběru vzorku mezi gametami dochází ke změnám v četnosti alel. Čím menší výběr je, tím větší je jeho chyba (Urban, Vyhnanek, 2006). Z důvodů tohoto driftu dochází v každé generaci ke ztrátě některé vlastnosti (obr. č. 6), která tvoří genetickou rozmanitost (Hipkins, 2006).

## 2. 8 Inbreeding

Inbreeding, neboli příbuzenská plemenitba, patří mezi velmi důležité metody plemenitby, která se využívá ve šlechtění již řadu let. Jedná se o aktuální téma, které vychází nejen ze současného nárůstu inbreedingu v populacích skotu, ale také z nejnovějších poznatků z molekulární genetiky, která přináší nové pohledy na tento efekt (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Základním genetickým důsledkem příbuzenské plemenitby je podpora homozygotnosti. To znamená, že dochází ke zvyšování četnosti párování podobných genů. Díky tomu, že dochází ke zvyšování četnosti homozygotů, musí dojít ke snížení četnosti heterozygotů, což znamená, že dochází ke snižování párování různých genů. Jedná se o souběžné události, které jsou hlavními důvody pro určení všeobecných účinků na výkon, které jsou pro nás u příbuzenské plemenitby důležité (Vogt et al., 1993).

V malých populacích jsou potenciální rodiče s větší pravděpodobností více příbuzní než ve velkých (Urban, Vyhnánek, 2006).

I u inbreedingu se můžeme setkat s nevýhodami. Mezi nejviditelnější negativní účinky řadíme horší reprodukční výkonnost, vyšší míru úmrtnosti, nižší tempo růstu a vyšší frekvence dědičných vad. Tyto negativní účinky byly prokázány mnoha studiemi na skotu, koních, ovcích, prasat a také laboratorních zvířatech (Vogt et al., 1993).

## **2. 9 Polymorfismus**

Znaky v populaci nejsou vždy podmíněny pouze 1 alelou. Pokud existují pro znak minimálně 2 alely, hovoříme o polymorfismu. Abychom mohli mluvit o polymorfismu, musí frekvence daného znaku přesahovat 1%. Pokud by frekvence klesla pod 1%, nehovoříme již o polymorfismu, ale o náhodném výskytu, tedy mutaci (Flegr, 2005).

Pro většinu přírodních populací je charakteristický více či méně nápadný polymorfismus. Jedinci téhož pohlaví a téhož stáří se v rámci populace liší jeden od druhého v celé řadě kvantitativních a kvalitativních znaků (Flegr, 2005).

Část tohoto polymorfismu je nedědičné povahy, vzniká jako odpověď jedince na vlivy vnějšího prostředí, s nimiž se během svého života nebo během své ontogeneze on nebo jeho bezprostřední předci setkají. Velká část polymorfismu je však určena geneticky, a je tedy v různé míře dědičná. Za genetický polymorfismus je odpovědná přítomnost dvou či více variant, tedy alel od jednotlivých genů. Polymorfismus je jevem v přírodě nesmírně nápadným a také nesmírně významným z ekologického, etologického i evolučního hlediska (Flegr, 2005).

Polymorfismus můžeme členit do 4 skupin a to polymorfismus DNA, biochemický, imunologický a morfologický (Řehout et al., 2013).

### **2. 9. 1 Polymorfismus DNA**

Ve fenotypu se většinou projeví jen malá část variability DNA. Tato skutečnost je způsobena zejména tím, že exony kódujících genů tvoří jen malou část, řádově několik procent celkové genomové DNA, zbytek připadá na nekódující sekvence včetně intronů (Řehout et al., 2013).

U polymorfismu DNA rozlišujeme 2 hlavní typy a to bodový polymorfismus a polymorfismus repetitivních sekvencí (Čítek, 2013).

#### **2. 9. 1. 1 Bodový polymorfismus (SNP)**

Bodový polymorfismus, neboli single nukleotide polymorphism (SNP) je většinou záměna báze (substituce). Méně často se jedná o jiné typy mutací (Čítek, 2013).

Například u jedince byla zjištěna sekvence AGTTCGATGCG a u druhého jedince téhož druhu AGTTAGATGCG. Báze C, na pátém místě, byla zaměněna bází A (Nicholl, 2002). Může docházet k jednonukleotidovým párovým substitucím

(obr. č. 7) jako je například A:T na G:C nebo opačně G:C na A:T. Tyto párové substituce vytvářejí řadu SNP (Snustad, Simmons, 2009). SNP jsou většinou rovnoměrně rozptýleny po celém genomu a to v rozptylu jeden na 1300 až 1500 párů bází (Nicholl, 2002).

SNP se dědí jako alelické varianty (stejně jako varianty produkující fenotypové rozdíly, jako je například krevní skupina), s tím že obvykle nevytvářejí fenotypové rozdíly (Pierce, 2005). Pokud dojde ke změně báze či bází v kódující sekvenci může dojít ke změně aminokyseliny. Tato změna se již ve fenotypu může projevit a vede tudíž k polymorfismu biochemickému, imunologickému nebo morfologickému (Čítek, 2013). Většina SNP přítomných v populaci vznikla mutací, ke které došlo na konkrétním chromosomu a šíří se dále v populaci. Každý SNP je spojen s dalšími SNP (stejně jako jiné typy genetických variant a alel), které byly přítomny v konkrétním chromosomu, na kterém vznikla mutace. Specifický soubor SNP a jiných genetických variant pozorovaných na jednom chromosomu nebo části chromosomu nazýváme haplotyp. Jednotlivé SNP jsou v rámci haplotypu fyzicky propojeny, a proto mají tendenci být děděny společně (Pierce, 2005).

### **2. 9. 1. 2 Polymorfismus repetitivních sekvencí (VNTR)**

Polymorfismus repetitivních sekvencí, neboli variable number of tandem repeats (VNTR), je polymorfismus, při kterém se v DNA vyskytuje větší množství sekvencí, které se tzv. tandemově opakují. Třídíme ho podle délky sekvencí a to na maxisatelity, minisatelity a mikrosatelity (Čítek, 2013).

Mikrosatelity byly poprvé popsány v roce 1989 jako malé bloky tandemově opakované DNA, kde je obvykle opakovaný prvek di-, tri-, nebo tetra- nukleotidová sekvence (obr. č. 8). Počet opakovaných prvků v těchto blocích je často vysoce polymorfní a ukazuje jednoduchou Mendelistickou dědičnost (Dear, 1997).

Mikrosatelity mohou být kdekoliv. Nalezneme je v protein – kódujících i nekódujících oblastech. Vzhledem k jejich vysoké proměnlivosti, hrají velkou roli v evoluci genomu vytvářením a udržováním kvantitativní genetické variace. Celkový obsah mikrosatelitů v genomu koreluje s velikostí genomu organismů (Toth et al., 2000).

Délka tandemově se opakujících úseků DNA činí 1 – 6 párů bází (bp). Můžeme je dělit podle délky a to na dinukleotidové, trinukleotidové a tetranukleotidové, atd. Nejčastěji se v genomu setkáme s dinukleotidovými



repeticemi, které mohou tvořit 30 – 60% genomu. Při zjišťování nejčastějších kombinací u obratlovců se u dinukleotidového jedná o (AC)<sub>n</sub> nebo (AT)<sub>n</sub>, u trinukleotidových je to pak (AAT)<sub>n</sub> nebo (CAG)<sub>n</sub> a u tetranukleotidových se pak téměř výhradně jedná o (GATA)<sub>n</sub> či (GACA)<sub>n</sub> (Toth et al., 2000).

Můžeme je také dělit podle způsobu složení. Mohou být dokonalé (perfect), kdy nalézáme pouze jeden se opakující motiv, který není přerušen (...CACACACACACACA...). Ovšem v průběhu repetice může dojít i k přerušení a pak hovoříme o tzv. nedokonalé (imperfect), kdy se do řady opakovaných bází dostane báze jiná (...CTCTCTCTGTCTCTCT...). Mikrosatelity mohou vzniknout i složené (compound), kdy ke vzniku mikrosatelitu dojde složením dvou přilehlých mikrosatelitů a mají odlišné repetice (...CACACATGTGTG...). Posledním typem jsou mikrosatelity přerušované (interrupted), kde je inserce malého počtu bází, které neakceptují strukturu repetice (...CACACATTCACACATTCA...) (Goldstein, Schlötterer 1999).

V diploidních organismech má každé individuum dvě kopie mikrosatelitů. Např. otec má genotyp s 12 a 19 opakování, matka 18 a 15 opakování, potomek 12 a 15 opakování. U potomka jsme se mohli setkat ještě s 12 a 18, 19 a 18 nebo poslední možností 19 a 15 opakování (Čítek, 2013).

Aplikace mikrosatelitů je poměrně rozsáhlá. Kromě využití při ověřování rodičovství, identifikaci jedince slouží také při konstrukci genetických map a markery asistovanou selekci (MAS) (Čítek, 2013).

## 2. 10 Genetické markery

Genetický marker je gen, nebo úsek chromosomu, jehož umístění na chromosomu je známé a používá se jako orientační bod v mapování nových mutací (Rosypal, 2001).

Je to vysoce polymorfní znak, který vykazuje mendelistickou kodominantní dědičnost, je snadno a jednoznačně detekovatelný. Molekulárně-genetické markery mají proti klasickým tyto výhody (Knoll, Vykoukalová, 2002):

- a) jsou početné a relativně snadno identifikovatelné
- b) vysoce informativní
- c) mohou být typovány z malého množství tkáně v libovolném věku jedince (včetně embryí nebo po smrti jedince)
- d) DNA může být dlouhodobě archivována a lze se tak k analýze opakovaně vracet i po několika letech

Rozdělení markerů dle využití při mapování genomu (Knoll, Vykoukalová, 2002):

I. typ – kódující exprimované geny, mohou být kandidátními geny pro QTL. Mají nízkou hladinu polymorfismu, jsou málo použitelné pro studie diverzity rodin a populací. Využívají se ale významně v komparativním, tedy srovnávacím mapování.

II. typ – vysoce variabilní sekvence DNA. Zde se využívají především mikro a minisatelity. Vlivem vysokého stupně polymorfismu jsou mikrosatelity vysoce informativní v populačních studiích a při určování rodičovství, jsou základem pro vazbové mapování genů. Tyto markery nemají přímo vliv na variabilitu znaku, ale mohou být ve vazbě s QTL).

III. typ – jednonukleotidové polymorfismy (SNP), které mohou ležet uvnitř kódujících genů, ale častěji v nekódujících intronech nebo intergenových oblastech. Jsou využitelné pro populační a rodinné studie. Vyskytují se v genomu přibližně každých 500 – 1000 bp. Význam získávají s rozvojem automatických metod screeningu (microarrays).

Rozdělení markerů dle charakteru svého polymorfismu (Knoll, Vykoukalová, 2002):

- a) polymorfismus délky restričních fragmentů (RFLP – restriction fragment length polymorphism)
- b) polymorfismus v délce sekvence (SSLP – simple sequence length polymorphism). Zahrnuje mikrosatelity a minisatelity. Sem patří i vzácně se

vyskytující delece nebo inserce v intronové části způsobené např. transpozony.

- c) polymorfismus jednotlivých nukleotidů (SNP – single nukleotide polymorphism). Jedná se o bodové mutace. Některé mohou být detekovány jako RFLP. V případě, že neexistuje rozpoznávací místo pro restriktázu, lze k detekci použít DGGE nebo SSCP, případně pouze sekvencování. Většinou jsou to bialelické markery.

Polymorfní molekulární markery jsou velmi užitečné pro odhad příbuznosti mezi jednotlivci a zjištění jejich původu, analýzy jsou nyní široce používány ve většině taxonů (Garant, Kruuk, 2005).

## **2. 11 Kvantitativní a kvalitativní znaky v populacích**

V populacích se zpravidla rozlišují znaky kvalitativní, které v hybridizačních pokusech vyštěpují v samostatné štěpné kategorie a znaky kvantitativní s kontinuitní proměnlivostí a geneticky determinované polygeny, tj. geny malého a aditivního účinku (tab. č. 1). Populací se rozumí soubor jedinců, který se svým průměrným genofondem odlišuje od jiných souborů. V uzavřené populaci se páří příslušní jedinci mezi sebou, v otevřené populaci dochází k imigraci genů. Nepůsobí-li selekce, migrace nebo mutace, ani genetický drift či náhodný tlak, jestliže je populace dostatečně početná, nachází se daná populace v panmiktickém rovnovážném stavu (Kopecký, 1981).

### **2. 11. 1 Kvalitativní znaky**

Ve velké náhodně se pářící populaci jsou genové a genotypové četnosti neměnné, tedy konstantní od generace ke generaci, nejsou-li přítomny migrace, mutace a selekce. Genotypové četnosti jsou určeny četnostmi genovými. Tyto vlastnosti populace byly v roce 1908 objeveny dvěma autory nezávisle, a to Hardym a Weinbergem a jsou souhrně pojmenovány jako „Zákon Hardy-Weinberga“. Populaci, která je z hlediska genového a genotypového složení neměnná, označujeme též jako populaci, která je v Hardy-Weinbergově rovnováze (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Ke kvalitativním znakům, které lze v populacích podle principů mendelovské dědičnosti sledovat, patří u skotu např. bezrohost a rohatost, zbarvení srsti a kůže apod., ale též krevní skupiny a polymorfní znaky (Kopecký, 1981).

## 2. 11. 1. 1 Krevní skupiny

Jednoduše dědičným alternativním znakům, plně odpovídají krevní skupiny a polymorfni znaky zjišťované v různých tělních tekutinách, především v krevním séru. Vztah mezi genotypem a fenotypem je u těchto znaků zpravidla velmi přímočarý, efekt každé alely je rozlišitelný v jakémkoliv genotypu a prakticky nezávislý na podmínkách prostředí. Jednotlivé alely se manifestují v heterozygotním stavu současně, tj. jsou kodominantní (Kopecký, 1981).

Na základě genetických analýz, byly objevené krevní faktory rozděleny do systémů. Každý systém krevních skupin, tedy erytrocytárních antigenů, je charakterizován tím, že všechny faktory k němu náležející jsou geneticky kontrolovány jediným lokusem příslušného chromosomu (Kopecký, 1981).

Erytrocyty jsou nositeli antigenů a tím krevních faktorů. Výjimku tvoří jen faktor *J*. Krevně skupinová substance *J* se totiž u narozených telat vyskytuje jen v séru a teprve poté je přijímají erytrocyty. Dospělý skot může mít antigen *J* v séru, popř. v séru a na erytrocytech, avšak antigen může také u dospělého skotu úplně chybět. Tvorba krevně skupinových specifických substancí je kontrolována příslušným lokusem krevních skupin (Stahl, 1970).

Protilátkou lze nazvat substanci, jež se vytvoří po parentálním podání antigenu do organismu. Vytvářenými protilátkami se mění reakční stav organismu, vzniká imunita proti podanému antigenu. Protilátka s příslušným antigenem může *in vitro* vyvolat specifickou reakci antigen-protilátka. Této skutečnosti se využívá k prokázání krevních faktorů. Za nositele protilátek slouží krevní sérum (Stahl, 1970).

Jednotlivé krevní faktory se dědí buď samostatně, nebo se celá skupina faktorů dědí jako jednotka. Krevní skupinou může být buď jediný krevní faktor, nebo celá skupina faktorů. Skupiny kontrolované jedním lokusem tvoří krevní systém. Souhrn všech antigenních faktorů, určovaných na krvinkách zvířete, se nazývá krevní typ. Chemicky jsou erytrocytární antigeny v podstatě mukopolysacharidy. K jejich odhalování se používá různá technika, například hemolýza nebo aglutinace (Kopecký, 1981).

Ověřování původu pomocí krevních skupin a dalších polymorfniích znaků se používá proto, že u potomstva se nemůže vyskytnout faktor, který by nebyl přítomen alespoň u jednoho z rodičů. Původ býka uváděný v plemenářských záznamech se buď potvrdí, nebo vyloučí (Kopecký, 1981).

Stejný krevní typ u dizygotických dvojčat (DZ), často i různého pohlaví, je podmíněn placentární cévní anastomózou (Kopecký, 1981).

### **2. 11. 2 Kvantitativní znaky**

Existují rozdíly mezi jedinci, které vyjadřují spíše stupeň rozdílu. Jedince nemůžeme zařadit do přísně oddělených typů a v takovém případě se jedná o rozdíly ve vlastnostech mezi jedinci kvantitativního charakteru. Tyto vlastnosti označujeme za vlastnosti kvantitativní, které vykazují tendenci přechodnou se všemi variacemi mezi extrémními typy (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Kvantitativní znaky jsou měřitelné a patří k nim všechny kvantitativně měřitelné užitkové vlastnosti skotu, tj. produkce mléka, produkce mléčných složek, obsah mléčných složek, znaky dojitelnosti, produkce masa, znaky jatečné hodnoty, růstové ukazatele atd. Jsou to vesměs znaky s kontinuitní proměnlivostí, se všemi variacemi mezi extrémními typy a zpravidla splňující v příslušných populacích předpoklad normálního rozdělení (Kopecký, 1981). U těchto vlastností hrají podmínky prostředí mnohem větší důležitost než u vlastností kvalitativních (Jakubec, Bezdíček, 2010).

Znaky kvalitativní jsou ovlivňovány geny jen z několika lokusů, kdežto znaky kvantitativní jsou ovlivňovány ze značného množství lokusů. Mnohé geny přispívají zároveň k vyjádření fenotypů. Přínos jednotlivých genů je z hlediska celkového přínosu všech působících genů malý. Tyto geny se proto nazývají geny malého účinku nebo polygeny. Kromě polygenů mohou fenotyp ovlivňovat také některé velké geny, jejichž účinek je proti působení genů malého účinku značný (Stahl, 1970).

Dědičnost kvantitativních vlastností závisí na velkém počtu genů, které podléhají stejným zákonům dědičnosti a mají stejné vlastnosti jako geny, které způsobují kvalitativní rozdíly (Jakubec, Bezdíček, 2010).

### **2. 12 Markery asistovaná selekce (MAS)**

Je komplementární technologie pro použití ve spojení s řadou již zavedených běžných způsobů genetického výběru (Robinson, Ruane, 2006).

Prostřednictvím intenzivnějšího využití výsledků molekulární genetiky, by mohlo být dosaženo zpřesnění klasických šlechtitelských postupů. Pomocí laboratorních metod jsme schopni identifikovat a zjistit umístění tzv. lokusů

pro kvantitativní vlastnosti (QTL). QTL – lokus – je určité místo na chromosomu, kde se nachází 1 nebo několik genů, které spolu s ostatními polygeny významně ovlivňují projev kvantitativních vlastností. QTL je možné odhalit prostřednictvím jejich vazby s tzv. markery (Řehout et al., 2005).

Marker může být buď součástí QTL, jedná se tedy o přímý marker, nebo je alespoň ve vazbě s QTL, tudíž je to nepřímý marker. Sílu vazby mezi markerem a QTL jsme schopni určit pomocí pečlivě plánovaných populačních experimentů. Vazba je obecně tím silnější, čím blíže jsou na chromosomu QTL a marker lokalizovány. Síla vazby pak může být charakterizována jako úplná či neúplná. Právě na síle vazby a na četnosti možných rekombinací závisí i využitelnost markeru jako selekčního kritéria. Čím silnější je vazba, tím je selekce podle markeru spolehlivější (Řehout et al., 2005).

Řada strategií využití markerů se snaží o začlenění informací o markerech do již existujících šlechtitelských programů. Jejich efektivní využití, ale může vyžadovat změny již používaných programů. Je tedy nutné uzpůsobit MAS proces zjišťování a shromažďování fenotypových dat, způsob hodnocení zvířat, způsob reprodukce atd. Jednou z výhod MAS je zrychlení generačního intervalu pomocí zkrácení doby potřebné k výběru jedince (Urban, 2008).

Celkový postup při markery asistované selekci lze rozdělit do několika navazujících kroků (Řehout et al., 2005):

- 1) vyhledání markerů
- 2) stanovení mapy, ze které vyplývá síla vazby marker-QTL
- 3) určení podílu proměnlivosti vysvětleného QTL
- 4) identifikace jedinců nesoucích žádoucí alelu a jejich využití ve šlechtění

Velkou rolí v aplikaci genetických markerů do praxe je ekonomické zhodnocení. S MAS jsou spojeny výdaje na získání DNA, izolaci DNA až po výsledné zjištění genotypu a jeho vlivu na užitkové znaky. Využití markerů je tedy opodstatněné tam, kde zisk při jejich použití je vyšší než zisk na základě šlechtění dle rodokmenových dat a fenotypu (Urban, 2008).

## 2. 12. 1 Genomová selekce

Genomová selekce je formou MAS, kdy je využito markerů s vlivem na celý genom, takže všechny QTL jsou ve zvláštní vazbě s nejméně jedním z markerů (Hayes et al., 2009).

Pro genomovou selekci za pomoci DNA markerů se využívá SNP. Geny ovlivňují hospodářsky nejvýznamnější vlastnosti, které jsou distribuovány v celém genomu (Thallman, 2009). Nejlepší využití markerů je pro selekci uvnitř rodin (Ježková, 2011).

Podstata této technologie byla představena na konci devadesátých let. V té době byla genomová selekce ještě nereálná z důvodu vysokých nákladů na analýzu SNP. Od roku 2006 se začala využívat genomová selekce ve šlechtitelském programu (Marková, 2009).

Genomová selekce má potenciál radikálně změnit šlechtitelské programy po celém světě a dále urychlit genetický zisk. Přechodem na genomovou selekci se generační interval plemenných býků může zkrátit z pěti na jeden rok (tab. č. 2). Využíváním genomové selekce při výběru mladých býků do testování, může rovněž dojít i ke zvýšení genetického zisku a je doprovázeno i vyšší mírou inbreedingu. Za pomoci genomové selekce je možné vybírat ta nejlepší zvířata z velkého množství potomků takového špičkového býka už v rané fázi. Od jednotlivých býků tak může být redukován celkový počet synů (Marková, 2009).

V genomice se využívají silikonové čipy od společnosti Illumina, které jsou schopny přečíst miliony informací (Ježková, 2011). Příkladem může být čip BovineSNP50 (obr. č. 9), který umí přečíst až 54 001 SNP markerů a může se s jejich použitím vyhodnotit až dvanáct vzorků najednou. Tento čip, Illumina BovineSNP50, byl použit ve studii o předpovědi vzniku plemene ve smíchané populaci skotu, kterou zpracoval Frkonja et. al. (2012). Dalším čipem je BovinesSNP3K (obr. č. 10), který umí přečíst 2900 SNP markerů, 2706 se jich využívá pro genomická hodnocení, lze vyhodnotit 32 vzorků najednou. V humánní medicíně se již využívají ještě výkonnější čipy a to je Bovine HD BeadChip (obr. č. 11), který umí číst 777 962 markerů (Gassaway, 2011). Rovněž pro hospodářská zvířata jsou již k dispozici highdensity čipy, např. bovinní Illumina čip pro 777 tis. SNP (Frkonja et. al., 2012). Využití genomické selekce v praxi bylo už s úspěchem použito u mléčného skotu (Thallman, 2009).

## **2. 13 Vnitropopulační genetická diverzita**

Diverzita uvnitř populací hospodářských zvířat může být ohrožována genetickým driftem v malých populacích, ke kterým patří především mizející původní krajová plemena, genové rezervy. Pokud by došlo k většímu snížení vnitropopulační diverzity, může populace vymizet z genetických důvodů. K ohrožování vnitropopulační diverzity dochází však i u vysoko užitkových početných plemen a to zejména v důsledku zmenšování efektivní velikosti (Řehout et al., 2005).

Při snižování vnitropopulační diverzity dochází ke ztrátě cenných genů vytvořených během evoluce a fixovaných v průběhu domestikace a vytváření plemene. Dochází tedy ke ztrátě kombinací genů v genotypu jedinců, které se osvědčily při přirozeném nebo umělém výběru a ztrácí se i genofond mizejících taxonů. Pokud k těmto ztrátám dojde, jedná se o ztráty nevratné (Řehout et al., 2005).

U skotu se setkáme se starými plemeny a novými vysokoužitkovými, neboli komerčními. Stará plemena mají četné a cenné vlastnosti, jako je široké spektrum užitkových vlastností, dobrá konstituce, plodnost a s ní spojené snadné zabřezávání, skromnost, přizpůsobenost drsným podmínkám. Díky všem těmto vlastnostem představují stará plemena velkou zásobárnu genetické různorodosti. Přikřížením starých plemen ke komerčním může dojít ke zvýšení diverzity, či zlepšení určité vlastnosti (Řehout et al., 2005).

### **2. 13. 1 Heterozygotnost**

U heterozygotnosti se jedná o stav, kdy na jednom lokusu se nacházejí dvě rozdílné alely (obr. č. 12). Opakem je homozygotnost, kdy na jednom lokusu nalezneme dvě stejné alely. Můžeme se také setkat s hemizygotností, kdy se na lokusu nachází pouze jedna alela (Dyke, 2008).

Vysoká heterozygotnost znamená velkou genetickou variabilitu, zatímco nízká heterozygotnost znamená malou genetickou variabilitu. Často se porovnává pozorovaná úroveň heterozygotnosti s tím, co očekáváme od Hardy-Weinbergovy rovnováhy. Pokud je pozorovaná heterozygotnost nižší než se očekávalo, připisujeme tento rozdíl např. příbuzenské plemenitbě. Pokud je, ale heterozygotnost vyšší než se očekávalo, může být způsobená propojením dvou dříve izolovaných populací (McDonald, 2008).



## 2. 13. 1. 1 Koncept heterozygotnosti

$H_I$  – průměrná pozorovaná heterozygotnost jedince v subpopulaci (Bryja, 2007)

$$H_I = \sum_{x=1}^k H_x/k$$

$H_x$  = pozorovaná heterozygotnost v subpopulaci  $x$

$H_S$  – očekávaná heterozygotnost jedince v subpopulaci za předpokladu náhodného páření (Bryja, 2007)

$$H_S = 1 - \sum_{i=1}^j p_{i,x}^2$$

$p_{i,x}^2$  = frekvence  $i$ -té alely v subpopulaci  $x$

$i$  alela = od 1 do  $j$

$k$  – počet jedinců

$\bar{H}_S$  – průměrná očekávaná heterozygotnost v populaci

$$\bar{H}_S = \sum_{x=1}^k H_S/k$$

$H_T$  – očekávaná heterozygotnost jedince v celé populaci za předpokladu náhodného páření (Bryja, 2007).

$$H_T = 2p_0q_0$$

$p_0$  – frekvence alely A

$q_0$  – frekvence alely a

### 2. 13. 2 Polymorfni informační obsah (PIC)

Hodnota polymorfniho informačního obsahu (polymorphism information content) se běžně používá v genetice, jako opatření polymorfismu pro značení lokusů v analýze vazeb (Shete et al., 2000). PIC představuje pravděpodobnost, že daný potomek náhodného páření mezi nosičem vzácného dominantního genu a nenesičem je informačně důležitý pro spojení lokusu dominantního genu s kodominantním markrem (Yasuda, 1988).

$$PIC = H - 2 \sum_{i=1}^{n-1} p_i^2 \sum_{j=i+1}^n p_j^2$$

H – heterozygotnost

$p_i^2$  – frekvence i-té alely

$p_j^2$  – frekvence j-té alely

### 2. 13. 3 Efektivní počet alel

Efektivní počet alel může být posuzován jako důsledek očekávané heterozygotnosti. Počet alel očekávané heterozygotnosti je nejvyšší, když jsou všechny frekvence alel stejné. Když je heterozygotnost vysoká, je i nejvyšší efektivní počet alel (Weir, 1990).

### 2. 13. 4 Fixační index

Fixační index je míra odlišnosti populace v důsledku genetické struktury. Ta je často odhadnuta z genetického polymorfismu dat, jako je například jednonukleotidový polymorfismus (SNP) nebo mikrosatelity. Tento index byl vyvinut jako zvláštní případ Wrightovy F-statistiky, což je jeden z nejčastěji používaných statistických údajů v populační genetice. Tento index může definovat alelické vzdálenosti mezi subpopulacemi. Definice alelické vzdálenosti umožňuje rozdělení celkové alelické rozmanitosti do vnitro a mezisubpopulačních složek (Caballero, Rodriguez-Ramilo, 2010).

Dvě z nejběžnějších definic fixačního indexu v daném lokusu jsou založeny na rozptylu frekvencí alel mezi populacemi a na pravděpodobnosti identity původu. Tato definice ukazuje, že fixační index měří množství genetického rozptylu, kterým lze vysvětlit strukturu obyvatelstva (Holsinger, Weir, 2009).

## 2. 13. 4. 1 Wrightova F – statistika

$F_{IS}$  – snížení heterozygotnosti v lokální subpopulaci; vysoké hodnoty – inbreeding (Bryja, 2007)

$$F_{IS} = \frac{\bar{H}_S - H_I}{\bar{H}_S}$$

$H_I$  - průměrná pozorovaná heterozygotnost jedince v subpopulaci

$\bar{H}_S$ - průměrná očekávaná heterozygotnost v populaci

$F_{IT}$  – souhrnná hodnota, heterozygotnost v celé populaci (Bryja, 2007)

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

$H_I$  - průměrná pozorovaná heterozygotnost jedince v subpopulaci

$H_T$  - očekávaná heterozygotnost jedince v celé populaci za předpokladu náhodného páření

$F_{ST}$  – míra „rozdělenosti“ = snížení toku mezi subpopulacemi; vliv driftu – fixuje odlišné alely v subpopulacích (Bryja, 2007)

$$F_{ST} = \frac{H_T - \bar{H}_S}{H_T}$$

$H_T$  - očekávaná heterozygotnost jedince v celé populaci za předpokladu náhodného páření

$\bar{H}_S$ -průměrná očekávaná heterozygotnost v populaci

Hodnoty  $F_{ST}$

0 – 0,05 malá diferenciacce (zanedbatelná)

0,05 – 0,15 střední

0,15 – 0,25 vysoká

> 0,25 velmi vysoká (Bryja, 2007).

Postup pro fixační index je nejnadhěji vyvinut pro jednu z alel na jednom lokusu. Pro několik alel a lokusů je zapotřebí spojit výsledky jednotlivých fixačních indexů pro jednotlivé alely (Weir, Cockerham, 1984).

## **2. 14 Mezipopulační genetická diverzita**

Monitorování genetické diverzity znamená získávání, registraci, vyhodnocování a zveřejňování informací, které jsou důležité pro zamezení jejich dalších ztrát (Řehout et al., 2005).

Z celkové diverzity uvnitř druhu hospodářského zvířete je způsobena zhruba polovina meziplemennými rozdíly. Ty vznikají přirozenou nebo umělou selekcí, migrací, mutací a genetickým tlakem (Řehout et al., 2005).

Za podstatné podklady pro srovnání populací se považuje výskyt vzácných alel v genofondu plemene, odhad genetických distancí mezi plemeny a jednoduché srovnání plemen z hlediska alelických frekvencí (Řehout et al., 2005).

### **2. 14. 1 Genetické distance**

Zjišťování genetických distancí, neboli vzdáleností usnadňuje a zjednodušuje vzájemné srovnání populací. Genetická vzdálenost je číselné vyjádření rozdílů mezi genofondy populací. Postupuje se tak, že se stanoví genotypy potřebného počtu jedinců na potřebném počtu markerových lokusů. Poté se vypočtou alelické frekvence pro každý lokus u každé populace. Alelické frekvence se dosadí do vzorce a vypočte se genetická vzdálenost mezi dvěma populacemi. Čím větší jsou mezi populacemi rozdíly ve frekvencích, tím větší jsou také genetické vzdálenosti (Řehout et al., 2005).

Genetická vzdálenost se používá také pro pochopení původu biologické rozmanitosti. Například, genetické vzdálenosti mezi různými plemeny domácích zvířat jsou často zkoumány za účelem zjištění, která plemena by měla být chráněna k udržení genetické rozmanitosti (Ruane, 1999).

#### **2. 14. 1. 1 Druhy měření genetických distancí**

I přes to, že je genetická vzdálenost často definována jako míra genetické rozdílnosti, existuje několik různých statistických měření, které byly navrženy. Různá měření vznikla z toho důvodu, že různí autoři berou v úvahu různé evoluční modely (Nei, 1972).

Často používaná je Neiova standardní genetická distance. Dále se používají např. Neiova minimální, maximální a DA distance, Cavalli-Sforzova distance, Reynolds, Weyr, Cockerham a mnoho dalších.

### 2. 14. 1. 1. 1 Neiova standardní genetická distance

Tato metoda byla v roce 1972 publikována Masatoshi Neiem. Vlastnost této vzdálenosti je taková, že pokud rychlost genetických změn je konstantní v průběhu let či generací, pak Neiova standardní genetická vzdálenost (D) se zvyšuje v poměru k divergenci času. Toto opatření předpokládá, že genetické rozdíly jsou způsobeny mutací a genetickým driftem (Nei, 1972).

$$D = -\ln \left( \frac{\sum_m \sum_i p_{1mi} p_{2mi}}{[\sum_m \sum_i p_{1mi}^2]^{1/2} [\sum_m \sum_i p_{2mi}^2]^{1/2}} \right)$$

m - suma přes lokusy

i – suma přes alely na m-tém lokusu

p<sub>1mi</sub> - frekvence i-té alely na m-tém lokusu v populaci 1

### 2. 14. 1. 1. 2 Cavalli-Sforzova genetická distance

V roce 1967 představili tuhle metodu L. L. Cavalli-Sforza a A. W. F. Edwards. Předpokládá se, že genetické rozdíly vznikají pouze v důsledku genetického driftu. Jedna z hlavních výhod této metody je, že populace jsou zastoupeny v tzv. hypersféře, kde na stupnici je jednou jednotkou substituce genu (Cavalli-Sforza, Edwards, 1967).

$$D^2 = 4 \sum_m [1 - \sum_i p_{1mi}^{1/2} p_{2mi}^{1/2}] / \sum_m (a_m - 1)$$

m - suma přes lokusy

i – suma přes alely na m-tém lokusu

a - počet alel na m-tém lokusu

p<sub>1mi</sub> - frekvence i-té alely na m-tém lokusu v populaci 1

### 2. 14. 1. 1. 3 Reynolds, Weir a Cockerhamova genetická distance

Metodu publikovali v roce 1983 J. Reynolds, B. S. Weir a C. C. Cockerham. Tato metoda předpokládá, že genetická diferenciace nastává pouze za působení genetického driftu bez mutací (Reynolds et al., 1983).

$$D^2 = \frac{\sum_m \sum_i [p_{1mi}^2 - p_{2mi}^2]^2}{2 \sum_m [1 - \sum_i p_{1mi} p_{2mi}]}$$

m - suma přes lokusy

i – suma přes alely na m-tém lokusu

$p_{1mi}$  - frekvence i-té alely na m-tém lokusu v populaci 1

### 2. 14. 2 Programové balíky

Výpočet distancí je většinou prováděn pomocí výpočetní techniky a to za použití programových balíčků. Jedním z nejčastěji používaných programových balíčků je PHYLIP (Řehout et al., 2005).

#### 2. 14. 2. 1 PHYLIP (Phylogeny Inference Package)

Autorem tohoto balíčku je Joseph Felsenstein, profesor na katedře genetických věd a katedře biologie na Universitě ve Washingtonu v Seattlu. Tento balíček se skládá z 35 programů (tab. č. 3) . Slouží k odvozování fylogeneze, tedy i evolučních stromů. Je distribuován jako zdrojový kód, soubory dokumentace a jako řada dalších typů spustitelných souborů. Vznikl v roce 1980 a v dnešní době má přes 30 000 registrovaných uživatelů. Tento program je zdarma k dispozici na internetu (Felsenstein, 2013).

Programy, které balíček PHYLIP obsahuje, se rozdělují podle typu dat jako je např. DNA sekvence, proteinová sekvence, restrikční místa, distanční matice, genové frekvence, kvantitativní znaky, diskrétní znaky a dále podle algoritmů, jako je např. heuristické hledání fylogenetického stromu nebo interaktivní manipulace fylogenetického stromu (Felsenstein, 2013).

## 2. 14. 2. 2 DISPAN (Genetic Distance and Phylogenetic Analysis)

DISPAN je balíček souborů, pomocí kterých se vypočítá průměrná heterozygotnost a její standardní chyby pro každou populaci, gen rozmanitosti a jeho přidružené parametry, standardní genetické vzdálenosti mezi populacemi, standardní chyby standardních genetických vzdáleností a DNA vzdálenosti mezi populacemi (Tatsuya, 2009).

Tento software obsahuje dva programy GNKDST.EXE a TREEVIEW.EXE (Tatsuya, 2009).

## 2. 15 Fylogenetické stromy

Fylogenetický strom je schéma, které ukazuje linie evolučního původu různých druhů organismů (obr. č. 13) nebo geny společného předka. Tyto stromy jsou vhodné pro uspořádání znalostí o biologické rozmanitosti, na strukturování klasifikace a pro výzkum v oblasti událostí, které nastaly v průběhu evoluce (Baum, 2008).

Stromy mohou být popsány i s délkami větví a mohou být zakořeněné nebo nezakořeněné (obr. č. 14). Fylogenetické stromy je jeden typ z řady dalších fylogenetických sítí (Huson, 2005).

Pro popis stromů (obr. č. 15) existuje i jistá terminologie, s kterou je potřeba být seznámen (Li, Graur, 2000):

- uzel – reprezentuje taxonomickou jednotku
- větev – definuje vztah mezi taxony z hlediska postupu či původu
- topologie – větvení vzoru
- délka větví – často reprezentuje počet změn, ke kterým došlo v dané větvi
- kořen – je společný předek všech taxonů
- měřítko vzdálenosti – měřítko, které představuje počet rozdílů mezi sekvencemi; například 0,1 znamená 10% rozdílů mezi dvěma sekvencemi

Stromy mohou být vypracovány různými způsoby. Setkat se můžeme se stromy, které obsahují větve s měřítkem, nebo bez měřítka. Pokud se jedná o větve s měřítkem, tak délka větve je úměrná počtu změn, což znamená, že vzdálenost mezi 2 druhy je součet délky všech větví, které je spojují. U větví bez měřítka délka není

úměrná počtu změn a někdy je tento počet uveden na větvích formou čísel. Dalším způsobem vypracování může být kořenový nebo bezkořenový strom. U kořenového je kořenem společný předek a od něj vede cesta k danému druhu. Směr cesty odpovídá evolučnímu času. Bezkořenový strom, pak určuje vztahy mezi druhy, ale nedefinuje evoluční cestu (Li, Graur, 2000).

Existují dvě hlavní skupiny analýz, díky kterým lze prozkoumat fylogenetické vztahy mezi sekvencemi. První metodou je fenetická metoda, kdy jsou stromy vypočítány na základě podobnosti sekvencí a jsou založeny na metodě vzdálenosti. Z této metody pak vznikají stromy, které se nazývají dendrogramy a nemusí nutně odrážet evoluční vztahy. Distanční metoda zpracovává všechny individuální rozdílnosti mezi dvojicemi sekvencí do jediného čísla. Druhou metodou je kladistická metoda, kdy jsou stromy vypočteny s ohledem na různé možné cesty evoluce a je založena na šetrnosti a věrohodnosti metody. Výsledný strom se nazývá kladogram. Kladistická metoda využívá každou pozici zarovnání jako evoluční informaci k vybudování stromu (Holmes, 1991).

Metody distanční matice, jako je například Neighbour-joining nebo UPGMA, které vypočítají genetickou vzdálenost od zarovnání různých sekvencí, jsou nejjednodušší na realizaci, ale neodvolávají se na evoluční model (Felsenstein, 2004).

### **2. 15. 1 Dendrogramy**

Dendrogramy (obr. č. 16) vznikají na základě fenetické metody, která je založena na principu vzdáleností. Na začátku celého procesu vzniku dendrogramů se vypočítají matice vzdálenosti. Ze získaných matic je fylogenetický strom spočítán s algoritmy shlukování. Tyto metody shlukování sestaví strom propojením nejméně vzdálené dvojice taxonů až následovně po vzdálenější taxony. K propojení pomáhají dvě metody a to metoda UPGMA nebo Neighbour-joining (Li, Graur, 2000).

UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) je nejjednodušší metoda (Holmes, 1991).

Neighbour-joining je metoda, která se snaží napravit způsob UPGMA metody, která předpokládá, že rychlost vývoje je ve všech taxonech stejná (Li, Graur, 2000).



## **2. 15. 1. 1 UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean)**

Jedná se o metodu vzdálenosti, a proto pro její realizaci jsou potřeba distanční matice. Jedná se o ultrametrickou metodu, což znamená, že všechny koncové uzly jsou stejně vzdálené od kořene (obr. č. 17) (Edwards, 2013). Tato metoda tedy většinou vytváří zakořeněné stromy (Takezaki, Nei, 1996). Z molekulárního hlediska to znamená že UPGMA předpokládá, že všechny linie se vyvíjejí při konstantní rychlosti (Edwards, 2013).

Samotný název popisuje, co můžeme od metody čekat. Unweighted, neboli nezátížená znamená, že všechny párové vzdálenosti jsou stejné. Pair-Group, tedy párové skupiny, jedná se o skupiny, které jsou kombinované v párech. Arithmetic mean je pak aritmetický průměr, který znamená, že párové vzdálenosti pro každou skupinu jsou středními vzdálenostmi pro všechny členy této skupiny (Edwards, 2013).

Nevýhodou této metody je rozštěpení evolučního měření, vzniklé stromy mohou mít špatné vzdálenosti (Backofen, 2010).

## **2. 15. 1. 2 Neighbour-joining**

Jedná se o metodu shlukování za účelem vzniku fylogenetických stromů (obr. č. 18) vytvořenou Naruya Saitou a Masatoshi Neiem v roce 1987 (Saitou, Nei, 1987). Obvykle se používá pro vytváření stromů na základě DNA nebo proteinových sekvenčních dat. Algoritmus pro metodu určení potřebuje znalosti vzdálenosti mezi každou dvojicí taxonů pro vytvoření stromu (Didelot, 2010).

I u této metody existují výhody a nevýhody (Opperdoes, 1997):

Výhody

- jedná se o velmi výhodnou metodu a tedy vhodnou i pro velké soubory dat
- linie se značně různými délkami větví
- umožňuje korekci pro více substitucí

Nevýhody

- sekvence informací se snižuje
- získáme z ní pouze jeden možný strom
- velice závislá na typu použité evoluce

Zejména vhodnost pro zpracování velkých souborů dat vedlo k tomu, že metoda je široce používaná molekulárními evolucionisty. S rychlým růstem databáze

sekvencí je to jedna z mála metod, která umožňuje rychlé začlenění všech homologních sekvencí přítomných v databázi do jednoho stromu (Oppenheimer, 1997).

## 2. 15. 2 Kladogramy

Kladogram (obr. č. 19) je druh diagramu používaný v kladistice, který ukazuje vztahy mezi organismy. Nicméně kladogram nelze považovat za evoluční strom, jelikož neukazuje souvislost mezi předky a potomky stejně jako z něj nelze poznat, jak mnoho se potomci od předků liší. I přes to, mnoho evolučních stromů může být odvozeno z jednoho kladogramu (Posada, Crandall, 2001).

Kladogramy jsou tvořeny větvemi, které se oddělují do různých směrů a končí u určité skupiny organismů. Existuje mnoho tvarů, ale všechny typy mají větve, které se v určitém místě oddělí od původní větve. Je tedy možné je vysledovat do místa, kde odbočily. Body odbočení poté mohou představovat hypotetického předka (Schuh, 2000).

Kladogramy vznikají na základě kladistické metody a ta je založena na šetrnosti nebo maximální věrohodnosti (Li, Graur, 2000).

Při metodě využití šetrnosti jsou v uspořádání pro každou polohu vyhodnoceny všechny stromy a jsou uvedeny jako číselný záznam na základě počtu vývojových změn, potřebných k vytvoření pozorované změny sekvencí. Nejvíce šetrný strom je pak ten, s nejmenším počtem vývojových změn všech sekvencí, které pocházejí od společného předka. Jedná se o metodu náročnější než je metoda vzdálenosti (Holmes, 1991).

Metoda maximální věrohodnosti využívá také každou pozici uspořádání, vyhodnocuje všechny možné stromy a vypočítává pravděpodobnost pro každý strom pomocí explicitního evolučního modelu. Pravděpodobnost se pak pro každou vyrovnanou polohu násobí pro poskytnutí pravděpodobnosti pro každý strom. Strom s maximální pravděpodobností je stromem nejpravděpodobnějším. Jedná se o nejpomalejší metodu ze všech, ale její výsledky jsou jedny z nejlepších a dává nejvíce informací o daném stromu (Li, Graur, 2000).

### 2. 15. 3 Příklady použití dendrogramů ve studiích

Kantanen et.al. (2000) se zaměřil ve své studii na 20 plemen skotu severní Evropy. Jednalo se o 15 původních, 2 dříve importované a 3 komerční severoevropská plemena. Byly použity krevní vzorky od 743 zvířat. Vzorky byly analyzovány na 11 systémech erytrocytárních antigenů, 8 proteinů a 10 mikrosatelitů. Vzorky byly použity k posouzení vnitro a meziplenné genetické variace a genetické struktury populace. Strom byl sestaven z matice náhodného odhadu genetických vzdáleností a ukazuje genetické vztahy mezi plemeny. Plemena byla klasifikována na základě stromové topologie do čtyř hlavních plenných skupin. Tyto vytvořené skupiny byly severní původní plemena, jižní plemena, ayrshirská a fríská plemena a jersey.

Machado et. al. (2003) zveřejnili studii genetické diverzity čtyř plemen skotu na základě mikrosatelitních markerů. Plemena Gyr, Nellore, Guzerat a Holštýn byly analyzovány amplifikací genomové DNA pomocí mikrosatelitních lokusů pro hodnocení genetické rozmanitosti v rámci a mezi nimi. Byly shromážděny vzorky DNA 18 zvířat z každého plemene pro přístup do jejich genetického obsahu. Alelové četnosti byly vypočteny a použity k vytvoření Neiových genetických maticí vzdálenosti, které byly použity na vytvoření dendrogramů (obr. č. 20) pomocí metody UPGMA. Celkem 64 alel ve všech 4 plemenech byly detekovány pomocí devíti mikrosatelitních primerů. Každé plemeno ukázalo 53% z celkového počtu alel. Nejvíce informativní lokus s 53% pozorované heterozygotnosti byl BMS1237 a nejméně informativní byl lokus BMS3004 s pouhými 12%. Během studie se také zjistilo, že nízká heterozygotnost poukazuje na vysokou endogamii mezi vzorkem zvířat uvnitř každého plemene. Během této studie se také zjistilo, že Holštýnské plemeno bylo nejvíce odlišné od ostatních plemen, což se dalo očekávat. Největší odlišnost se ukázala u vztahu ke Gyru a nejmenší k plemenu.

Dendrogramy využili ve studii genetických vzdáleností mezi plemeny skotu střední Evropy Čítek et. al. (2006). Genetické vzdálenosti byly studovány u českého, německého a polského červeného skotu, českého strakatého, u českého a německého černostrakatého skotu. Byly vypočítány DA genetické vzdálenosti a pomocí metody Neighbor-joining byly sestaveny stromy (obr. č. 21). Nejnižší hodnota byla naměřena mezi českým a německým černostrakatým skotem. Nejvyšší hodnoty se pak podařilo naměřit mezi německým červeným skotem s českým černostrakatým a také s německým černostrakatým skotem. Překvapivě vysoké hodnoty byly naměřeny

mezi českým a německým červeným plemenem. Strom za použití proteinových markerů se mírně lišil, a to protože populace českého a německého červeného plemene jsou malé. Doporučují společnou ochranu genofondu středoevropských červených populací.

Studii o pěti čínských domácích plemenech zveřejnili Hai-Guo, Yu-Min, Guo-Li (2005). V této studii bylo 5 domácích plemen charakterizováno pomocí 10 mikrosatelitních DNA markerů. Studované populace lze rozdělit do 5 skupin a to na skot Luxi, Nanyang, Jinnan, Quinchin a Yanbian. Alelové frekvence byla vypočtena a použita k charakterizaci plemen, studii jejich genetických vztahů, heterozygotnosti, polymorfnímu informačnímu obsahu a také byl vypočten efektivní počet alel. Neiova standardní genetická vzdálenost byla vypočtena pro konstrukci stromu pomocí metody Neighbor-joining. Tento vytvořený strom ukázal, že Luxi, Nanyang, Jinnan a Quinchuan spolu úzce souvisí, zatímco Yanbian se poměrně dost liší od ostatních čtyř populací. Tato studie také ukázala, že daná plemena odpovídají jejich historii a zeměpisnému původu.

### 3. Závěr

Cílem práce bylo zaměřit se především na genetickou diverzitu u hospodářských zvířat. Mezi hlavní zdroje genetické variability se řadí mutace, segregace a rekombinace. Dále se na ní podílí migrace, selekce, genetický drift a inbreeding. Tyto všechny procesy mají vliv na složení genetického materiálu tedy na vývoji jedince a tudíž i populace.

Jako orientační bod v mapování genetických mutací slouží genetické markery, které vykazují vysoký polymorfismus. Mezi nejčastěji používané se řadí SNP, tedy jednonukleotidový polymorfismus.

Pro hodnocení vnitropopulační genetické diverzity lze použít biometrické metody, mezi které řadíme např. heterozygotnost, polymorfní informační obsah, efektivní počet alel či fixační index.

U mezipopulační genetické diverzity dochází k měření genetických vzdáleností. Existuje několik způsobů měření vzdáleností mezi, které řadíme Neiovu standardní genetickou distanci, Cavalli-Sforzovu genetickou distanci nebo Reynolds, Weir a Cockerhamovu genetickou distanci a další.

Zjednodušení vzájemného srovnání populací usnadňují informace o genetických vzdálenostech. Ty lze spolu s ukazateli vnitropopulační diverzity spočítat s využitím programových balíčků, jako je PHYLIP, DISPAN a řada dalších.

Další pomůckou pro hodnocení diverzity a zjišťování evolučního vývoje jsou fylogenetické stromy, které mohou být představovány dendrogramy, kladogramy či řadou dalších.

V závěru práce je uvedeno několik příkladů využití fylogenetických stromů, které byly sestaveny pro porovnání různých plemen skotu. Ve studiích byly použity Neighbor-joining a UPGMA metody pro konstrukci stromů. Metody jsou používány celosvětově, což ukazují i příklady studií, které jsem použila.

Tyto metody lze vhodně kombinovat a popsat tak velmi efektivním způsobem genetickou diverzitu hospodářských zvířat.

#### 4. Zdroje:

**BACKOFEN R.**, Phylogeny: Introduction and UPGMA [online]. 2010 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: [http:// www.bioinf.unifreiburg.de/ Lehre/Courses/ 2013\\_SS/V\\_Bioinformatik\\_1/ lecture10.pdf](http://www.bioinf.unifreiburg.de/Lehre/Courses/2013_SS/V_Bioinformatik_1/lecture10.pdf)

**BAUM D.**, Reading a phylogenetic tree: The meaning of monophyletic groups, Nature Education [online]. 2008 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/reading-a-phylogenetic-tree-the-meaning-of-41956>

**BERTHIER K., N. CHARBONNEL, M. GALAN, Y. CHAVAL, J.-F. COSSON,** Migration and recovery of the genetic diversity during the increasing density phase in cyclic vole populations. *Molecular Ecology* [online]. 2006, vol. 15, issue 9, s. 2665-2676 [cit. 2015-03-23]. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2006.02959.x. Dostupné z: [http:// doi.wiley.com/ 10.1111/j.1365-294X. 2006.02959.x](http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-294X.2006.02959.x)

**BLACKBURN HD.**, Genetic selection and conservation of genetic diversity. *Reproduction in domestic animals* [online]. 2012, vol. 47, s. 249-254 [cit. 2015-03-29]. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2012.02083.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0531.2012.02083.x>

**BRYJA J.**, Analýza populační struktury, Ústav botaniky a zoologie, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. [online]. 2007 [cit. 2015-03-05]. Dostupné z: [http://botzool.sci.muni.cz/study/molekol/08\\_Population\\_structure07.pdf](http://botzool.sci.muni.cz/study/molekol/08_Population_structure07.pdf)

**CABALLERO A., S. T. RODRÍGUEZ-RAMILO,** A new method for the partition of allelic diversity within and between subpopulations. *Conservation Genetics* [online]. 2010, vol. 11, issue 6, s. 2219-2229 [cit. 2014-11-25]. DOI: 10.1007/s10592-010-0107-7. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10592-010-0107-7>

**CAVALLI-SFORZA L. L., A. W. F. EDWARDS,** Phylogenetic analysis: Models and estimation procedures. *Evolution*. 1967, vol. 21, issue 3, s. 40-51. DOI: 10.4135/9781412984348.n5

- ČÍTEK J., L. PANICKE, V. ŘEHOUT, H. PROCHÁZKOVÁ**, Study of genetic distance between cattle breeds of Central Europe. Czech journal of animal science = Živočišná výroba / Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2006, 51, 429–436. ISSN 12121819.
- ČÍTEK J.**, Genetická diverzita hospodářských zvířat [online]. 2004 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z:  
[http://user.mendelu.cz/urban/doc/gacr/citek\\_cb.pdf](http://user.mendelu.cz/urban/doc/gacr/citek_cb.pdf)
- ČÍTEK J.**, Genetický polymorfismus [online]. 2013 [cit. 2015-01-27]. Dostupné z:  
<http://kgv.zf.jcu.cz/index.php?p=289>
- DEAR P. H.**, Genome mapping: A practical approach. New York: IRL Press, c1997, xxv, 371 p. ISBN 01-996-3630-3.
- DIDELOT X.**, Sequence-based analysis of bacterial population structures. Bacterial population genetics in infectious disease [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2010-03-24, s. 37 [cit. 2015-03-21]. DOI: 10.1002/9780470600122.ch3. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/9780470600122.ch3>
- DYKE F. V.**, Conservation biology foundations, concepts, applications. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2008. ISBN 978-140-2068-911.
- EDWARDS R.**, UPGMA [online]. 2013 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z:  
<http://www.southampton.ac.uk/~re1u06/teaching/upgma/>
- FELSENSTEIN J.**, Inferring phylogenies. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, c2004, xx, 664 p. ISBN 08-789-3177-5
- FELSENSTEIN J.**, PHYLIP - phylogeny inference package [online]. 2013 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z:  
<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/doc/main.html>
- FLEGR J.**, Evoluční biologie. vyd. 1. Praha: Academia, 2005, 559 s. ISBN 80-200-1270-2.
- FRKONJA A., B. GREGLER, U. SCHNYDER, I. CURIK, J. SÖLKNER**, Prediction of breed composition in an admixed cattle population. Animal genetics [online]. 2012, vol. 43, issue 6, s. 696-703 [cit. 2014-11-25]. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2012.02345.x. Dostupné z:  
<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2052.2012.02345.x>

- GARANT D., L. E. B. KRUK,** How to use molecular marker data to measure evolutionary parameters in wild populations. *Molecular ecology* [online]. 2005, vol. 14, issue 7, s. 1843-1859 [cit. 2014-11-17]. DOI: 10.1111/j.1365294X.2005.02561.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-294X.2005.02561.x>
- GASSAWAY L. W. M.,** Genomika v praxi v USA [online]. 2011 [cit. 2015-03-20]. Dostupné z: <http://www.mtsro.cz/clanky/genomikavpraxi.pdf>
- GOLDSTEIN D . B., CH. SCHLÖTTERER,** *Microsatellites: Evolution and applications.* New York: Oxford University Press, 1999, xv, 352 p. ISBN 01-985-0408-X.
- HAI-GUO J., Z. YU-MIN, Z. GUO-LI, A. L. CAMPOS,** Analysis of microsatellite DNA polymorphisms in five china native cattle breeds and application to population genetics studies. *Asian-australasian journal of animal sciences* [online]. 2005-12-1, vol. 18, issue 12, s. 1696-1700 [cit. 2015-03-24]. DOI: 10.5713/ajas.2005.1696. Dostupné z: <http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2005.1696>
- HAYES B.J., P.J. BOWMAN, A.J. CHAMBERLAIN, M.E. GODDARD,** Invited review: Genomic selection in dairy cattle. *Journal of dairy science* [online]. 2009, vol. 92, issue 2, s. 433-443 [cit. 2015-03-20]. DOI: 10.3168/jds.2008-1646. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030209703479>
- HIPKINS V.,** Why is genetic diversity always changing? [online]. 2006 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: [https://dendrome.ucdavis.edu/ctgn/files/Vol\\_03\\_print.pdf](https://dendrome.ucdavis.edu/ctgn/files/Vol_03_print.pdf)
- HOLMES E.,** *Fundamentals of molekula revolution.* By Wen-Hsiung Li and Dan Graur. Sunderland, MA: Sinauer. 1991. ± 284 pp. \$22.95 (paper). *American journal of physical anthropology* [online]. 1991, vol. 85, issue 3, s. 363-365 [cit. 2015-03-23]. DOI: 10.1002/ajpa.1330850324. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajpa.1330850324>



- HOLSINGER K. E., B. S. WEIR**, Nature reviews genetics, Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. [online]. 2009, vol. 10, issue 9, s. 639-650 [cit. 2015-03-04]. DOI: 10.1038/nrg2611. Dostupné z: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrg2611>
- HUSON D. H.**, Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. Molecular biology and evolution [online]. 2005, vol. 23, issue 2, s. 254-267 [cit. 2015-03-21]. DOI: 10.1093/molbev/msj030. Dostupné z: <http://mbe.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1093/molbev/msj030>
- JAKUBEC V., J. BEZDÍČEK**, Selekce - inbríding - hybridizace. 1. vyd. Rapotín: Agrovýzkum Rapotín, 2010. ISBN 978-802-6007-036.
- JEŽKOVÁ A.**, Využit genomiku v chovu dojnic [online]. 2011 [cit. 2015-03-20]. Dostupné z: <http://naschov.cz/vyuzit-genomiku-v-chovu-dojnic/>
- KANTANEN J.**, Genetic diversity and population structure of 20 north European cattle breeds. Journal of heredity [online]. vol. 91, issue 6, s. 446-457 [cit. 2015-03-24]. DOI: 10.1093/jhered/91.6.446. Dostupné z: <http://jhered.oupjournals.org/cgi/doi/10.1093/jhered/91.6.446>
- KNOLL A., Z. VYKOUKALOVÁ**, Molekulární genetika zvířat: (metody detekce polymorfizmů DNA genů). vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2002. ISBN 80-715-7616-6
- KOČÁREK E.**, Genetika: obecná genetika a cytogenetika, molekulární biologie, biotechnologie, genomika. 2. vyd. Praha: Scientia, 2008, 211 s. ISBN 978-80-86960-36-4.
- KOPECKÝ J.**, Chov skotu: velká zootechnika. 1. vyd. Praha: SZN, 1981, 500 s.
- LOEWE L.**, Genetic mutation, Nature education [online]. 2008 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.nature.com/scitable/nated/article?action=showContentInPopup&contentPK=1127>
- LI W.-H., D. GRAUR**, Fundamentals of molecular evolution. 2. ed. Sunderland, Mass: Sinauer Associates, 2000. ISBN 978-087-8932-665

- MACHADO M. A., I. SCHUSTER, M. L. MARTINEZ, A. L. CAMPOS**, Genetic diversity of four cattle breeds using microsatellite markers. *Revista Brasileira de Zootecnia* [online]. 2003, vol. 32, issue 1, s. 93-98 [cit. 2015-03-24]. DOI: 10.1590/S1516-35982003000100012. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext)
- MARKOVÁ M.**, Selekcce na úrovni DNA: Co si vlastně představit pod pojmem genomová selekcce?[online]. 2009 [cit. 2015-03-19]. Dostupné z: [http://www.crv.cz/Portals/0/Files/Nabidka/genomova\\_selekcce\\_02\\_2009.pdf](http://www.crv.cz/Portals/0/Files/Nabidka/genomova_selekcce_02_2009.pdf)
- MCDONALD D.**, Heterozygosity, Genetic markers. [online]. 2008 [cit. 2015-03-02]. Dostupné z: <http://www.uwo.edu/dbmcd/molmark/lect04/lect4.html>
- MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ**, Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky. Praha, 2005, 129, 137 s. ISBN 80-721-2380-7.
- NACHMAN M.**, Variation in recombination rate across the genome: evidence and implications. *Current opinion in genetics* [online]. 2002, vol. 12, issue 6, s. 657-663 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1016/S0959-437X(02)00358-1. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959437X02003581>
- NEI M.**, Genetic distance between populations. *The american naturalist* [online]. 1972, vol. 106, issue 949, 283 - 292 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1086/282771. Dostupné z: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/282771>
- NICHOLL D. S.**, An introduction to genetic engineering. 2nd ed. New York: Cambridge University Press, 2002, xii, 292 p. ISBN 05-210-0471-3.
- OPPERDOES F.**, The Neighbor-joining method [online]. 1997 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.icp.ucl.ac.be/~opperd/private/neighbor.html>
- OTOVÁ B., R. MIHALOVÁ**, Základy biologie a genetiky člověka. 1. vyd. V Praze: Karolinum, 2012, 227 s. ISBN 978-802-4621-098
- PIERCE B. A.**, Genetics: A conceptual approach. 2. ed. S.l.: W H Freeman, 2005. ISBN 07-167-6836-4.
- PRIMACK R. B., P. KINDLMANN, J. JERSÁKOVÁ**, Biologické principy ochrany přírody. vyd. 1. Praha: Portál, 2001, 349 s. ISBN 80-717-8552-0

- PRIMACK R. B., P. KINDLMANN, J. JERSÁKOVÁ**, Úvod do biologie ochrany přírody. vyd. 1. Praha: Portál, 2011, 466 s. ISBN 978-807-3675-950.
- POSADA D., K. A. CRANDALL**, Intraspecific gene genealogies: trees rafting into networks. Trends in ecology [online]. 2001, vol. 16, issue 1, s. 37-45 [cit. 2015-03-30]. DOI: 10.1016/S0169-5347(00)02026-7. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169534700020267>
- RELICHOVÁ J.**, Genetická variabilita: Proč jsme každý jiný [online]. 1997 [cit. 2015-04-05]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/geneticka-variabilita>
- REYNOLDS J., B. S. WEIR, C. C. COCKERHAM**, Estimation of the coancestry coefficient: Basis for a short-term genetic distance [online]. 1983 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.genetics.org/content/105/3/767.full.pdf>
- ROBINSON J., J. RUANE**, Marker-assisted selection as a potential tool for genetic improvement in developing countries: Debating the issues. GUIMARÃES, Elcio P. Marker-assisted selection: current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations, 2007, s. 427-440. ISBN 9251057176
- RUANE J.**, A critical review of the value of genetic distance studies in conservation of animal genetic resources. Journal of animal breeding and genetics. 1999, vol. 116, issue 5, s. 317-323. DOI: 10.1046/j.1439-0388.1999.00205.x. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1439-0388.1999.00205.x/abstract>
- ROSYPAL S.**, Terminologie molekulární biologie: české odborné termíny, jejich definice a anglické ekvivalenty. 1. vyd. Brno: Stanislav Rosypal, 2001. ISBN 80-902-5623-6.
- ŘEHOUT V., B. BLÁHOVÁ, J. ČÍTEK, I. KRABÁČOVÁ**, Genetický polymorfismus, Základy genetiky a poradenství, Zdravotně sociální fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. [online]. 2013 [cit. 2015-01-27]. Dostupné z: [http://www.zsf.jcu.cz/cs/katedra/katedra-klinickyh-a-preklinickyh-oboru/import/ucebni\\_texty/zaklady-genetiky-a-poradenstvi](http://www.zsf.jcu.cz/cs/katedra/katedra-klinickyh-a-preklinickyh-oboru/import/ucebni_texty/zaklady-genetiky-a-poradenstvi)

- ŘEHOUT V., E. HRADECKÁ, J. ČÍTEK**, Genetika II. 1. vyd. V Českých Budějovicích: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, 2005, 189 s. ISBN 80-704-0774-3
- SAITOU N., M. NEI**, The Neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* (1987) 4 (4): 406-425, Dostupné z: <http://mbe.oxfordjournals.org/content/4/4/406.full.pdf+html>
- SHEETE S., H. TIWARI, R. C. ELSTON**, On estimating the heterozygosity and polymorphism informatic content value. *Theoretical population biology*, 2000, 57.3: 265-271.
- SCHUH R. T.**, Biological systematics: Principles and applications. Ithaca: Cornell University Press, 2000, ix, 236 s. ISBN 08-014-3675-3
- SNUSTAD D., M. J. SIMMONS**, Genetika. vyd. 1. Editor Jiřina Relichová. Překlad Anna Matalová. Brno: Masarykova univerzita, 2009, xxi, 871 s. ISBN 978-80-210-4852-2.
- SNUSTAD D., M. J. SIMMONS**, Principles of genetics. 5th ed. Hoboken, NJ: John Wiley, c2009, xix, 823 p. ISBN 04-703-9842-6.
- STAHL W.**, Genetika populací v chovu zvířat . 1. vyd. Praha: SZN; Berlin; VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, t. Mír 6, 1970, 336, [8] p. withillus.
- SWINGLAND I. R.**, Biodiversity, Definition of encyclopedia of biodiversity [online]. Elsevier, 2001, s. 377 - 391 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1016/B0-12-226865-2/00027-4. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0122268652000274>
- ŠVECOVÁ M., J. SMRŽ, J. PETR**, Biodiverzita a udržitelný rozvoj [online]. Praha: Klub ekologické výchovy, o.s., 2007 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://zp.praha-mesto.cz/files/=54354/Biodiverzita+def.+5.11.pdf>
- TAKEZAKI N., M. NEI**, Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [online]. 1996 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1207511/pdf/ge1441389.pdf>
- TATSUYA O.**, Dispan: Genetic distance and phylogenetic analysis [online]. 2009 [cit. 2015-03-15]. Dostupné z: <http://www.personal.psu.edu/nxm2/dispan2.htm>

- THALLMAN R. M.**, Whole genome selection [online]. 2009 [cit. 2015-03-20].  
Dostupné z:  
[http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech/Outreach/Whole\\_Genome\\_Selection.pdf](http://animalscience.ucdavis.edu/animalbiotech/Outreach/Whole_Genome_Selection.pdf)
- TOTH G., Z. GÁSPÁRI, J. JURKA**, Microsatellites in different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome research* [online]. 2000, vol. 10, issue 7, s. 967-981 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.1101/gr.10.7.967. Dostupné z:  
<http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.10.7.967>
- URBAN T., T. VYHNÁNEK**, Virtuální svět genetiky 1 (tištěná forma multimediálního hypertextu na CD). vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2002, 139 s. ISBN 80-715-7613-1.
- URBAN T.**, Virtuální svět genetiky 3 - principy genetiky populací a kvantitativních znaků [online]. Brno, 2008 [cit. 2015-03-24]. Dostupné z:  
<http://user.mendelu.cz/urban/vsg3/ctl/ctl3.html>
- VAČKÁŘ D.**, Ukazatele změn biodiverzity. Vyd. 1. Praha: Academia, 2005, 298,
- VOGT D., A. H. A. SWARTZ, J. MASSEY**, Inbreeding: Its meaning, uses and effects on farm animals. Department of animal sciences. University of Missouri-Columbia, [online] 1993 [cit. 2015-03-21]. Dostupné z:  
<https://mospace.umsystem.edu/xmlui/bitstream/handle/10355/3615/InbreedingItsMeaningFarmAnimals.pdf?sequence=1>
- WALSER J. C.**, Migration [online]. 2014 [cit. 2015-03-23]. Dostupné z:  
[http://evolution.unibas.ch/teaching/evol\\_genetics/3\\_Population\\_Genetics/lecture\\_notes/PopGen\\_09\\_Migration.pdf](http://evolution.unibas.ch/teaching/evol_genetics/3_Population_Genetics/lecture_notes/PopGen_09_Migration.pdf)
- WEIR B.**, Genetic data analysis: Methods for discrete population genetic data. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, c1990, xii, 377 p. ISBN 08-789-3872-9.
- WEIR B. S., C. C. COCKERHAM**, Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* [online]. 1984, vol. 38, issue 6 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.2307/2408641. Dostupné z:  
<http://www.jstor.org/discover/10.2307/2408641?sid=21105539377281&uid=3737856&uid=4&uid=2>

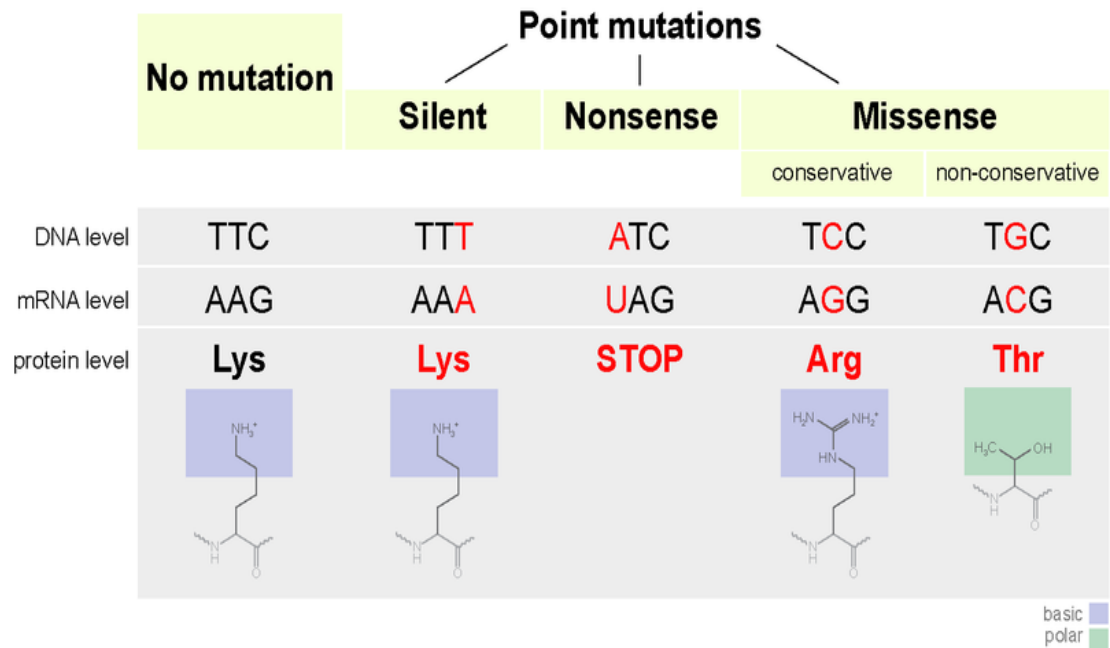
**WELLMANN R., S. HARTWIG, J. BENNEWITZ**, Optimum contribution selection for conserved populations with historic migration. *Genetics selection evolution* [online]. 2012, vol. 44, issue 1, s. 34- [cit. 2014-11-25]. DOI: 10.1186/1297-9686-44-34. Dostupné z:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807754/>

**YASUDA N.**, HLA polymorphism information content (PIC). *Journal of human genetics*, 1988, 33.3: 385-387. [16] p. ISBN 80-200-1386-5

# **Přílohy**

Obr. č. 1 – Následky bodových mutací (<http://www.genetika-biologie.cz/mutace>)

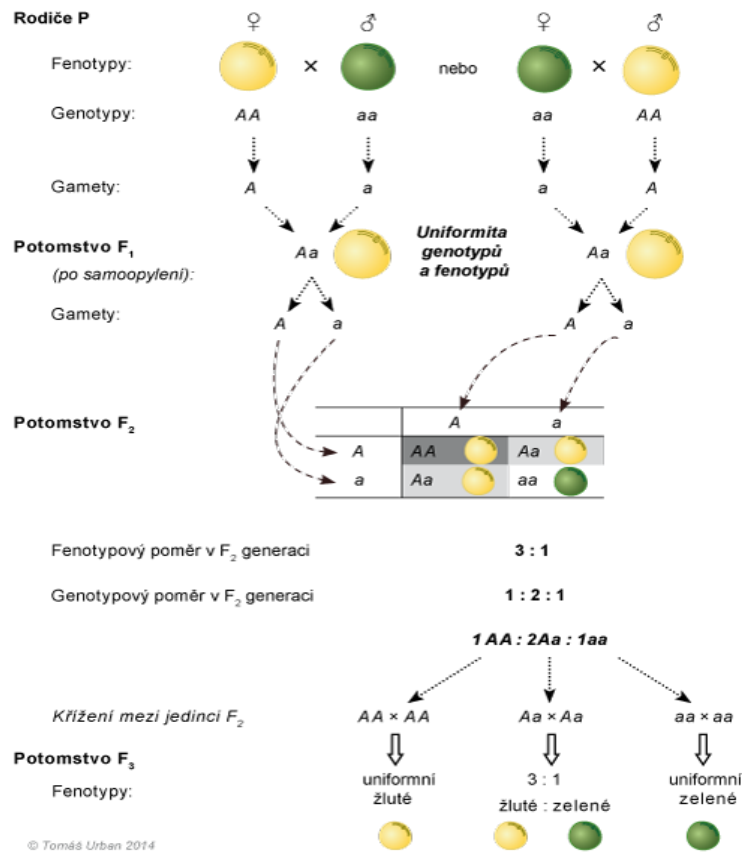




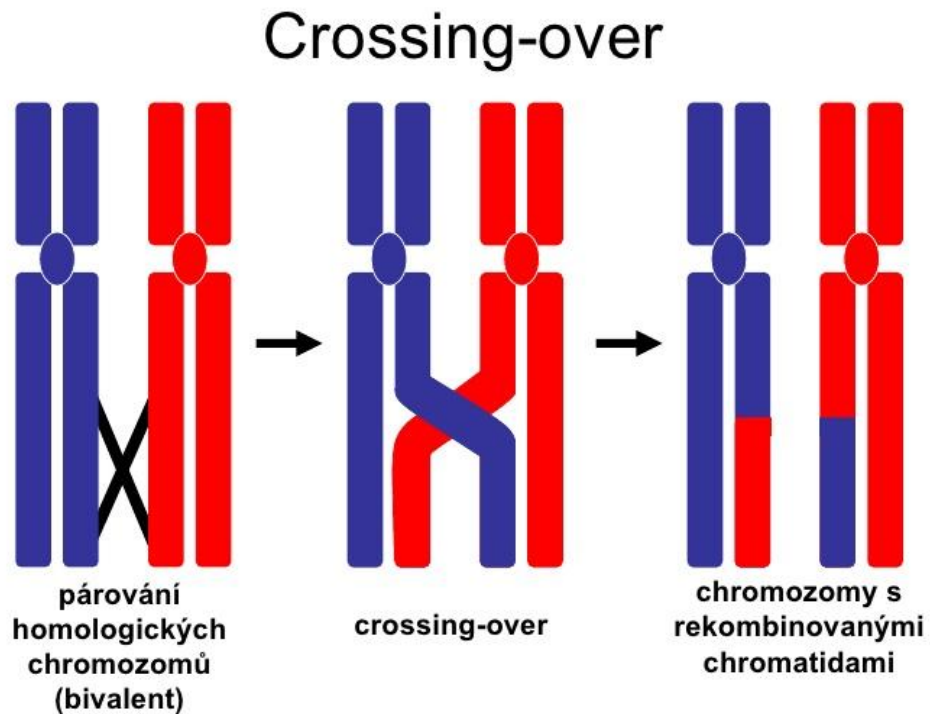
Obr. č. 2 - Princip segregace popisuje, jak se páry variant genu oddělují od sebe při tvorbě pohlavních buněk – gamet.

([http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1474](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1474))

**Monohybridní křížení se současnými symboly pro ilustraci principu segregace Mendelových elementů (genů)**

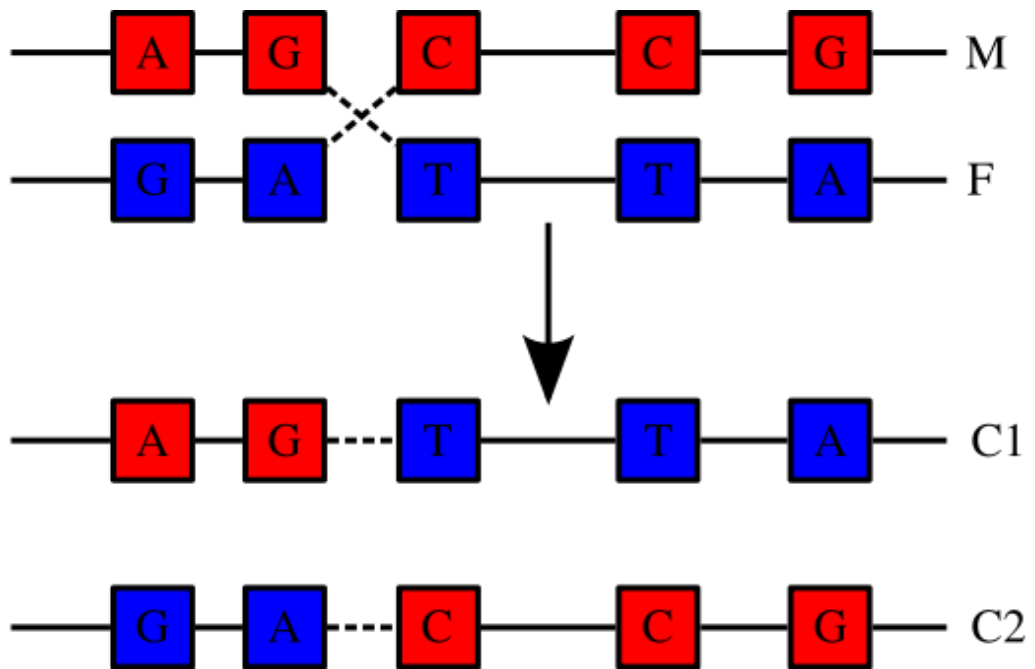


Obr. č. 3 - Crossing-over párování homologických chromosomů (bivalent)  
crossing-over chromosomy s rekombinovanými chromatidami  
(<http://www.slideshare.net/medik.cz/biologie-pro-bakale-cytogenetika-ii>)

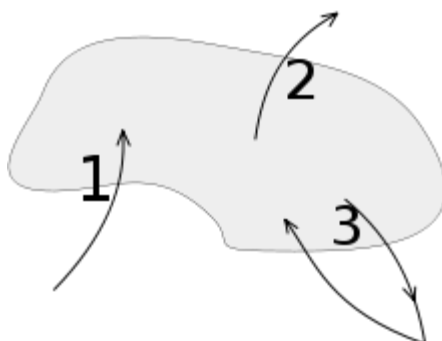


Obr. č. 4 – Vznik rekombinantů C1 a C2

(<http://telemedicina.med.muni.cz/pdm/genetika/index.php?pg=kapitola-iii-1--pojmy>)



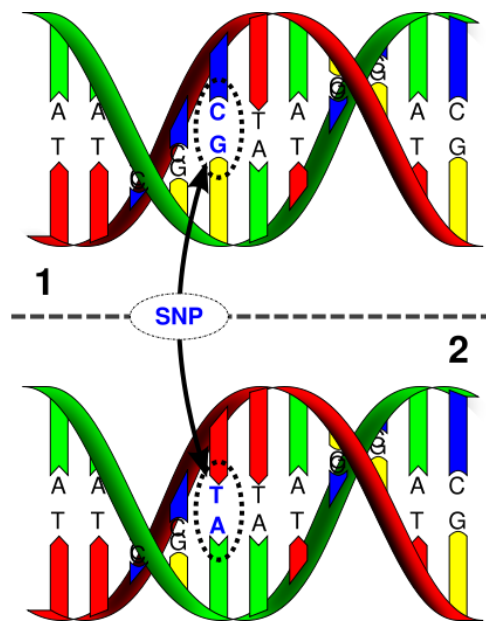
Obr. č. 5. Migrace; 1 = imigrace, 2 = emigrace, 3 = reemigrace  
(<http://cs.wikipedia.org/wiki/Migrace>)





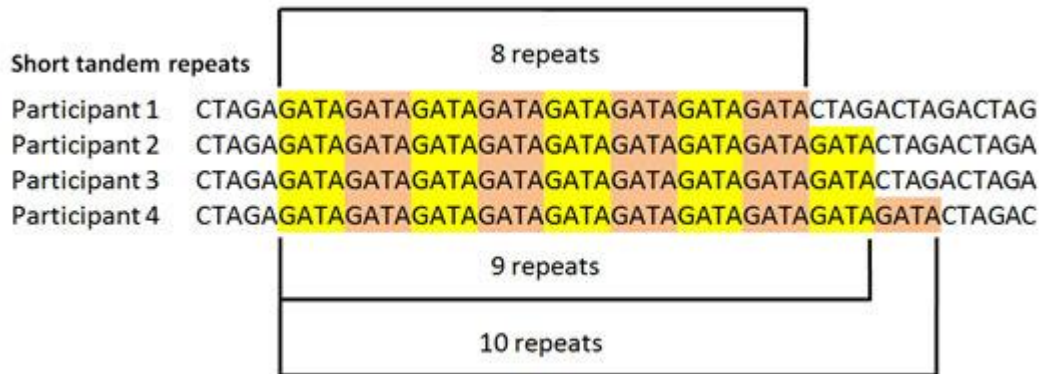
Obr. č. 7 – SNP

([http://science.marshall.edu/murray/341/Images/416px-Dna-SNP\\_svg.png](http://science.marshall.edu/murray/341/Images/416px-Dna-SNP_svg.png))



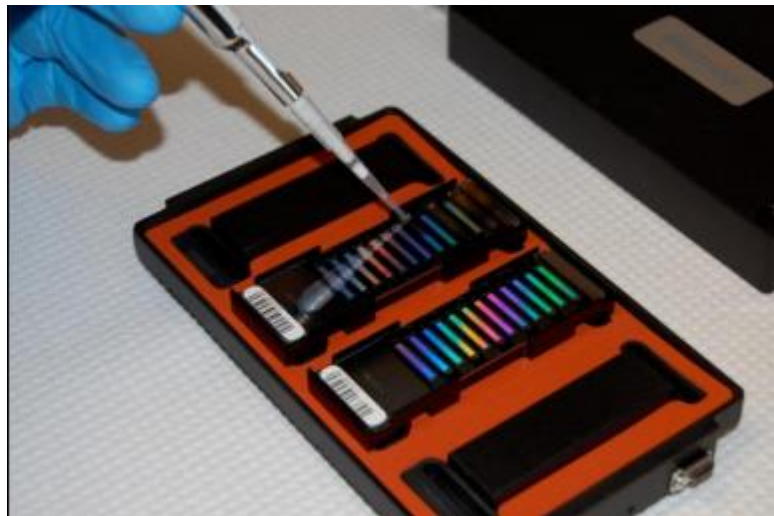
Obr. č. 8 – Tetranukleotidová tandemová repetice

(<http://www.stewartsociety.org/bannockburn-genetic-genealogy-project.cfm>)



Obr. č. 9 – čip BovineSNP50

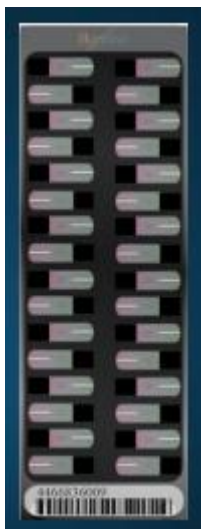
(<http://www.mtsro.cz/clanky/genomikavpraxi.pdf>)





Obr. č. 10 – čip BovinesSNP3K

(<http://www.mtsro.cz/clanky/genomikavpraxi.pdf>)

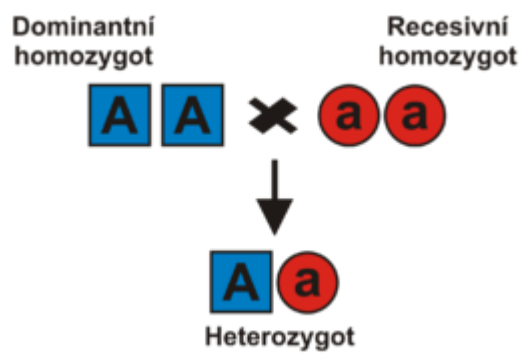


Obr. č. 11 – čip Bovine HD Bead

(<http://www.mtsro.cz/clanky/genomikavpraxi.pdf>)

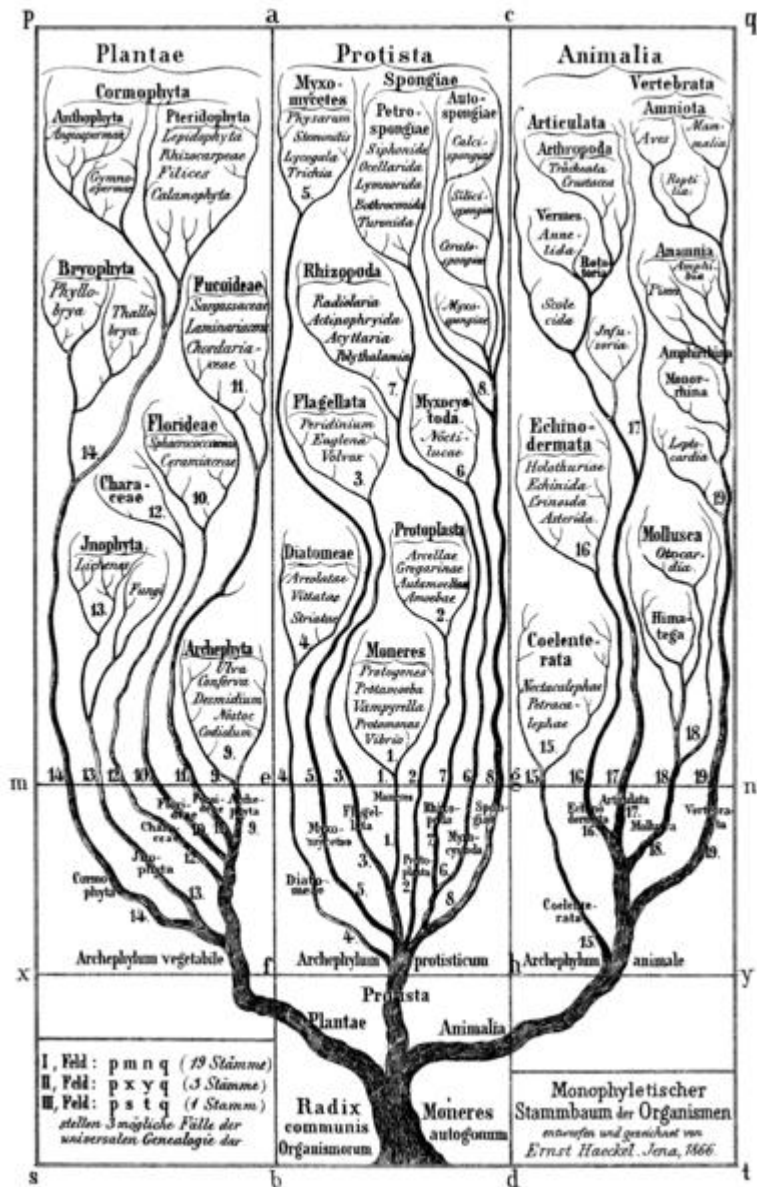


Obr. č. 12 – Z dvou homozygotů vznik heterozygota  
(<http://cs.wikipedia.org/wiki/Heterozygot>)



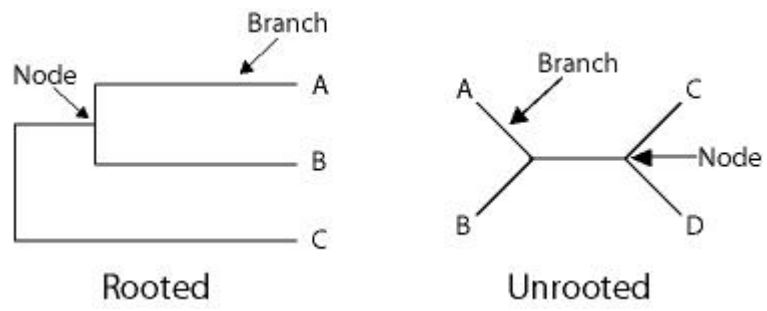
Obr. č. 13 – Ukázka fylogenetického stromu

<http://www.gate2biotech.cz/dictionary.php?word=189>



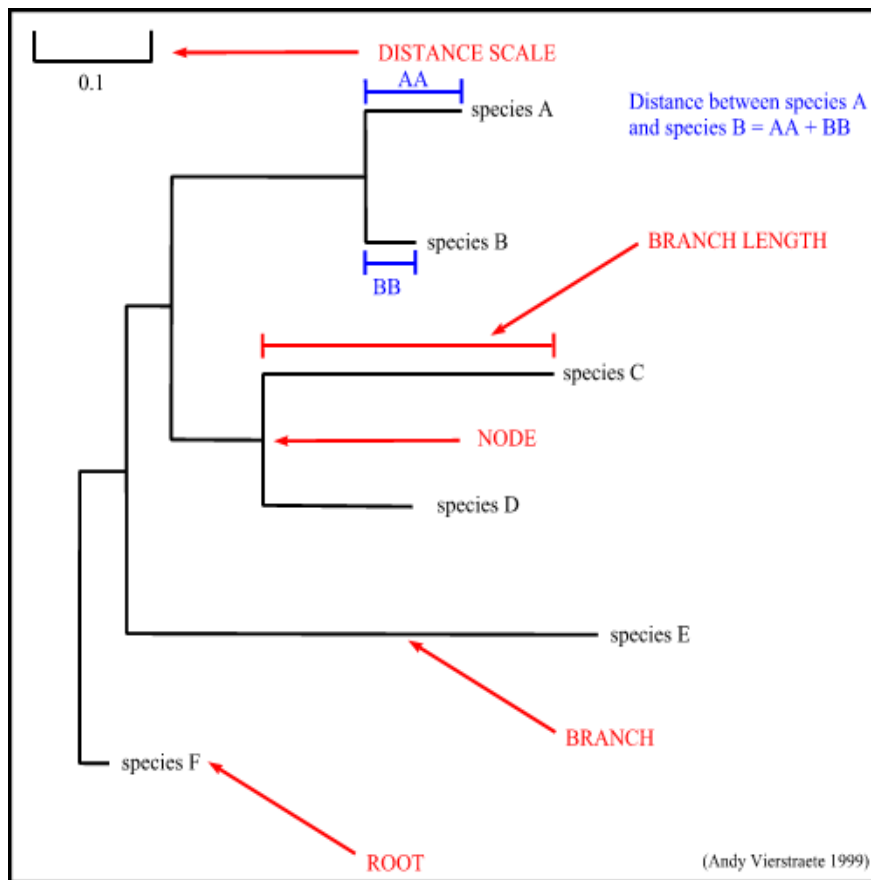
Obr. č. 14 – Zakořeněný a nezakořeněný strom

(<http://scienceblogs.com/evolgen/2007/03/16/new-terms-in-phylogenetics/>)



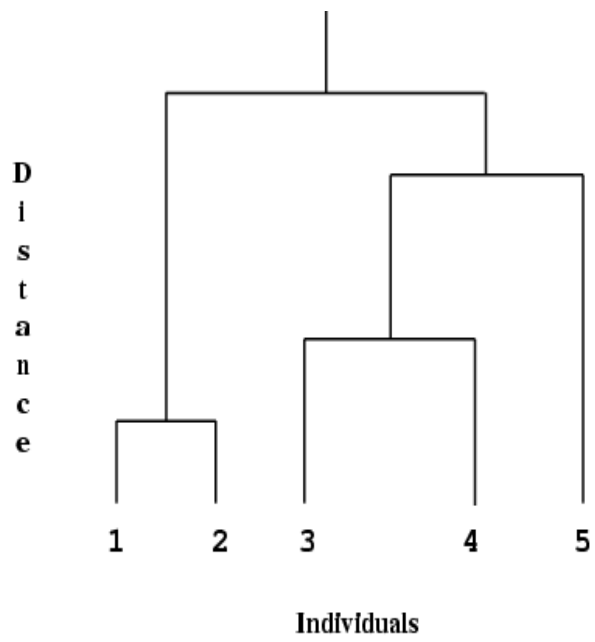
Obr. č. 15 – Fylogenetický strom s popisem jednotlivých částí

(<http://users.ugent.be/~avierstr/principles/phylogeny.html>)



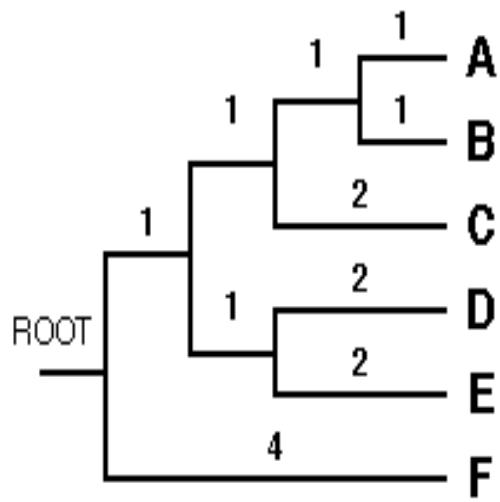
Obr. č. 16 – Dendrogram

([http://www.nag.co.uk/numeric/fl/nagdoc\\_fl22/xhtml/G03/g03ehf.xml](http://www.nag.co.uk/numeric/fl/nagdoc_fl22/xhtml/G03/g03ehf.xml))



Obr. č. 17 – UPGMA strom

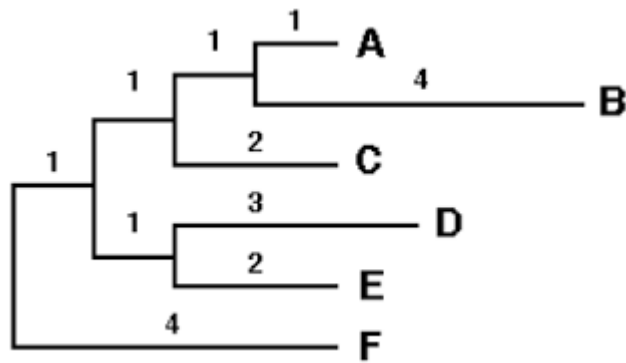
(<http://www.icp.ucl.ac.be/~opperd/private/upgma.htm>)





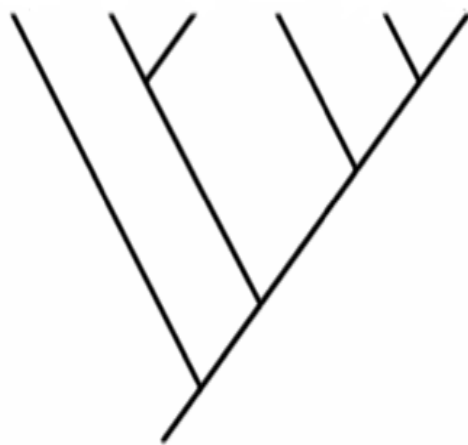
Obr. č. 18 – Neighbor-joining strom

(<http://telliott99.blogspot.cz/2010/11/neighbor-joining.html>)



Obr. č. 19 -Ukázka kladogramu

(<http://guestblog.scientopia.org/2012/07/>)



Obr. č. 20 - UPGMA dendrogram (Machado et al., 2003)

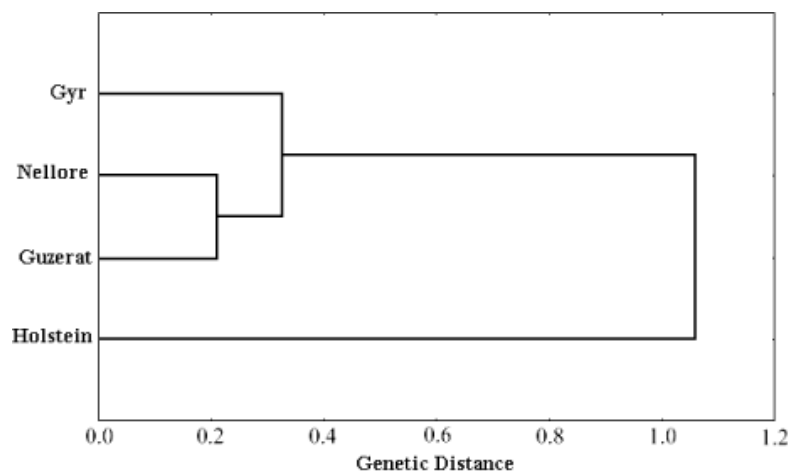
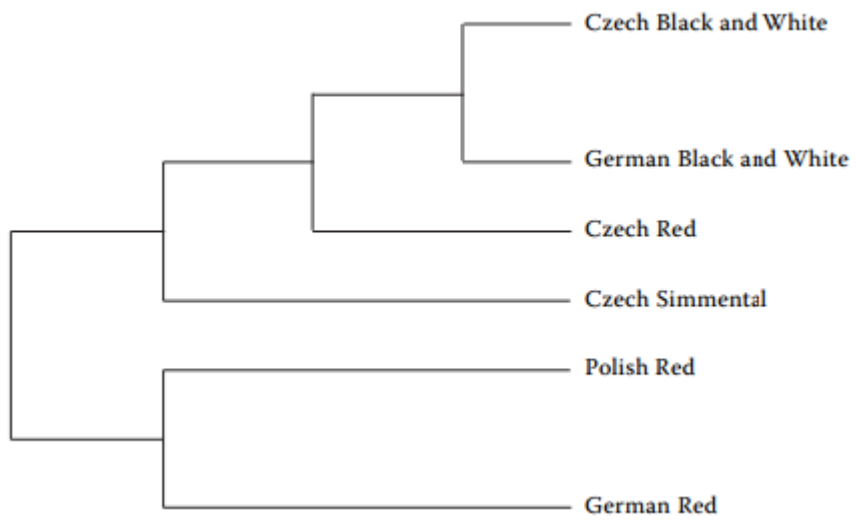


Figure 1 - UPGMA dendrogram generated from Nei's genetic distances of four cattle breeds.

Obr. č. 21 - Neighbor-joining strom (Čítek et al., 2006)



Tab. č. 1. - Srovnání kvantitativních a kvalitativních znaků  
 ([http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/populace/pop\\_kvant.htm](http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/populace/pop_kvant.htm))

<b>Druhy vlastností organismů</b>	
<b>kvalitativní</b>	<b>kvantitativní</b>
diskontinuální, nespojitá (diskrétní) variabilita	<b>kontinuální</b> , spojitá variabilita
podmíněna 1 nebo několika málo geny	podmíněna mnoha geny na více lokusech
monogenní (oligenní) dědičnost	<b>polygenní dědičnost</b>
lze určit fenotypovou hodnotu každého genotypu	rozdělení fenotypů vykazují více nebo méně kontinuální variabilitu (lze určit rozmezí hodnot)
vlastnosti jsou hodnoceny podle kvality projevu (rohatost - bezrohatost, červený - bílý květ, ...)	vlastnosti jsou kvantifikovány měřením, vážením, počítáním, ...
geny s interakčními účinky (dominance, epistáze)	vlastnosti jsou determinovány geny velkého účinku (nepřispívají kvantitativně) a větším počtem genů malého účinku (polygeny), většina genů má <b>aditivní</b> účinek
na projev vlastnosti nemá vliv <i>prostředí</i>	projev vlastnosti modifikuje <b>vliv prostředí</b>
lze detekovat efekt jednotlivých genů podílejících se na vlastnosti	nelze rozpoznat účinek jednotlivých genů podílejících se na vlastnosti
<b>Všechny geny (tedy i kvantitativních vlastností) se dědí "mendelisticky",                      t.j. u diploidních organismů je každý gen v buňce obsažen 2x, přičemž jeden je od otce a druhý od matky, bez ohledu determinují-li vlastnost kvalitativní nebo kvantitativní                      (rozdíl lze pozorovat v jejich fenotypovém projevu + specifické odchylky jako např. imprinting genů!)</b>	

Tabulka č. 2 – Oproti stávajícímu systému by mohlo využití genomových selekcí v budoucnu značně zkrátit dobu potřebnou k prověření mladého býka (Marková, 2009)

Systém dělení na testanty, čekatele a plemenné býky	Genomová selekce
<p>Výběr mladých býků (věk: 0 – 2 měsíce) založený na PH rodičů</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Mladí býci (věk: 12 – 24 měsíců) nasazení do testovacího připarování</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Počáteční data od dcer (věk: 49 měsíců)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Spolehlivé plemenné hodnoty býků (věk: 61 měsíců)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Zařazení pověřeného býka do plemenitby (61 měsíců)</p>	<p>Výběr mladých býků (věk: 0 – 2 měsíce) založený na PH rodičů</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Měření markerů mladých býků</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Porovnání markerových výsledků býků s hodnotami referenční populace</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Spolehlivé plemenné hodnoty býků (věk: 0 – 2 měsíců)</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Zařazení „prověřeného“ býka do plemenitby (věk: 12 – 14 měsíců)</p>

Tab. č. 3 – Přehled programů v balíčku PHYLIP

(<http://en.wikipedia.org/wiki/PHYLIP>)

protpars	dnapars	dnapenny	dnamove	dnacomp
dnamlk	restdist	gendist	dolmove	retree
proml	promlk	restml	dnainvar	tredist
dolpenny	contrast	dnadist	protest	dnaml
seqboot	fitch	kitsch	neighbor	contml
pars	mix	penny	move	dollop
clique	factor	drawgram	drawtree	consense