

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra obecné zootechniky a etologie

Populačně genetický rozbor plemene starokladrubský kůň

.....
doktorská disertační práce

Autor: Ing. Hana Vostrá Vydrová

Školitel: doc. Ing. Mgr. Ivan Majzlík, CSc.

Konzultant: Ing. Ludmila Zavadilová, CSc., VÚŽV Uhřetěves
Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D., ČZU Praha

Praha 2016

Poděkování

Mé velké díky patří mé celé rodině, hlavně mým rodičům, za obětavou podporu ve všem mém snažení a trpělivost, bez které by tato práce nevznikla. Za odborné vedení při zpracování disertační práce děkuji svým školitelům doc. Ing. Mgr. Ivanu Majzlíkovi, CSc., ing. Ludmile Zavadilové, CSc. a Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. Za velmi cenné rady při zpracování této práce děkuji prof. Ing. Josefu Příbylovi, DrSc. Také bych ráda poděkovala všem spolupracovníkům z oddělení Genetiky a šlechtění Výzkumného ústavu živočišné výroby v. v. i. a z Katedry obecné zootechniky a etologie České zemědělské university v Praze za odborné rady a velmi dobré pracovní podmínky a přátelskou atmosféru.

Obsah

Rejstřík pojmů.....	III
Seznam zkratk.....	V
1. Úvod.....	8
2. Literární přehled.....	10
2.1 Koeficient příbuzenské plemenitby.....	10
2.1.1 Příbuzenská plemenitba - Inbreeding.....	10
2.1.2 Koeficient příbuzenské plemenitby (koeficient inbreedingu).....	10
2.1.3 Důsledky příbuzenské plemenitby.....	11
2.1.4 Příbuzenská plemenitba v malých populacích.....	13
2.2 Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti.....	14
2.2.1 Nepřímý odhad koeficientu příbuzenské plemenitby celé populace.....	14
2.2.2 Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na základě rodokmenových informací.....	15
2.3 Metody odhadu úrovně koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti.....	16
2.3.1 Dle ztráty předků (Pearl, 1913).....	16
2.3.2 Dle Wrighta (1922).....	18
2.3.3 Dle Malécota (1948).....	19
2.3.4 Sestavení aditivní matice příbuznosti (A).....	20
2.3.5 Zohlednění skupin neznámých předků při odhadu koeficientu příbuzenské plemenitby dle VanRaden (1992).....	20
2.3.6 Odhad genomického koeficientu příbuzenské plemenitby a genomického koeficientu příbuznosti s využitím SNP markerů.....	21
2.3.6.1 Genomická matice příbuznosti.....	22
2.3.6.2 Runs of Homozygosity.....	24
2.4 Počítačové algoritmy a metody pro odhad koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti.....	25
2.4.1 Přímý odhad koeficientu příbuzenské plemenitby.....	25
2.4.1.1 Dle Aguilar a Misztal (2008).....	25
2.4.2 Sestavení matice příbuznosti.....	26
2.4.2.1 Tabelární metoda (Emik a Terrill, 1949).....	26
2.4.2.2 Dle Hendersona (1976).....	26
2.4.2.3 Dle Colleaua (2002).....	27
2.5 Efektivní velikost populace.....	29
2.5.1 Efektivní velikost populace a idealizovaná populace (Caballero, 1994).....	30
2.5.2 Rozdíl v počtu samců a samic (Caballero, 1994).....	31
2.5.3 Nestejná velikost populace přes generace (Caballero, 1994).....	32
2.5.4 Odhad efektivní velikosti populace ze skutečné populace.....	33
2.6 Pravděpodobnost původních genů.....	35
2.6.1 Efekt zakladatele (Lacy, 1989).....	35
2.6.2 Efekt předků (Boichard et al., 1997).....	37
2.7 Populační struktura.....	38
2.7.1 Základní genetické nástroje pro studium genetické rozmanitosti u populace tvořené dílčími subpopulacemi (Caballero a Toro, 2002).....	42
3. Hypotézy.....	45
4. Cíl práce.....	45
5. Materiál a metody.....	46

5.1 Data.....	46
5.2 Demografické parametry.....	46
5.3 Hodnocení kompletnosti rodokmenu.....	46
5.4 Pravděpodobnost originálních genů.....	47
5.5 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_1) a koeficient příbuznosti (AR).....	48
5.6 Efektivní velikost populace (N_e).....	49
5.7 Ztráta genetické rozmanitosti.....	50
5.8 Programové vybavení.....	52
6. Výsledky.....	53
6.1 Vývoj stavů koní zaregistrovaných do plemenné knihy.....	53
6.2 Generační interval.....	53
6.3 Kvalita rodokmenových informací.....	54
6.4 Pravděpodobnost originálních genů.....	55
6.5 Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a mateřských rodin.....	61
6.6 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_x) a průměrný koeficient příbuznosti (AR).....	63
6.7 Efektivní velikost populace.....	65
6.8 Ztráta genetické rozmanitosti.....	65
6.9 F-statistiky.....	67
6.10 Analýza genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi.....	68
7. Diskuze.....	71
7.1 Vývoj stavů koní zaregistrovaných do plemenné knihy.....	71
7.2 Generační interval.....	71
7.3 Kvalita rodokmenových informací.....	71
7.4 Pravděpodobnost originálních genů.....	72
7.5 Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a mateřských rodin.....	74
7.6 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_x) a průměrný koeficient příbuznosti (AR).....	75
7.7 Efektivní velikost populace.....	78
7.8 Ztráta genetické rozmanitosti.....	80
7.9 F-statistiky + Analýza genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi.....	80
8. Závěr.....	84
9. Seznam literatury.....	86
10. Přílohy.....	92
10.1 Starokladrubský kůň.....	92
10.1.1 Historie chovu.....	92
10.1.2 Otcovské linie a mateřské rodiny.....	94
10.1.3 Situace v chovu starokladrubského koně.....	95
10.2. Přehled publikační činnosti – Ing. Hana Vostrá Vydrová.....	98

Rejstřík pojmů

Aditivní koeficient příbuznosti (a_{xy}) - je kvantitativní měřítko podobnosti mezi dvěma jedinci, která souvisí s počtem společných alel mezi dvěma jednotlivci.

Alela – různá forma téhož genu .

Alely identické dle původu (Identity by descent – IBD) popisuje status kopií alely, která může být sledována přes libovolný počet generací, bez přítomnosti mutace, až ke společnému předku jedince.

Alely identické stavem (identity by state – IBS), opak IBD), náhodné získání shodných (identických) alel z populace (shodné sestavou bází).

Alozygotní alely- alely, které jsou shodné stavem, ale nejsou kopií jedné a té samé DNA sekvence.

Autozygotní alely- alely, které jsou kopii té samé DNA sekvence.

Efektivní počet zakladatelů - počet zakladatelů, kteří vysvětlují shodnou úroveň genetické proměnlivosti jako je pozorována u referenční populace (Lacy, 1989).

Efektivní počet předků - minimální počet předků, ne nezbytně zakladatelů, kteří vysvětlují stejnou genetickou rozmanitost jako je v referenční populaci (Boichard et al., 1997).

Efektivní počet nezakladatelů (N_{en}) - efekt genetického driftu v generaci jedinců, kteří nejsou považováni za zakladatele.

Efektivní velikost populace - velikost ideální (Wright-Fischerova) populace (N), která poskytuje shodnou genetickou rozmanitost, shodný nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby nebo míru změny v četnosti alel jako v sledovaná populace.

Ekvivalent genotypů zakladatelů - efektivní počet předků s nenáhodnou ztrátou genů zakladatelů, kteří vysvětlují shodnou genetickou proměnlivost jako je v referenční populaci (Lacy, 1989).

Ekvivalent kompletních generací předků – přepočtený počet generací předků jedince s kompletním rodokmenem – známe všechny předky.

Gen – je jednotkou genetické informace, která odpovídá za specifickou funkci nebo strukturu.

Generační interval - průměrný věk rodičů při narození potomka, který byl zařazen do reprodukce (James, 1977).

Ideální (Wright-Fischerova) populace - zahrnuje konstantní počet n diploidních jedinců (s poměrem pohlaví 1:1), ve které mají jedinci shodnou pravděpodobnost stát se rodiči jedinců v následné generaci.

Index kompletnosti rodokmenu (PCI) - podíl známých předků v každé generaci pro každého

jedince (MacCluer et al., 1983). Celkový index kompletnosti rodokmenu je vyjadřován jako harmonický průměr rodičovských a mateřských indexů.

Individuální koeficient příbuzenské plemenitby (koeficient inbreedingu):

- a) pravděpodobnost, že dvě homologní alely jedince jsou identické dle původu (IBD - autozygotní),
- b) pravděpodobnost, že náhodně vybraný lokus genotypu jedince je autozygotní.

Koeficient genetické rozmanitosti (genetické diverzity) – udává hodnotu genetické rozmanitosti jedince či populace. Nabývá hodnot od 0 do 1, hodnota 0 představuje populaci tvořenou pouze klony.

Koeficient příbuznosti (R_{XY} – Wright, 1922) – korelace mezi genetickou (aditivní) hodnotou dvou jedinců.

Mateřská rodina – je skupina samičích zvířat pocházejících z matky zakladatelky.

Metapopulace – představuje celkovou populaci, která je složena z několika subpopulací.

Otcovská linie – (genealogická) populace zvířat v rámci plemene, kteří jsou odvozeni od zakladatele, vynikajícího plemeníka a zahrnuje výčet všech samčích potomků. Bývá označena jménem zakladatele.

Původový koeficient (f_{XY} – Malékot, 1922) - pravděpodobnost, že náhodně vybraná alela od jedince X je shodná (identická) podle původu s náhodně vybranou alelou od druhého jedince Y.

Referenční populace – soubor jedinců schopných reprodukce – tvorby následné generace.

SNP - Jednonukleotidový polymorfismus (Single Nucleotide Polymorphism)

Wahlunduv efekt - snížení očekávané heterozygotnosti v důsledku rozdělení metapopulace na subpopulace.

Zakladatel – jedinec s neznámými rodiči (předky).

Seznam zkratek

A – matice příbuznosti

AR - průměrný koeficient příbuznosti

A_1, A_2, \dots, A_n – alela 1 až alela n

a_{ii}, a_{XY}, a_{sd} – aditivní koeficienty příbuznosti z matice příbuznosti (jedinec sám na sebe, mezi jedinci X a Y, a mezi otcem a matkou jedince)

C – příspěvek do kompletnosti rodokmenu z otcovské a mateřské strany

$D^{0.5}$ - diagonální matice obsahující diagonální prvky matice L

ΔC_{jk} - zvýšení původového koeficientu mezi párem jedinců j a k

ΔF – přírůstek koeficientu příbuzenské plemenitby z generaci na generaci

D_{ij} – průměrná vzdálenost (distance) mezi subpopulacemi i a j

\tilde{D} – průměrná vzdálenost mezi jedinci uvnitř subpopulací pro celou metapopulaci

d – počet generací předků

EqG - ekvivalent kompletnosti generací předků (Maignel et al., 1996)

F – koeficient příbuzenské plemenitby – koeficient inbreedingu

F_{IS} - koeficient příbuzenské plemenitby jedinců ve vztahu k jejich dílčí subpopulaci (S) - snížení heterozygotnosti jedinců v důsledku nenáhodného páření jedinců uvnitř subpopulací

F_{ST} – příbuzenská plemenitba způsobena rozdílností mezi subpopulacemi ve vztahu k celkové populaci (fixační index) – snížení heterozygotnosti subpopulací v důsledku náhodného genetického driftu

F_{IT} - Celkový koeficient příbuzenské plemenitby jedince (I) v celkové populaci (T) - snížení heterozygotnosti jedinců v důsledku nenáhodného páření a rozdělení metapopulace na subpopulace relativně k celkové metapopulaci

F_t - koeficient příbuzenské plemenitby v generaci t

F_{t-1} - koeficient příbuzenské plemenitby v generaci $t-1$

F_e – efektivní koeficient příbuzenské plemenitby

F_A, F_X, F_i – koeficient příbuzenské plemenitby jedince A, X, i

F_{ca} - koeficient příbuzenské plemenitby společného předka

\tilde{F} - průměrný koeficient příbuzenské plemenitby přes jednotlivé subpopulace pro celou metapopulaci

f_a – efektivní počet předků

- f_e – efektivní počet zakladatelů
- f_{ge} – ekvivalent genotypu zakladatelů
- f_{ii}^{Ni} - průměrný původový koeficient uvnitř subpopulace i s originálním počtem jedinců
- f_{ii}^M - průměrný původový koeficient uvnitř subpopulace i s průměrnou velikostí subpopulací
- f_{ij} - průměrný párový původový koeficient dle Malécota (1948) mezi jedinci subpopulace i a j , zahrnující všechny $N_i \times N_j$ páry - f_{ij} odpovídá hodnotám pravděpodobnosti že jsou alely identické původem (IBD)
- f_x, f_{ij} – původové koeficienty dle Malécota (1948)
- \tilde{f} - průměrný koeficient příbuznosti pro celou metapopulaci
- \bar{f} - průměrná příbuznost přes celou metapopulaci
- $\overline{f_{XY}}$ - průměrný původový koeficient v referenční populaci
- G_i - podíl genetické rozdílnosti mezi jedinci subpopulace i
- G – genomická matice příbuznosti
- GD - genetická rozmanitost
- GD^* - genetické rozmanitosti způsobená nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů způsobený genetickým driftem
- GD_{BI} - genetická rozmanitost mezi jedinci
- GD_{BS} - genetická rozmanitost mezi subpopulacemi
- GD_T - celková genetická rozmanitost (heterozygotnost)
- GD_{WI} - genetická rozmanitost uvnitř jedinců
- GD_{WS} - genetická rozmanitost uvnitř subpopulace
- H_I = heterozygotnost jedince v populaci
- H_{IP} - heterozygotnost v inbrední populaci
- H_S = očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní subpopulaci s náhodným oplozením
- H_T = očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní celkové populaci s náhodným oplozením
- H_1 - heterozygotnost v následné generaci při výskytu genetického driftu
- H_0 - heterozygotnosti v náhodně připářované populaci ($2pq$)
- IBD – alely identické dle původu
- IBS – alely identické dle stavu
- L - spodní triangulární matice, která může být získána pomocí Choleskyho dekompozice matice A
- N_e - efektivní velikost populace
- N_{eC} - efektivní velikost populace založena na nárůstu původového koeficientu mezi dvěma jedinci

- N_{eF} - efektivní velikost populace založena na nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby
- N_{ent} - efektivní počet nezakladatelů
- N_i - počet jedinců v populaci (subpopulaci) i
- N_n - počet samců
- N_m - počet samic
- N_T - celková velikost metapopulace
- n - počet populací (subpopulací)
- n_s - podíl samců v populaci
- M - průměrný počet jedinců všech analyzovaných subpopulací
- m - podíl samic v populaci
- PIC - index kompletnosti rodokmenu
- p - podíl dominantní alely
- q - podíl recesivní alely
- R_{XY} - koeficient příbuznosti dle Wrighta (1922)
- s_i - průměrná příbuznost jedince sama na sebe samého v subpopulaci i
- \tilde{s} - příbuznosti jedince sama na sebe samého pro celou metapopulaci
- T - spodní trojúhelníková matice, která má na diagonále samé jedničky
- t_{ii}, t_{ij} - prvky matice T
- x_{ij} - číselné vyjádření genotypu (získaného pomocí SNP markerů), který nabývá hodnot 0, 1 nebo 2
jestliže genotyp j -tého jedince na i -tém SNP obsahuje aa , Aa nebo AA
- Z - koeficient ztráty předků

1. Úvod

Ochrana ohrožených druhů zvířat je jednou z nejdůležitějších cílů pro současné biologické vědní odvětví, zvláště z pohledu udržení přirozeného ekosystému. V případě domestikovaných zvířat, je konzervační program obvykle zahájen u plemen, která představují jedinečné genetické a fenotypové vlastnosti. Tradiční šlechtitelské programy jsou hlavně založeny na selekci za účelem zlepšení ekonomicky důležitých vlastností. Důsledkem této selekce je omezení genetické proměnlivosti dané populace. Tudíž konzervační programy je potřeba zaměřit na plemena či druhy zvířat, které mají zachovanou významnou část genetické proměnlivosti (FAO, 2000). Wade et al. (2009) uvádí, že speciálně u koní byl zánik řady plemen částečně zapříčiněn klesajícím zájmem o pracovní koně a zvýšeným zájmem o koně jezdecké. Vicente et al. (2012) také uvádí, že na pokles stavu a rozmanitosti původních plemen koní mají hlavně vliv světové války a dále mechanizace zemědělství v druhé polovině 20. století, politická rozhodnutí a omezení v oblasti chovu koní, nekontrolovatelné křížení s ostatními plemeny, atd. Tyto faktory ovlivnily vznik efektu nazývaný efekt hrdla láhve (bottleneck) (Vicente et al., 2012). Efekt hrdla láhve (bottleneck efekt) vzniká při náhlém snížení počtu jedinců účastnících se reprodukce, které vede k výraznému snížení početnosti populace. Tato populace může během následujících generací obnovit svoji početnost, avšak vlivem genového posunu může dojít k podstatné změně genetické skladby této populace, tj. ke změnám alelových četností (Relichová, 2009).

I přes dlouhou tradici chovu koní starokladrubského plemene a značné úsilí plemenářské práce byly početní stavy starokladrubského koně stále nízké a současná populace je odvozena z nízkého počtu předků. Proto je velmi důležité hodnocení příbuzenské plemenitby s ohledem na ztrátu genetické rozmanitosti právě u takto nízké početných populací.

Analýza rodokmenových údajů je jednou z možností popisu genetické rozmanitosti a jejího vývoje během generací (Boichard et al., 1997). Metoda je založená na vztahu mezi přírůstkem hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby a poklesem heterozygotnosti určitého lokusu v dané populaci (Kadlečík, 2008). Charakteristiky hodnotící genetickou rozmanitost na podkladě rodokmenových informací jsou velmi citlivé na kvalitu podkladových údajů a do značné míry závisí na jejich úplnosti. Struktura rodokmenů, počet a úplnost zaznamenaných generací předků má významnou úlohu při odhadu jednotlivých populačně genetických charakteristik populací (Baumung a Sölkner, 2003). Mezi nejdůležitější ukazatele hodnotící genetickou rozmanitost na základě rodokmenových informací patří koeficient příbuznosti mezi dvěma jedinci a koeficient příbuzenské plemenitby.

Jednou z významných prací, zabývajících se genetickou analýzou s využitím rodokmenových informací u starokladrubského koně je studie uskutečněná Jakubcem et al., (2009). Tato studie zkoumá genetickou rozmanitost v desetiletém intervalu, v letech 1993 a 2003. Ze studie vyplývá, že genetická proměnlivost, hodnocená na základě poklesu koeficientu příbuzenské plemenitby, se u starokladrubského plemene zvýšila. V této práci však byl uvažován pouze pětigenerační rodokmen, kdy bylo předpokládáno, že za touto hranicí jsou již jedinci nepřibuzní – jedinci v páté generaci předků byli vždy bráni jako zakladatelé. Tento předpoklad však plně neodpovídá historickému vývoji populace starokladrubského koně. Pro odhad koeficientu příbuzenské plemenitby jedince, či průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby populace, má délka a kompletnost rodokmenu významný vliv na výsledek odhadu (Cothran et al. 1984). Toto potvrdili i Zechner et al. (2002), kteří odhadli průměrný koeficient příbuzenské plemenitby pro koně plemene lipicán 2,1 % s využitím pěti generačního rodokmenu a 10,8 % s využitím úplného rodokmenu.

Analýza rodokmenu podobně jako molekulárně genetické analýzy na základě mikrosatelitů či SNP (Single Nucleotide Polymorphism) je možné použít ke studiu genetické proměnlivosti a genetické rozmanitosti uvnitř i mezi rozdílnými plemeny hospodářských zvířat. Rodokmenové analýzy nevyžadují složité laboratorní zařízení, na druhé straně jsou náchylné na neúplnost, či chyby v rodokmenových záznamech. Rodokmenové záznamy v jistých okamžicích představují spolehlivější zdroj informací než například mikrosatelitní markery. Toro et al. (2009) ve své práci uvádí, že mikrosatelitní markery nemusí být vždy nezbytně dobrými odhadci genetické příbuznosti mezi jedinci. A to z toho důvodu, že existuje problém ve stanovení genomické heterozygotnosti při použití pouze malého počtu molekulárních markerů (v řádech desítek mikrosatelitů). Vostrý et al. (2011b) uvádějí, že využití pouze mikrosatelitní analýzy pro odhad koeficientu příbuzenské plemenitby není vhodné. Také Baumung a Sölkner (2003) uvádějí, že i neúplný rodokmen je pro odhad koeficientů příbuzenské plemenitby a dalších populačních parametrů vhodnější než mikrosatelitní markery. Úplné rodokmenové záznamy jsou shledávány v současné době jako velmi významné pro správné řízení chovu koní. Tato potíž s malým počtem molekulárních markerů při mikrosatelitní analýze je možné vyřešit s použitím SNP – čipů obsahující SNP markery (například u koní 67 000 SNP). Tyto čipy již pokrývají celý genotyp jedince velkým počtem markerů, avšak pořizovací cena v současné době nepřispívá k plošnému genotypování populací. Z těchto důvodů kvalitní genealogické informace zavedené v rodokmenech mohou představovat spolehlivější zdroj informací o genetické proměnlivosti v populaci i za předpokladu využití pouze pravděpodobnostního počtu (jak je uvedeno v následujících kapitolách).

2. Literární přehled

2.1 Koeficient příbuzenské plemenitby

2.1.1 Příbuzenská plemenitba - Inbreeding

Příbuzenská plemenitba (inbreeding, F) je určitý druh nenáhodného páření, při kterém dochází k páření mezi příbuznými jedinci častěji než na základě náhodnosti. Z toho vyplývá, že inbrední jedinci jsou výsledkem páření dvou jedinců, kteří mají jednoho (nebo více) společných předků. Příbuzenská plemenitba je jedna z metod plemenitby, se kterou se pracuje již mnoho let a zaujímá významné místo ve šlechtitelské práci. Páření příbuzných jedinců (příbuzenská plemenitba) bylo dříve uskutečňováno s cílem upevnění požadovaných vlastností a znaků v populaci koncentrací vhodných genů v populaci a s cílem zvyšování uniformity potomstva. Příbuzenská plemenitba, zvyšuje homozygotnost v populaci, protože příbuzní jedinci jsou po genetické stránce mezi sebou podobnější než jedinci nepříbuzní. Na rozdíl od selekce, která ovlivňuje pouze ty geny, na kterých je selekce založena, ovlivňuje příbuzenská plemenitba všechny geny jedince. Soustavná příbuzenská plemenitby vede obvykle k zvyšování úmrtnosti, a naopak k snížení plodnosti a adaptability jedinců hospodářských zvířat (Falconer a Mackay, 1996), protože škodlivé alely, které se převážně vyskytují v heterozygotním stavu se dostávají do homozygotního stavu, ve kterém dojde k jejich fenotypovému projevu. Tento jev se nazývá inbrední deprese. (Relichová, 2009)

2.1.2 Koeficient příbuzenské plemenitby (koeficient inbreedingu)

Jak už bylo zmíněno dříve, důsledkem příbuzenské plemenitby je potomstvo, u kterého je zvýšena pravděpodobnost, že zdědí alely, které jsou kopií té samé DNA sekvence. Tyto kopie té samé alely jsou označovány jako *identické původem* nebo-li *autozygotní*. Tyto autozygotní alely nemusí pocházet přímo od jedince v předchozí generaci, ale mohou pocházet od společného předka ve více vzdálené generaci. Tento předek je pak nazýván jako *společný předek*, což znamená, že se jedná o společného předka jak matky a tak otce daného jedince. Koeficient příbuzenské plemenitby je používán k hodnocení stupně příbuzenské plemenitby a udává pravděpodobnost, že obě alely na lokusu jsou identické původem. Tudiž koeficient příbuzenské plemenitby nabývá hodnot v intervalu 0 až 1, kdy první hodnota představuje jedince outbredního a druhá hranice představuje jedince zcela inbredního. Identita alel dle původu je podobná homozygotnosti, ale není totožná, protože dvě alely identické původem jsou v homozygotním stavu, ale dvě alely v homozygotním stavu nemusí být identické původem. To znamená, že homozygotní stav zahrnuje oba *autozygotní* i *alozygotní* typy

alel. Alozygotní alely jsou alely *identické stavem*, kdy dvě alely nejsou originálem od společného předka.

Koeficient příbuzenské plemenitby získaný ze samooplození je 0,5 a u jedince vzniklého pářením mezi bratrem a sestrou je 0,25. Při výpočtu koeficientu příbuzenské plemenitby se vychází z prvotních předpokladů, že outbrední zakladatel je označován jako nositel unikátních alel (např. A_1A_2 , A_3A_4). Pravděpodobnost, že jedince zdědí dvě alely identické původem (A_1A_1 , A_2A_2 , atd.) je vypočtena na základě dědičnosti, která zahrnuje Mendelistické štěúemé. Pro příklad si uvedeme pravděpodobnost, že potomek X zdědí dvě původové alely A_1 , či A_2 u samooplození. Jedinec X má pravděpodobnost 0,5, že zdědí alelu A_1 ve vajíčku a pravděpodobnost 0,5, že zdědí alelu A_1 ve spermii. Následně pravděpodobnost, že jedinec zdědí dvě alely A_1 je $0,5 \times 0,5 = 0,25$. Stejnou pravděpodobnost vykazuje i alela A_2 . Hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby je pravděpodobnost, že jedince zdědí A_1A_1 či A_2A_2 a je rovna $0,25 + 0,25 = 0,5$ (Frankham et al., 2003).

Koeficient příbuzenské plemenitby nejen popisuje hodnotu příbuzenské plemenitby uvnitř jednoho jedince, ale také umožňuje popsat průměrnou hodnotu příbuzenské plemenitby u jedinců v populaci (Hamilton, 2009).

2.1.3 Důsledky příbuzenské plemenitby

Jak již bylo uvedeno příbuzenská plemenitba zvyšuje pravděpodobnost, že jedinec má homozygotní sestavu na daném lokusu. Outbrední populace obsahují také škodlivé alely (projevující se většinou v recesivně homozygotní sestavě), které se díky rovnováze mezi mutací a selekcí vyskytují v nízkých frekvencích. Příbuzenská plemenitba však zvyšuje riziko vyštěpení homozygotní sestavy těchto alel. Kvantitativní vyjádření tohoto jevu je uvedeno v tabulce 1.

Tabulka 1. Genetické četnosti panmiktické populace v porovnání s populacemi s různou hodnotou koeficientu příbuzenské plemenitby (Frankham et al., 2003)

Populace	Genotypy			
	F	$+/+$	$+/m$	m/m
a) Panmiktická populace ($n=\infty$)	0	p^2	$2pq$	q^2
b) plně inbrední	1	p	0	q
c) částečně inbrední	F	$p^2(1-F)+Fp$ p^2+Fpq	$2pq(1-F)+F \times 0$ $2q(1-F)$	$q^2(1-F)+Fq$ q^2+Fpq

Jak z tabulky 1. vyplývá, příbuzenská plemenitba zvyšuje homozygotnost populace na úkor heterozygotnosti. Tudíž poměr heterozygotnosti v inbrední populaci ($H_{IP} = 2pq(1-F)$) ku

heterozygotnosti v náhodně připářované populaci ($H_o = 2pq$) je roven

$$\frac{H_{IP}}{H_o} = \frac{2pq(1-F)}{2pq} = 1-F \quad (1)$$

Tudíž snížení heterozygotnosti v důsledku příbuzenské plemenitby je přímo úměrné hodnotě koeficientu příbuzenské plemenitby. Z toho vztahu vyplývá, že je možné odhadnout koeficient příbuzenské plemenitby ze vztahu pozorované heterozygotnosti s heterozygotností očekávanou, která je očekávána při náhodném připářování:

$$F = 1 - \left(\frac{H_{IP}}{H_o} \right) \quad (2)$$

Vlivem zvyšování homozygotnosti letálních či škodlivých alel v populaci vlivem příbuzenské plemenitby dochází v populaci k snižování fitness.

2.1.4 Příbuzenská plemenitba v malých populacích

Vliv velikosti populace na úroveň příbuzenské plemenitby může být stanoven s ohledem na pravděpodobnost výskytu alel identických dle původu u idealizované populace. Předpokládejme, že zakládající jedinci generace 0 (o počtu N), kteří jsou nepříbuzní, neinbrední a obsahují jedinečné alely a produkují potomstvo generace 1. Dále předpokládejme, že generace 0 produkuje $2N$ rodičovských gamet (A_1, A_2, \dots, A_{2N}), které se následně spojují do zygot. Každý potomek tudíž obsahuje 2 alely, které jsou náhodně vybrány z genofondu populace. Jestliže je první alela z této

dvojice například A_1 , pravděpodobnost, že druhá alela je také A_1 (identická původem) je $\frac{1}{2N}$.

Proto platí, že každý jedinec může mít dvě alely identické původem s pravděpodobností $\frac{1}{2N}$.

Následně, koeficient příbuzenské plemenitby v generaci 1 dosahuje hodnoty $\frac{1}{2N}$.

V následné generaci jsou již dvě cesty, jak mohou být dvě alely identické původem vybrány pro tvorbu zygot:

a) výběrem dvou kopií stejné alely s pravděpodobností $\frac{1}{2N}$,

b) výběrem dvou alel, které jsou identické původem z příbuzenské plemenitby v předchozích generacích. Pravděpodobnost výběru dvou rozdílných alel (ne identické původem), je zbytková

pravděpodobnost $\left(1 - \frac{1}{2N}\right)$, avšak pravděpodobnost, že tyto alely jsou identické původem v důsledku předchozí příbuzenské plemenitby je roven hodnotě F . Tudíž koeficient příbuzenské plemenitby v důsledku předchozí příbuzenské plemenitby je $F_t - \left[1 - \frac{1}{2N}\right]$.

Celková pravděpodobnost tvorby zygoty v generaci t z dvou alel identických původem je součet obou pravděpodobností

$$F_t = \frac{1}{2N} + \left(1 - \frac{1}{2N}\right) F_{t-1}, \quad (3)$$

kde F_{t-1} je koeficient příbuzenské plemenitby v generaci $t-1$. Tudíž hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby lze rozdělit na dvě části, na přírůstek koeficientu příbuzenské plemenitby v důsledku

nově vzniklé příbuzenské plemenitby s pravděpodobností rovnou $\frac{1}{2N}$ a na předchozí

příbuzenskou plemenitbu. Z toho vyplývá, že i v případě, kdy v populaci nedochází k nárůstu hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby vlivem příbuzenské plemenitby, jako v případě zvětšování velikosti populace, v populaci nedochází ke snížení hodnoty předchozí příbuzenské plemenitby a hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby v populaci zůstávají konstantní. Jak už bylo uvedeno, nárůst hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby pro následnou generaci (ΔF) je

roven pravděpodobnosti $\frac{1}{2N}$. Z rovnice $\frac{H_1}{H_0} = 1 - \left(\frac{1}{2N}\right)$, kde H_1 je heterozygotnost po

výskytu genetického driftu a H_0 je heterozygotnost před výskytem genetického driftu vyplývá, že

ztráta heterozygotnosti za jednu generaci dosahuje také hodnoty $\frac{1}{2N}$. Tudíž nárůst hodnoty

koeficientu příbuzenské plemenitby za jednu generaci je roven ztrátě heterozygotnosti za jednu generaci. Toto představuje těsný vztah mezi nárůstem příbuzenské plemenitby a ztrátou genetické rozmanitosti v náhodně se pářící generaci.

Jak již bylo řečeno hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby není ovlivněna jen příbuzenskou plemenitbou v předchozí generaci, ale je ovlivněna i kumulací příbuzenské plemenitby v dřívějších generacích. Pokud by byla velikost populace konstantní přes generace je možné získat požadovaný vztah pro odhad hromadění příbuzenské plemenitby v generaci t (F_t) přeskupením vztahu (3):

$$1 - F_t = 1 - \left[\frac{1}{2N} + \left(1 - \frac{1}{2N} \right) F_{t-1} \right] \quad \text{a} \quad 1 - F_t = \left[1 - \frac{1}{2n} \right]^t (1 - F_0) \quad (4)$$

Jestliže uvažujeme zakládající populace neinbrední ($F_0=0$) koeficient příbuzenské plemenitby v jakékoliv následné generaci t je:

$$F_t = 1 - \left(1 - \frac{1}{2N} \right)^t \quad (5)$$

Z výše uvedeného vyplývá, že s časem dochází k nárůstu příbuzenské plemenitby ve všech uzavřených konečných populacích. Zvyšování hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby je rychlejší u malých populací než u populací s větším počtem jedinců (Frankham et al., 2003).

2.2 Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti

2.2.1 Nepřímý odhad koeficientu příbuzenské plemenitby celé populace

V některých populacích není znám rodokmen, avšak ze vztahu mezi genotypovými frekvencemi a koeficientem příbuzenské plemenitby (1) je možné odhadnout úroveň koeficientu příbuzenské plemenitby. Pokles heterozygotnosti poskytuje informace, že v populaci spíše docházelo k příbuzenské plemenitbě, než k náhodnému páření. Snížení heterozygotnosti v populaci v porovnání s očekávanou heterozygotností při Hardy-Weinbergově rovnováze poskytuje odhad hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby pro danou populaci.

Další odhad průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby populace může být získán ze ztráty genetické rozmanitosti v průběhu času:

$$\frac{H_t}{H_0} = \left(1 - \frac{1}{2N_e} \right)^t = 1 - F \quad (6)$$

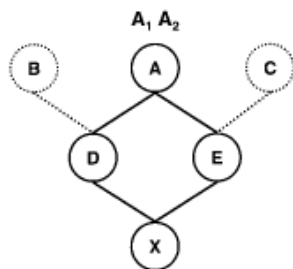
Efektivní koeficient příbuzenské plemenitby F_e může být odhadnut jako:

$$F_e = 1 - \left(\frac{H_e}{H_0} \right) \quad (7)$$

Pro odhad efektivního koeficientu příbuzenské plemenitby by mělo být použito velké množství polygenních lokusů. Toto je zvláště důležité v případě, když je odhadován koeficient příbuzenské plemenitby jedince, protože existují rozdíly v homozygotnosti mezi jednotlivými lokusy z důvodu segregace genů (Frankham et al., 2003).

2.2.2 Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na základě rodokmenových informací

Odhady koeficientu příbuzenské plemenitby dle předchozích postupů jsou u rozsáhlých rodokmenů velmi nepraktické. Uvažujme jednoduchý rodokmen (Obrázek 1.), kde dochází k pářením mezi polosourozenci.



Obrázek 1. Rodokmen s pářením mezi polosourozenci.

Rodiče jedince X jsou příbuzní pouze přes společného předka A . Proto můžeme uvažovat pouze přenos alely A přes jedince D a E k jedinci X . Koeficient příbuzenské plemenitby jedince X je charakterizován pouze alelami jedince A (A_1 a A_2). Jedná se tudíž o pravděpodobnost, že jedinec X je nositelem buď alely A_1A_1 nebo alely A_2A_2 . To znamená, že má dvě alely identické původem. Pravděpodobnost, že alela A_1 je přenášena z prarodiče A na rodiče D , z důvodu mendelistického štěpení, je $0,5$, a pravděpodobnost že je dále přenesena z rodiče D na jedince X je také $0,5$. Podobně, pravděpodobnost že A_1 přešla z prarodiče A na rodiče E , je $0,5$ a z rodiče E na jedince X je další $0,5$. Tudíž pravděpodobnost, že jedinec X je nositelem identických alel dle původu A_1A_1 je násobek pravděpodobností těchto čtyř cest:

$$P(X \text{ je } A_1A_1) = \left(\frac{1}{2}\right)^4 = \frac{1}{16}. \quad (8)$$

Podobně pravděpodobnost, že X je nositelem A_2A_2 je $0,5^4 = \frac{1}{16}$. Tudíž pravděpodobnost že X je buď nositelem A_1A_1 nebo A_2A_2 je suma obou pravděpodobností:

$$P(X \text{ je } A_1A_1 \text{ nebo } A_2A_2) = \left(\frac{1}{2}\right)^4 + \left(\frac{1}{2}\right)^4 = \frac{1}{8}. \quad (9)$$

Pravděpodobnost, že je jedinec X je nositelem homozygotní sestavy dle původu, představuje nově vzniklý koeficient příbuzenské plemenitby, vyplývající ze skutečnosti, že jedinec A je společným předkem rodičů D a E jedince X .

Avšak pokud by byl jedinec A již inbrední, tak alely A_1 a A_2 mají pravděpodobnost F , že jsou identické původem, došlo by k navýšení homozygotnosti jedince X . Alely A_1 a A_2 mohou být identické původem a proto pravděpodobnost, že jedinec X zdědí alelu A_1 od matky a alelu A_2 od otce je $0,5^4$, ale také jedinec může zdědit alelu recipročně - A_2 od matky a alelu A_1 od otce. Tudíž pravděpodobnost, že nastane alespoň jedna možnost, tj že jedinec má dvě alely identické původem jedince A , je $0,5^4 + 0,5^4 = 0,5^3$. Pravděpodobnost, že jsou alely A_1 a A_2 identické původem je hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby jedince A (F_A). Tudíž pravděpodobnost, že jedinec X je nositelem alel, které jsou identické původem kvůli předchozí příbuzenské plemenitbě jedince A je:

$$P(\text{že } X \text{ je idnetický homozygot z předchozího inbreedingu}) = \left(\frac{1}{2}\right)^3 F_A. \quad (10)$$

Celkový koeficient příbuzenské plemenitby jedince X zahrnující novou i předchozí příbuzenskou plemenitbu je:

$$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^3 + \left(\frac{1}{2}\right)^3 F_A = \left(\frac{1}{2}\right)^3 (1 + F_A). \quad (11)$$

U více rozvětveného rodokmenu mohou být jedinci příbuzní přes více společných předků, či přes jednoho předka s více cestami. Každý společný předek a každá cesta přenosu přispívá k pravděpodobnosti, že je jedinec nositelem alel identických původem. Celkový koeficient příbuzenské plemenitby je tudíž suma pravděpodobností příspěvku každé cesty přenosu a každého společného předka:

$$F_X = \sum \left(\frac{1}{2}\right)^n + (1 + F_{ca}), \quad (12)$$

kde n je počet jedinců v cestě přenosu od rodiče k společnému předku a zpět k druhému rodiči a F_{ca} je koeficient příbuzenské plemenitby společného předka (Frankham et al., 2003).

2.3 Metody odhadu úrovně koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti

2.3.1 Dle ztráty předků (Pearl, 1913)

Tato metoda je založená na nižším počtu předků, než jaký počet by byl očekáván pokud by nedošlo k příbuzenské plemenitbě (ztráta předků). Podstata této metody je založena na předpokladu, že pokud nedošlo k příbuzenské plemenitbě v rodokmenu jedince, tak počet rozdílných předků v jeho rodokmenu je možné vyjádřit následující řadou:

$$x - (1)2 - (2)4 - (3)8 - (4)16 - (5)32 - \dots - (n)2^n,$$

kde čísla v závorkách představují počty generací předků (1 = rodiče, 2 = prarodiče, atd.) a zbylá čísla představují možný maximální počet předků v uvedené generaci předků.

Při odhadu hodnoty příbuzenské plemenitby uvedenou metodou musí být zohledněny dva faktory:

- a) množství redukovaných předků v předchozích generací
- b) míra tohoto poklesu předků přes specifikované generace.

Hodnotu příbuzenské plemenitby pomocí metody ztráty předků (Z) je možné odhadnout dle vztahu:

$$Z_n = \frac{100(p_{n+1} - q_{n+1})}{p_{n+1}}, \quad (13)$$

kde p_{n+1} představuje maximální možný počet předků v generaci $n+1$ a q_{n+1} představuje aktuální počet předků v generaci $n+1$. Pokud by byly vyneseny hodnoty Z_n pro jednotlivé generace jedince dostali bychom křivku, kterou je možné nazvat „křivka příbuzenské plemenitby“. Koeficient příbuzenské plemenitby Z představuje procentickou změnu mezi možným počtem předků v dané generaci a skutečným počtem předků, z čehož vyplývá, že hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby Z se pohybují v rozmezí 0 až 100. Pokud nedochází k příbuzenské plemenitbě hodnota v každé generaci dosahuje hodnoty 0. Jestliže však dochází k zvyšování intenzity příbuzenské plemenitby tak se hodnoty Z zvyšují.

Pro ukázkou bude uveden extrémní případ páření bratra se sestrou během všech možných generací (graf 1).

Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby Z postupuje v následujících krocích Z_0, Z_1, Z_2, Z_3 .

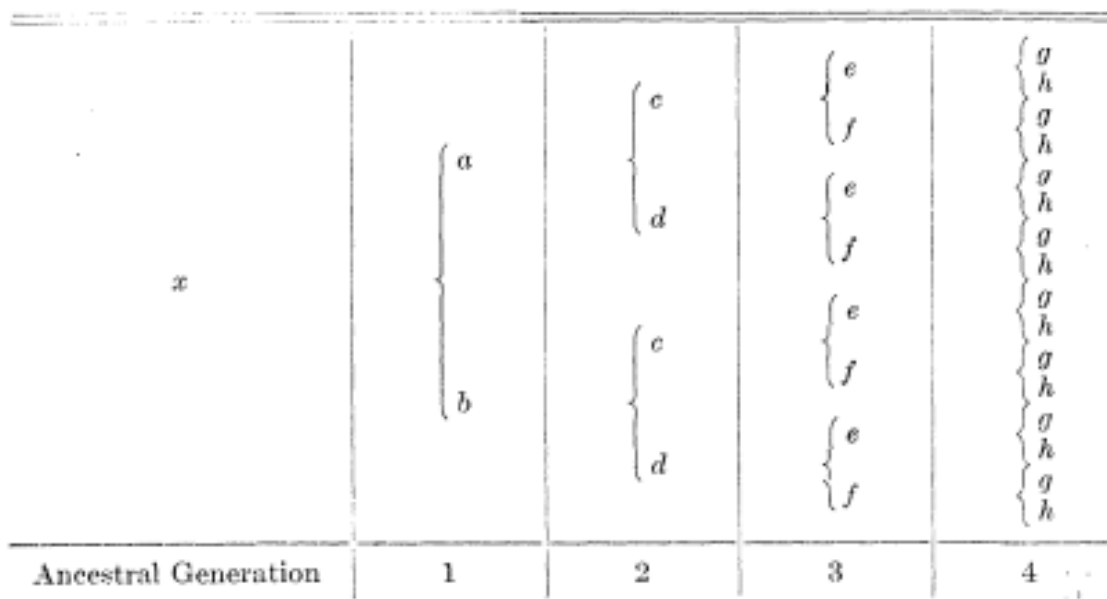
Pro Z_0 máme: $p=2, q = 2$ proto

$$Z_0 = \frac{100(2-2)}{2} = 0, \quad (14)$$

následně:

$$\begin{aligned} Z_1 &= \frac{100(4-2)}{4} = 50, \\ Z_2 &= \frac{100(8-2)}{8} = 75, \\ Z_3 &= \frac{100(16-2)}{16} = 87,5. \end{aligned} \quad (15)$$

Následující hodnoty mohou být interpretovány jako: v druhé generaci předků je ztráta předků (příbuzenská plemenitby) 50%, v třetí generaci předků je ztráta předků (příbuzenská plemenitby) 75%, a v poslední čtvrté generaci předků je ztráta předků (příbuzenská plemenitba) 87,5%.



Graf 1. Ukázkový rodokmen, páření bratra ze sestrou během všech generací. Zdroj Pearl (1913)

2.3.2 Dle Wrighta (1922)

Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby dle Wrighta (1922) je založen na analýze rodokmenu a vychází ze zákonitostí uvedených v předchozí kapitole. Tato metoda je založena na analýze jednotlivých úseků mezi jedinci a vychází z předpokladu zvyšování homozygotnosti v populaci. Při odhadu koeficientu příbuzenské plemenitby touto metodou se postupuje od současné populace zpět do minulosti.

Odhad koeficientu příbuzenské plemenitby dle Wrighta (1922) vychází ze vztahu:

$$F_x = \sum 0,5^{n_1+n_2+1} (1+F_{ca}) \quad (16)$$

kde n_1 a n_2 jsou počty generací ke společnému předku ze strany otce a matky a F_{ca} představuje hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby daného společného předka. V případě že společný předek vykazuje nulovou hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby je možné vztah zjednodušit na:

$$F_x = \sum 0,5^{n_1+n_2+1} \quad (17)$$

Jedná se o drobnou úpravu vztahu (16).

Podobně jako koeficient příbuzenské plemenitby, Wright (1922) také navrhl odhad koeficientu příbuznosti (R_{XY}) mezi dvěma jedinci dle vztahu:

$$R_{XY} = \frac{\sum 0,5^{n_1+n_2+1} (1+F_{ca})}{\sqrt{(1+F_X)(1+F_Y)}}, \quad (18)$$

kde F_X a F_Y představují koeficient příbuzenské plemenitby jedinců X a Y .

Koeficient příbuznosti dle Wrighta (1922) představuje korelaci mezi genetickou (aditivní) hodnotou dvou jedinců (korelace mezi genetickým založení dvou jedinců v populaci).

Jakubec et al. (2011) však uvádějí, že odhady těmito postupy u složitějších rodokmenů, kde se vyskytuje větší počet společných předků, je značně komplikovaný a může být zdrojem četných chyb.

3.3.3 Dle Malécota (1948)

Pomocí této metody je možné odhadnout původový koeficient (f_x, f_{ij} – coancestry, kinship). Původový koeficient (f_{xy}) představuje pravděpodobnost, že náhodně vybraná alela od jedince X je identická podle původu s náhodně vybranou alelou od druhého jedince Y . Interpretace Malécotova (Malécot, 1948) původového koeficientu je založena na předpokladu že dvě alely (např. AA) mohou být identické původem (identity by descent - IBD), či stavem (identity by state – IBS). Alely identické původem vznikly replikací jedné alely u jedince z dřívějších generací. Alely identické stavem mají shodný účinek (např. dominantní A), ale pocházejí od dvou rozdílných jedinců.

Původový koeficient dle Malécota (1948) je možné odhadnout dle vztahu.

$$f_X = 0,25 (f_{AC} + f_{AD} + f_{BC} + f_{BD}), \quad (19)$$

kde: f je původový koeficient mezi dvěma jedinci, např. W a Z přičemž A a B představují rodiče jedince W; zatímco C a D představují rodiče jedince Z.

Odhad původového koeficientu dle Malécota (1948) vychází ze základních mendelistických zákonů a z analýzy rodokmenu od nejstaršího až po nejmladšího jedince v rodokmenu. Jakubec et al. (2011) uvádějí, že koeficient příbuznosti mezi dvěma jedinci dle Wrighta (1922) se rovná dvojnásobku původového koeficientu (Malécot, 1948) ($R_{XY}=2f_{XY}$). Toto však platí pouze za podmínky, že jedinci X a Y jsou neinbrední (viz kapitola 2.3.4). Z toho dále vyplývá, že koeficienty příbuzenské plemenitby dle Wrighta (1922) je možné odvodit z původového koeficientu (Malécot, 1948) dle vztahu:

$$F_X = 2f_{XX} - 1. \quad (20)$$

Tento postup má oproti postupu dle Wrighta (1922) výhodu, že při zařazení dalších jedinců do analýzy se nemusí přepočítávat všechny koeficienty příbuzenské plemenitby jedinců zařazených

do analýzy, ale stačí odhadnout původový koeficient pouze pro nově zařazené jedince.

2.3.4 Sestavení aditivní matice příbuznosti (A)

Příbuzenské vztahy mezi jedinci populace je možné souhrnně vyjádřit pomocí aditivní matice příbuznosti (A).

Matice A je symetrická a její diagonální prvky pro každého jedince (a_{ii}) jsou rovny $1+F_i$, kde F_i je koeficient příbuzenské plemenitby jedince i (Wright, 1922). Mimo diagonální prvky (a_{xy}) představují koeficient příbuznosti mezi jedinci X a Y. Koeficient příbuzenské plemenitby pak může být odhadnut ze vztahu $F_i = a_{ii} - 1$. Aditivní koeficient příbuzností z matice příbuznosti (a_{xy}) odpovídá dvojnásobku koeficientu příbuznosti dle Malécota (1948) (19):

$$a_{xy} = 2f_{xy}, \quad (21)$$

kde f_{xy} je původový koeficient (19) dle Malécota (1948). Aditivní koeficient příbuznosti (a_{xy}) je stanoven jako kvantitativní měřítko genetické podobnosti mezi dvěma jedinci, která souvisí s počtem společných alel mezi dvěma jednotlivci. Jinými slovy, aditivně genetická příbuznost (a_{xy}) je rovna hodnotě podobnosti mezi jedinci, která souvisí s počtem společných alel mezi dvěma jedinci. Hodnoty koeficientu příbuznosti se pohybují od 0 do 2. Kdy maximální hodnota se vyskytuje u příbuznosti plně inbredního jedince na sebe samého. V tomto případě můžeme očekávat že na jakémkoli lokusu se vyskytují 2 alely identické původem (IBD).

Z výše uvedených vztahů (21) a (18) vyplývá, že aditivní koeficient příbuznosti získaný z matice příbuznosti (A) odpovídá koeficientu příbuznosti dle Wrighta (1922) pouze u dvou neinbredních jedinců:

$$a_{xy} = 2f_{xy}$$

$$R_{xy} = \frac{\sum \left[\left(\frac{1}{2} \right)^n (1+F_{ca}) \right]}{\sqrt{(1+F_X)(1+F_Y)}} = \frac{2f_{XY}}{\sqrt{(1+F_X)(1+F_Y)}} .$$

Z výše uvedených vztahů vyplývá, že existuje rovnost mezi oběma koeficienty příbuznosti pouze pokud se F_X a F_Y rovnají nule.

2.3.5 Zohlednění skupin neznámých předků při odhadu koeficientu příbuzenské plemenitby dle VanRaden (1992)

Rodokmenové informace jedinců zapsaných do plemenných knih mohou být vedeny velice přesně přes mnoho generací, ale genetické ohodnocení může zahrnovat i skupiny jedinců, kteří mohou mít rodokmenové informace vedeny pouze pro malý počet generací. Jestliže jsou

rodokmenové informace těchto jedinců s neúplným rodokmenem nedostupné, jsou tito jedinci ve většině postupů odhadu koeficientu příbuzenské plemenitby považováni za neinbrední jedince a dále jako jedinci nepřibuzní k ostatním jedincům z populace.

Nekompletní rodokmenové informace mohou způsobit podhodnocení koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti, protože možný příspěvek neznámých předků je ignorován. Více přesný odhad, zvláště pro skupinu jedinců, může být kombinace současné příbuznosti známých předků a předpokládaná příbuznost jedinců neznámých k dané populaci jedinců. Tuto předpokládanou příbuznost je možné odvodit z průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby jedinců se známými předky.

Je možné předpokládat, že koeficient příbuzenské plemenitby známých předků, jak již bylo uvedeno, je roven průměru koeficientů příbuzenské plemenitby skupiny neznámých jedinců ve stejném časovém období (např. rok narození). Dále může být předpokládáno, že neznámí jedinci mohou být přibuzní ke skupině známých předků (jedinců) dvojnásobkem průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby za dané časové období. Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby u skupiny potomků neznámých předků, který je roven polovině průměrného koeficientu příbuznosti rodičů, je shodný s průměrným koeficientem příbuzenské plemenitby potomků známých rodičů (VanRaden, 1992).

Tato metoda umožňuje zohlednit rozdílnou hodnotu příbuzenské plemenitby neznámých předků dle jednotlivých let narození jejich potomka. Aguilar a Misztal (2008) uvádějí, že na skupinu neznámých předků uvažovaných v této metodě je možné nahlížet jako na skupinu neznámých předků při předpovědi plemenné hodnoty pomocí metody BLUP. Například je možné klasifikovat skupinu neznámých předků dle pohlaví, země původu, roku narození, atd.

Tento metodický přístup může být využit v tabelární metodě (VanRaden, 1992) či rekurzivní metodě, jak uvádějí Aguilar a Misztal (2008) viz kapitola 2.4.1.1.

2.3.6 Odhad genomického koeficientu příbuzenské plemenitby a genomického koeficientu příbuznosti s využitím SNP markerů

Koeficient příbuzenské plemenitby je běžně počínán z rodokmenových informací, jako statisticky očekávaná pravděpodobnost, že dvě alely jsou identické původem (kapitola 2.1.1). Avšak současné možnosti sekvenování genomu a velký počet bodových mutací (SNP - Single Nucleotide Polymorphism - Jednonukleotidový polymorfismus) otvírá nové možnosti pro využití molekulárně genetické informací ve šlechtění zvířat, zvláště rozvojem genomické selekce (Meuwissen et al.

2001). Využitím informací z „high density“ SNP čipů je možné odhadovat úroveň koeficientu příbuzenské plemenitby pro populace hospodářských zvířat, i v případě, kdy nejsou dostupné rodokmenové informace. Pravděpodobnost, že alely na jednom lokusu jsou identické dle původu (IBD), může být odvozena přímo z alel, které jedinec zdědil od rodičů, a které zahrnují celý genotyp jedince. Teoreticky při využití této techniky, může být odhadnuta skutečná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby na základě informací z celogenomového sekvenování (Marras et al., 2014).

Genomický koeficient příbuzenské plemenitby může být odhadnut pomocí dvou přístupů:

- využitím genomické matice příbuznosti (VanRaden, 2008, Yang et al., 2010) – stanovení průměrné příbuznosti jednotlivých (SNP) markerech přes celý genom jedince – příbuznost na základě alel identických stavem (IBS),
- a využitím metod haplotypování (ROH – runs of homozygosity) - stanovení alel identických dle původu (IBD).

2.3.6.1 Genomická matice příbuznosti

Pro sestavení genomické matice příbuznosti navrhl VanRaden (2008) tři rozdílné postupy (dále jen VanRaden metoda 1 až metoda 3. Jednotlivé metody se liší dle centrování a škálování genomických dat viz následující tabulka (Janss a Christensen, 2015).

	Škálování na SNP	Celkové škálování
Centrování na SNP	VanRaden metoda 2	VanRaden metoda 1
Celkové centrování	-	VanRaden metoda 3

Jako „základní“ genomická matice příbuznosti je považován postup VanRaden metoda 1, kdy je genomická matice příbuznosti odhadnuta dle vztahu:

$$G = \frac{Z'Z}{\sum_{i=1}^M 2pq}, \quad (22)$$

kde $z_{ij} = x_{ij} - 2p_j$, kde x_{ij} je číselné vyjádření genotypu, který nabývá hodnot 0, 1 nebo 2 jestliže genotyp j-tého jedince na i-tém SNP obsahuje aa, Aa nebo AA a p a q představuje četnosti jednotlivých alel.

Interpretace prvků na diagonále a mimo diagonálu u genomické matice příbuznosti:

Protože genomická matice příbuznosti (G) obsahuje záporné hodnoty, nevypadá jako klasická matice příbuznosti (A), která je odvozena z pravděpodobnosti výskytu dvou alel identických původem, a proto musí obsahovat pouze kladné hodnoty. Tyto záporné hodnoty u genomické matice příbuznosti jsou ovšem považovány za *normální*. Záporné hodnoty jsou způsobeny centrováním genomických dat, kdy je genomická matice příbuznosti centrována tak, aby suma všech elementů byla nula. Pokud by se existovala populace „perfektně“ neinbredních jedinců tak by genomická matice příbuznosti dosahovala tyto hodnoty:

- Diagonální prvky by měli hodnotu 1. Odchyly od hodnoty 1 jsou závislé na následující zásadě: pokud je jedinec méně homozygotní než průměr populace (má menší koeficient příbuzenské plemenitby) dosahuje hodnot < 1 a pokud je jedinec více homozygotní než průměr populace tak dosahuje hodnot > 1 .

- Mimodiagonální prvky by dosahovaly hodnot blízké nule. Nižší hodnoty (negativní) představují vztahy, které jsou méně příbuzné než průměr populace a hodnoty vyšší představují příbuzenské vztahy, které dosahují vyšších hodnot příbuznosti než je průměr populace.

Další metody sestavení genomické matice příbuznosti dle rozdílného centrování škálování. Jak již bylo uvedeno výše, existují další metody sestavení genomické matice příbuznosti. VanRaden metoda 2 je upravena pro centrování a škálování na jednotlivé SNP dle vztahu:

$$G = \frac{Z'Z}{n}, \quad (23)$$

kde $z_{ij} = \frac{x_{ij} - 2p_i}{\sqrt{2p_iq_i}}$.

Postup pro sestavení genomické matice příbuznosti dle VanRaden metody 3 je: napřed získat součin vektorů XX' , ke X představuje matici záznamů x_{ij} přes celou populaci. Tento součin matic je upraven pomocí obecného genetického průměru g_0 a celkového škálování g_1 :

$$G = \frac{XX' - g_0(11')}{g_1}. \quad (24)$$

VanRaden doporučuje získání centrovacích a škálovacích koeficientů g_0 a g_1 pomocí regrese XX' na matici příbuznosti (A), kde g_0 je brán jako absolutní člen (odchylka průměrů XX' a A), a g_1 je hodnota regresního koeficientu mezi XX' a A (Janss a Christensen, 2015).

VanRaden metoda 3 může být centrována a škálována dalšími hodnotami, například dosazením za g_0 průměr XX' a za g_1 hodnotu $\Sigma 2p_iq_i$. Tento přístup vede k získání podobné hodnoty jako u VanRaden metody 1 s průměrnou hodnotou genomické matice příbuznosti $G = 0$, avšak

založenou na celkovém centrování.

Pro vyjádření genomické matice příbuznosti ve shodném tvaru jako matice příbuznosti je vhodné použít metodu dle Yang et al. (2010):

$$G = \frac{1}{N} \sum_i G_{ijk} = \begin{cases} \frac{1}{N} \sum_i \frac{(x_{ij} - 2p_i)(x_{ij} - 2p_i)}{(2p_i q_i)}, j \neq k \\ 1 + \frac{1}{N} \sum_i \frac{x_{ij}^2 - (1 + 2p_i)x_{ij} + 2p_i^2}{2p_i q_i}, j = k \end{cases}. \quad (25)$$

Rozdílný postup odhadu diagonálních a mimodiagonálních prvků může způsobit, že daná matice (G) nebude semi-pozitivní. Pro odstranění tohoto nedostatku pro další práci s touto maticí je možné, podobně jako v jednokrokové metodě genomické selekce danou matici vážit aditivní maticí příbuznosti, např.:

$$G^*_{jk} = \lambda G_{jk} + (1 - \lambda) A_{jk}, \quad (26)$$

kde λ představuje váhový koeficient např. 0,99 (Berg a Kettunen, 2016).

2.3.6.2 Runs of Homozygosity

Runs of homozygosity (ROH) jsou úseky DNA, které představují nepřetržité úseky lokusů, které se u jedince vyskytují v homozygotní sestavě, zatímco v populaci se vyskytují v sestavě heterozygotní. Využití ROH k odhadu koeficientu příbuzenské plemenitby vychází z předpokladu, že vlivem rekombinací dochází k „rozlámání“ úseků jednotlivých chromozomů tudíž dlouhé homozygotní úseky v genomu jedince odpovídají výskytu společného předka v několika málo předchozích generacích, a krátké úseky homozygotní sestavy chromozomů naznačují výskyt společného předka jak z matčiny tak otcovy strany ve velmi vzdálené generaci. Tudíž je možné předpokládat, že čím delší homozygotní úseky na chromozomech jsou, tím došlo k příbuzenské plemenitbě v současnějších generacích (Marras et al., 2014). Jak již bylo řečeno ne všechny ROH vznikli příbuzenskou plemenitbou (jsou autozygotní). Pokud je délka úseku ROH kratší než 4Mb, je malá pravděpodobnost, že obsahuje alely identické původem (Ferenčáková et al., 2013). Navíc při různé definici délky ROH dochází k rozdílným odhadům úrovně koeficientu příbuzenské plemenitby (Marras et al., 2014).

2.4 Počítačové algoritmy a metody pro odhad koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti

2.4.1 Přímý odhad koeficientu příbuzenské plemenitby

2.4.1.1 Dle Aguilar a Misztal (2008)

Metoda navržená Aguilarem a Misztalem (2008) je založena na rekurzivním algoritmu využívajícím postupy z tabelární metody (Emik a Terrill, 1949 - viz kapitola 2.4.2.1) a zahrnutí informací o chybějících předcích dle VanRaden (1992) (kapitola 2.3.4). Metoda vyžaduje, aby jedinci byli překódováni na základě roku narození tak, že rodiče jsou v rodokmenu uvedeni dříve než potomci. Pro každého jedince (X) uvedeného v rodokmenu je koeficient příbuzenské plemenitby F_X odhadnut dle vztahu:

$$F_X = 0,5a_{sd}, \quad (27)$$

kde a_{sd} je aditivní koeficient příbuznosti mezi otcem (s) a matkou (d) jedince (X) (Emik a Terrill, 1949). Koeficient a_{sd} je odhadnut rekurzivní metodou, která zahrnuje vyhledání předků a odhad koeficientu příbuznosti mezi otcem (s) a matkou (d). Pro odhad jsou uvažovány tři možnosti:

$$\begin{aligned} a_{XY} &= 0 && \text{jestliže } X = 0, \text{ nebo } Y = 0, \\ a_{XY} &= 1 + F_X && \text{jestliže } X = Y, \\ a_{XY} &= 0,5(a_{sY} + a_{dY}) && \text{v ostatních případech,} \end{aligned} \quad (28)$$

kde jedinec X je mladší než jedinec Y , a s a d představují otce a matku jedince X .

V posledním případě ($a_{XY} = 0,5(a_{sY} + a_{dY})$), pořadí jedinců X a Y mohou být zaměněny tak, aby vztah mezi otcem a matkou jedinců X a Y byl od mladšího po nejstarší, což je vyžadováno, jestliže dva jedinci jsou v přímém původovém vztahu (Emik a Terrille, 1949).

V uvedeném algoritmu $X = 0$ nebo $Y = 0$ značí neznámého rodiče či neznámé oba rodiče. Pro rozšíření algoritmu pro nenulový koeficient příbuzenské plemenitby u neznámých předků, je použita záporná hodnota narození jejich potomka (např. -1996). Necht' b_i je průměrný koeficient příbuzenské plemenitby pro všechny jedince narozené v roce i . Na základě tohoto je možné upravit první pravidlo ($a_{XY} = 0$) na:

$$\begin{aligned} a_{XY} &= 2b_{-x} && \text{jestliže } X < 0 \text{ a } Y > 0 \\ a_{XY} &= 2b_{-y} && \text{jestliže } X > 0 \text{ a } Y < 0 \\ a_{XY} &= 2 \max(b_{-x}, b_{-y}) && \text{jestliže } X < 0 \text{ a } Y < 0 \end{aligned} \quad (29)$$

Koeficient b je odhadován iterativní metodou v každém kroku znova dle přístupu: necht' rok

je rok narození „známého“ jedince X . V prvním kroku jsou koeficientu b_i rovné nule, v následném kroku jsou odhadnuté dle vztahu:

$$b_i = \overline{F_{rok}}, \text{ kde } rok = \text{rok narození jedince.} \quad (30)$$

Algoritmus opakuje kroky dokud nedosáhne konvergenčního kritéria. Průměrné hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby jsou počítány pouze z hodnot jedinců majících oba známé rodiče (VanRaden, 1992).

2.4.2 Sestavení matice příbuznosti

2.4.2.1 Tabelární metoda (Emik a Terrill, 1949)

Odhad matice příbuznosti (A) tabelární metodou vyžaduje seřídění jedinců od 1 do N tak, že rodiče budou předcházet své potomky, a neznámí jedinci v populaci jsou označeni hodnotou 0. Diagonální prvky matice jsou pak odhadnuty ze vztahu:

$$a_{jj} = 1 + 0,5 a_{sd}, \quad (31)$$

a mimodiagonální prvky matice (koeficienty příbuznosti) jsou odhadnuty ze vztahu:

$$a_{ij} = 0,5 (a_{is} + a_{id}), \quad (32)$$

kde s a d jsou rodiče j -tého jedince a jak již bylo popsáno $i < j$. Jestliže rodiče jedince jsou neznámí (s či $d = 0$) tak $a_{oi} = 0$. Protože matice A je symetrická, je možné řešit jen horní (či dolní) trojúhelníkovou matici (Tier, 1990).

2.4.2.2 Dle Hendersona (1976)

Jakákoliv pozitivně definitivní symetrická matice může být zapsána jako součin matice s její transpozicí (Schaeffer, 2010):

$$A = L'L \quad (33)$$

kde L je spodní trojúhelníková matice, která může být získána pomocí Choleskyho rozkladu matice A . Obecně platí, že diagonální prvky matice L nemusí být vždy rovné 1. Tento skutečnost jde řešit dle Henderson (1976):

$$L = TD^{0,5} \quad (34)$$

kde $D^{0,5}$ je diagonální matice obsahující diagonální prvky matice L a T je spodní trojúhelníková matice, která má na diagonále samé jedničky. Pak

$$A = TD^{0,5}D^{0,5}T' \quad (35)$$

$$A = TDT'$$

Nenulové prvky matice T (t_{ij}) jsou koeficienty příbuznosti mezi jedincem i a j .

Předpokladem je že jsou jedinci i a j neinbrední. Tudíž matice T představuje tok genů z generace jedna na další generace. Matice T však představuje pouze přímé vztahy příbuznosti (rodič – potomek). Hodnoty t_{ij} mohou být odhadnuty dle následujících vztahů (Mrode, 2005):

Pro jedince i :

$$t_{ii}=1,$$

jestliže oba rodiče (otec s , matka d) jsou známí:

$$t_{ij} = 0,5(t_{sj}+t_{dj}),$$

jestliže jeden rodič je znám (například otec s):

$$t_{ij} = 0,5(t_{sj}),$$

pokud žádný rodič není znám:

$$t_{ij} = 0.$$

Henderson (1976) uvádí, že jestliže jedinci jsou neinbrední, diagonální prvek matice D má pouze následující hodnoty: 0,5 jestliže oba rodiče jedince jsou známí, 0,75 jestliže jeden rodič jedince je neznámý a 1 jestliže oba rodiče jedince jsou neznámí. Jestliže jeden jedinec je inbrední, tak prvky matice D mohou nabývat mnoho rozdílných hodnot. Quaas (1976) uvádí, že diagonální prvek matice D (D_{ii}) je roven:

$$D_{ii} = (0,5 - 0,25(F_s+F_d)) \quad (36)$$

kde F_s a F_d jsou koeficienty příbuzenské plemenitby otce a matky daného jedince. Jestliže je znám pouze jeden rodič tak

$$D_{ii} = (0,75 - 0,25F_p) \quad (37)$$

kde F_p je koeficient příbuzenské plemenitby známého předka. V případě že nejsou známí oba rodiče D_{ii} je rovno 1.

Z výše uvedené metody byly odvozeny rozdílné postupy pro sestavení matice příbuznosti, či jen odhad koeficientu příbuzenské plemenitby, které jsou optimalizované pro velmi početné populace (Quaas, 1977; Tier, 1990; Meuwissen a Luo, 1992; aj.).

2.4.2.3 Die Colleaua (2002)

Výše uvedené metody sestavování matice příbuznosti (A) je možné řadit do přímých metod, které při sestavování matice příbuznosti postupují element po elementu. Colleau (2002) navrhl metodu, kterou je možné řadit do nepřímých metod. U nepřímých metod je možné sestavovat části matice příbuznosti (v tomto případě řádky matice) současně, což může výrazně zkrátit výpočetní

čas. Colleau (2002) navrhl metodu pro odhad vztahů pro plánované přípařování a následně odvodil postup pro současnou populaci. Tato metoda je v současné době, pro svou výpočetní nenáročnost, hojně používaná pro sestavování matice příbuznosti genotypovaných jedinců v jednokrokové metodě genomické selekce (ssGBLUP).

a) Plánované přípařování

Za předpokladu, že dojde k páření mezi n samci (s_i) a m samicemi (d_i) je celkový počet možných páření nm . Matice příbuznosti mezi potencionálními jedinci (jedinci vzniklí z páření) má hodnotu $nm \times nm$. Necht' vektor x je o hodnoti $nm \times 1$ představuje možnou četnost páření, tj. $\mathbf{1}'x = \text{konstanta}$. Pak očekávaný koeficient příbuznosti s ohledem na jakýkoliv rodičovský pár je roven $x'Ax$. Z uvedeného vztahu vyplývá důležitost vektoru Ax . Colleau (2002) uvádí, že daný vektor je možné získat i bez přímého sestavování matice A .

Necht' matice A_0 , o hodnoti $n_0 \times n_0$, je matice příbuznosti mezi možnými rodiči včetně jejich předků (n_0). Necht' matice A_1 , je matice příbuznosti mezi možnými rodiči a jejich plánovanými potomky (matice A). Jestliže stanovíme, že

$$Ax = y \quad (38)$$

$$A_1x = z \quad (39)$$

pak

$$\begin{pmatrix} A_0 & A_1 \\ A_1 & A \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ x \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} z \\ y \end{pmatrix}. \quad (40)$$

$$\text{Jestliže } A^* = \begin{pmatrix} A_0 & A_1 \\ A_1 & A \end{pmatrix}$$

pak

$$A^{*-1} \begin{pmatrix} z \\ y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ x \end{pmatrix}.$$

Matice A^{*-1} je tzv. řídká matice. Quass (1976) navrhl metodu na sestavení této matice dle vztahu:

$$(\mathbf{I}-\mathbf{T})'\mathbf{D}^{-1}(\mathbf{I}-\mathbf{T}), \quad (41)$$

kde \mathbf{I} je jednotková matice o hodnoti $(n_0+mn) \times (n_0+mn)$ a \mathbf{T} je nulová matice obsahující hodnotu 0,5 v každém řádku odpovídající jedinci, který není považován za zakladatele, na pozici rodičů (vztah rodič a potomek). \mathbf{D} je diagonální matice s hodnotou 1 pro jedince patřící mezi zakladatele a pro ostatní jedince s hodnotou rovnající se $0,5-0,25(F_{otec} + F_{matka})$, kdy se předpokládá znalost koeficientů příbuzenské plemenitby rodičů. Vektor y je pak možné získat vyřešením jednoduché

soustavy rovnic

$$(I-T)' \begin{pmatrix} z_1 \\ y_1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ x \end{pmatrix} . \quad (42)$$

Informace je z vektoru x od nejbližších předků rekurzivně zpracována až k zakladatelům. Následně je tato transformovaná informace zpracovávána od předků až k plánovaným potomkům dle vztahu:

$$(I-T)' \begin{pmatrix} z \\ y \end{pmatrix} = D \begin{pmatrix} z_1 \\ y_1 \end{pmatrix} . \quad (43)$$

V prvním kroku je vektor x přepsán vektory y_1 a z_1 je vytvořen postupně pouze z vektoru y_1 , v důsledku speciální formy pravé strany rovnice. V druhém kroku je vektor $D \begin{pmatrix} z_1 \\ y_1 \end{pmatrix}$ přepsán od shora dolů vektorem z a vektorem y .

b) Současná populace

Necht' matice A je plná matice příbuznosti zahrnující jedince ve sledované populaci a jejich předky. Colleau (2002) uvádí, že výše uvedený postup pro plánované připarování je možné využít i v tomto případě podobně jako ve vztazích (38 a 39):

$$Ax = y \quad (44)$$

$$(I-T)' y_1 = x \quad (45)$$

$$(I-T)' y = Dy_1. \quad (46)$$

Colleau (2002) dále uvádí, že při odhadu vektoru Ax či kvadratické formy $x'Ax$, se při zvyšování počtu informací v rodokmenu zvyšuje požadavek na výpočetní čas odhadu lineárně s počtem jedinců, zatímco u tabelární metody dochází k nárůstu kvadratickému.

2.5 Efektivní velikost populace

Wright (1968) definoval efektivní velikost populace (N_e) jako velikost idealizované populace, která může poskytnout shodný nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby nebo míru změny v proměnlivosti četností alel v pozorované populaci. Tento pojem je základním parametrem široce používaným jako kritérium pro stanovení stavu ohrožení nejen u hospodářských zvířat (FAO, 2000). Jak Falconer a Mackay (1998) uvádějí, N_e je považováno za základní parametr z důvodu, že existuje vztah mezi N_e a nárůstem příbuzenské plemenitby, úrovní fitness a mezi ztrátou genetické proměnlivosti způsobenou náhodným genetickým driftem.

2.5.1 Efektivní velikost populace a idealizovaná populace (Caballero, 1994)

V nekonečně velké populaci a bez přítomnosti mutace, migrace a selekce zůstává četnost alel a genotypů stálá přes jednotlivé generace. Avšak u konečné populace frekvence alel náhodně kolísají z generace na generaci v důsledku omezeného výběru genů. Tento jev je nazýván jevem disperzním, nebo-li *genetický drift*. Díky tomuto genetickému driftu dochází k fixaci alel v populaci. U nestrukturovaných populací je možné genetický drift hodnotit jednoduchým parametrem jako je *efektivní velikost populace* (N_e), který je možné odhadovat i v polních podmínkách. Jak již bylo zmíněno, nejjednodušší podmínky, za kterých může být zmíněný disperzní proces studován je *idealizovaná populace*, která zahrnuje nekonečnou, náhodně se pářící populaci, kterou je možno rozdělit na nekonečně mnoho subpopulací. Každá subpopulace zahrnuje konstantní počet pářících se jedinců (N) za generaci. V každé subpopulaci rodiče vytvářejí nekonečně mnoho samčích i samičích gamet, z kterých pouze u $2N$ gamet dojde k splnutí a k tvorbě N zygot následné generace. V idealizované populaci všichni jedinci přežívají od zygot k dospělým jedincům a každý jedinec má shodnou pravděpodobnost plodit potomstvo. V této idealizované populaci nedochází k systematickým změnám v četnosti alel, nedochází k překrývání generací a jsou uvažovány pouze autozomální lokusy.

V této idealizované populaci je možné sledovat disperzní procesy jako výběr gamet, nebo jako proces příbuzenské plemenitby, neboť oba jevy zvyšují proměnlivost frekvence alel mezi subpopulacemi.

Za těchto idealizovaných podmínek vykazuje výběr gamet binární rozdělení a rozptyl změny genetické proměnlivosti je možné vyjádřit jako:

$$\sigma_{\Delta q}^2 = \frac{q(1-q)}{2N}, \quad (47)$$

kde q je frekvence alel v nekonečné populaci. Koeficient příbuzenské plemenitby v generaci t je pak možno odvodit ze vztahu (3), kde první část představuje kopie genů podle původu (identity by descent) jedinců v generaci $t-1$ a druhá část kopie genů jedince v předchozí generaci. Nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby je pak možno vyjádřit jako:

$$\Delta F = \frac{1}{2N}, \quad (48)$$

kde

$$\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1 - F_t}. \quad (49)$$

V důsledku příbuzenské plemenitby dochází k poklesu heterozygotnosti z generace na generaci dle

vztahu

$$\lambda = \frac{H_t}{H_{t-1}} = 1 - \Delta F, \quad (50)$$

nebo relativně k základní populaci

$$\frac{H_t}{H_o} = 1 - F^t = (1 - \Delta F)^t. \quad (51)$$

Vztah mezi proměnlivostí alel přes subpopulace a koeficientu příbuzenské plemenitby je možné pak vyjádřit jako

$$\sigma_{q,t-1}^2 = q(1-q) \left[1 - \left(1 - \frac{1}{2N} \right)^t \right] = q(1-q) F_t, \quad (52)$$

kde vrácení se o jednu generaci zpět ($t-1$) je z důvodu, že genetický drift začíná o 1 generaci dříve než se vyskytne příbuzenská plemenitba, pokud je uvažováno samooplození. Pokud samooplození není uvažováno (u většiny savců) vzniká genetický drift o dvě generace dříve. Tudíž, při náhodném výběru N jedinců do plemenitby z nekonečně velké populace není zatím přítomna příbuzenská plemenitba, ale již došlo ke genetickému driftu.

Na základě poznatků uvedených výše, je efektivní velikost populace definována jako velikost idealizované populace, která poskytuje nárůst proměnlivosti ve změně frekvence alel, nebo nárůst příbuzenské plemenitby, jakého je dosahováno ve sledované populaci, tj.:

$$N_e = \frac{q(1-q)}{2\sigma_{\Delta q}^2}, \quad \text{nebo} \quad N_e = \frac{1}{2\Delta F}. \quad (53)$$

Tudíž N_e hodnotí míru genetického driftu a změnu příbuzenské plemenitby v populaci (Caballero, 1994).

2.5.2 Rozdíl v počtu samců a samic (Caballero, 1994)

Předpokládejme rozdíly mezi počtem samců (N_n) a samic (N_m), které jsou v průběhu generací konstantní. Polovina genů v jakékoliv generaci (např. $t-1$) pochází od otců a druhá polovina genů pochází od matek. Pravděpodobnost, že dvě alely v generaci $t-1$, které splynou v populaci t v potomka (zygotu) pocházejí od jednoho jedince v generaci $t-2$, je $\frac{1}{4}$ a pravděpodobnost, že pocházejí od plemeníka je tudíž $\frac{1}{4}N_n$ (podobně je tomu u samic). Tudíž pravděpodobnost, že dvě

alely, které splývají v generaci t v zygotu, pocházejí od shodného jedince (bez ohledu na pohlaví) je

$$\frac{1}{4}N_n + \frac{1}{4}N_m. \text{ V idealizované populaci je tato pravděpodobnost rovna } \frac{1}{N}, \text{ což se rovná } \frac{1}{N_e}$$

(Wright, 1931). Z tohoto vztahu je pak možné odvodit, že

$$N_e = \frac{4N_n N_m}{N_n + N_m}. \quad (54)$$

Z výše uvedeného vyplývá, že $N = N_n + N_m$, $n_s = \frac{N_n}{N}$, $m = \frac{N_m}{N}$, tudíž $N_e = 4n_s m N$, z čehož plyne,

že N_e je maximální (a odpovídá přímo N) když $n_s = m = \frac{1}{2}$. V ostatních případech je $N_e < N$. Dále

z výše uvedeného vyplývá, že méně početné pohlaví má vyšší vliv na hodnotu N_e . Například jestliže $n_s = 0,01$ tj. $N_n = 0,01N$ a $N_m = 0,99N$, tudíž $N_e \approx 0,04N = 4N_n$.

2.5.3 Nestejná velikost populace přes generace (Caballero, 1994)

V idealizované populaci je počet pářících se jedinců konstantní (N , nebo N_n , N_m) přes jednotlivé generace. Pokud budeme uvažovat situaci, kdy počty jedinců se během generací mění s N_i jedinců za generaci i , očekávaná heterozygotnost v generaci t vyjádřena relativně k heterozygotnosti v základní generaci je

$$\frac{H_t}{H_o} = \prod_{i=1}^t \left(1 - \frac{1}{2N_i}\right). \quad (55)$$

Pokud nahradíme N_e za N ve vztahu (48) a (51) získáme

$$\frac{H_t}{H_o} = \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^t. \quad (56)$$

Jestliže je populace velká a počet generací malý může být tento vztah upraven na

$$\frac{1}{N_e} \approx \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \frac{1}{N_i} \quad (\text{Wright, 1938}). \quad (57)$$

Při zohlednění rozdílného počtu samců a samic (54) je možné vztah (57) upravit na:

$$\frac{1}{N_e} \approx \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \left(\frac{1}{4N_{n,i}} + \frac{1}{N_{m,i}} \right). \quad (58)$$

Protože se jedná o harmonický průměr, vyplývají ze vztahu dva důležité body:

1) Maximální N_e vzniká tehdy, když $\sum_{i=1}^t N_i$ je konstantní velikostí populace přes jednotlivé generace.

2) N_e je výrazně ovlivněna i snížením počtu jedinců v jednom období.

Z toho vyplývá, že vzniklý efekt hrdla láhve (bottleneck), který způsobil zvýšení hodnoty příbuzenské plemenitby, nemůže být kompenzován pozdějším zvýšením velikosti populace. A to z toho důvodu, že četnost možných mutací je nízká i ve velkých populacích.

Jak již bylo zmíněno, genetický drift vzniká dříve než příbuzenská plemenitba. Pokud se velikost populace mění v průběhu generací, genetický drift závisí na počtu jedinců v generaci. Zatímco příbuzenská plemenitba závisí na počtech jedinců v generaci prarodičů.

2.5.4 Odhad efektivní velikosti populace ze skutečné populace

Jak již bylo uvedeno, výše uvedené postupy jsou odvozené z idealizované populace. Například, vztah (54) představuje možnost zohlednění rozdílného počtu samců a samic v populaci. Vztah (58) navíc zohledňuje možné kolísání počtů jedinců z generaci na generaci. Tyto vztahy však neberou v úvahu příbuznost mezi jedinci a uvažují samčí a samičí jedince za nepříbuzné. Cervantes et al. (2008) uvádí, že předpoklad idealizované populace je však nápomocný při odvození počtu efektivní velikosti populace ve skutečné populaci, ve které dochází k selekci, nenáhodnému páření a k překrývání generací. Gutiérrez et al. (2003) navrhli postup uplatnitelný v reálné populaci, který

využívá nárůstu příbuzenské plemenitby dle roků narození (vztah 53), kde $\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1 - F_{t-1}}$, kde

F_t a F_{t-1} jsou průměrné koeficienty příbuzenské plemenitby v roku (generaci) t a $t-1$. Gutiérrez et al. (2008) však uvádějí, že tato metoda nemusí být spolehlivá v případě, kdy dochází k změně v systému páření. Například pokud dojde po období, kdy byli páření blízcí příbuzní, k změně a jsou páření méně příbuzní jedinci, tato metoda může poskytovat nereálné záporné hodnoty N_e . Gutiérrez et al. (2008) následně odvodil vztah pro odhad realizované efektivní velikosti populace, která odpovídá skutečným populacím. Tuto metodu je možné odvodit takto:

Předpokládejme populaci o velikosti N jedinců odpovídající podmínkám idealizované populace. V těchto podmínkách hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby hypotetické generace t může být získána ze vztahu:

$$F_t = 1 - (1 - \Delta F)^t. \quad (59)$$

Tato myšlenka vychází z hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby a hodnoty ekvivalentu nepřekrývajících se generací (Maignel et al., 1996), pro každého jedince zahrnutého do referenční populace. Pokud bude dále uvažováno, že všichni jedinci v referenční populaci mají shodnou

hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby ($F_i = F_i$) pak nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby může být stanoven jako:

$$\Delta F_i = 1 - \sqrt{1 - F_i}^{EqG_i}, \quad (60)$$

kde EqG_i v tomto případě představuje ekvivalent kompletnosti generací předků (Maignel et al., 1996). Průměrná hodnota ekvivalentu kompletnosti generací předků (Maignel et al. 1996) odpovídá počtu generací v diskretních (nepřekrývajících se) populacích (Wooliams a Mäntysaari, 1995). Z toho vyplývá, že je možné vztah použít na reálné populace. Soubor hodnot ΔF_i odhadnutých pro každého jedince v referenční populaci je následně využit pro odhad N_e referenční populace. Realizovaná N_e je pak přímo odvozena z průměrné hodnoty ΔF_i dle vztahu:

$$N_{eF} = \frac{1}{2\Delta F}. \quad (61)$$

Další metodu, která odpovídá reálným populacím, navrhli Cervantes et al. (2009). Tato metoda je založena na *základě zvýšení hodnoty původového koeficientu*: kdy se pro realizované efektivní velikosti populace využívá zvýšení hodnoty původového (f_{XY}) koeficientu pro všechny

jedince j a k (ΔC_{jk} , Cervantes et al., 2011) s ohledem na $\Delta C_{jk} = 1 - \sqrt{1 - C_{jk}}^{EqG_j + EqG_k}$, kde EqG_j a EqG_k je ekvivalent kompletních generací (Maignel et al., 1996) jedinců j a k , ΔC_{jk} je zvýšení původového koeficientu mezi párem jedinců j a k a C_{jk} je koeficient příbuzenské plemenitby možných potomků jedinců j a k . Realizovaná efektivní velikost populace může být odhadnuta s využitím vztahu (Cervantes et al., 2011):

$$N_{eC} = \frac{1}{2\Delta C}, \quad (62)$$

kde ΔC je průměrné zvýšení původového koeficientu mezi jedinci j a k v referenční populaci.

Rozdíly mezi odhady efektivních velikostí populací založených na nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby (N_{eF}) a nárůstu původového koeficientu mezi dvěma jedinci (N_{eC}) poskytují informace o možném nenáhodném páření mezi jedinci ve sledované populaci či subpopulacích a možném snížení hodnoty genetické rozmanitosti v následujících generacích v důsledku kombinací rodičovských párů. Pokud by populace byla považována za idealizovanou populaci, N_{eF} a N_{eC} by měly dosahovat shodných hodnot. Neshoda mezi těmito parametry poukazuje na preferovaný výběr rodičovských párů. Jinými slovy, porovnání hodnot N_{eC} a N_{eF} umožňuje charakterizaci vlivu preferenčního připařování v populaci (Cervantes et al., 2011). Pokud hodnoty poměru N_{eC}/N_{eF} dosahují hodnoty nižší než 1 je zřejmé, že ve sledované populaci nedochází k preferenčnímu

připřívání, které by rozdělovalo danou populaci na další subpopulace. A naopak, pokud by hodnoty poměru N_{eC}/N_{eF} dosahovaly hodnoty vyšší než 1 znamenalo by to, že v populaci dochází k preferenčnímu připřívání, díky kterému by docházelo k rozdělení populace na další subpopulace. V těchto subpopulacích by hodnoty příbuznosti dosahovaly vyšších hodnot než mezi subpopulacemi a proto by celková příbuznost dosahovala nižších hodnot než průměrný koeficient příbuzenské plemenitby.

Realizovaná efektivní velikost populace může být vyložena jako celková efektivní velikost v průběhu času, který vedl k současné úrovni koeficientu příbuzenské plemenitby od populace zakladatelů.

2.6 Pravděpodobnost původních genů

Malé izolované populace vlivem genetického driftu ztrácejí genetickou rozmanitost. Dokonce i bez přítomnosti selekce, může dojít k zvýšení či snížení četnosti alel z generace na generaci, či může dojít ke ztrátě alel z populace díky genetickému driftu. Mutace nebo imigrace může rovněž snížit ztrátu genetické proměnlivosti. Ztráta proměnlivosti se odráží ve ztrátě heterozygotnosti v populaci a ztrátě alelické proměnlivosti. Nižší heterozygotnosti často ústí v nižší fitness jedinců v důsledku nedostatku proměnlivosti alel a může docházet také k prodloužení odezvy na selekci (Frankham et al., 2003).

2.6.1 Efekt zakladatele (Lacy, 1989)

Vliv genetického driftu je významně závislý na velikosti populace. K velkým výkyvům v alelických frekvencích dochází především u populací využívajících pro tvorbu následné generace jen malý počet rodičů. Ztráta heterozygotnosti a ztráta alel jsou na sobě závislé, avšak přítomnost vzácných alel v populaci má malý vliv na zvýšení heterozygotnosti v populaci. Vzácné alely se z populace ztrácí rychleji než heterozygotnost populace.

$$H_t = H_{t-1} \left(1 - \frac{1}{2N} \right), \quad (63)$$

kde H_t je heterozygotnost v populaci t a N je počet jedinců v reprodukci. Pravděpodobnost ztráty genetické proměnlivosti v jakékoli generaci při náhodném páření je

$$P[\text{ztráty}] = (1-p)^{2N}, \quad (64)$$

kde p je frekvence alel v parentální generaci.

Přenos alel z jedné generace na další je možné rozdělit na dvě části: reprodukční úspěch

jedinců a náhodný výběr alel (která alela z páru na každém lokusu jedinců účastnících se reprodukce se bude vyskytovat v gametách, z kterých vznikli potomci). První část proměnlivosti mezi jedinci účastnícími se reprodukce je pod možné ovlivnit řízením chovu, který ovlivňuje výběr vhodných rodičovských párů následné generace. Při sestavování rodičovských párů je stanovení, která gameta přispěje k tvorbě následné generace je mimo jakoukoliv kontrolu.

Při analýze rodokmenu, která zkoumá ztrátu heterozygotnosti nebo ztrátu alelické proměnlivosti, je nutno začít se „zakladateli“ populace, jedinci s neznámými předky, u kterých se předpokládá, že jsou nepříbuzní.

Průměrný genetický příspěvek každého zakladatele jeho potomkům je možné zjistit z „matice příbuznosti“, která zaznamenává genetickou příbuznost mezi každým párem jedinců v populaci. Očekávaný podíl genů zakladatelů u jejich potomků je roven původovému koeficientu příbuznosti mezi potomky a zakladateli. Tudíž součet koeficientů příbuznosti mezi zakladateli a jejich živými potomky je rovna očekávanému počtu kopií každé alely zakladatelů v žijící populaci.

Zakladatelé jsou stanoveni jako jedinci s neznámými rodiči, u kterých není znám žádný příbuzenský vztah jejich rodičů k dalším jedincům v populaci. Rozbor zakladatelů, podobně jako obecný odhad koeficientu příbuzenské plemenitby, nadhodnocuje genetickou rozmanitost populace, protože u zakladatelů s neznámými předky předpokládáme, že jsou nepříbuzní (viz kapitola 2.3.4). K maximalizaci vztahů genetické proměnlivosti uvnitř uzavřené populace je nutné používat co největší množství potomků každého zakladatele v reprodukci, kdy velké počty potomků každého zakladatele umožňují zabránit náhodné ztrátě genetické proměnlivosti v populaci. Rovnoměrné využití potomků jednotlivých zakladatelů v reprodukci zajišťuje, že alely a genetická proměnlivost zakladatelů nebude redukována a nahrazena převažující frekvencí vybraných alel. V populaci s nerovnoměrným využitím potomků jednotlivých zakladatelů dochází k ztrátě genetické rozmanitosti, v porovnání s populací s rovnoměrným využíváním potomků stejného počtu zakladatelů.

Pro hodnocení ztráty genetické rozmanitosti z důvodu nerovnoměrného zastoupení zakladatelů v populaci byl navržen „ekvivalent zakladatelů“ (f_e). Ekvivalent zakladatelů představuje počet rovnoměrně využívaných zakladatelů, kteří produkují populaci se shodnou genetickou proměnlivostí jako sledovaná populace:

$$f_e = \frac{1}{\sum(q_i^2)}, \quad (65)$$

kde q_i představuje podíl genů, které se vyskytují v žijící populaci zakladatele i , kdy žijící

zakladatelé nejsou zahrnuti do skupiny zakladatelů. Jestliže je ekvivalent zakladatelů roven počtu zakladatelů, tak všichni zakladatelé přispěli do referenční populace rovnoměrným dílem. Například, pokud polovina genů žijící populace pochází od jednoho zakladatele a zbylé dvě čtvrtiny od dvou dalších zakladatelů. V tomto případě je ekvivalent zakladatelů (f_e) roven 2,67.

I když všichni zakladatelé přispívají do analyzované populace rovnoměrně, může docházet ke ztrátě genetické rozmanitosti. V extrémním případě, jestliže jeden potomek zakladatele je rodičem všech jedinců v populaci, pouze jedna alela z alelického páru na lokusu zakladatele je zastoupena v aktivní populaci, druhá alela je tudíž z populace ztracena. Z výše uvedeného důvodu, Lacy (1989) zavedl „ekvivalent genotypu zakladatelů“ (f_{ge}). Tento koeficient hodnotí jak rovnoměrné využití zakladatelů, ale i zda nedošlo ke ztrátě genetické rozmanitosti nerovnoměrným využitím potomků zakladatelů pro tvorbu následné generace. Jinými slovy f_{ge} představuje počet rovnoměrně přispívajících zakladatelů, bez náhodné ztráty alel v generaci potomků, kteří poskytují shodnou genetickou rozmanitost jakou vykazuje referenční populace. Ekvivalent genotypu zakladatelů je odhadován na základě vztahu:

$$f_{ge} = \frac{1}{\sum \left(\frac{q_i^2}{r_i} \right)}, \quad (66)$$

kde r_i je očekávaný podíl alel zakladatele, které jsou zastoupeny v aktivní populaci a q_i představuje podíl genů, které se vyskytují v žijící populaci, zakladatele i .

Ekvivalent genotypu zakladatelů nepodchycuje pouze nerovnoměrné využití zakladatelů v reprodukci, ale také nenávratnou ztrátu části genotypu zakladatelů kvůli efektu hrdla láhve (bottleneck).

2.6.2 Efekt předků (Boichard et al., 1997)

Náhodně vybrané geny z autozomálních lokusů každého jedince mají 50% pravděpodobnost, že pocházejí od otce a 50% pravděpodobnost, že pocházejí od matky. Podobně, mají 25% pravděpodobnost, že pocházejí od určitého prarodiče. Toto jednoduché pravidlo, použité na celý rodokmen, poskytuje pravděpodobnost, že geny pocházejí od určitých zakladatelů (James, 1972). Pokud toto pravidlo aplikujeme na analyzovanou populaci a sečteme pravděpodobnost pro jednotlivé zakladatele, je možné získat očekávaný příspěvek (q_k) zakladatele k . Tento příspěvek zakladatele (q_k) je charakterizován jako očekávaný příspěvek zakladatele do genofondu dané populace. To znamená pravděpodobnost, že náhodně vybraná alela z této populace pochází od zakladatele k .

Výše uvedené postupy jsou však omezeny ignorováním efektu hrdla láhve (bottleneck) v rodokmenu. Uvažujme populaci zahrnující pouze dva vlastní sourozence od dvou nepříbuzných rodičů, kteří se účastní reprodukce. V tomto případě je efektivní počet předků roven dvěma, avšak efektivní počet zakladatelů, pokud známe pouze jejich předky, je roven 4. V případě hlubšího rodokmenu je počet ještě vyšší. Z toho obecně vyplývá, že použitím pouze efektivního počtu zakladatelů při bottlenecku dochází k nadhodnocení možných genů zakladatelů. Toto nadhodnocení se v populacích zvyšuje, čím je větší intenzita selekce. Z tohoto důvodu Boichard et al. (1997) zavádějí pojem *efektivní počet předků*, kde předek může a nemusí být zakladatel. Efektivní počet předků představuje počet předků nutných k vyjádření kompletní genetické rozmanitosti analyzované populace, kdy jsou předkové vybíráni na základě jejich očekávaného příspěvku.

Tito předci však nemusí být zakladatelé, mohou být příbuzní a tudíž jejich příspěvky mohou být nadhodnoceny. Suma jejich příspěvků může být vlivem příbuzenského vztahu vyšší než 1. Z tohoto důvodu jsou uvažovány pouze marginální příspěvky předků, tzn. příspěvky, které ještě nebyly započítány.

Efektivní počet předků může být odvozen ze vztahu (65) jako:

$$f_a = \frac{1}{\sum_{k=1}^f (p_k^2)}, \quad (67)$$

kde p_k představuje marginální příspěvek předka k .

Odvození p_k z q_k může být získáno ze vztahu:

$$p_k = q_k \left(1 - \sum_{i=1}^{n-1} a_i \right), \quad (68)$$

kde $n-1$ představuje počet vybraných rodičů, kteří mohou být rodičem jedince k , a_i představuje příspěvek každého jedince.

2.7 Populační struktura

Rozdělení populací na subpopulace je u většiny organismů obecný jev. Mnoho organismů (populací) přirozeně tvoří subpopulace ve formě stád, hejn, kolonií, či jiných typů seskupování. V případě, že jsou populace rozděleny, je téměř nevyhnutelné, že se vyskytují genetické rozdíly mezi těmito subpopulacemi. Genetickými rozdíly mezi subpopulacemi je myšleno získání alelických četností, které se liší mezi subpopulacemi. Tyto genetické rozdíly mezi subpopulacemi mohou být výsledkem přírodní selekce, která upřednostňuje určité genotypy v rozdílných podmínkách

prostředí jednotlivých podskupin, ale také mohou vyplývat z náhodného procesu při předávání alel z generace na generaci, nebo z náhodných rozdílů ve frekvenci alel mezi zakladateli jednotlivých podskupin (Hartl a Clark, 1997). Nejčastější formou rozdělení populací je *hierarchická struktura*. O populaci s hierarchickou strukturou můžeme mluvit tehdy, jestliže několik subpopulací nižší úrovně může být začleněno do subpopulací vyšších a ty dále do celkové populace.

Protože hierarchické rozdělení populací způsobuje shodný efekt jako příbuzenská plemenitba, může být měřeno v termínech poklesu podílu heterozygotnosti. Rozdělená populace má tři zřetelné úrovně struktury: jednotlivé jedince (organizmy) (I), subpopulace (S) a celkovou populaci (T), kde, H_I = heterozygotnost jedince v populaci:

$$H_I = \frac{\sum_{i=1}^k H_i}{k}, \quad (69)$$

kde k je počet subpopulací, H_S = očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní subpopulaci s náhodným oplozením:

$$H_S = \frac{\sum_{i=1}^k 2 p_i q_i}{k}, \quad (70)$$

H_T = očekávaná heterozygotnost jedince v ekvivalentní celkové populaci s náhodným oplozením:

$$H_T = 2 \bar{p} \bar{q}, \quad (71)$$

kde \bar{p} a \bar{q} představují průměry četnosti alel pro všechny subpopulace. H_I je možné interpretovat jako průměrnou heterozygotnost všech lokusů jedince nebo jako pravděpodobnost heterozygotnosti jakéhokoliv lokusu. H_S představuje úroveň heterozygotnosti, která by se vyskytovala v subpopulaci s náhodným oplozením. Proto je H_S vždy rovna $2p_i q_i$ pro subpopulaci s i s alelovou četností p_i . Hodnota H_T vyjadřuje, heterozygotnost při sloučení všech subpopulací a při náhodném oplození. Pokud označíme alelovou četnost celkové populace p_0 tak H_T je rovno $2p_0 q_0$ (Relichová 2009). Pro kvantifikaci efektu koeficientu příbuzenské plemenitby rozdělené populace, definoval Wright (1969) tzv. *fixační koeficienty*. Tyto koeficienty se rovnají snížení heterozygotnosti očekávané při nenáhodném připárování na jednotlivých úrovních hierarchicky rozdělené populace. Wright (1969) použil tyto fixační koeficienty k popisu rozdělení genetické rozmanitosti uvnitř a mezi subpopulacemi. Celkový koeficient příbuzenské plemenitby jedince (I) v celkové populaci (T) (F_{IT}) rozdělil na:

- F_{IS} -koeficient příbuzenské plemenitby jedinců ve vztahu k jejich dílčí subpopulaci (S) a
- F_{ST} – příbuzenská plemenitby způsobený rozdílností mezi subpopulacemi ve vztahu k celkové populaci.

F_{IS} představuje pravděpodobnost, že dvě alely v jedinci jsou identické dle původu. Jedná se prakticky o koeficient příbuzenské plemenitby, zprůměrovaný přes všechny jedince ze všech subpopulací.

F_{ST} – fixační index – je vliv rozdělení populace na koeficient příbuzenské plemenitby. Jedná se o pravděpodobnost, že dvě náhodně vybrané alely z jakékoliv subpopulace (buď z rozdílných jedinců, nebo z jednoho jedince) jsou identické původem. Při vyšším poměru toku genů mezi subpopulacemi, je tato pravděpodobnost nižší. Při nižším genetickém toku mezi subpopulacemi, se subpopulace více vzdalují a stávají se více inbrední, hodnota F_{ST} roste. Z praktického hlediska to znamená, že pokud je hodnota $F_{ST} = 0$ neexistuje žádný rozdíl mezi subpopulacemi a v případě hodnoty $F_{ST} = 1$ se jedná o dvě naprosto nepřibuzné populace. Z biologického hlediska můžeme říci, že pokud je hodnota $F_{ST} = 0$ tak všechny subpopulace mají alely ve shodné četnosti jako celková metapopulace a každá subpopulace má stejnou četnost heterozygotů jako každá další subpopulace. Pokud jsou hodnoty $F_{ST} = 1$ tak to z biologického hlediska znamená, že veškerá genetická proměnlivost je zapříčiněna rozdíly alelických frekvencí mezi subpopulacemi a že nedochází k segregaci alel mezi jednotlivými subpopulacemi. Dalším možným způsobem jak je možné hodnotit rozdílnost mezi populacemi je pomocí rozptylu alelických frekvencí jednotlivých subpopulací k rozptylu alelických frekvencí celkové metapopulace:

$$F_{ST} = \frac{\text{var}(p)}{\bar{p}\bar{q}}, \quad (72)$$

kde rozptyl alelických četností mezi k subpopulacemi představuje

$$\text{var}(p) = \frac{1}{k} \sum_{i=1}^k (p_i - \bar{p})^2. \quad (73)$$

Pokud existuje velký rozptyl v alelických frekvencích, tak existuje velká rozdílnost mezi subpopulacemi a hodnoty F_{ST} dosahují vyšších hodnot (Hamilton, 2009).

Vztah mezi jednotlivými Wrightovými F-statistikami je možné vyjádřit jako:

$$F_{IT} = F_{IS} + F_{ST} - (F_{IS} \times F_{ST}). \quad (74)$$

Pokud z uvedeného vztahu (74) chceme vyjádřit fixační koeficient dostaneme vztah:

$$F_{ST} = \frac{F_{IT} - F_{IS}}{1 - F_{IS}}. \quad (75)$$

Uvedené Wrightovy F – statistiky je možné také vyjádřit ze vztahu mezi stupněm heterozygotnosti a příbuzenskou plemenitbou ze vztahu [2, $F = 1 - (H_{IP}/H_0)$]. Tento vztah je hlavně používán při odhadování F-statistik při z molekulárně genetických analýzách a vychází se z následující vztahů (Nei, 1987):

$$F_{IS} = 1 - \left(\frac{H_I}{H_S} \right), \quad (76)$$

$$F_{ST} = 1 - \left(\frac{H_S}{H_T} \right), \quad (77)$$

$$F_{IT} = 1 - \left(\frac{H_I}{H_T} \right), \quad (78)$$

kde jak již bylo uvedeno výše H_I je pozorovaná heterozygotnost zprůměrovaná přes všechny subpopulace, H_S je očekávaná heterozygotnost zprůměrovaná přes všechny subpopulace a H_T je očekávaná heterozygotnost celkové metapopulace. Zde se také hodnoty F_{ST} pohybují v rozmezí od 0 do 1, kde 0 opět představuje nulovou rozdílnost mezi subpopulacemi a hodnota 1 představuje fixaci rozdílných alel v jednotlivých subpopulacích (Frankham et al., 2003).

Vzhledem k tomu, že F_{ST} hodnotí rozmanitost mezi subpopulacemi, očekává se, že s časem, pokud mezi populacemi nebude docházet k migraci, bude jeho hodnota narůstat. U malých populací je tento nárůst rychlejší než u populací velkých. Již od hodnoty 0,15 a více je možné považovat za významné rozdíly mezi subpopulacemi. Jak již bylo řečeno maximální hodnota F_{ST} je rovna 1, i když je pozorované maximum obvykle mnohem menší než 1. Wright (1969) navrhl následující kvantifikační vodítka pro interpretaci F_{ST} : rozmezí 0 až 0,05 – malá genetická rozdílnost, rozmezí 0,05 až 0,15 – střední genetická rozdílnost, rozmezí 0,15 až 0,25 – velká genetická rozdílnost a hodnoty F_{ST} nad 0,25 – velmi velká genetická rozdílnost. Nicméně podle Wrighta (1969), není rozdílnost v žádném případě zanedbatelná, dosahuje-li F_{ST} pouze hodnoty 0,05 nebo je-li dokonce ještě nižší.

Snížení stupně heterozygotnosti je možné také vysvětlit pomocí tzv. Wahlundova efektu. Wahlundův efekt se vztahuje k snížení očekávané heterozygotnosti v důsledku rozdělení metapopulace na subpopulace. Znamená to, že jestliže dvě nebo více subpopulací má rozdílné alelické frekvence, tak celková očekávaná heterozygotnost je snížena i tehdy, jestliže jsou jednotlivé subpopulace v Hardy-Weinbergově rovnováze:

$$H_{T(HWE)} = 2pq = 2p(1-p) \quad (79)$$

$$H_{T-\text{podrozdělená}} = \frac{2p_1q_1 + 2p_2q_2}{2} = p_1q_1 + p_2q_2 = p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2) \quad (80)$$

jestliže $p_1 \neq p_2 \Leftrightarrow [p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)] < 2p(1-p)$.

Wahlundův efekt je možné zobecnit na různé subpopulace s různou velikostí takto: heterozygotnost celkové metapopulace je dána střední hodnotou heterozygotnosti z jednotlivých

subpopulací vážená velikostí subpopulací.

Hodnoty F_{IT} je možné rozdělit na F_{ST} v důsledku Wahlundova efektu a F_{IT} v důsledku příbuzenské plemenitby.

Jednotlivé Wrightovy F-statistiky je možné chápat jako:

F_{IS} – snížení heterozygotnosti jedinců v důsledku nenáhodného páření jedinců uvnitř subpopulací

F_{ST} – fixační index – snížení heterozygotnosti subpopulací v důsledku náhodného genetického driftu

F_{IT} – snížení heterozygotnosti jedinců v důsledku nenáhodného páření a rozdělení metapopulace na subpopulace relativně k celkové metapopulaci. F_{IT} odpovídá celkovému koeficientu příbuzenské plemenitby (Curik, 2015 – pers. comm.).

2.7.1 Základní genetické nástroje pro studium genetické rozmanitosti u populace tvořené dílčími subpopulacemi (Caballero a Toro, 2002)

Prvně budou analyzovány nástroje nezbytné pro analýzu genetické rozmanitosti u rozdělené populace na jednotlivé subpopulace. Předpokládejme metapopulaci skládající se z n subpopulací, kde každá subpopulace i má N_i jedinců. Necht' f_{ij} je průměrný párový původový koeficient dle Malécota (1948) (16) mezi jedinci subpopulace i a j , zahrnující všechny $N_i \times N_j$ páry. Zde předpokládáme, že jsou všechny příbuznosti známy zpět až do základní populace (zahrnující zakladatele), tj. že f_{ij} odpovídá hodnotám pravděpodobnosti že jsou alely identické původem (IBD). Tudiž průměrná příbuznost v subpopulaci i je rovna f_{ii} . Dále necht' s_i je průměrná příbuznost jedince sama na sebe samého v subpopulaci i . Pak průměrný koeficient příbuzenské plemenitby v subpopulaci i je roven:

$$F_i = 2s_i - 1 \quad (81)$$

a průměrná vzdálenost (distance) mezi jedinci subpopulací i a j je

$$D_{ij} = \left[\frac{s_i + s_j}{2} \right] - f_{ij}. \quad (82)$$

Hodnoty pro celou metapopulaci pro průměrný koeficient příbuznosti (\tilde{f}), příbuznosti jedince sama na sebe samého (\tilde{s}), průměrný koeficient příbuzenské plemenitby přes jednotlivé subpopulace (\tilde{F}) a průměrná vzdálenost mezi jedinci uvnitř subpopulací (\tilde{D}) jsou:

$$\tilde{f} = \frac{\sum_{i=1}^n f_{ii} N_i}{N_T}, \quad (83)$$

$$\tilde{s} = \frac{\sum_{i=1}^n s_i N_i}{N_T}, \quad (84)$$

$$\tilde{F} = \frac{\sum_{i=1}^n F_i N_i}{N_T}, \quad (85)$$

$$\tilde{D} = \tilde{s} - \tilde{f} = \frac{\sum_{i=1}^n D_{ii} N_i}{N_T}, \quad (86)$$

kde $N_T = \sum_{i=1}^n N_i$ je celková velikost metapopulace. Pro subpopulace i jsou platné následující vztahy:

$$\begin{aligned} \alpha_i &= \frac{F_i - f_{ii}}{1 - f_{ii}}, \\ G_i &= \frac{s_i - f_{ii}}{1 - f_{ii}} = \frac{D_{ii}}{1 - f_{ii}}, \\ -1 &= \frac{F_i - s_i}{1 - s_i}, \end{aligned} \quad (87)$$

kde α_i je odchylka od Hardy-Weinbergovi rovnováhy a G_i je podíl genetické rozdílnosti mezi jedinci subpopulace i , tak že:

$$(1 - \alpha_i) = 2(1 - G_i) \quad \text{a} \quad (1 - f_{ii}) = (1 - s_i) + D_{ii}, \quad (88)$$

pro více detailů viz Caballero a Toro (2000).

Genetická vzdálenost mezi subpopulacemi i a j (Neiovy minimální vzdálenosti – Nei 1987) je možné odhadnout ze vztahu:

$$D_{ij} = D_{ij} - \left(\frac{D_{ii} + D_{jj}}{2} \right) = \left(\frac{f_{ii} + f_{jj}}{2} \right) - f_{ij} \quad (89)$$

a průměrná genetická vzdálenost přes celou metapopulaci je:

$$\bar{D} = \frac{\sum_{i,j=1}^n D_{ij} N_i N_j}{N_T^2}. \quad (90)$$

Konečně, průměrná příbuznosti přes celou metapopulaci je:

$$\bar{f} = \frac{\sum_{i,j=1}^n f_{ij} N_i N_j}{N_T^2} = \frac{\sum_{i=1}^n}{N_T} - \bar{D} = \sum_{i=1}^n \frac{N_i}{N_T} \left[f_{ii} - \frac{\sum_{j=1}^n D_{ij} N_j}{N_T} \right]. \quad (91)$$

Pravá strana vztahu (91) ukazuje průměrnou rozmanitost (heterozygotnost = $1 - \bar{f}$) v závislosti na koeficientu příbuznosti uvnitř subpopulace (první část v závorce) a průměrnou vzdálenost mezi subpopulacemi (druhá část závorky). Wrightovy (1969) F-statistiky známé jako fixační koeficienty je možné získat jako:

$$F_{IS} = \frac{\tilde{F} - \tilde{f}}{1 - \tilde{f}}, \quad (92)$$

$$F_{ST} = \frac{\tilde{f} - \bar{f}}{1 - \bar{f}} = \frac{\bar{D}}{1 - \bar{f}}, \quad (93)$$

$$F_{IT} = \frac{\tilde{F} - \bar{f}}{1 - \bar{f}}, \quad (94)$$

tak že

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

a

$$(1 - \tilde{f}) = (1 - \tilde{f}) + \bar{D} = 1 - \tilde{s} + \tilde{D} + \bar{D} = (1 - \tilde{s}) + (\tilde{s} - \tilde{f}) + (\tilde{f} - \bar{f}). \quad (95)$$

Jestliže všechny alely jsou v metapopulaci rozdílné, tak $\bar{f} = \frac{1}{2N_T}$.

Vztah (93) představuje rozdělení celkové genetické rozmanitosti (heterozygotnosti) $GD_T = (1 - \bar{f})$, na tři komponenty: a) genetickou rozmanitost uvnitř jedinců - $GD_{WI} = (1 - \tilde{s})$, b) genetickou rozmanitost mezi jedinci - $GD_{BI} = (\tilde{s} - \tilde{f})$, c) genetickou rozmanitost mezi subpopulacemi $GD_{BS} = (\tilde{f} - \bar{f})$. Součet genetických rozmanitostí uvnitř jedinců (a) a mezi jedinci (b) dává genetickou rozmanitost uvnitř subpopulace - $GD_{WS} = (1 - \tilde{f})$.

3. Hypotézy

- 1) Ve sledované populaci starokladrubského koně došlo k ztrátě genetické rozmanitosti.
- 2) V populaci starokladrubského koně nebyli v plemenitbě rovnoměrně využíváni všichni jedinci a docházelo k upřednostňování určité skupiny plemeníků či plemenic.

4. Cíl práce

Cílem práce je hodnocení vývoje a současného stavu genetické rozmanitosti u populace starokladrubského koně, která bude založena na studiu rodokmenu a stanovení faktorů, které mohou ovlivňovat genetickou proměnlivost u tohoto plemene.

5. Materiál a metody

5.1 Data

Hodnocení genetického založení bylo uskutečněno na základě rodokmenových informací. Data z rodokmenů registrovaných jedinců v plemenné knize starokladrubského koně obsahovala informace od roku 1729 do 31.6.2013 a zahrnovala 50 generací předků. Data poskytla Rada plemenné knihy starokladrubského koně ($n = 7971$). Populační analýza byla uskutečněna na základě referenční populace, která byla definována jako jedinci, kteří se mohou v současnosti účastnit reprodukce ($n=612$). Jednotlivé populační parametry byly hodnoceny na celé referenční populaci a pak zvlášť v barevných variantách (bělouš - $n=297$ a vraník - $n=315$) a to z důvodu odděleného chovu těchto dvou barevných variant.

5.2 Demografické parametry

Generační interval je definován, jako průměrný věk rodičů při narození potomka, který byl zařazen do reprodukce (James, 1977). Generační interval zahrnuje čtyři reálné cesty genetického přenosu: od otce na syna, od matky na dceru, od matky na syna a od otce na dceru.

5.3 Hodnocení kompletnosti rodokmenu

Kompletnost rodokmenu a počet rodičovských generací ovlivňuje odhady koeficientu příbuzenské plemenitby a koeficientu příbuznosti mezi jedinci. Úroveň kompletnosti rodokmenu s využitím *indexu kompletnosti rodokmenu (PCI)*, který byl hodnocen jako podíl známých předků v každé generaci pro každého jedince (MacCluer et al., 1983). Celkový index kompletnosti rodokmenu je vyjádřen jako harmonický průměr otcovských a mateřských indexů:

$$PIC_{jedince} = \frac{4C_{otec}C_{matka}}{C_{otec} + C_{matka}}, \quad (96)$$

kde C_{otec} a C_{matka} jsou příspěvky z otcovské a mateřské strany:

$$C = \frac{1}{d} \sum_{i=1}^d a_i, \quad (97)$$

kde a_i je podíl známých předků v generaci i a d je počet generací předků, které jsou brány v úvahu.

Ekvivalent kompletních generací předků (EqG) v rodokmenu byl odhadnut pomocí vztahu $\Sigma(1/2)^n$ (Maignel et al., 1996), kde n je počet generací mezi jedincem a jeho předkem.

5.4 Pravděpodobnost originálních genů

Genetická proměnlivost byla hodnocena z rodokmenových hodnot pomocí následujících parametrů:

Celkový počet zakladatelů byl stanoven jako celkový počet předků s neznámými rodiči.

Efektivní počet zakladatelů byl definován jako počet zakladatelů, kteří vysvětlují shodnou úroveň genetické proměnlivosti jako je pozorována u referenční populace (Lacy, 1989). Tento parametr je možné také vysvětlit jako pravděpodobnost, že dva náhodně vybrané geny z analyzované populace pocházejí od stejného zakladatele (James, 1972). Efektivní počet zakladatelů byl odhadnut pomocí vztahu:

$$f_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^z q_i^2}, \quad (98)$$

kde q_i je genetický příspěvek i -tého zakladatele do referenční populace.

Efektivní počet předků (f_a) je definován jako minimální počet předků, ne nezbytně zakladatelů, kteří vysvětlují stejnou genetickou rozmanitost jako je v referenční populaci (Boichard *et al.*, 1997). Efektivní počet předků byl získán po stanovení marginálního genetického příspěvku každého předka. Parametr f_a představuje ztrátu genetické proměnlivosti způsobenou efektem hrdla láhve (bottleneck), který je způsoben nerovnoměrným příspěvkem mezi reprodukcujícími se jedinci do následujících generací. Efektivní počet předků byl odhadnut pomocí vztahu:

$$f_a = \frac{1}{\sum_{i=1}^{an} p_i^2}, \quad (99)$$

kde p_i je marginální genetický příspěvek předka i , a an je celkový počet předků

Ekvivalent genotypů zakladatelů (f_{ge}) je definován jako efektivní počet předků s nenáhodnou ztrátou genů zakladatelů, kteří vysvětlují shodnou genetickou proměnlivost jako je v referenční populaci (Lacy, 1989). Ekvivalent genotypů zakladatelů představuje ztrátu genetické proměnlivosti způsobenou jak nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů a náhodnou ztrátou alel způsobenou genetickým driftem (Lacy, 1989). Ekvivalent genotypu předků byl odhadnut pomocí vztahu dle Caballero a Toro (2000):

$$f_{ge} = \frac{1}{2\overline{f_{XY}}} \quad , \quad (100)$$

kde $\overline{f_{XY}}$ je průměrný původový koeficient v referenční populaci. Dle Caballero a Toro (2000) je možné odhadnout průměrný původový koeficient ze vztahu:

$$\overline{f_{XY}} = \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n a_{ij}}{2n^2} \quad , \quad (101)$$

kde a_{ij} představuje prvky matice příbuznosti (aditivní koeficient příbuznosti) a n je počet jedinců v rodokmenu. *Efektivní počet zakladatelů* (N_{enf}) představuje efekt genetického driftu v generaci jedinců, kteří nejsou považováni za zakladatele. Tento parametr byl získán z následujícího vztahu v souladu s Caballero a Toro (2000):

$$\frac{1}{f_{ge}} = \frac{1}{f_e} + \frac{1}{N_{enf}} \quad . \quad (102)$$

Genetický příspěvek zakladatelů do referenční populace byl odhadnut jako průměrný koeficient příbuznosti (AR – kapitola 5.5) mezi zakladatelem a jedinci zahrnutými do referenční populace celého plemene, či jednotlivých barevných variant (Gutiérrez a Goyache, 2005).

Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a zakladatelek mateřských rodin současné aktuální populace starokladrubských koní definované dle Volence (2004). V tomto případě za zakladatele byly uvažováni nikoliv jedinci bez známých předků (f), kteří jsou běžně uvažováni jako zakladatelé populace, ale hřebci a klisny, kteří jsou zakladatelé linií a rodin současné aktuální populace starokladrubských koní a jsou označeni jako nositelé a nositelky 100 % původních starokladrubských genů, dle metodiky Volence (2004).

5.5 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_i) a koeficient příbuznosti (AR)

Koeficient příbuzenské plemenitby: Koeficient příbuzenské plemenitby každého jedince byl odhadnut s využitím tabelární metody (Falconer a Mackay, 1996) se zohledněním metody dle VanRadena (1992), která umožňuje zohlednit chybějící jedince v rodokmenu:

$$F_i = a_{ii} - 1, \quad (103)$$

kde F_i je koeficient příbuzenské plemenitby jedince i , a a_{ii} je aditivně genetická příbuznost mezi jedincem i a sebou samotným.

Průměrný koeficient příbuznosti pro každého jedince (AR) byl odhadnut jako průměrný koeficient zahrnující průměr z řádků matice příbuznosti A příslušící danému jedinci. Tento koeficient představuje pravděpodobnost, že náhodně vybraná alela se vyskytuje ve vybraném jedinci nebo uvnitř skupiny jedinců (Goyache *et al.*, 2003).

5.6 Efektivní velikost populace (N_e)

Realizovaná efektivní velikost populace (N_e) představuje počet nepříbuzných jedinců, kteří mohou způsobit shodný nárůst hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby jaký je dosahován v referenční populaci. Realizovaná efektivní velikost populace (N_e) byla odhadnuta pomocí dvou metod:

Na základě nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby: První metoda pro odhad realizované efektivní velikosti populace je založena na základě nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby jedince ΔF_i (Gutierrez *et al.*, 2009), s ohledem na $\Delta F_i = 1 - e^{-EqG_i} \sqrt{1 - F_i}$, kde F_i je koeficient příbuzenské plemenitby jedince i a EqG_i je ekvivalent kompletnosti generací předků jedince i . Realizovaná efektivní velikost populace byla odhadnuta s využitím vztahu (Cervantes *et al.*, 2008):

$$N_{eF} = \frac{1}{2\overline{\Delta F}}, \quad (104)$$

kde $\overline{\Delta F}$ je průměrný nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby v referenční populaci.

Na základě zvýšení hodnoty původového koeficientu: Druhá metoda pro odhad realizované efektivní velikosti populace je založena na základě zvýšení hodnoty původového koeficientu pro všechny

jedince i a k (ΔC_{jk} , Cervantes *et al.*, 2011) s ohledem na $\Delta C_{jk} = 1 - \frac{EqG_i + EqG_j}{2} \sqrt{1 - C_{jk}}$, kde EqG_i a EqG_j je ekvivalent kompletních generací (Maignel *et al.*, 1996) jedinců i a j , ΔC_{jk} je zvýšení původového koeficientu mezi párem jedinců j a k a C_{jk} je koeficient příbuzenské plemenitby možných potomků jedinců j a k . Realizovaná efektivní velikost populace byla odhadnuta s využitím vztahu (Cervantes *et al.*, 2011):

$$N_{eC} = \frac{1}{2\overline{\Delta C}}, \quad (105)$$

kde $\overline{\Delta C}$ je průměrné zvýšení koeficientu příbuzenské plemenitby mezi všemi jedinci j a k v referenční populaci.

5.7 Ztráta genetické rozmanitosti

Ztráta genetické rozmanitosti v referenční populaci v důsledku genetického driftu, nebo nerovnoměrného příspěvku předků byla odvozena z efektivního počtu zakladatelů (f_e) a ekvivalentu genotypu zakladatelů (f_{ge}). Celková ztráta genetické rozmanitosti způsobená genetickým driftem nebo efektem hrdla láhve byla odhadnuta pomocí vztahu (Lacy, 1995):

$$1-GD, \quad (106)$$

$$\text{kde } GD = 1 - \frac{1}{2f_{ge}}. \quad (107)$$

Ztráta genetické rozmanitosti způsobená nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů v důsledku genetického driftu byla odhadnuta pomocí vztahu:

$$1-GD^*, \quad (108)$$

$$\text{kde } GD^* = 1 - \frac{1}{2f_e}, \quad (109)$$

přičemž rozdíl mezi GD a GD^* představuje ztrátu genetické rozmanitosti způsobenou genetickým driftem v generacích jedinců, kteří nejsou považováni za zakladatele a odpovídají převrácené hodnotě vztahu $2N_{enf}$:

$$GD - GD^* = \frac{1}{2N_{enf}}. \quad (110)$$

F - statistiky

Genetická rozmanitost mezi barevnými variantami byla odhadnuta na základě genealogických informací s využitím Wrightových F -statistik (Wright, 1969) pro celkovou metapopulaci a pro každou barevnou variantu starokladrubskeho koně. F -statistiky (Wright, 1969) celková genetická rozmanitost po odstranění subpopulace i (GD_{Ti}) a podíl genetické rozmanitosti mezi jedinci subpopulace i (G_i) byly odhadnuty na základě vztahu dle Caballero a Toro (2002):

$$F_{IS} = \frac{\tilde{F} - \tilde{f}}{1 - \tilde{f}}, \quad F_{ST} = \frac{\tilde{f} - \bar{f}}{1 - \bar{f}} = \frac{\bar{D}}{1 - \bar{f}}, \quad F_{IT} = \frac{\tilde{F} - \bar{f}}{1 - \bar{f}}, \quad G_i = \frac{s_i - f_{ii}}{1 - f_{ii}} \quad (111)$$

kde F_{IS} , F_{ST} a F_{IT} jsou Wrightovy fixační koeficienty; \tilde{f} a \tilde{F} jsou průměrný původový koeficient a průměrný koeficient příbuzenské plemenitby pro celou metapopulaci; \bar{f} je průměrný původový koeficient přes jednotlivé subpopulace; \bar{D} je průměrná genetická vzdálenost (Nei, 1987); s_i je průměrná hodnota původového koeficientu jedince sama na sebe samého v subpopulaci i a f_{ii} je průměrný původový koeficient v subpopulaci i . Podíl příspěvku každé subpopulace do průměrného

původového koeficientu přes jednotlivé subpopulace (\bar{f}) byl odhadnut pomocí vztahu:

$$\text{Podíl příspěvku subpopulace } i \text{ do } \bar{f} = \frac{N_i}{N_T} \left[f_{ii} - \frac{\sum_{j=1}^n D_{ij} N_j}{N_T} \right]. \quad (112)$$

kde D_{ij} je genetická vzdálenost mezi subpopulacemi i a j (Neiova minimální vzdálenost, Nei 1987), N_i , N_j , N_T jsou počty jedinců v subpopulaci i , j a v celkové metapopulaci. Ztráta/zisk genetické rozmanitosti při zániku jedné barevné subpopulace z celkového genofondu metapopulace byl odhadnut dle Caballero a Toro (2002). Tento příspěvek subpopulace i od \bar{f} se skládá ze dvou částí: průměrného původového koeficientu uvnitř subpopulace (f_{ii}) mínus průměrná genetická vzdálenost mezi subpopulací i a ostatními subpopulacemi (Caballero a Toro, 2002). F-statistiky byly standardizovány s ohledem na velikost jednotlivých subpopulací (Bartolomé et al., 2010):

$$f_{ii}^M = f_{ii}^{N_i} - \frac{s_i}{N_i} + \frac{s_i}{M} = f_{ii}^{N_i} + \frac{(N_i - M) s_i}{MN_i}, \quad (113)$$

kde s_i je průměrná příbuznost jedince sama na sebe samého v subpopulaci i a $f_{ii}^{N_i}$ a f_{ii}^M jsou průměrné původové koeficienty uvnitř subpopulace i s originálním počtem jedinců a průměrný původový koeficient uvnitř subpopulace i s průměrnou velikostí subpopulací, N_i je počet jedinců v subpopulaci i a M je průměrný počet jedinců všech analyzovaných subpopulací.

Ostatní komponenty celkové genetické rozmanitosti, zahrnující genetickou rozmanitost uvnitř jedinců ($GD_{WI} = (1 - \tilde{s})$), genetickou rozmanitost mezi jedinci ($GD_{BI} = (\tilde{s} - \tilde{f})$), genetickou rozmanitost uvnitř subpopulací ($GD_{WS} = (1 - \tilde{f})$) a genetickou rozmanitost mezi subpopulacemi ($GD_{BS} = (\tilde{f} - \bar{f})$) byly stanoveny dle Caballero a Toro (2002), kde \tilde{s} je průměrný původový koeficient jedince sama na sebe samého, \tilde{f} je průměrný původový koeficient pro celou metapopulaci, \bar{f} je průměrný původový koeficient přes jednotlivé subpopulace.

Efektivní počet migrantů za jednu generaci mezi barevnými variantami (N_m) byl odhadnut pomocí vztahu (Wright, 1969):

$$N_m = \frac{1 - F_{ST}}{4 F_{ST}}. \quad (114)$$

Analýza genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi

Popis linií starokladrubskeho koně a rok narození zakladatele linie je uveden v tabulce 2. Genetická rozmanitost mezi otcovskými liniemi byla hodnocena pomocí průměrného koeficientu příbuznosti (dle Malékota, 1948). Průměrný původový koeficient příbuznosti (dle Malékota, 1948) byl odhadnut dle Caballero a Toro (2000) pomocí vztahu (111). Průměrná hodnota koeficientu příbuznosti byla standardizována na počty jedinců v jednotlivých liniích dle metodiky Bartolomé et al. (2010). Efektivní počet migrantů za jednu generaci mezi otcovskými liniemi (N_m) byl odhadnut pomocí vztahu (114).

Míra genetické podobnosti na základě průměrných koeficientů příbuznosti mezi jednotlivými otcovskými liniemi byla posouzena metodou shlukové analýzy za využití procedury VARCLUS programového balíku SAS (SAS, 2005). Vstupní data tvořila průměrná hodnota aditivního koeficientu příbuznosti (a_{ij}) mezi liniemi.

Tabulka 2. Název, barevná varianta, rok narození, plemeno, země původu zakladatele linie starokladrubskeho koně a počty jedinců v hodnocených liniích.

Název	Barva	Nar.	Plemeno	Původ	Počty jedinců
Generale	bělouš	1787	starokladrubske	Česká republika	39
Generale - Generalissimus	bělouš	1938	starokladrubske	Slovensko	50
Favory	plavák	1779	starokladrubske	Slovensko	82
Favory - Generalissimus	bělouš	1965	starokladrubske	Česká republika	45
Sacramoso	bělouš/vraník	1800	italskošpanělské	Itálie	190
Solo	vraník	1927	starokladrubske	Česká republika	105
Siglavi Pakra	vraník	1946	lipické	Slovensko	39
Romke	vraník	1966	fríské	Nizozemsko	35
Rudolfo	bělouš	1968	lusitano	Portugalsko	22

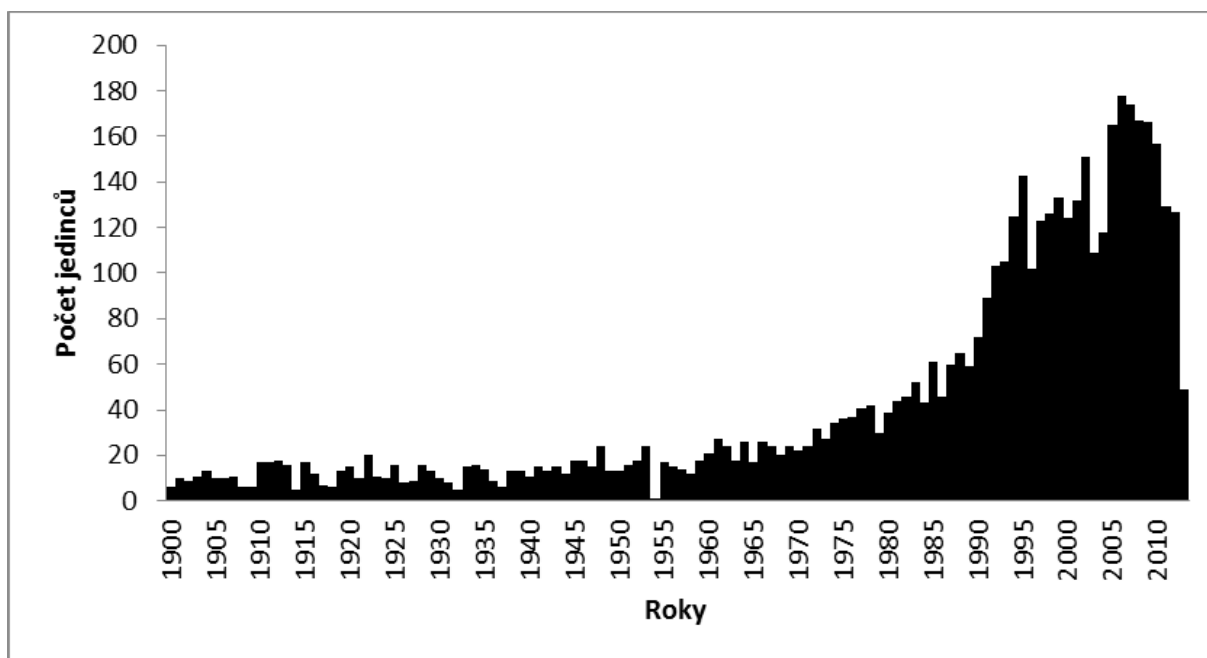
5.8 Programové vybavení

Zpracování a příprava vstupních databází byla uskutečněna programovým balíkem SAS (2005). Na základě výše uvedených metod byl pro odhad jednotlivých populačních parametrů vyvinut samostatný počítačový program, v programovém jazyku Fortran 90. Program je dostupný na žádost u autorky.

6. Výsledky

6.1 Vývoj stavů koní zaregistrovaných do plemenné knihy

Počet narozených jedinců zapsaných do plemenné knihy starokladrubského koně od roku 1900 je uveden v grafu 2. Počet jedinců, kteří jsou každoročně zaregistrováni v plemenné knize mezi roky 1900 až 1970 byl konstantní, přibližně 20 jedinců za rok, z toho 20% hřebců a 80% klisen. Mezi roky 1970 až 2006 došlo k nárůstu registrovaných jedinců. V současných letech, dochází naopak v počtu registrovaných jedinců k poklesu. Mezi roky 1990 až 2013 byl průměrný počet hřebců zaregistrovaných v plemenné knize přibližně 63 a přibližně 65 klisen. Největší počet zaregistrovaných hřebců do plemenné knihy byl v roce 2006 (87 hřebců) a klisen bylo nejvíce zaregistrováno v roce 2009 (99 klisen).



Graf 2. Počty zapsaných jedinců do plemenné knihy dle jednotlivých let

6.2 Generační interval

Hodnoty generačního intervalu (L) v celé a v referenční populaci, rozdělené pro jednotlivá pohlaví jsou uvedeny v tabulce 3. Z hodnot L vyplývá, že u jedinců zařazených do referenční populace byla zjištěna nižší hodnota v porovnání s celou populací. Vraníci dosahují nižších hodnot než bělouši. Z výsledku dále vyplývá, že matky zůstávají v reprodukci kratší dobu, než otcové.

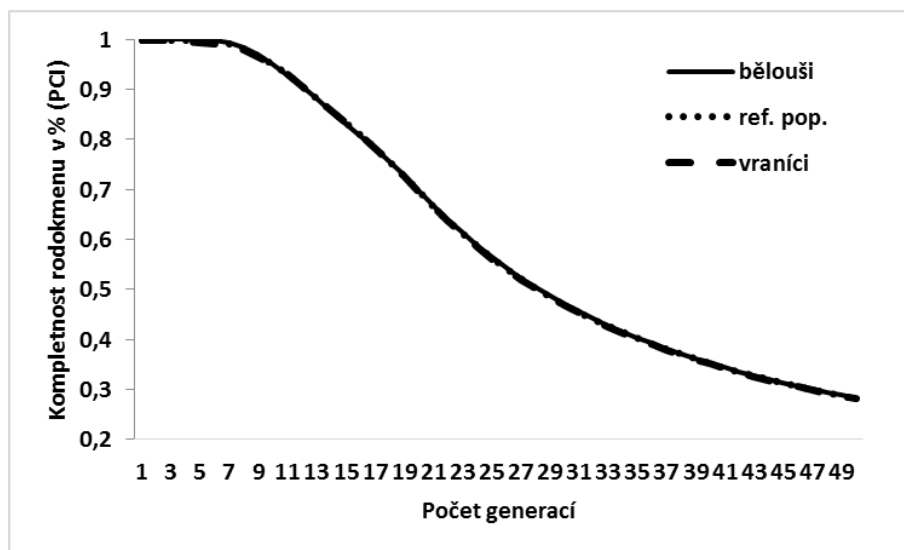
Tabulka 3. Generační interval

	Celá populace	Populace		
		referenční	běloušů	vraníků
Otec – syn	12,01	11,91	12,50	11,32
Otec – dcera	12,28	11,46	12,02	10,94
Matka – syn	10,43	9,39	9,67	9,10
Matka – dcera	10,47	10,20	10,28	10,12

6.3 Kvalita rodokmenových informací

Kompletnost rodokmenové informace, která udává procento známých předků jedince v dané generaci a byla hodnocena pomocí indexu kompletnosti rodokmenu (*PCI*), pro sledované subpopulace je uvedena v grafu 3. Tento graf znázorňuje kompletnost rodokmenu referenční populace po 50 generací, které byly nalezeny v databázi. Z grafu také vyplývá, že mezi celou referenční populací a jednotlivými barevnými variantami nejsou žádné rozdíly. V průměru je známo 100 % kompletního rodokmenu do šesté generace pro celou referenční populaci starokladrubského koně, do sedmé generace pro variantu běloušů a do šesté generace u varianty vraníků. Do 90% kompletnosti generací v průměru bylo zjištěno do dvanácté generace u celé referenční populace, varianty běloušů a vraníků. Z grafu vyplývá, že zanedbatelně vyšší hodnoty kompletnosti generací byly zjištěny u varianty běloušů než vraníků, tyto rozdíly jsou však statisticky neprůkazné. U barevných variant i u celé referenční populace dochází k výraznějšímu poklesu procent kompletnosti rodokmenu mezi osmou a devátou generací. Kompletnost rodokmenu do 50% byla zaznamenána do dvacáté osmé generace u celé populace i u varianty běloušů a vraníků. V 49 generaci předků byla zjištěna u všech sledovaných populací kompletnost rodokmenu 28%.

Průměrný ekvivalentní počet generací předků byl 15,11; 15,16 a 15,08 a pohyboval se v rozmezí 6,50 – 17,28; 9,07 – 17,28 a 6,50 – 16,90 pro referenční populaci, subpopulaci běloušů a subpopulaci vraníků.



Graf 3. Komplettnost rodokmenu u referenční populacemi

6.4 Pravděpodobnost originálních genů

Parametry popisující genetickou proměnlivost populace, které je možno odvodit z pravděpodobnosti originálních genů jsou uvedeny v tabulce 7. Celkový počet zakladatelů (f) byl stanoven na hodnoty 1058 jedinců pro celou referenční populaci, 988 a 678 jedinců pro variantu běloušů a vraníků. Efektivní počet zakladatelů pro celou referenční populaci pak představoval pouze 8,76 %, 9,45 % a 11,49 % z celkového počtu zakladatelů. Efektivní počet předků (f_a) dosahoval ještě nižší hodnoty než efektivní počet zakladatelů (f_e), kdy pro celou referenční populaci byl odhadnut počet 17,16 jedinců a pro jednotlivé barevné varianty 13,38 jedinců pro bělouše a 9,01 jedinců pro vraníky. Další pokles jedinců byl zaznamenán u ekvivalentu genotypu předků – 4,78; 3,96 a 2,95 pro celou referenční populaci, pro bělouše a vraníky. Poměr efektivního počtu zakladatelů ku efektivnímu počtu předků (f_e/f_a) spolu s poměrem ekvivalentu genotypu předků ku efektivnímu počtu předků (f_{ge}/f_a) vykazovaly porovnatelné hodnoty ve všech analyzovaných populacích. Hodnoty těchto obou poměrů poukazují na skutečnost, že všechny analyzované populace byly ovlivněny efektem hrdla láhve a genetickým driftem.

Graf 4. ukazuje kumulativní marginální příspěvek nejvíce významných předků. Z grafu vyplývá, že přibližně šest předků je potřeba k vyjádření 50 % celkové genetické variance v referenční populaci. Z těchto šesti nejvýznamnějších předků bylo pět předků starokladrubského plemene – dva jedinci barevné varianty vraník a narodili se v letech 1920 a 1957; tři jedinci barevné varianty bělouš a narodili se v letech 1787, 1924 a 1938 a jeden předek byl plemene lipicán a narodil se v roce 1938 (tabulka 4 - 6). Nejvíce významný předek vysvětlil z celkové genetické proměnlivosti referenční populace 14 %, u varianty běloušů 15 % a u varianty vraníků celých 24 %.

Tabulka 4. Genetický příspěvek prvních dvaceti nejvýznamnějších předků pro referenční populace celého plemene

Obs.	referenční populace						
	IC	Jméno	přísp.	rok	poh.	pot.	plem.
1	1287	Solo Narcis IV	0,1438	1957	M	56	3
2	2365	Sacramoso XXIX	0,0907	1920	M	8	3
3	1472 92	Favory, Favory - Bab.	0,0752	1938	M	17	7
4	13289	-	0,0695	1787	M	10	83
5	1284	Siglavi Pakra Favorina I	0,0556	1965	M	42	3
6	1275	Generalissimus XXIII	0,0519	1938	M	37	2
7	1509	Sacramoso Roma XXXVI	0,0490	1961	M	20	3
8	1281	Romke,Romke	0,0460	1966	M	58	22
9	1273 5314	Favory XX - 7/Favory XXII	0,0385	1960	M	28	7
10	1474	Generale XXXVII	0,0382	1936	M	23	2
11	1285	Solo Narcis II	00330	1952	M	18	3
12	1279 289	Rudolfo, Rudolfo	0,0280	1968	M	39	208
13	1501 30	Maestoso, Maestoso I	0,0257	1928	M	12	7
14	34679 266	Neapolitano Gratia - 4	0,0217	1921	M	2	7
15	22593 584	Generale XXXV	0,0214	1941	M	3	2
16	22533 416	Shagya I	0,0188	1929	M	4	2
17	22380 416	Shagya I	0,0181	1961	M	2	3
18	22416 184	Magnifica (Non.XXX)	0,0173	1957	F	5	3
19	22591 406	Generale XXXIV	0,0163	1929	F	3	2
20	22315 154	Bárta	0,0152	1953	F	2	58

kde: obs. - pořadové číslo, ič – identifikační číslo jedince dle plemenné knihy, jméno – jméno jedince, přísp. - genetický příspěvek jedince do referenční populace, rok – rok narození jednice, poh. - pohlaví jedince (M – hřebec, - F klisna), pot. - počet přímých potomků jedince, plem. - plemenná příslušnost[2 - starokladrubský bělouš, 3 – starokladrubský vraník, 7 - lipický kůň, 22 - fríský kůň, 58 - orlovský klusák, 83 - starokladrubský kůň (bez barevného označení), 208 - lusitano]

Tabulka 5. Genetický příspěvek prvních dvaceti nejvýznamnějších předků pro referenční populace bílé varianty

Obs.	bělouši					
	IC	Jméno	přísp.	rok	poh.	Pot. plem.
1	14723 92	Favory, Favory - Bab.	0,1490	1938	M	17 7
2	1275	Generalissimus XXIII	0,1360	1938	M	37 2
3	1471	Generale XXXIV	0,1034	1920	M	14 2
4	1273 5314	Favory XX - 7/Favory XXII	0,0797	1960	M	28 7
5	1279 289	Rudolfo	0,0577	1968	M	39 208
6	2365	Sacramoso XXIX	0,0552	1920	M	8 3
7	22566 278	Shagya I	0,0547	1922	F	4 83
8	22593 584	Generale XXXV	0,0405	1941	F	3 2
9	22533 416	Shagya I	0,0393	1929	F	4 2
10	1477 2092	Sacramoso XXXIII - 5	0,0347	1949	M	29 2
11	1287	Solo Narcis IV	0,0337	1957	M	56 3
12	22508 80	Napoleone (Jó)	0,0184	1900	F	4 3
13	22495 119	Generalissimus XIX(Carpetta)	0,0153	1916	F	6 2
14	22568 334	Shagya (29 Idea)	0,0139	1925	F	5 2
15	28374 607	Shagya VI	0,0139	1943	F	3 2
16	1281	Romke	0,0126	1966	M	58 22
17	2274 2729	Legion	0,0124	1950	M	5 58
18	2393	Neapolitano Gratia	0,0122	1904	M	8 7
19	2363	Sacramoso Aja XXVII	0,0121	1907	M	9 3
20	4062	Č 1056 Káča	0,0090	1983	F	7 7

kde: obs. - pořadové číslo, ič – identifikační číslo jedince dle plemenné knihy, jméno – jméno jedince, přísp. - genetický příspěvek jedince do referenční populace, rok – rok narození jedince, poh. - pohlaví jedince (M – hřebec, - F klisna), pot. - počet přímých potomků jedince, plem. - plemenná příslušnost.[2 - starokladrubský bělouš, 3 – starokladrubský vraník, 7 - lipický kůň, 22 - fríský kůň, 58 - orlovský klusák, 83 - starokladrubský kůň (bez barevného označení), 208 - lusitano]

Tabulka 6. Genetický příspěvek prvních dvaceti nejvýznamnějších předků pro referenční vrané varianty

Obs.	vraníci						
	IC	Jméno	přísp.	rok	poh.	pot.	plem.
1	1287	Solo Narcis IV	0,2384	1957	M	56	3
2	2365	Sacramoso XXIX	0,1306	1920	M	8	3
3	1284	Siglavi Pakra Favorina I	0,1027	1965	M	42	3
4	1509	Sacramoso Roma XXXVI	0,0975	1961	M	20	3
5	6215	-	0,0769	1966	M	58	22
6	1285	Solo Narcis II	0,0618	1952	M	18	3
7	22380	209 Majka (S XXXII)	0,0449	1961	F	2	3
8	1501	30 Maestoso	0,0434	1928	M	12	7
9	22416	184 Magnifica (Non.XXX)	0,0334	1957	F	5	3
10	4225	Sacramoso Xerxes XXXIX	0,0262	1979	M	49	3
11	22315	154 Bárta	0,0252	1953	F	2	58
12	22341	189 Isida	0,0179	1958	F	2	3
13	22392	143 Elektra	0,0126	1952	F	3	3
14	1277	980 Favory IV - 12, Generalissimus XXIX	0,0108	1965	M	85	2
15	22458	177 Seconda (928 Solo I)	0,0094	1956	F	6	2
16	22333	287 Candelina (F VII)	0,0092	1973	F	12	3
17	1280	Nonius Majmona XLV	0,0073	1965	M	15	3
18	22483	VČ 112 Sázava (G XLIV)	0,0063	1974	F	15	2
19	22446	164 Roma	0,0049	1955	M	2	3
20	22431	198 Maculina	0,0033	1959	M	5	3

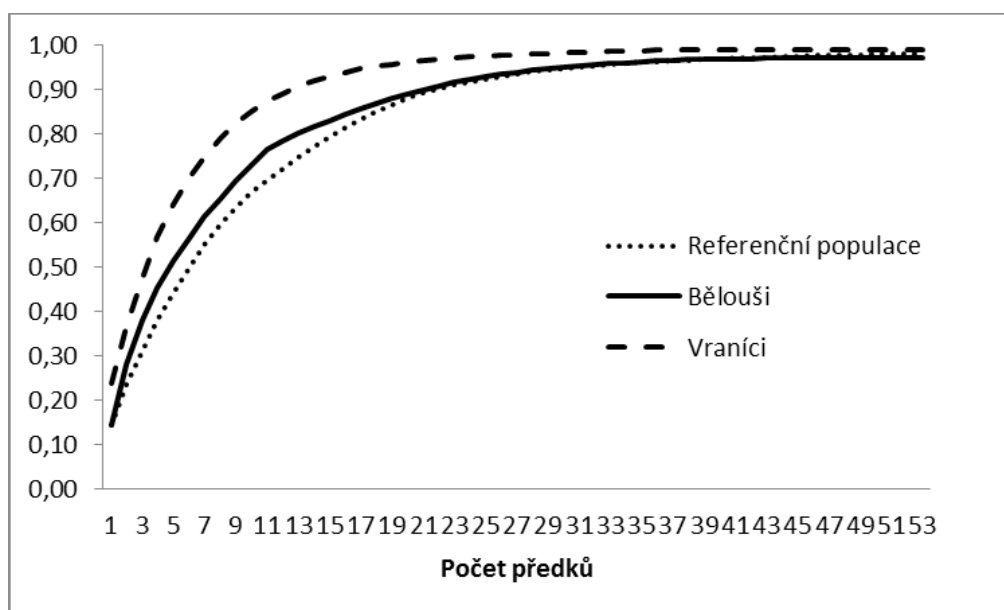
kde: obs. - pořadové číslo, ič – identifikační číslo jedince dle plemenné knihy, jméno – jméno jedince, přísp. - genetický příspěvek jedince do referenční populace., poh. - pohlaví jedince (M – hřebec, - F klisna), rok – rok narození jedince, pot. - počet přímých potomků jedince, plem. - plemenná příslušnost[2 - starokladrubský bělouš, 3 – starokladrubský vraník, 7 - lipický kůň, 22 - fríský kůň, 58 - orlovský klusák, 83 - starokladrubský kůň (bez barevného označení), 208 – lusitano].

U varianty vraníků se tento nejvýznamnější předek (hřebec) narodil v roce 1957 a u varianty běloušů se nejvýznamnější předek (hřebec) narodil v roce 1938. Druhý nejvýznamnější předek (hřebec) vysvětloval 9 %, 14 % a 13 % z celkové genetické proměnlivosti celkové referenční populace, bílé a vrané varianty. Prvních pět nejvýznamnějších předků pak vysvětlilo celých 51 % celkové genetické proměnlivosti u varianty běloušů a první čtyři předci u varianty vraníků dokonce 56 % z celkové genetické proměnlivosti (graf 4).

Tabulka 7. Populační parametry

	Referenční populace	Populace běloušů	Populace vraníků
Celkový počet zakladatelů (f)	1058	988	678
Efektivní počet zakladatelů (f_e)	92,69	93,38	77,93
Efektivní počet předků (f_a)	17,16	13,38	9,01
Efektivní počet genotypů zakladatelů (f_{ge})	4,78	3,96	2,95
Poměr efektivního počtu zakladatelů a efektivního počtu předků (f_e/f_a)	0,18	0,14	0,12
Poměr efektivního počtu genotypů zakladatelů a efektivní počet předků (f_{ge}/f_a)	0,05	0,04	0,04
Poměr efektivního počtu zakladatelů a počtu zakladatelů (f_e/f)	0,09	0,09	0,12
Efektivní velikost populace – změna koeficientu příbuzenské plemenitby (N_{ef})	52,09	62,23	45,22
Efektivní velikost populace – změna koeficientu příbuznosti (N_{ec})	66,77	53,75	40,00
Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby	0,13	0,11	0,14
	0,21	0,25	0,34
Průměrný koeficient příbuznosti	(0,03)	(0,05)	(0,04)
	0,010	0,008	0,011
ΔF	(0,01)	(0,003)	(0,01)
Ztráta genetické diverzity			
- celková ztráta	0.105	0.126	0.170
- pouze nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů	0.011	0.011	0.013
- náhodným genetickým driftem	0.094	0.116	0.156

-S.E. - v závorkách



Graf 4. Kumulovaný marginální příspěvek nejvýznamnějších předků

Tabulka 8. Genetický příspěvek prvních dvaceti zakladatelů pro referenční populace celého plemene, bílé a vrané varianty

Obs.	referenční populace					bělouši					vraníci				
	IC	přísp.	rok	poh.	plem.	IC	přísp.	rok	poh.	plem.	IC	přísp.	rok	poh.	plem.
1	13255	0,056	1800	M	83	13255	0,058	1800	M	83	13266	0,062	1845	M	83
2	13266	0,044	1845	M	83	13339	0,037	1764	M	0	13255	0,053	1800	M	83
3	13339	0,034	1764	M	0	13342	0,029	1764	M	83	13339	0,030	1764	M	0
4	13342	0,024	1764	M	83	13266	0,025	1845	M	83	22492	0,025	0	F	1
5	13340	0,023	0	M	83	13305	0,025	1769	M	83	13340	0,022	0	M	83
6	13305	0,021	1769	M	83	13340	0,024	0	M	83	13342	0,020	1764	M	83
7	13343	0,016	1757	M	83	13343	0,018	1757	M	83	22466	0,019	1938	F	1
8	13389	0,016	1763	M	0	62206	0,015	0	F	83	13305	0,018	1769	M	83
9	22492	0,015	0	F	1	13332	0,015	0	M	83	13389	0,018	1763	M	0
10	62206	0,014	0	F	83	13389	0,014	1763	M	0	13294	0,017	1799	M	83
11	13294	0,013	1799	M	83	12389	0,014	0	M	0	13343	0,014	1757	M	83
12	62168	0,013	1769	F	83	62168	0,011	1769	F	83	62168	0,014	1769	F	83
13	22466	0,011	1938	F	1	13344	0,010	1764	M	0	22744	0,013	0	F	1
14	13344	0,011	1764	M	0	32522	0,010	1868	F	7	62073	0,013	1888	F	2
15	13332	0,011	0	M	83	13359	0,010	1757	M	0	62206	0,012	0	F	83
16	12389	0,010	0	M	0	32515	0,010	1891	F	7	13344	0,011	1764	M	0
17	62073	0,010	1888	F	2	13306	0,010	1766	M	83	62263	0,010	1755	F	83
18	13306	0,009	1766	M	83	62231	0,009	0	F	0	13308	0,010	1797	M	0
19	13359	0,009	1757	M	0	13294	0,009	1799	M	83	13306	0,009	1766	M	83
20	62169	0,009	1762	F	83	32521	0,008	1887	F	7	13252	0,009	0	M	5

kde: obs – číslo pozorování, IC – identifikační číslo dle plemenné knihy, přísp. - příspěvek zakladatele do referenční populace, rok – rok narození zakladatele (0 - neznámá hodnota), poh. - pohlaví zakladatele (M – hřebec, - F klisna), plem. - plemenná příslušnost [1 - český teplokrevník, 2 – starokladrubský bělouš, 5 - arabský kůň, 7 - lipický kůň, 83 - starokladrubský kůň (bez barevného označení)]

Polovina genetické proměnlivosti v referenční populaci celého plemene, či u jednotlivých barevných variant může být vysvětlena u celé populace či u varianty běloušů pomocí 40 (3,8% a 4,1%) zakladatelů a u černé varianty 33 (4,9%) zakladatelů. Nejvýznamnější zakladatelé vysvětlovali u všech referenčních populací 6% celkové genetické proměnlivosti (tabulka 8). Pro vysvětlení 20% genetické proměnlivosti je opět u celé populace a u jednotlivých barevných variant potřeba přibližně 6 zakladatelů, kdy u černé varianty v porovnání s variantou bílou jsou jednotlivé příspěvky zakladatelů méně vyrovnané. Z tabulky 8 dále vyplývá, že mezi prvními dvaceti nejvýznamnějšími zakladateli pro celé plemeno převládají zakladatelé starokladrubskeho koně (bez udání barevné varianty) a koně s neznámou plemennou příslušností. V první dvacítce nejvýznamnějších předků se u celého plemene vyskytl jeden zakladatel s plemennou příslušností český teplokrevník. U bílé varianty se ještě v první dvacítce nejvýznamnějších zakladatelů vyskytli také 3 jedinci lipického plemene. U vrané varianty se v první dvacítce nejvýznamnějších zakladatelů kromě jedinců s plemennou příslušností starokladubský kůň (bez udání barevné varianty) vyskytli i jedinci bílé varianty, arabského plnokrevníka a českého teplokrevníka. U této subpopulace se navíc vyskytl zakladatel arabského plemene. U celé populace i u jednotlivých barevných variant vykazovali největší příspěvek zakladatelé narození do roku 1900. U zakladatelů s neznámým rokem narození (kód 0 v tabulce 8) předpokládáme že se narodili před rokem 1900 a informace se nedochovaly. Mezi nejvýznamnější zakladatele patří hřebci.

6.5 Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a mateřských rodin

Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a mateřských rodin stanovených dle Volence (2004) do referenční populace celého plemene či jednotlivých barevných variant je uveden v tabulce 9. Z tabulky je patrné, že největší příspěvek do celkové referenční populace byl zjištěn u vrané klisny 259 Eleona (SoVI), a dále u vrané klisny 221 Eleusina. Příspěvek každé z těchto klisen představoval hodnotu 28%. Příspěvek těchto dvou uvedených klisen pro vranou variantu dosahoval dokonce hodnotu 43% a 42%. U bílé varianty největší příspěvek zakladatelů linií a rodin dosahoval bílý hřebec Generalissimus XXIII (33%) a vraná klisna 926 Generale XLIV (32%). Nejnižší podíly příspěvku zakladatelů linií a rodin do referenční populace celého plemene dosahovala klisna (bez udání barevné varianty) Albona a bílá klisna 558 Generale XXXVI (12%). U vrané varianty nejnižší příspěvek opět vykazovaly bílá klisna 558 Generale XXXVI (7%) a Albona (bez udání barevné varianty) (7%). U bílé varianty nejnižší příspěvek byl zjištěn u bílých klisen 152 Macula (8%) a 120 Platona (9%).

Tabulka 9: Genetický příspěvek zakladatelů linií a rodin současné aktuální populace starokladrubských koní

Jméno	Barevná varianta	Pohlaví	Rok Narození	Ref. pop.	Bělouši	Vraníci
Napoleone Amelia III	STKL	M	1885	0,168	0,112	0,219
Generale Isalka XXIX	bělouš	M	1904	0,147	0,215	0,084
Generale Campanella XXVII	bělouš	M	1899	0,192	0,278	0,113
Generale Alata XXX	bělouš	M	1905	0,200	0,292	0,115
Generale XXXIV	bělouš	M	1920	0,206	0,309	0,110
Generale XXXIII	bělouš	M	1920	0,216	0,311	0,129
Generalissimus XXIII	bělouš	M	1938	0,213	0,326	0,108
Sacramoso Aja XXVII	vraník	M	1907	0,226	0,130	0,315
Sacramoso XXIX	vraník	M	1920	0,243	0,143	0,335
Sacramoso XXX	vraník	M	1927	0,221	0,142	0,294
530 Sacramoso XXIX-3 Avara	vraník	M	1930	0,257	0,142	0,363
Solo (Sacramoso XXXI)	vraník	M	1927	0,268	0,152	0,375
Aja	vraník	F	1889	0,173	0,109	0,233
Alba VII	STKL	F	1857	0,134	0,188	0,085
Albona	STKL	F	1876	0,111	0,154	0,071
Aluta	STKL	F	1887	0,139	0,199	0,084
204 Candela	vraník	F	1961	0,202	0,121	0,278
239 Caprifforma	vraník	F	1964	0,181	0,093	0,263
Ecraseé	bělouš	F	1896	0,150	0,219	0,087
Eglantine	bělouš	F	1896	0,157	0,220	0,099
259 Eleona (So IV)	vraník	F	1970	0,283	0,130	0,426
192 Eleonora (So II)	vraník	F	1959	0,258	0,124	0,383
221 Eleusina	vraník	F	1964	0,280	0,129	0,420
225 Elevata (So II)	vraník	F	1964	0,249	0,122	0,366
191 Favorina (So II)	vraník	F	1959	0,226	0,124	0,320
926 Generale XLIV	vraník	F	1970	0,206	0,322	0,099
922 Generale XLIV	bělouš	F	1970	0,195	0,281	0,114
947 Generale XLIV	bělouš	F	1972	0,191	0,273	0,114
116 Generale XXIX (Egloga)	bělouš	F	1916	0,158	0,229	0,092
103 Generale XXIX (Sagina)	bělouš	F	1909	0,154	0,222	0,091
265 Generale XXX	bělouš	F	1921	0,165	0,237	0,098
406 Generale XXXI	bělouš	F	1929	0,180	0,267	0,099
537 Generale XXXIV	bělouš	F	1939	0,156	0,131	0,080
459 Generale XXXIV (40 Agata)	bělouš	F	1933	0,158	0,241	0,081
584 Generale XXXV	bělouš	F	1941	0,181	0,273	0,096
558 Generale XXXVI	bělouš	F	1939	0,131	0,199	0,068
119 Generalissimus XIX(Carpetta)	bělouš	F	1916	0,136	0,189	0,086
407 Generalissimus XXII	bělouš	F	1929	0,156	0,235	0,083
630 Generalissimus XXII	bělouš	F	1945	0,182	0,256	0,114
445 Genisa	bělouš	F	1975	0,172	0,258	0,091
204 Granada	bělouš	F	1972	0,160	0,245	0,082
106 Isis	vraník	F	1948	0,264	0,138	0,381
152 Macula	vraník	F	1953	0,138	0,076	0,195
55 Magnolia	bělouš	F	1943	0,150	0,092	0,204
301 Napoleone	vraník	F	1914	0,163	0,105	0,217
80 Napoleone (Jó)	vraník	F	1900	0,181	0,115	0,242
85 Napoleone (Ragusa)	vraník	F	1911	0,160	0,109	0,207
83 Napoleone VI (Lettura)	vraník	F	1911	0,156	0,103	0,205
120 Platona	vraník	F	1950	0,135	0,088	0,179
32 Ragusa (531 G XXXIII-5)	bělouš	F	1938	0,171	0,214	0,130
JM 3988 Rezeda	vraník	F	1986	0,219	0,105	0,324
28 Sacramoso XXVII (Aja)	STKL	F	1928	0,191	0,117	0,260
177 Seconda (928 Solo I)	bělouš	F	1956	0,162	0,131	0,190
212 Xantina	vraník	F	1963	0,193	0,093	0,285
183 Xantogena	vraník	F	1957	0,192	0,092	0,284
235 Xerxes (So IV)	vraník	F	1966	0,211	0,088	0,325

kde: Ref. Pop. - referenční populace, STKL – bez určení barevné varianty, M – hřebec, F – klisna

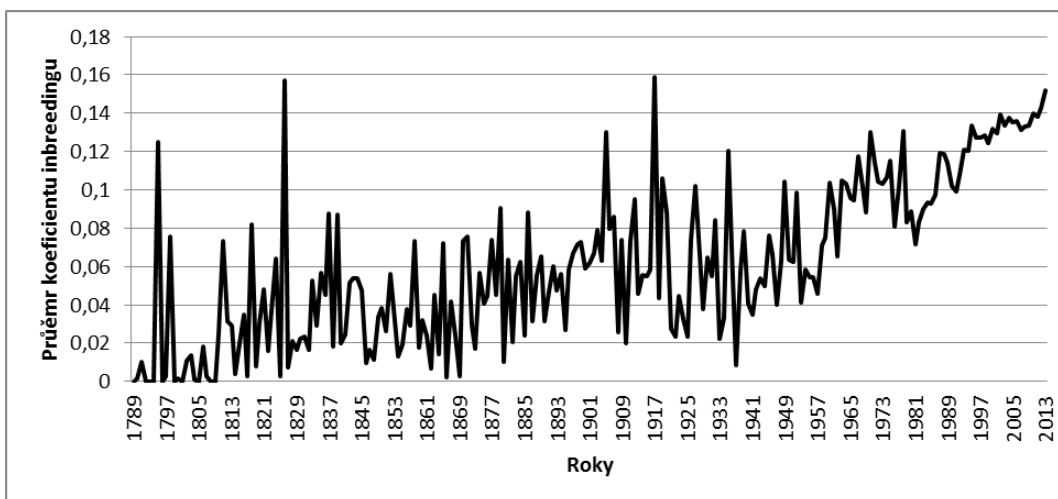
Při zohlednění pouze hřebců je zřejmé že nejvyšší příspěvek do celé referenční populace celého plemene vykazoval vraný hřelec Solo (Sacramoso XXXI) (27%) a tento hřelec také vykazoval nejvyšší příspěvek do vrané varianty (38%). U bílé varianty byl nejvyšší příspěvek u již zmíněného hřebce Generalissimus XXIII (33%). Při zohlednění barevných variant je zřejmé, že prvních deset jedinců, s nejvyšším genetickým příspěvkem do referenční populace celého plemene tvořili pouze jedinci vraného zbarvení, kdy první jedinec bílého zbarvení byl zjištěn až na 14. místě – hřelec Generale XXXIII (22%). U vrané varianty se bílý jedinec vyskytl až na 26. místě – klisna 55 Magnolia (15%). U bílé varianty se však jedinec vraného zbarvení vyskytl už na 2. místě - již zmíněná klisna 926 Generale XLIV (32%). Při zohlednění pohlaví vyplývá, že v poměru pohlaví u prvních deseti jedinců, s nejvyšším genetickým příspěvkem do referenční populace celého plemene a do vrané varianty převládaly klisny (6 klisen ku 4 hřebcům u referenční populace a 7 klisen ku 3 hřebcům u vrané varianty), u bílé varianty bylo u těchto deseti jedinců poměr pohlaví shodný (5 klisen ku 5 hřebcům).

6.6 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_x) a průměrný koeficient příbuznosti (AR)

Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby pro celou analyzovanou populaci v jednotlivých letech vykazoval nárůst (graf 5). K většímu nárůstu dochází od roku 1940. Hranice průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby 10 % byla překročena v roce 1970. Mezi lety 1979 – 1987 došlo k mírnému snížení hodnot průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby. Od roku 1988 dochází k trvalému zvyšování, kdy v roce 2013 byla překročena hranice 15 %. Průměrná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby v referenční populaci byla 13,1 %, maximální hodnota byla 28,6 %. U bílé populace byla zjištěna průměrná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby 11,1 % s maximální hodnotou 25,2 %, u černé varianty byla zjištěna průměrná hodnota 14,5 % s maximální hodnotou 28,6 %. Podíl inbredních zvířat v referenční populaci byl 100 %. Více než 55% jedinců z referenční populace vykazovalo vyšší hodnotu než 12,5 % a 0,5 % jedinců vykazovalo hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby vyšší než 25 % (tabulka 10). U bílé varianty byl v porovnání s variantou černou zaznamenán vyšší podíl jedinců s hodnotou koeficientu příbuzenské plemenitby do 12,5 %, naopak u černé varianty byl zaznamenán vyšší podíl jedinců s hodnotou koeficientu příbuzenské plemenitby větší než 12,5 %.

Tabulka 10. Procentické zastoupení jedinců s různou hodnotou koeficientu příbuzenské plemenitby

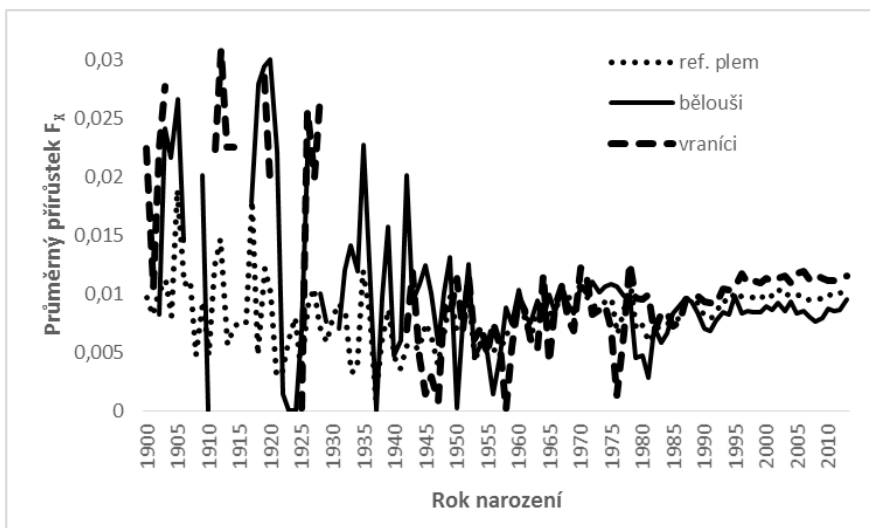
% koef. příbuzenské plemenitby	Referenční populace (%)	Populace běloušů (%)	Populace vraníků (%)
0	0	0	0
0-3,125	3,13	5,48	0,95
3,125-6,25	7,25	14,08	0,95
6,25-12,5	35,09	41,78	28,89
12,5-25	54,04	38,70	68,25
25 a víc	0,49	0	0,95



Graf 5. Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby dle roku narození

Odhady koeficientu příbuznosti (AR , tabulka 7) dosahovaly průměrných hodnot 0,21, 0,25 a 0,34 pro referenční populaci, bílou a černou variantu. Koeficienty příbuznosti dosahovaly vyšších průměrných hodnot než dvojnásobek hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby. Z těchto poměrů je možné dále odhadnout změnu koeficientu příbuzenské plemenitby v následných generacích. Největší rozdíl byl zaznamenán opět u varianty vraníků. Naopak u referenční populace byl zjištěn nižší průměrný koeficient příbuznosti než dvojnásobek průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby.

Průměrná změna koeficientu příbuzenské plemenitby z generace na generaci v referenční populaci s ohledem na rok narození dosahoval nejvyšší hodnoty mezi roky 1900 až 1930. Mezi roky 1930 až 1950 dochází k poklesu ztráty genetické rozmanitosti. Od roku 1950 dochází opět k pozvolnému nárůstu ztráty genetické rozmanitosti, s výjimkou let 1979 až 1982, kdy došlo k snížení změny koeficientu příbuzenské plemenitby ve všech sledovaných populacích a subpopulacích (Graf 6). Pro celou referenční populaci byla průměrná hodnota $\Delta F = 0,01$ překročena u jedinců narozených od roku 2010. U vraníků byla průměrná hodnota $\Delta F = 0,01$ změny koeficientu příbuzenské plemenitby překročena u jedinců narozených po roce 1991, naopak u běloušů tato průměrná hodnota překročena nebyla.



Graf 6. Změna koeficientu příbuzenské plemenitby z generace na generaci dle roku narození

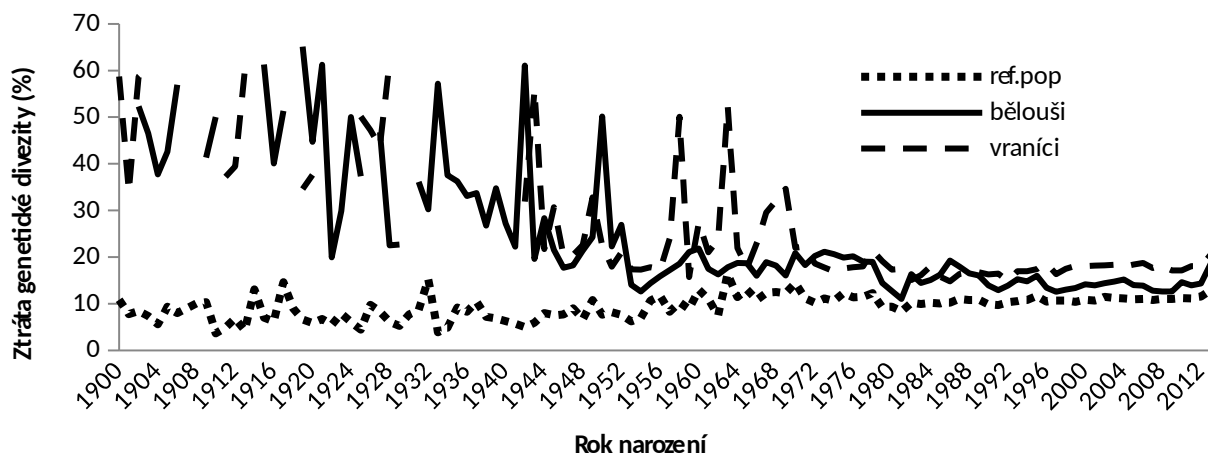
5.7 Efektivní velikost populace

Efektivní velikost populace, odvozená z přírůstku koeficientu příbuzenské plemenitby (N_{eF}) (tabulka 7.) dosahovala v referenční populaci hodnoty 53 jedinců. Při analýze jednotlivých barevných variant bylo zjištěno, že u bílé varianty byla dosažena vyšší hodnota (63 jedinců). Naopak u varianty vraníků byl zjištěn nižší počet, než je hodnota 50 (43 jedinců). U efektivní velikosti odvozené z přírůstku původového koeficientu (N_{eC}) byly u jednotlivých barevných variant odhadnuty nižší hodnoty v porovnání s N_{eF} – pro bílou variantu $N_{eC} = 53,75$ jedinců, pro vranou variantu $N_{eC} = 40$. Naopak u celé referenční populace dosahoval odhad N_{eC} vyšších hodnot než N_{eF} (66,77 vs. 52,09) .

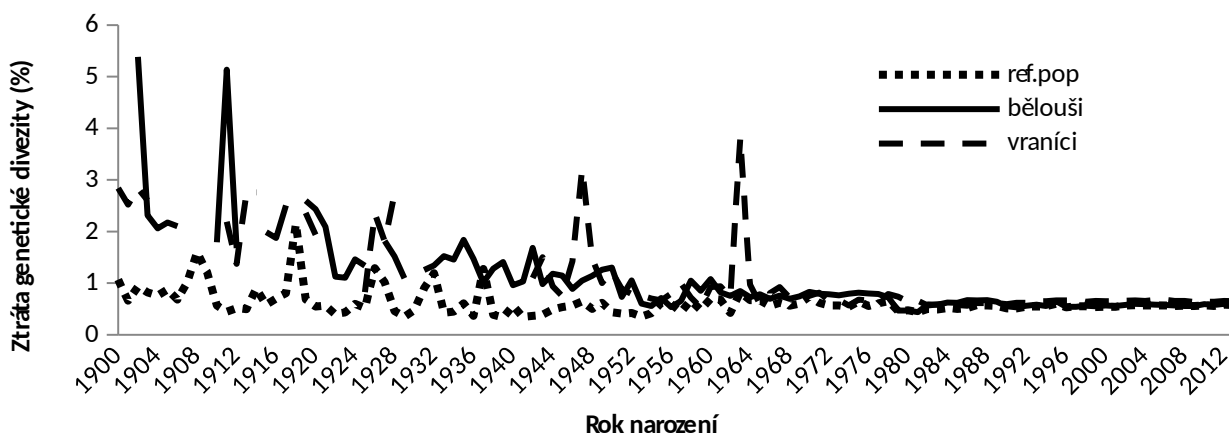
6.8 Ztráta genetické rozmanitosti

Z analýzy v referenční populaci vyplývá, že dochází ke ztrátě genetické rozmanitosti jak v referenční populaci, tak u jednotlivých barevných variant (tabulka 7). V celé referenční populaci došlo k celkové ztrátě genetické rozmanitosti o 11 % u bílé varianty o 13 % a u černé varianty o 17 %. Podíl ztráty genetické rozmanitosti způsobené pouze nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů (GD^*), nebo ztráty genetické rozmanitosti způsobené náhodným genetickým driftem ($GD-GD^*$) z celkové ztráty genetické rozmanitosti je uveden v grafu 7. Nejvyšší vliv na ztrátu genetické rozmanitosti v referenční populaci či u jednotlivých barevných variant byl zjištěn pro náhodný genetický drift a nejvyšší hodnota byla znamenána u černé varianty 92%. Největší část ztráty genetické rozmanitosti byla zaznamenána mezi roky 1900 až 1972 (graf 7). Jednalo se především o ztrátu způsobenou genetickým driftem. Ztráta genetické rozmanitosti způsobená nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů představuje pouze malou část na celkové ztrátě genetické rozmanitosti.

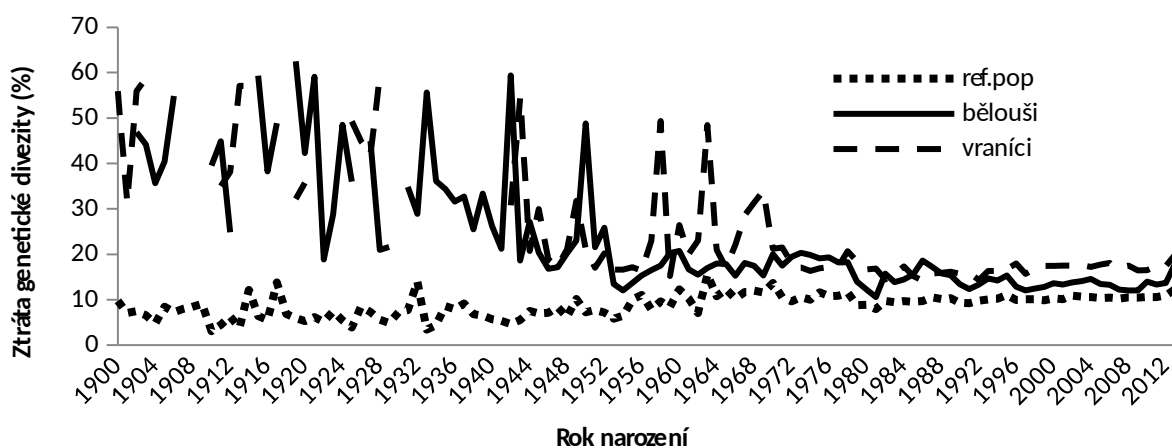
a)



b)



c)



Graf 7. Ztráta genetické diverzity v důsledku (a) nerovnoměrného příspěvku zakladatelů a náhodného genetického driftu (1-GD), (b) pouze nerovnoměrného příspěvku zakladatelů (1-GD*) a (c) pouze náhodného genetického driftu u referenční populace a dvou barevných variant.

Při rozdělení celé populace na barevné varianty je zřejmé, že genetická rozmanitost mezi subpopulacemi (GD_{BS}) představuje zanedbatelnou část. Hlavní část tvoří genetická rozmanitost uvnitř skupin (GD_{WS}), do které z větší části přispívá genetická rozmanitost uvnitř jedinců (GD_{WI}) než genetická rozmanitost mezi jedinci (GD_{BI}) (tabulka 11).

Tabulka 11. Parametry popisující celkovou referenční populaci starokladrubského koně – barevné varianty

Parametry	Hodnoty
Průměrný původový koeficient jedince sama na sebe	0,564
Průměrná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby	0,128
Průměrná hodnota původového koeficientu	0,149
Průměrná hodnota genetické vzdálenosti	0,044
Průměrná hodnota původového koeficientu přes celou referenční populaci	0,104
F_{IS}	-0,025
F_{ST}	0,050
F_{IT}	0,026
GD_T	0,896
GD_{WI}	0,436
GD_{WS}	0,851
GD_{BI}	0,415
GD_{BS}	0,044
GD_{Ti} – bílá varianta	0,830
GD_{Ti} – vraná varianta	0,874
G_i – bílá varianta	0,490
G_i – vraná varianta	0,485

F_{IS} , F_{ST} and F_{IT} - Wrightovi fixační koeficienty (Wright, 1969), GD_T – celková genetická rozmanitost, GD_{WI} – genetická rozmanitost uvnitř jedinců, GD_{WS} – genetická rozmanitost uvnitř barevných variant, GD_{BI} – genetická rozmanitost mezi jedinci, GD_{BS} – genetická rozmanitost mezi barevnými variantami, GD_{Ti} – celková genetická rozmanitost po ztrátě barevné varianty i , G_i - podíl rozmanitosti mezi jedinci barevné varianty i .

6.9 F-statistiky

Celková hodnota fixačního koeficientu (F_{ST}) vyjádřená jako souhrnná hodnota v celé metapopulaci (F_{ST}) naznačuje malou rozdílnost mezi barevnými variantami starokladrubského koně (tabulka 11). Z hodnoty F_{ST} vyplývá, že celková genetická proměnlivost je z 5% způsobena rozdíly mezi barevnými variantami. Zbylých 95% je způsobeno rozdíly mezi jedinci. Hodnoty F_{IS} odhadnuté pro jednotlivé barevné varianty (tabulka 11) dosahovaly hodnot -0.02 a -0.03. Naproti tomu u celé populace dochází k snížení podílu heterozygotnosti o cca 3% (F_{IT}). Tomu odpovídají i hodnoty G_i (tabulka 11) jednotlivých subpopulací, ze kterých vyplývá, že je shodně vyšší rozmanitost uvnitř jedinců, než mezi jedinci subpopulací. Malé rozdíly mezi barevnými variantami byly rovněž zaznamenány pomocí genetických vzdáleností (tabulka 12). Průměrná genetická vzdálenost (D_{ij} – Nei, 1987) byla 0,09. Efektivní počet migrantů za generaci dosahoval hodnoty 4,8.

Vliv ztráty jedné ze subpopulací na celkovou rozmanitost a skladbu celkové metapopulace je znázorněn v tabulce 11. V případě analyzované populace by došlo v obou případech k ztrátě genetické rozmanitosti, avšak k většímu snížení by došlo u ztráty bílé varianty a to vlivem vyšší heterozygotnosti. Hodnoty poklesu genetické rozmanitosti při ztrátě bílé varianty dosahovaly

hodnoty $GD_{Tij}=0,830$ a pro vranou variantu $GD_{Tij}=0,874$. Těmto hodnotám odpovídá i skutečnost, že jedinci vrané varianty přispívají vyšší měrou do průměrného koeficientu příbuznosti celkové metapopulace (tabulka 11).

Tabulka 12. Hodnoty F_{IS} s průměrnou hodnotou původového koeficientu uvnitř barevné varianty (v závorce) na diagonále, hodnoty F_{ST} s průměrnou hodnotou původového koeficientu (v závorce) mezi barevnými variantami nad diagonálou, genetické vzdálenost (D_{ij} - Nei, 1987) s efektivním počtem migrantů za generaci (Wright, 1968, v závorce) pod diagonálou

varianta	bělouši	vraníci
bělouši	-0.020 (0.126)	0.050 (0.059)
vraníci	0.089 (4.80)	-0.029(0.169)

6.10 Analýza genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi

Z hodnot v tabulce 14 vyplývá, že celková genetická proměnlivost je z 6% (F_{ST}) způsobena rozdíly mezi jednotlivými otcovskými liniemi. Zbylých 94% je způsobeno rozdíly mezi jedinci. Podobně jako u barevných variant poukazuje hodnota F_{ST} na malou rozdílnost mezi otcovskými liniemi. Hodnoty F_{IS} odhadnuté pro jednotlivé otcovské linie (Tabulka 13.) dosahovaly hodnot -0.04 až -0,10. Tomu odpovídají i hodnoty G_i (tabulka 14) jednotlivých otcovských linií, ze kterých vyplývá, že je shodně vyšší rozmanitost uvnitř jedinců, než mezi jedinci subpopulací. Malé rozdíly mezi otcovskými liniemi byly rovněž zaznamenány pomocí genetických vzdáleností (tabulka 13). Průměrná genetická vzdálenost (D_{ij} – Nei, 1987) byla 0,06. Mezi jednotlivými otcovskými liniemi byly zjištěny genetické vzdálenosti (Nei, 1987) v rozmezí 0,024 (SACRAMOSO a SOLO) až 0,152 (SIGLAVI PAKRA a GENERALE-GENERALISSIMUS). Efektivní počet migrantů za generaci dosahoval hodnot v intervalu 2,30 (SIGLAVI PAKRA a GENERALE-GENERALISSIMUS) až 21,39 (SACRAMOSO a ROMKE).

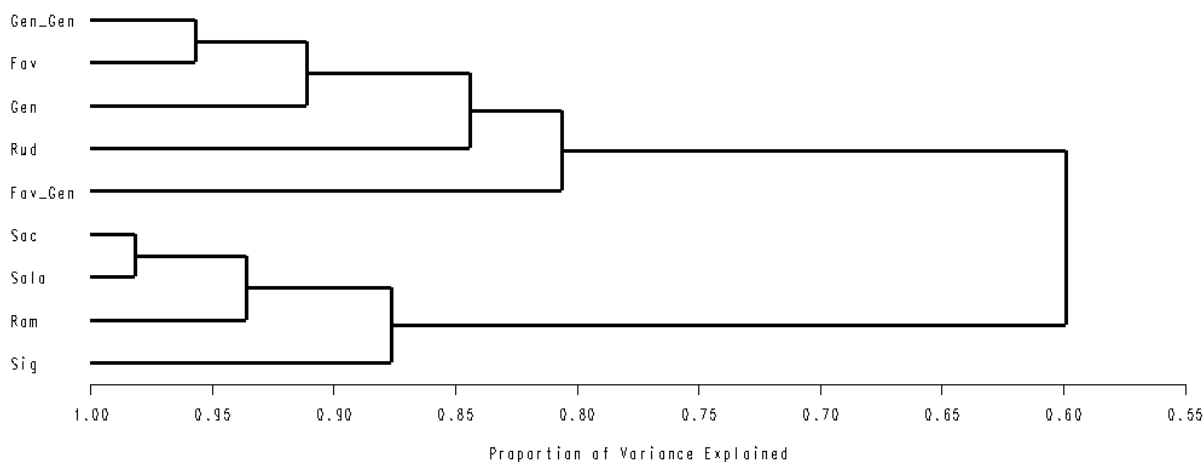
Průměrné hodnoty původového koeficientu mezi a uvnitř linií jsou uvedeny v tabulce 13. Průměrné hodnoty původového koeficientu uvnitř otcovských linií se pohybovaly v rozsahu od 0,13 (FAVORY) do 0,21 (SIGLAVI PAKRA) a průměrné hodnoty původového koeficientu mezi otcovskými liniemi se pohybovaly v rozsahu od 0,05 (GENERALE-GENERALISSIMUS a SOLO, GENERALE-GENERALISSIMUS a SIGLAVI PAKRA, GENERALE-GENERALISSIMUS a ROMKE, GENERALE a ROMKE, FAVORY a ROMKE, RUDOLFO a SOLO, RUDOLFO a SIGLAVI PAKRA , RUDOLFO a ROMKE) do 0,15 (SOLO a SIGLAVI PAKRA, SOLO a ROMKE).

Standardní genetická vzdálenost mezi otcovskými liniemi liniemi podle Nei (1987) jsou uvedeny v tabulce 13. Nejnižší hodnota genetické vzdálenosti podle Nei (1987) byla nalezeny mezi liniemi SOLO a ROMKE (0,032) a nejvyšší hodnot genetické vzdálenosti byla odhadnuta mezi otcovskými liniemi GENERALE-GENERALISSIMUS a SIGLAVI PAKRA (0,152).

Tabulka 13. F_{IS} a průměrná hodnota původového koeficientu uvnitř otcovských linií (v závorce) (na diagonále), F_{ST} a průměrný původový koeficient mezi otcovskými liniemi (v závorce) (nad diagonálou), genetické vzdálenosti mezi otcovskými liniemi (D – Nei, 1987) a efektivní počet migrantů mezi otcovskými liniemi (Wright, 1968, v závorkce) (pod diagonálou)

	Gen	Gen_Gen	Fav	Fav_Gen	Sac	Solo	Sig	Rom	Rud
Gen	-0,049 (0,179)	0,032 (0,142)	0,022 (0,118)	0,036 (0,112)	0,030 (0,081)	0,065 (0,060)	0,095 (0,057)	0,081 (0,055)	0,036 (0,125)
Gen_Gen	0,041 (7,55)	-0,081 (0,187)	0,024 (0,121)	0,038 (0,113)	0,038 (0,075)	0,076 (0,053)	0,098 (0,051)	0,084 (0,049)	0,036 (0,124)
Fav	0,039 (10,92)	0,038 (10,24)	-0,042 (0,130)	0,024 (0,098)	0,031 (0,075)	0,060 (0,058)	0,065 (0,053)	0,052 (0,055)	0,019 (0,108)
Fav_Gen	0,054 (6,70)	0,056 (6,41)	0,040 (10,37)	-0,057 (0,143)	0,020 (0,094)	0,045 (0,084)	0,066 (0,080)	0,053 (0,080)	0,053 (0,103)
Sac	0,081 (8,16)	0,088 (6,39)	0,058 (7,80)	0,049 (12,35)	-0,057 (0,143)	0,015 (0,136)	0,019 (0,126)	0,012 (0,126)	0,021 (0,071)
Solo	0,123 (3,61)	0,132 (3,05)	0,097 (3,90)	0,080 (5,28)	0,024 (6,60)	-0,055 (0,184)	0,029 (0,148)	0,018 (0,148)	0,050 (0,051)
Sig	0,144 (2,39)	0,152 (2,30)	0,119 (3,59)	0,101 (3,52)	0,051 (12,70)	0,051 (8,34)	-0,096 (0,210)	0,044 (0,137)	0,092 (0,047)
Rom	0,127 (2,82)	0,135 (2,71)	0,100 (4,58)	0,083 (4,49)	0,033 (21,39)	0,032 (14,08)	0,061 (5,45)	-0,046 (0,172)	0,068 (0,046)
Rud	0,057 (6,61)	0,060 (6,66)	0,045 (12,49)	0,060 (6,89)	0,087 (11,50)	0,129 (4,71)	0,150 (2,47)	0,133 (3,42)	-0,068 (0,161)

kde: Gen - Generale (1787), Gen_Gen - Generale-Generalissimus (1938), Fav - Favory (1779), Fav_Gen - Favory-Generalissimus (1965), Sac - Sacramoso (1800), Solo - Solo (Sacramoso XXXI-1927), Sig - Siglavi Pakra (1946), Rom - Romke (1966), Rud - Rudolfo (1968).



kde: Gen - Generale (1787), Gen_Gen - Generale-Generalissimus (1938), Fav - Favory (1779), Fav_Gen - Favory-Generalissimus (1965), Sac - Sacramoso (1800), Solo - Solo (Sacramoso XXXI-1927), Sig - Siglavi Pakra (1946), Rom - Romke (1966), Rud - Rudolfo (1968)

Graf 8. Klastrová analýza vytvořená z průměrných původových koeficientů uvnitř a mezi otcovskými liniemi

Klastrová analýza vytvořená na základě průměrných hodnot původových koeficientů (tabulka 13.) je uvedena v grafu 8. Na základě genealogických informací byly otcovské linie rozděleny do dvou základních shluků. První shluk tvořily otcovské linie bílého zbarvení: GENERALE, FAVORY a RUDOLFO a jedna otcovská linie, která zahrnuje jedince obou barevných variant: GENERALISSIMUS.

Tabulka 14. Parametry popisující celkovou referenční populaci starokladrubského koně – otcovské linie

Parametry	Hodnoty
Průměrný původový koeficient jedince sama na sebe	0,564
Průměrná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby	0,128
Průměrná hodnota původového koeficientu	0,161
Průměrná hodnota genetické vzdálenosti	0,056
Průměrná hodnota původového koeficientu přes celou referenční populaci	0,104
F_{IS}	-0,040
F_{ST}	0,063
F_{IT}	0,025
GD_T	0,895
GD_{WI}	0,436
GD_{WS}	0,839
GD_{BI}	0,403
GD_{BS}	0,056
GD_{Tj_i} – Generale	0,894
GD_{Tj_i} – Generale-Generalissimus	0,893
GD_{Tj_i} – Favory	0,888
GD_{Tj_i} – Favory-Generalissimus	0,894
GD_{Tj_i} – Sacramoso	0,900
GD_{Tj_i} – Solo (Sacramoso XXXI)	0,898
GD_{Tj_i} – Siglavi Pakra	0,896
GD_{Tj_i} – Romke	0,896
GD_{Tj_i} – Rudolfo	0,894
G_i – Generale	0,475
G_i – Generale-Generalissimus	0,459
G_i – Favory	0,479
G_i – Favory-Generalissimus	0,472
G_i – Sacramoso	0,500
G_i – Solo (Sacramoso XXXI)	0,473
G_i – Siglavi Pakra	0,452
G_i – Romke	0,477
G_i – Rudolfo	0,466

F_{IS} , F_{ST} and F_{IT} - Wrightovy fixační koeficienty (Wright, 1969), GD_T – celková genetická rozmanitost, GD_{WI} – genetická rozmanitost uvnitř jedinců, GD_{WS} – genetická rozmanitost uvnitř otcovských linií, GD_{BI} – genetická rozmanitost mezi jedinci, GD_{BS} – genetická rozmanitost mezi otcovskými liniemi, GD_{Tj_i} – celková genetická rozmanitost po ztrátě otcovské linie i , G_i - podíl rozmanitosti mezi jedinci otcovské linie i .

Druhý shluk pak tvořily otcovské linie vrané varianty: SOLO a SIGLAVI PAKRA a dvě linie s jedinci obou barevných variant: SACRAMOSO a ROMKE. Nejužší genetickou vzdálenost u prvního shluku vykazovaly linie FAVORY a GENERALE-GENERALISSIMUS a u druhého shluku to byly linie SOLO a SACRAMOSO. Do obou nejmenších genetických vzdáleností byli zahrnuti jedinci bílé/vrané a otcovské linie s jedinci obou barevných variant (GENERALE-GENERALISSIMUS a SACRAMOSO). Naopak nejvyšší vzdálenost u prvního shluku vykazovaly otcovské linie FAVORY- GENERALISSIMUS u bílé varianty a SIGLAVI PAKRA.

7. Diskuze

7.1 Vývoj stavů koní zaregistrovaných do plemenné knihy

Vývoj stavů koní zaregistrovaných do plemenné knihy plně odpovídá historickému vývoji plemene. Tento vývoj je možné rozdělit do několika významných etap. V první etapě, do roku 1914, dochází k rozvoji plemene starokladrubský kůň jako ceremoniálního koně Rakousko-Uherské monarchie. Druhá etapa (do roku 1938), z celkového pohledu velmi krátká, kdy dochází k výraznému snižování počtu jedinců starokladrubské populace, zvláště vrané varianty. Třetí etapa regenerace plemene (do roku 1973), kdy dochází k opětovnému zvyšování početních stavů starokladrubské populace vlivem využívání jedinců jiných plemen, která byla použita k regeneraci plemene. Během čtvrté etapy (mezi roky 1973 a 1996) dochází k zvyšování počtu jedinců, bez výrazného přílivu jedinců jiných plemen. Pátá etapa (od roku 1996) představuje uzavření plemenné knihy starokladrubského koně, čímž dochází k zamezení přílivu nepřibuzných genů.

7.2 Generační interval

Nižší průměrné hodnoty generačního intervalu (L) v referenční populaci v porovnání s celou populací mohou být způsobeny skutečností, že během regenerace plemene v první polovině 20. století byli do reprodukce zahrnováni i starší jedinci. Rozdíl v délce generačního intervalu mezi referenčními populacemi a celkovou populací je ovlivněn také skutečností, že jedinci v referenční populaci stále žijí a mohou dále plodit potomstvo. Podobné průměrné hodnoty L odhadli Drüml et al. (2009) u plemene rakouský norik ($L = 7,9$) a Poncet et al. (2006) u plemene Franches-Montagnes ($L = 8,4$). Nepatrně vyšší hodnoty jednotlivých úseků uvádí u carthusianských koní (Carthusian horse) Valera et al. (2005). Koně v porovnání s ostatními hospodářskými zvířaty dosahují vyšší hodnotu L . Tyto vyšší hodnoty L jsou způsobeny jednak vyšším věkem při narození prvního potomka – u samců a samic 4 roky a na druhou stranu vyšším věkem při narození posledního potomka - u samců od 19 do 29.6 let a u samic od 19 až 23 roky, v závislosti na plemeni. Tomu odpovídají i hodnoty zjištěné v této práci, kdy nejnižší věk při narození potomka byl 4 roky. Byly zjištěny i vyšší hodnoty L u plemena anglický plnokrevník ($L = 11,2$ pro hřebce a $L = 9,7$ pro klisny) (Thiruvankadan, et al., 2009).

7.3 Kvalita rodokmenových informací

Zjištěná kompletnost rodokmenových informací plemene starokladrubský kůň je

porovnatelná s dalšími populacemi starošpanělských plemen. Zechner et al. (2002) zjistili u plemene lipicán 90 % známých předků do 10. generace a více než 50 % známých předků do 17. generace. U starokladrubského koně bylo zjištěno více než 50 % známých předků také do 17. generace. Zechner et al. (2002) dále uvádějí, že celkový počet známých předků jedince v 17. generaci je 2^{17} tj. 131 0072, z kterých je u starokladrubského koně známo přibližně 67 000 předků. Také Drüml et al. (2009) zjistili u rakouských noriků 90 % známých předků do 9. generace. Ekvivalentní počet generací předků představuje přepočtení množství předků jedince na počet generací s kompletním rodokmenem. Zjištěné hodnoty odpovídají již zmíněným populacím lipicánského koně (15,2; Zechner et al., 2002) a rakouského norika (12,3; Drüml et al., 2009). Pjontek et al. (2012) zjistili pro lipicánské plemeno, žijící na Slovensku, ekvivalentní počet generací předků 10,25. Podobně i u andalusského koně (8,3; Valera et al., 2005), španělského arabského koně (7,9; Cervantes et al., 2008) a německého Paint horse (4,77; Siderits et al., 2013) byly zjištěny hodnoty nižší. Výrazné procentické snížení známých předků zaznamenané mezi 8. – 9. generací spadá do první poloviny 20. století, kdy vlivem rozpadu Rakousko-Uherské monarchie hrozila plná likvidace chovu, jelikož bylo stádo vraníků zcela zrušeno a plemenní koně byli rozprodáváni. Následně započala regenerace obou variant (běloušů a vraníků).

7.4 Pravděpodobnost originálních genů

Parametry odvozené z pravděpodobnosti originálních genů mohou být použity k měření genetické rozmanitosti uvnitř plemen. Genetický příspěvek zakladatelů a předků do referenční populace poskytuje lepší pochopení změn probíhajících v genofondu a může být použit k lepší kontrole koeficientu příbuzenské plemenitby, zvláště když je uvažováno větší množství generací (Boichard et al. 1997). Avšak pouhé použití počtu zakladatelů a předků přispívajících do celkového genofondu referenční populace není dostatečné pro zjištění nerovnoměrného příspěvku mezi rozdílnými zakladateli či předky. Z tohoto důvodu je častěji upřednostňováno použití efektivního počtu předků, či zakladatelů (Boichard et al. 1997). Vztah mezi N_e , f_e a f_a poskytuje informace o existenci bottlenecku či genetického driftu v populaci. Pokud je genetický drift v populaci stabilizovaný, měl by se poměr mezi f_a a N_e rovnat hodnotě 0,5. V opačném případě by došlo k změně genetické proměnlivosti populace (Caballero a Toro, 2000). V analyzované populaci byly zaznamenány vyšší hodnoty poměru mezi těmito dvěma koeficienty (1,78, 1,50 a 1,72 pro referenční populaci, pro bílou a vranou variantu). Koeficient f_e se používá k zhodnocení rovnoměrného příspěvku předků do referenční populace. Speciálně poměr f_e/f_a představuje

zhodnocení možného poklesu genetické proměnlivosti způsobené nerovnoměrným použitím zakladatelů. Bijma a Woolliams (1999) uvádějí, že samostatné použití parametru f_e je pro hodnocení genetické rozmanitosti nedostačující, protože genetický příspěvek předků může případně konvergovat po několik generací, a tudíž počty f_e mohou zůstat konstantní.

Další zhodnocení genetické rozmanitosti je možné pomocí koeficientu f_a . Z hodnot koeficientu f_a je možné posoudit, jak velký počet předků přispěl do současného genofondu referenční populace. Zvláště u vrané varianty hodnoty f_a odrážejí nízkou hodnotu efektivní velikosti populace a nízkou hodnotu genetické proměnlivosti. Hodnoty poměru f_e/f_a indikují výskyt efektu hrdla láhve jak v celé populaci, tak v jednotlivých barevných variantách, který vede k snížení genetické proměnlivosti (Boichard et al. 1997). Dle historických záznamů byl zjištěn nejvýznamnější bottleneck v první polovině 19. století, kdy došlo téměř k vyhynutí plemene, především varianty vraníků.

Zjištěné hodnoty f_a (17,16 pro celou referenční populaci, 13,38 pro bílou variantu a 9,01 pro vranou variantu) vykazují nižší hodnoty, než zjistil Zechner et al., (2002) pro plemeno lipicán (26), nebo Valera et al., (2005) pro andaluské plemeno (27). Rozdílné hodnoty f_a byly zjištěny i v dalších studiích, například u rakouského norika (29, Drüml et al., 2009), u španělského arabského koně (407, Cervantes et al., 2008), německých paint horse (207, Siderits et al., 2013).

Dalším významným populačním parametrem používaným k hodnocení genetické proměnlivosti v malých populacích je f_{ge} . Koeficient f_{ge} představuje zhodnocení genetické proměnlivosti způsobené jak nerovnoměrným příspěvkem zakladatelů, tak náhodným genetickým driftem. Proto koeficient f_{ge} umožní přesnější zhodnocení genetické proměnlivosti. Melka et al. (2013) uvádí, že všechny popisy genetické proměnlivosti jsou relativní ke genetické rozmanitosti zakladatelů. Analýza ztráty genů je tudíž „stanovení“ pravděpodobností, že geny od zakladatelů jsou stále přítomny v referenční populaci (Lacy, 1989). Poměr f_{ge}/f_e vyjadřuje ztrátu genetické proměnlivosti způsobené genetickým driftem bez zohlednění bottlenecku. Hodnota f_{ge} je opět nadhodnocena v případě neúplného rodokmenu. Avšak koeficient f_{ge} je více robustní v případě nedostatků v rodokmenu než například efektivní velikost populace (Boichard et al., 1997).

Odhadnuté příspěvky zakladatelů do jednotlivých barevných variant odpovídají hodnotám odhadnutých u ostatních populací. Například u plemene lipicán bylo potřeba 4,15 % zakladatelů k vysvětlení 50 % genofondu referenční populace (Zechner et al., 2002), dále například u anglických a irských plnokrevných koní bylo potřeba 6,33 % zakladatelů k vysvětlení příspěvku přibližně 45 % genofondu populace (Cunningham et al., 2001). Zechner et al. (2002) navíc uvádí značně

rozdílný vliv jednotlivých zakladatelů na genetické složení referenční populace u lipického plemene. Tento rozdílný příspěvek jednotlivých zakladatelů do genofondu referenčních populací byl potvrzen i v této analýze. Poměr pohlaví nejvýznamnějších zakladatelů plně odpovídá předpokladu, že zakladatelé – hřebci, budou vykazovat vyšší příspěvek do genofondu referenčních populací než zakladatelky – klisny, a to z důvodu možného vyššího počtu potomků u hřebců v porovnání s klisnami. Z toho vyplývá vyšší předávání a upevňování genetické informace zakladatele v referenčních populacích.

7.5 Genetický příspěvek zakladatelů otcovských linií a mateřských rodin

Z výsledků rozboru příspěvků zakladatelů linií a rodin stanovených dle Volence (2004) do referenční populace celého plemene či jednotlivých barevných variant vyplývá, že daní zakladatelé linií a rodin neodpovídají definici zakladatelů dané populace v plném slova smyslu. Toto tvrzení je podloženo odhadnutými hodnotami příspěvků jednotlivých zakladatelů linií a rodin. Ze zjištěných hodnot vyplývá, že již u těchto jedinců došlo ke kumulaci genů zakladatelů (jedinci bez známých předků). Zakladatelé linií a rodin dále nesplňují další předpoklad o nepříbuznosti mezi zakladateli – u zakladatelů linií a rodin byl zjištěna průměrná hodnota koeficientu příbuznosti $a_{ij} = 0,245$. Z těchto uvedených důvodů je zřejmé, že odhadnuté příspěvky zakladatelů linií a rodin stanovených dle Volence (2004) do referenční populace, či barevných variant dosahovaly výrazně vyšší hodnoty než příspěvky skutečných zakladatelů. Při analýze poměru pohlaví přispívající do genofondu referenčních populací byl očekáván opačný poměr, než byl zjištěn u referenční populace celého plemene či vrané varianty, kdy do zmíněných populací nejvíce přispívaly klisny (poměr 6 klisen ku 4 hřebcům u referenční populace a 7 klisen ku 3 hřebcům u vrané varianty). Předpoklad opět byl, že zakladatelé linií (hřebci) budou vykazovat vyšší příspěvek do genofondu referenčních populací než zakladatelé rodin (klisny) a to z důvodu možného vyššího počtu potomků u hřebců v porovnání s klisnami.

Již z porovnání příspěvků zakladatelů linií a rodin je zřejmé, že dochází k toku genů mezi oběma barevnými variantami. Tento závěr je potvrzen skutečností že u bílé varianty druhým nejvíce přispívajícím jedincem byla vraná klisna.

Z výše uvedených informací je zřejmé, že zakladatelé otcovských linií a mateřských rodin stanovených dle metodiky Volence (2004), by měli být uvažováni jako významní předci (Lacy, 1989), nikoliv jako zakladatelé.

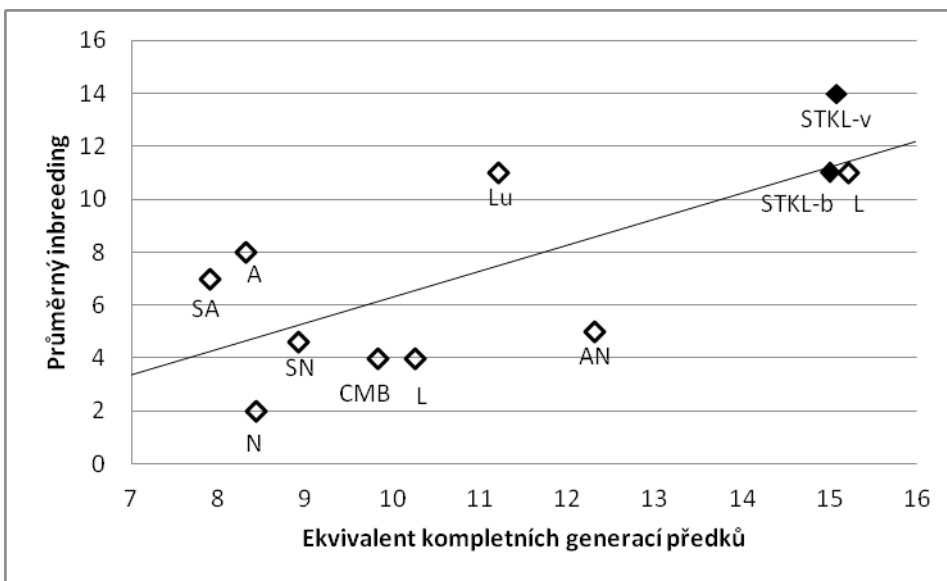
7.6 Koeficient příbuzenské plemenitby (F_x) a průměrný koeficient příbuznosti (AR)

Vývoj hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby v analyzované populaci je možné rozdělit do již zmíněných etap (kapitola 7.5). Je nutné zdůraznit, že v třetí etapě - regenerace plemene (do roku 1973), docházelo k zvyšování genetické proměnlivosti starokladrubske populace vlivem využívání jedinců jiných plemen, která byla použita k regeneraci plemene. Tyto nejvýznamnější etapy se projeví i v hodnotách průměrného koeficientu příbuzenské plemenitby dle jednotlivých roků narození jedinců. Průměrný koeficient příbuznosti každého jedince je hodnota odpovídající dvojnásobku koeficientu příbuzenské plemenitby v případě panmiktické populace. Tudíž rozdíl mezi průměrným koeficientem příbuznosti a dvojnásobkem průměrné hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby přináší informaci o nenáhodném páření jedinců v analyzované populaci. Porovnání průměrné hodnoty koeficientu příbuznosti mezi dvěma jedinci v referenční populaci a dvojnásobku průměrné hodnoty F_x v celé referenční populaci poukazuje na skutečnost, že páření jedinců mezi barevnými variantami je jednou z možných cest k snížení koeficientu příbuzenské plemenitby v dalších generacích, a to proto, že hodnota průměrného koeficientu příbuznosti vykazuje nižší hodnotu než dvojnásobek průměrného F_x . U jednotlivých barevných variant se naopak z porovnání průměrného koeficientu příbuznosti a hodnot průměrného F_x , dá očekávat nárůst hodnot F_x u budoucích generací jedinců v závislosti na spojení rodičovských párů.

Průměrné hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby uveřejněné u ostatních plemen dosahují rozdílných hodnot. U plemen starošpanělských koní, kam patří plemeno lipicán, andaluský kůň a lusitano, byly zjištěny podobné hodnoty F_x – 11 % (Zechner et al., 2002), 8 % (Valera et al., 2005) a 11 % (Vicente et al., 2014). Jakubec et al. (2009) u starokladrubske koně uvádí v roce 2003 průměrnou hodnotu $F_x = 5,66$. Značné rozdíly mezi hodnotami průměrné hodnoty F_x zjištěné v této práci a s výsledky Jakubce et al. (2009) jsou z velké části způsobeny rozdílnou kompletností rodokmenu. Jakubec et al. (2009) pro analýzu použili pouze 5 generací předků, kdy předpokládali, že za touto hranicí jsou již jedinci nepřibuzní – jedinci v páté generaci předků byli vždy bráni jako zakladatelé. Z těchto rozdílů vyplývá vliv kompletnosti rodokmenu na kvalitu odhadu populačních parametrů. Také u španělských arabských koní byl odhadnut koeficient F_x 7 % (Cervantes et al., 2008). U ostatních plemen koní byly zjištěny výrazně nižší hodnoty F_x . Například 1% u francouzských plnokrevníků (Moureaux et al., 1996), 1% u polských arabských koní (Sierszchulski et al., 2005). Někteří uvedení autoři však ve své práci neuvádějí kompletnost rodokmenu. Nízké hodnoty F_x u některých plemen mohou být ovlivněny právě neúplností rodokmenu. Vysoké hodnoty

koeficientu příbuzenské plemenitby, popřípadě koeficientu příbuznosti mezi dvěma jedinci v referenční populaci, naznačují ztrátu genetické proměnlivosti v populaci starokladrubského koně.

Z grafu 9 vyplývá, že u bílé varianty dosahovaly hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby průměrné hodnoty, avšak u vrané varianty dosahoval průměr hodnoty F_x vyšší hodnotu než průměrný koeficient příbuzenské plemenitby odhadnutý z různých populací koní při shodném ekvivalentu kompletních generací předků.



Graf 9. Porovnání mezi ekvivalentem kompletních generací předků a průměrným koeficientem příbuzenské plemenitby pro bílou (STKL-b) a černou variantu (STKL-v) starokladrubského koně a ostatními plemeny (SN – slezský norik, N – norik, CMB – českomoravský belgik – Vostrá-Vydrová et al., 2016, A - andaluský kůň – Valera et al., 2005, AN - rakouský norik – Druml et al., 2009, SA - španělský arab - Cervantes et al., 2008, L – lipicán – Zechner et al., 2002, Pjontek et al., 2012, Lu – lusitano - Vicente et al., 2012), kde lineární trend představuje průměrnou hodnotu.

Průměrná hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby charakterizuje změnu genetické struktury populace ve prospěch homozygotnosti genových sestav na úkor heterozygotnosti genofondu jedinců. Z toho vyplývá i ztráta genetické proměnlivosti, která může negativně ovlivňovat vlastnosti spojené s fitness a zvýšený výskyt fenotypových defektů. I přes relativně vysoké hodnoty F_x nemusí vždy u jedinců docházet k snížení užitkových vlastností a fitness. Vliv inbrední deprese na užitkové vlastnosti ve svých pracích nepotvrdili Curik et al. (2003), Sierszchulski et al. (2005) či Wolc a Balinska (2010). Efekt inbrední deprese byl však pozorován u dostihové výkonnosti (Klenetsdal, 1998), u morfologických vlastností (Gomez et al., 2009, Vostrý et al., 2011a a Vicente et al., 2014) a u vlastností spojených s reprodukcí (Van Eldik et al., 2006). Inbrední deprese ve většině případů ovlivňuje hlavně reprodukční parametry a vlastnosti spojené s fitness a u morfologických znaků má většinou malý nebo zanedbatelný vliv (DeRose and Roff,

1999). Například Vicente et al. (2014) odhadli u morfologických vlastností plemene lusitano inbrední depresi představující 0,1 % z průměru při nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby o 1 %. Podobné výsledky získali i Vostrý et al. (2011a) u lineárního popisu tělesného utváření chladnokrevných plemen koní.

Pro odhad koeficientu příbuzenské plemenitby byla použita i rekurzivní metoda, kterou publikoval Aguilar a Misztal (2009). Tato metoda byla však pro naši databázi nepoužitelná, protože vykazovala velkou časovou náročnost. V porovnání s tabelární metodou, využitou v této práci, kdy odhad koeficientu příbuzenské plemenitby na celé populaci trval 15 vteřin, u rekurzivní metody popsané Aguilar a Misztal (2009) jednotlivý odhad koeficientu příbuzenské plemenitby jednoho jedince v 30. generaci trval 60 minut. Aguilar a Misztal (2009) uvádějí, že jimi navržená rekurzivní metoda je vhodná pro velké populace s nepříliš hlubokým rodokmenem, kam patří většina populací hospodářských zvířat. Při využití rekurzivní metody, která pročítá pro každého jedince rodokmen až k příbuzným jedincům nebo k zakladatelům, při kompletním rodokmenu u každého jedince ve třicáté generaci je potřeba pročíst 2^{30} tj. přibližně 11 miliónů záznamů. K podobným závěrům dospěli i Meuwissen a Luo (1992), kteří uvádějí, že jimi navrhovaná metoda využívající rozklad genetické matice příbuznosti, je vhodná pro velké populace s hloubkou rodokmenu do 12 generací.

Jeden z hlavních parametrů sledování genetické rozmanitosti je přírůstek příbuzenské plemenitby (ΔF). Vývoj ΔF odpovídá historickému vývoji plemene. Největší nárůst hodnot ΔF byl zjištěn v období regenerace obou barevných variant. Nižší hodnoty ΔF u vrané varianty mezi roky 1944 až 1949 jsou způsobeny přílivem genů z ostatních plemen, která byla využita v regeneraci vraníků. Jak vyplývá z grafu 8, od roku 1985 ΔF vykazuje u všech jedinců v populaci a subpopulacích kladný růst hodnot. Toto odpovídá uzavřené populaci a plemenářské práci u starokladrubskeho koně. Zvýšení hodnot ΔF u jedinců narozených v posledních letech odpovídá důvodům ovlivňujícím hodnoty F_x . Z kladných hodnot ΔF v referenční populaci je možné očekávat zvyšování hodnot F_x v dalších generacích populace starokladrubskeho koně. Hodnoty (ΔF) vykazovaly pro referenční populaci v jednotlivých letech nízké hodnoty. Food and Agriculture Organization organizace spojených národů (FAO, 2000) uvádí, že by neměla hodnota ΔF překročit 1 % za generaci.

I v populaci genových zdrojů může docházet k preferovanému připařování (preference vybraných plemeníků a plemenic). Z tohoto důvodu může průměrný koeficient příbuzenské plemenitby následující generace nabývat vyšších hodnot než jsou očekávané průměrné hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby odvozené z průměrných hodnot původového koeficientu

výchozí populace. Některé studie ukazují, že průměrná hodnota původového koeficientu je vhodný ukazatel genetické rozmanitosti, protože v sobě zahrnuje jak efekt zakladatelů tak efekt genetického driftu (Lacy, 1995; Meuwissen, 1997; Caballero a Toro, 2000). S ohledem na vztah mezi příbuzností mezi jedinci a genetickou rozmaností, je možné demonstrovat, že u otevřených populací výběr rodičovských párů, za účelem snížení příbuznosti mezi jedinci následující generace, může zvýšit genetickou proměnlivost (Lacy, 1995). U uzavřených populací je zvyšování genetické rozmanitosti obtížné, a z dlouhodobého pohledu nemožné (Frankham et al., 2003), a to z důvodu, že nemůže docházet k přílivu nových genů do populace. Průměrný koeficient příbuzenské plemenitby popisuje změnu v genetickém složení populace ve směru zvyšování homozygotnosti na úkor heterozygotnosti lokusů a znamená ztrátu genetické proměnlivosti. Tato ztráta genetické proměnlivosti může negativně ovlivnit vlastnosti spojené s fitness a zvyšuje pravděpodobnost výskytu fenotypových defektů. Z tohoto důvodu patří nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby za generaci (ΔF) k jednomu z parametrů hodnotících změnu v genetické proměnlivosti populací.

7.7 Efektivní velikost populace

Hodnoty N_{eF} , odvozené z (ΔF) vykazovaly hodnoty blízké doporučenému minimu N_e (50) pro udržení genetické rozmanitosti (FAO, 1998, Meuwissen a Woolliams, 1994). U vrané varianty tato hodnota byla dokonce překročena. Zjištěné hodnoty N_{eF} , v porovnání s hodnotami populací starošpanělských, koní byly nižší než N_{eF} odhadnuté u plemena lipicán ($N_{eF} = 117$, Pjontek et al., 2012), a vyšší než u plemene lusitano ($N_{eF} = 28$, Vicente et al., 2014). Vliv na hodnoty N_e má také zvolená metoda odhadu jak poukazují ve své práci Groeneveld et al. (2009). Odhady efektivní velikosti populace, při kterých jsou použité různé metody odhadu (uvedené v kapitole 2.5) mohou tudíž dosahovat hodnot s drobnými či většími rozdíly. Proto přímé porovnání odhadnutých hodnot N_e rozdílnými metodami není úplně možné. Podobně jako u ostatních populačních parametrů, mohou být hodnoty N_e ovlivněny nekompletností rodokmenu (Boichard et al., 1997). Vliv kompletnosti rodokmenu na hodnoty N_e zkoumali u plemen prasat Uimari a Tapio (2011). Tito autoři uvádějí, že výsledky odhadu efektivní velikosti populace nejsou náchylné na kompletnost rodokmenu. Tito autoři zaznamenali velmi malé rozdíly hodnot efektivní velikosti populace mezi rodokmenem zahrnující 5 či 10 generací s rozdílným limitem "PCI" (0,4 a 0,7). Jakubec et al. (2009) u starokladrubského koně uvádí v roce 2003 hodnotu N_e 140. Tento značný rozdíl mezi hodnotou N_e zjištěnou v této práci a hodnotou, kterou publikoval Jakubec et al. (2009) je způsobena rozdílnou metodou odhadu efektivní velikosti populace, kdy Jakubec et al. (2009) využil pro odhad

N_e metodu využívající rozdíl v počtu samců a samic využitých v reprodukci (Falconer a MacKey, 2009).

Rozdíly mezi odhady efektivních velikostí populací založených na nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby (N_{eF}) a nárůstu koeficientu příbuznosti (N_{eC}) informují o možném nenáhodném páření mezi jedinci v analyzované populaci, či subpopulacích, a možném snížení hodnoty genetické rozmanitosti v následujících generacích v důsledku kombinací rodičovských párů. Pokud by populace vykazovala rysy idealizované populaci N_{eF} a N_{eC} by měly dosahovat shodných hodnot, neshoda mezi těmito parametry poukazuje na preferovaný výběr rodičovských párů. Jinými slovy, porovnání hodnot N_{eC} a N_{eF} umožňuje charakterizaci vlivu preferenčního připařování v populaci (Cervantes et al., 2011). Falconer a Mackay (1996) uvádějí, že jsou velmi dobře známy vlivy, které způsobují vyšší hodnotu příbuzenské plemenitby než jaká by byla dosažena v idealizované populaci. Mezi tyto vlivy patří právě preferenční připařování. Cabellero (1994) uvádí, že kromě preferenčního připařování, může docházet k zvyšování příbuznosti v populacích s omezeným počtem jedinců vlivem genetického driftu. Z těchto závěrů vyplývá, že rozdílnost mezi hodnotami koeficientu příbuzenské plemenitby (F_s) a původového koeficientu (f_{ij}), je zapříčiněna rozdělením populace (Cervantes et al., 2011). Avšak snaha o připařovací plán, který minimalizuje přírůstek koeficientu příbuzenské plemenitby, vede většinou k zvyšování průměrné hodnoty původového koeficientu, než které by bylo očekáváno při náhodném páření. Tato skutečnost se projevuje právě u plemene starokladrubský kůň, kdy jsou upřednostňovány rodičovské páry, jejichž potomci budou dosahovat co nejnižší hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby. Toto preferenční připařování však zvyšuje příbuznost v celé populaci, protože dochází k záměrnému připařování nepříbuzných jedinců, čímž dochází k zvyšování příbuznosti v populaci. Z poměru N_{eC}/N_{eF} (hodnota nižší než 1) je zřejmé že u obou barevných variant nedochází k preferenčnímu připařování, které by rozdělovalo danou barevnou variantu na další subpopulace (například otcovské linie). Tento závěr je plně v souladu s alternativním připařovacím plánem, jehož cílem je vyhledávání co nejvhodnějších rodičovských párů z pohledu dosažení co nejnižší hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby u jejich potomstva, bez ohledu na příslušnost k otcovským liniím a mateřským rodinám. Naopak u celé referenční populace dosahovala hodnota poměru $N_{eC}/N_{eF} = 1,3$. Tento výsledek jasně poukazuje na rozdělení dané populace. Tento závěr opět odpovídá šlechtitelskému cíli plemene starokladrubský kůň, kdy je snaha o oddělený chov obou barevných variant. I když jak bylo uvedeno v kapitole 10.1.2 již jsou linie, které zahrnují jedince obou barevných variant.

7.8 Ztráta genetické rozmanitosti

Vývoj ztráty genetické rozmanitosti jak u referenční populace tak u jednotlivých barevných variant odpovídá vývoji změny koeficientu příbuzenské plemenitby (ΔF) podobně jako již zmíněná ΔF plně odpovídá historickému období (graf 6.), kdy v roce 1974 je ukončena regenerace starokladrubskeho koně a započalo období zušlechtování. Obecně, v referenční populaci starokladrubskeho koně došlo ke ztrátě genetické rozmanitosti. Podíl ztráty genetické rozmanitosti v důsledku náhodného genetického driftu byl vyšší než podíl způsobený nenáhodným přispěním zakladatelů. Tento genetický drift byl převážně ovlivněn efektem hrdla láhve (bottleneckem), ke kterému došlo v první polovině dvacátého století. Efekt hrdla láhve (bottleneck) představoval speciální formu genetického driftu, hlavně u populace vraníků. Avšak kromě zmíněného genetického driftu a nerovnoměrného přispěvků zakladatelů do referenční populace, je také ztráta genetické rozmanitosti ovlivněna přípařovacím plánem a podobnými vlivy. Vývoj ztráty genetické rozmanitosti v posledních letech sledovaného období odpovídá vývoji u uzavřené populace bez možnosti přílivu genů z fylogeneticky podobných plemen.

7.9 F-statistiky + Analýza genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi

Fernández et al. (2005) uvádí, že ztráta genetické rozmanitosti uvnitř plemen je z velké části ovlivněna genetickým driftem, který vede k zvýšení homozygotnosti populace a fixace alel. Fixační koeficient (F_{ST}) odhadnutý pro barevné varianty a otcové linie starokladrubskeho koně vykazoval vyšší hodnotu než F_{ST} mezi plemeny čínských koní (Ling et al., 2011), a naopak nižší hodnotu, než u španělských plemen koní (7,8%, Cañon et al., 2000), či u polských plemen koní (10%, Ząbek et al., 2005). Hodnoty fixačního koeficientu (F_{ST}) odhadnuté v této práci pro jednotlivé barevné varianty starokladrubskeho koně vykazovaly nižší hodnoty než F_{ST} , které byly odhadnuty mezi barevnými variantami tohoto plemene s využitím padesáti mikrosatelitních markerů ($F_{ST} = 0,10$) nebo s využitím třinácti SNP ($F_{ST} = 0,13$) (Janova et al., 2013). Menší genetická vzdálenost mezi barevnými variantami může být způsobena snahou o rozšíření genetické základny a přípařováním jedinců z obou barevných variant, tomu by odpovídal i efektivní počet migrantů za generaci, který představuje tok genů (gene flow) mezi subpopulacemi. Dle Goyache (2016, pers. comm.) hodnoty podílu migrantů dle Wrighta (1969) nemusí vždy představovat změnu genetického založení subpopulací, či genetickou změnu v populaci, pokud je podíl genů, či genetické založení

sledovaných populací, či subpopulací shodné. Vhodnější je proto použít hodnoty průměrného původového koeficientu mezi subpopulacemi. Cervantes et al. (2009) uvádí, že hodnoty průměrné hodnoty původových koeficientů uvnitř a mezi subpopulacemi (barevné varianty či otcovské linie) jsou více vypovídající než přípařovací politika a historický vývoj plemene. Je důležité si uvědomit, že původový koeficient dosahuje poloviny koeficientu příbuznosti v matici příbuznosti, který představuje pravděpodobnost, že dva jedinci sdílí shodné geny, nebo, jako zde, tok genů mezi dvěma subpopulacemi. Z tohoto pohledu je možné konstatovat, že obě barevné varianty spolu sdílejí 12 % genů. U otcovských linií se tok genů pohyboval v intervalu mezi 9 % (RUDOLFO a ROMKE) až 26 % (SIGLAVI PAKRA a SOLO, ROMKE a SOLO).

V současné době již existují otcovské linie, které zahrnují jedince jak vraníky tak bělouše (GENERALISSIMUS, SACRAMOSO a ROMKE). Snahou o snížení dopadu možné příbuzenské plemenitby dochází k snižování genetické vzdálenosti mezi barevnými variantami. K podobným závěrům dospěli na podkladě molekulárně genetické analýzy také Vostrý et al. (2011b), který hodnotil genetické vzdálenosti mezi otcovskými liniemi obou barevných variant. Fixační koeficient F_{IS} je ekvivalentem parametru alfa (Cabalero a Toro, 2009), a který poukazuje na skutečnost zda dochází v populaci k úzké příbuzenské plemenitbě, či nikoli. Tento parametr nabývá záporných hodnot, když nedochází k páření mezi příbuznými jedinci pro tvorbu následné generace. Z hodnoty F_{IS} vyplývá, že u analyzovaných barevných variant se chovatelé přísně vyhýbají úzké příbuzenské plemenitbě. Přesto, jak již bylo uvedeno, dochází v populaci stále k nárůstu homozygotnosti populace.

Z výsledků rozboru genetické rozmanitosti uvnitř a mezi otcovskými liniemi pomocí shlukové analýzy vyplývá (graf 8), že z druhého shluku jsou si nejvíce podobné otcovské linie SACRAMOSO a SOLO (Sacramoso XXXI). Jedná se o nejstarší vrané otcovské linie starokladrubského koně. Vysoká podobnost mezi těmito dvěma otcovskými liniemi je také způsobena skutečností, že jeden hřebec linie SACRAMOSO (Sacramoso XXXI) byl v rámci regenerace starokladrubských vraníků přejmenován na Solo a podílel se rozhodujícím způsobem na regeneračním procesu jako zakladatel nové otcovské linie. Tyto dvě otcovské linie vykazovaly nejvyšší podobnost z celé populace. K těmto dvěma liniím je také v úzkém vztahu otcovská linie ROMKE. Linie SIGLAVI PAKRA vykazovala od vyjmenovaných otcovských linií výraznou genetickou vzdálenost. (tabulka 13). Toto zjištění však neodpovídá obecně známým faktům ani plemenářským záznamům. Zakladatel otcovské linie SIGLAVI PAKRA byl lipicánský hřebec, což je plemeno nejbližší příbuzné kladrubskému plemenu. Mezi oběma plemeny docházelo v minulosti

k poměrně časté výměně chovného materiálu (Bílek, 1957). Naproti tomu Romke byl fríský hřebec, což je plemeno přes společný starošpanělský původ dosti vzdálené. Otcovské linie GENERALE – GENERALISSIMUS a FAVORY vykazovaly nejvyšší genetickou podobnost v prvním shluku. K těmto dvou otcovským liniím byla v úzkém vztahu otcovská linie GENERALE následovaná otcovskou linií ROMKE. Nejvzdálenější v prvním shluku byla otcovská linie FAVORY – GENERALISSIMUS. Ovšem jak vyplývá z plemenářských záznamů, otcovská linie GENERALE – GENERALISSIMUS je ve skutečnosti otcovskou linií GENERALE, zatímco linie FAVORY – GENERALISSIMUS je ve skutečnosti linií FAVORY. Otcovská linie Generale, která patří mezi nejstarší otcovské linie starokladrubského koně se podílela, podobně jako linie Favory, na obnovení linie Generalissimus. Dle analýzy chovatelských záznamů není tedy logické, aby linie Generale – Generalissimus (tj. Generale) byla vzdálenější k otcovské linii Generale, než k otcovské linii FAVORY. Stejně tak aby otcovská linie FAVORY – GENERALISSIMUS (tj. FAVORY) byla na základě původových koeficientů nejvzdálenější od vlastní otcovské linie FAVORY. Tyto nepřesnosti mezi chovatelskými záznamy a zjištěnými výsledky jsou způsobeny skutečností, že při určování otcovské linie se nebere v úvahu zařazení matky do příslušné otcovské linie. Díky rotačnímu připřařování mezi liniemi dochází k stírání genetickému rozdílů mezi liniemi.

Jak už bylo zmíněno výše u poměru mezi efektivními velikostmi populace (N_{eC}/N_{eF}) obě barevné varianty nejsou zatíženy žádným rozdělením na další subpopulace. To znamená, že u obou barevných variant nedochází k preferenčnímu připřařování, které by rozdělovalo danou barevnou variantu na další subpopulace – otcovské linie. Toto je způsobeno rotačním připřařovacím plánem, kdy se záměrně páří jedinci napříč otcovských linií (vysoký stupeň meziliniové plemenitby), čímž z genetického hlediska dochází k snížení výrazných genetických rozdílů mezi otcovskými liniemi a dochází ke stírání genetického vlivu otce zakladatele, a otcovské linie se stávají z genetického hlediska více méně formální jednotkou. Z historického hlediska by totiž největší vzdálenost podle svého původu měla vůči ostatním vykazovat otcovská linie RUDOLFO, která pochází z Portugalska, zatímco původní starokladrubská otcovská linie GENERALE, a lipická otcovská linie FAVORY by si měly být bližší. Z hlediska známých původů linií by tedy měly být na jedné větvi linie GENERALE a GENERALE – GENERALISSIMUS, na sousední větvi FAVORY a FAVORY – Generalissimus a na nejvzdálenější větvi RUDOLFO. Shodné shlukování u černé varianty také uveřejnili Vostrý et al. (2011b) na základě 13 mikrosatelitních markerů. U bílé varianty byly zaznamenány rozdíly s výsledky zmíněné v práci Vostrý et al. (2011b) ve shlukování v porovnání s výsledky této práce. Shluky publikované Vostrým et al. (2011b) dle mikrosatelitní analýzy také

neodpovídají, podobně jako v této analýze, chovatelsky vedeným záznamům starokladrubského plemene. Zjištěné rozdílnost mezi chovatelskými záznamy a zjištěnými výsledky jsou opět způsobeny skutečností, že při určování otcovské linie jedince není brána do úvahy otcovská line matky.

8. Závěr

Byla provedena komplexní rodokmenová analýza jedinců starokladrubského plemene. Výsledky z analýzy kompletnosti rodokmenu vykazují vysoký stupeň kompletnosti rodokmenu. Je možné předpokládat, že k ovlivnění efektivního počtu předků nekompletním rodokmenem nedochází. Byla zjištěna vysoká ztráta genetické proměnlivosti u populace starokladrubského koně (od 10,5 % celou referenční populaci do 17 % pro vranou variantu). K této významné ztrátě genetické proměnlivosti došlo díky historickému vývoji a největší úbytek byl zaznamenán do sedmdesátých let dvacátého století. Tato ztráta genetické proměnlivosti měla za následek výrazný pokles efektivních počtů zakladatelů a předků. Malý efektivní počet předků poukazuje na intenzivní využívání jen několika hřebců v plemenitbě. Nerovnoměrný příspěvek předků do referenční populace také vedl ke ztrátě genetické rozmanitosti. Dále byl zjištěn vysoký vliv náhodného genetického driftu na ztrátu genetické rozmanitosti. Všechny tyto skutečnosti jsou způsobeny regenerací starokladrubského koně, kdy docházelo k regeneraci celého plemene jen z malého počtu jedinců, hlavně u vrané varianty.

Vysoké hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby byly odhadnuty díky vysoké kompletnosti rodokmenů, která pomohla zpřesnit jeho výpočet. Dále k zpřesnění hodnoty koeficientu příbuzenské plemenitby přispělo využití metodiky dle VanRadena (2003), která umožňuje zohlednit průměrný koeficient příbuzenské plemenitby pro neznámé předky. Parametry hodnotící využívání nepříbuzných jedinců v populaci (parametr $\alpha \Rightarrow F_{IS}$) poukazuje na vhodnou plemenářskou strategii. Přesto by se měla šlechtitelská práce zaměřit na zvýšení podílu zařazených jedinců do plemenitby s ohledem na snižování přírůstku koeficientu příbuzenské plemenitby za generaci (ΔF) a zajištění rovnoměrného příspěvku zakladatelů do následné generace s cílem udržení vysokého stupně genetické proměnlivosti do dalších generací.

Bílá i vraná varianta vykazovala nízké hodnoty genetické vzdálenosti. Nízké hodnoty genetické vzdálenosti byly také odhadnuty mezi jednotlivými otcovskými liniemi. Tyto nízké hodnoty genetické vzdálenosti jsou důsledkem cíleného meziliniového připařování za účelem snížení dopadu příbuzenské plemenitby. Má to však za důsledek stírání genetických rozdílů mezi jednotlivými otcovskými liniemi.

Dá se předpokládat, že správnou strategií pro uchování genetické rozmanitosti v populaci starokladrubského koně by bylo snížení nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby v populaci a zvýšení efektivní velikosti populace. V řízení chovu starokladrubského plemene by měly být požadovány optimální podíl selekce v populaci, minimalizování koeficientu příbuzenské

plemenitby, maximalizace genetické proměnlivosti a vyvážený genetický příspěvek jedinců do následné generace.

Závěrem je možné konstatovat, že obě stanovené hypotézy byly potvrzeny. Rovněž cíl práce byl naplněn touto dosud nejhlubší a nejrozsáhlejší populační analýzou rodokmenů starokladrubskeho koně studující genetickou proměnlivost plemene a její vývoj.

9. Seznam literatury

- Aguilar, I., Misztal, I. 2009. Technical note: Recursive Algorithm for inbreeding coefficients assuming nonzero inbreeding of unknown parents. *Journal of Dairy Science*. 91. 1669-1672.
- Bartolomé, E., Goyache, F., Molina, A., Cervantes, I., Valera, M., Gutiérrez, J. P. 2010. Pedigree estimation of the (sub)population contribution to the total gene diversity: the horse coat colour case. *Animal*. 4. 867-875.
- Baumung, R., Sölkner, J. 2003. Pedigree and marker information requirements to monitor genetic variability. *Genetics Selection Evolution*. 35. 369-383.
- Bijma, P., Woolliams, J. A. 1999. Prediction of genetic contributions and generation intervals in populations with overlapping generations under selection. *Genetics*. 151. 1197-1210.
- Bílek, F. 1957. Starokladrubský kůň. In: *Speciální zootechnika II. Chov koní*. 74 -104. Státní zemědělské nakladatelství Praha. s. 1015. ISBN: 41827/56-562359.
- Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E. 1997. The value using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a populations. *Genetic Selection Evolution*. 29. 5-23.
- Caballero, A. 1994. Developmnets in the prediction of effective population-size. *Heredity*. 73 (6). 657-679.
- Caballero, A., Toro, M. A. 2000. Interrelations between effective population size and other pedigree tools for the management of conserved populations. *Genetical Research*. 75. 331-343.
- Caballero, A., Toro, M. A. 2002. Analysis of genetic divesity for the management of conserved subdivide populations. *Consevration Genetic*. 3. 289-299.
- Cañon, J., Checa, M. L., Carleos, C., Vega-Pla, J. L., Vallejo, M., Dunner, S. 2000. The genetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data. *Animal Genetics*. 31. 39-48.
- Cervantes, I., Goyache, F., Molina, A., Valera, M., Gutiérrez, J. P. 2008. Application of individual increase in inbreeding to estimate effective size from real pedigrees. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 125. 301–310.
- Curik, I., Zechner, P., Sölkner, J., Achmann, R., Bodo, I., Dovč P., Kavar T., Marti E., Brem G. . 2003. Inbreeding, microsatellite heterozygosity, and morphological traits in Lipizzan horses. *Journal of Heredity*. 94. 125-132.
- Drüml, T., Baumung, R., Sölkner, J. 2009. Pedigree analysis in the Austrian Noriker draught horse: genetic diversity and the impact of breeding for coat colour on population structure. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 126. 348-356.

- DeRose, M. A., Roff, D. A. 1999. A comparison of inbreeding depression in life-history and morphological traits in animals. *Evolution*. 53 (4). 1288–1292.
- Falconer, D. S., Mackay, T. F. C. 1996. Introduction into quantitative genetics. Longman House, Harlow Essex., p. 464. ISBN: 978-0582243026.
- FAO, 2000. Secondary guidelines for development of farm animal genetic resources management plans. Management of small populations at risk. FAO. Rome. Italy. p. 219.
- Ferenčákovič, M., Hamzic, E., Gredler, B., Curik, I., Sölcner J. 2011. Runs of homozygosity reveal genome-wide autozygosity in the Austrian Fleckvieh cattle. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 76. 325-328.
- Frankham, R., Ballou, J. D., Briscoe, D. A. 2003. Introduction to conservation genetics. Cambridge university press. Cambridge, UK, p. 619. ISBN: 0 521 63985 9.
- Gomez, M. D., Valera, M., Molina, A., Gutierrez, J. R., Goyache, F. 2009. Assessment of inbreeding depression for body measurements in Spanish Purebred (Andalusian) horses. *Livestock Science*. 122. 149-155.
- Goyache, F. 3rd March 2016. pers. comm.
- Gutierrez, J.P., Goyache, F. 2005. A note on ENDOG: a computer program for analyzing pedigree information. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 122, 357–360.
- Goyache, F., Guitiérrez, J. P., Fernández, I., Gómez, E., Álvarez, I., Díez, J., Royo, L. J. 2003. Using pedigree information to monitor genetic variability of endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 120. 95-103.
- Groeneveld, E., Van der Westhuizen, B., Maiwashe, A., Voordewind, F., Ferraz, J. B. S. 2009. POPREP: A generic report for population management. *Genetics Molekular Research*. 8. 1158-1178.
- Hamilton B. M. (2009): Population Genetics. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK, p. 407. ISBN: 1444311913.
- Hartl, D. L., Clark, A. G. 1997. Principles of population genetics. Sinauer Associates, USA, p. 543. ISBN: 0878933069.
- Jakubec, V., Vostrý, L., Schlote, W., Majzlík, I., Mach, K. 2009. Selection in the genetic resource: genetic variation of the linear described type traits in the Old Kladrub horse. *Archiv für Tierzucht*. 52. 343-355.

- Janova, E., Futas, J., Klumplerova, M., Putnova, L., Vrtkova, I., Vyskocil, M., Frolkova, P., Horin, P. 2013. Genetic diversity and conservation in a small endangered horse population. *Journal of Applied Genetics*. 54. 285–292.
- Kadlečík, O., Kasarda, R., Mészáros, G. 2008. Inbreeding in purebred Slovak Pinzgau dual – purpose cattle population. *Archiva Zootechnica*. 11 (2). 21-28.
- Klenetsdal, G. 1998. The effect of inbreeding on racing performance in Norwegian cold-blood trotters. *Genetics Selection Evolution*. 30. 351-366.
- Lacy, R. C. 1989. Analysis of founder representation in pedigrees: Founder Equivalent and Founder Genome Equivalents. *Zoo Biology*. 8. 111-123
- Lacy, R. C. 1995. Clarification of genetic terms and their use in the management of captive populations. *Zoo Biology*. 14. 565-578.
- Ling, Y. H., Ma, Y. H., Guan, W. J., Cheng, Y. J., Wang, Y. P., Han, J. L., Mang, L., Zhao, Q. J., He, X. H., Pu, Y. B., Fu, B. L. 2011. Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite markers. *Animal Genetics*. 42. 56-65.
- Machek, I. 2010. Koně starokladrubští po roce 1989. In: Plemenná kniha starokladrubských koní. Národní hřebčín Kladruby nad Labem, s. p., Sezenice. s. 8. ISBN:978-80-254-9004-4.
- Machek, J., Roubalová, M., 2006. Situační a výhledová zpráva koně, Ministerstvo zemědělství České republiky. Praha. s. 69. ISBN 80-7084-532-5.
- Marras, G., Gaspa, G., Sorbolini, S., Dimauro, C., Ajmone-Rasan, P., Valentini, A., Williams, J. L., Macciotta, N. P. P. 2014. Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Animal Genetics*. 46. 110-121.
- Maignel, L., Boichard, D., Verrier, E. 1996. Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. *Interbull Bull*, 14. 49-54.
- Melka, M. G., Stachowicz, K., Miglior, F., Schenkel, F. S. 2013. Analyses of genetic diversity in five Canadian dairy breeds using pedigree data. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 130. 476-486.
- Meuwissen, T. H. E., Luo, Z. 1992. Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genetic Selection Evolution*. 24. 305-313.
- Meuwissen, T. H. E., Woolliams, J. A. 1994. Effective sizes of livestock populations to prevent a decline in fitness. *Theoretical and Applied Genetics*. 89 (8-7). 1019-26.
- Nei, M., (1987): *Molecular evolutionary genetic*. Columbia University Press, New York. p. 5112. ISBN: 978-0-231-06321-0.

- Pearl, R. 1913. A Contribution Towards an Analysis of the Problem of Inbreeding. *The American Naturalist*. 47. 577-614.
- Pjontek, J., Kadlečík, O., Kasarda, R., Horný, M. 2012. Pedigree analysis in four Slovak endangered horse breeds. *Czech Journal of Animal Science*. 57 (2). 54-64.
- Poncet, P. A., Pfister, W., Muntwyler, J., Glowatzki-Mullis, M. L., Gaillard, C. 2006. Analysis of pedigree and conformation data to explain genetic variability of the horse breed Franches-Montagnes. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 123. 114-121.
- Relichová, J. 2009. *Genetika poulací*, Masarykova univerzita v Brně, 188 s., ISBN: 978-80-210-4795-2.
- Sierszchulski, J., Helak, M., Wolc, A., Szwaczkowski, T., Schlote, W. 2005. Inbreeding rate and its effect on three body conformation traits in Arab mares. *Animal Science Papers and Reports*. 23. 51-59.
- Siderits, M., Baumung, R., Fuerst-Waltl, B. 2013. Pedigree analysis in the German Paint Horse: Genetic variability and the influence of pedigree quality. *Livestock Science*. 151. 152-157.
- Šancová, Z. 2010. Zásady chovu starokladrubských koní. In: *Plemenná kniha starokladrubských koní*. Národní hřebčín Kladruby nad Labem, s. p., Sezenice. p. 8., ISBN:978-80-254-9004-4.
- Thiruvankadan, A. K., Kandasamy, N., Panneerselvam, S. 2009. Inheritance of racing performance of Thoroughbred horses. *Livestock Production Science*. 121. 308-326.
- Toro, M. A., Fernández, J., Caballero, A. 2009. Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*. 120. 174-195.
- Uimari, P., Tapio, M. 2011. Extent of linkage disequilibrium and effective population size in Finnish Landrace and Finnish Yorkshire pig breeds. *Journal of Animal Science*. 89. 609-614.
- Van Eldik, P., Van der Waaij, E. H., Duucro, B., Kooper, A. W., Stout, T. A. E., Colenbander, B. 2006. Possible negative effects of inbreeding on semen quality in Shetland pony stallions. *Theriogenology*. 65. 1159-11710.
- VanRaden, P. M. 1992. Accounting for inbreeding and crossbreeding in genetic evaluation of large populations. *Journal of Dairy Science*. 75. 3136-3144.
- VanRaden P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of Dairy Science*. 91. 4414-4423.
- Valenta, V. 2010. Nejstarší plemeno koní vyšlechtěné v Čechách vzniklo v hřebčíně v Kladrubech nad Labem. In: *Plemenná kniha starokladrubských koní*. Národní hřebčín Kladruby nad Labem, s. p., Sezenice. p. 8., ISBN:978-80-254-9004-4.

- Valera, M., Molina, A., Gutierrez, J. P., Gomez, J., Goyache, F. 2005. Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Livestock Production Science* 95. 57-66.
- Vicente, A. A., Carolin, N., Gama, L. T. 2014. Genetic diversity in the Lusitano horse breed assessed by pedigree analysis. *Livestock Science*. 148. 16-25.
- Vostrý, L., Čapková, Z., Příbyl, J., Mach, K. 2011a. Analysis of Czech cold-blooded horses: genetic parameters, breeding value and the influence of inbreeding depression on linear description of conformation and type characters. *Czech Journal of Animal Science*. 56. 217-230.
- Vostrý, L., Kracíková, O., Hofmanová, B., Czerneková, V., Kott, T., Příbyl, J. 2011b. Intra-line and inter-line genetic diversity in sire lines of the Old Kladruber horse based on microsatellite analysis of DNA. *Czech Journal of Animal Science*. 56. 163-175.
- Wade, C. M., Giulotto, E., Sigurdsson, S., Zoli, M., Gnerre, S., Imsland, F., Lear, T. L., Adelson, D. L., Bailey, E., Bellone, R. R. 2009. Genome Sequence, Comparative Analysis, and Population Genetics of the Domestic Horse. *Science*. 326. 865-867.
- Wolc, A., Balińska, K. 2010. Inbreeding effects on exterior traits in Polish konik horses. *Archiv für Tierzucht*. 53. 1-8.
- Wright, S. 1969. *The Theory of Gene Frequencies: Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 2. Chicago University press, Chicago, USA. p. 520. ISBN: 9780226910390.
- Yang, J., Benyamin, B., McEvoy, B. P., Godon, S., Henders, A. K., Nyholt, D. R., Madden, P. A., Heath, A. C., Marin, N. G., Montgomery, G. W., Goddard, M. E., Visscher, P. M. 2010. Common SNPs explain a large proportion of heritability for human height. *Nature Genetics*. 42 (7). 565-569.
- Ząbek, T., Nogaj, A., Radko, A., Nogaj, J., Słota E 2005. Genetic variation of Polish endangered Biłgoraj horses and two common horse breeds in microsatellite loci. *Journal of Applied Genetics*. 46. 299-305.
- Zechner, P., Zohman, F., Sölkner, J., Bodi, I., Habe, F., Marti, E., Brem, G. 2002. Morphologic description of the Lipizzan horse population. *Livestock Production Science*. 69. 163-177.

Internetové zdroje:

- Berg, P., Kettunen, A. 2016. Workshop – Optimal Contribution Selection [online], [cit. 1.9. 2016], dostupné z <<https://sites.google.com/a/nordgen.org/workshop-optimal-contribution-selection/workshop-program>>

- Janss, L. L., Christensen, O. F. 2015. Summer Course – Statistical-models-for-genomic-prediction-in-animals-and-plants [online], [citováno 1. 9. 2016], dostupné z <<http://phd.au.dk/gradschools/scienceandtechnology/courses/scientific-courses/kurser-2015/statistical-models-for-genomic-prediction-in-animals-and-plants-2015/>>
- Volenec, J. 2004. Metodický přístup stanovování a výpočtu podílů původních genů u genetického zdroje plemene starokladrubský kůň. [online], [citováno dne 2.5.2016], dostupné z <<http://www.nhkladruby.cz/dokumenty/STKLGENPU.rtf>>
- Vyhodnocení šlechtitelského programu starokladrubských koní. 2015. [online], [citováno dne 2.5.2016] , dostupné z <<http://www.cmsch.cz/store/starokladrubsky-kun-2015.pdf>>

10. Přílohy

10.1 Starokladrubský kůň

Starokladrubský kůň je jediné plemeno koní, které je možné považovat za původní české, které bylo vyšlechtěné speciálně pro ceremoniální účely a šlechtu. Do dnešních dnů si toto plemeno stále udrželo barokní ráz. Starokladrubský kůň je významnou genovou rezervou s jedinečnými vlastnostmi a vysokou kulturní a historickou hodnotou. Lze říci, že starokladrubský kůň, který patří mezi ohrožená plemena s počtem plemenných klisen do 1000 kusů, je na území České republiky nepřetržitě chován po více než čtyři sta let. Vznik tohoto plemene se váže na založení hřebčína v Kladrubech nad Labem r. 1579, jehož úkolem bylo produkovat kvalitní koně na základě starošpanělské krve pro potřeby habsburského císařského dvora (Bílek, 1957). V současnosti se jedná o teplokrevné plemeno velkého rámce gala-karosiérového typu zachovávající si do dnešních dnů typický barokní zevnějšek. Plemeno je od počátku 19. století chováno ve dvou barevných variantách – bělouš a vraník jak v Národním hřebčíně, tak v zemském chovu. Obě barevné varianty byly po většinu doby chovány odděleně.

10.1.1 Historie chovu

Chovem koní v Kladrubech nad Labem se zabýval již rod Perštejnů od roku 1541. Následně byl v roce 1560 vybudován hřebčinec. Roku 1579 rozšiřuje císař Rudolf II hřebčinec na hřebčín a uděluje mu status Císařského dvorního hřebčína (Valenta 2010), k němuž se váže vznik tohoto plemene (Machek a Roubalová, 2006). Tím se stávají kladrubští koně součástí dvorní ceremonie Habsburků, které dodávali díky své ušlechtilosti na jedinečnosti. Starokladrubský kůň bělouš se stal symbolem aristokracie, zatímco vraníci byli využíváni zásadně církevními hodnostáři. Základem tehdejšího chovu se staly domácí klisny, zapouštěné dovezenými hřebci španělského a neapolského původu. Na počátku se chovali koně různých barev, dokonce i isabely a strakoši. Brzy se však ustálily jen dvě barvy, bílá a černá. Skutečný rozkvět zažíval hřebčín za vlády císaře Karla VI. (1712-1748), kdy byl tehdejší dvorní hřebčín v Kladrubech nad Labem považován za nejsilnější hřebčín, ve kterém se chovalo 300 klisen a 30 plemenů (Valenta, 2010). Z těchto záznamů vyplývá, že hřebčín v Kladrubech nad Labem hrál spolu s hřebčínem v Lipici v císařské hierarchii prioritní roli. V hřebčíně v Lipici byli chováni koně pro jezdecké účely a hřebčín v Kladrubech nad Labem produkoval koně pro ceremoniální zápřeže. To byl i důvod výběru koní v kladrubském hřebčíně většího a mohutnějšího rámce (Dušek et al., 1992). Oba hřebčíny spolu úzce

spolupracovaly v tom smyslu, že lehčí a ušlechtilí koně pro jezdecké účely byli přemísťováni do Lipice a koně typu galakariosiér byli přemísťováni do Kladrub nad Labem. Použití těchto dvou plemen je stále patrné v jejich typu, tělesné stavbě a použití. Přemísťování koní mezi hřebčiny mělo za následek, že například dva hřebci starokladrubského plemene a to Meastoso (bělouš, 1773) a Favory (plavák, 1779) byly použity jako zakladatelé otcovských linií v lipickém plemeni a pět kladrubských klisen, které byly použity jako zakladatelky lipických rodin. Přes toto přemísťování se starokladrubský kůň stále projevuje rozdílnou velikostí a utváření těla od koně lipického a také výkonnostními dovednostmi (Bílek, 1957).

Zakladatelem starokladrubských běloušů byl italsko-španělský vraník Peppoli (*1764). Jeho vnuk Generale (*1787) se stal zakladatelem linie Generale. Za oficiálního zakladatele chovu bílých starokladrubských koní je tedy považován hřebec Generale. Jeho potomek – Generalissimus (*1797) se stal zakladatelem linie běloušů – Generalissimus (Valenta, 2010).

Původně se základna chovu osvěžovala stálým importem starošpanělských koní z kvalitních evropských, zejména italských chovů. Na přelomu 18. a 19. století však starošpanělský kůň začal ztrácet na oblibě a v důsledku toho jeho chov v Evropě v podstatě zanikl. Od té doby se koně italsko-španělského typu chovali v Kladrubech až na výjimky uzavřeně, tj. bez přílivu genů jiných plemen. Protože se tento kůň stal kromě lipicánů jediným významnějším nositelem italsko-španělských genů, považuje se od té doby za samostatné plemeno.

V letech 1918-1937 je existence starokladrubského koně vážně ohrožena, zvláště pak chov vraníka. V roce 1938 je započato s regenerací starokladrubského vraníka. Tento projekt byl započat z posledních zbytků vrané varianty starokladrubského koně, které se zachovaly do roku 1941. Šlo o tři hřebce – polobratry pro hřebci Sacramoso XXIX a 8 klisen, z nichž byly pouze 2 čistokrevné. K regeneraci byly dále použity klisny s různým podílem genů starokladrubského vraníka, klisny starokladrubského bělouše, klisny lipické, klisny orlovského klusáka, kladrubo-lipické klisny a klisny s částečným starokladrubským původem. Následně se stav mateřské základny rozrostl během pěti let až na 54 klisen. Projekt regenerace pokračoval až do roku 1974, kdy se započalo se zušlechťováním starokladrubského vraníka. Dnes se na celém světě nachází cca 1500 jedinců starokladrubského plemene (Valenta, 2010).

Dalším důležitým milníkem byl rok 1995, kdy byl prohlášen historický areál hřebčína v Kladrubech nad Labem kulturní památkou. Jako nedílná součást hřebčína bylo za kulturní památku prohlášeno i kmenové stádo starokladrubského koně v počtu 65 klisen a 4 hřebců v barvě bílé a 65 klisen 4 hřebci v barvě černé. V roce 2002 byl historický areál spolu s kmenovým stádem běloušů

(65 klisen a 4 hřebci) povýšen na národní kulturní památku. Kmenové stádo starokladubských vraníků však za národní kulturní památku uznáno nebylo (Machek, 2010).

10.1.2 Otcovské linie a mateřské rodiny

Původ starokladubského koně je možno vystopovat zpět k zakladatelům linií, které daly jména současným otcovským liniím. Současná populace je rozdělena na 5 čistokrevných klasických linií a 3 čistokrevné neklasické linie, z nichž jsou tři otcovské linie běloušů – GENERALE, FAVORY a RUDOLFO, dvě otcovských line vraníků SOLO a SIGLAVI PAKRA a tři otcovské linie, které se vyskytují v obou barevných variantách – GENERALISSIMUS, SACRAMOSO a ROMKE. Čistokrevná klasická otcovská linie NAPOLEONE zanikla v roce 1922.

Přehled zakladatelů čistokrevných klasických otcovských linií starokladubských koní (Šancová, 2010)

Název	Barva	Rok narození	Plemeno	Původ
Generale	bělouš	1787	starokladubské	Slovensko (Kopčany)
Generalissimus	bělouš	1797	starokladubské	Slovensko (Kopčany)
Sacramoso	vraník	1800	starokladubské	Morava (Kroměříž)
Napoleone*	vraník	1945	italskošpanělské	Itálie (Řím)
Solo	vraník	1927	starokladubské	Čechy (Kladruby n. L.)
Favory	plavák	1779	starokladubské	Čechy (Kladruby n. L.)

* tato otcovská linie zanikla v roce 1922

Přehled zakladatelů čistokrevných neklasických otcovských linií starokladubských koní (Šancová, 2010)

Název	Barva	Rok narození	Plemeno	Původ
Siglavi Pakra	vraník	1946	lipické	Chorvatsko (Dakovo)
Romke	vraník	1966	fríské	Nizozemí
Rudolfo	bělouš	1968	lusitáno	Portugalsko

Původ starokladubského koně je možné vysledovat zpět k osmi zakladatelkám čistokrevných klasických rodin a sedmi zakladatelkám čistokrevných neklasických rodin.

Přehled zakladatelek čistokrevných klasických rodin starokladubských koní (Šancová, 2010)

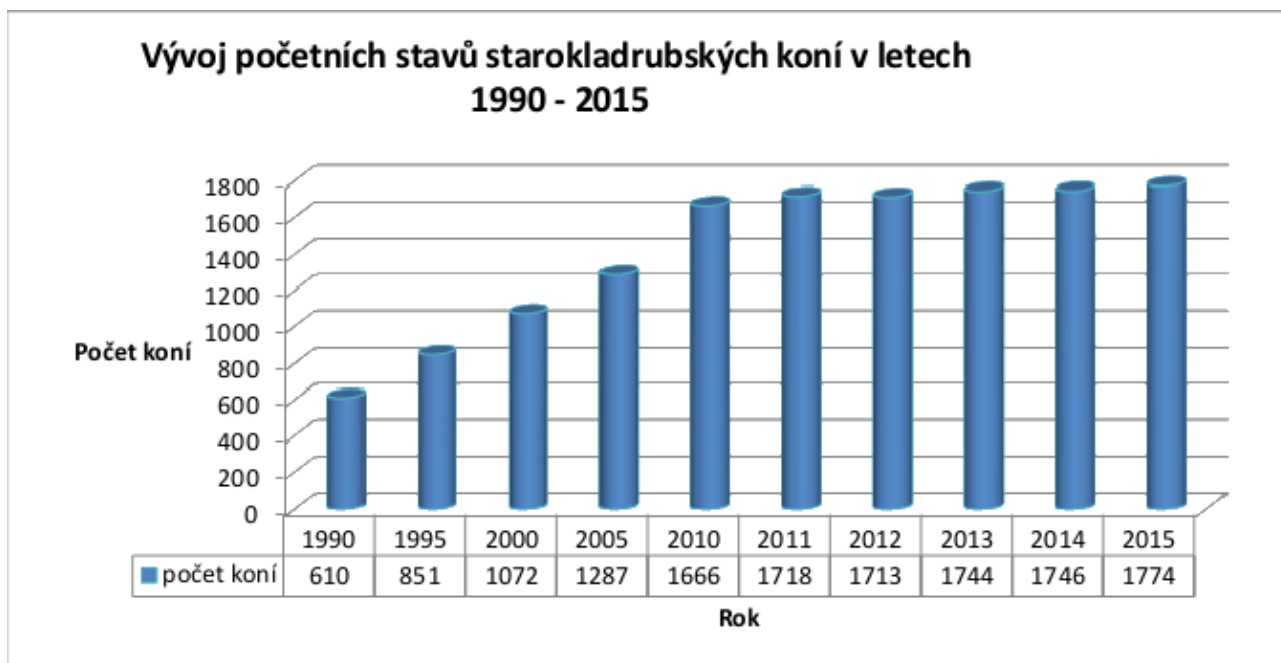
Název	Barva	Rok narození	Plemeno	Původ
Afrika	bělka	1740	starokladubské	Hřebčín Kladruby n. L.
Rava	bělka	1755	starokladubské	Hřebčín Kladruby n. L.
Deflorata	bělka	1767	dánksošpanělské	Frederiksborg (Dánsko)
Almerina	vranka	1769	starokladubské	Hřebčín Kladruby n. L.
Sardinia	bělka	1770	lipické	Lipica (Slovinsko)
Ragusa	vranka	1888	starokladubské	Hřebčín Kladruby n. L.
Cariera	hnědka	1894	teplokrevné	Hřebčín Kladruby n. L.
Madar VI	bělka	1782	lipické	Mezőhegyes (Maďarsko)

Přehled zakladatelek čistokrevných neklasických rodin starokladubských koní (Šancová, 2010)

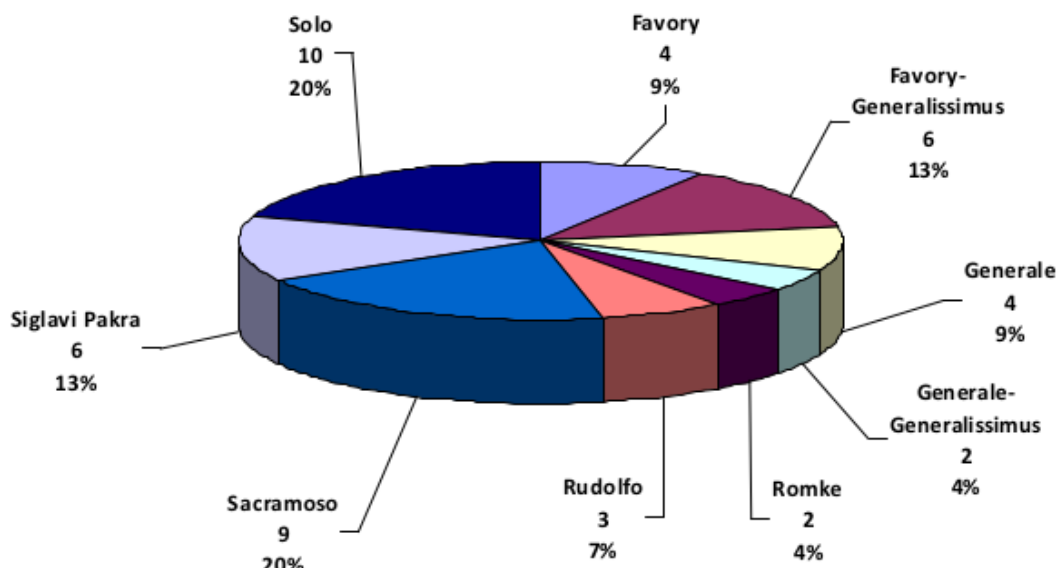
Název	Barva	Rok narození	Plemeno	Původ
15 Narcis (I)	vranka	1939	starokladubské	Chrást u Chrudimi
67 Xandra	bělka	1938	teplokrevné	neznámý původ
154 Bára	vranka	1953	orlovský klusák	Hř. Chrenovojsky (Rusko)
Favora Č3912	bělka	1963	starokladubské	privátní – volný chov
Dana (G) Č3934	bělka	1969	starokladubské	privátní – volný chov
292 Ritorna	vranka	1974	teplokrevné	Hřebčín Slatiňany
Gita (G) Č399	bělka	1974	teplokrevné	privátní – volný chov

10.1.3 Situace v chovu starokladubského koně

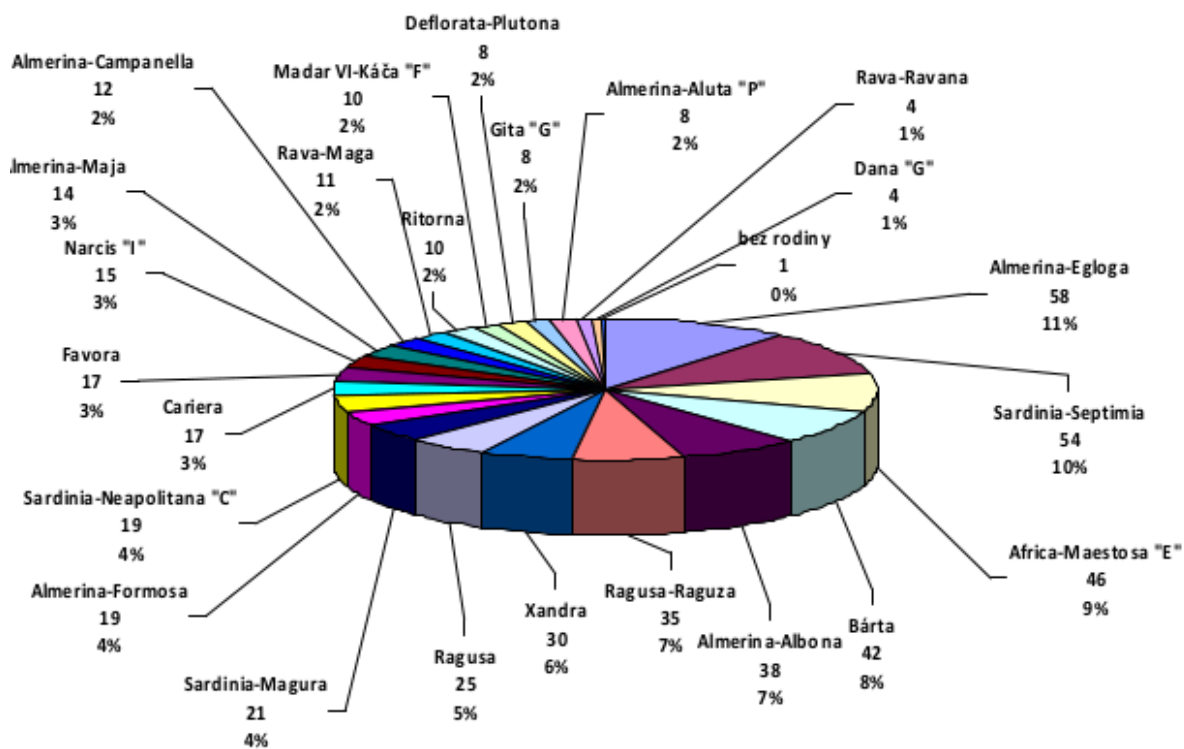
Početní stavy starokladubských koní stále stoupaly až do roku 2011 (1718 jedinců). Od roku 2011 počty koní v populaci starokladubského koně stagnují. Jak uvádí graf (10) v roce 2013 došlo k mírnému nárůstu početních stavů (1744), hlavně z důvodu nárůstu počtu chovných klisen. V roce 2015 došlo k dalšímu nárůstu počtu koní (1774 jedinců). K 31.12.2015 je ve stavu 45 plemenných hřebců (22 běloušů a 23 vraníků) a 526 chovných klisen (253 bílé varianty a 273 vrané varianty). V grafech 11 a 12 je uvedeno procentické zastoupení jednotlivých otcovských linií a mateřských rodin v současné populaci starokladubského koně. Největší zastoupení vykazují otcovské linie SOLO (20%) a SACRAMOSO (20%) a nejvyšší zastoupení mateřských rodin vykazovaly rodiny: Almerina-Albona 38 (12%) (Vyhodnocení šlechtitelského programu starokladubských koní, 2015).



Graf 10. Vývoj početních stavů starokladrubských koní v letech 1990 – 2015 (Vyhodnocení šlechtitelského programu starokladrubských koní, 2015)



Graf 11. Procentické zastoupení jedinců starokladrubského koně v otcovských liniích (Vyhodnocení šlechtitelského programu starokladrubských koní, 2015)



Graf 12. Procentické zastoupení jedinců starokladrubského plemene v mateřských rodinách

10.2. Přehled publikační činnosti – Ing. Hana Vostrá Vydrová

(ke dni 26. 9. 2016)

Články v časopisu s IF

1. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Krupa, E., Veselá, Z., Schmidová, J. Genetic diversity within and gene flow among three draught horse breeds using genealogical information. *Czech Journal of Animal Science* (in press).
2. Novotná, A., Svitáková, A., Schmidová, J., Příbyl, J., Vostrá-Vydrová, H. 2016. Variance components, heritability estimates, and breeding values for performance test traits in Old Kladruber horses. *Czech Journal of Animal Science*. 61 (8). 369-376.
3. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Krupa, E., Zavadilová, L. 2016. Pedigree analysis of the endangered Old Kladruber horse population. *Livestock Science*. 185. 17-23.
4. Hofmanová, B., Vostrý, L., Majzlík, I., Vostrá-Vydrová, H. 2015. Characterization of greying, melanoma, and vitiligo quantitative inheritance in Old Kladruber horses. *Czech Journal of Animal Science*. 60 (10). 443-451.
5. Příbyl, J., Bauer, J., Čermák, V., Pešek, P., Příbylová, J., Šplíchal, J., Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Zavadilová, L. 2015. Domestic estimated breeding values and genomic enhanced breeding values of bulls in comparison with their foreign genomic enhanced breeding values. *Animal*. 9 (10). 1635-1642.
6. Vostrý, L., Milerski, M., Krupa, E., Veselá, Z., Vostrá Vydrová, H. 2015. Genetic relationships among calving ease, birth weight and perinatal calf survival in Charolais cattle. *Animal Science Paper and Report*. 33 (3). 233 – 242.
7. Vostrý, L., Veselá, Z., Svitáková, A., Vostrá Vydrová, H. 2014. Comparison of models for estimating genetic parameters and predicting breeding values for birth weight and calving ease in Czech Charolais cattle. *Czech Journal of Animal Science*. 59 (7). 302–309.
8. Vostrý, L., Hofmanová, B., Vostrá Vydrová, H., Příbyl, J., Majzlík, I. 2012. Estimation of genetic parameters for melanoma in Old Kladruber horse. *Czech Journal of Animal Science*. 57 (2). 75-82.
9. Vostrý, L., Čapková, Z., Příbyl, J., Hofmanová, B., Vostrá Vydrová, H., Mach, K. 2011. Population structure of Czech Cold-Blooded Breeds of Horses. *Archiv für Tierzucht*. 54 (1). 1 - 9.

Články ve vědeckých publikacích – recenzované (zařazené do databáze Scopus)

10. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Schmidová, J., Veselá, Z., Majzlík, I. Founder contribution in the endangered Czech draught horse breeds. *Acta Agriculturae Slovenica. Supplement 5.* 169–173.
11. Hofmanová, B., Vostrá-Vydrová, H., Majzlík, I., Vostrý, L.: The effect of Inbreeding on melanoma and vitiligo occurrence in Old Kladruber GREY horses. *Acta Agriculturae Slovenica. Supplement 5.* 179–182
12. Schmidová, J., Milerski, M., Svitáková, A., Novotná, A., Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L. 2016. The influence of ram on litter size in Suffolk sheep. *Acta Agriculturae Slovenica. Supplement 5.* 109–112.
13. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Veselá, Z., Schmidová, J. Analysis of linear scoring of conformation traits in Czech draught horses. *Acta Agriculturae Slovenica. Supplement 5.* 174–178.
14. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Veselá, Z., Majzlík, I. 2015. Genetic diversity in Czech Haflinger horses. *Poljoprivreda.* 21 (1). 163-165.
15. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Veselá, Z., Schmidová, J., Majzlík, I. 2015. Population studies of Czech Hucul horses. *Poljoprivreda.* 21 (1). 41-43.
16. Hofmanová, B., Kohoutová, P., Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Majzlík, I. 2015. Population studies of Czech Hucul horses. *Poljoprivreda.* 21 (1). 224-227.

Články ve vědeckých publikacích – recenzované

17. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Veselá, Z., Schmidová, J., Novotná, A. Estimation of effective population size by different methods for Czech endangered horse breeds based on genealogical information. *Acta fytotechnica et zootechnica.* 19. (Special Issue). 41-44.
18. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Veselá, Z., Schmidová, J. Inter and intra genetic variability in sire lines of Czech endangered draft horse breed. *Acta fytotechnica et zootechnica.* 19 (3). 112–115.

Certifikované metodiky

19. Vostrý, L., Vostrá Vydrová, H., Příbyl J., Novotná, A., Schmidová, J., Bauer, J. 2015. Předpověď plemenných hodnot pro znaky zevnějšku popisované linárním popisem u

starokladrubskeho koně. Certifikovaná metodika, VÚŽV Uhřetěves. ISBN: 978-80-7403-140-3.

20. Příbyl, J., Bauer, J., Krupa, E., Krupová, Z., Milerski, M., Novotná, A., Pešek, P., Příbylová, J., Schmidová, J., Svitáková, A., Veselá, Z., Vostrá Vydrová, H., Vostrý, L., Zavadilová, L., Žáková, E. 2014. Genetic evaluation by Linear Models using own algorithms and standard software. Certifikovaná metodika, VÚŽV Uhřetěves. ISBN: 978-80-7403-128-1. Str. 55.

Aktivní účast na mezinárodních konferencích (s příspěvkem ve sborníku)

21. Hofmanová, B., Houdková, D., Majzlík, I., Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L. 2016. Analysis of the testing horses for therapeutic in the Czech Republic. Book of Abstracts of the 67th Annual Meeting of the EAAP, 29 August - 2 September 2016, Belfast, UK, s. 476-476.
22. Moravčíková, N., Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Kadlečík, O., Kasarda, R. 2016. Population structure a recent migration in closely related Old Kladruber and Lipizzan populations. Book of Abstracts of the 67th Annual Meeting of the EAAP, 29 August - 2 September 2016, Belfast, UK, s. 578-578.
23. Schmidová, J., Milerski, M., Svitáková, A., Vostrá Vydrová, H., Vostrý, L. 2016. The influence of ram on number of born and weaned lambs in Suffolkk. Book of Abstracts of the 67th Annual Meeting of the EAAP, 29 August - 2 September 2016, Belfast, UK, s. 367-367.
24. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Veselá, Z., Schmidová, J., Majzlík, I. 2016. Genetic diversity loss in populations Czech draft horse breeds. Book of Abstracts of the 67th Annual Meeting of the EAAP, 29 August - 2 September 2016, Belfast, UK, s. 584-584.
25. Hofmanová, B., Kohoutová, P., Majzlík, I., Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H. 2015. Analysis of factors influencing coat color intensity in Old Kladruber black horses. Book of Abstracts of the 66th Annual Meeting of the EAAP, 31 August - 4 September 2015, Warsaw, Poland, s. 439-439.
26. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Veselá, Z., Majzlík I. 2015. Book of Abstracts of the 66th Annual Meeting of the EAAP, 31 August - 4 September 2015, Warsaw, Poland, s. 440-440.
27. Hofmanová, B., Pribáňová, M., Majzlík, I., Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H. 2014. Population study of three breeds of cold blooded horses in the Czech Republic. Book of Abstracts of

- the 65th Annual Meeting of the EAAP, EAAP, 25 - 29 August 2014, Copenhagen, Denmark, s. 379-379. ISBN: 978-90-8686-248-1
28. Příbyl J., Bauer, J., Čermák, V., Motyčka, J., Pešek, P., Příbylová, J., Šplíchal, J., Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Zavadilová, L. 2014. Combination of domestic and Interbull MACE values on genomic prediction of GEBV. Book of abstracts of International scientific genetic conference XXVI. Genetic Days, 3.-4.9.2014, Prague, Czech Republic, s. 31-32. ISBN: 978-80-213-2473-2
29. Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanová, B., Majzlík, I. 2014. Pedigree analysis of Old Kladruber horse. Book of Abstracts of the 65th Annual Meeting of the EAAP, 25 - 29 August 2014, Copenhagen, Denmark, s. 379-379. ISBN: 978-90-8686-248-1
30. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Majzlík, I., Veselá, Z., Krupa, E. 2014. Estimation of genetic parameters and prediction of breeding value for calving ease. Book of Abstracts of the 65th Annual Meeting of the EAAP, 25 - 29 August 2014, Copenhagen, Denmark, s. 323-323. ISBN: 978-90-8686-248-1
31. Vostrý, L., Vostrá-Vydrová, H., Hofmanová, B., Krupa, E. (2014) Analysis of genetic diversity in endangered horse population of Old Kladruber breed. Book of abstracts of International scientific genetic conference XXVI. Genetic Days, 3.-4.9.2014, Prague, Czech Republic, s. 72-73. ISBN: 978-80-213-2473-2