

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra obecné zootechniky a etologie**



**Vliv inbreedingu na fitness u skotu**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Helena Černá**

**Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová Ph.D.**

© 2015 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv inbreedingu na fitness u skotu" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16. dubna 2015 \_\_\_\_\_

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Barboře Hofmanové Ph.D. za velmi cenné připomínky k mé bakalářské práci a konzultace k tomuto tématu.

# Vliv inbreedingu na fitness u skotu

## Souhrn

Inbreeding je součástí šlechtitelských programů a může se projevovat inbrední depresí, která má velký vliv na parametry související s fitness, neboť v přírodních populacích během vývoje tímto způsobem docházelo k přírodní selekci. Při inbreedingu dochází ke zvyšování homozygotnosti, kde velká část homozygotních alel v recesivním stavu skrývá letální alely, které při spojení dvou homozygotních jedinců se projeví inbrední depresí. V minulém století při vytváření plemen byla příbuzenská plemenitba značně rozšířená, neboť díky ní docházelo k upevňování znaků a vlastností plemene. Další významný vliv na zvyšování inbreedingu v rámci plemen měla inseminace. Proto se ve šlechtitelských programech zjišťuje míra homozygotnosti jedince pomocí koeficientu inbreedingu, ale také rodičovského páru pomocí příbuzenského koeficientu. Výpočet koeficientu inbreedingu je tím přesnější, čím je podrobněji popsán rodokmen jedince. Dostatečně obsáhlý se jeví rodokmen do páté generace. U elitních zvířat, která se používají pro inseminaci a hyperovulaci se provádí genotypový výzkum v laboratořích, kde se příbuznost zjišťuje pomocí SNP markerů, tímto způsobem se mohou zjistit i genetická onemocnění. Mezi genetická onemocnění u skotu patří Brachyspina, CVM a BLAD. Nositelům CVM a BLAD byl významný plemeník u holštýnského plemene v USA Carlin – M Ivanhoe Bell. Znaky, které souvisejí s fitness jsou znaky kvantitativní a jsou řízeny polygeny, jejich dědičnost je tedy nepředvídatelná. Proto bylo provedeno mnoho výzkumů, ve kterých se zjišťoval vliv koeficientu inbreedingu na tyto znaky. Bylo zjištěno, že k výraznému zhoršení parametrů pro fitness dochází při  $F_x = 12,5 - 25 \%$ , v tomto rozpětí se projevují kumulativní účinky inbrední deprese. Tyto účinky se více projevují u vysokoprodukčních zvířat, než u zvířat z polointenzivních chovů, která jsou v lepší zdravotní kondici. Pro zachování genetické diverzity v subpopulaci je žádoucí páření jedinců s maximálním  $F_x = 6,25 \%$ .

### Klíčová slova:

inbreeding, inbrední deprese, homozygotnost, fitness, koeficient příbuznosti

# The effects of inbreeding on fitness in cattle

## Summary

Inbreeding is part of the breeding programmes and may experience inbreeding depression, which has a great influence on parameters related to fitness, as in natural populations, selection taken place this way during the evolution. Increase of homozygosity occurs during the proces of inbreeding, where a large proportion of homozygous alleles in the recessive state contain hidden lethal alleles, which are manifested by inbreeding depression after the connection of the two homozygous individuals. Inbreeding was significantly extended in the last century during the creation of the breeds, since it led to the consolidation of the characters and characteristics of the breed. Another significant impact on the increase of inbreeding within breeds had insemination. That is why in breeding programmes, the rate of homozygosity of the individual is detected using the coefficient of inbreeding, but also using kinship coefficient. The more concrete the description of pedigree of the individual, the more accurate calculation of the coefficient of inbreeding. The pedigree up to the fifth generation appears to be sufficiently comprehensive. Genotype research in the laboratories is done for elite animals used for the insemination and hyperovulation. The relationships are determined by SNP markers, genetic diseases can be find this way, as well. Genetic diseases of cattle include Brachyspina, CVM and BLAD. The bearer of CVM and BLAD was a important breeding male of holstein breed in the USA Carlin – M Ivanhoe Bell. The attributes linked with fitness are quantitative and are managed by the polygenes, their heredity is therefore unpredictable. That is why a lot of research was done to examine the influence of the coefficient of inbreeding on these traits. It was found out that a significant deterioration of the parameters for the fitness occurs when  $F_x = 12,5 - 25 \%$ , the cumulative effects of inbreeding depression being reflected in this range. These effects are more manifested in high-productive animals than in animals from the semi-intensive farms, which are in better health condition. In order to preserve genetic diversity in the subpopulation, coupling of individuals with a maximum  $F_x = 6,25 \%$  is recommended.

### Keywords:

inbreeding, inbreeding depression, homozygosity, fitness, kinship coefficient

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3 Literární rešerše.....</b>	<b>3</b>
<b>3.1. Fitness.....</b>	<b>3</b>
<b>3.2. Inbreeding a inbreední deprese.....</b>	<b>3</b>
<b>3.2.1. Vliv inbreedingu a genetického driftu.....</b>	<b>4</b>
3.2.2. Vznik inbreední deprese.....	4
3.2.3. Inbreední deprese a genetické abnormality.....	5
<b>3.3. Možnosti vyjádření úrovně čistokrevné plemenitby.....</b>	<b>6</b>
3.3.1. Analýza rodokmenu.....	6
3.3.2. Genotypová analýza pomocí PCR metody.....	9
3.3.2.1. SNP markery u skotu a sekvence ROH.....	9
3.3.2.2. Mikrosatelity a genetická diverzita.....	12
<b>3.4. Inbreeding jako jedna z forem čistokrevné plemenitby.....</b>	<b>13</b>
3.4.1. Vznik subpopulace.....	13
3.4.1.1. Efektivní velikost subpopulace.....	14
3.4.2. Příbuzenská plemenitba a zvyšování koeficientu inbreedingu.....	16
3.4.3. Liniová plemenitba a snižování koeficientu inbreedingu.....	18
<b>3.5. Inseminace ve vztahu k inbreedingu v populaci.....</b>	<b>19</b>
3.5.1. Kryokonzervace a genetická diverzita uvnitř plemen.....	20
<b>3.6. Sledování znaků fitness v závislosti na koeficientu inbreedingu.....</b>	<b>20</b>
<b>3.7. Kontrola inbreedingu ve šlechtitelských programech.....</b>	<b>29</b>
<b>4 Závěr.....</b>	<b>30</b>
<b>5 Seznam literatury.....</b>	<b>31</b>

# 1 Úvod

Chov skotu je důležitou součástí živočišné produkce zemědělské výroby. V současné době je vyvíjen velký tlak na ekonomiku v chovu skotu, neboť každý zemědělský podnik by měl být konkurenceschopný, aby jeho produkty byly na trhu prodejné. Jednou z možností, jak snížit náklady v chovu skotu je zlepšit produkční a reprodukční znaky jednotlivých zvířat. Reprodukční znaky úzce souvisí s fitness.

Cílem šlechtitelských programů je vytvořit takovou skupinu zvířat, která by tyto požadavky splňovala. Ve šlechtitelských programech byla hojně využívaná příbuzenská plemenitba, pomocí které se zlepšovaly užitkové vlastnosti. Zásahu na tomto zlepšení měli elitní býci, kteří se používali k inseminaci a to ve velkém rozsahu. Tímto způsobem docházelo ke zvyšování koeficientu inbreedingu u jednotlivých zvířat a projevům inbrední deprese, mezi tyto projevy patří také zhoršování parametrů pro fitness. Dochází tak ke ztrátám jak ekonomickým tak chovatelským. Ztráty ekonomické zahrnují zvýšené náklady na odchov telat, na 1l mléka, na 1 kg přírůstku a další. Mezi ztráty chovatelské může patřit neplodnost, zvýšená embryonální mortalita a zhoršení schopnosti vyrovnat se s infekčním agens. Fitness se projevuje souhrnem znaků kvantitativních, které mají polygenní charakter. Dědivost těchto znaků není známa.

Z tohoto důvodu vzniká mnoho studií, které se zabývají vlivem inbreedingu na fitness. Pro porovnání jednotlivých výzkumů je důležitý správný výpočet koeficientu inbreedingu, který je ovlivněn úplností rodokmenu. V poslední době při nedostatečných informacích o předcích jedince se využívá genotypového výzkumu zvláště u elitních zvířat, která se využívají pro další plemenitbu, aby nedocházelo ke zvyšování koeficientu inbreedingu a projevům inbrední deprese.

## **2 Cíl práce**

Cílem mé bakalářské práce je vytvořit literární rešerši, která vysvětlí pojem fitness, inbreeding a inbreední depresi a jejich vztah k reprodukčním a produkčním ukazatelům v chovu skotu. Dále také zjistit, jakým způsobem se dá vyjádřit příbuzenská plemenitba co nejpřesněji, aby nedocházelo k jejímu podhodnocení a jak vysoký koeficient inbreedingu se může tolerovat ve šlechtitelských chovech, tak aby nedocházelo k ekonomickým ztrátám v živočišné výrobě.



## 3 Literární rešerše

### 3.1. Fitness

Definice fitness - vlastnost živých organismů přežít a zplodit životaschopné potomstvo. V chovu skotu je to schopnost jalovice, nebo krávy produkovat oplozeníschopná vajíčka, schopnost donosit a porodit tele a dále její mateřská péče o narozené tele. U býků je to schopnost produkovat životaschopné a oplozeníschopné spermie a dále schopnost tyto spermie dopravit do pohlavního ústrojí samice.

Mezi vnější faktory patří vliv vnějšího prostředí, výživa a také schopnost zvířete odolávat infekčním agens.

Na fitness závisí rozvoj populace, jestliže rozmnožovací schopnost jedince je nulová, nepřispívá k rozvoji populace, dále pak, když jedinec zplodí za svůj život jen jednoho potomka, velikost populace nijak neovlivňuje a pokud zplodí jedinec za svůj život více potomků, podílí se na rozvoji této populace. Fitness jedince v přírodních, ale také v umělých populacích vytvořených člověkem je také závislá na selekci. Ne každý jedinec se rozmnožuje.

Fitness patří mezi kvantitativní znaky, které jsou ovlivněny mnoha geny malého účinku, tyto geny se nazývají polygeny. Mezi kvantitativní vlastnosti samičího pohlaví u skotu patří tyto reprodukční ukazatele. servis perioda, mezidobí, věk při prvním otelení, počet laktací. U samčího pohlaví skotu schopnost produkovat kvalitní ejakulát s životaschopnými spermiiemi v dostatečném množství. U mláďat schopnost růstu, která je kvantifikována přírůstkem hmotnosti v určitých fázích života. U všech těchto kategorií také sledujeme parametr životnosti.

Fitness z pohledu genetického je také přenos genů do dalších generací. Dochází zde k fixaci určitých genů vlivem selekce jak přírodní, která je podmíněna životaschopností embryí a plodů, tak umělé, která je ovlivněna jak preferencí samic určitých samců, tak umělým výběrem člověka. Umělá selekce využívá především aditivní složky dědičnosti.

( Václav Jakubec a kol., 2012)

### 3.2. Inbreeding a inbrední deprese

Inbreeding je páření jedinců, kteří se vyznačují příbuzenským vztahem, mají tedy společné předky, které zjišťujeme v rodokmenu. Může být součástí čistokrevné plemenitby.

U bisexuálních organismů má každý jedinec 2 rodiče, 4 prarodiče, 8 praprarodičů atd. Matematicky bychom mohli tento vztah vyjádřit  $2^t$ , kde t je počet generací předků. Výchozí

populace se vyznačuje tím, že na určitém lokusu jsou stejně početné gamety  $2N$  rozdílného typu, mohou zde být ale také gamety identické. Každá gameta má šanci z  $1/2N$  se spojit s jinou gametou stejného typu, takže z  $1/2$  je pravděpodobné, že dojde ke spojení identických genů. Koeficient inbreedingu první následné generace nám udává pravděpodobnost, že identické geny se spojí. Díky tomuto jevu dochází ke zvyšování homozygotnosti na úkor heterozygotnosti genotypů, které se spojí v zygote. Dále dochází ke změně četnosti některých alel. (Jakubec a kol., 2012)

### 3.2.1. Vliv inbreedingu a genetického driftu

Výsledkem vlivu inbreedingu a genetického driftu může dojít až k fixaci alel, což znamená její 100% zastoupení v populaci. V těchto ohraničených populacích nastává nerovnováha alelových četností, takže přestává platit Hardy – Weinbergův zákon rovnováhy, který udává, že ve velké náhodně pářené populaci jsou genové a genotypové četnosti od generace ke generaci neměnné, není – li přítomna mutace, migrace, nebo selekce.

Předpokládejme, že geny rodičů budou  $A_1$  a  $A_2$  s četnostmi  $p$  a  $q$ , genotypy potomků za podmínky Hardy – Weinbergova zákona o rovnováze  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$  a  $A_2A_2$ . Jejich četnosti budou  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$ , tyto četnosti v rovnováze vyjádříme rovnicí  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ . V případě inbreedingu geny rodičů  $A_1A_1$ ,  $A_1A_2$ ,  $A_2A_2$  a jejich genové četnosti  $p^2 + pqF_x$ ,  $2pq - 2pqF_x$ ,  $q^2 + pqF_x$  tento vztah genových četností vyjádříme rovnicí  $p^2 + pqF_x + 2pq - 2pqF_x + q^2 + pqF_x = 1$ , z tohoto výpočtu je patrné, že při zvyšování koeficientu inbreedingu dochází k nárůstu homozygotnosti. (Jakubec a kol., 2010)

### 3.2.2. Vznik inbrední deprese

Inbrední deprese vzniká při připařování příbuzných jedinců, při kterém dochází k spojení identických genů od každého z rodičů. Patří mezi neaditivní složky genotypové variance a je určitým protikladem heterozního efektu.

Se vzrůstající homozygotností dochází k iniciaci recesivních alel, které se vyskytují v náhodné populaci v heterozygotní formě, obvykle tedy zůstávají skryty. Inbrední deprese má největší vliv na reprodukční vlastnosti. (Charlesworth and Willis, 2009)

Pokud inbrední depresi způsobí velmi škodlivé recesivní mutace, inbreeding by rychle vyřadil tyto mutace z populace, nebo druhu. U haploidních organismů by toto vyřazení mělo být lehké, neboť tyto recesivní alely jsou vybrány v každé generaci. Inbrední deprese je slabší u diploidních organismů ve srovnání s haploidními. (Charlesworth and Charlesworth, 1987)

Příčiny inbrední deprese jsou studovány pomocí genetiky populací. Inbrední deprese postihuje nejčastěji plodnost, což naznačuje, že má velký význam v přírodních populacích, neboť tímto způsobem nepřecházejí geny způsobující inbrední depresi do další generace, která vznikla z menšího množství jedinců a pomocí tohoto děje může docházet ke speciaci.

Genetický drift v malé populaci má vliv na snížení inbrední deprese v důsledku mírně škodlivé mutace. Při doplňkové interakci mezi různými škodlivě recesivními mutacemi, může docházet k inbrední depresi, pokud jsou místa propojena, takže homozygotnost pro tato místa snižuje fitness. (Lynch, 1991)

### **3.2.3. Inbrední deprese a genetické abnormality**

U skotu inbrední deprese může vést k těmto genetickým abnormalitám: Brachyspina, CVM (Complex Vertebral Malformation) a BLAD (Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency).

Brachyspina je genetické onemocnění, které se u telat projevuje zkrácením míchy, prodloužením končetin a patologickými změnami na vnitřních orgánech, k úhynu dochází již v ranějších fázích gravidity.

CVM je dědičná vada způsobená mutací v autozomálně recesivním SLC35A3 genu. Projevuje se zkráceným krkem, mírně staženými zápěstními klouby, vážným zkrácením nártových spojů, mírnou laterální rotací nártových spojů, zadními končetinami v mírné rotaci, u všech končetin prodlouženým nártem, spojením posledních dvou krčních obratlů, zkroucením prvních tří hrudních obratlů, deformací páteře vedoucí k mírné skolijóze a u 50 % případů se vyskytují i abnormality srdce. Řada plodů s CVM je potracena, nebo umírají po předčasném porodu.

Syndrom BLAD je vrozené autozomálně recesivní onemocnění. Mezi hlavní příznaky patří opakované bakteriální infekce, pomalé hojení ran, zakrslý vzrůst, úmrtí v raném věku a zvýšené množství leukocytů v krvi. Onemocnění je způsobeno poruchou beta integrinu leukocytů, nedochází k adhezi leukocytů, proto se neprojevuje dostatečná imunitní reakce při přítomnosti infekčních agens. Byl identifikován odpovědný gen CD18 ve kterém dochází k bodové mutaci D128G. Tato mutace způsobuje záměnu asparagové kyseliny za glycin v poloze 128 sekvence proteinu integrinu, který je tímto genem kódován. Při kombinaci některých haplotypů dochází častěji k mutacím, které souvisí se špatnou funkcí syntézy proteinů a dochází k embryonální mortalitě, nejsou však časté v důsledku neúplné vazebné rovnováhy. (Fritz et al., 2013)

Inbrední deprese má také vliv na imunitní systém, který souvisí s MHC (major histocompatibility complex), jehož rozsah dědí potomstvo od svých předků. V případě

homozygotnosti přispívají tedy rodiče tímto komplexem v menším rozsahu, než je tomu u heterozygotů a potomek je postižen menší variabilitou tohoto komplexu a z tohoto důvodu je méně rezistentní k infekčním agens.

### 3.3. Možnosti vyjádření úrovně příbuzenské plemenitby

Mezi možnosti, kterými můžeme vyjádřit úroveň příbuzenské plemenitby patří analýza rodokmenu a analýza genomu. V analýze genomu můžeme sledovat souvislé řady homozygotních alel (sekvence ROH), podle markerů SNP a také pomocí mikrosatelitních markerů.

#### 3.3.1. Analýza rodokmenu

V chovu domácích zvířat již v minulosti docházelo k inbreedingu a v souvislosti s ním ke zvyšování homozygotnosti, která vede k projevům inbreední deprese. To vedlo k nutnosti matematicky vyjádřit stupeň příbuzenských vztahů podle rodokmenů. (Wright 1922)

Stanovení intenzity příbuzenské plemenitby u jedince:

$$F_X = \sum (0.5^{n_1+n_2+1})(1 + F_A)$$

$n_1$  počet generací předků v rodokmenu ze strany otce mezi jedincem a společným předkem

$n_2$  počet generací předků v rodokmenu ze strany matky mezi jedincem a společným předkem

$F_A$  koeficient příbuzenské plemenitby společného předka, pokud je produktem příbuzenské plemenitby

$F_X$  koeficient příbuzenské plemenitby, který udává pravděpodobnost obsazení lokusů původově identickými geny (od společného předka)

Intenzita příbuzenské plemenitby se stanovuje pomocí koeficientu příbuznosti mezi jedinci X a Y

$$R_{XY} = \frac{\sum (1/2)^{n_1+n_2}(1 + F_A)}{\sqrt{(1 + F_X)(1 + F_Y)}}$$

kde

$F_X$  je koeficient inbreedingu jedince X

$F_Y$  je koeficient inbreedingu jedince Y

Cassell et al. (2003) se snažili vytvořit metodu výpočtu inbreedingu při neúplnosti rodokmenu. Tato metoda byla aplikovaná na populaci holštýnského plemene, kde byly

sledovány krávy s úplností rodokmenu do páté generace. Rodokmeny registrovaných krav holštýnského plemene byly úplné z 97 %, rodokmeny registrovaných krav plemene jersey byly úplné z 89 %. U holštýnského plemene byly krávy rozděleny do 3 skupin podle toho, jak byl rodokmen kompletní: méně než 31 %, 31 – 70 %, 71 – 100 %. Inbreeding a jeho standartní odchylka se zvyšovala při větší znalosti rodokmenu. Podle předchozího rozdělení do skupin o 0,04  $\pm 0,84$ , 1,65  $\pm 2,05$  a 2,6  $\pm 2,22$  Inbreeding v porovnání s metodou pro chybějící vztahy předků byl 2,75  $\pm 1,06$ , 3,1  $\pm 2,21$ , 2,89  $\pm 2,37$  pro stejné skupiny.

Obrázek č. 1: Zkratky používané pro předky v pěti generačním rodokmenu.

Jedinec	Otec (O)	Otec otce (OO)	OOO	OOOO	OOOOO
				MOOO	MOOOO
				OMOO	OMOOO
			MMOO	MMOOO	
			MOO	OMOO	OOMOO
				MMOO	MOMOO
		MMOO		OMMOO	
		Matka otce (MO)	OMO	OOOO	OOOMO
				MOMO	MOOMO
				MMOO	MMOMO
			MMO	OMMO	OOMMO
				MMMO	MOMMO
	MMMO			OMMMO	
	Matka (M)	Otec matky (OM)	OOM	OOOM	OOOOM
				MOOM	MOOOM
				MMOM	MMOOM
			MOM	OMOM	OOMOM
				MMOM	MOMOM
				MMOM	OMMOM
		Matka matky (MM)	OMM	OOOM	OOOMM
				MOMM	MOOMM
				MMOM	OMOMM
			MMM	OMMM	OOMMM
				MMMM	MOMMM
MMMM				OMMMM	
			MMMMM		

Tabulka č. 1: Na základě klasického vzorce výpočtu koeficientu inbreedingu

$F_x = \sum (0.5^{n_i})(1 + F_i)$ . Součet všech možných příspěvků od otce je 2,0 (možné příspěvky otce jedince X ve výpočtu koeficientu inbreedingu  $F_x$  v pěti generačním rodokmenu)

Rodiče	n	Příspěvek	Rodiče	n	Příspěvek
O □OM	1	0,5	O □OOOOM	4	0.0625
O □OOM	2	0.25	O □OMOOM	4	0.0625
O □OMM	2	0.25	O □OOMOM	4	0.0625
O □OOOM	3	0.125	O □OMMOM	4	0.0625
O □OMOM	3	0.125	O □OOOMM	4	0.0625
O □OOOMM	3	0.125	O □OMOMM	4	0.0625
O □OMMM	3	0.125	O □OOMMM	4	0.0625
			O □OMMMM	4	0.0625

Tabulka č. 2: Procento známých údajů z rodokmenu v poměru samčích a samičích předků, které byly k dispozici.

variabilní	441096 registr. Holštýn		772379 zařazené Holštýn		72780 jersey	
	průměr	OM	průměr	OM	průměr	OM
% známý rodokmen	97,7	10,2	49,2	34,5	89,6	25
% samičích předků aktuální	98,1	6,6	66,8	23,1	93	15,3
% samčích předků aktuální	98,1	6,7	66,4	22,9	92,8	15,5
odhady podle rodokmenu	3,64	2,37	1,11	1,93	4,1	3,07
Odhady průměrných vztahů pro chybějící předky	3,5	2,35	2,92	1,9	4,16	2,81

Tato metoda odhadu koeficientu inbreedingu vložím průměrných vztahů mezi předky z neúplných rodokmenů podle výsledků této studie může přinést zavádějící informace . I když byly využity všechny možné kombinace chybějících předků v pěti generacích rodokmenu.

Přesnost výpočtu koeficientu inbreedingu je tedy závislá na kompletnosti rodokmenu a tyto výpočty nelze použít pro studium inbreedingu v přírodních populacích.

### Genotypová analýza pomocí PCR metody

U zvířat, která jsou dále používána k plemenitbě a není u nich znám kompletní rodokmen, alespoň do páté generace, by se měla provést analýza genotypu jedince, která se provádí pomocí PCR (polymerase chain reaction) metody. Tato metoda umožňuje amplifikaci specifického místa DNA in vitro.

Kopie úseku DNA jsou syntetizovány podle templátu (jednořetězová DNA) pomocí enzymu DNA - polymerázy na principu komplementarity bází. Vysokou teplotou dojde k denaturaci dvouřetězové DNA a získaná jednořetězová vlákna slouží jako templát. V další fázi (annealing) je zapotřebí dvou primerů, chemicky syntetizovaných krátkých oligonuklotidů, které se připojují ke komplementárním úsekům řetězců DNA tak, že jejich 3' - OH – konce směřují proti sobě. Pomocí primerů je zároveň vymezen úsek DNA, který bude amplifikován. V poslední fázi (extension), což je polymerační reakce, ve které dochází k syntéze komplementárního řetězce DNA, kdy DNA polymeráza nasedne na primery a připojuje volné nukleotidy k vláknu DNA na principu komplementarity dusíkatých bází. V závěrečné fázi dochází k dosyntetizování řetězců.

#### 3.3.2.1. SNP markery u skotu a sekvence ROH

V roce 2001 se začaly používat markery v rámci celé populace skotu. Pro selekci pomocí markerů se začala využívat metoda SNP (Single Nucleotide Polymorphism), jednonukleotidový polymorfismus. V genomice se využívá silikonových čipů společnosti Illumina, které jsou schopny přečíst miliony informací. Příkladem může být čip Bovine SNP50, který je schopen přečíst 54001 SNP markerů. Pomocí těchto markerů je možno identifikovat příbuznost jedinců a genetická onemocnění z genotypů jedince. Genetická onemocnění jsem již popsala výše.

Sekvence ROH (runs of homozygosity) v genotypu jedince jsou definovány jako kontinuální a nepřerušovaný úsek DNA sekvence bez heterozygotnosti v diploidním stavu. Z tohoto důvodu je možné pomocí ROH zjistit míru inbreedingu jedince.

Ferenkovič et al. (2013) porovnávali koeficienty inbreedingu  $F_{PED}$ , které byly vypočteny pomocí údajů z rodokmenu s koeficienty inbreedingu  $F_{ROH}$ , které zjistili pomocí genomových map, které byly vytvořeny pomocí SNP markerů. Tyto genomické inbreední koeficienty  $F_{ROH} > 1Mb, 2Mb, 8Mb, 16Mb$  byly vypočteny z řad homozygotních řetězců o různých délkách 1, 2, 8 a 16 Mb. Tyto hodnoty byly porovnány s inbreedními koeficienty vypočtených

z rodokmenů  $F_{PED}$  u 1422 býků plemen brown swiss (304 ks), strakatý (502ks), norský červený (499ks), tyrolský (117). U všech těchto plemen byly určeny populační hladiny příbuzenské plemenitby podle odhadu genomu. Inbreední koeficienty  $F_{ROH} > 8Mb, 16Mb$  byly podobné úrovni, která byla odhadnuta z rodokmenu. Nejnižší hodnota byla získána u plemene strakatého  $F_{PED} = 0,014$ ,  $F_{ROH} > 8Mb = 0,019$  a  $F_{ROH} > 16Mb = 0,008$  nejvyšší u plemene brown swiss  $F_{PED} = 0,048$ ,  $F_{ROH} > 8Mb = 0,074$  a  $F_{ROH} > 16Mb = 0,037$ . Naopak u inbreedních koeficientů  $F_{ROH} > 1Mb, 2Mb$  byly hodnoty populační hladiny příbuzenské plemenitby podstatně vyšší než odhady odvozené od výpočtu z rodokmenu. Odchylka mezi genomovým vyšetřením je 1,3 až 1,7 krát větší než při výpočtu z rodokmenu. Dále bylo potvrzeno, že délka ROH může označit relativní množství autozygotů v důsledku nedávného či vzdáleného předka.

Scraggs et. al. (2014) zjišťovali míru příbuzenské plemenitby skotu plemene Wagyu žijícího ve Spojených státech z neúplných rodokmenů podle SNP markerů. Data byla sledována u 4132 zvířat narozených v období od roku 1994 do 2011. Porovnávali koeficient inbreedingu získaný z rodokmenu (údaje získány od American Wagyu Asociation) a genomovým výzkumem, dále sledovali generační interval. Úplnost rodokmenu byla různá, zvířata, která byla chována po několik generací v USA měla tento rodokmen úplnější, než zvířata dovezená z Japonska. Rodokmenové soubory byly hodnoceny s FOT PRO (Tenset Tech, sro, Cambridge, UK) software. Předci byli vyhledáváni do 10. generace. Genotypy byly zjišťovány pomocí Illumina Bovine SNP50, tyto údaje byly následně použity k odhadu inbreedingu koeficientem  $F_{ROH}$ .

Průměrný koeficient inbreedingu na základě údajů z rodokmenu byl odhadnut na 4,8 %, průměrný nárůst každý rok byl o 0,03 % za 17 let. Dále bylo zjištěno, že největšího průměrného koeficientu inbreedingu bylo dosaženo v roce 1996 a to 7,14 % . Genomový výzkum 47 plemenných býků od osmi předních otcovských linií byl koeficient inbreedingu  $F_{ROH}$  odhadován na 9,08 %, což je více, než při výpočtu z rodokmenu. Toto číslo je však velmi alarmující, proto by se měla zvážit možnost křížení s jinými plemeny a tak minimalizovat nepříznivé účinky inbreední deprese. Největší koeficient inbreedingu byl u jednoho zvířete narozeného v roce 2007 a to 37,5 %. Generační interval trval v průměru 5,14 roků, nejméně 2,25 roku v roce 1994 a 7,09 roku v roce 2008. Rozdíl mezi odhadovaným  $F_{ROH}$  a koeficientem inbreedingu může způsobit, jak nedokonalá evidence v rodokmenu, tak předpoklad, že F1 generace v rodokmenu má koeficient inbreedingu roven 0.



Pomocí genomového výzkumu můžeme také zjistit vývoj populace (Engelsma et al., 2012). U holštýnsko – fríského plemene tato genetická diverzita byla studována pomocí SNP informací po celém genomu na úrovni chromozomální i na konkrétním místě chromozomu.

Výběr jalovic byl založen na rodokmenu podle indexu otce a otce matky. Předpokládaná užitkovost u těchto jalovic byla u 51 kusů vysoká a u 39 kusů nízká. Očekávaná heterozygotnost podle rodokmenu byla 31,1 % a inbreední koeficient byl vypočten podle rodokmenu na hodnoty 8,6 % u skupiny s vysokou užitkovostí a 4,8 % u skupiny s nízkou užitkovostí. Jalovice byly rozděleny do dvou skupin podle užitkovosti.

Pomocí genomické metody SNP markerů, byla zjištěna daleko větší diverzita, zejména u jedné skupiny, konkrétní oblasti chromozomů by mohly být také identifikovány. Tyto rozdíly mezi těmito metodami byly přisuzovány směsí výběru, genetickým driftem a rozdíly v příbuznosti rodiče. Skupina s nízkou užitkovostí odrážela průměrnou holštýnsko - frískou populaci asi před 10 lety, zatímco druhá skupina s vysokou užitkovostí odrážela současnou holštýnsko - frískou populaci. Tento rozdíl souvisí s 2 generacemi.

Další významnou úlohou genomového výzkumu je objasnění domestikace skotu (Purfield et al., 2012). Čím delší sekvence ROH se vyskytuje, tím je jistější, že k inbreedingu došlo v nedávné době. K výzkumu byly vyhodnocovány bi alely SNP z Bovine HD Bead Chip s vysokou hustotou (n 777962 v řadě) u jedinců a tyto ROH byly korelovány s inbreedními koeficienty podle rodokmenu. Tato sekvence ROH se nacházela u 891 inseminačních býků několika plemen (angus, belgické modré, charolais, fríský, holštýnský a holštýnsko - fríský)

Porovnávala se zvířata, jejichž genotyp na HD panelu byla zobrazena alespoň jedna ROH, která byla mezi 1 - 5 Mb délky, v několika místech genotypu tato shoda byla pravděpodobnější, než v místech jiných. Bylo zjištěno že neobvykle dlouhé sledy ROH mohou být narušeny díky neobvyklé mutaci, vazebné nerovnováze a rekombinaci v několika místech genotypu. V závěru tohoto výzkumu byl vytvořen předpoklad, že k domestikaci skotu (před 10000) došlo minimálně ve dvou domestikačních událostech. K odlišnému fenotypu přispíval umělý i přírodní výběr.

### 3.3.2.2. Mikrosatelity a genetická diverzita

Mikrosatelity jsou tandemově se opakující úseky DNA nejčastěji o délce 2 - 6 parů bází. Mikrosatelitové markery jsou úseky DNA obsahující repetitivní sekvenci ohraničené sekvencí primerů použitelných při PCR reakci, které se vyhledávají z tzv. genomických knihoven použitím hybridizace s oligonukleotidovými sondami.

Podle genomového výzkumu pomocí mikrosatelitů, se může posuzovat genetická diverzita populace, která je geograficky oddělena. Byl proveden genomový výzkum (Chikhi et al., 2004), který sledoval genetickou strukturu stáda plemene jersey ve Velké Británii na ostrově Jersey. Toto plemeno bylo vyrovnané genetické struktury a od roku 1789 se nedováželo žádné zvíře, byl zde předpoklad, že zde dochází k příbuzenské plemenitbě. Nejlepší metodou pro zjištění genetické rozmanitosti v populaci je studium mikrosatelitů v DNA.

V tomto případě byly odebrány vzorky od 223 zvířat z 11 farem, což bylo 5% z čtyřtisícové populace, která se nachází na ostrově. Z důvodu co největší rozmanitosti výběru bylo použito 24 zvířat z různých míst.

Celkem bylo amplifikováno 12 mikrosatelitních míst (HAUT27, HEL5, BM1314, BM1818, BM2113, INTRA005, INTRA063, ILSTS006, ETH10, ETH225, TGLA122 a TGLA227). Byla sledována korelace mezi genetickou a geografickou vzdáleností mezi farmami.

Úroveň inbreedingu byla 6,25%. Bylo zjištěno, že se vyskytovalo 67 alel u 12 zkoumaných lokusů mezi 223 jersey. Jejich výskyt na těchto místech byl pestrý, pouze tři alely se opakovaly na INRA05 a ETH225 a jedenáct alel na TGLA227. Tato populace je vyjímečná tím, že byla izolována od britského a kontinentálního evropského dobytka po 50 generací. Navzdory obavám, že na ostrově se zvyšuje inbreeding tato studie dokázala, že tato populace je stejně proměnlivá jako mnoho dalších plemen, proto není nutný dovoz inseminačních dávek plemenků jiných populací, protože genetický drift může rychleji probíhat v podmínkách intenzivního výběru a umělé inseminace.

Tato populace ostrovního plemene jersey by mohla sloužit jako zajímavé srovnání s ohroženými druhy. Je však důležité si uvědomit, že budoucí genetický stav této populace závisí na pečlivém řízení připařování.

### **3.4. Inbreeding jako jedna z forem čistokrevné plemenitby**

Šlechtitelské chovy se zabývají souborem biologických, genetických a ekonomických parametrů. Jejich cílem je vytvořit takovou populaci jedinců, která splňuje co nejlepší požadavky na produkci a zároveň je udržována fitness v odpovídajícím rozsahu.

Inbreeding je forma čistokrevné plemenitby, která je součástí šlechtitelských programů, neboť její význam spočívá v upevňování znaků a vlastností. Na jejím základě byla vytvářena plemena. Zvířata k tomuto připravení jsou vybírána na základě selekce jak přírodní, tak umělé. Přírodní selekce spočívá v embryonální mortalitě, zvýhodnění jedinců, kteří jsou schopni přežít v určitých přírodních podmínkách. Selekcce umělá je prováděna člověkem na základě různých parametrů, jak užitkových vlastností, tak projevech tělesných znaků. Tyto parametry jsou sledovány v různých obdobích tělesného vývoje a určují plemennou hodnotu zvířete, jejíž součástí je také plemenná hodnota rodičů a dále kontrola dědičnosti u potomků.

V přírodních populacích dochází také k inbreedingu z důvodu geografických bariér a dále také vlivem přírodní katastrofy, nebo epidemie, která má za následek snížení počtu jedinců v populaci a tím vytvoření subpopulace, ve které dochází k disperznímu procesu genových četností. A to tím způsobem, že populace se znovu rozrůstá do nového prostředí na základě jedinců, kteří přežili. Tento jev nazýváme efekt hrdla láhve (bottle-neck efekt). Důsledkem tohoto efektu je často ztráta některých alel z původní populace, které měly nízkou frekvenci, ale existuje zde možnost, že po odeznění depresivních vlivů dojde k rozvoji populace, což snižuje pravděpodobnost fixace alel, které se v nové populaci vyskytují v menším množství. (Jakubec et al., 2010)

#### **3.4.1. Vznik subpopulací**

Ve šlechtitelských chovech také dochází ke vzniku subpopulací vlivem selekce. Projevuje se zde efekt zakladatele (founder effect). Je vybrán elitní zakladatel býk (nebo několik) s vynikajícími vlastnostmi, který dává základ další populaci, která má typické vlastnosti, které mohou být jak pozitivní, tak negativní. Nová populace po zakladateli se může výrazně lišit od populace ze které zakladatel vycházel.

K pochopení disperzních procesů je nutné se zamyslet nad ideální subpopulací. V ideální subpopulaci dochází k páření mezi jedinci výhradně uvnitř této subpopulace, generace jedinců

se nepřekrývají, počet jedinců je pro všechny generace stejný a uvnitř každé subpopulace existuje panmixie.

Jak již bylo uvedeno hlavním důsledkem inbreedingu je zvyšování homozygotnosti na úkor heterozygotnosti a změna četnosti alel v subpopulaci a to genetickým driftem a také inbreedingem, takže dochází k fixaci alel. V původní populaci četnost alel  $p = 0,8$  a  $q = 0,2$  a postupem času se mění tyto četnosti na  $p = 1$  a  $q = 0$ , tímto způsobem dochází k vymizení alely  $q$  ze subpopulace.

Genetický drift se projevuje na základě 2 složek a to výchozí alelové četnosti a velikosti populace. Při frekvenci jedné z alel výrazně vyšší, je také vyšší pravděpodobnost, že se bude fixovat právě alela s vyšší frekvencí. Efektivní populace se projevuje pravděpodobností, s jakou se určité alely objeví v další generaci a v malých subpopulacích a to tak, že se pomalu zvyšuje četnost alely, která se v původní populaci nacházela v menším rozsahu. Významnou roli zde uplatňuje také rozmanitost vnějších a vnitřních činitelů, kteří se podílejí na uplatnění jednotlivých genotypů. (Jakubec a kol., 2010)

#### 3.4.1.1. Efektivní velikost subpopulace

Efektivní velikost populace ( $N_f$ ) je taková populace s takovým počtem jedinců, který by způsobil zvýšení inbreedingu tím způsobem, který byl popsán v ideální populaci.

Vzorec pro stupeň inbreedingu v ideální populaci:

$$R_{XY} = \frac{1}{2N}$$

a v populaci reálné, pokud známe její plemennou strukturu :

$$R_{XY} = \frac{1}{2 \cdot N_g}$$

Při výpočtu efektivního počtu jedinců v reálných populacích se známou plemennou strukturou, kdy tato struktura obsahuje nestejný počet samčích a samičích jedinců z důvodů jak ekonomických, tak plemenné struktury uvnitř chovu, kde bývá větší počet samic, než samců. Obě pohlaví se však podílejí genotypově v následné generaci potomstva.

Vztah mezi reálnou velikostí populace k velikosti obou subpopulací následující

$$N = N_m + N_f$$

kde:

$N$  – reálná velikost populace

$N_m$  - počet samčích jedinců

$N_f$  - počet samičích jedinců

z těchto dvou vzorců vyplývá výpočet stupně inbreedingu:

$$\Delta F = \frac{1}{8N_m} + \frac{1}{8N_f}$$

Dalším krokem pro výpočet efektivní populace je také důležitá skutečnost, že v každé populaci je jiný počet jedinců. Může se stát, že v jedné s těchto populací dojde k snížení počtu jedinců. Tento efekt se nazývá bottleneck - zúžení hrdla láhve. Efektivní počet tedy závisí na generaci s nejmenším počtem jedinců.

Tento vztah můžeme vyjádřit vzorcem:

$$\frac{1}{N_e} = \frac{1}{t} \left( \frac{1}{N_{e-1}} + \frac{1}{N_{e-2}} + \dots + \frac{1}{N_{e-t}} \right)$$

Z hlediska populační genetiky by populace měla mít velikost 500 jedinců. Jakubec a kol. (2012) porovnávali počet plemeníků a plemenic pro docílení efektivní velikosti populace 50 jedinců. Menší počty plemeníků nejsou možné.

Tabulka č. 3: Docílení efektivní populace

Náhodná selekce		Fenotypová selekce		Selekce uvnitř rodin	
Plemeníci	Plemenice	Plemeníci	Plemenice	Plemeníci	Plemenice
25	25	35	35	13	13
20	34	30	45	12	14
16	56	25	65	10	50
14	116	20	300	9	1000

Při výpočtu efektivní populace se dále zohledňuje skutečnost překrývání generací a generační interval.

Specifický význam v malých populacích mají mutace. Jsou to dědičné změny, které se ve velkých populacích projevují velmi problematicky z důvodu, že v těchto populacích se mohou uplatnit až za delší časový úsek. V malých populacích však k jejich projevům dochází rychleji a to za účasti genetického driftu. Mohou se v subpopulaci až fixovat, za předpokladu, že se v genotypu již nacházely. (Jakubec a kol., 2012)

### 3.4.2. Příbuzenská plemenitba a zvyšování koeficientu inbreedingu

Ve šlechtitelských chovech se vybírají samci a samice pro další reprodukci. Se vzrůstající užítkovostí dochází ke zhoršování schopnosti přizpůsobit se vnějším podmínkám a tím také fitness v celém jejím rozsahu. (Jakubec a kol., 2010)

Příbuzenská plemenitba byla využívána již v minulém století. Yong and Seykora (1996) studovali populaci holštýnského plemene v USA. Příbuzenský vztah během této doby se výrazně zvýšil. Byly vypočteny koeficienty inbreedingu a původové koeficienty, při různé základně rodokmenu.

Tabulka č. 4

Rok základny	Koeficient inbreedingu ( $F_x$ )		Koeficient příbuznosti ( $R_{xy}$ )	
	Odhad	SE	Odhad	SE
1970	4,70%	0,40%	5,20%	0,60%
1976	3,80%	0,40%	7,30%	0,70%
1982	4,30%	0,40%	9,60%	0,80%
1990	5,10%	0,40%	10,20%	0,80%

Sewalem et al. (2006) zjišťovali úroveň inbreedingu ve vztahu k produkční životnosti u kanadských mléčných plemen a to zvířat narozených mezi rokem 1980 a 2004, koeficient inbreedingu před rokem 1980 byl nízký. Byly sledovány záznamy plemen ayshire, jersey a holštýnského plemene. Data byla zpracována od 72385 krav ze 1505 stád a 2499 plemeníků jersey, 112723 krav ze 1482 stád a 2926 plemeníků ayshire a 1977311 krav z 17182 stád a z 8261 plemeníků holštýnského plemene. Celkový průměr koeficientu inbreedingu byl u holštýnského skotu 3,2 % se směrodatnou odchylkou 2,81 %, u jersey 3,6 % se směrodatnou odchylkou 3,05 % a ayshire 3,99 % se směrodatnou odchylkou 3,19 %. Maximální koeficient inbreedingu u plemene jersey byl 35,78 %, u plemene ayshire 45,4 % a u holštýnského plemene 44,7 %. Střední hodnoty koeficientu inbreedingu u těchto plemen byly 5 %, 6,04 %, a 5,04 %.

V tabulce je uveden průběh zvyšování inbreedingu v populaci kanadského mléčného skotu a zastoupení populace narozených zvířat v jednotlivých kategoriích

Tabulka č. 5: Počet zvířat, průměrná úroveň inbreedingu (F) podle roku narození a procento zvířat v každé třídě inbreedingu pro jersey, ayrshire a holštýnského plemene.

Plemeno	Rok nar.	Počty zvířat	Průměr	Třída inbreedingu (%)						
				0	0 – 3,125	3,125 – 6,25	6,25 – 12,5	12,5 – 18,25	18,25 - 25	Více 25
Jersey	1980 - 1984	39826	3,23	8,4	49,61	31,2	8,69	1,73	0,13	0,24
	1985 - 1989	41327	3,3	5,62	51,91	31,07	9,69	1,46	0,07	0,19
	1990 - 1994	39243	3,82	3,53	45,27	35,05	14,73	1,27	0,05	0,1
	1995 - 1999	35090	4,32	2,35	37,03	41,21	17,79	1,43	0,11	0,08
	2000 - 2004	31035	4,79	2,9	25,5	48,86	20,9	1,57	0,14	0,14
Ayrshire	1980 - 1984	73933	3,36	18,89	32,13	35,16	12,08	1,38	0,16	0,21
	1985 - 1989	69111	4,07	8,31	30,14	45,87	13,79	1,52	0,15	0,22
	1990 - 1994	55766	4,66	5,04	20,9	54,26	18,02	1,38	0,16	0,23
	1995 - 1999	46937	5,14	7,05	8,81	58,57	23,94	1,45	0,09	0,09
	2000 - 2004	37997	5,41	6,54	7,19	55,71	28,97	1,41	0,11	0,17
Holstein	1980 - 1984	1079159	1,8	23,7	55,64	15,6	4,56	0,42	0,02	0,06
	1985 - 1989	1180099	2,04	11,29	66,16	17,68	4,41	0,4	0,01	0,05
	1990 - 1994	1292548	2,86	13,53	48,17	29,28	8,42	0,55	0,01	0,04
	1995 - 1999	1298484	4,22	11,77	23,98	43,64	19,66	0,86	0,03	0,04
	2000 - 2004	1276208	4,97	9,2	10,75	52,56	26,59	0,79	0,06	0,04

Z tohoto důvodu je zřejmé, že hlavní úlohou šlechtitelských programů v současnosti zamezit zvyšování inbreedingu.

### 3.4.3. Liniová plemenitba a snižování koeficientu inbreedingu

Jedním z možných způsobů snižování inbreedingu je vytvoření linií a to otcovské a mateřské. Tyto linie se zakládají podle efektu zakladatele, vybírají se tedy elitní zvířata v rámci plemene, která tvoří základ celé linie (subpopulaci).

Jedinci uvnitř této subpopulace mají charakteristické znaky pro každou jednotlivou linii. Význam této plemenitby je v tom, že dochází nejen k fixaci vlastností a znaků a zároveň zde probíhá přírodní selekce, díky které kromě jiného se maximálně zvyšuje adaptabilita k prostředí, ve kterém populace žije. Životnost linie je 4 – 7 generací a to z toho důvodu, aby nedocházelo ke zvyšování homozygotnosti.

Z hlediska šlechtění má liniová plemenitba velký význam, neboť elitní býci, kteří vznikli v rámci určité linie mohou být použiti ke křížení tzv. osvěžení krve s jinou linií a tím je dosažena nová genetická diverzita a snížení vlivu inbreední deprese. Důležitým aspektem pro výběr elitních zvířat je zjišťování plemenné hodnoty a dále výzkum genotypu, který může odkryt haplotypy, které mohou způsobit projevy letálních alel a dále vznik mutací, které mohou zapříčinit genetické abnormality. (Northcult et al., 2004)

Pryce and Deatwyler (2012) zjišťovali možnosti zkrácení intervalu generace pomocí odhadu plemenné hodnoty. Plemená hodnota se dá zvýšit pomocí vysoké míry výběru a kratšími intervaly generace. Plemenou hodnotu v praxi vyjadřuje genetický zisk, obecně platí, že genetický zisk se pohybuje mezi 12 a 100 %, zatímco míra příbuzenské plemenitby je nižší.

Byly porovnávány 2 postupy. V jednom z těchto postupů (konvenční), kde se býci monitorovali, aby mohlo dojít ke snížení počtu testovaných potomků býčků, kteří se dále používají jako plemeníci, jakmile dosáhnou sexuální zralosti. Ve druhém z těchto postupů (radikální), kde byly použity reprodukční technologie (u mláďat) a genomická selekce.

Bylo zjištěno, že použitím radikálního postupu se snížila doba testace díky genomovým testům z pěti let (konvenční postup) na jeden a půl roku (radikální postup). Základním kladem genomické selekce je přesnost genomických plemenných hodnot. Záporům však může být vliv krátkých intervalů generace, neboť může docházet k vyšší míře příbuzenské plemenitby za rok ve šlechtitelských programech.



### 3.5. Inseminace ve vztahu k inbreedingu v populaci

Inseminace je biotechnologická metoda, která zahrnuje odběr, zpracování a uchování semene samců a následné vpravení do samičího pohlavního ústrojí. V chovech hospodářských zvířat se začala používat již v minulém století a to ve velkém měřítku. Mezi její největší výhody v té době patřil fakt, že inseminací se snížil počet plemeníků a díky tomuto trendu se vybírali plemenci s nejlepší plemennou hodnotou. Pokud se tato hodnota projevila na výborné produkci jejich dcer byla tato zvířata hojně využívána. (Jakubec a kol., 2012)

Yong and Seykora (1996) sledovali příbuzenské vztahy registrovaných krav holštýnského plemene. Data vzájemných vztahů se skládala ze dvou liniových rodokmenů pro náhodný vzorek 600 registrovaných krav holštýnského plemene narozených během roku 1990, byly vybráni 2 jedinci na 1000 registrací. Nejvíce dominantní matkou plemene byla DeKol 2d narozena 1884. Dvě matky po DeKold1 byly Round Oak Ivanhoe Eve ( matka Round Oak Rag Apple Elevation) a Pawnee Farm Glenvite Beauty ( matka Pawnee Farm Arlinda Chief). Plemeník Carlin – M Ivanhoe Bell, který se narodil v roce 1974, byl hojně využíván při inseminacích a byl přenašečem CVM a BLAD (onemocnění jsou popsána výše). Bylo zjištěno, že genetická základna je tak úzká a je nutno nadále sledovat příbuzenské vztahy.

Fritz et al. (2013) zjišťovali genomové oblasti skrývající recesivní škodlivé mutace u tří plemen mléčného skotu, tato data byla pořízena z výběru genetických databází plemen holštýnského, montbeliardee a normandského skotu. Byly identifikovány čtyři haplotypy, které souvisí s těmito vadami. Páření nosných býků těchto haplotypů s jejich dcerami měl negativní vliv na otelení, což potvrzuje spojení s embryonální smrtící mutací. Cílem této studie bylo odhalit haplotypy spojené s embryonální letalitou na základě prioritního fenotypu, který zabrání genomovému výběru těchto zvířat. Odhady ztrát plodnosti byly blízko očekávání pouze u šesti oblastí MH1, MH2, BY, HH1, HH3, HH4, zatímto ostatní ukázaly výsledky nižší, než se očekávalo. Například ztráta plodnosti spojená s HH5 a HH6 CVM haplotypů bylo jen asi 1,5 % v důsledku kombinovaného vlivu neúplné vazebné rovnováhy a narození mrtvých telat. Byly identifikovány mutace významných polypeptidů GART, SHBG a SLC37A2, které měly vliv na embryonální mortalitu. Tato studie vysvětluje důsledky vzrůstu inbreedingu u specializovaných plemen.

### **3.5.1. Kryokonzervace a genetická diverzita uvnitř plemen**

Šlechtitelské chovy v rámci plemen musí pracovat s inbreedními zvířaty těchto elitních býků, kteří byli hojně využíváni dříve, takže inbreední koeficient neustále roste. Jak je uvedeno výše, šlechtitelé tento problém řeší liniíovou plemenitbou a osvěžením krve. Dalším z možných řešení je kryokonzervace. Tato technologie je velmi nákladná, ale pro budoucí generace nepostradatelná, neboť tato metoda může zvýšit genetickou diverzitu uvnitř plemen. Kryokonzervace ve šlechtitelských chovech zahrnuje následné kroky.

Výběr zakladatelů je závislý na maximální genetické variabilitě, která v plemeni existuje, tyto informace získáváme z rodokmenu a markerovým genetickým výzkumem. Rodokmenové informace jsou potřebné pro výpočet původového koeficientu, který vypovídá o úrovni homozygotnosti. U zakladatelů by tento koeficient měl být co nejnižší, což naznačuje, že jsou geneticky odlišní a dále co nejnižší koeficient inbreedingu u každého jedince ze zakladatelů.

Pokud jsou vypočteny původové koeficienty dárců jak samičích tak samčích gamet, hledá se rodičovský pár s nejnižším původovým koeficientem.

Ekonomicky nejvýhodnější je asi konzervace gamet hlubokým zmrazením. Pro zamezení zvýšení příbuznosti platí pravidlo jeden plemeník produkuje jednoho syna a jedna plemenice produkuje jednu dceru. V praxi se obvykle využívá schéma jeden samec a více samic. Pro zachování genetické variability je výhodnější pářit jednu samici s více samci (faktoriální páření). Fertilizace se provádí in vitro a následné sexování embryí zajišťuje uchování přiměřeného počtu pohlaví. (Jakubec a kol., 2012)

### **3.6. Sledování znaků fitness a koeficientu inbreedingu**

V současné době je vyvíjen velký tlak na ekonomiku chovu skotu, z tohoto důvodu existuje mnoho studií, které se zabývají vlivem inbreedingu na fitness, neboť fitness je biologický ukazatel, který ovlivňuje ekonomiku chovu. Jak je již uvedeno koeficient inbreedingu nadále roste a proto tyto studie jsou velice významné, aby tento trend byl zmírněn. Vybrala jsem studie různých zemí a plemen, neboť produkce je ovlivněna i vnějšími podmínkami a vnitřními faktory.

Bezdiček a kol. (2007) sledovali účinky příbuzenské plemenitby na délku servis periody a délku březosti u plemen holštýnské a české strakaté.

Byly vybrány krávy z farem celé České republiky, které se otelily v letech 1985 – 2004. Data byla shromážděována k červnu 2005. Bylo vybráno 631810 krav holštýnského a českého strakatého plemene. Inbreední krávy byly rozděleny podle vypočteného koeficientu inbreedingu na tyto skupiny  $F_x = 1,5 - 2,3 \%$ ,  $F_x = 3 - 5 \%$ ,  $F_x = 8 - 12,5 \%$ ,  $F_x = 25 \%$ . Výpočet inbreedingu byl proveden podle Wrighta 1922. K porovnání údajů těchto inbreedních krav byla vytvořena skupina krav outbreedních, které byly vybírány tak, že tvořily dvojice s inbreedními kravami, které měly stejného otce, otelily se na stejné farmě a ve stejném roce v období  $\pm 5$  měsíců.

Údaje o délce březosti ( ve dnech) a servis periody byly analyzovány pomocí PROC GLM SAS . Účinky příbuzenské plemenitby a další faktory byly odhadnuty z modelu takto:

$$Y_{ijklmn} = \mu + I_i + B_j + BVS_k + BVM_l + CY_m + CA_n + e_{ijklmn}$$

kde

$Y_{ijklmn}$  = korigovaná hodnota reprodukční vlastnosti

$\mu$  = střední hodnota

$I_i$  = úroveň koeficientu inbreedingu ( 1 = 25%, 2 = 8,0 – 12,5%, 3 = 3,05 – 5,0%. 4 = 1,5 – 2,3%)

$B_j$  = jedinec plemene holštýn, české strakaté

$BVS_k$  = chovný plemeník pro produkci mléka (méně nebo rovno 400, 401 – 800, 801 a více)

$BVM_l$  = plemenné hodnoty sledované pro jednotlivé produkce mléka ( (menší nebo rovna 1, 1 – 250, více než 251)

$CY_m$  = rok otelení (1997, 1998 – 2000, 2001 – 2004)

$CA_n$  = věk při prvním otelení v měsících ( méně nebo rovno 25, 25,1 – 27, 27,1 a více)

$e_{ijklmn}$  = zbytkové chyby

Tabulka č. 6

Délka březosti (ve dnech) inbreedních a outbreedních krav po první laktaci (Bezdiček a kol., 2007)

	$F_x(\%)$	Stupeň koeficientu $F_x$				
		1,5 – 2,3	3,0 - 5	8,0 – 12,5	25	Celkem
Inbreední krávy	n	127	321	82	77	607
	$Y_{ijklmn}$	280,45	281,1	282,82	284,75	281,66
	$R^2$	0,1436	0,1794	0,3091	0,3227	0,2091
	$V_x$	1,99	1,98	2,01	1,97	1,99
Neinbreední vrstevnice	n	127	321	82	77	607
	$Y_{ijklmn}$	280,15	280,78	282,9	283,08	281,23
	$R^2$	0,2714	0,2686	0,296	0,2484	0,2341
	$V_x$	1,6	1,63	1,76	1,94	1,7
Rozdíl ( inbreední - neinbreední)		0,3	0,32	-0,08	1,68	0,43

Tabulka č. 7

Délka servis periody (ve dnech) inbreedních a outbreedních krav po prvním otelení ( Bezdiček a kol., 2007)

	Skupina krav	Statistický ukazatel	$F_x (\%)$				
			1,5 – 2,3	3,0 - 5	8,0 – 12,5	25	Celkem
Počet krav v dílčích souborech		n	138	340	81	89	648
Délka servis periody (dny)	Inbreední	$Y_{ijklmn}$	126,94	130,69	122,47	119,56	127,34
		$V_x$	47,23	46,47	52,34	48,78	47,67
	Outbreední	$Y_{ijklmn}$	124,13	127,34	117,94	111,33	123,28
		$V_x$	38,23	38,69	39,05	36,5	38,51
Rozdíl ve dnech ( in/out-breední)			2,81	3,35	4,53	8,23	4,06

Projevy inbreední deprese u servis periody byly výraznější u inbreedních krav s vyšším koeficientem inbreedingu. Průměrná doba březosti u inbreedních zvířat byla vyšší v průměru o 0,43 dne. Při zvyšování koeficientu inbreedingu o 1% se prodlužuje servis perioda o 0,22 dne a doba březosti o 0,063 dne. Interval mezi první a druhou laktací je více ovlivněn hlavně servis periodou.

Parland et al. (2008) kvantifikovali vliv inbreedingu na kvalitu kostry, tempo růstu, životnost, zmasilost a snadnost otelení u plemene charolais, limousin, hereford a angus.

Koeficient inbreedingu byl vypočten na základě rodokmenu úplného do třetí generace, bylo vybráno 18495 charolais, 110546 limousin, 91018 simental, 56229 hereford a 60288 agnus čistokrevných zvířat. Tyto informace byly získány z Federace Irského chovu skotu, dále byly použity produkční záznamy těchto zvířat. Tato zvířata byla ze stád jak produkčních, tak chovných.

Byl sledován podrobný popis kostry, zde však byl nedostatek informací o kostrách poražených zvířat, neboť poražená zvířata v Irsku jsou většinou kříženci. Záznamy byly prováděny u zvířat poražených v rozpětí 365 – 1095 dnech věku. Znaky kostry byly sledovány u 4969 zvířat plemene charolais, 2365 limousin, 771 simental, 950 hereford a 845 angus.

Při porovnání růstu inbreedních a neinbreedních zvířat byly navrženy tyto hypotézy. Inbreeding má největší vliv na růstu u zvířat hned po narození, jsou menšího vzrůstu, který však zvířata mohou vyrovnat v pozdějším přírodním kompenzačním růstu. Dále pak plemena hereford a angus jsou zralá na porážku v pozdějším věku než plemena kontinentální charolais a limousin. Zde je tedy možnost vyrovnání porážkové hmotnosti jak u zvířat inbreedních tak neinbreedních. Pokud jsou inbreední zvířata menšího růstu po narození, začnou se léčit z důvodu vyrovnanosti stáda při zařazení do tříd při porážce. Dále svou úlohu může hrát alelová frekvence uvnitř plemen. Hmotnosti jatečně opracovaných těl při zvýšení koeficientu inbreedingu o 1% se snížily u všech sledovaných plemen a to u charolais o 0,87 kg, a u hereford o 1,9 kg.

Při pohledu z hlediska fitness telata malého vzrůstu i telata velkého vzrůstu mohou mít větší pravděpodobnost perinatálního úmrtí. Dále byla sledována perinatální úmrtnost ve vztahu k paritě porodu. Na tuto úmrtnost měla největší vliv parita první a to 6,3 % charolais, 5,6 % limousin, 4,8 % simmental, 5 % hereford a 3,4 % agnus. při sledování inbreední deprese u matky, výše inbreedingu u telete nebyla sledována.

Dalším ukazatelem fitness byl výskyt dystocie u porodu. Dystocie se nejvíce vyskytovala u prvotek plemene agnus, což může souviset s menším tělesným rámcem.

Parland et al. (2007) zjišťovali účinky inbreedingu na produkci mléka, počet somatických buněk, plodnost, životnost, otelení a exteriér krav holštýnsko – fríského plemene v Irsku. Data k tomuto výzkumu byla získána od Irish cattle breeding federation. Pro užitkové vlastnosti byly použity záznamy z let 1990 až 2005 včetně, datum otelení a průběh porodu u krav, které se otelily v období 2003 – 2005. Koeficienty inbreedingu byly vypočteny u 3678663 zvířat z rodokmenů úplných alespoň do třetí generace. Jednalo se o čistokrevná zvířata holštýnského a fríského plemene, ale také křížence těchto plemen. Pro účely této studie byl průběh porodu definován těmito třídami: 0 = bez asistence, 1 = potřeba pomoci a 2,3,4 = pomoc zapotřebí. Parity větší než 4 byly sloučeny a parity větší než 10 byly odstraněny. Narození mrtvého telete bylo klasifikováno takto: 1 = mrtvý plod, 0 = bez mrtvého plodu a narozené potraty z dvojčat byly ze záznamů odstraněny. Byl sledován jak vliv inbreedingu matky, tak vliv inbreedingu telete na obtížnost porodu, kde výskyt obtížnosti porodu byl 33 % na 34 %, dále také vliv inbreedingu matky a telete na výskyt mrtvého plodu, kde výskyt mrtvého plodu byl 4 % na 5 %. U obou vlivů inbreedingu byl výskyt dvojčat 2,5%.

Bylo zjištěno, že matky s koeficientem inbreedingu 12,5 % mají o 2 % horší průběh porodu, o 1 % vyšší výskyt narozeného mrtvého telete a o 0,7 % vyšší výskyt býčků.

Při sledování koeficientu inbreedingu u telete bylo zjištěno, že narození mrtvého telete se zvyšuje o 0,2 % při nárůstu inbreedingu o 1 %. Pro plodnost a životnost byly sledovány tyto reprodukční ukazatele: věk při prvním zabřeznutí, mezidobí a přežití první laktace. Při hodnocení věku při prvním zabřeznutí a mezidobí se projevil vliv sezónního chovu na pastvě. Chovatelé připouštějí krávy a jalovice tak, aby se otelily v období mezi prosincem až červnem.

Bylo zjištěno, že koeficient inbreedingu  $F_x = 12,5\%$  zvýšil věk jalovic pro zapuštění o 2,5 dne, mezidobí o 8,8 dne a snížení přežití do druhé laktace o 4 %, dále byla u těchto zvířat produkce mléka snížena o 61,8kg, množství tuku bylo také nižší o 5,3 kg, došlo také ke snížení produkce bílkovin o 1,2 kg a skóre somatických buněk se zvýšilo o 3 %. Vliv inbreedingu na tělesné znaky byl nejvýznamnější u struktury vemene. Z tohoto výzkumu vyplývá, že inbreeding má negativní vliv zejména na znaky související s fitness.

Smith et al. (1998) se zabývali inbreedingem a jeho nárůstem u holštýnského plemene v USA. Předpokládali, že nárůst inbreedingu je způsoben malým počtem plemeníků, neboť v plemenitbě je kladen velký důraz na užitkové znaky a kvalitu těchto plemeníků. Díky tomuto malému počtu plemeníků dochází k nárůstu koeficientu inbreedingu u jedince a projevům inbreední deprese. Sledovali tyto parametry: dlouhověkost, laktace, reprodukce a zvýšení počtu somatických buněk v mléce. Koeficient inbreedingu byl vypočten na základě znalosti rodokmenu.

Data k tomuto výzkumu byla získána od Holstein Association (Brattleboro VT) od roku 1983 do 1993 v programu USDA a spolupracovalo se s laboratoří (Beltsville VT). Byla vytvořena skupina, která splňovala tyto požadavky: délka pobytu krav ve stádě byla delší než 84 měsíců, dále krávy se vždy otelily ve stejném stádě, mezidobí bylo v rozpětí 270 až 730 dnů, věk primipar v rozmezí 548 až 1096 dnů, další podmínkou zařazení krav do této skupiny byly záznamy o množství sledovaných složek (bílkoviny a tuk) v mléce při každém dojení.

Výsledky tohoto výzkumu ukázaly, že zvýšením koeficientu inbreedingu o 1 % došlo k prodloužení věku při prvním otelení o 0,55 dne, o 6 dní se zkrátila produkční životnost a o 4,8 dní se zkrátila doba laktace. Dále se snížila produkce mléka za první laktaci o 27 kg, produkce tuku se snížila o 0,8 kg a obsah bílkovin v mléce se také snížil o 0,8 kg. Za produkční život krávy se snížilo množství mléka o 177 l, obsah tuku o 6 kg a obsah bílkovin o 5,5 kg. V tomto výzkumu bylo pozorováno, že zvýšením koeficientu inbreedingu má velký vliv na produkční životnost krav a přesnost výše koeficientu inbreedingu je založena na lepší znalosti rodokmenu.

Carollina and Gama (2008), se zabývali vlivem inbreedingu na reprodukční a růstové znaky u skotu plemene alentejana v Portugalsku. Data pro tento výzkum byla pořízena od 19054 registrovaných krav a 10297 telat ze 155 stád. Byl sledován koeficient inbreedingu jak krav, tak i jejich telat. U telat registrovaných v období 2000 – 2003, otec a matka byli známí a předci z druhé generace jen z 96,9 %. Koeficient inbreedingu u jednotlivých krav se pohyboval mezi hodnotami 3,52 % až 4,88 %, u telat byly tyto hodnoty v rozmezí 3,01% až 7,93. Průměrný koeficient inbreedingu u telat narozených v roce 2003 byl 8,35 %. Bylo zjištěno, že regresní koeficienty výkonnostních vlastností na inbreeding byly malé. Zvýšený koeficientu inbreedingu se projevil u vlastností ovlivňujících fitness a to celkový počet otelení za celý život a hmotnost telete ve třech měsících věku. Byly porovnány tyto znaky inbreedních zvířat s neinbreedními: doba březosti (delší o 4,2 dny), porodní váha telete (méně o 6,2 kg), životnost (méně o 39 dní), hmotnost telat ve věku tří (o 4,1 kg nižší), sedmi (o 3 kg



nižší) a dvanácti měsíci (4,3 kg nižší). Vliv inbreedingu na využitelnost krmiva v souvislosti se znaky kostry byl velmi malý a nevýznamný.

Z těchto výsledků vyplývá, že inbreeding má úzkou spojitost s fitness. Inbreední i neinbreední zvířata byla chována ve stejných podmínkách. Výsledky byly porovnány s výzkumem týkajícím se vysokoprodukčních krav. Dopad inbreedingu u těchto zvířat byl o něco větší než u zvířat plemene alentejana, toto plemeno je totiž chováno v mnohem drsnějších klimatických podmínkách a má mnohem menší nároky na krmivo oproti zvířatům chovaných ve vysoce intenzivních systémech.

Malhado et al. (2013) se zabývali vlivem inbreedingu na průměrný denní přírůstek od narození do věku 205 dnů (ADG 205), průměrný denní přírůstek mezi 205 a 365 dnem (ADG 365) u středomořských buvolů a dále na doživost, délku laktace, věk při prvním otelení a mezidobí u Murrah buvolů v Brazílii

Hmotnostní přírůstek AGD205 klesl o 0,25 kg na 1 % nárůst koeficientu inbreedingu a AGD365 klesl o 0,39 kg. Zvířata s koeficientem inbreedingu  $F = 25\%$  vyprodukovali za život o 50,4 kg méně mléka, než jedinci nepříbuzní, délka mezidobí se zvýšila o 0,1645 dne na 1% nárůstu koeficientu inbreedingu. Zajímavé bylo, že inbreeding měl pozitivní vliv na věk při prvním otelení, který se snižuje a délce laktace, která se zvyšuje.

González et al. (2007) se zabývali kompletností rodokmenu, původovým koeficientem a dále reprodukčními znaky a to snadnost otelení, servis periodou, délku březosti a laktací.

Rodokmeny zvířat byly kompletní v první generaci. V druhé generaci již byly kompletní z 98 % a další generace byly kompletní z 86 %, 74 %, 57 %, 44 %, 31 %, 19 %, 9 % a 3 % Nejúplnější rodokmen byl znám do dvacáté generace. Efektivní populace byla tvořena 51 zvířaty. Původový koeficient byl  $\Delta F = 5,68\%$ . Tento parametr je však alternativní při nedostatku informací z rodokmenu. Bylo zjištěno, že polovina populace je tvořena 13 předky.

Zvířata byla rozdělena do čtyř skupin podle koeficientu inbreedingu a to  $F1 = 0 - 3,125\%$ ,  $F2 = 3,125 - 6,25\%$ ,  $F3 = 6,25 - 12,5\%$  a  $F4 = 12,5 - 25\%$  Záznamy o reprodukčních ukazatelích a doživosti byly z období 1994 – 2006.

Snadnost otelení byla klasifikována podle bodovacího systému, kde 1 = bez pomoci, 2 = porod s drobnou pomocí, 3 = pomoc nutná, 4 = císařský řez, z důvodu velikosti telete a 5 = císařský řez z jiných důvodů. Byly vybrány krávy, jejichž mezidobí bylo v rozmezí od 300 do 600dnů a servis perioda od 25 – 160 dnů, první otelení bylo v období od 18 do 24 měsíců věku. Březost byla 272 – 292 dní.



Krávy ze skupiny F3 měly kratší březost o 1,68 % než krávy ze skupiny F1 a F2. Krávy s vyšším koeficientem příbuznosti měly poruchu plodnosti. Průměrný pokles plodnosti byl v rozmezí od 1 do 6 % pro krávy v F2 nebo F5. Inbreední deprese ovlivňující plodnost se projevila při koeficientu inbreedingu nad 12,5 %, kdy se projevilo horší zabřezávání o 2 %, při koeficientu inbreedingu vyšším než 25 % se toto procento zvýšilo na 6 %, dále bylo zjištěno, že vysoce inbreední krávy mají horší průběh porodu.

Sewalem et al. (2006) se sledovali produkční životnost u krav s různým koeficientem inbreedingu. Produkční životnost byla definována jako období od prvního otelení do utracení nebo smrti. Zvířata byla rozdělena do skupin podle koeficientu inbreedingu do 7 tříd ( 0, 0 – 3,125 %, 3,125 – 6,25 %, 6,25 – 12,5 %, 12,5 – 18,25 %, 18,25 – 25 %, 25 % a více). U všech zvířat bylo sledováno zhoršování parametru produkční životnosti s nárůstem inbreedingu. Bylo zjištěno, že do  $F = 12,5\%$  jsou následky inbreední deprese pro životnost mírnější, nad tuto hranici již výrazné.

Santana et. al. (2010) posuzovali vliv koeficientu inbreedingu na hmotnost při odstavení (WW), přírůstek od odstavu do věku 18 měsíců (WG345), obvod šourku ve stáří 18 měsíců (SC), osvalení v 18 měsících věku (MUS), výška v kohoutku (HH), u jalovic pravděpodobnost zabřeznutí ve věku 14 měsíců (PP14) a produkční životnost (STAY) u brazilského skotu plemene nellore.

Data byla posuzována u zvířat narozených mezi lety 1984 a 2007 na 12 farmách , tyto farmy patřily jedné společnosti, takže postupy sběru a zpracování byly standardizovány. Jen malá část populace 9 % (39388 ks) vykazovala inbreeding vyšší než nula, neboť rodokmen u většiny zvířat nebyl kompletní. K oplodnění krav byla použita jak inseminace, tak přirozené páření ve skupinách s jedním plemeníkem. Pokud bylo plemeníků více, synové byli označeni v rodokmenu neznámého původu ze strany otce, neboť otcovství nebylo možno prokázat.

Inbreední deprese se projevila - 0,153 jednotek na skóre osvalení, při zvyšování koeficientu inbreedingu o 1%. Dále bylo zjištěno, že inbreeding má nepříznivý vliv na ukládání tuku. Při posuzování vlivu koeficientu inbreedingu na stavbu těla byla výška v kohoutku (HH) ovlivněna koeficientem inbreedingu matky posuzovaného telete. Tento pokles výšky v kohoutku byl zaznamenán u zvířat s koeficientem inbreedingu vyšším než 8 %. Při koeficientu inbreedingu vyšším než 11,5 % byla výrazně ovlivněna hmotnost při odstavu (WW) a přírůstek od odstavu do věku 18 měsíců (WG345). Na znak související s reprodukcí a to pravděpodobnost zabřeznutí (PP14) při zvýšení koeficientu inbreedingu nad 10,8% mělo za

následek snížení pravděpodobnosti zabřeznutí u jalovic. STAY byla také negativně ovlivněna a to při zvýšení koeficientu inbreedingu o 1% výrazně poklesla o 8%.

Cassell et al. (2003) sledovali vliv inbreední deprese pro první zapuštění a dojivost.

Inbreední deprese pro první zapuštění nebyla významná pro třídy holštýnského plemene a pohybovala se od -0,37 dne na 1% nárůstu inbreedingu (třída s menší kompletností rodokmenu než 31 %), dále 0,15 dne ( pro třídu s kompletností větší než 70 %). Inbreední deprese dojivosti se projevila výrazně ve všech třídách. Množství mléka se snížilo od - 0,12 do - 0,06 kg/den na 1% nárůst inbreedingu u plemene holštýnského a - 0,08 kg na 1% nárůst inbreedingu u jersey.

Vliv koeficientu inbreedingu na kvalitu a počet embryí u holštýnského plemene v ČR zkoumali Bezdíček a kol. (2014) K výzkumu bylo vybráno 125 krav u kterých byl vypočten koeficient inbreedingu ze známého rodokmenu do páté generace. Průměrná hodnota koeficientu inbreedingu byla  $F_x = 6,552$  %. Inbreední krávy byly rozděleny do dvou skupin. V první skupině bylo 23 krav s  $F_x = 1,26 - 1,56$  %, od kterých bylo získáno 147 embryí a do druhé skupiny bylo zařazeno 13 krav s  $F_x = 3,1 - 25$  %, od kterých bylo získáno 52 embryí. K porovnání výsledků kvality embryí krav inbreedních a neinbreedních bylo vybráno 89 krav neinbreedních, od kterých bylo získáno 562 embryí. Byl sledován počet embryí degenerovaných, nebo neoplozených. Údaje byly analyzovány pomocí PROC GLM SAS pro popisnou statistiku a t-testy SAS/STAT všechny hodnocené znaky embryí u inbreedních krav byly horší než u krav neinbreedních.

U embryí krav s nižším koeficientem inbreedingu oproti neinbreedním kravám nebyly příliš velké, ale u vyššího  $F_x$  byly v podílu převoditelnosti embryí a neoplozených vajíček výsledky významně negativní.

Na reprodukci krav je závislá ekonomika chovu a dále pak přenos genetické informace na potomstvo. Součástí reprodukce je mnoho reprodukčních ukazatelů, důležitých pro správnou činnost vaječnicků (produkce oplozeních schopných vajíček), které jsou závislé, jak na vnitřních faktorech jedince, jako je hormonální, tělesný a zdravotní stav. Dále na vnějších faktorech jako je životní prostředí a výživa, která souvisí s energetickou bilancí organismu. Z tohoto výzkumu vyplývá, že zvyšováním koeficientu inbreedingu o 1 % se zvyšuje podíl degenerovaných embryí o 2,23 %. Superovulace a přenos embryí je biotechnologická metoda finančně náročná, tento výzkum ukazuje, že krávy s větším koeficientem inbreedingu než 3% by neměly patřit mezi dárkyně embryí.

### 3.7. Kontrola inbreedingu ve šlechtitelských programech

Z výše uvedených studií je patrné, že kontrola inbreedingu ve šlechtitelských programech je velmi důležitá, neboť zvyšování koeficientu inbreedingu způsobuje inbrední depresi, která významně ovlivňuje zhoršování parametrů fitness. U jalovic s  $F_{II} = 12,5\%$  a výše se výrazně prodlužuje doba prvního zabřeznutí, u krav se servis perioda také prodlužuje s nárůstem koeficientu inbreedingu, prodlužuje se také doba březosti. Vzrůst koeficientu inbreedingu se také negativně projevuje na obtížnosti porodu a perinatální úmrtnosti zejména u primipar a dále počtu porodů během života a s tímto související produkční životnost krav. U telat se snižuje porodní váha se vzrůstajícím koeficientem inbreedingu matky, dále se také snižuje hmotnost při odstavu, tyto hodnoty se mohou projevit na nižší porážkové hmotnosti zvířete. V rámci tělesných znaků se projevuje zvýšení koeficientu inbreedingu zejména na struktuře vemene, na ostatní tělesné znaky toto zvýšení nemá podstatný vliv. Doba laktace a produkce mléka, tuku a bílkovin se zhoršují se zvýšením koeficientu inbreedingu. Počet somatických buněk v mléce se také zvyšuje.

Jako dárkyně embryí při kryokonzervaci by se neměly používat krávy s vyšším procentem inbreedingu než 3 %. Inbrední deprese se projevuje do 12,5 % koeficientu inbreedingu v menším rozsahu než nad tuto hranici. Jako kritická se projevuje hranice 25 % koeficientu inbreedingu, kdy se inbrední deprese ve vztahu k fitness projevuje výrazně. Pro zachování genetické diverzity v chovu by se měl koeficient inbreedingu jedince pohybovat do 6,25 %.

## 4 Závěr

Fitness je schopnost jedince přežít a zplodit životaschopné potomky. Inbreeding (příbuzenská plemenitba) je páření jedinců, kteří jsou v příbuzenském vztahu. Při tomto páření dochází k nárůstu homozygotnosti genotypu potomka. Inbreeding může být provázen inbrední depresí, která se projevuje zhoršováním fitness, neboť může docházet k iniciaci letálních alel, které se nacházejí v částech genotypu jedince v homozygotním stavu, tyto recesivní letální alely jedinec může zdědit od svých předků, kteří jsou příbuzensky spřízněni. Šlechtitelské programy využívají příbuzenskou plemenitbu k upevnění znaků a vlastností plemene. V chovu skotu se tato inbrední deprese může projevovat genetickými abnormalitami a zhoršováním parametrů fitness. Tím dochází ke zhoršení ekonomiky chovu skotu. Inbrední koeficient v populaci skotu neustále roste, neboť inseminace insemináčnými dávkami elitních býků byla používána ve velkém rozsahu. Cílem šlechtitelských programů je snižování tohoto trendu. Řešením tohoto problému může být liniová plemenitba a osvěžení krve. Základem pro zjištění míry příbuzenské plemenitby je výpočet koeficientu inbreedingu jedince a koeficientu příbuznosti rodičovského páru. Ke správnému výpočtu je zapotřebí znalost kompletního rodokmenu alespoň do páté generace. U zvířat, která jsou hojně využívána k plemenitbě by měl být proveden genotypový rozbor, kterým se získají informace o vhodnosti utvoření rodičovského páru, aby důsledky inbrední deprese byly co nejmenší a fitness se mohla projevit pozitivně v celém jejím rozsahu. V mnoha výzkumech se porovnával koeficient inbreedingu s projevy fitness. Je zřejmé, že zvýšením koeficientu inbreedingu dochází ke zhoršováním parametrů pro fitness a to tak, že při  $F_x$  nižším než 12,5 % projevy inbrední deprese mají nižší rozsah, než u zvířat, která mají  $F_x$  větší než 12,5 %. U zvířat s  $F_x$  vyšším než 25 % jsou projevy inbrední deprese ve značném rozsahu a může také jejím vlivem docházet k neplodnosti jedince.

## 5 Seznam literatury

### A. Bibliografické záznamy tradičních dokumentů

#### Tištěná monografická publikace (kniha)

Jakubec, V., Louda, F., Bezdíček, J. 2012. Šlechtění a management genetických zdrojů zvířat. Agrovýzkum Rapotín. p. 410 stran. ISBN 978-80-87592-10-6

Jakubec, V., Bezdíček, J., Louda, F. 2010. Selekcce – inbríding – hybridizace. Agrovýzkum Rapotín. Rapotín. p. 382. ISBN: 978-80-87144-22-0

#### Samostatné příspěvky do tištěných monografických publikací

- <sup>1</sup> BEZDÍČEK, J. et al. Effect of inbreeding on yield and quality of embryos recovered from superovulated Holstein cows. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 38, n. 6, p. 681-685, 2014. ISSN 1300-0128.
- <sup>2</sup> BEZDÍČEK, J. et al. The effects of inbreeding on service period and pregnancy length in Holsteins and Czech Fleckviehs after the first calving. **Arch Tierz**, v. 50, p. 455-463, 2007.
- <sup>3</sup> CAROLINO, N.; GAMA, L. Inbreeding depression on beef cattle traits: Estimates, linearity of effects and heterogeneity among sire-families. **Genetics Selection Evolution**, v. 40, n. 5, p. 511-528, 2008. ISSN 0999-193X.
- <sup>4</sup> CASSELL, B. G.; ADAMEC, V.; PEARSON, R. E. Effect of incomplete pedigrees on estimates of inbreeding and inbreeding depression for days to first service and summit milk yield in Holsteins and Jerseys. **Journal of dairy science**, v. 86, n. 9, p. 2967-2976, 2003. ISSN 0022-0302.
- <sup>5</sup> CHARLESWORTH, D.; CHARLESWORTH, B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Annual review of ecology and systematics**, p. 237-268, 1987. ISSN 0066-4162.
- <sup>6</sup> CHARLESWORTH, D.; WILLIS, J. H. The genetics of inbreeding depression. **Nature Reviews Genetics**, v. 10, n. 11, p. 783-796, 2009. ISSN 1471-0056.
- <sup>7</sup> CHIKHI, L. et al. Population genetic structure of and inbreeding in an insular cattle breed, the Jersey, and its implications for genetic resource management. **Heredity**, v. 92, n. 5, p. 396-401, 2004. ISSN 0018-067X.
- <sup>8</sup> ENGELSMA, K. A. et al. Pedigree- and marker-based methods in the estimation of genetic diversity in small groups of Holstein cattle. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 129, n. 3, p. 195-205, Jun 2012. ISSN 0931-2668.

- <sup>9</sup> FERENCAKOVIC, M. et al. Estimates of autozygosity derived from runs of homozygosity: empirical evidence from selected cattle populations. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 130, n. 4, p. 286-293, Aug 2013. ISSN 0931-2668.
- <sup>10</sup> FRITZ, S. et al. Detection of Haplotypes Associated with Prenatal Death in Dairy Cattle and Identification of Deleterious Mutations in GART, SHBG and SLC37A2. **Plos One**, v. 8, n. 6, Jun 2013. ISSN 1932-6203.
- <sup>11</sup> GONZÁLEZ-RECIO, O.; DE MATURANA, E. L.; GUTIÉRREZ, J. P. Inbreeding depression on female fertility and calving ease in Spanish dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 12, p. 5744-5752, 2007. ISSN 0022-0302.
- <sup>12</sup> KRISTENSEN, T. N.; SØRENSEN, A. C. Inbreeding—lessons from animal breeding, evolutionary biology and conservation genetics. **Animal Science**, v. 80, n. 02, p. 121-133, 2005. ISSN 1748-748X.
- <sup>13</sup> LYNCH, M. The genetic interpretation of inbreeding depression and outbreeding depression. **Evolution**, p. 622-629, 1991. ISSN 0014-3820.
- <sup>14</sup> MALHADO, C. H. M. et al. Inbreeding depression on production and reproduction traits of buffaloes from Brazil. **Animal Science Journal**, v. 84, n. 4, p. 289-295, 2013. ISSN 1344-3941.
- <sup>15</sup> MC PARLAND, S. et al. Inbreeding effects on postweaning production traits, conformation, and calving performance in Irish beef cattle. **Journal of animal science**, v. 86, n. 12, p. 3338-3347, 2008. ISSN 1525-3163.
- <sup>16</sup> Inbreeding effects on milk production, calving performance, fertility, and conformation in Irish Holstein-Friesians. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 9, p. 4411-4419, 2007. ISSN 0022-0302.
- <sup>17</sup> NORTH CUTT, S. L.; BUCHANAN, D. S.; CLUTTER, A. C. **Inbreeding in Cattle**. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University, 2004.
- <sup>18</sup> PRYCE, J. E.; DAETWYLER, H. D. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review of international research. **Animal Production Science**, v. 52, n. 2-3, p. 107-114, 2012. ISSN 1836-0939.
- <sup>19</sup> PURFIELD, D. C. et al. Runs of homozygosity and population history in cattle. **Bmc Genetics**, v. 13, Aug 2012. ISSN 1471-2156.
- <sup>20</sup> SANTANA, M. L. et al. Effect of inbreeding on growth and reproductive traits of Nelore cattle in Brazil. **Livestock Science**, v. 131, n. 2, p. 212-217, 2010. ISSN 1871-1413.
- <sup>21</sup> SCRAGGS, E. et al. Estimation of inbreeding and effective population size of full-blood wagyu cattle registered with the American Wagyu Cattle Association. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 131, n. 1, p. 3-10, 2014. ISSN 1439-0388.

- <sup>22</sup> SEWALEM, A. et al. Analysis of inbreeding and its relationship with functional longevity in Canadian dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 6, p. 2210-2216, 2006. ISSN 0022-0302.
- <sup>23</sup> SMITH, L. A.; CASSELL, B. G.; PEARSON, R. E. The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 10, p. 2729-2737, Oct 1998. ISSN 0022-0302.
- <sup>24</sup> WRIGHT, S. Coefficients of inbreeding and relationship. **American Naturalist**, p. 330-338, 1922. ISSN 0003-0147.
- <sup>25</sup> YOUNG, C. W.; SEYKORA, A. J. Estimates of inbreeding and relationship among registered Holstein females in the United States. **Journal of dairy science**, v. 79, n. 3, p. 502-505, 1996. ISSN 0022-0302.

## **B. Bibliografické záznamy elektronických dokumentů**

### **Elektronické monografie, www stránky, databáze a počítačové programy:**

Bártlová, E. PCR (Polymerázová řetězová reakce). Brno. Fakulta veterinární hygieny a ekologie. 2011. [cit. 2015-04-06]

Dostupné z < [http://mmp.vfu.cz/opvk2011/?title=popis\\_metod-pcr&lang=cz](http://mmp.vfu.cz/opvk2011/?title=popis_metod-pcr&lang=cz) >

Genomia s.r.o. BLAD – syndrom deficience adhezní schopnosti leukocytů. Plzeň. 2015. [cit. 2015-04-06] Dostupné z < <http://www.genomia.cz/cz/test/blad-bovine-leukocyte-adh/> >

Genomia s.r.o. CVM – komplex vertebrálních malformací. Plzeň. 2015. [cit. 2015-04-06] Dostupné z < <http://www.genomia.cz/cz/test/cvm/> >

Ježková, A. Využití genomiku v chovu dojnic. *Náš chov*. 6. 5. 2011. [cit. 2015-04-06] Dostupné z < <http://naschov.cz/vyuzit-genomiku-v-chovu-dojnic/> >