

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra genetiky, šlechtění a výživy

Vedoucí katedry: prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
Genetické markery v hodnocení diverzity

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

Autor: Ludmila Pitrová

České Budějovice, listopad 2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ludmila PITROVÁ**
Osobní číslo: **Z11002**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Název tématu: **Genetické markery v hodnocení diverzity**
Zadávací katedra: **Katedra genetiky, šlechtění a výživy**

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

Úkolem bakalářské práce je zpracovat literární rešerši na téma genetické markery a jejich využití v hodnocení genetické diverzity hospodářských zvířat. Důraz bude kladen zejména na molekulárně-genetické markery a očekávaný vývoj v této oblasti ve střednědobém horizontu.

Práce bude členěna do kapitol:

- 1) úvod
- 2) literární rešerše
- 3) závěr

Při zpracování práce budou dodržena obvyklá formální pravidla.

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

Mckay S. D., Schnabel R. D., Murdoch B. M., Matukumalli L. K., Aerts J., Coppieters W., Crews D., Dias N. E., Gill C. A., Gao C., Mannen H., Wang Z., Van Tassell C. P., Williams J. L., Taylor J. F., Moore S. S. (2008): An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel. BMC GENETICS, 9, Article Number: 37.
Tokarska M., Marshall T., Kowalczyk R., Wojcik J. M., Pertoldi C., Kristensen T. N., Loeschcke V., Gregersen V. R., Bendixen C. (2009): Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison. HEREDITY, 103: 326-332.
Wiener P., Edriss M. A., Williams J. L., Waddington D., Law A., Woolliams J. A., Gutierrez-Gil B. (2011): Information content in genome-wide scans: concordance between patterns of genetic differentiation and linkage mapping associations. BMC GENOMICS, 12, Article Number: 65.

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

Datum zadání bakalářské práce: 29. března 2012
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2013



Ing. Karel Suchý, Ph.D.

proděkan pověřený vedením ZF

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice



prof. Ing. Jindřich Čítek, CSc.

vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 29. března 2012

PROHLÁŠENÍ

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

Dne... 29/11 2013

Podpis studenta... *M. Lomá*

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych vyjádřila své poděkování vedoucímu mé bakalářské práce prof. Ing. Jindřichovi Čítkovi, CSc. za odbornou pomoc a cenné rady, které mi při psaní mé bakalářské práce trpělivě poskytoval.

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo shrnutí informací o biodiverzitě a genetické variabilitě a o faktorech, které tuto variabilitu ovlivňují.

Podrobněji jsou potom popsány genetické zdroje hospodářských zvířat, genetické zdroje koní, zejména pak starokladrubského koně, jakožto české kulturní památky.

Toto plemeno je názorný živoucí příklad toho, jak lze využít genetickou informaci pro šlechtění a pro zachování druhu.

Klíčová slova: diverzita, genetický marker, genetický zdroj, národní program, starokladrubský kůň

ABSTRACT

A major purpose of this study was to summarize the information on the biodiversity and genetic variability on the earth and about factors affecting the diversity. There are more details about genetic origins of farm animals with focus on horse, namely Old Kladruber horses as a Czech cultural monument.

This breed is illustrative living example how to use genetic information for breeding and for conservation of the species.

Keywords: diversity, genetic marker, genetic origin, national program, Old Kladruber horse

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	9
	2.1 Biodiverzita a genetická variabilita.....	9
	2.1.1 Definice biodiverzity.....	9
	2.1.2 Vývoj a měření druhové rozmanitosti.....	11
	2.1.3 Faktory ovlivňující diverzitu.....	12
	2.1.4 Genetická variabilita, charakteristika a její význam.....	12
	2.1.5 Genetická diverzita u hospodářských zvířat.....	13
	2.2 Využití molekulární genetiky v hodnocení genetické variability.....	14
	2.2.1 Heterozygotnost, genetický polymorfismus.....	14
	2.2.2 Genetické markery, jejich charakteristika a rozdělení.....	15
	2.2.3 Markery a jejich využití v selekci.....	16
	2.2.4 Mikrosatelity, mikrosatelitní analýza v genetických studiích u koní..	17
	2.2.5 Mitochondrie, mitochondriální analýza v genetických studiích u koní..	17
	2.3 Genetické zdroje hospodářských zvířat.....	20
	2.4 Genetické zdroje koní.....	20
	2.4.1 Genetická variabilita a domestikace koní.....	20
	2.4.2 Plemena koní v České republice.....	23
	2.4.3 Genetická struktura různých plemen koní v Česká republice.....	24

2.4.4	Národní program ochrany, konzervace a využívání genetických zdrojů (NP GZ).....	26
2.4.5	Genetická variabilita plemen koní NP GZ.....	26
2.4.6	Metodický přístup stanovování a výpočtu původních genů v populacích koní zařazených do genetických zdrojů hospodářských zvířat (GZ HZ).....	30
2.5	Starokladrubský kůň (STKL).....	31
2.5.1	Starokladrubský kůň – charakteristika plemene	31
2.5.2	Stanovování a výpočet původních genů v populacích STKL zařazených do GZ HZ.....	32
2.5.3	Rozsah chovu a struktura populace starokladrubského koně.....	37
2.5.4	Starokladrubský kůň - Národní kulturní památka.....	39
3	ZÁVĚR.....	40
4	Seznam použité literatury.....	41
	Seznam tabulek, grafů a obrázků.....	45

1 ÚVOD

Život na planetě Zemi je fascinující.

K tomu, abychom byli schopni rozluštit pochody evoluce, nám napomáhá znalost genetiky.

Termín biodiverzita nebo též biologická diverzita se vztahuje k rozmanitosti životních forem, výsledků evoluce, vyskytujících se v přírodě.

Nedílnou součástí biodiverzity jsou také hospodářská zvířata, která se stále častěji stávají předmětem ochrany. Důvodem k ochraně málopočetných plemen je např. zachování rezervoáru těch genů a alel, které byly u vysoce produktivních plemen eliminovány. Pro zajištění přežití těchto plemen je nutné udržet jejich vysokou genetickou variabilitu.

Míra polymorfismu těchto plemen, hlavně pokud jsou vystavena inbreedingu, je důležitou charakteristikou genetické analýzy nutné pro stanovení chovatelských postupů a slouží jako základ pro vytvoření strategií na zachování variability.

Polymorfní molekulární markery jsou též velmi užitečné pro odhad příbuznosti mezi jednotlivci a pro zjištění jejich původu. DNA markery našly také široké uplatnění v ověřování rodičovství, individuální identifikaci a kontrole genetických poruch. Genetický marker, jako gen nebo úsek na chromozomu, se používá jako orientační bod v mapování nových mutací.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Biodiverzita a genetická variabilita

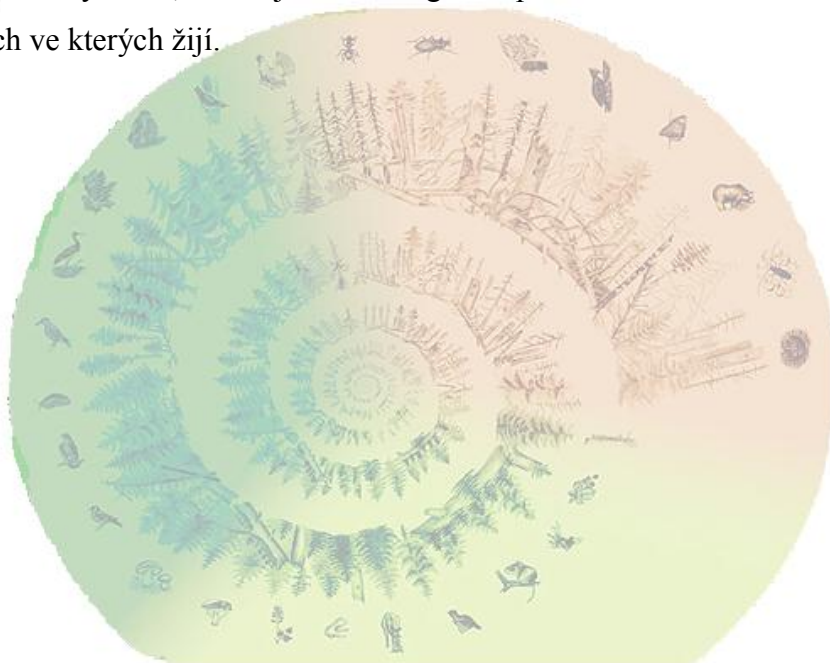
2.1.1 Definice biodiverzity

Úmluva o biodiverzitě (1992, Rio de Janeiro) definuje biodiverzitu následovně:

Biodiverzita (biologická rozmanitost) znamená variabilitu všech žijících organismů včetně suchozemských, mořských a jiných vodních ekosystémů a ekologických komplexů, jejichž jsou součástí; zahrnuje diverzitu v rámci druhů, mezi druhy i diverzitu ekosystémů.

Jak uvádí Wilson (1992), termín biodiverzita nebo též biologická diverzita se vztahuje k rozmanitosti životních forem, výsledků evoluce, vyskytujících se v přírodě.

Pojem vyjadřuje rozmanitost života ve všech jeho formách, na všech úrovních, od genetických variant příslušejících ke stejnému druhu po řady rozdílných druhů, i rozmanitost ekosystémů, zahrnujících ekologická společenství v dané lokalitě a podmínkách ve kterých žijí.



Odhady počtu druhů jsou impozantní, ale jenom na 10^6 druhů je popsáno, jak zobrazuje tabulka 1.

Tabulka 1 Rozmanitost života podle nového odhadu (Mora, 2011)

	Odhad celkového počtu druhů	Dosud popsáno druhů
Živočichové	7,77 milionu	953 434
Rostliny	298 tisíc	215 644
Houby	611 tisíc	43 271
Prvoci	36 400	8118
Řasy	27 500	13 033

Důležitá je zejména genetická diverzita, neboť je základním materiálem pro evoluci a umožňuje organismům přizpůsobovat se prostředí a měnit se. Je založena na variabilitě genů tj. funkčních jednotek dědičnosti v organismech (Wilson, 1992).

Podle Tewse a kol. (2004) obecně platí, že druhová diverzita skupiny zvířete je spojena se strukturálními charakteristikami a v určitém měřítku odráží důležité požadavky na stanoviště, jak únik z predace, potravní potřeby nebo reprodukční požadavky.

Přítomnost nebo kvalita této specifické struktury pak může stanovit druhovou rozmanitost příslušné skupiny.

2.1.2 Vývoj a měření druhové rozmanitosti

Whittaker (1972) uvádí, že nejnižší prostorovou úrovní diverzity je alfa – diverzita. Jedná se o druhovou diverzitu v rámci jednoho společenstva či stanoviště.

Kromě prostého počtu druhů ve společenstvu může být vyjádřena některým z indexů diverzity, např.:

Simpsonův index diverzity vychází z pravděpodobnosti, s jakou budou dva náhodně nalezení jedinci ve společenstvu náležet k odlišným druhům.

Shannon - Weaverův index pro hodnocení „uspořádanosti“ společenstva se uplatňuje z teorie informace vycházející míra entropie, kterou do ekologie zavedli Mac Artur a Margalef (http://www.enviwiki.cz/wiki/Diverzita_spole%C4%8Denstev#cite_note-piv-3).

Beta – diverzita popisuje strukturní komplexitu prostředí, je mírou rozdílnosti (či naopak podobnosti) druhového složení mezi společenstvy podél určitého gradientu prostředí nebo zeměpisné šířky, či mezi společenstvem a jeho okolím. Je tím vyšší, čím méně společných druhů společenstva obsahují.

Nejjednodušeji ji lze vyjádřit jako poměr druhové diverzity všech společenstev (celkového počtu druhů) k průměru jednotlivých diverzit.

Jaccardův index je nejstarším indexem vyjadřujícím podobnost druhového složení dvou společenstev. Jednoduše porovnává počet druhů v jednotlivých společenstvech (A,B) s počtem druhů společných oběma společenstvům.

Nejvyšší úrovní je regionální, popř. nadregionální druhová diverzita, neboli gama – diverzita. Podle Whittakera (1972) je celkovou diverzitou dané oblasti a je definována součinem beta - diversity a průměrné alfa – diverzity. V jiném pojetí je obdobou beta – diverzity ve větším měřítku, porovnávající rozdíly mezi druhovým složením společenstev v různých regionech.

2.1.3 Faktory ovlivňující diverzitu

Druhové složení a struktura společenstva jsou výsledkem působení různých ekologických faktorů a jejich vzájemných kombinací. Na všech úrovních má pro diverzitu společenstev velký význam heterogenita prostředí – zdrojů, pokryvu, krajinné matrice na regionální úrovni atd. Diverzita společenstev živočichů koreluje těsněji se strukturální diverzitou vegetace než s její diverzitou druhovou (Begon a kol., 1997).

Závislost druhového bohatství na ploše ekosystému a jeho izolovanosti popisuje tzv. teorie ostrovní biogeografie, i terestrický ekosystém lze chápat jako ostrov v krajinné matrici. Druhové bohatství obvykle klesá s rostoucí vzdáleností ekosystému a naopak vzrůstá s jeho rozlohou (Kovář, 1952).

2.1.4 Genetická variabilita, charakteristika a její význam

Genetická diverzita vyjadřuje rozmanitost genů v rámci populací a druhů. Zahrnuje odlišné populace v rámci jednoho druhu a rozdílné jedince v rámci určité populace. Genetická variabilita představuje nezbytný předpoklad pro udržení evolučních procesů v rámci druhů tím, že umožňuje přizpůsobení druhu měnícím se podmínkám prostředí (Plesník, 2005).

Genetická diverzita je jedním z faktorů, který přispívá k charakteru a zdraví ekosystémů. Význam genetické rozmanitosti vůči jiným faktorům (např. demografii, reprodukci a pravděpodobnému dění, jako jsou poruchy) se liší podle taxonu, umístění, ročního období a tak dále. Vzhledem k tomu, že každý druh má svou jedinečnou životní historii a jedinečné ekologické vztahy, jsou i výsledné genetické

složení a význam genů životaschopnosti a udržitelnosti jedinečné (Rogers a kol., 1996).

Genetická variabilita existuje jak mezi živočišnými druhy, tak i uvnitř jednoho druhu.

Zima a kol. (2004) popisuje projev vnitrodruhové proměnlivosti buď rozdíly mezi jednotlivými populacemi (polytypie) nebo rozdíly mezi jedinci uvnitř jediné populace (polymorfismus).

Existence vnitropopulačního polymorfismu má značný význam jak z hlediska ekologických procesů, tak z hlediska procesů mikroevolučních a makroevolučních. Z hlediska ekologie je důležité, že polymorfní populace dokáže využívat různorodější zdroje a díky tomu efektivněji využívá své prostředí. Polymorfní druh je i méně zranitelný náhodnými změnami podmínek prostředí, neboť i během větších změn může alespoň část populace přežít. Polymorfismus zároveň mění i evoluční potenciál populace a druhu, tj. schopnost populace a druhu odpovídat na krátkodobé selekční tlaky prostředí. Přítomnost polymorfismu zvyšuje schopnost populace reagovat na krátkodobé tlaky prostředí, protože selekcí poskytuje genetický materiál, ze kterého může vybírat vhodné varianty, lépe odpovídající změněným podmínkám prostředí. Selektce tak nemusí čekat na vznik nových mutací a může využívat již přítomnou variabilitu (Flegr, 2005).

2.1.5 Genetická diverzita u hospodářských zvířat

Domestikace zvířat je základním krokem v lidském demografickém a kulturním rozvoji. Společně s domestikací rostlin položila základy zemědělství, jakého známe dnes. Během následující historie hospodářských zvířat vytvořily faktory jako např. mutace, šlechtění, přizpůsobení, izolace a genetický posun, obrovskou rozmanitost místních populací. V posledních stoletích vyvrcholil vznik mnoha dobře

definovaných plemen používaných pro různé účely s různými úrovněmi výkonu. Během posledních desetiletích vývoj a zvýšené zaměření na efektivnější výběrové programy zrychlil genetické zlepšení v řadě plemen. Umělé oplodnění a přenos embryí usnadnily šíření genetického materiálu (Groeneveld a kol., 2010).

2.2 Využití molekulární genetiky v hodnocení genetické variability

2.2.1 Heterozygotnost a genetický polymorfismus

Heterozygot je jedinec, který má dvě různé alely pro jednu konkrétní vlastnost na obou homologních chromozomech (jednu alelu dominantní A a jednu recesivní a , nebo různé kodominantní alely (Dvořák, Vrtková, 2001).

Obrázek č. 2: <http://www.colway.cz/clanky/transdermalnost-kolagenu.html>

Polymorfismus je chápán jako výskyt více než dvou alternativních alelických variant určitého genu v populaci. Pokud v genu není detekována ani klasická alternativní podvojná forma genu - dialelismus, jedná se o gen monomorfní. Pokud v genu alternují dvě alely, označuje se takový případ jako jednoduchý alelismus. Jestliže má gen více forem tvořících tzv. alelickou sérii, jde o mnohotný alelismus. Mnohotný (mnohočetný) alelismus je základem genetického polymorfizmu. Polymorfismus můžeme pozorovat na úrovni DNA, proteinů a jednodušeji dědičných znaků (Hruban, Majzlík, 2000).

Polymorfismus zároveň mění i evoluční potenciál populace a druhu, tj. schopnost populace a druhu odpovídat na krátkodobé selekční tlaky prostředí. Přítomnost

polymorfismu zvyšuje schopnost populace reagovat na krátkodobé tlaky prostředí, protože poskytuje selekci genetický materiál, ze kterého může vybírat vhodné varianty, lépe odpovídající změněným podmínkám prostředí. Selektce tak nemusí čekat na vznik nových mutací a může využívat již přítomnou variabilitu (Flegr, 2005).

2.2.2 Genetické markery, jejich charakteristika a rozdělení

Genetický marker je vysoce polymorfní znak, který vykazuje mendelistickou kodominantní dědičnost, je snadno a jednoznačně detekovatelný. Molekulárně-genetické markery mají tyto výhody oproti klasickým: jsou početné a relativně snadno identifikovatelné, jsou vysoce informativní, mohou být stanoveny z malého množství tkáně v libovolném věku jedince (včetně embryí nebo po smrti jedince) a DNA může být dlouhodobě archivována a lze se tak k analýze opakovaně vracet (Knoll, Vykoukalová, 2002).

Rosypal (2001) charakterizuje genetický marker jako gen nebo úsek na chromozomu, jehož umístění na chromozomu je známé a používá se jako orientační bod v mapování nových mutací. Autoři Knoll a Vykoukalová (2002) uvádějí následující rozdělení markerů na tři typy:

I. typ - jsou kódující exprimované geny. Mají nízkou hladinu polymorfismu, jsou málo používané pro studie diverzity rodin a populací, významně se používají v komparativním – srovnávacím mapování.

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

III. typ – jednonukleotidové polymorfizmy (SNP – Single Nucleotide Polymorphism, bodové mutace), které mohou ležet uvnitř kódujících genů, častěji však v nekódujících intronech nebo intergenových oblastech. Jsou využitelné pro populační a rodinné studie. Jejich význam stoupá s rozvojem automatických metod skríníngu (microarrays).

2.2.3 Markery a jejich využití v selekci

Rozvoj molekulárně biologických technik vytvořil nové možnosti pro výběr a genetické šlechtění hospodářských zvířat. Objev polymerázové řetězové reakce (PCR) měl velký vliv na výzkum eukaryotických genomů a přispěl k rozvoji a využívání různých DNA markerů. DNA markery již našly široké uplatnění v ověření rodičovství, individuální identifikaci a kontrole genetických poruch. Konečným použitím DNA markerů by bylo určit kvantitativní zvláštnost loci (QTL) za účelem genotypového výběru (Van Marle-Koster, 2003).

PCR lze považovat za základní molekulárně-genetickou metodu rychlého a snadného zmnožení úseku DNA založenou na principu replikace nukleových kyselin. Slouží k získání dostatečného množství specifické DNA pro další analýzy a může v některých svých modifikacích sloužit i přímo k identifikaci polymorfismů (Knoll, Vykoukalová, 2002).

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

SanCristobal a kol. (2006) uvádí, že použití genetických markerů k hodnocení genetické diverzity je velice důležité jako součást managementu genových zdrojů.

2.2.4 Mikrosatelity, mikrosatelitní analýza v genetických studiích u koní

Mikrosatelity - STRs (Short Tandem Repeats), SSR (Simple Sequence Repeats), VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats), genetické markery II. typu - viz výše, jsou úseky DNA, které jsou složeny z krátkých opakujících se jednotek o délce 1 až 10 párů bází (pb).

Podle délky se mikrosatelity dělí na dinukleotidové (CACA) – v genomu 30-60%, trinukleotidové (ATGATG), nebo tetranukleotidové (CATGCATG) atd.

Mikrosatelity se nacházejí v celém genomu eukaryotických i prokaryotických organismů (Tóth a kol., 2000).

Mikrosatelity se využívají jako vysoce informativní genetické markery při analýzách populací, které umožňují detekci případů porušení genetické rovnováhy v důsledku selekce, migrace, náhodného genetického driftu, stejně jako stanovení stupně inbreedingu. Variability mikrosatelitů se využívá ke stanovení genetické diverzity tj. zjištění heterozygotnosti, genové diverzity, průměrného počtu alel na lokus, či genetické rozdílnosti (Dovc a kol., 2006).

2.2.5. Mitochondrie, mitochondriální analýza v genetických studiích u koní

Mitochondrie jsou orgány, jež se nacházejí mimo jádro v cytoplazmě buňky. Mitochondriální DNA (mtDNA, chondriom) je označení pro cirkulární DNA, která se nachází v mitochondriích a tvoří tak součást mimojaderné genetické informace. Mitochondriální DNA je zajímavá pro svou velkou variabilitu a malou míru mutace.

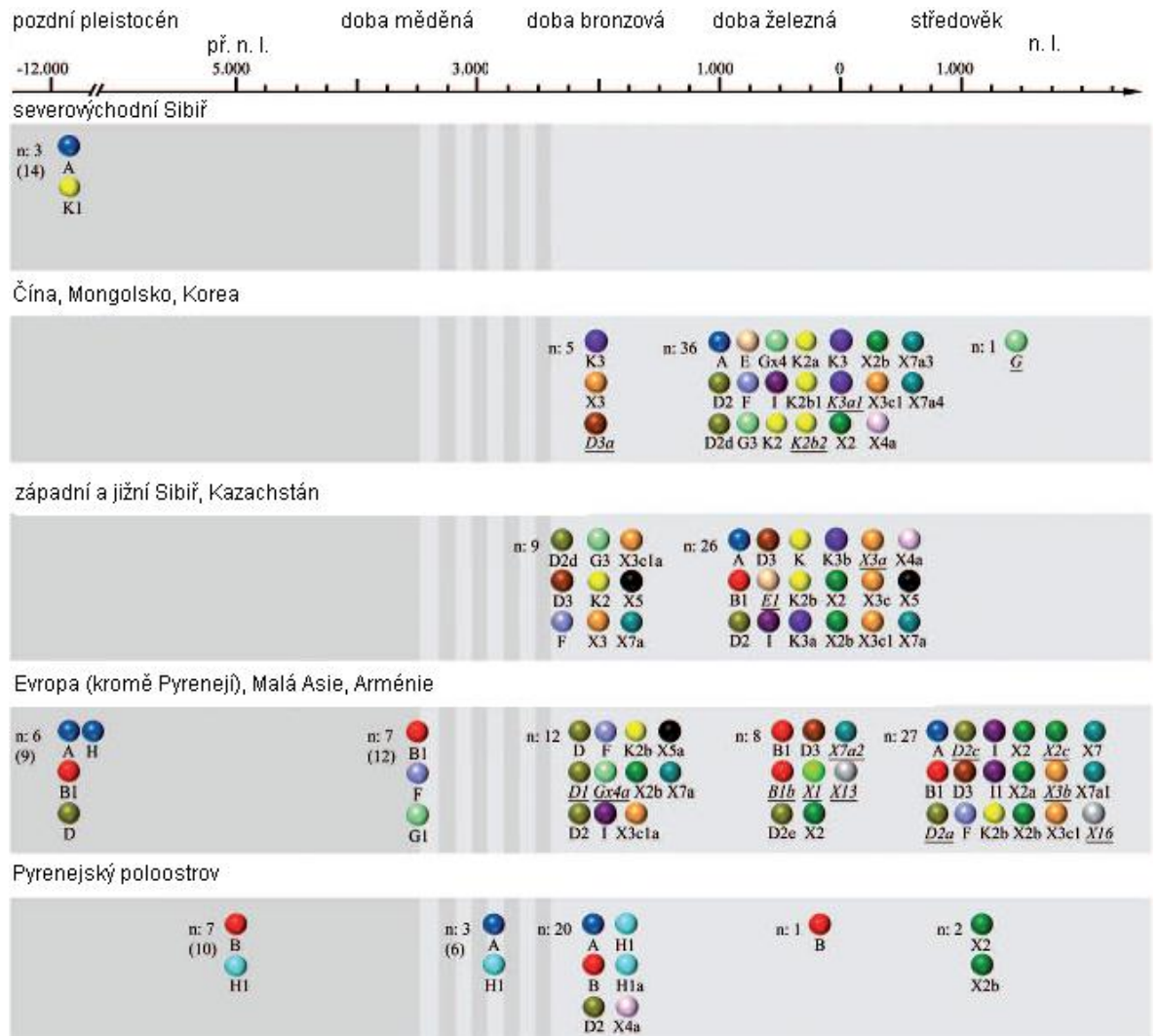
Polymorfismus mtDNA umožňuje ověřovat příslušnost zvířat k daným rodinám, stanovovat genetické distance a odhadovat variabilitu mtDNA zakladatelek rodin (Dovc a kol., 2006).

Mitochondriální analýza je také využívána k objasnění otázky domestikace koní.

Ve studii Cieslaka a kol. (2010) bylo analyzováno 1961 mitochondriálních sekvencí, z toho bylo 1754 sekvencí moderních koní a zbývajících 207 sekvencí z archeologických nálezů. Vzorke pokrývaly široké rozmezí od Aljašky a severovýchodní Sibíře po Pyrenejský poloostrov a od pozdního pleistocénu po moderní dobu. Bylo nalezeno 87 starověkých haplotypů (od pleistocénu do středověku). 56 z těchto haplotypů bylo pozorováno i u domácího koně, i když zatím jen u 39 haplotypů byla potvrzena jejich přítomnost v moderních plemenech. Ačkoliv všechny euroasijské oblasti přispěly ke genetickému základu moderních plemen, většina haplotypů měla své kořeny ve východní Evropě a na Sibíři – graf č. 1.

Cieslak a kol. (2010) v závěru své práce diskutuje variabilitu mtDNA: velká rozmanitost mitochondriálních haplotypů není produktem šlechtění zvířat, ale ve skutečnosti představuje variabilitu předků.

Graf č. 1 Původ mitochondriálních linií moderních plemen koní (Cieslak a kol., 2010)



Uvedeny jsou pouze mitochondriální linie, které byly/jsou přítomny u domácích koní.

Haplotypy (v kurzívě/podtržené) byly dosud zjištěny jen v pozůstatcích časně domestikovaných koní.

Pruhovaná zóna označuje předpokládané období domestikace koně

2.3 Genetické zdroje hospodářských zvířat

Jak popisuje Plesník (2004), pod pojmem genetické zdroje chápeme genetický materiál skutečné nebo potenciální hodnoty, a to včetně produktů soudobých biotechnologických metod.

Genetické zdroje jsou součástí biologických zdrojů.

Dále píše, že genetickou diverzitu hospodářských zvířat ovlivňuje poměr mezi nabídkou a poptávkou, přírodní podmínky a možnost získat na chov některých plemen dotace ze státního rozpočtu.

2.4 Genetické zdroje koní

2.4.1 Genetická variabilita a domestikace koní

Podle Groenevelde a kol. (2010) bylo celkem více než 100 odlišných equinních mtDNA haplotypů popsáno v několika studiích se zaměřením na domestikaci koní obecně, nebo na původ specifických plemen. V souboru dat, jenž zahrnuje současná plemena koní, stejně jako divoké koně žijící před 12000 - 28000 lety, byla zjištěna nečekaně vysoká genetická odlišnost. Analýzy DNA koní z čínských hrobek z 3. století př. n. l. a z doby bronzové ukázaly, že vysoká mtDNA diverzita je prastarého původu. Je zřejmé, že divergence koní mitochondriální DNA předcházela domestikaci v široké oblasti euroasijské stepi.

To znamená, že využívání volně žijících klisen se konalo samostatně na více místech v širokém časovém rozpětí.

Autoři dále zpochybňují názor, že proces domestikace v oblastech s horším přístupem byl omezený. Scénář domestikace koně byl nedávno objasněn složitou analýzou matrilineí populací z Lusitánie a Sorie, což staví Pyrenejský poloostrov do role glaciálního refugia a případně druhého centra domestikace koně. Je zajímavé, že analýza fosilních pozůstatků ukázala, že domestikace koně z r. 5000 př. n. l. byla následována šířením mutací, což se projevilo v široké škále barev srsti.

ANOVA analýza 72 populací z Evropy, jihozápadní Asie, východní Asie a Afriky odhalila nenáhodné rozdělení rozmanitosti mezi populacemi a jasné zeměpisné rozdělení variability mtDNA. V několika případech mtDNA předložila důkazy pro původ konkrétních plemen koní (Groeneveld a kol., 2010).

Celkem bylo v archeologických nálezech (od pleistocénu do středověku) objeveno 87 haplotypů. 32% (tj. 9 z 28 haplotypů) z pra linií (pleistocén až doba měděná) přežilo v genofondu domácích koní do teď.

Hlavní výsledek této studie je, že obrovská rozmanitost mtDNA koní není důsledkem šlechtění zvířat, ale byla již přítomna v populaci divokých koní.

Jak píše Groeneveld (2010) několik studií srovnává plemena koní, nebo posuzuje genetickou strukturu jednotlivých plemen na základě mikrosatelitů. Většina z těchto studií je zaměřena na místní plemena a používají své vlastní úsekové markery, což znamená, že data z různých studií nelze přímo srovnávat. Tedy pro mnoho plemen jsou údaje o genetické rozmanitosti stále neúplné.

Například se našly důkazy pro mongolský původ u japonských plemen. Důkazy pro vztah mezi mongolskými a norskými plemeny se základy 26 mikrosatelitů, byly opět pouze neúplné, ale byly v souladu s morfologickým vzhledem severských plemen (Groeneveld a kol., 2010).

Kůň spolu se psem se od ostatních domestikovaných zvířat liší zásadním významem, a to tím, že hlavní důvod jeho chovu není zdroj jídla.

Domestikace koně v žádném případě nevedla k příslušným změnám v tělesné velikosti, jak tomu bylo v případě zbývajících ochočených zvířat. Toto byl důvod, že analytici fauny před několika lety uvítali zavedení molekulárních analýz. Vzhledem k vysokému počtu kopií mtDNA v buňkách, jejich poměrně rychlé molekulární evoluce a jejich přísné mateřské dědičnosti, se v průběhu posledních dvou desetiletí mtDNA stala cenným nástrojem pro fylogenetické a fylogeografické studie s použitím analýz DNA (Cieslak a kol., 2010).

Cieslak a kol. (2010) dále uvádí, že vzhledem k údajům z doby bronzové se zdá, že se domácí koně začali šířit brzy po své první domestikaci. Podle těchto údajů byla jízda na koni pravděpodobně katalyzátorem pro takové rychlé šíření, počínaje bezprecedentním procesem toku genů před 5500 lety. Po 5500 letech chovu koní je svět naplněn 58 miliony domácích koní. Údaje poskytují důkazy pro druhou vlnu domestikace během doby železné, 22 haplotypy byly objeveny v genofondu domácích koní v tomto období.

Přesný počet plemen není možné určit, ale pohybuje se v rozmezí od 600 do 1000 plemen. Některá z nich jsou primitivní plemena známá již od starověku (např. Achal-Teke, Arab, Barb), jiná byla založena před několika desítkami let (např. Lewitzer, Nederlands Mini Paarden, Pony of the Americas, Rocky Mountain Horse). Nicméně, mnoho z tzv. "moderních plemen" má své kořeny v době na konci osmnáctého století nebo později. Ačkoli inbreeding je někdy používán v chovu zvířat pro zlepšení chovu, tvorba plemene je často otevřený proces. Bylo zjištěno křížení mezi různými plemeny a introgrese divokých koní. Pro tyto důvody se rozmanitost mitochondriálních linií v průběhu času měnila. Důsledek toho je, že plemeno nemusí nutně mít přímou historii a jen zřídka je geneticky izolováno od zbytku zbývajících populace (Cieslak a kol., 2010).

2.4.2 Plemena koní v České republice

V České republice je v současné době kolem 80.000 koní. Seznam plemen s jejich početními stavy ukazuje tabulka č. 2 (Frelich a kol., 2011).

Tabulka č. 2 Plemena koní v ČR a jejich početní stavy

plemeno	počet koní (k 30.6.2010) / ks
český teplokrevník	20.177
koně bez plemenné příslušnosti	18.884
anglický plnokrevník	7.736
českomoravský belgický kůň	2.304
norik	2.145
slovenský teplokrevník	1.733
klusák	1.667
starokladrubský kůň	1.592
hafling	1.469
velšská plemena pony a kob	1.401
hucul	1.325
Quater Horse	1.182
slezský norik	1.081
český sportovní pony	720
Paint Horse	634
Shagya-arab	629
shetlandský pony	590

2.4.3 Genetická struktura různých plemen koní v České republice

Putnová a kol. (2006) hodnotí genetickou variabilitu v rámci některých plemen koní v České republice.

V populacích osmi plemen koní použila 17 lokusů MS (*AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *HTG4*, *HTG10*, *VHL20*, *HTG6*, *HMS2*, *HTG7*, *ASB17*, *ASB23*, *CA425*, *HMS1*, *LEX3*).

Hodnocena byla plemena: český teplokrevník (n = 100), slovenský teplokrevník (n = 100), Quarter Horse (n = 69), Paint Horse (n = 67), shetlandský pony (n = 39), hafling (n = 50), starokladrubský kůň (n = 93), arabský plnokrevník (n = 46).

Genetická vzdálenost mezi plemeny byla analyzována na základě souboru dat pomocí tří metod. Výsledky zobrazuje tabulka č. 3 a graf č. 2.

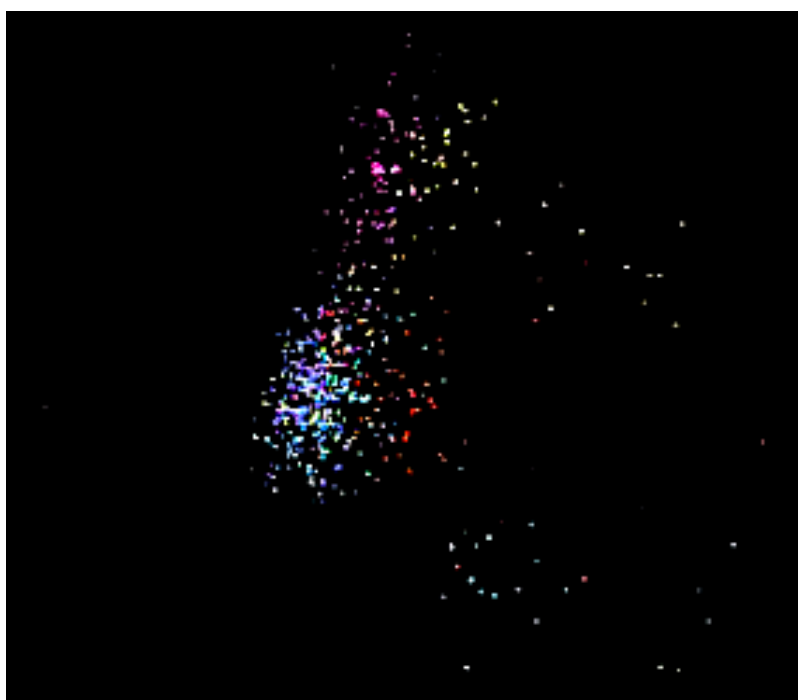
Putnová zjistila, že u párů Shetland pony-starokladrubský kůň, shetlandský pony-haflinger je největší rozdíl mezi všemi ostatními kombinacemi plemen.

Tabulka č. 3 Genetická variabilita (Putnová a kol., 2006)

lokus	hlavní alela frekvence	genotyp č.	velikost vzorku	počet alel	diverzita genů	Hetero- zygotnost	PIC
<i>AHT4</i>	0,2819	37	564	9	0,7874	0,7748	0,7561
<i>AHT5</i>	0,2837	23	564	7	0,7942	0,7394	0,7631
<i>HMS1</i>	0,5035	22	564	8	0,6375	0,6525	0,5801
<i>HMS2</i>	0,2899	36	564	9	0,7908	0,7429	0,7610
<i>HMS3</i>	0,2793	30	564	8	0,8137	0,8511	0,7884
<i>HMS6</i>	0,4291	20	564	7	0,7268	0,6667	0,6889
<i>HMS7</i>	0,2704	29	564	8	0,8113	0,7713	0,7847
<i>HTG4</i>	0,4619	21	564	7	0,6934	0,6436	0,6500

<i>HTG6</i>	0,4220	26	564	8	0,7111	0,6223	0,6652
<i>HTG7</i>	0,5567	13	564	5	0,6121	0,5603	0,5608
<i>HTG10</i>	0,3067	49	564	11	0,8294	0,7979	0,8104
<i>VHL20</i>	0,2270	44	564	9	0,8472	0,8369	0,8292
<i>ASB2</i>	0,2589	50	564	13	0,8341	0,8280	0,8137
<i>ASB17</i>	0,2961	67	564	16	0,8322	0,8050	0,8144
<i>ASB23</i>	0,2456	32	564	12	0,8241	0,7624	0,7999
<i>CA425</i>	0,4424	33	564	10	0,7240	0,6969	0,6890
<i>LEX3</i>	0,2562	44	564	10	0,8358	0,8358	0,8159
průměr	0,3418	33,8824	564	9,235	0,7709	0,7201	0,7395

Graf č. 2 Genetická diverzita mezi některými plemeny koní v České republice (Putnová a kol., 2006)



Arab

Shetlandský pony

Haflinger

Paint Horse

Quarter Horse

Český teplokrevník

Slovenský teplokrevník

Starokladrubský kůň

2.4.4 Národní program ochrany, konzervace a využívání genetických zdrojů (NP GZ)

V září 2003 byl přijat Národní program ochrany, konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství.

Národní program kromě určitých plemen skotu, ovcí, prasat a králíků zahrnuje i následující plemena koní: starokladrubský kůň, huculský kůň, slezský norik, českomoravský belgický kůň.

2.4.5 Genetická variabilita plemen koní NP GZ

Jedním z požadavků pro zařazení hřebců a klisen plemene starokladrubského koně (STKL), českomoravského belgického koně (ČMB), slezského norika (SN) a hucula do genetických zdrojů je stanovení podílů tzv. původních genů v rodokmenech aktuálních zvířat. Původními geny se rozumí geny samčích a samičích jedinců, příslušníků výše uvedených populací, které lze, vzhledem k jejich postavení v rodokmenech aktuálních - žijících jedinců, považovat za zakladatele plemene a kteří zcela zásadně a významně ovlivnili vývoj celého plemene, linií a rodin (Volenec 2004).

Studie Kourkové a kol. (2009) ukazuje rozsah genetické rozmanitosti ve vybraných ohrožených populacích koní v České Republice. Genetická variabilita byla porovnána u čtyř plemen koní - dvou teplokrevných (starokladrubský kůň, hucul) a dvou chladnokrevných (slezský norik, českomoravský belgický kůň).

Analyzovány byly vzorky 583 koní následujících populací - starokladrubský kůň (n = 82), hucul (n = 330), slezský norik (n = 105) a českomoravský belgický kůň (n = 66).

U těchto 583 zvířat byly zjištěny genotypy mikrosatelitů se 17 markery (*AHT4*, *AHT5*, *HMS1*, *HMS2*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *HTG4*, *HTG6*, *HTG7*, *HTG10*, *VHL20*, *ASB2*, *ASB17*, *ASB23*, *CA425* a *LEX3*) doporučených Mezinárodní společností genetiky zvířat.

Na každém lokusu byl zjištěn počet alel v rozmezí od 4 (*HTG7*, *HTG6*, *HMS1*) do 12 (*ASB17*, *LEX3*) s průměrem 7,26 alel (tabulka č. 4).

U starokladrubských koní bylo objeveno celkem 94 alel, u slezského norika 127 alel, u hucula bylo zjištěno celkem 153 alel a u českomoravského belgického koně 117 alel.

Některé alely jsou typické jen pro jedno plemeno - privátní alely. Největší počet těchto typických alel byl pozorován u hucula - 21 alel, které nebyly prokázány u ostatních plemen. Zatímco 4 alely, které se nevyskytovaly u starokladrubského koně, hucula a českomoravského belgického koně, ale jsou specifické pro slezského norika. Alely *HTG10-T* a *ASB17-H* jsou přítomny pouze u starokladrubských koní (tabulka č. 5).

Frekvence alel a směrodatná odchylka byly vypočteny pro každý lokus zvlášť. Alely s největší frekvencí u všech testovaných plemen: *HMS3* – alela *P*, *HTG4* – alela *M*, *HTG6* - alela *O* a *LEX3* - alela *L*.

Nejvyšší heterozygotnost byla pozorována u *VHL20* - více než 0,80 ve všech čtyřech plemen. Podobně vysoká heterozygotnost, nad průměrem, byla zjištěna pro lokus *AHT4*, *AHT5*, *HMS2*, *HTG10*, *ASB2*, *ASB17*, *ASB23* a *CA425*. Nejnižší hodnota byla pozorována pro lokus *HTG7* (0.20) u starokladrubského koně, pro lokus *HTG6* u hucula (0.58), u slezského norika (0.50), u starokladrubského koně (0.47) a u českomoravského belgického koně (0,29), a pro lokus *HMS1* (0.46) u ČMB.

Tabulka č. 4 Konkrétní alely identifikované u čtyřech plemen koní – GZ ČR
(Kourková a kol., 2009)

lokus	STKL		slezský norik		hucul		ČMB	
	NA	tH	NA	tH	NA	tH	NA	tH
<i>AHT4</i>	8	0,72	7	0,80	11	0,85	8	0,80
<i>AHT5</i>	6	0,70	8	0,75	7	0,81	7	0,76
<i>HMS1</i>	6	0,55	7	0,66	7	0,66	4	0,46
<i>HMS2</i>	6	0,67	9	0,73	8	0,80	8	0,72
<i>HMS3</i>	7	0,66	7	0,77	8	0,83	7	0,78
<i>HMS6</i>	6	0,68	6	0,69	6	0,70	5	0,67
<i>HMS7</i>	6	0,77	6	0,81	7	0,63	5	0,73
<i>HTG4</i>	5	0,78	6	0,67	6	0,75	5	0,74
<i>HTG6</i>	6	0,61	4	0,50	7	0,55	4	0,29
<i>HTG7</i>	4	0,24	4	0,71	5	0,63	4	0,70
<i>HTG10</i>	9	0,70	10	0,72	10	0,80	10	0,83
<i>VHL20</i>	7	0,79	9	0,80	10	0,87	8	0,83
<i>ASB2</i>	7	0,79	8	0,77	10	0,78	9	0,66
<i>ASB17</i>	10	0,70	12	0,89	12	0,85	11	0,89
<i>ASB23</i>	6	0,78	6	0,83	10	0,86	7	0,80
<i>CA425</i>	6	0,60	6	0,75	11	0,83	8	0,74
<i>LEX3</i>	5	0,59	12	0,87	9	0,83	9	0,86

Počet alel (NA), teoretická heterozygotnost (tH)

Tabulka č. 5 Alely identifikované u starokladrubského koně, hucula, slezského norika a českomoravského belgického koně (Kourková a kol., 2009)

lokus	starokladrubský kůň	slezský norik	hucul	českomoravský belgický kůň
AHT4	<u>H</u> , J, K, M, N, O, P	H, I, J, K, L, N, O	F, <u>H</u> , I, J, K, L, M, N, O, P, R	H, I, J, K, L, M, <u>Q</u> , P
AHT5	J, K, L, M, <u>N</u> , O	I, <u>J</u> , K, L, M, N, O, P	H , J, K, L, M, N, O	I, J, K, L, M, <u>N</u> , O
HMS1	I, J, L, <u>M</u> , N, Q	I, J, K, L, <u>M</u> , N, Q	I, J, K, L, M, N, Q	J, K, L, <u>M</u>
HMS2	H, I, <u>K</u> , L, M	<u>H</u> , I, J, K, L, M, P, R, S	H, I, J, <u>K</u> , L, M, P, R	<u>H</u> , I, J, K, L, O, R, S
HMS3	I, M, O, <u>P</u> , G, Q, R	I, M, N, O, <u>P</u> , Q, R	I, M, N, O, P, Q, R, S	I, M, N, O, <u>P</u> , Q, R
HMS6	K, <u>L</u> , M, N, O, P	K, <u>L</u> , M, N, O, P	K, L, M, N, O, <u>P</u>	L, M, N, O, <u>P</u>
HMS7	J, K, L, M, N, <u>Q</u>	J, K, L, M, <u>N</u> , O	J, K, <u>L</u> , M, N, O, Q	J, L, M, N, O
HTG4	K, L, <u>M</u> , N, O	K, L, <u>M</u> , O, P, Q	K, L, <u>M</u> , N, O, P	K, L, <u>M</u> , O, P
HTG6	G, I, J, M, <u>Q</u> , R	G, I, J, <u>Q</u>	G, I, J, M, N, <u>Q</u> , P	G, I, J, O
HTG7	K, M, N, <u>Q</u>	<u>K</u> , M, N, O	I, K, M, N, <u>Q</u>	K, M, N, <u>Q</u>
HTG10	I, K, L, M, <u>Q</u> , P, R, S, T	I, K, L, <u>M</u> , N, O, P, Q, R, S	I, K, L, M, N, O, P, Q, R, S	I, K, L, <u>M</u> , N, O, P, Q, R, S
VHL20	I, L, M, N, P, <u>Q</u> , R	I, J, L, <u>M</u> , N, O, P, Q, R	I, J, K , L, M, N, O, P, Q, R	I, J, M, <u>N</u> , O, P, Q, R
ASB2	I, K, <u>M</u> , N, O, P, Q	B, I, K, <u>M</u> , N, O, P, Q	B, I, J, K, M, N, <u>Q</u> , P, Q, R	B, I, K, M, <u>N</u> , O, P, Q, R
ASB17	F, G, H , I, K, M, N, O, Q, R	I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T	G, I, J, K, M, N, <u>Q</u> , P, Q, R, S, W	F, G, I, K, M, <u>N</u> , O, P, Q, R, S
ASB23	I, J, K, L, S, U	I, J, K, L, <u>S</u> , U	H , I, J, <u>K</u> , L, Q, R, S, T, U	I, K, L, S, <u>U</u>
CA425	J, L, M, <u>N</u> , O	J, K, L, M, <u>N</u> , O	F, G, H , I, J, K, L, M, N, <u>Q</u> , P	G, I, J, K, L, M, <u>N</u> , O
LEX3	H, <u>L</u> , M, N, P	E , F, G, H, I, J, K, <u>L</u> , M, N, O, P	F, H, I, K, <u>L</u> , M, N, O, P	F, H, I, K, <u>L</u> , M, N, O, P

Tučně zvýrazněné – primární alely pro dané plemeno

podtržené - alely s nejvyšším výskytem

Vysoká genetická variabilita byla zjištěna u Hucula

2.4.6 Metodický přístup stanovování a výpočtu původních genů v populacích koní zařazených do genetických zdrojů hospodářských zvířat

Princip stanovení a výpočtu tzv. původních genů a to původních belgických genů (dále jen PBG) a původních slezských genů (dále jen PSG) objasňuje Volenec (2004) na populacích koní ČMB a SN následovně.

Podstatou stanovení a výpočtu tzv. původních genů byly původové genové analýzy u populací plemen ČMB a SN v časovém období let 1890 - 1950 s dopadem na aktuální - žijící populaci plemenných hřebců a chovných klisen a mladých koní plemen ČMB a SN v r. 2000. Cílem analýz bylo definování tzv. nositelů původních belgických genů a slezských genů - samčích jedinců - hřebců plemene ČMB a SN. Bylo definováno 160 hřebců - zakladatelů plemene ČMB a 82 hřebců - zakladatelů plemene SN, narozených v období let 1890 - 1950 včetně.

Volenec (2004) dále vysvětluje, že tito hřebci, kteří se zásadní mírou podíleli na tvorbě plemene ČMB a SN byli označeni jako 100 % ní nositelé původních belgických genů - PBG a původních slezských genů - PSG. 100% ní podíly genů výše uvedených hřebců, nositelů PBG a PSG jsou od r. 2000 programově přepočítávány k jednotlivým aktuálním - žijícím hřebcům, klisnám a mladým koním populace ČMB a SN a to v celém generačně dostupném rozsahu jejich rodokmenů. Tímto exaktním metodickým postupem byly, počínaje r. 2000, stanovovány podíly PBG a PSG u všech aktuálních - žijících jedinců /plemenných hřebců, chovných klisen a mladých koní populace ČMB a SN.

Následně byly u populací ČMB a SN realizovány projekty, jejichž cílem bylo stanovit a označit jako 100 % ní nositelky původních belgických genů - PBG a původních slezských genů - PSG rovněž klisny - zakladatelky rodin ve výše uvedených populacích chladnokrevných plemen.

Pro aktuální – žijící populace starokladrubských koní byl realizován metodický postup stanovení a výpočtu podílů původních starokladrubských genů jako u populace ČMB a SN.

2.5 Starokladrubský kůň (STKL)



Obrázek č. 3: <http://www.fler.cz/zbozi/starokladrubsky-belous-3592935>

2.5.1 Starokladrubský kůň – charakteristika plemene

Czerneková a kol.(2012) uvádí, že starokladrubský kůň je jediné české autochtonní plemeno koní, chované více jak 400 let na našem území. Je rovněž zařazen do Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů zvířat významných pro výživu a zemědělství. V roce 1995 získalo toto plemeno statut národní kulturní památky. Starokladrubský kůň je teplokrevné plemeno vzniklé na podkladě starošpanělské a staroitalské krve. Vznik tohoto plemene se váže na založení hřebčína v Kladrubech nad Labem r. 1579, po němž bylo plemeno pojmenováno. Původně byli starokladrubští koně chováni v různých barevných variantách, od konce 18. století v barvě bílé a černé. Po pádu habsburské monarchie začal tento kůň ztrácet na oblibě a jeho chov téměř zanikl. V letech 1938 – 1973 probíhala regenerace vraného stáda pod vedením prof. Bílka.

V současnosti se jedná o teplokrevné plemeno velkého rámce galakarosiérového typu. Dnešní populace je rozdělena na 5 čistokrevných klasických linií a 3 čistokrevné neklasické linie, z nichž jsou Generale, Favory a Rudolfo bělouši, Solo a

Siglavi Pakra vraníci a Generalissimus, Sacramoso a Romke se vyskytují v obou barevných variantách (tabulka č. 6).

Hořín a kol. (1998) použil analýzu 12 mikrosatelitů ke studiu polymorfismu, heterozygotnosti i genetických distancí u starokladrubských koní. Jednalo se o lokusy: *ATH4, ATH5, ASB5, HMS2, HMS3, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7, HTG10 a VHL20*.

Zjistil, že vraníci a bělouši vykazují blízkou genetickou příbuznost, avšak průměrná genetická distance mezi nimi je na úrovni dvou různých plemen.

2.5.2 Stanovování a výpočet původních genů v populacích STKL zařazených do GZ HZ

Pro realizaci návrhu metodického postupu stanovení a výpočtu podílů původních starokladrubských genů - PSTG u genetického zdroje plemene starokladrubského koně byly u aktuální - žijící populace 43 plemenných hřebců a 400 chovných klisen, evidovaných v plemenné knize, vygenerovány rozrody linií a rodin a v rámci nich byly stanoveny - určeny zakladatelé linií a zakladatelky rodin (tabulky 6, 8a a 8b). Tito byli označeni jako nositelé a nositelky 100 % podílů původních starokladrubských genů - PSTG.

Tabulka č. 6 Přehled zakladatelů čistokrevných linií starokladrubských koní
(<http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf>)

Linie č.	Zakladatel Název linie	Barva zakl.	Barva linie	Nar. zakl.	Plemeno	původ
L1	Generale	Bělouš	Bělouš	1787	STKL	Kopčany
L11	<u>Gss XXIII</u> Generale-Gss	Bělouš	Bělouš	1938	STKL	Kladruby n/L
L13	Generalissimus	Vraník	Vr./ běl.	1797	STKL	<u>Syn hřebce Generale</u> Kmen zanikl r. 1929
L3	Sacramoso	Vraník	Vraník	1800	STKL	Kroměříž
L12	Napoleone	Vraník	Vraník	1845	Italsko- španělské	Řím Kmen zanikl r. 1922
L31	Solo	Vraník	Vraník	1927	STKL	Syn Sacramosa XXIX
L2	Favory	Plavák	Bělouš	1779 1938	STKL Lipicán	Kladruby n/L»Lipica Bábolna»Kl. n/L.
L21	<u>Gss XXIX</u> Favory-Gss	Bělouš	Bělouš	1965	STKL	Kladruby n/L
L4	Siglavi Pakra	Vraník	Vraník	1946	Lipicán	Chorvatsko
L5	Romke	Vraník	Vraník	1966	Fríský kůň	Holandsko
L6	Rudolfo	Bělouš	Bělouš	1968	Lusitano	Portugalsko

Linie Napoleone zanikla v r. 1922. Původní linie Generalissimus (Gss) založná hřebcem Generalissimem I. nar. r. 1797, zanikla v r. 1929 úhynem hřebce Generalissima XXII. Znovu byla obnovena podle jména v r. 1941 jako linie Generale-Generalissimus XXIII. nar. r. 1938 po otci Generale XXIII z matky 407 Gss XXII). V r. 1970 vznikla podobně linie Favory IV z matky 817 Gss XXIII (Nár. hřebčín IV-2010).

Linie Favory byla založena plavým hřebcem Favory nar. r. 1779 v Kladrubech n/L a převedeným do hřebčína Lipica, kde založil stejnojmennou linii lipicánů.

V kladrubském chovu se neuplatnil. V r. 1951 byl však za účelem rozšíření krevní základny do kladrubského chovu zařazen jeho potomek lipický hřebec 92 Favory nar. r. 1938 v hřebčíně Bábolna, který tak založil kmen Favory starokladrubských běloušů (Nár. hřebčín IV-2010).

V tabulce č. 7 jsou uvedeny popisné statistiky mikrosatelitů napříč liniemi, tj. počet jedinců průměrný počet alel, pozorovaná heterozygotnost a genetická diverzita.

Pozorovaná heterozygotnost a genetická diverzita vykazovaly pro všechny linie podobné hodnoty. Hodnoty pozorované heterozygotnosti a genetické diverzity jsou ovlivněny počtem alel (Kracíková, 2010).

Jak dále Kracíková (2010) uvádí, z tabulky č. 7 je zřejmé, že kromě linií Generale a Sacramoso dosahovala pozorovaná heterozygotnost vyšší hodnoty než genetická diverzita. To naznačuje pokles variability u zmíněných linií.

Genetická variabilita u STKL se udržuje pomocí přípařovacích plánů, kdy se rodičovské páry sestavují z co možná nejméně příbuzných jedinců.

Tabulka č. 7 Charakteristiky pro mikrosatelitní lokusy analyzované u otcovských linií starokladrubského koně (Kracíková, 2010)

linie	počet	Průměr počtu alel	Pozorovaná heterozygotnost	Genetická diverzita
Generale	40	4,38	0,569	0,575
Generale- Generalissimus	60	5,50	0,623	0,600
Favory	80	6,06	0,680	0,677
Favory- Generalissimus	68	5,69	0,656	0,622
Sacramoso	198	6,75	0,637	0,660
Solo	120	5,44	0,624	0,618
Siglavi Pakra	28	4,25	0,647	0,604
Romke	32	4,63	0,630	0,605
Rudolfo	22	3,94	0,659	0,547

Po mateřské linii je původ starokladrubského koně možno vysledovat zpět k 8 zakladatelkám čistokrevných klasických rodin a 7 zakladatelkám čistokrevných neklasických rodin, jejichž přehled (dle nového Řádu plemenné knihy starokladrubského koně schváleného 2005) je uveden v tabulkách 8a a 8b (Nár. hřebčín IV-2010).

Tabulka č. 8a Přehled zakladatelek čistokrevných klasických rodin starokladrubských koní

(<http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf>)

Název	Rok nar.	Barva	Plemeno	Původ
Africa	1740	bělka	STKL	Hřebčín Kladruby n/L.
Rava	1755	bělka	STKL	Hřebčín Kladruby n/L.
Deflorata	1767	bělka	dánskošpanělské	Frederiksborg (Dánsko)
Almerina	1769	vranka	STKL	Hřebčín Kladruby n/L.
Sardinia	1770	bělka	lipické	Hřebčín Lipica (Slovinsko)
Ragusa	1888	vranka	STKL	Hřebčín Kladruby n/L.
Cariera	1894	hnědka	teplokrevné	Hřebčín Kladruby n/L.
Madar VI	1782	bělka	lipické	Hřebčín Mezöhegyes (Maďarsko)

Tabulka č. 8b Přehled zakladatelek čistokrevných neklasických rodin starokladrubských koní

(<http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf>)

Název	Rok nar.	Barva	Plemeno	Původ
15 Narcis (I)	1939	vranka	STKL	Chrást u Chrudimi
67 Xandra	1938	bělka	teplokrevné	Neznámý původ
154 Bárta	1953	vranka	Orlovský	Hřebčín Chrenovojský (Rusko)

			klusák	
Favora Č3912	1963	bělka	STKL	privátní-volný chov
Dana (G) Č3934	1969	bělka	STKL	privátní-volný chov
292 Ritorna	1974	vranka	teplokrevné	Hřebčín Slatiňany
Gita (G) Č399	1974	bělka	teplokrevné	privátní-volný chov

Za 100 % ní nositelky PSTG byly rovněž označeny matky plemeníků - synů originálních importovaných hřebců "mladých" starokladrubských linií a to linií Favory, Siglavi Pakra, Romke a Rudolfo.

100% - ní podíly genů výše uvedených hřebců a klisen, nositelů a nositelek PSTG, byly programově přepočítávány k jednotlivým aktuálním - žijícím hřebcům, klisnám a mladým koním populace starokladrubských koní a to v celém generačně dostupném rozsahu jejich rodokmenů.

Tímto exaktním metodickým postupem byly, počínaje r. 2004, stanoveny podíly PSTG u všech aktuálních - žijících jedinců starokladrubské populace.

Pro starokladrubské koně bylo radou plemenné knihy schváleno, že do genetických zdrojů budou, počínaje rokem 2004, zařazováni hřebci a klisny s 50 ti % ním a vyšším podílem PSTG. Původní /v roce 2003 platný/ limit starokladrubských genů pro zařazení hřebců a klisen do genetických zdrojů byl na úrovni 35 % (Volenec, 2004).

Do GZ byla v roce 2007 zařazena pouze zvířata splňující podmínku 87,5% zastoupení daného plemene v rodokmenu (tj. příměs cizí zušlechťující krve může být max. 12,5%). Je vypracován počítačový program, který již u rodičů při sestavování přípařovacích plánů tuto podmínku respektuje a nevhodné spojení (z hlediska rodokmenu) vyloučí. Alternativní připáření rodičovských párů pomocí počítače zohledňuje i pravidelné zastoupení kmenů a linií v rodokmenu a koeficient příbuzenské plemenitby F_x , který by neměl přesáhnout hodnotu 6,25 (Dyková a Šancová, 2012).

2.5.3 Rozsah chovu a struktura populace starokladrubskeho koně

Podle Dykové a Šancové (2013) má současná populace STKL v ČR více než 1700 jedinců (tj. plemenných hřebců, klisen matek, dorostu a pracovních koní), početní stavy jsou uvedeny v tabulkách 9a a 9b, jejich vývoj v letech 2003-2012 zobrazuje graf č. 3. Národní hřebčín (NH) Kladruby n. Labem chová v hřebčíně Kladruby n. Labem variantu běloušů (B) a v hřebčíně Slatiňany variantu vraníků (V). V soukromých chovech se nyní chová téměř dvojnásobek počtu zvířat zařazených do GZ než v NH v Kladrubech nad Labem, počet privátních chovatelů v roce 2012 dosahoval počtu 164.

Tabulka č. 9a Vývoj početního stavu populace GZ - privátní chov (Dyková a Šancová, 2012)

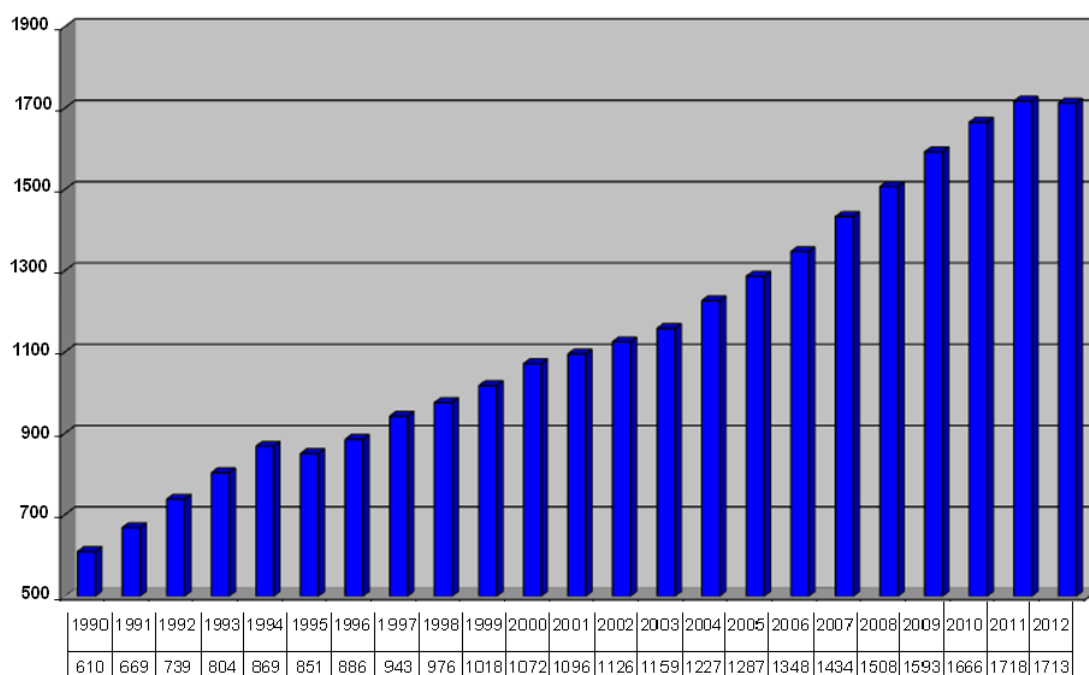
rok	plemenní hřebci v GZ (B + V)	plemenné klisny v GZ (B + V)	plemenné klisny celkem (B + V)	počet chovatelů
2003	18 (9+9)	160 (77+83)	237 (121+116)	103
2004	16 (7+9)	186 (92+94)	260 (138+122)	119
2005	17 (8+9)	187 (89+98)	272 (144+128)	120
2006	18 (7+11)	192 (92+100)	275 (136+139)	134
2007	20 (10+10)	201 (92+109)	287 (138+149)	142
2008	17 (8+9)	204 (96+108)	305 (1+154)	150
2009	21 (10+11)	217 (101+116)	330 (161+169)	157
2010	23 (10+13)	221 (100+121)	333 (143+179)	158
2011	23 (9+14)	218 (100+118)	356 (168+188)	169
2012	22 (8+14)	221 (99+122)	347(165+182)	164

Tabulka č. 9b Vývoj početního stavu populace GZ – Národní hřebčín Kladruby n. L.
(Dyková a Šancová, 2012)

rok	plemenní hřebci v GZ (B + V)	plemenné klisny v GZ (B + V)	plemenné klisny celkem (B + V)
2003	25 (14+11)	140 (73+67)	155 (83+72)
2004	27 (15+12)	143 (76+67)	157 (85+72)
2005	32 (19+13)	139 (74+65)	153 (83+70)
2006	34 (21+13)	147 (76+710)	162 (87+75)
2007	38 (21+17)	143 (73+70)	159 (85+74)
2008	37 (19+18)	136 (65+71)	152 (77+72)
2009	34 (17+17)	127 (59+68)	138 (67+71)
2010	33 (17+16)	137 (63+74)	152 (74+78)
2011	34 (20+14)	135 (63+72)	149 (74+75)
2012	33 (18+15)	129 (60+69)	144 (172+172)

Pozn.: stavy jsou počítány vždy k 31.12. uvedeného roku, v r.2012 je stav uveden k 5.11.

Graf 3 Vývoj početního stavu starokladrubského koně (Dyková a Šancová, 2012)



2.5.4 Starokladrubský kůň - Národní kulturní památka

Od r. 2002 je starokladrubská plemenná kniha uzavřena přílivu krve jiných plemen, neboť kromě chovu NH Kladruby n. L. je i v privátních chovech dosti kvalitních plemenných jedinců a chov tedy není geneticky ohrožen.

V roce 2001 byl uznán Hřebčín v Kladrubech nad Labem, jakož i kmenové chovné stádo starokladrubského koně v počtu 65 klisen a 4 hřebců v barvě bílé, Národní kulturní památkou. (132/2001 Sb. NAŘÍZENÍ VLÁDY ze dne 28. března 2001 o prohlášení některých kulturních památek za národní kulturní památky).

Profesor Bílek (1957) tvrdil, že starokladrubští koně jsou jedinou vysloveně českou rasou koně, z nejmohutnějších mezi teplokrevníky, že jsou od staletí na naší půdě vyrostlí a k ní tedy mnohem lépe přizpůsobení, nežli plemenci jiných ras.

Podle ředitele hřebčína Ing. Jehličky patří hřebčín mezi pět největších památek, které u nás máme. Starokladrubský kůň je umělecké dílo, přitom je to živé zvíře, které s člověkem spolupracuje, a přitom je to relikv z doby baroka.

Jehlička se nevzdává myšlenky, že by se jednou mohl dostat na prestižní seznam kulturního dědictví UNESCO (http://pardubicky.denik.cz/zpravy_region/kladrubsky-kun-v-unesco-20130215.html).

3 ZÁVĚR

Hlavním cílem zachování biodiverzity je uchování rozmanitosti jednotlivých biologických druhů i různorodosti prostředí, ve kterých se tyto druhy nacházejí. Proměny ve složení, zastoupení druhů se odehrávají i přirozenou cestou, v současné době jsou však výraznější ty, které působí lidská činnost jako např. zemědělství. Hospodářská zvířata jsou nedílnou součástí biodiverzity a stále častěji se, zejména málopočetná plemena, stávají předmětem ochrany. Důvodem k jejich ochraně je zejména zachování rezervoáru těch genů a alel, které byly u vysoce produktivních plemen eliminovány. Má-li být těmto plemenům zajištěno přežití, je nutné udržet jejich genetickou variabilitu na co možná nejvyšší úrovni.

Starokladrubský kůň je jedním z nejdůležitějších a nejvzácnějších genetických zdrojů v České Republice. V jeho populaci se chovatelé a šlechtitelé snaží o udržení dostatečné genetické variability, k čemuž jim významně pomáhá genetická analýza rodokmenů a genetické informace vůbec. Cílem je zachování jediného původního českého plemene koní v typu galakarosiera, s využitím k ceremoniální a reprezentativní službě, soutěžním spřežení, drezuře, baroknímu a rekreačnímu ježdění.

Po celou dobu existence plemene se vzhledem k jeho omezené četnosti uplatňuje příbuzenská plemenitba, což na jedné straně vedlo k zachování jeho původního charakteru, na straně druhé to však s sebou nese zvýšené riziko inbrední deprese se všemi jejími negativními dopady zejména na konstituci, životaschopnost a reprodukční schopnosti.

Bylo proto vypracováno několik genetických analýz (Jakubec a kol., 2004; Hořín a kol., 1998), ze kterých vyplynulo, že genetický polymorfismus starokladrubských koní nevykazuje redukci a je srovnatelný s genetickým polymorfismem jiných plemen koní.

Pokrok ve schopnosti identifikace a analýzy genetických markerů slouží tedy nejen k určení vzájemné příbuznosti nejrůznějších druhů a populací, ať stále ještě žijících či již vyhynulých, ale také k možnosti zachovat a udržet zejména ohrožené druhy pro další generace.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Begon M., Harper J. L. a Townsend C. R. 1997. Ekologie. Jedinci, populace a společenstva. Vydavatelství Univerzity Palackého, Olomouc. 949 s. ISBN 80-7067-695-7 : 791.00

Bílek, F. 1957, Kůň lipicánský – lipicán. Kůň starokladrubský. IN: Speciální zootechnika II. Chov koní. 74-104. Státní zemědělské nakladatelství Praha.

Cieslak, M., Pruvost, M., Benecke, N., Hofreiter, M., Morales, A., Reissmann, M., Ludwig, A. 2010. Origin and History of Mitochondrial DNA Lineages in Domestic Horses. PLoS ONE 5 (12) p. 13 <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0015311>

Czerneková, V. 2012. Využití molekulárních markerů při hodnocení genové variability vybraných plemen koní genových rezerv České republiky. Česká zemědělská univerzita v Praze. Katedra obecné zootechniky a etologie.

Dovc, P., Kavar, T., Sölmner, H., Achmann, R. 2006. Development of the Lipizzan Horse Breed. *Reproduction in Domestic Animals* 41, 280-285

Dvořák, J., Vrtková, I. 2001. Malá genetika prasat II. Brno: MZLU v Brně, 91 s. ISBN 80-7157-521-6.

Dyková, Z., Šancová, Z., 2013. Výroční zpráva Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů hospodářských zvířat a dalších živočichů využívaných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství za rok 2012

Flegr, J. 2005. Evoluční biologie. Praha: Academia. 559 s. ISBN 80-200-1270-2.

Frelich, J., Volfová, K., Tonka, T., Maršálek, M., Zedníková, J., Buňatová, Z., Stránská, H., Kleinová, A., Štěrba, J., Vejčík, A. 2011. Chov hospodářských zvířat I. Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích. ISBN 978-80-7394-298-4

Garant, D., Kruuk, L. E. B. 2005. How to use molecular marker data to measure evolutionary parameters in wild populations. *Molecular Ecology*. ISBN 14:1843-1859

- Groeneveld, L. F., Lenstra, J. A., Eding, H., Toro, M. A., Scherf, B., Pilling, D., Negrini, R., Finlay, E. K., Jianlin, H., Groeneveld, E., Weigend S. 2010. International Society for Animal Genetics, *Animal Genetics*, 41 (Suppl. 1), 6–31
- Hruban, V., Majzlík, I. 2000. *Obecná genetika*. 1. Vyd. Česká zemědělská univerzita. Praha. 316 s. ISBN: 80-231-0600-9
- Hořín, P., Cothran, e. g., Trtková, K., Marti, E., Glasnák, P., Henney, P., Vysločil, M. 1998. Polymorfizm of Old Kladruber horses, survivig but endangered baroque breed. *European Journal of Immunogenetics* 25 No. 5, 357-63
- Jakubec, V, Volenec, J., Majzlík, I., Schlote, W. 2004. Analysis of inbreeding in the genetic recourse of the „Old Kladrub horse“ in the period from 1993 to 2003. Conservation genetics of endangered horse breeds. EAAP publication No. 116, 85-90
- Knoll, A., Vykoukalová, Z. 2002. *Molekulární genetika zvířat (Metody detekce polymorfizmů DNA genů)*. Brno: MZLU v Brně. 168 s. ISBN 80-7157-616-6
- Kovář, P. 1952. *Ekosystémová a krajinná ekologie*. Praha, Karolinum. 166 s. ISBN 978-80-246-2044-2
- Kracíková, O. 2010. *Využití variabilty DNA ve studiu příbuzenských vztahů linií a rodin plemene koně rezervy*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Katedra obecné zootechniky a etologie.
- Kourková, L., Vrtková, I., Šrubařová, P. 2009. Microsatellite DNA analysis of genetic diversity in selected horse population *Journal of Agrobiology*, 26 (1): 57-60
- Moldan, B., editor. 1993. *Konference OSN o životním prostředí a rozvoji; Rio de Janeiro*. Praha, Management Press. 260 s. ISBN 80-85603-43-8 (brož.) : 50.00
- Mora, C., Tittensorl, D. P., Adl, S., Simpson, A. G. B., Worm, B. 2011. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? *PLoS Biology*. August. Volume 9. Issue 8. e1001127
- Plesník, J. 2004. *Biologická rozmanitost na Zemi: stav perspektivy*. Praha, Scientia. 261 s. ISBN 80-7183-331-2 : 1096.00

- Plesník, J. 2005. In Ukazatele změn biodiverzity (editor David Vačkář). Praha: Academia. 298 s. ISBN 80-200-1386-5.
- Putnová, L., Vrtková, I., Říha, J., Burocziová, M., Dvořák, J. 2006. The genetic structure of different horse breeds in the Czech Republic inferred from microsatellite markers Supported by Ministry of Agriculture of the Czech Republic (1G58073) and Czech Science Foundation (523/03/H076). 30th International Conference on Animal Genetics PORTO SEGURO, BRAZIL AUGUST 20-25
- Rogers D. L., Millar C. I., Westfall R. D. 1996. Genetic Diversity within Species. Sierra Nevada Ecosystem Project: Final report to Congress, vol. II, Assessments and scientific basis for management options. Davis: University of California, Centers for Water and Wildland Resources
- Rosypal, S., Doškař, J., Pantůček, R. a kol. 2001. Terminologie molekulární biologie. Brno: Grafex. 281 s. ISBN 80-902562-3-6.
- SanCristobal, M., Chevalet, C., Peleman, J., Heuven, H., Brugmans, B., Van Schirek, M. 2006. Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers. *Animal Genetics*, 37, s. 232-238
- Tews J., Brose, U., Grimm, V., Tielbörger, K., Wichmann, M. C., Schwager, M., Jeltsch, F. 2004. Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. *Journal of Biogeografie* 31 (1) s. 79 - 92
- Tóth, G., Gáspari, Z., Jurka, J. 2000. Microsatellites an different eukaryotic genomes: Survey and analysis. *Genome Research*. 10. 967-981. ISSN:1088-9051
- Van Marle-Koster, E., Nel, L. H. 2003. Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa: A review. *South African Journal of Animal Science*, Vol 33 pp 1-10
- Volenec, J. 2004 Metodický přístup stanovování a výpočtu podílů původních genů u genetického zdroje plemene starokladrubský kůň, Chrudim
<http://www.nhkladruby.cz/archiv-dokumentu>

Whittaker, R. H. 1972. Evolution and measurement of species diversity. Volume 21, issue 2/3 pages 213-251

Wilson, O., 1992. The Diversity of Life, Harvard University Press, Cambridge, MA. 464 pages. ISBN: 0-674-21298-3

Zima, J. 2004. Cytogenetika In Genetické metody v zoologii. Univerzita Karlova v Praze: Nakladatelství Karolinum. s.165 – 188. ISBN 80-246-0795-6.

Národní hřebčín Kladruby nad Labem. <http://www.nhkladruby.cz/plemenna-kniha>

http://pardubicky.denik.cz/zpravy_region/kladrubsky-kun-v-unesco-20130215.html

132/2001 Sb. NAŘÍZENÍ VLÁDY ze dne 28. března 2001 o prohlášení některých kulturních památek za národní kulturní památky

Řád PK starokladrubského koně, 2012. <http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf>

http://www.enwiki.cz/wiki/Diverzita_spole%C4%8Denstev#cite_note-piv-3

http://genbank.vurv.cz/genetic/nar_prog/Dokumenty/NPGZ_12_16.pdf

SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ

<u>Tab. 1</u> Rozmanitost života.....	10
Mora, C., Derek P. Tittensor, D. P., Adl, S., Simpson, A.G. B., Worm, B. 2011. How Many Species Are There on Earth and in the Ocean? PLoS Biology. August. Volume 9. Issue 8. e1001127	
<u>Tab. 2</u> Plemena koní v ČR a jejich početní stavy.....	23
Frelich, J., Volfová, K., Tonka, T., Maršálek, M., Zedníková, J., Buňatová, Z., Stránská, H., Kleinová, A., Štěrbá, J., Vejčík, A. 2011. Chov hospodářských zvířat. Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích. ISBN 978-80-7394-298-4	
<u>Tab. 3</u> Genetická variabilita.....	24
Putnová, L., Vrtková, I., Říha, J., Burocziová, M., Dvořák, J. 2006. Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Laboratory of Applied Molecular Genetics(LAMGen)	
<u>Tab. 4</u> Konkrétní alely identifikované u čtyřech plemen koní–genových zdrojů.....	28
Kourková, L., Vrtková, I., Dvořák, J., Van Bon, B. J. 2009. Journal of Agrobiolgy, 26(1):5760	
<u>Tab. 5</u> Další parametry alel ve všech studovaných lokusech.....	29
Kourková, L., Vrtková, I., Dvořák, J., Van Bon, B. J. 2009. Journal of Agrobiolgy, 26(1):5760	
<u>Tab. 6</u> Přehled zakladatelů čistokrevných linií starokladrubských koní.....	33
http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf	
<u>Tab. 7</u> Charakteristiky pro mikrosatelitní lokusy analyzované u otcovských linií starokladrubského koně.....	34
Kracíková, O. 2010. Využití variability DNA ve studiu příbuzenských vztahů linií a rodin plemene koně rezervy	
<u>Tab. 8a</u> Přehled zakladatelek čistokrevných klasických rodin starokladrubských koní.....	35
http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf	

<u>Tab. 8b</u> Přehled zakladatelek čistokrevných neklasických rodin starokladrubských koní.....	35
http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf	
<u>Tab. 9a</u> Vývoj početního stavu populace GZ - privátní chov.....	37
Výroční zpráva Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů hospodářských zvířat a dalších živočichů využívaných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství (Národní program zvířat) za rok 2012	
<u>Tab. 9b</u> Vývoj početního stavu populace GZ - NH Kladruby n. L.....	38
Výroční zpráva Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů hospodářských zvířat a dalších živočichů využívaných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství (Národní program zvířat) za rok 2012	
<u>Graf 1</u> Původ mitochondriálních linií moderních plemen koní.....	19
Cieslak, M., Pruvost, M., Benecke, N., Hofreiter, M., Morales, A., Reissmann, M., Ludwig, A. 2010. zdroj:10.1371/journal.pone.0015311.g002	
<u>Graf 2</u> Genetická diverzita mezi některými plemeny koní v České republice.....	25
Putnová, L., Vrtková, I., Říha, J., Burocziová, M., Dvořák, J. 2006. Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Laboratory of Applied Molecular Genetics (LAMGen)	
<u>Graf 3</u> Vývoj početního stavu STKL.....	38
Výroční zpráva Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů hospodářských zvířat a dalších živočichů využívaných pro výživu, zemědělství a lesní hospodářství (Národní program zvířat) za rok 2012	
<u>Obr. 1</u> http://www.wildlife.sk/html/divocina/div005.htm	9
<u>Obr. 2</u> http://www.colway.cz/clanky/transdermalnost-kolagenu.html	14
<u>Obr. 3</u> http://www.fler.cz/zbozi/starokladrubsky-belous-3592935	31