

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lucie Buchtová

Využití molekulárně genetických přístupů při hledání původu domestikovaných druhů zvířat

Usage of molecular genetics in investigation of origin of domesticated animals

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Michal Vinkler, Ph.D.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12. 5. 2014

.....

Lucie Buchtová

Abstrakt:

Domestikace zvířat byla jednou z hospodářsky nejvýznamnějších činností moderních lidí. Umožnila nejen určitá zvířata účinněji využívat, ale také je šlechtit (tedy zkvalitňovat jejich požadované vlastnosti) a pomocí různých křížení získávat nové formy využitelné v zemědělství. Právě umělá selekce a patrně i hybridizace jsou základem současné variability plemen hospodářských zvířat. Způsob vzniku těchto plemen je však již dávno zapomenut a srovnávací morfologie nemůže poskytnout vodítko pro poznání příbuznosti jednotlivých plemen. Informace o příbuznosti plemen přesto nutně potřebujeme například při posuzování selekce a predikci funkčního významu genetických změn. Jedinou cestou k odhadnutí fylogeneze plemen domestikovaných druhů tak mohou být metody molekulární genetiky. Cílem této práce je podat stručný přehled molekulárně genetických metod, které doposud byly v souvislosti s výzkumem domestikace živočichů použity a nastínit výsledky, které byly pomocí těchto metod získány. Dále je v práci na základě shod a rozdílů mezi jednotlivými metodami kriticky posouzeno použití těchto metod a výsledně zhodnocena věrohodnost hypotéz o původu plemen domácích zvířat.

Klíčová slova:

domestikace, evoluce, hospodářská zvířata, variabilita, selekce, molekulární metody

Abstract:

Animal domestication has been one of the most significant agricultural activities of modern humans. It allowed not only more efficient utilization of some animals, but also their breeding which led to improvements in their properties and through crossbreeding to gain of novel forms utilizable in agriculture. This artificial selection and in several cases probably also interspecific hybridization allowed the emergence of the contemporary diversity of breeds of the domestic animals. The origin of individual breeds has been, however, long forgotten and comparative morphology cannot provide us much guidance for understanding of the relatedness of individual breeds. The information on relatedness of breeds is, nonetheless, highly needed, for instance, for evaluation of selection and prediction of the functional significance of the existing genetic variability. Hence, methods of molecular genetics represent the only way how to estimate phylogeny of the domestic breeds. The aim of this work is to shortly review molecular methods which have been used in animal domestication research and outline the results which have been obtained by their application. Based on incongruences and agreements in the results of the published studies the applicability of these methods is critically evaluated and credibility of various hypothesis concerning the origin of domestic animals is discussed.

Key words:

domestication, evolution, farm animals, variability, selection, molecular methods

Seznam zkratk:

AFLP	amplified fragment length polymorphism; polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů
array CGH	array comparative genomic hybridization; komparativní genomová hybridizace
CG	cytosin a guanin
CNV	copy number variation; variabilita počtu kopií
CNVs	copy number variation regions; společné regiony CNV
cytB	cytochrom b
DNA	deoxyribonukleová kyselina
GMO	geneticky modifikované organismy
M2	druhé stoličky/moláry
MCR1	melanokortinový receptor
MSY	male-specific region of the Y chromosome; samčí specifická oblast Y chromozomu
mtDNA	mitochondriální DNA
nDNA	nuclear DNA; jaderná DNA
NGS	next-generation sequencing; sekvenování nové generace
PCR	polymerase chain reaction; polymerázová řetězcová reakce
RAD-seq	restriction site associated DNA sequencing; sekvenování restrikčních míst spojených s DNA
RAPD	random amplified polymorphic DNA; polymorfismus náhodně amplifikované DNA
RFLP	restriction fragment length polymorphism; polymorfismus délky restrikčních fragmentů
SNP	single-nucleotide polymorphism; jednoduchý nukleotidový polymorfismus
SRY	sex determining region Y; pohlaví určující Y region
STR	short tandem repeats; krátká tandemová repetice; mikrosatelity

Obsah:

1. Úvod	1
2. Obecné genetické a fenotypové změny spojené s domestikací	2
3. Genetické přístupy k mapování diverzity a příbuznosti plemen domácích zvířat	4
3.1 Proteinové markery	4
3.1.1 Alozymy	4
3.1.2 Imunodifúze	5
3.2 Markery na úrovni DNA řetězce	5
3.2.1 Mitochondriální DNA	5
3.2.2 Mikrosatelity (krátká tandemová repetice; short tandem repeats; STR).....	6
3.2.3 RFLP (polymorfismus délky restričních fragmentů)	6
3.2.4 RAPD (polymorfismus náhodně amplifikované DNA).....	7
3.2.5 AFLP (polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů)	8
3.2.6 SNP (jednoduchý nukleotidový polymorfismus).....	9
3.2.6.1 RAD-sequencing (sekvenování restričních míst asociovaných s DNA).....	9
3.2.7 Variabilita počtu kopií (copy number variation, CNV)	10
3.2.8 Delece a inserce (indely).....	11
3.2.9 Rekombinace.....	11
3.3 Rodokmenové markery (Lineage markers)	12
3.3.1 Y chromozom.....	12
4. Poznatky o původu a příbuznosti domácích zvířat zjištěné na základě molekulárních metod	13
4.1 Domestikace psa (<i>Canis lupus familiaris</i>).....	13
4.2 Domestikace tura domácího (<i>Bos primigenius f. taurus</i>)	16
4.3 Domestikace ovce domácí (<i>Ovis aries</i>)	18
4.4 Domestikace prasete domácího (<i>Sus scrofa domesticus</i>)	20
4.5 Domestikace kura domácího (<i>Gallus gallus domesticus</i>).....	23
4.6 Domestikace koně domácího (<i>Equus caballus</i>).....	26
5. Závěr.....	28
6. Poděkování	30
7. Literatura	31

1. Úvod

Domestikace zvířat je proces, kdy se zvířata držená v zajetí přizpůsobí lidem či prostředí, které lidé vytváří (Price, E. O., 2002). Domestikace se tedy dá označit jako symbiotický vztah mezi světem zvířat a lidskou společností. Zvířata využívají péče a ochrany poskytované člověkem, zatímco člověk profituje z produktů či služeb, které jim na oplátku zvířata poskytují. Pro domestikaci jsou klíčové tři procesy. Za prvé jsou zde zmíněny některé faktory přírodní selekce, jako jsou hladovění a predace (Jensen, 2006). Dále dochází k intenzivnější selekci znaků preferovaných lidmi a za třetí je zde modifikovaná přírodní selekce v zajetí, vedoucí k následné adaptaci. V poslední době začalo mít využití molekulární genetiky významný dopad na naše chápání toho, jak vlastně celý domestikační proces probíhal. Nedávné studie umožnily identifikaci volně žijících předků moderních hospodářských zvířat a podstatu jejich expanze v minulém tisíciletí (Bruford a Bradley, 2003). Informace tohoto typu jsou velice zajímavé, jelikož nám říkají hodně i o nás samých. Zejména o naši historii a způsobu, jakým jsme formovali v relativně krátké časové periodě tak mimořádnou diverzitu. Téměř všechny molekulárně založené domestikační studie používají soubory dat skládající se z genetických markerů a největší množství výzkumů používá jako kontrolní region mitochondriální DNA (Dobney a Larson, 2006). Pozorované rozdíly mezi sekvencemi u domestikovaných a volně žijících zvířat nejsou jen výsledkem domestikačního procesu. Odrážejí i varianty přítomné ve volně žijících liniích před domestikací. Dále lze pozorovat i sekundární účinky izolace plynoucí z oddělení domestikované a volně žijící populace. Množství údajů získaných v průběhu posledních dvou desetiletí o domestikovaných zvířatech bylo obrovské. (Larson a Burger, 2013). Interpretace výsledků se však často ukázala jako obtížná. Ačkoliv došlo ke zlepšení dostupnosti a rozlišovací schopnosti sekvencí, očekávání lepšího porozumění domestikačnímu procesu u všech zvířat ještě nebylo úplně dosaženo. Primárním důvodem může být například dlouhodobý genový tok mezi domestikovanými a volně žijícími druhy živočichů a následná intenzita křížení v průběhu posledních dvou století. Různé účely a odlišné podmínky prostředí byly hlavními faktory, které napomohly genetickému přizpůsobení domestikovaných zvířat (Andersson, 2009). Jelikož miliony lidí sledovaly miliony domestikovaných zvířat tisíce let, lze tedy proces domestikace vidět jako rozsáhlý screening genotypických variant s fenotypickým efektem.

Cílem této práce je shrnutí metod, které se používají ke studiu fylogeneze domestikovaných druhů zvířat a jejich následné porovnání. Hlavní účel dané části tkví ve zmapování vývoje jednotlivých metod a jejich následnému přispění k rozluštění

domestikačního procesu různých hospodářských zvířat. V neposlední řadě by podrobné prozkoumání dílčích metod mohlo přispět k odhalení informací, které je potřeba do budoucna zohlednit ve vlastním výzkumu. Dalším cílem je zhodnocení výsledků, získaných pomocí těchto metod u vybraných druhů domestikovaných zvířat. V soudobém poznání lze nalézt řadu mezer, které vyžadují další výzkum, aby mohlo dojít k jejich zaplnění. Mým úmyslem nebylo pouhé seskupení a ověření věrohodnosti hypotéz, ale i následné utřídění vědomostí týkajících se daného tématu a zejména části týkající se kura domácího a metod, které jsou spojené s výzkumem příbuznosti jeho plemen.

2. Obecné genetické a fenotypové změny spojené s domestikací

Domestikovaná zvířata jsou unikátním zdrojem informací pro zkoumání vztahů mezi genotypem a fenotypem (Andersson, 2009). Počátky intenzivního moderního šlechtění plemen domestikovaných zvířat mají své kořeny v 18. století. Primárními vlastnostmi, které lidé v této době chtěli šlechtěním získat, byla zejména velikost (tloušťka) a lůž potřebný pro výrobu svíček (Rubin et al., 2012). Hlavními faktory, které ovlivňovaly zvířata během domestikace, jsou selekce, genetický drift a inbreeding (Mignon-Grasteau et al., 2005). Došlo ke zmírnění přírodní selekce, a tudíž i ke změně vlastností, které nebyly v zajetí tak důležité. Mezi tyto vlastnosti patří například sezónní rozmnožování, rychlejší pohlavní dozrávání, barva peří či srsti, zajišťování potravy nebo vyhýbání se predátorovi. Díky umělé selekci se domestikovaná zvířata od svých volně žijících předků liší jak z morfologického, tak z etologického hlediska.

Domestikace měla u některých plemen za následek například zmenšování velikosti (Zohary et al., 1998). Došlo k výraznému snížení predačního tlaku a větší velikost již nebyla nezbytnou pro přežití. U jiných plemen naopak došlo k zvětšení jejich velikosti. Společným znakem u mnoha druhů je zkrácení lebky a čelisti v oblasti obličeje (Clutton-Brock, 1999). Tento znak je nejlépe viditelný u domestikovaného psa. Zkrácené čelisti jsou příkladem zachovaného juvenilního znaku u dospělého jedince. Selektive vedoucí k tomu mohla být způsobena zejména touhou získat podobný vzhled, který lze vidět u mláďat. Dále došlo i ke zmenšení velikosti zubů. Na příkladu domestikovaného psa můžeme vidět nejen změnu velikosti, ale i změnu vzoru na špičce zubu, který je oproti jejich volně žijícímu předkovi - vlku méně komplikovaný. Dalším znakem, který souvisí se změnou lebky během domestikace, je obrovská škála rohů u skotu, koz a ovcí (Clutton-Brock, 1999). Díky snížení predačního tlaku mohlo dojít k rozvinutí robustních rohů (Zohary et al., 1998). Využití rohů

k ochraně během domestikace pozbylo na významu. U ovcí a koz mezi nejmarkantnější odlišující znaky patří právě již zmíněná velikost a tvar rohů, dále například velikost těla, snížení sexuálního dimorfismu, změny v barvě srsti a velikost mozku. Zmenšení velikosti mozku patří mezi další morfologické změny, ke kterým během domestikace došlo (Clutton-Brock, 1999). Měření bylo například prováděno na existujících zástupcích čeledi turovitých (*Bovidae*; Köhler a Moyà-Solà, 2004). Celkem bylo vybráno 237 jedinců zastupujících 54 druhů. Detailní analýza například ukázala, že u domácí ovce došlo ke zmenšení mozku o 23,9%. V rámci domestikovaných zvířat však největší hodnoty vykazují domácí prasata, u nichž došlo ke zmenšení mozku až o 33,6%. U koz a ovcí došlo dále k redukci centrální nervové soustavy a smyslových orgánů. Jak zmenšení mozku tak redukce smyslů vedla k tomu to, že se zvířata následně stala méně opatrnými a jejich reakce, jako třeba včasná detekce predátora či útěk, se zhoršily.

Jako zástupce domácích zvířat, u kterého domestikace vedla k výrazným změnám, bych zmínila prase domácí a jeho následnou umělou selekci, která zapříčinila výrazné fenotypické změny ať už z hlediska morfologického či behaviorálního (Rubin et al., 2012). Došlo u nich ke změně velikosti těla, velikosti a tvaru stoliček, větší tendenci k ukládání tuku či reprodukce (Kijas a Andersson, 2001; Rubin et al., 2012). Rubin (2012) provedli celogenomová sekvenování s hlavním cílem odhalit lokusy zodpovědné za evoluci fenotypu. Celkem byly odhaleny tři lokusy, které měly u prasete domácího nejvýznamnější dopad na morfologické změny (prodloužení páteře a zvýšený počet obratlů). Dalším charakteristickým rysem domestikace, a to nejen u prasat, je například změna pigmentace. (Andersson, 2003). Může to být částečně vysvětleno odstraněním purifikující selekce u přirozené populace, která si zachovala pigmentační vzor nezbytný pro zamaskování či behaviorální interakci. Studie zabývající se pigmentací domestikovaných zvířat se snaží zjistit, proč je barva jejich srsti tak variabilní. Naprostá většina volně žijících předků je totiž uniformně zbarvena. Fang (2009) se zabýval genem pro melanokortinový receptor MCR1 u volně žijících a domestikovaných prasat Evropy a Asie. U obou forem byl nalezen podobný počet mutací, které se však od sebe nápadně lišily svojí povahou. Všechny mutace u volně žijících prasat byly synonymní, tudíž nezpůsobovaly žádnou změnu v proteinové sekvenci. Udržení kamuflážní barvy srsti je tedy udržováno silnou negativní selekcí. Naopak tomu bylo u prasete domácího, kde 9 z 10 mutací mělo za následek změnu v proteinové sekvenci. Následkem změny v proteinové sekvenci došlo i ke změně výsledné barvy srsti. Díky těmto zjištěním lze konstatovat, že za variabilitou srsti domestikovaných zvířat stojí raní farmáři, kteří záměrně křížili jedince s odlišnou barvou

srsti. Mohla je k tomu například vést třeba jen chtivost změny, vytvoření lepšího poznávacího znamení či pouhé odlišení od volně žijícího předka.

3. Genetické přístupy k mapování diverzity a příbuznosti plemen domácích zvířat

Při fylogenetické analýze se používají dva druhy markerů, a to genetické a morfologické (Mitra et al. 1999). V posledních dvaceti letech se molekulárně genetické markery ukázaly oproti ostatním druhům markerů jako nejužitečnější (Mitra et al. 1999). Molekulární markery jsou totiž schopné zaznamenat i drobné genetické změny jako například jednobodové substituce na úrovni sekvence DNA, čímž dosahují největší citlivosti. Dále jsou velice početné a rozmístěné po celém genomu, takže mohou dobře popsat variabilitu a přestavby na všech chromozomech a mimojaderné DNA. Umělá selekce založená na vybraných molekulárně genetických markerech může proto hrát důležitou roli při vylepšování šlechtitelských strategií (Akey et al., 2010). Podobně jsou molekulární genetické markery základem pro tvorbu účelných transgenních modifikací u hospodářských zvířat (tzv. geneticky modifikované organismy, (GMO; Brophy et al., 2003).

Genetické markery můžeme rozdělit na markery proteinové, jejichž zástupcem jsou zejména alozomy a na markery na úrovni DNA řetězce - DNA markery (Toro et al., 2009) a karyotyp.

3.1 Proteinové markery

Proteinové markery zde uvádím spíše pro úplnost. Ačkoliv jsou historicky původnější a daly základ pro některé důležité práce mapující fylogenezi domácích zvířat, v dnešní době se již prakticky nepoužívají a byly prakticky zcela nahrazeny markery na úrovni DNA.

3.1.1 Alozomy

Metoda rekonstrukce příbuzenských vztahů pomocí alozymů (tj. proteinových variant) je založena na elektroforetické detekci rozdílů mezi jednotlivými variantami proteinů. Alozomy byly vůbec prvními molekulární markery použitými u hospodářských zvířat (Toro et al., 2009). Bohužel byly omezené počtem lokusů, které mohly být zkoumány, a úroveň polymorfismu u nich byla nízká. Kvůli těmto nevýhodám byly postupně zcela nahrazeny markery na úrovni DNA řetězce. Alozomy byly kupříkladu využity ke studiu fylogenetických vztahů mezi ovci (*Ovis*), kozami (*Capra*) a kamzíky (*Rupicapra*; Randi et al., 1991).

3.1.2 Imunodifúze

Imunodifúze (také imunoprecipitace) je založena na rozpoznávání proteinů pomocí monoklonálních protilátek (Restani et al., 2002). Na základě mezidruhové reaktivity protilátek lze usoudit na podobnou strukturu, a tudíž příbuznost proteinů. Pomocí této metody byla například zkoumána podobnost albuminů mezi opicemi a člověkem (Sarich a Wilson, 1967). Od doby, kdy došlo k rozdělení vývojových linií člověka a šimpanze, došlo i k nezávislému vývoji jejich albuminů, které i přesto zůstaly homologní a staly se proto ideálními pro výzkum pomocí této imunologické techniky. Ke zkoumání fylogeneze domestikovaných zvířat však nebyla tato metoda moc využívána. Výjimečným případem, kdy byla imunodifúze využita pro studium domestikovaných zvířat, je diverzifikace čeledi turovitých (*Bovidae*; Gatesy et al., 1992).

3.2 Markery na úrovni DNA řetězce

3.2.1 Mitochondriální DNA

Mitochondriální DNA (mtDNA) nese markery, které mají různou mutační rychlost a lze je tedy použít k řešení různě hlubokých fylogenetických divergencí. MtDNA má evolučně konzervativní strukturu a její jednotlivé oblasti se vyvíjí poměrně konstantní rychlostí (Bruford et al., 2003). Mitochondriální genom má obecně neobvykle vysokou mutační rychlost (Brown et al., 1979) a je dědičný pouze po maternální linii (Hughes, 2012), což usnadňuje fylogenetické analýzy. Výhodou také je, že na rozdíl od nejrůznějších úseků jaderné DNA (nuclear DNA, nDNA) pravděpodobně mtDNA nepodléhala během domestikace umělé selekci (Pääbo et al. 2004). Díky tomu lze zjistit, jaké volně žijící populace přispěly do genofondu domestikovaných zvířat nebo zdali domestikace proběhla pouze v určitém regionu. Vysoká mutační rychlost pak dovoluje i studium rozdílů mezi domestikovanou a volně žijící populací (Toro et al., 2009). Dědičnost mtDNA po maternální linii sebou však nese i jistá úskalí (Natanaelsson et al., 2006). Pomocí mtDNA je totiž možné popsat pouze historii její linie. Jelikož evoluci byla ovlivněna i paternální linií, výsledky mohou být často značně neúplné. V mitochondriální membráně se nachází protein cytochrom b (cytB; Kocher et al., 1989), který je kódovaný v mtDNA a široce se používá ke studiu taxonomie a fylogeneze. Kompletní sekvenování cytochromu b je však vzhledem k velikosti lokusu pracné a časově náročné, a proto se amplifikují pouze jeho vybrané části (Hsieh et al., 2001). Další částí mitochondriálního genomu, která se často používá pro zkoumání genetické

diverzity a evolučních vztahů mezi druhy, je D-loop (Sultana a Mannen, 2004). D-loop je součástí kontrolního regionu. Díky své menší velikosti a dostupnosti sekvencí u mnoha druhů je dobrým modelem pro studium evoluce nekódujících regionů (Sbisá et al., 1997). Všeobecně se dá říci, že mtDNA je nejpoužívanější markerem při hledání původu domestikovaných druhů zvířat.

3.2.2 Mikrosatelity (krátká tandemová repetice; short tandem repeats; STR)

Mikrosatelity jsou tvořeny opakujícími se jednoduchými sekvencemi. Mohou se často vyskytovat jako tandemové repetice o velikosti 2 - 6 bp (Zima et al., 2004). V genomu jsou široce rozptřené, což z nich činí velice vhodný prostředek pro mapování genomu. Můžeme je nalézt jak v nekódujících, tak v kódujících oblastech (Kashi et al., 1997). Počet opakování se může mezi jednotlivými lokusy a jedinci lišit (Ellegren et al. 1997). Tyto krátké opakující se sekvence mají vysokou mutační rychlost. Ke změně délky mikrosatelitů vede sklouznutí polymerázy. Dochází k nesprávnému rozdělení a následnému spojení DNA vláken během replikace repetitivních oblastí. Replikace vede k inzerci či delecii repetice, což způsobuje změnu délky alel (Kruglyak et al., 1998). Díky tomu jsou vhodné pro studium vnitrodruhové i mezidruhové diverzity (Toro et al., 2009). Mikrosatelity patří stejně jako alozymy mezi kodominantní markery, tj. na jejich základě lze rozpoznat, zdali je jedinec v daném genu heterozygot či homozygot (Holderegger et al., 2006). Charakteristické jsou také vysokým stupněm heterozygoty, multialeličností a snadnou detekcí pomocí polymerázové řetězcové reakce (*Polymerase chain reaction*, PCR; Váli et al., 2008). Jejich nevýhodou je, že se nejprve musí identifikovat vhodné primery pro jejich amplifikaci (Zima et al., 2004). Mají široké spektrum využití. Jsou vhodné pro forenzní studie (Moretti et al., 2001), testování paternity (Alford et al., 1994), zkoumání genetické variability a fylogeneze (Toro et al., 2009). Mezi hospodářskými zvířaty byl pomocí mikrosatelitů nejvíce studován domestikovaný skot (MacHugh et al. 1997; Freeman et al. 2006) a domestikované prase (SanCristobal et al., 2006a; Megens et al., 2008).

3.2.3 RFLP (polymorfismus délky restričních fragmentů)

RFLP patří mezi metody založené na PCR a hybridizaci. Specifické sekvence DNA jsou rozpoznány restričními enzymy a následně štěpeny (Lehman et al., 1991; Yu et al., 1999). Pomocí elektroforézy jsou restriční fragmenty rozdělené na agarózovém gelu podle jejich molekulární velikosti. Poté se DNA přenese pomocí kapilár na nitrocelulózu nebo

nylonovou membránu, kde dochází k hybridizaci sondami značenými pomocí radioaktivních markerů za pomoci prodloužení oligonukleotidového primeru. Rozdíly v genotypu mezi jedinci mohou mít za následek mnoho rozdílů v délce restrikčních fragmentů. Změna délky restrikčního fragmentu může být způsobena inzercí či delecí jednoho a více nukleotidů (Zima et al., 2004). Výhodou této metody je, že umožňuje rozlišení druhů i v případě, kdy je zkoumaný materiál tvořen pouze degradovanou DNA (Pfeiffer et al., 2004). V minulosti byl RFLP využit například k rozlišení dvou hlavních mtDNA haploskupin u ovcí (Hiendler et al., 2002). RFLP metoda se v dnešní době už skoro nepoužívá. Výjimkou byl například nedávný metodický výzkum, kde bylo RFLP testováno jako jedna z technik vhodných pro rychlejší a spolehlivější členění haplotypů, zjištěných na základě mtDNA u ovcí (Yüncü et al., 2013). Dále byla RFLP analýza využita kupříkladu k odhalení polymorfismu v mitochondriálním *cytB* genu u skotu, ovcí, koz, jelenů a srnců (Pfeiffer et al., 2004).

3.2.4 RAPD (polymorfismus náhodně amplifikované DNA)

RAPD patří mezi markery založené na PCR. Jako primery se u nich používají náhodně sestavené sekvence oligonukleotidů (Lynch a Milligan, 1994). Tyto sekvence nerozeznávají kódující a nekódující regiony. Zkoumání genomu je tedy náhodnější než u obvyklých metod. Počet lokusů, které mohou být touto metodou zkoumány, je tudíž v podstatě neomezený. Konečnou fází této metody je elektroforetická detekce na agarózovém gelu (Zima et al., 2004). RAPD markery jsou vysoce variabilní, jednoduché k použití, poměrně levné a rychlé, jsou však limitovány svým informačním obsahem (Holderegger et al., 2006). RAPD totiž patří mezi dominantní markery. Podle Lynche a Milligana (1994) mezi nevýhody RAPD markerů patří právě jejich dominance. Nelze rozlišit, zdali je amplifikovaný segment DNA z lokusu, který je heterozygotní či homozygotní. Dalším, dá se říci největším problémem je, že výsledky nejsou opakovatelné - různé várky PCR vycházejí odlišně (Zima et al., 2004). Důvodem je vysoká citlivost této metody. Dalším omezením je i fakt, že během PCR může dojít v důsledku PCR artefaktů k amplifikaci fragmentů, které se ani nenacházejí v templátu DNA.

Tento marker se může použít pro širokou škálu zvířecích druhů, nejvíce byl však používán při studiu fylogeneze domestikovaných slepic či ovcí. RAPD analýza kura domácího vedla k sestavení fylogenetického stromu, kde bylo zřetelně vidět 6 klastrů (Yap et al., 2010). Bylo analyzováno celkem 27 vzorků zahrnujících komerční linie a další domorodá plemena kura

z pobřeží Malajsie. Výsledných 6 klastrů bylo v souladu s lokalitami nálezu kura. Výsledky ukázaly, že RAPD je v některých případech vhodnou metodou pro detekci obecné populační struktury, díky níž lze odhalit genetické vztahy mezi jednotlivými liniemi a plemeny. Pomocí RAPD analýzy byli dále například zkoumány fylogenetické vztahy a genetická diverzita 3 tureckých plemen ovcí (Elmaci et al., 2007).

3.2.5 AFLP (polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů)

AFLP patří stejně jako RAPD mezi markery založené na PCR. AFLP analýza spočívá ve štěpení templátové DNA pomocí restričních enzymů, následuje ligace oligonukleotidových krátkých nástavců - adaptérů (krátké úseky DNA o známé frekvenci; Zima et al, 2004), poté dochází k seskupení výsledných fragmentů a následné amplifikaci pomocí speciálně navržených primerů (Vos et al. 1995). Jelikož fragmentů vzniká větší množství, než je potřeba, hlavním úkolem je tedy dále selekce (Zima et al., 2004). Restriční enzymy umožňují amplifikaci až 100 000 fragmentů, z nichž je posléze vybráno 50 - 100 (Vos et al., 1995). Používají se dva speciálně navržené primery, každý v jiném kole PCR (Zima et al., 2004). V prvním kole se používají primery se sekvencí komplementární se sekvencí adaptérů, kromě jedné báze, o kterou jsou delší. Cílem je vyselektování fragmentů, které mají na svých koncích tuto konkrétní bázi (konec fragmentu před připojeným nástavcem). V dalším kole jsou použity ještě delší primery, tudíž dochází ke zvýšení selektivity. Konečnou fází je analýza na polyakrylamidovém gelu či v sekvestoru (Vos et al., 1995; Zima et al., 2004).

AFLP je rychlá, spolehlivá a jednoduchá metoda, která napomáhá zobrazení polymorfismů u velkého množství jedinců, které mohou být způsobené inzercí, delecí, substitucí či přesmykem (Ajmone-Marsan et al., 2002). AFLP se může používat ke zkoumání fylogenetických vztahů a genetické příbuznosti mezi jedinci. Také ho lze označit jako užitečný nástroj pro vazebné mapování u domestikovaných zvířat. Dále je používáno jako molekulární technika vhodná pro DNA fingerprinting a analýzu rodičovství (Mueller a Wolfenbarger, 1999). Pomocí souboru AFLP markerů byla například zkoumána genetická diverzita evropských plemen prasat (SanCristobal et al., 2006b). Data ze 148 AFLP markerů byla použita ke genotypizaci 59 plemen, přičemž výsledky byly srovnatelné s předchozími studii, která používala mikrosatelitové markery (SanCristobal et al., 2006a). AFLP jsou velice užitečné zejména díky schopnosti seskupovat hlavní plemena a zobrazit geografické rozložení jejich linií. Nevýhodou AFLP je však jejich dominance, a tedy i neschopnost rozeznat

alelickou frekvenci. Proto není na škodu při měření genetické diverzity použít AFLP společně s mikrosatelity. Oproti mikrosatelitům, které mají rychlou evoluci a způsob změn - zvětšení či zmenšení tandemových repetit (což může vést ke splynutí těchto markerů a následnému podcenění genetických rozdílů mezi odlišnými populacemi či příbuznými druhy) mají AFLP tu výhodu, že díky mutacím, na kterých jsou založeny, mají méně dynamický způsob vývoje a jejich splynutí je pomalejší (Ajmone-Marsan et al., 2002).

3.2.6 SNP (jednoduchý nukleotidový polymorfismus)

SNPs jsou dalším typem genetických markerů. Daly by se označit jako jednoduchá záměna (substituce) v sekvenci DNA (Brookes, 1999). Podle konvence lze SNP variabilitu označit za polymorfismus, pokud se méně frekventovaná alela vyskytuje v množství nejméně 1% nebo vyšším. SNP mohou být bi-, tri-, tetra- i více-alelické polymorfismy. Uvnitř genomu jsou široce distribuované. Dále je vhodné zde zmínit rozdíl mezi substituční a mutační rychlostí (Flegr, 2005). Zatímco substituční rychlost je frekvence, s níž se v evoluci fixují mutace v dané pozici či v daném úseku DNA za časovou jednotku, mutační rychlost udává počet mutací vznikajících v dané pozici za časovou jednotku u všech členů populace. U domestikovaných zvířat mohou SNP přispět k lepšímu pochopení evoluce druhů, vytváření plemen a hlavně domestikace samotné (Fan et al., 2010). SNPs se mohou dále použít při studiu populační genetiky, která se zabývá vzájemnými vztahy mezi populacemi a genetickou skladbou populace (Brookes, 1999). Sekvenování nové generace (NGS, next-generation sequencing) umožnilo objevení tisíců markerů (např. právě SNP; Davey et al., 2011; Groenen et al., 2011). Jednou z metod sekvenování nové generace je například RAD sekvenování. Když už je soubor SNPs známý, lze použít ke genotypizaci SNP čipy. U mnoha hospodářských zvířat již došlo k vytvoření takových čipů, které se mohou použít k dalším asociačním studiím (BovineSNP50 Beadchip, Matukumalli et al., 2009; PorcineSNP60 Beadchip, Ramos et al., 2009; 600K SNP genotyping array pro kura, Kranis et al., 2013).

3.2.6.1 RAD-sequencing (sekvenování restrikčních míst asociovaných s DNA)

DNA vybraných vzorků je štěpena jedním či více restrikčními enzymy (Baird et al., 2008). První adaptér se skládá z forwardového primeru, nukleotidových kódů dlouhých 4 - 5 bp potřebných pro identifikaci vzorku (každý kód se liší nejméně dvěma nukleotidy) a sekvenčních primerových míst. Tento adaptér se naliguje na přečnívající konce fragmentů.

Fragmenty navázané na adaptér jsou následně sloučeny. Dále dochází k jejich náhodnému sdílení a selekci na základě jejich velikosti. Poté je DNA naligována na druhý adaptér. Struktura tohoto adaptéru je velice specifická. Zajišťuje, že pouze RAD značky navázané na prvním adaptéru budou amplifikovány během posledního kola PCR. Reverzní primer není schopen se na tento adaptér navázat. Důvodem toho je zaplnění komplementární sekvence, ke které dojde během prvního kola prodloužení díky forvardu přítomného na prvním adaptéru. Polymorfismy těchto výsledných osekvenovaných fragmentů se posléze mohou použít jako již zmíněné genetické markery (Davey et al., 2011). Pomocí RAD sekvenování mohou být zaznamenány genetické markery, které jsou náhodně rozmístěné v cílovém genomu (Davey a Blaxter, 2010). RAD sekvenování podobně jako RFLP a AFLP snižuje komplexitu genomu. Oproti těmto metodám má však tu výhodu, že je schopné zaznamenat markery současně. Tato metoda se může používat k populačním studiím druhů, které jsou limitovány nedostatečnými sekvenčními daty. RAD sekvenování umožňuje nejen objev SNP a genotypizaci. Díky odhaleným SNP lze následně provést i mnohem komplexnější analýzy jako je fylogeografie či kvantitativní genetika.

3.2.7 Variabilita počtu kopií (copy number variation, CNV)

CNV můžeme pozorovat jako změny DNA nacházející se roztroušeně po celém genomu. Jednotlivé repetice mají velikost větší než 1 kb a menší než 5 Mb a jsou složeny z variabilního počtu kopií - rozsáhlé inserce, delece, stejně tak i translokace, duplikace a inverze (Liu et al., 2010). Pokud je velikost CNV menší než 1 kb nazýváme ho indel (Bae et al., 2010). CNV způsobují změny struktury chromozomu a jsou důležitým zdrojem genetické variability (Liu et al., 2010). Dále je o nich známo, že ovlivňují genovou expresi a tento vliv na transkriptom pak způsobuje odchylky ve fenotypu, který může být spjat s některými komplexními nemocemi (např. centrálního nervového systému; Henrichsen et al., 2009). CNV tak hrají důležitou roli v evoluci. K nalezení tohoto zdroje genotypických a fenotypických změn se používají SNP čipy, které zahrnují sondy nejen pro detekci SNP, ale i CNV (BovineSNP50 Beadchip, Matukumalli et al., 2009; PorcineSNP60 Beadchip, Ramos et al., 2009) nebo array CGH (array comparative genomic hybridization; komparativní genomová hybridizace; Liu et al., 2010). Například při analýze různých fenotypů bylo zjištěno, že se CNV v genomu skotu nachází v nízké frekvenci (Bae et al., 2010). U skotu se CNV vyskytují nenáhodně a to především ve dvou různých chromozomálních oblastech: největší podíl CNV se nalézá v blízkosti subtelomerických a pericentromerických regionů. Obsah CNV se mezi různými

chromozomy liší. Nejbohatší na něj jsou chromozomy 5, 15, 18, 27, 29, a X. Stejně je tomu i v genomu lidí, myši a psů.

3.2.8 Delece a inserce (indel)

Indely jsou heterogenní třídou mutací, jejichž velikost je menší než 1 kb. Zahrnují delece, duplikace, transpozice, retrotranspozice, změny délky v tandemové repetitivní DNA a další genetické změny spojené s variabilitou v délce homologických sekvencí (Brandström a Ellegren, 2007). Jsou distribuovány po celém genomu včetně chromozomů X a Y a představují bohatý zdroj markerů. Indely umožňují nahlédnutí na celý proces evoluce a povahu mutací zkoumáním polymorfních změn v DNA příbuzných druhů nebo populací jedinců v rámci druhu. Tyto polymorfní změny pocházejí z jedné mutační události a mohou reprezentovat rozdíly ve frekvencích alel mezi geograficky odlišnými populacemi (Freitas et al., 2010). Brandström a Ellegren (2007) popsali celogenomový výskyt krátkých inzercí a delecí u kura domácího. Díky shotgun sekvenování jeho 3 plemen zjistili, že indely se nejčastěji vyskytují v tandemových duplikovaných sekvencích. Indely se mohou uplatnit při studiu genetické diverzity či fenotypických vztahů (Maw et al., 2012). Na základě indelů byl z domácích zvířat nejvíce studovaný kur. Pomocí 102 indelů byla zkoumána genetická diverzita barmských a indonéských domorodých kurů společně s kurem bankivským a kurem zeleným (Maw et al., 2012). Výsledky například ukázaly, že genetická diverzita byla vyšší u domorodých populací kura než u kura bankivského a kura zeleného. Při srovnávacích studiích vzdáleně příbuzných fylogenetických skupin (např. šimpanzů a lidí) bylo zjištěno, že indely ovládají proces časně divergence mezi druhy (Britten et al., 2003).

3.2.9 Rekombinace

Rekombinace je výměna segmentu mezi dvěma homologními chromozomy během meiózy, která vede k nové kombinaci genetického materiálu v gametách (Pagon et al., 1993 - 2014). Vazebné mapy umožňují studium evoluce genomu právě pomocí analýzy rekombinací (Tortereau et al., 2012). Rekombinace způsobuje rozlišení fylogenetické historie vedle sebe ležících sekvencí (uvnitř genů nebo mezi nimi). Různé části sekvencí tedy procházejí rozdílným evolučním procesem (Schierup a Hein, 2000). Mezi vlastnosti genomu, které souvisí s frekvencí rekombinace, patří hustota genů, genová exprese, obsah CG, epigenetické modifikace, ale i vnitropopulační a mezipopulační genetické odchylky a rozdíly (Tortereau

et al., 2012). Rekombinace může být důležitým faktorem ovlivňujícím úroveň polymorfismu (Mugal et al., 2013). Pokud je míra rekombinací vysoká, vykazují regiony pod selekcí se sníženou úrovní polymorfismu jen relativně krátkou délku (vzdálenost rekombinačních zlomů od selektované pozice). Není tedy překvapením, že rekombinace má veliký vliv na nukleotidovou diverzitu. Míra rekombinací souvisí také s velikostí chromozomu. Ve srovnání s delšími chromozomy mají kratší chromozomy obvykle vyšší míru rekombinací. Z hlediska rekombinací byl nejvíce studovaný kur domácí, jelikož prošel intenzivní umělou selekcí a oproti savcům vykazuje větší variabilitu ve velikosti chromozomů, a je tudíž skvělým modelem pro studium fenotypové diverzity. Výzkum ukázal, že míra výskytu SNP u kura je podobná ve všech chromozomech, kdežto míra rekombinací je vyšší v rámci mikrochromozomů (Fang et al., 2008). Regresní analýza ukázala, že u slepic má míra rekombinace opravdu velký vliv na nukleotidovou diverzitu (napomáhá zjištění genetické variability populace), jelikož rozdíly v míře rekombinace mohou vysvětlovat více než 30% polymorfních změn uvnitř lokusů (Rao et al., 2011).

3.3 Rodokmenové markery (Lineage markers)

3.3.1 Y chromozom

Většina studií zabývajících se domestikacím procesy je založena na analýze mtDNA (Natanaelsson et al., 2006). MtDNA je děděna po mateřské linii, tudíž je vhodná pro popsání evoluce maternální linie. Historie paternální linie může být popsána na základě markeru - Y chromozomu. Velkou výhodou je, že odhaluje i detailnější odchylky v mikrosatelitech, uložených na Y chromozomech. Tento marker je zajímavý zejména v tom ohledu, že dokáže odhalit systém evoluce a migrace, a to nejen moderních lidí (Lindgren et al., 2004). V současné době je známý pouze malý počet Y chromozomů, které byly sekvenovány (Li et al., 2013). Y chromozomová sekvence je z velké části neznámá a je fragmentovaná. U Y chromozomu je předpokládán nízký obsah genů a velké množství repetitivní DNA, často uspořádané do dlouhých, táhlých a téměř identických sekvencí. Toto uspořádání zabraňovalo využití shotgun sekvenování, které by umožnilo následné sestavení celé sekvence Y chromozomu. Zkoumání Y chromozomů je u mnoha druhů domestikovaných zvířat zajímavé zejména z toho hlediska, že u nich totiž často docházelo k nenáhodné inseminaci samic malým počtem vybraných samců (Meadows et al., 2006), tudíž díky tomu může být v každém plemeni podstatně snížena genetická diverzita (Lindgren et al., 2004).

Y chromozom nám tedy může hodně vypovědět o intenzitě selekce. Na základě všech zmíněných informací lze říci, že variabilita Y chromozomu je oproti autozomálním markerům podstatně menší. Pomocí tohoto karyotypového markeru byla například zkoumána plemena koní a jejich 14,3 kb nekódující Y chromozomová sekvence. U ovcí proběhla analýza SRY (sex determining region Y; pohlaví určující Y region) promotérovém regionu (Meadows et al., 2006). Jako druhý byl u nich analyzován mikrosatelitní lokus, který je přítomný na Y chromozomu a odhaluje řadu uzavřených repetit.

4. Poznatky o původu a příbuznosti domácích zvířat zjištěné na základě molekulárních metod

Vybraná hospodářská zvířata jsou řazena na základě doby, kdy došlo k jejich domestikaci. Celkem je zde zahrnuto 6 domestikantů, které jsou, dá se říci, nejvýznamnější.

4.1 Domestikace psa (*Canis lupus familiaris*)

Domestikovaný pes byl patrně vůbec prvním domestikovaným zvířetem. Došlo k rozvinutí oboustranně výhodného vztahu mezi ním a člověkem, což posléze dovolilo jeho selektivní křížení a vznik různých plemen (Lindblad-Toh et al., 2005). Plemena byla selektována zejména na takové fenotypické vlastnosti jako je barva či délka srsti, velikost nebo chování (Irion et al., 2003). Většina současně existujících plemen se však vyvinula až v 19. století. Dá se říci, že žádné jiné domácí zvíře nedisponuje tak širokou fenotypickou diverzitou, kterou lze vidět u čistokrevných domácích psů. Bohužel u nich byla selekce tak intenzivní, že pozvolna došlo ke ztrátě genetické variability, přičemž u některých plemen je ztráta mnohem markantnější než u jiných.

S postupnou migrací člověka docházelo i k rozšiřování areálu výskytu domestikovaného psa (Thallmann et al., 2013). Geografické a časové údaje o jeho původu však i po mnohaletém zkoumání zůstávají stále kontroverzní. Prozatím nedošlo k jednoznačnému závěru, jak vlastně celý domestikací proces probíhal. Na základě genetických dat bylo zjištěno, že počátky domestikacího procesu psa mají kořeny ve východní Asii, a to téměř před 15 000 lety (Vila et al., 1997; Savolainen et al., 2002). Komplikujícím aspektem při hodnocení domestikace tohoto druhu je ale fakt, že nejstarší fosílie domestikovaného psa byly nalezeny v Evropě (Belgie, Ukrajina a Rusko; Germonpré et al., 2009) a na Sibiři (Sablin a Khlopachev, 2002) a jsou datovány do doby před více než 30 000 lety.

Porovnáním sekvencí mtDNA druhů čeledi *Canidae* bylo jednoznačně zjištěno, že předkem domestikovaného psa je vlk (*Canis lupus*; Vila et al., 1997). Bylo provedeno sekvenování kontrolního regionu mtDNA 162 vlků z 27 lokalit a 140 domácích psů zastupujících 67 plemen 5 jejich kříženců. Jelikož existuje možnost, že potencionálním předkem mohou být i kojoti či šakalové, byly proto k výzkumu sekvenovány i kontrolní regiony těchto dvou druhů. Kontrolní regiony vlků a psů se ukázaly jako vysoce polymorfní. U vlka bylo nalezeno celkem 27 haplotypů, které ukazovaly jejich geografickou specifitu - mnoho lokalit mělo přítomný haplotyp unikátní pro konkrétní oblast. Pouze 4 haplotypy však byly široce distribuované. U psa se nacházelo 26 haplotypů, z nichž se pouze jeden vyskytoval u vlků ze západního Ruska a Rumunska. Pozorovaná diverzita mtDNA haplotypů však nebyla specifická pro jednotlivá plemena. Často bylo viditelné sdílené sekvence mezi odlišnými plemeny. Sekvence psa se od kojota a šakala lišily nejméně ve 20 substitucích a 2 inzercích, kdežto od vlka maximálně ve 12 substitucích. Tudíž na základě těchto výsledků lze konstatovat, že předkem domácího psa jsou vlci. Nelze však vyloučit, že k dodatečnému přikřížení kojotů či šakalů k některým plemenům mohlo dodatečně dojít. Jelikož byl tento výzkum založen na analýze mtDNA, možné křížení mezi samicí psa a samcem kojota či šakala může odhalit analýza Y chromozomu. Ding (2001) provedli tuto analýzu na 151 psech, 12 vlcích a 2 kojotech. Osekvenování 14437 bp těchto Y chromozomových DNA sekvencí umožnilo nahlédnutí na fylogenezi psiho Y chromozomu. Analyzované báze se skládají z shotgun sekvencí nacházejících se v 18 odlišných amplifikačních fragmentech. Haplotyp vlka se od haplotypu psa lišil nejvíce 4 substitucemi. Haplotyp kojota se od nejbližšího haplotypu psa lišil o 15 substitucí. Proto i v tomto případě byl stanoven jako předek domácího psa vlk. Získané výsledky naznačují, že došlo k vícenásobné nezávislé domestikaci (Vila et al., 1997; Ding et al., 2001).

Domestikace měla za následek různý vývoj psa a vlka, populační kolísání a následné odlišení frekvence alel mikrosatelitů (Randi a Lucchini, 2002). Mikrosatelity byly natolik variabilní, že pro každý z těchto druhů byl zjištěn unikátní genotyp. Výzkum se zabýval hybridy vzniklými křížením vlka a domácího psa. Hybridizace by se dala označit jako zdroj nových adaptivních genetických změn. Na základě mtDNA bylo možné identifikovat hybridy pocházející z křížení samice psa a samce vlka nebo jejich zpětného křížení. Pomocí analýzy Y chromozomu bylo odhadnuto, že psi pocházejí z nejméně 13 vlčích Y chromozomových haplotypů a nebyla zde nalezena žádná známka hybridizace (Ding et al., 2001). Tyto výsledky jsou však jasně závislé na vybraných plemenech. Ve vojenských archivech existuje dokumentace o experimentálním křížení vlků se psy pohraniční stráže (Šebková et al., 2008).

Tento projekt vedl Ing. Karel Hartl, který se zabýval právě křížením euroasijského vlka a německého ovčáka. Je důležité zde zmínit, že opakovaná výměna genetického materiálu mezi psy a vlky, může být do budoucna důležitým zdrojem variability potřebné pro umělou selekci (Vila et al., 1997). Hybridizaci lze pozorovat i mezi kojoty a vlky. Hybridizace mezi kojoty a vlky přinesla do genofondu kojota adaptivní alely. Tyto získané alely například umožnily kojotům expanzi do rozsáhlejšího geografického areálu (Roy et al., 1994). Velice zajímavé výsledky přinesl výzkum Lehmana (1991), který zkoumal mtDNA genotypy vlka a kojota, přičemž zjistil, že do genotypu vlka se mtDNA kojota dostala pravděpodobně díky hybridizaci, zatímco žádný ze studovaných kojotů neměl ve svém genotypu přítomnou mtDNA vlka.

V genomu domestikovaného psa bylo objeveno více než 2,5 milionu SNP (Lindblad-Toh et al., 2005). Díky tomu bylo možno vytvořit i speciální SNP čip - microarray chip, na kterém bylo zahrnuto 27 000 SNP (Karlsson et al., 2007). Tento čip byl vytvořen pro další celogenomové asociační studie. Celkem došlo ke genotypizaci 252 jedinců, pocházejících z 21 odlišných plemen a 2 vlků. 95,1% použitých SNP mělo minoritní alelovou frekvenci větší než 5% u všech analyzovaných psů. Genetické rozdíly pozorované mezi plemeny psů jsou vysoké. Může za to především efekt hrdla láhve, ke kterému došlo při vytváření plemen.

Analýza 654 domácích psů z Evropy, Asie, Afriky a Ameriky a 38 euroasijských vlků ukázala, že jejich sekvence spadají celkem do 4 fylogenetických skupin (A, B, C, D). Dále byla odhalena i přítomnost páté fylogenetické skupiny (E), která zahrnovala izolované haplotypy. Na základě tohoto zjištění bylo stanoveno, že populace domácího psa pochází z nejméně 5 vlčích maternálních linií. Od společného předka byly všechny skupiny stejně vzdáleny. Podle místa nalezení haplotypu bylo stanoveno, že skupina A pochází z východní Asie a skupina B z Evropy a jihozápadní Asie. Díky vysoké mobilitě vlků byly od sebe pozorované mtDNA haplotypy jen málo geograficky rozdělené. Tudíž lze konstatovat, že nalezení vlčích haplotypů, které jsou příbuzné domácím psům, rozhodně není dokladem pro stanovení místa potencionální domestikace. Ve výsledku více než 95% haplotypů spadalo do fylogenetických skupin A, B či C, jejichž frekvence byla navíc ve všech regionech podobná. Populace dnešních moderních psů tudíž pravděpodobně pocházejí z jednoho genofondu obsaženého v těchto třech skupinách. Genetická variabilita odlišných populací byla následně pozorována pomocí sítě. Východoasijské haplotypy byly rozmístěny po celé síti. U evropských a západoasijských haplotypů bylo naopak vidět, že některé z nich se v určitých regionech vůbec nenacházejí.

4.2 Domestikace tura domácího (*Bos primigenius f. taurus*)

Tur domácí je jeden z ekonomicky nejdůležitějších druhů. Využíván je hlavně pro maso a mléko. Jen v České republice se v roce 2013 odhadem spotřebovalo 128 tis. tun hovězího masa a více než 2 miliardy litrů mléka (Ministerstvo zemědělství, 2013a). Při zkoumání původu domestikovaného skotu byla využita nejširší škála molekulárních markerů. Domácí skot v současné době můžeme rozdělit do dvou poddruhů - zebu (*Bos primigenius indicus*) a tur (*Bos primigenius taurus*), které od sebe lze odlišit ihned na první pohled podle přítomnosti (zebu) či absence (tur) hrbu (Loftus et al., 1994). Zebu se vyskytuje zejména v Indii a střední Africe. Tura můžeme nalézt po celé Evropě a na severu či západě Afriky. Předkem tura domácího i zebu je dnes již vyhynulý pratur (*Bos primigenius*), který byl v minulosti široce rozšířen po celé Eurasii (Loftus et al., 1999). Celkem byly identifikovány tři rasy tohoto pratura, a to *B. primigenius primigenius* (Evropa), *B. primigenius namadicus* (Asie) a *B. primigenius opisthonomus* (Severní Afrika; Loftus et al., 1994). Tur s největší pravděpodobností pochází z *B. p. namadicus*, který byl domestikovaný na Blízkém východě. Otázkou bylo, jak došlo k domestikaci zebu. Existovaly zde některé nesrovnalosti, které mohly pramenit například ze sekundární introgrese mtDNA příbuzných druhů a to bantenga (*Bibos banteng*), gaura (*Bibos gaurus*), bizona (*Bison bison*) či jaka (*Bos grunniens*). Při porovnávání sekvencí mtDNA se však ukázalo, že sekvence těchto druhů se liší jak od zebu, tak i od tura. Na základě archeologických pozůstatků nalezených v Iráku a v Afghánistánu bylo ve výsledku zjištěno, že předkem zebu je též *B. p. namadicus*. Toto zjištění naznačuje v těchto místech přítomnost alternativního domestikačního centra. K oddělení linií zebu a tura došlo na základě analýzy mtDNA minimálně před 200 000 lety (Loftus et al., 1994). Bradley (1996) toto zjištění potvrzuje, jelikož na základě analýzy sekvencí mtDNA odhadl, že k divergenci došlo před 117 000 - 275 000 lety. Podle výzkumu MacHugh (1997) založeného na mikrosatelitech došlo k divergenci před 610 000 až 850 000 lety. Díky těmto zjištěním je velice pravděpodobné že došlo ke dvěma domestikačním událostem. Poslední pratur byl údajně okolo roku 1627 zabit v Polsku.

Počátky domestikace skotu sahají až do období před 10 000 lety (Loftus et al., 1999). Prvním jasným důkazem je však až analýza ostatků skotu nalezených v Çatal Hüyük (Turecko, jižní Anatolie), která ukázala, že skot zde byl domestikován před nejméně 8 400 lety (Perkins, 1969). Další evidence pochází z údolí Indu (Mohenjo Daro a Harappan), kde byly nalezeny fosilie jak tura, tak zebu, jejichž stáří bylo přibližně 4 500 let (Loftus et al.,

1994). Fylogenetická analýza 6 evropských, 3 asijských a 4 afrických plemen skotu ukázala zjevný rozpor mezi asijskými a afro-evropskými plemeny. Sekvence jejich mtDNA totiž spadaly do odlišných linií. Zkoumáním D-loopu bylo zjištěno, že africká plemena turů a zebu vykazují vysokou podobnost evropským turům, a naopak se výrazně liší od asijských plemen zebu. Důvodem tomu můžou být dvě následné nezávislé domestikační události anebo nedostatek mtDNA samic, jelikož ke genovému toku linie zebu mohlo docházet hlavně díky samcům. Poslední z důvodů potvrzuje i MacHugh (1997). Zebu se do Afriky dostal společně s Araby a to přibližně v roce 700 n. l. Jelikož je tento poddruh velice odolný proti aridním podmínkám, byl v Africe zvláště ceněný. V Africe se v této době nacházeli pouze tuři, kteří vůči suchu nebyli tolik odolní. Z ekonomických důvodů Arabové přivedli hlavně samce. Stačil totiž jediný býk na celé stádo samic tura, který mohl dát za vznik hybridnímu potomstvu odolnému proti suchu. Díky tomu tudíž africký skot nemá mitotyp zebu, zato však je u sameců fixovaný jeho Y chromosom. Dalším faktorem, kvůli kterému došlo k rychlejšímu šíření zebu do Afriky, byla jeho odolnost vůči moru (Epstein, 1971 cit. podle MacHugh et al., 1997). Tato nákaza se do Afriky dostala spolu s ním z Asie a zebu byl díky delší expozici vůči ní odolnější. Většina východoafrického taurinního skotu, která neměla zebuidního předka byla zdecimována.

První studie zabývající se domestikací tura pro svůj výzkum používaly zejména proteinové markery. Pomocí alozymů byla zkoumána celá čeleď turovitých (Georgiadis et al., 1990). V tomto výzkumu se například přišlo na to, že kromě antilop jsou všechny zkoumané triby monofyletické. Postupem času byly proteinové markery nahrazeny za markery na úrovni DNA, jelikož se jejich využití ukázalo jako efektivnější. Jedněmi z takových markerů, které byly použity pro studium skotu mikrosatelity. Například MacHugh (1997) detekovali celkem 20 mikrosatelitových lokusů, které použili k analýze celkem 20 odlišných plemen skotu z Afriky, Evropy a Asie. Výzkum odhalil, že plemeno s největší alelickou diverzitou je Maure pocházející ze subsaharské Afriky (Senegal). Nejmenší je naopak přítomna u irského plemene Kerry. Společně s ostatními africkými plemeny zebu byla populace plemene Maure ovlivněna křížením tura a zebu. Pozorovaná vysoká alelická diverzita je tudíž nepochybně výsledkem křížení, kdy došlo k přísunu alel z obou poddruhů. Plemena zebu navíc vykazují nejvyšší míru heterozygotů. Freeman (2006) se též zabývali využitím mikrosatelitů při studování genetické diverzity skotu. Ve své studii zahrnuli poněkud širší vzorek jedinců obrovského geografického rozsahu, který uspořádali do 3 datasetů. První obsahoval genotypy získané z celkem 50 afrických, asijských a evropských plemen. Druhý zahrnoval 1530 jedinců seskupených do 36 plemen, z nichž největší část pocházela z Afriky. Na třetím datasetu se

vyskytovalo též 36 plemen, která byla zajímavá zejména svou geografickou distribucí. Spadala sem hlavně plemena z Blízkého východu, Evropy a Indie. Bylo zjištěno, že největší míra heterozygotů se vyskytuje u plemen z Blízkého východu, naopak nejmenší míra heterozygotů byla pozorována u západoafrických plemen, dále u irského plemene Kerry a anglického plemene Angus. Stejně tak tomu bylo i u alelické diverzity. Zjištění vyplývající z této studie jsou v souladu s výsledky MacHugh (1997). Jelikož ve své studii nezahrnuli Blízký východ, největší frekvenci heterozygotů pozorovali u západoafrického plemene Maure.

Stejně jako u prasat či kurů byla i u skotu provedena identifikace SNP a následného vytvoření SNP čipu - konkrétně BovineSNP50 Beadchipu, který dovoluje analýzu skoro 54 000 SNP (Matukumalli et al., 2009). Pomocí BovineSNP50 Beadchipu bylo při analýze genomu identifikováno celkem 855 CNV a 368 CNVRs (společné regiony CNV; Bae et al., 2010). CNVRs mohou být použitelné pro analýzu vztahů mezi genotypem a fenotypem. Představují například důležitou genomovou informaci pro identifikaci genů spojených s produktivitou masa. Existují i další výzkum, jehož hlavním cílem bylo provést celogenomovou analýzu CNV. Liu (2010) pomocí array CGH na jehož panelu bylo zahrnuto celkem 90 jedinců (11 turů, 3 zebu a 3 smíšená masná a dojná plemena) identifikovali 200 kandidátních CNVRs. Z těchto CNVRs celkem 177 bylo vysoce spolehlivých a více než polovina z nich (89) se nalézala u více jedinců a plemen. Mnohonásobný výskyt byl u 49 z nich s frekvencí vyšší než 5%, tudíž je lze považovat za potenciální kandidátní polymorfismus v počtu kopií (CNV) - pokud jsou tedy odvozeny z alel pocházejících ze stejného předka. Byla sestavena mapa, díky které bylo možné vidět rozdíly CNV mezi jednotlivými plemeny skotu. Analýza posléze odhalila rozdíly ve frekvencích CNV specifických pro jednotlivá plemena a zjistila, že reflektují vše, co je známé o jejich původu. Právě tyto rozdíly ve frekvenci CNV u plemen skotu daly za vznik hypotéze, že některé CNV pravděpodobně vznikly až nezávisle v plemenech a jsou tedy spojeny s jejich utvářením a adaptací. Z toho všeho vyplývá, že CNV přispěly k rozdílům mezi plemeny.

4.3 Domestikace ovce domácí (*Ovis aries*)

Původ domestikované ovce je i přes veškeré snahy stále nejistý a kontroverzní (Guo et al., 2005). V jihozápadní Asii existovaly neolitické osady, které jsou obecně považovány za nejstarší domestikáční centrum (Pedrosa et al., 2005). Před 9000 lety se toto místo stalo

primárním centrem domestikace ovcí. Ovce byly domestikovány zejména pro vlnu, maso a mléko.

Tapio (2006) sekvenovali kontrolní region mtDNA celkem 406 nepříbuzných jedinců ze 48 plemen. Zjistili, že se u ovcí nalézají tři maternální linie. Bylo identifikováno 210 haplotypů, které byly posléze rozděleny do 4 haplotypových skupin (A, B, C, D). Z tohoto množství haplotypů bylo celkem 159 pozorováno pouze jednou, kdežto nejfrekventovanější haplotyp dosahoval 61 výskytů. Fylogenetická analýza ukázala, že varianty mtDNA třech haplotypových skupin pocházejí z velmi malé ovčí populace. Nejméně 4 různé populace volně žijících muflonů by mohly být brány jako potencionální předci domestikované ovce (Tapio et al., 2006). Tato studie je v souladu s hypotézou nejstaršího domestikačního centra. Všechny haplotypové skupiny byly nalezeny v oblasti Kavkazu. Odhadovaný čas expanze je, kromě jedné skupiny, která vykazuje časnější expanzi, podobný. Jako první expandovala skupina A před 9000 lety, další ji následovaly přibližně za 3000 let. Haplotypová skupina A s nejčasnější expanzí byla nalezena u plemen pocházejících z oblasti Kavkazu a centrální Asie (Tapio et al., 2006). Haplotypová skupina B převládá v evropských plemenech a nachází se u evropského muflona (*Ovis musimon*). Vysvětlením může být nezávislá domestikační událost v Evropě s následným genovým tokem do Asie. Tato hypotéza je však nepravděpodobná. Pravděpodobně došlo k silnému maternálnímu bottlenecku v době založení evropské populace z ovcí pocházejících z Blízkého východu. Tato domestikační událost se však rozhodně udála později než proces primární domestikace na Blízkém východě. Ovce se do Evropy dostaly pravděpodobně až 3000 let po primární domestikaci. Haplotypová skupina C byla rozšířena zejména v poslední době. K jeho odvození z volně žijících ovcí došlo později než u prvních dvou haplotypů. Podle časového odhadu k této události došlo přibližně 2000 - 3100 let po primární domestikaci. Plemena s tímto haplotypem se nachází především v polopouštích a stepích centrální Asie, Číny a oblasti Kaspického moře (Tapio et al., 2006; Guo et al., 2005). Areál rozšíření této haplotypové skupiny se překrývá s rozšířením tzv. tlustoocasých ovcí, které jsou jednou ze základních plemenných skupin ovcí, která je stanovena podle tvaru a délky ocasu). Čtvrtý haplotyp byl nalezen pouze u jedné z Kavkazských ovcí. Po důkladném prozkoumání se došlo k závěru, že skutečně jde o další haplotyp a nejedná se o sekvenční artefakt pocházející z nukleárního pseudogenu.

Studie založená na analýze cytB a částí kontrolního regionu dokázala identifikovat i pátou haplotypovou skupinu (Meadows et al., 2011). Tento haplotyp byl nalezen pouze u jedné z ovcí, jejíž vzorek byl získán v Turecku. Dále potvrdili, že argali (ovce středoasijská; *Ovis*

ammon) a urial (ovce stepní; *Ovis vignei*) opravdu s vysokou pravděpodobností nejsou předky domestikované ovce.

Nejen plemena evropských domestikovaných ovcí se vyznačují nedostatkem heterozygotů (Handley et al., 2007). S největší pravděpodobností je jejich nedostatek ovlivněn umělou selekcí a nenáhodným párováním vedoucím k inbreedingu. Geografická izolace a umělá selekce vedla ke snížení vnitrodruhové variability a zvýšení mezidruhové variability.

Dalším genetickým markerem, který byl využit pro studium evoluce, plemenné příbuznosti a v neposlední řadě samotného domestikačního procesu ovcí je Y chromozom (Meadows et al., 2006). Samice povětšinou zůstávají v populaci, ve které se narodily, kdežto samci jsou náchylnější k migraci. Tudíž je Y chromozom důležitým markerem, který může pomoci při sestavování fylogeneze. Výzkum se zabýval globální distribucí samčích linií. Celkem bylo analyzováno 65 plemen pocházejících z Evropy, Asie, Afriky, Austrálie, Karibiku a Středního východu. Za účelem zjištění ancestrálního stádia MSY (samčí specifická oblast Y chromozomu; male-specific region of the Y chromosome) lokusu zde byly zahrnuty i 4 volně žijících druhy. Tyto volně žijící druhy měly také napomoci nahlédnout na jejich vztah s domestikovanými zvířaty. Výzkum odhalil, že v každém jedinci se nacházely alely A-oY1 a G-oY1, které jsou přítomné na Y SNP 1 (oY1) - jednom z pozorovaných lokusů. Toto zjištění naznačuje, že A-oY1 je alelou získanou od společného předka. Alele G-oY1 dala za vznik mutační události, která se pravděpodobně udála díky nedávné speciaci, která zapříčinila vymezení linií domestikovaných ovcí. Díky pozorování dvou Y lokusů bylo odhaleno 11 haplotypů.

4.4 Domestikace prasete domácího (*Sus scrofa domestica*)

Prase domácí je celosvětově jedním z nejdůležitějších domestikovaných druhů. Primárně se využívá jako zdroj potravy. Jen v České republice se v roce 2013 odhadem spotřebovalo téměř 555 tis. tun vepřového masa (Ministerstvo zemědělství ČR, 2013b). Dále jsou prasata využívána jako nejspolehlivější zvířecí model pro zkoumání lidských onemocnění (Fadista et al., 2008). Důvodem je jejich fyziologická a anatomická podoba člověku, která je ve srovnání s ostatními laboratorními druhy nejvyšší. Zajímavostí u prasat jsou jejich rozdíly v karyotypu, které mohou být použity jako karyotypové markery naznačující, kde vlastně došlo k domestikaci. Některé populace divokých prasat mají karyotyp $2n=36$, jiné zase $2n=38$. Karyotyp $2n=38$ je přítomný u všech domácích prasat (Giuffra et al., 2000). Právě analýza mtDNA kontrolního regionu evropských divokých prasat s karyotypem $2n=36$

ukázala jejich odlišení jednou centrickou fúzí od divokých prasat z centrální Evropy, Asie a všech domácích prasat (Fang a Andersson, 2006). Nejčastější haplotypy nalezené u divokých prasat s $2n=36$ karyotypem sice rozhodně nejsou identické haplotypům domácích prasat, ale dá se říci, že jsou jim blízce příbuzné.

Počátky domestikace prasete domácího sahají až do doby před 9000 lety (Giuffra et al., 2000). Ke zjišťování, kdy tato událost proběhla, se nemusí používat pouze molekulární metody. Existují i výzkumy, které se zabývají zkoumáním původu prasete domácího z úplně jiného úhlu pohledu. Například Cucchi (2011) se zabývali hledáním místa, kde došlo k primární asijské domestikaci. Pro svou studii vybrali ostatky prasat celkem ze 4 klíčových neolitických nalezišť (severní, střední a jižní Čína). Klíčovým fenotypickým markerem pro ně byly druhé stoličky (M2). U moderních volně žijících a domestikovaných populací můžeme pozorovat značné rozdíly jak ve velikosti, tak ve tvaru těchto stoliček. Nejvýraznějším rozdílem je právě jejich tvar. Během domestikace došlo ke snížení robustnosti stoličky a prodloužení korunky. Na základě získaných genetických dat se ukázalo, že k nezávislé asijské domestikační události došlo v Číně (přesně v provincii Jiahu), a to nejméně před 6600 lety.

Předkem domácích prasat je prase divoké (*Sus scrofa*). Sekvenováním kódující sekvence mitochondriálního genu *cytB* a kontrolního regionu (D-loopu) byly odhaleny jeho 3 odlišné monofyletické mtDNA skupiny. Při zkoumání původu prasete domácího získaná genetická data odhalila četná centra napříč celou Eurasií, kde došlo k primární domestikaci (Larson et al., 2005). Je velice pravděpodobné, že došlo k nezávislé domestikaci prasat v Evropě a Asii. Tento fakt lze potvrdit na základě sekvencí mtDNA. Některé sekvence domácích prasat jsou blízce příbuzné sekvencím evropských divokých prasat, kdežto jiné zase sekvencím asijských divokých prasat (Giuffra et al., 2000). K diferenciaci těchto dvou linií z jejich společného předka došlo podle odhadu Giuffry (2000) přibližně před 500 000 lety, tedy mnohem dříve, než je datován počátek domestikace. K tomuto zjištění dospěl na základě mezipopulačních vzdáleností mtDNA sekvencí *cytB*. Toto zjištění je však v rozporu se dvěma studiemi. Podle Kijas a Andersson (2001) došlo k diferenciaci již před 900 000 lety. Svůj odhad stanovili na základě již dříve stanovené substituční rychlosti specifické pro každou mtDNA funkční komponentu savců. Mezi komponenty, díky kterým byl stanovený odhad vyšší, patřila centrální oblast kontrolního regionu a tRNA geny.

V Evropě můžeme nalézt dvě haplotypové skupiny, které naznačují nezávislou domestikační událost v rámci jedné z hlavních linií. Konkrétně se tato událost týkala nejméně dvou linií prasete divokého (Larson et al., 2005). Na základě statistické analýzy můžeme

pozorovat, že však mohlo být domestikováno i několik dalších linií. Jediným regionem, pro který jsou oba tyto haplotypy původní je Německo. Díky tomu lze soudit, že centrem evropské rané domestikace je střední Evropa. První evropská haplotypová skupina se skládala povětšinou z evropských a izraelských divokých prasat a dále se v ní nejvíce vyskytovala evropská domácí prasata. Druhá evropská haplotypová skupina se vyskytovala pouze u tří jedinců pocházejících z jižní Evropy (Giuffra et al., 2000).

Analýza asijských haplotypů ukázala rychlou, avšak méně zřetelnou expanzi (Larson et al., 2005). Mezi několika východoasijskými domácími prasaty byly nalezeny dva haplotypy přítomné u prasete divokého. Asijské haplotypové skupiny zahrnovaly japonská divoká prasata, čínská domácí prasata („Meishan“) a část evropských domácích prasat (Giuffra et al., 2000). K introgresi tohoto typu haplotypu do evropských prasat došlo pravděpodobně během 18. a začátkem 19. století, kdy jsou datovány počátky šlechtění. Hlavním cílem bylo vylepšení tloušťky a reprodukčních vlastností. Celkem 3 primární haplotypy domácích a volně žijících prasat byly celosvětově rozšířeny (Larson et al., 2005).

Jedním z molekulárních markerů, který byl široce používán ke studiu genetické diverzity plemen prasat, jsou mikrosatelity (Fang et al., 2005; SanCristobal et al., 2006a; Megens et al., 2008). Například pro zkoumání genetické diverzity evropských prasat bylo vybráno celkem 58 populací zahrnujících komerční linie, místní plemena a mezinárodní plemena (SanCristobal et al., 2006a). Jako vnější skupina bylo zahrnuto i čínské domácí prase. Z každé populace byly odebrány vzorky z 50 jedinců, které byly dále zkoumány pomocí 50 mikrosatelitů. Byla pozorována podstatná variabilita uvnitř jednotlivých plemen. Mezi plemeny byla kromě několika výjimek (3 španělská a 2 anglická místní plemena) viditelná struktura ve tvaru hvězdicového haplotypového stromu. Díky vzdálenosti mezi plemeny bylo možné vidět, že národní varianty hlavních plemen se klastrují okolo plemen, ze kterých vycházejí (plemeno Landrace - varianty: finská, dánská, francouzská, italská, norská, irská). Dále byl mezi plemeny pozorovaný pokles heterozygotů, což mohlo být způsobeno genetickým driftem. Právě drift může být hybnou evoluční silou ovlivňující genetické zázemí. Pozorované mutace mohly pravděpodobně přispět k rozdílům mezi čínskými a evropskými domácími prasaty. U čínského prasete bylo nalezeno velké množství privátních alel, z nichž se pouze pár vyskytovalo v evropských populacích. Výsledná zjištění jsou v souladu s rozdělením prasat do již zmíněných dvou hlavních linií (evropské a asijské).

Megens (2008) zkoumali biodiverzitu plemen prasat z Číny a Evropy. Uvnitř čínských plemen bylo možné vidět zajímavou geografickou strukturu. Celkem prasata klastrovala do 6 geografických oblastí (Fang et al., 2005; Megens et al., 2008). Tato struktura však nebyla

pozorovatelná u evropských prasat (Megens et al., 2008). Fylogenetická analýza však neodhalila žádnou geografickou strukturu, spíše bylo viditelné hromadné seskupení. Získané výsledky potvrzují, že evropská a čínská plemena spadají do dvou odlišných vývojových skupin. Liší se nejen tím, jak došlo k jejich domestikaci a formování jednotlivých plemen, ale také svou rozmanitostí.

Groenen (2012) sekvenovali 10 nepříbuzných jedinců divokého prasete z různých geografických oblastí. Celkem identifikovali 17 210 760 SNP. Množství SNP, které byly nalezeny u 4 asijských divokých prasat, bylo vyšší než u 6 evropských divokých prasat. Pouze 2 mil. SNP bylo sdílených. Ramos (2009) vytvořili Beadchip, na kterém je zahrnuto 64 232 SNP. Využití tohoto čipu mělo velký potenciál pro další asociační studie. Díky tomuto PorcineSNP60 Beadchipu například bylo u prasat při mapování genomu odhaleno 49 CNV na 13 autozomálních chromozomech, které mohou být použitelné při studiu genetické variability tohoto druhu (Ramayo-Caldas et al., 2010).

4.5 Domestikace kura domácího (*Gallus gallus domesticus*)

Domestikovaného kura lze zařadit mezi nejrozšířenější domestikovaná zvířata (Tixier-Boichard et al., 2011). Již po tisíciletí je používán jako důležitý zdroj potravy. Jen v České republice se za rok 2013 dle odhadu spotřebovalo téměř 2,5 mld. vajec a 333 tis. tun kuřecího masa (Ministerstvo zemědělství ČR, 2013c). V neposlední řadě stojí za zmínění i jeho využití k dekoračním či náboženským účelům a zábavě. Během 20. století došlo u kura domácího k výrazné umělé selekci (Rubin et al., 2010). Cílovými vlastnostmi bylo zejména zvýšení produktivity vajec a váhového přírůstku.

Díky domestikaci a šlechtění v dnešní době můžeme pozorovat širokou škálu plemen domestikovaného kura (Granevitze et al., 2007). Velikým nebezpečím je však snižování jejich genetické diverzity, k níž došlo hlavně kvůli intenzivní selekci v šlechtitelských programech. Vývoj komerčních linií kura z velké části nahradil původní plemena. Stále se zvyšuje počet vzácných plemen, u nichž může dojít ke ztrátě existující genetické informace. Jelikož tato plemena mohou být do budoucna významným zdrojem genetické variability pro další křížení či výzkum, je důležité vyvinout veškeré úsilí, aby došlo k jejich zachování (Hillel et al., 2003).

V současné době se v Asii nacházejí 4 volně žijící druhy rodu *Gallus* (kur bankivský - *G. gallus*, kur Sonneratův - *G. sonneratii*, kur zelený - *G. varius* a kur srílanský - *G. lafayetii*), které se od sebe navzájem liší svým geografickým rozšířením a morfoloickou stavbou

(Tixier-Boichard et al., 2011). Kur zelený se vyskytuje pouze na Jávě, kur srílanský na Srí Lance a kur Sonneratův v jihozápadní Indii. Kur bankivský je rozdělený do pěti poddruhů, které se vyskytují v různých geografických oblastech: *G. gallus gallus* (Thajsko, Kambodža, Laos, jižní Vietnam), *G. g. murghi* (severovýchodní Indie), *G. g. spadiceus* (Malajsie, Thajsko, Barma, Čína), *G. g. bankiva* (Jáva, Sumatra) a *G. g. jabouillei* (jižní Čína a severní Vietnam).

Na základě archeologické evidence bylo zjištěno, že předkem moderních plemen drůbeže je pravděpodobně kur bankivský (*Gallus gallus*; Kanginakudru et al., 2008). Archeologické pozůstatky byly nalezeny v severovýchodní Číně, a to celkem na 16 místech, a v údolí řeky Indus (West a Zhou, 1998). K domestikaci v severovýchodní Číně došlo přibližně před 6000 lety. Kur bankivský je domestikovanému kuru morfologicky nejbližší a navíc jejich křížení dává za vznik fertlnímu potomstvu. Totéž se ovšem nedá říct o křížení kura domácího s ostatními volně žijícími druhy (Tixier-Boichard et al., 2011). Nejvíce studií se shoduje na verzi mnohonásobných nezávislých domestikačních událostí, ke kterým došlo v jižní a jihovýchodní Asii (Kanginakudru et al., 2008; Liu et al., 2006). U kura domácího můžeme nalézt haplotypy tří poddruhů kura bankivského - *G. g. gallus*, *G. g. spadiceus* a *G. g. murghi*. Právě rozmístění indických kurů domácích v různých haplotypech naznačuje jejich mnohonásobný původ. Podle Fumihito (1994, 1996) bylo místem primární domestikace Thajsko a jeho přilehlé oblasti, kde žije kontinentální poddruh kura bankivského - *G. g. gallus* a jemu blízké příbuzný *G. g. spadiceus*, kteří s vysokou pravděpodobností přispěli ke vzniku kura domácího. Jsou si příbuzní natolik, že ani ve fylogenetickém stromě netvoří oddělené klastry. Údolí Indu je domovskou oblastí dalšího poddruhu kura bankivského - *G. g. murghi*. Zde pravděpodobně došlo za přispění tohoto poddruhu do genofondu kura domácího v rámci nezávislé domestikační události, a to přibližně před 4000 lety. *G. g. murghi* je stejně jako *G. g. spadiceus* geneticky velice těžko rozlišitelný od *G. g. gallus*. Další poddruh kura bankivského *G. g. bankiva* tvoří oddělený klast, což naznačuje počátek speciace (Kanginakudru et al., 2008). *G. g. jabouillei* se vyskytuje, stejně jako *G. g. spadiceus*, v haplotypových skupinách A, B a F (viz. další odstavec; Liu et al., 2006). Tudíž ho lze též zařadit mezi poddruhy kura bankivského, které mohly přispět ke vzniku kura domácího.

Největší množství studií zabývajících se hledáním původu kura domácího je založeno na analýze mtDNA. Rekonstrukce fylogeneze mtDNA je ideálním způsobem, jak porozumět matrilinéární historii. Díky sekvenování hypervariabilního segmentu mtDNA (kontrolní region) domestikovaného kura a kura bankivského bylo identifikováno 9 skupin haplotypů A - I (Liu et al., 2006). Navazující výzkum pak odhalil další haplotypové skupiny, a to W - Z

(Miao et al., 2013). V sedmi skupinách (A - G) byly přítomny jak vzorky kura bankivského, tak i kura domácího. U zbylých skupin haplotypů (H - I a W - Z) tomu však bylo jinak: skupiny W - Z se ukázaly jako specifické pro kura bankivského (Miao et al., 2013), zatímco skupiny H - I byly nalezeny pouze u kura domácího. Dalším zjištěním bylo, že kur domácí se nejvíce vyskytoval v haplotypových skupinách A, B, C, E, F a G, kdežto kur bankivský byl identifikován hlavně ve skupinách B a D (Liu et al., 2006). Všeobecně nejrozšířenějšími haplotypovými skupinami jsou u kura domácího A, B a E, které se vyskytují po celé Eurasii. Ostatní haplotypové skupiny lze najít hlavně na jihu či jihovýchodě Asie. Na základě těchto dat lze lépe porozumět expanzi kura z jeho primárního domestikačního centra.

Dalšími markery, které byly použity ke studiu domestikačního procesu kura domácího, jsou mikrosatelity (Granevitze et al., 2007; Hillel et al., 2003). Analýzou 64 populací kura, pomocí 29 autozomálních mikrosatelitů bylo zjištěno, že uvnitř populací bylo v průměru 95% lokusů polymorfních (Granevitze et al., 2007). Obzvláště nízká genetická diverzita byla pozorována v původních evropských plemenech, což mohlo být způsobeno například malou velikostí zakládajícího hejna či nenáhodným párováním. Komerční linie brojlerů, které byly podrobeny mnohogenerační intenzivní selekci, vykazovaly střední stupeň polymorfismů. Tudíž u nich patrně nedošlo k nijak zvláštnímu snížení genetické diverzity. Jiná analýza 52 populací kura, pomocí 22 mikrosatelitních markerů ukázala, že 91% všech populací bylo polymorfních (Hillel et al., 2003). Na základě genové diverzity se ukázala inbrední C linie jako nejméně polymorfní. Naopak nejvíce polymorfní byla populace *Gallus g. spadiceus*. Výzkum se dále zabýval přítomností privátních alel. *Gallus g. gallus* and *Gallus g. spadiceus*. V 52 populacích bylo nalezeno celkem 32 privátních alel, z nichž se pouze 14 vyskytovalo s frekvencí vyšší než 10%. Většina populací neměla žádné privátní alely (33), u některých populací byla nalezena pouze jedna privátní alela (14) a naprostou výjimkou byla ruská populace Yurlov crower, která měla dokonce 8 privátních alel. Souhrnně vzato mělo 50 populací kura domácího 91 privátních alel, které se nevyskytovaly u zkoumaných zástupců *Gallus g. gallus* a *Gallus g. spadiceus*. Je nutné zde zmínit, že absence zmíněných alel nemusí nutně znamenat, že se u jiných jedinců těchto poddruhů tyto alely nevyskytují. V genofondu domácího kura naopak chybělo 8 privátních alel přítomných u těchto dvou poddruhů kura bankivského.

SNP čipy můžeme zařadit mezi další metody, kterými byl studován genom kura domácího (Groenen et al., 2012). Nejprve bylo nutno identifikovat SNP, a to porovnáváním sekvencí jednotlivých jedinců s referenčním genomem. Byla vytvořena referenční sbírka SNP a jejich minoritních alelových frekvencí (MAF) zahrnující 4 různé populace kura. Pro každou z těchto

linií byly SNP identifikovány odděleně. Ve výsledku došlo k jejich zkombinování. Cílem této studie bylo navrhnout SNP čip tvořený ze známých SNP, které se nacházejí u dvou komerčních linií (brojleři a nosnice). Na výsledném SNP čipu bylo natištěno 60 800 SNP hybridizačních sond. Tento SNP čip byl však překonán vyvinutím speciálního druhu čipu - SNP array (Kranis et al., 2013). SNP array byl vytvořen ze SNP získaných z 24 plemen kura domácího. Celkem bylo detekováno 139 mil. SNP, které byly získány sekvenováním 243 jedinců. Z tohoto množství se celkem 78 mil. vyskytovalo u různých linií. Všechny detekované SNP byly postupně redukovány a ve výsledném čipu bylo zahrnuto 580 954 SNP pozic. Jelikož jeho objevení sahá do nedávné doby, vyšší využití k asociačním studiím je prozatím stále ještě otázkou budoucnosti. Využit byl v současné době například ke zkoumání genetické variability kvantitativních znaků (Abdollahi-Arpanahi et al., 2014).

4.6 Domestikace koně domácího (*Equus caballus*)

Domestikace koně měla významný dopad na lidskou společnost (Lippold et al., 2011). Umožnila zvýšení mobility, rozšířila možnosti obchodu, v určitém údobí změnila způsob válčení a v neposlední řadě celý lidský životní styl. Lidé umělou selekcí dali za vznik obrovské genetické diverzity koňských populací, což lze pozorovat u velkého množství variant fenotypů dnešních moderních koní. Původ domestikovaného koně byl zkoumán po celá desetiletí (Warmuth et al., 2012). Zatím stále nezodpovězenou otázkou však je, zdali byly četné volně žijící populace domestikovány nezávisle na sobě či pochází z menšího počtu geografických oblastí.

Warhuth (2012) se v jedné z posledních studií zabývá rekonstrukcí genetické struktury populace již vyhynulého *Equus ferus*. Na základě sesbíraných dat z vlasových kořínků více než 300 koní nacházejících se v severní Eurasii zjistili, že se *Equus ferus* rozšířil z východní Eurasie před 160 000 lety. Podle Warmutha (2012) lze počátek domestikace procesu situovat do západní části euroasijské stepi. Když se domestikovaní koně šířili z této oblasti, byla jejich stáda opakovaně doplňována místními volně žijícími koňmi.

Jedním z míst, kde došlo k domestikaci a to zhruba před 3500 př. n. l. je Kazachstán a jmenovitě Botaiská kultura (Outram et al., 2009). Nalezené kosterní pozůstatky koní ukázaly, že tito koně pravděpodobně byli domestikovaní. Druhé nižší premoláry, vykazovaly určitý stupeň poškození, který lze nalézt u koní, u nichž je používána uzda. Dalším znakem byl metakarpus, jehož metrická analýza ukázala vyšší podobnost domestikovaným koním

z doby bronzové, než volně žijícím místním koním z období paleolitu. Další oblastí, kde došlo k domestikaci je Ukrajina - konkrétně Dereivka (Levine, 1999).

Genetické studie zabývající se domestikací koní používají k výzkumu hlavně mtDNA. Identifikovaly značnou matrilinéární diverzitu mezi koňmi (Vilá et al., 2001). V důsledku hybridizace a introgrese došlo v průběhu času ke změně diverzity mitochondriálních linií (Cieslak et al., 2010). Plemena tedy nutně nemusí mít přímou historii a jen zřídka jsou geneticky izolovaná od zbylých populací. Právě domestikovaní koně mají největší počet maternálních linií - mtDNA ze všech domestikovaných druhů vůbec. Paternální linie je naopak na Y chromozomu extrémně homogenní. S vysokou pravděpodobností se do genofondu domestikovaných koní promítl pouze limitovaný počet hřebců (Lindgren et al., 2004). Celkem bylo analyzováno 52 hřebců pocházejících z 15 odlišných plemen Evropy a Asie. Vybraná plemena reprezentovala širokou škálu koní a poníků. Za účelem co největšího pokrytí genofondu domestikovaného koně, byla většina těchto plemen charakteristická svou dalekosáhlou historií a podstatnými rozdíly ve fenotypu. Cílem výzkumu bylo zjistit, jaké bylo genetické přispění hřebců pro koňskou domestikaci. Screening se týkal zejména SNP nacházejících se na 14.3 kb dlouhé Y chromozomové sekvenci, rozdělené na 37 fragmentů. Sekvenovány byly i všechny Y chromozomové fragmenty koně Převalského (*Equus przewalskii*), který je blízkým příbuzným domestikovaného koně. Současné analýzy se však rozcházejí v názoru, zdali je, či není kůň Převalský oddělenou sesterskou skupinou domestikovaného koně (Lau et al., 2009). Domestikovaný kůň se od koně Převalského liší hlavně karyotypem (Ahrens a Stranzinger, 2005). Karyotyp koně Převalského je $2n = 66$ a koně domácího $2n = 64$. V karyotypu koně Převalského jsou přítomné dva páry akrocentrických chromozomů, v karyotypu koně domácího je naopak přítomný pouze jeden pár metacentrických chromozomů. Podle Lau (2009) kůň Převalský ve fylogenezi nespadá do oddělené skupiny, což může být způsobeno introgresí koně domácího do koně Převalského. V protikladu tomuto zjištění je však studie (Bowling et al., 2004), která na základě krevních skupin, proteinových polymorfismů, mikrosatelitů a srovnávání genetických variant zařazuje koně Převalského jako vnější skupinu koně domácího. Téhož zjištění bylo dosaženo i zkoumáním nukleotidových rozdílů na Y chromozomu (Wallner et al., 2003). Dále tuto verzi potvrzuje i Lindgren (2004), který na základě sekvenování Y chromozomového fragmentu koně Převalského zjistil, že se od koně domácího liší ve zkoumaných 14,3 kb liší celkem v 6 nukleotidových pozicích. Dále u něj bylo nalezeno ještě 7 bp delecí. Tudíž hřebci koně Převalského tedy s nejvyšší pravděpodobností nepřispěli ke vzniku plemen domácích koní. Pomocí substituční rychlosti bylo odhadnuto,

že k divergenci koně Převalského a koně domácího došlo přibližně před 123 300 až 241 100 lety.

Při hledání původu domestikovaných koní Cieslak (2010) analyzovali sekvence části D-loopu z 207 starověkých pozůstatků koní a 1754 moderních koní. Zjistili, že pozice 207 starověkých sekvencí vytváří 78 variabilních míst, které určují 113 haplotypů. Po eliminaci mutačních hotspots, klesl počet haplotypů na 87, z čehož 31 bylo nalezeno u moderních koní. Moderní domestikovaní koně prokázali značnou genetickou varianci, která může být způsobena mnohonásobným původem, vysokým počtem zakládajících samic a rozsáhlou introgrésí místních linií do domestikovaného chovu. Obrovská diverzita koňské mtDNA tedy není výsledkem křížení. Je to znak, který byl přítomný již ve volně žijících koňských populacích.

5. Závěr

Ve své práci jsem se snažila shrnout dostupné informace, které by mohly přispět k lepšímu pochopení toho, jak vlastně celý domestikační proces různých druhů obratlovců probíhal. Studium daného procesu je velice důležité zejména proto, že genetická informace přítomná v předcích dnešních hospodářských zvířat může být potřebná pro revitalizaci současných plemen. Léta intenzivní umělé selekce na nich totiž zanechala následky ve formě ztráty genetické variability. Do budoucna rozhodně bude zapotřebí využít všechny potřebné zdroje pro zachování či spíše obnovení variability druhů. Dále jsou domácí zvířata významným zdrojem potravy a často jsou cílem genetických modifikací, které mohou pomoci k vylepšení vlastností (ať už se týkají zvýšení produktivity či jiného biotechnologického využití).

Primárně jsem se zabývala molekulárními metodami, které četné studie využívají pro svůj výzkum. Historie využití molekulárních metod je opravdu obsáhlá. Zahrnuji zde jak metody založené na proteinových markerech, tak metody založené na markerech na úrovni DNA. Je na místě zde však zmínit, že velká část starších metod, které byly aktuální v době svého použití, již v dnešní době v souvislosti s klesající cenou sekvenování pozbyla na významu. Sekvenování je v současné době nejběžnější metodou molekulární genetiky při řešení příbuznosti druhů a jejich fylogenetických vztahů. Dále došlo i k nalezení článků, které přispěly k inspiraci pro budoucí laboratorní výzkum.

V další části práce se zabývám 6 vybranými druhy domestikovaných zvířat. Nejstarším domestikovaným zvířetem je jednoznačně pes. Studie zabývající se tímto druhem jsou

založeny zejména na analýze mtDNA, Y chromozomu či mikrosatelitech. Ačkoliv se o rozluštění jeho historie původu snažilo už mnoho badatelů, stále je předmětem dohadů, kde a kdy přesně došlo k jeho domestikaci. Jedinou vyřešenou otázkou je předek domestikovaného psa. Na základě mtDNA i Y chromozomu bylo zjištěno, že jeho přímým předkem je s nejvyšší pravděpodobností vlk. Dalším domestikovaným zvířetem je tur domácí, jehož dva poddruhy byly domestikovány z dnes již vymřelého pratora. Domestikace byla nejspíše polytopní a odehrála se na Blízkém východě. Mezi molekulární metody, které byly u skotu použity, lze zařadit alozymy, imunodifúzi, RFLP, mikrosatelity, mapování SNP, CNV a Y chromozom. Výzkumy zabývající se původem ovce domácí prozatím nedošly ke konečnému závěru. Primární domestikační centrum se nacházelo v jihozápadní Asii a jako předci jsou brány nejméně 4 volně žijící populace muflonů. Fylogenetické vztahy ovce domácí byly zkoumány pomocí alozymů, mtDNA, RFLP, RAPD či Y chromozomu. Mezi vybranými druhy bylo i prase domácí, jehož předkem je prase divoké. Pravděpodobně došlo k nezávislé domestikační události v Evropě a v Asii, což bylo potvrzeno i na základě mtDNA analýzy. Použitými molekulárními metodami byly v případě prasat AFLP, mikrosatelity, mtDNA, Y chromozom, SNP či CNV. Jediným vybraným zástupcem z domestikovaného ptactva byl kur domácí. Již na základě archeologické evidence bylo zjištěno, že jeho předkem je kur bankivský. Otázkou bylo, které z jeho poddruhů přispěly ke vzniku kura domácího. Výzkum posléze odhalil, že oněmi poddruhy jsou: *G. g. gallus*, *G. g. spadiceus* a *G. g. murghi*. Celkem byla stanovena dvě místa, kde došlo k jejich domestikaci - jihovýchodní Asie a Indie. Molekulární metody použité pro výzkum kura domácího byly RAPD, mtDNA, mikrosatelity, indely, rekombinace a SNP. Posledním vybraným hospodářským zvířetem byl kůň domácí. Díky nedávnému výzkumu byl na základě sesbíraných dat jako jeho volně žijící předek stanoven *Equus ferus*. Jako primární domestikační centra byly určeny Kazachstán a Ukrajina. Kůň domácí byl zkoumán zejména pomocí mtDNA, SNP a Y chromozomu.

Zpracování daného tématu bylo pro mě velice přínosné. Zejména část týkající se kura domácího, jehož fylogenezi se chci zabývat ve své diplomové práci. Bakalářská práce je pro mě důležitým odrazovým můstkem pro další odbornou činnost.

6. Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Michalu Vinklerovi, Ph.D. za přijetí do pracovního týmu, odborné vedení, věnovaný čas, trpělivost a důležité připomínky k obsahu práce. Dále děkuji své rodině za podporu a pevné nervy.

7. Literatura

- Abdollahi-Arpanahi, R., Pakdel, A., Nejati-Javaremi, A., Moradi Shahrababak, M., Morota, G., Valente, B. D., Kranis, A., Rosa, G. J. M. & Gianola, D. (2014). Dissection of additive genetic variability for quantitative traits in chickens using SNP markers. *Journal of Animal Breeding and Genetics*.
- Ahrens, E., & Stranzinger, G. (2005). Comparative chromosomal studies of *E. caballus* (ECA) and *E. przewalskii* (EPR) in a female F1 hybrid. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 122(s1), 97-102.
- Ajmone-Marsan, P., Negrini, R., Milanese, E., Bozzi, R., Nijman, I. J., Buntjer, J. B., Valentini, A. & Lenstra, J. A. (2002). Genetic distances within and across cattle breeds as indicated by biallelic AFLP markers. *Animal Genetics*, 33(4), 280-286.
- Akey, J. M., Ruhe, A. L., Akey, D. T., Wong, A. K., Connelly, C. F., Madeoy, J., Nicholas, T. J. & Neff, M. W. (2010). Tracking footprints of artificial selection in the dog genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(3), 1160-1165.
- Alford, R. L., Hammond, H. A., Coto, I., & Caskey, C. T. (1994). Rapid and efficient resolution of parentage by amplification of short tandem repeats. *American journal of human genetics*, 55(1), 190.
- Andersson, L. (2003). Melanocortin receptor variants with phenotypic effects in horse, pig, and chicken. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 994(1), 313-318.
- Andersson, L. (2009). Genome-wide association analysis in domestic animals: a powerful approach for genetic dissection of trait loci. *Genetica*, 136(2), 341-349.
- Bae, J. S., Cheong, H. S., Kim, L. H., NamGung, S., Park, T. J., Chun, J. Y., Kim, J. Y., Pasaje, C. F. A., Lee, J. S. & Shin, H. D. (2010). Identification of copy number variations and common deletion polymorphisms in cattle. *BMC genomics*, 11(1), 232.
- Baird, N. A., Etter, P. D., Atwood, T. S., Currey, M. C., Shiver, A. L., Lewis, Z. A., Selker, E. U., Cresco, E. A. & Johnson, E. A. (2008). Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PloS one*, 3(10), e3376.
- Bowling, A. T., Zimmermann, W., Ryder, O., Penado, C., Peto, S., Chemnick, L., Yasinetskaya, N. & Zharkikh, T. (2004). Genetic variation in Przewalski's horses, with special focus on the last wild caught mare, 231 Orlitza III. *Cytogenetic and genome research*, 102(1-4), 226-234.
- Bradley, D. G., MacHugh, D. E., Cunningham, P., & Loftus, R. T. (1996). Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), 5131-5135.
- Brandström, M., & Ellegren, H. (2007). The genomic landscape of short insertion and deletion polymorphisms in the chicken (*Gallus gallus*) genome: a high frequency of deletions in tandem duplicates. *Genetics*, 176(3), 1691-1701.
- Britten, R. J., Rowen, L., Williams, J., & Cameron, R. A. (2003). Majority of divergence between closely related DNA samples is due to indels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), 4661-4665.

- Brookes, A. J. (1999). The essence of SNPs. *Gene*, 234(2), 177-186.
- Brophy, B., Smolenski, G., Wheeler, T., Wells, D., L'Huillier, P., & Laible, G. (2003). Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of β -casein and κ -casein. *Nature biotechnology*, 21(2), 157-162.
- Brown, W. M., George, M., & Wilson, A. C. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(4), 1967-1971.
- 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), e15311.
- Clutton-Brock, J. (1999). *A natural history of domesticated mammals*. Cambridge University Press.
- Cucchi, T., Hulme-Beaman, A., Yuan, J., & Dobney, K. (2011). Early Neolithic pig domestication at Jiahu, Henan Province, China: clues from molar shape analyses using geometric morphometric approaches. *Journal of Archaeological Science*, 38(1), 11–22.
- Davey, J. W., & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics*, 9(5-6), 416-423.
- Davey, J. W., Hohenlohe, P. A., Etter, P. D., Boone, J. Q., Catchen, J. M., & Blaxter, M. L. (2011). Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12(7), 499-510.
- Ding, Z. L., Oskarsson, M., Ardalán, A., Angleby, H., Dahlgren, L. G., Tepeli, C., Kirkness, E. Savolainen, P. & Zhang, Y. P. (2012). Origins of domestic dog in southern East Asia is supported by analysis of Y - chromosome DNA. *Heredity*, 108(5), 507–14.
- Dobney, K., & Larson, G. (2006). Genetics and animal domestication: new windows on an elusive process. *Journal of Zoology*, 269(2), 261-271.
- Ellegren, H., Moore, S., Robinson, N., Byrne, K., Ward, W., & Sheldon, B. C. (1997). Microsatellite evolution - a reciprocal study of repeat lengths at homologous loci in cattle and sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 14(8), 854-860.
- Elmaci, C., Oner, Y., Ozis, S., & Tuncel, E. (2007). RAPD analysis of DNA polymorphism in Turkish sheep breeds. *Biochemical genetics*, 45(9-10), 691-696.
- Epstein, H. (1971) cit. podle MacHugh, D. E., Shriver, M. D., Loftus, R. T., Cunningham, P., & Bradley, D. G. (1997). Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*, 146(3), 1071.
- Fadista, J., Nygaard, M., Holm, L. E., Thomsen, B., & Bendixen, C. (2008). A snapshot of CNVs in the pig genome. *PloS one*, 3(12), e3916.
- Fan, B., Du, Z. Q., Gorbach, D. M., & Rothschild, M. F. (2010). Development and application of high-density SNP arrays in genomic studies of domestic animals. *Asian-Aust J Anim Sci*, 23(7), 833-847.

- Fang, L., Ye, J., Li, N., Zhang, Y., Li, S., Wong, G. K. S., & Wang, J. (2008). Positive correlation between recombination rate and nucleotide diversity is shown under domestication selection in the chicken genome. *Chinese Science Bulletin*, 53(5), 746-750.
- Fang, M., & Andersson, L. (2006). Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 1803-1810.
- Fang, M., Hu, X., Jiang, T., Braunschweig, M., Hu, L., Du, Z., Feng, J., Zhang, Q., Wu, C. & Li, N. (2005). The phylogeny of Chinese indigenous pig breeds inferred from microsatellite markers. *Animal genetics*, 36(1), 7-13.
- Fang, M., Larson, G., Ribeiro, H. S., Li, N., & Andersson, L. (2009). Contrasting mode of evolution at a coat color locus in wild and domestic pigs. *PLoS genetics*, 5(1), e1000341.
- Flegr, J. (2005). Evoluční biologie [Evolutionary biology]. *Academia, Praha*.
- Freeman, A. R., Bradley, D. G., Nagda, S., Gibson, J. P., & Hanotte, O. (2006). Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Animal genetics*, 37(1), 1-9.
- Freitas, N. S., Resque, R. L., Ribeiro-Rodrigues, E. M., Guerreiro, J. F., Santos, N. P., Ribeiro-dos-Santos, Â., & Santos, S. (2010). X-linked insertion/deletion polymorphisms: forensic applications of a 33-markers panel. *International journal of legal medicine*, 124(6), 589-593.
- Fumihito, A., Miyake, T., Sumi, S., Takada, M., Ohno, S., & Kondo, N. (1994). One subspecies of the red junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(26), 12505-9.
- Fumihito, A., Miyake, T., Takada, M., Shingu, R., Endo, T., Gojobori, T., Kondo, N. & Ohno, S. (1996). Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(13), 6792-6795.
- Gatesy, J., Yelon, D., DeSalle, R., & Vrba, E. S. (1992). Phylogeny of the Bovidae (Artiodactyla, Mammalia), based on mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 9(3), 433-446.
- Georgiadis, N. J., Kat, P. W., Oketch, H., & Patton, J. (1990). Allozyme divergence within the Bovidae. *Evolution*, 2135-2149.
- Germonpré, M., Sablin, M. V., Stevens, R. E., Hedges, R. E. M., Hofreiter, M., Stiller, M., & Després, V. R. (2009). Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes. *Journal of Archaeological Science*, 36(2), 473-490.
- Giuffra, E., Kijas, J. M. H., Amarger, V., Carlborg, Ö., Jeon, J. T., & Andersson, L. (2000). The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. *Genetics*, 154(4), 1785-1791.
- Granevitze, Z., Hillel, J., Chen, G. H., Cuc, N. T. K., Feldman, M., Eding, H., & Weigend, S. (2007). Genetic diversity within chicken populations from different continents and management histories. *Animal genetics*, 38(6), 576-583.

- Groenen, M. A. M., Archibald, A. L., Uenishi, H., Tuggle, C. K., Takeuchi, Y., Rothschild, M. F., Megens, H. J., et al. (2012). Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*, *491*(7424), 393–398.
- Groenen, M. A. M., Megens, H. J., Zare, Y., Warren, W. C., Hillier, L. W., Crooijmans, R. P. M. A., Vereijken, A., Okimoto, R., Muir, W. M. & Cheng, H. H. (2011). The development and characterization of a 60K SNP chip for chicken. *BMC genomics*, *12*(1), 274.
- Guo, J., Du, L. X., Ma, Y. H., Guan, W. J., Li, H. B., Zhao, Q. J., Li, X. & Rao, S. Q. (2005). A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Animal genetics*, *36*(4), 331–336.
- Handley, L. L., Byrne, K., Santucci, F., Townsend, S., Taylor, M., Bruford, M. W., & Hewitt, G. M. (2007). Genetic structure of European sheep breeds. *Heredity*, *99*(6), 620–631.
- Henrichsen, C. N., Chaignat, E., & Reymond, A. (2009). Copy number variants, diseases and gene expression. *Human molecular genetics*, *18*(R1), R1–R8.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., & Janke, A. (2002). Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *269*(1494), 893–904.
- Hillel, J., Groenen, M. A., Tixier-Boichard, M., Korol, A. B., David, L., Kirzhner, V. M., Burke, T., Barre-Dirie, A., Crooijmans, R. P. M. A., Elo, K., Feldman M. W., Freidlin, P. J., Mäki-Tanila, A., Oortwijn, M., Thomson, P., Vignal, A., Wimmers, K. & Weigend, S. (2003). Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics Selection Evolution*, *35*(5), 533–558.
- Holderegger, R., Kamm, U., & Gugerli, F. (2006). Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*, *21*(6), 797–807.
- Hsieh, H. M., Chiang, H. L., Tsai, L. C., Lai, S. Y., Huang, N. E., Linacre, A., & Lee, J. C. I. (2001). Cytochrome *b* gene for species identification of the conservation animals. *Forensic Science International*, *122*(1), 7–18.
- Hughes, A. L. (2013). Accumulation of slightly deleterious mutations in the mitochondrial genome: a hallmark of animal domestication. *Gene*, *515*(1), 28–33.
- Irion, D. N., Schaffer, A. L., Famula, T. R., Eggleston, M. L., Hughes, S. S., & Pedersen, N. C. (2003). Analysis of genetic variation in 28 dog breed populations with 100 microsatellite markers. *Journal of Heredity*, *94*(1), 81–87.
- Jensen, P. (2006). Domestication - From behaviour to genes and back again. *Applied Animal Behaviour Science*, *97*(1), 3–15.
- Kanginakudru, S., Metta, M., Jakati, R. D., & Nagaraju, J. (2008). Genetic evidence from Indian red jungle fowl corroborates multiple domestication of modern day chicken. *BMC evolutionary biology*, *8*, 174.

- Karlsson, E. K., Baranowska, I., Wade, C. M., Hillbertz, N. H. S., Zody, M. C., Anderson, N., Biagi, T. M., Patterson, N., Pielger, G. R., Kulbokas, E. J., Comstock, K. E., Keller, E. T., Mesirov, J. P., Euler, H., Kaumpe, O., Hedhammar, A., Lander, E. S., Andersson, G., Andersson, L. & Lindblad-Toh, K. (2007). Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature genetics*, 39(11), 1321-1328.
- Kashi, Y., King, D., & Soller, M. (1997). Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. *Trends in genetics*, 13(2), 74-78.
- Kijas, J. M. H., & Andersson, L. (2001). A phylogenetic study of the origin of the domestic pig estimated from the near-complete mtDNA genome. *Journal of Molecular Evolution*, 52(3), 302-308.
- Köhler, M., & Moyà-Solà, S. (2004). Reduction of brain and sense organs in the fossil insular bovid *Myotragus*. *Brain, behavior and evolution*, 63(3), 125-140.
- Kocher, T. D., Thomas, W. K., Meyer, A., Edwards, S. V., Pääbo, S., Villablanca, F. X., & Wilson, A. C. (1989). Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(16), 6196-6200.
- Kranis, A., Gheyas, A. A., Boschiero, C., Turner, F., Yu, L., Smith, S., Talbot, R., Pirani, A., Brew, F., Kaiser, P., Hocking, P. M., Fife, M., Salmon, N., Fulton, J., Strom, T. M., Haberer, G., Weigend, S., Preisinger, R., Gholami, M., Qanbari, S., Simianer, H., Watson, K. A., Wooliams, J. A. & Burt, D. W. (2013). Development of a high density 600K SNP genotyping array for chicken. *BMC genomics*, 14(1), 59.
- Kruglyak, S., Durrett, R. T., Schug, M. D., & Aquadro, C. F. (1998). Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and point mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(18), 10774-10778.
- Larson, G., & Burger, J. (2013). A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics*, 29(4), 197-205.
- Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., Lowden, S., Finlayson, H., Brand, T., Willerslev, E., Rowley-Conwy, P., Andersson, L. & Cooper, A. (2005). Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication. *Science (New York, N. Y.)*, 307(5715), 1618-1621.
- Lau, A. N., Peng, L., Goto, H., Chemnick, L., Ryder, O. A. & Makova, K. D. (2009). Horse domestication and conservation genetics of Przewalski's horse inferred from sex chromosomal and autosomal sequences. *Molecular biology and evolution*, 26(1), 199-208.
- Lehman, N., Eisenhawer, A., Hansen, K., Mech, L. D., Peterson, R. O., Gogan, P. J., & Wayne, R. K. (1991). Introgression of coyote mitochondrial DNA into sympatric North American gray wolf populations. *Evolution*, 104-119.
- Levine, M. a. (1999). Botai and the Origins of Horse Domestication. *Journal of Anthropological Archaeology*, 18(1), 29-78.
- Li, G., Davis, B. W., Raudsepp, T., Wilkerson, A. J. P., Mason, V. C., Ferguson-Smith, M., O'Brien, P. C., Waters, P. D. & Murphy, W. (2013). Comparative analysis of mammalian Y chromosomes illuminates ancestral structure and lineage-specific evolution. *Genome research*, 23(9), 1486-1495.

- Lindblad-Toh, K., Wade, C. M., Mikkelsen, T. S., Karlsson, E. K., Jaffe, D. B., Kamal, M., Zody, M. C., et al. (2005). Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*, *438*(7069), 803–819.
- Lindgren, G., Backström, N., Swinburne, J., Hellborg, L., Einarsson, A., Sandberg, K., Cothran, G., Vilà, C., Binns, M. & Ellegren, H. (2004). Limited number of patrilineages in horse domestication. *Nature genetics*, *36*(4), 335-336.
- Lippold, S., Matzke, N. J., Reissmann, M., & Hofreiter, M. (2011). Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication. *BMC evolutionary biology*, *11*(1), 328.
- Liu, G. E., Hou, Y., Zhu, B., Cardone, M. F., Jiang, L., Cellamare, A., Mitra, A., Alexander, L. J., Coutinho, L. L., Dell'Aquila, M. E., Gasbarre, L. C., Lacalandra, G., Li, R. W., Matukumalli, L. K., Nonneman, D., Regitano, L. C. de A., Smith, T. P. L., Song, J., Sonstegard, T. S., Van Tassel, C. P., Ventura, M., Eichler, E. E., McDanel, T. G. & Keele, J. W., et al. (2010). Analysis of copy number variations among diverse cattle breeds. *Genome research*, *20*(5), 693–703.
- Liu, Y. P., Wu, G. S., Yao, Y. G., Miao, Y. W., Luikart, G., Baig, M., Beja-Pereira, A., Ding, Z., Palanichamy, M. G. & Zhang, Y. P., et al. (2006). Multiple maternal origins of chickens: out of the Asian jungles. *Molecular phylogenetics and evolution*, *38*(1), 12-19.
- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Park, S. D. E., & Bradley, D. G. (1999). A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology*, *8*(12), 2015-2022.
- Loftus, R. T., MacHugh, D. E., Bradley, D. G., Sharp, P. M., & Cunningham, P. (1994). Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *91*(7), 2757–2761.
- Lynch, M., & Milligan, B. (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular ecology*, *3*(2), 91-99.
- MacHugh, D. E., Shriver, M. D., Loftus, R. T., Cunningham, P., & Bradley, D. G. (1997). Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurine and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics*, *146*(3), 1071.
- Matukumalli, L. K., Lawley, C. T., Schnabel, R. D., Taylor, J. F., Allan, M. F., Heaton, M. P., O'Connell, J., Moore, S. S., Smith, T. P. L., Sonstegard, T. D. & Van Tassel, C. P., et al. (2009). Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle. *PloS one*, *4*(4), e5350.
- Maw, A. A., Shimogiri, T., Riztyan, R., Kawabe, K., Kawamoto, Y., & Okamoto, S. (2012). Genetic Diversity of Myanmar and Indonesia Native Chickens Together with Two Jungle Fowl Species by Using 102 Indels Polymorphisms. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *25*(7), 927–934.
- Meadows, J. R. S., Hanotte, O., Drögemüller, C., Calvo, J., Godfrey, R., Coltman, D., Maddox, J. F., Marzanov, N., Kantanen, J. & Kijas, J. W. (2006). Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Animal genetics*, *37*(5), 444–453.
- Meadows, J. R. S., Hiendleder, S., & Kijas, J. W. (2011). Haplogroup relationships between domestic and wild sheep resolved using a mitogenome panel. *Heredity*, *106*(4), 700-706.

Megens, H. J., Crooijmans, R. P. M. A., San Cristobal, M., Hui, X., Li, N. & Groenen, M. A. M. (2008). Biodiversity of pig breeds from China and Europe estimated from pooled DNA samples: differences in microsatellite variation between two areas of domestication. *Genetics Selection Evolution*, 40(1), 103-128.

Miao, Y. W., Peng, M. S., Wu, G. S., Ouyang, Y. N., Yang, Z. Y., Yu, N., Liang, J. P., Pianchou, G., Beja-Pereira, A., Mitra, B., Palanichamy, M. G., Baig, M., Chaudhuri, T. K., Shen, Y. Y., Kong, Q. P., Murphy, R. W., Yao, Y. G. & Zhang, Y. P. (2013). Chicken domestication: an updated perspective based on mitochondrial genomes. *Heredity*, 110(3), 277-282.

Mignon-Grasteau, S., Boissy, A., Bouix, J., Faure, J. M., Fisher, A. D., Hinch, G. N., Jensen, P., Le Neindre, P., Mormede, P., Prunet, P., Vandeputte, M. & Beaumont, C. (2005). Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science*, 93(1), 3-14.

Ministerstvo zemědělství (2013a). Situační a výhledová zpráva: Skot - hovězí maso. http://eagri.cz/public/web/file/285709/svz_skot_2013.pdf

Ministerstvo zemědělství (2013b). Situační a výhledová zpráva: Vepřové maso. http://eagri.cz/public/web/file/285671/Veprove_maso_2013_SVZ.pdf

Ministerstvo zemědělství (2013c). Situační a výhledová zpráva: Drůbež a vejce. http://eagri.cz/public/web/file/285694/svz_drubez_2013.pdf

Mitra, A., Yadav, B. R., Ganai, N. A., & Balakrishnan, C. R. (1999). Molecular markers and their applications in livestock improvement. *Current Science*, 77(8), 1045-1053.

Mueller, U. G., & Wolfenbarger, L. L. (1999). AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(10), 389-394.

Mugal, C. F., Nabholz, B., & Ellegren, H. (2013). Genome-wide analysis in chicken reveals that local levels of genetic diversity are mainly governed by the rate of recombination. *BMC genomics*, 14(1), 86.

Natanaelsson, C., Oskarsson, M. C. R., Angleby, H., Lundeberg, J., Kirkness, E., & Savolainen, P. (2006). Dog Y chromosomal DNA sequence: identification, sequencing and SNP discovery. *BMC genetics*, 7(1), 45.

Outram, A. K., Stear, N. A., Bendrey, R., Olsen, S., Kasparov, A., Zaibert, V., Thorpe, N. & Evershed, R. P. (2009). The earliest horse harnessing and milking. *Science*, 323(5919), 1332-1335.

Pääbo, S., Poinar, H., Serre, D., Jaenicke-Despres, V., Hebler, J., Rohland, N., Kuch, M., Krause, J., Vigilant, L. & Hofreiter, M. (2004). Genetic analyses from ancient DNA. *Annual review of genetics*, 38, 645-679.

Pagon R.A., Adam M.P., Ardinger H.H., et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014. Illustrated Glossary. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5191/>

- Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J. J., Gutiérrez-Gil, B., San Primitivo, F., & Bayón, Y. (2005). Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 272(1577), 2211–2217.
- Perkins, D. (1969). Fauna of Çatal Hüyük: evidence for early cattle domestication in Anatolia. *Science*, 164(3876), 177-179.
- Pfeiffer, I., Burger, J., & Brenig, B. (2004). Diagnostic polymorphisms in the mitochondrial cytochrome b gene allow discrimination between cattle, sheep, goat, roe buck and deer by PCR-RFLP. *BMC genetics*, 5(1), 30.
- Price, E. O. (2002). *Animal domestication and behavior*. Cabi.
- Ramayo-Caldas, Y., Castelló, A., Pena, R. N., Alves, E., Mercadé, A., Souza, C. A., Fernández, A. I., Perez-Enciso, M. & Folch, J. M. (2010). Copy number variation in the porcine genome inferred from a 60 k SNP BeadChip. *BMC genomics*, 11(1), 593.
- Ramos, A. M., Crooijmans, R. P. M. A., Affara, N. A., Amaral, A. J., Archibald, A. L., Beever, J. E., Bendixen, C., Churcher, C., Clark, R., Dehais, P., Hansen, M. S., Hedegaards, J., Hu, Z. L., Kerstens, H. H., Law, A. S., Megens, H. J., Milan, D., Nonneman, D. J., Rohrer, G. A., Rothschild, M. F., Smith, T. P. L., Schnabel, R. D., Van Tassel, C. P., Taylor, J. F., Wiedmann, R. T., Schook, L. B. & Groenen, M. A. M. (2009). Design of a high density SNP genotyping assay in the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology. *PloS one*, 4(8), e6524.
- Randi, E., & Lucchini, V. (2002). Detecting rare introgression of domestic dog genes into wild wolf (*Canis lupus*) populations by Bayesian admixture analyses of microsatellite variation. *Conservation Genetics*, 3(1), 29-43.
- Randi, E., Fusco, G., Lorenzini, R., Toso, S., & Tosi, G. (1991). Allozyme divergence and phylogenetic relationships among *Capra*, *Ovis* and *Rupicapra* (Artyodactyla, Bovidae). *Heredity*, 67 (Pt 3), 281–6.
- Rao, Y., Sun, L., Nie, Q., & Zhang, X. (2011). The influence of recombination on SNP diversity in chickens. *Hereditas*, 148(2), 63-69.
- Restani, P., Beretta, B., Fiocchi, A., Ballabio, C., & Galli, C. L. (2002). Cross-reactivity between mammalian proteins. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 89(6), 11-15.
- Roy, M. S., Geffen, E., Smith, D., Ostrander, E. A., & Wayne, R. K. (1994). Patterns of differentiation and hybridization in North American wolflike canids, revealed by analysis of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution*, 11(4), 553-570.
- Rubin, C. J., Zody, M. C., Eriksson, J., Meadows, J. R., Sherwood, E., Webster, M. T., Jiang, L., Ingman, M., Sharpe, T., Ka, S., Hallböök, F., Besnier, F., Carlborg, Ö., Bed'hom, B., Tixier-Boichard, M., Jensen, P., Siegel, P., Linblad-Toh, K. & Andersson, L., et al. (2010). Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature*, 464(7288), 587-591.
- Sablin, M., & Khlopachev, G. (2002). The earliest ice age dogs: evidence from Eliseevichi 11. *Current Anthropology*, 43(5), 795-799.
- SanCristobal, M., Chevalet, C., Haley, C. S., Joosten, R., Rattink, a P., Harlizius, B., Groenen, M. A. M., Amigues, Y., Boscher, M. Y., Russel, G., Law, A., Davoli, R., Russo, V., Désautés, C., Alderson,

- L., Fimland, E., Bagga, M., Delgado, J. V., Vega-Pla, J. L., Martinez, A. M., Ramos, M., Glodek, P., Meyer, J. N., Gandini, G. C., Matassino, D., Plastow, G. S., Siggens, K. W., Laval, G., Archibald, A. L., Milan, D., Hammond, K. & Cardellino, R. (2006a). Genetic diversity within and between European pig breeds using microsatellite markers. *Animal genetics*, 37(3), 189–98.
- SanCristobal, M., Chevalet, C., Peleman, J., Heuven, H., Brugmans, B., Van Schriek, M., Joosten R., Rattin, A. P., Harlizius, B., Groenen, M. A. M., Amigues, Y., Boscher, M. Y., Russel, G., Law, A., Davoli, R., Russo, V., Décautés, C., Alderson, L., Fimland, E., Bagga, M., Delgado, J. V., Vega-Pla, J. V., Martinez, A. M., Ramos, M., Glodek, P., Meyer, J. N., Gandini, G., Matassino, D., Siggens, K., Laval, G., Archibald, A., Milan, D., Hammond, K., Cardellino, R., Haley, C. & Plastow, G. (2006b). Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers. *Animal genetics*, 37(3), 232-238.
- Sarich, V. M., & Wilson, A. C. (1967). Immunological time scale for hominid evolution. *Science*, 158(3805), 1200-1203.
- Savolainen, P., Zhang, Y. P., Luo, J., Lundeberg, J., & Leitner, T. (2002). Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*, 298(5598), 1610-1613.
- Sbisà, E., Tanzariello, F., Reyes, A., Pesole, G., & Saccone, C. (1997). Mammalian mitochondrial D-loop region structural analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 205(1), 125-140.
- Schierup, M. H., & Hein, J. (2000). Consequences of recombination on traditional phylogenetic analysis. *Genetics*, 156(2), 879-891.
- Sultana, S., & Mannen, H. (2004). Polymorphism and evolutionary profile of mitochondrial DNA control region inferred from the sequences of Pakistani goats. *Animal Science Journal*, 75(4), 303-309.
- Šebková, N., Jedlička, J., Hartl, K., & Hrach, F. (2008) Is hybridization with dogs a threat to free-living wolves in the Czech Republic?. *Perspectives of wolves in Central Europe*.
- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Činkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Viinalass, H. & Kantanen, J. (2006). Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas. *Molecular Biology and Evolution*, 23(9), 1776-1783.
- Thalmann, O., Shapiro, B., Cui, P., Schuenemann, V. J., Sawyer, S. K., Greenfield, D. L., Germonpré, M. B., Sablin, M. V., López-Giráldez, F., Domingo-Roura, X., Napierala, H., Uerpmann, H. P., Loponte, D. M., Acosta, A. A., Giemsch, L., Schmitz, R. W., Worthington, B., Buikstra, J. E., Druzhkova, A., Graphodatsky, A. S., Ovodon, N. D., Wahlberg, N., Freedman, A. H., Schweizer, R. M., Koepfli, K. P., Leonard, J. A., Meyer, M., Krause, J., Pääbo, S., Green, R. E. & Wayne, R. K. (2013). Complete mitochondrial genomes of ancient canids suggest a European origin of domestic dogs. *Science*, 342(6160), 871-874.
- Tixier-Boichard, M., Bed'hom, B., & Rognon, X. (2011). Chicken domestication: from archeology to genomics. *Comptes rendus biologiques*, 334(3), 197–204.
- Toro, M. A., Fernández, J., & Caballero, A. (2009). Molecular characterization of breeds and its use in conservation. *Livestock Science*, 120(3), 174-195.
- Tortereau, F., Servin, B., Frantz, L., Megens, H. J., Milan, D., Rohrer, G., Wiedmann, R., Beever, J., Archibald, A. L., Schook, L. B. & Groenen, M. A. M. (2012). A high density recombination map of

the pig reveals a correlation between sex-specific recombination and GC content. *BMC genomics*, 13(1), 586.

Tsuda, K., Kikkawa, Y., Yonekawa, H., & Tanabe, Y. (1997). Extensive interbreeding occurred among multiple matriarchal ancestors during the domestication of dogs: evidence from inter- and intraspecies polymorphisms in the D-loop region of mitochondrial DNA between dogs and wolves. *Genes & genetic systems*, 72(4), 229–238.

Väli, Ü., Brandström, M., Johansson, M., & Ellegren, H. (2008). Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations. *BMC genetics*, 9(1), 8.

Vilà, C., Leonard, J. A., Gotherstrom, A., Marklund, S., Sandberg, K., Liden, K., Wayne, R. K. & Ellegren, H. (2001). Widespread origins of domestic horse lineages. *Science (New York, N. Y.)*, 291(5503), 474–7.

Vilà, C., Savolainen, P., Maldonado, J. E., Amorim, I. R., Rice, J. E., Honeycutt, R. L., Crandall, K. A., Lundeberg, J. & Wayne, R. K. (1997). Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science*, 276(5319), 1687-1689.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van De Lee, T., Hornes, M., Friters, A., pot, J., Paleman, J., Kuiper, M. & Zabeau, M., et al. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, 23(21), 4407-4414.

Wallner, B., Brem, G., Müller, M., & Achmann, R. (2003). Fixed nucleotide differences on the Y chromosome indicate clear divergence between *Equus przewalskii* and *Equus caballus*. *Animal genetics*, 34(6), 453-456.

Warmuth, V., Eriksson, A., Bower, M. A., Barker, G., Barrett, E., Hanks, B. K., Li, S., Lomitashvili, D., Ochir-Goryaeva, M., Sizonov, G. V., Soyonov, V. & Manica, A. (2012). Reconstructing the origin and spread of horse domestication in the Eurasian steppe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(21), 8202-8206.

West, B., & Zhou, B. X. (1988). Did chickens go north? New evidence for domestication. *Journal of Archaeological Science*, 15(5), 515-533.

Yap, F. C., Yan, Y. J., Loon, K. T., Zhen, J. L. N., Kamau, N. W., & Kumaran, J. V. (2010). Phylogenetic analysis of different breeds of domestic chickens in selected area of Peninsular Malaysia inferred from partial cytochrome b gene information and RAPD markers. *Animal biotechnology*, 21(4), 226-240.

Yu, Y., Nie, L., He, Z. Q., Wen, J. K., Jian, C. S., & Zhang, Y. P. (1999). Mitochondrial DNA variation in cattle of South China: origin and introgression. *Animal Genetics*, 30(4), 245-250.

Yüncü, E., Demirci, S., Koban Baştanlar, E., Doğan, Ş. A., Taşdemir, U., & Togan, İ. (2013). Comparative study of three simple molecular approaches in search of mtDNA haplogroup identification of domestic sheep. *Small Ruminant Research*, 114(1), 64-71.

Zima, J, Macholán, M., Muclinger, P. & Piálek J. (2004). Genetické metody v zoologii. *Karolinum, Praha*.

Zohary, D., Tchernov, E., & Horwitz, L. K. (1998). The role of unconscious selection in the domestication of sheep and goats. *Journal of Zoology*, 245(2), 129–135.