

Eliška Žáková
a kolektiv

HODNOCENÍ PŘÍBUZNOSTI PRASAT PROSTŘEDNICTVÍM SNP DAT



Česká plemenářská inspekce

Slezská 100/7, Praha 2, 120 00

v y d á v á

OSVĚDČENÍ

8697/2022 - ČPI

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: **Hodnocení příbuznosti prasat prostřednictvím SNP dat.**

Autor / autoři: **Ing. Eliška Žáková, Ph.D., Ing. Emil Krupa, Ph.D., Ing. Zuzana Krupová, Ph.D.**

Název organizace/cí: **Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. se sídlem Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves**

Místo vydání: **Praha**

Rok vydání: **2022**

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu č. **NAZV QK1910217**

"Vytvoření referenční populace a vývoj postupů pro odhad genomických plemenných hodnot znaku prasat zařazených do Českého národního šlechtitelského programu".

Jméno zástupce odborného útvaru státní správy:

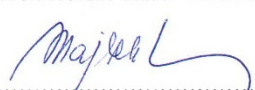
Ing. Zdenka Majzlíková

Funkce zástupce odborného útvaru státní správy:

vedoucí služebního úřadu - ředitelka


V Praze, dne 22. 11.2022

Česká plemenářská inspekce
Slezská 100/7
120 00 Praha 2


.....
Podpis/elektronický podpis zástupce
odborného útvaru státní správy

Souhlas ředitele Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZe:

V PRAZE dne 23. 11. 2022


.....
Podpis/elektronický podpis
ředitele/ředitelky Odboru vědy, výzkumu
a vzdělávání

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

Hodnocení příbuznosti prasat prostřednictvím SNP dat

Autoři:

Ing. Eliška Žáková, Ph.D.

Ing. Emil Krupa, Ph.D.

Ing. Zuzana Krupová, Ph.D.

Oponenti:

doc. Ing. Karel Mach, CSc.

emeritní docent, Katedra genetiky a šlechtění

Česká zemědělská univerzita v Praze

Ing. Zdeňka Majzlíková

Česká plemenářská inspekce, Praha

Metodika je výsledkem řešení projektu NAZV QK1910217

Předkladatel: Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i.

se sídlem Přátelství 815, 104 00 Praha Uhřetěves

zastoupený doc. Ing. Petrem Homolkou, CSc., Ph.D., ředitelem

Tel.: 00420 267 009 511 (ústředna)

Fax: 00420 267 710 779

www: <http://www.vuzv.cz>

e-mail: vuzv@vuzv.cz

Zástupcem autorského týmu je Ing. Eliška Žáková, Ph.D.

Obsah

I. Cíl metodiky.....	5
II. Vlastní popis metodiky	5
II.1. Úvod	5
II.2. Data	5
II.3. Výběr SNP lokusů do panelu pro ověřování původu.....	7
II.3.1. Vyhodnocení GenCall skóre.....	7
II.3.2. Vyhodnocení frekvencí minoritních alel a umístění na chromozomech	9
II.3.3. SNP panely	10
II.4. Vyhodnocení příbuznosti zvířat pomocí SNP panelů	16
II.4.1 Vyhodnocení nekonzistentních dat.....	16
II.4.2 Porovnání navržených panelů	20
II.4.3 Vyhodnocení falešně pozitivních vztahů mezi zvířaty	20
II.4.4 Závěr	21
III. Srovnání novosti postupů.....	21
IV. Popis uplatnění metodiky.....	21
V. Ekonomické aspekty.....	21
VI. Seznam použité související literatury.....	22
VII. Seznam publikací, které předcházely metodice.....	22

I. Cíl metodiky

Cílem metodiky je zhodnotit příbuznost genotypovaných plemenných prasat v programu CZePig s využitím informací o SNP genotypech (tj. single nucleotide polymorphism - jednonukleotidový polymorfismus) a stanovit SNP panel, který bude využitelný pro rutinní analýzy příbuznosti prasat.

II. Vlastní popis metodiky

II.1. Úvod

Stanovení paternity a parentity v programu CzePig bylo dosud prováděno technologií mikrosatelitních markerů ve spolupracujících akreditovaných laboratořích. Od roku 2013 se používal panel mikrosatelitních lokusů (387A12F, S0655, SBH1, SBH2, SBH4, SBH10, SBH13, SBH18, SBH19, SBH20, SBH22 a pohlavně specifický SBH23) Animaltype Pig firmy Biotype®. S rozvojem genomického hodnocení prasat ve světě se i pro chovatele prasat v České republice stala finančně akceptovatelnou technologie SNP–array. Tato technologie je založena na detekci jednonukleotidových polymorfizmů (single nucleotide polymorphism – SNP) pomocí hybridizace DNA s fluorescenčně značenými oligonukleotidovými sondami vázanými na destičce mikročipu. Genotyp jedince je odečítán ve scanneru pomocí laserového paprsku a zjištěný signál je analyzován v příslušném software (Schröffelová a kol., 2019b).

SNP genotypy jsou u prasat zařazených v národním šlechtitelském programu Svazu chovatelů prasat, z.s. (SCHP) zjišťovány od roku 2019 v rámci projektu NAZV QK190217. Hlavním cílem projektu je vytvoření referenční populace a vývoj postupů pro odhad genomických plemenných hodnot prasat v ČR. První výsledky analýzy získaných SNP genotypů prasat již byly využity při hodnocení genetické diverzity plemene přeštické černostrakaté, a to simultánním hodnocením rodokmenových dat a SNP informací (Krupa a kol., 2021).

Cílem této metodiky je vyhodnotit příbuznost genotypovaných prasat pomocí genotypů SNP a stanovit SNP panel využitelný pro rutinní analýzy příbuznosti u všech chovaných plemen, pro něž vede Svaz chovatelů prasat, z.s. plemennou knihu.

II.2. Data

Hlavním cílem genotypování prasat SNP čipy byl především vývoj genomického hodnocení prasat. Výběr zvířat ke genotypování byl tedy prováděn tak, aby genotypované zvíře bylo rodičem příští generace plemenných zvířat (vzorek tělesných tkání byl uložen a použit až po zařazení potomků plemenného zvířete) nebo, aby mělo dostatek datových záznamů o užitkovosti v databázi plemenné knihy. DNA prasat komerčních plemen byla získávána především ze vzorků chlupových cibulek, které byly až do výběru zvířete ke genotypování zamrazeny v odběrových sadách při -18 °C nebo z plných i prázdných inseminačních tub (Schröffelová a kol., 2019a; Krupa a kol., 2019). Chlupové cibulky a sperma zde byly zjištěny jako nejvhodnější zdroje DNA k plošnému odběru a dalšímu zpracování. U genového zdroje přeštické černostrakaté byla DNA využita k již zmíněnému mapování genetické variability plemene (Krupa a kol., 2021). Vzorky štetin žijících zvířat byly od chovatelů získány prostřednictvím SCHP z.s. nebo VÚŽV v.v.i. Část vzorků byla získána z Laboratoře agrogenomiky Lamgen Mendelu v Brně jako DNA.

Z technických důvodů došlo v průběhu řešení projektu ke změnám druhu použitého SNP čipu. Základní specifikace SNP čipů je uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1 Druhy SNP čipů použitých ke genotypování

Označení	Výrobce Název čipu	Počet SNP lokusů	Počet společných lokusů mezi čipy		
1	Illumina, Inc. Porcine SNP60v2	61565	59319	32898	32898
2	Illumina, Inc. PorcineSNP60 BeadChip	59319			
3	GeneSeek® Genomic Profiler™ GGP Porcine 50K	50697			

Celkem bylo k 10.8.2022 genotypováno 1489 prasat evidovaných v plemenné knize SCHP (tabulka 2). Nejvíce zvířat bylo genotypováno u plemene české bílé ušlechtilé (ČBU – 749 ks), následovala české landrase (ČL) s 261 ks a přeštické černostrakaté (PC) s 222 ks. U otcovských plemen byl genotyp stanoven u 100 pietrainů (PN), 84 duroců (D) a 73 bílých otcovských (BO) prasat. Podíl plemenic z genotypovaných zvířat byl nejvyšší u plemen ČBU, ČL a PC (70 %, 51 % a 43 % z celkového počtu genotypovaných prasat), u otcovských plemen byl nižší a dosahoval cca 1/5 až 1/3 z celkového počtu genotypovaných prasat. U 869 vzorků zvířat byl známý jeden genotypovaný rodič, známý genotyp obou rodičů byl u 221 genotypovaných vzorků (tabulka 3). Možnosti porovnání genotypů jedinců a jejich rodičů v rámci plemen víceméně odpovídají počtu genotypovaných jedinců: nejvíce porovnání genotypu jedince s jedním rodičem (bez ohledu na použitý čip) je možné provést u ČBU (399 porovnáání), následují zvířata plemene PC a ČL (191 a 150 porovnáání) a u jednotlivých otcovských plemen je tento počet blízký 40. Provedení testu parentity (porovnáání genotypů jedince s oběma rodiči) je možné provést u 163 vzorků ČBU, 32 vzorků ČL, 15 vzorků PC a méně než 10 vzorků u jednotlivých otcovských plemen

Tabulka 2 Počty genotypovaných zvířat podle plemen a pohlaví

Plemeno	Pohlaví ¹	Počet zvířat	Počet vzorků			
			čip1	čip2	čip3	Celkem
České bílé ušlechtilé	P	526	158	32	342	532
	K	223	121	30	75	226
Česká landrase	P	132	38	1	94	133
	K	129	66	22	41	129
Duroc	P	27	0	0	27	27
	K	57	26	8	23	57
Bílé otcovské	P	17	0	0	17	17
	K	56	34	15	7	56
Pietrain	P	23	0	0	23	23
	K	77	36	9	36	81
Přeštické černostrakaté	P	96	1	64	55	120
	K	126	110	9	11	130
Celkem	P	821	197	97	558	852
	K	668	393	93	193	679
	P+K	1489	590	190	751	1531

¹ P - plemenice, K - kanci

Tabulka 3 Počet vzorků genotypovaných zvířat, u kterých lze provést analýzu příbuznosti s jedním nebo oběma rodiči

	Kombinace čipů		BU	L	D	BO	Pn	Pc	Celkem	
Známy genotyp jedince a jednoho rodiče	Stejný čip	11	135	47	6	9	9	77	437	1395
		22	11	1	1	3	2	13		
		33	70	23	9	4	13	4		
	Rozdílný čip	12	73	19	6	11	8	92	958	
		13	330	73	14	4	13	82		
		23	130	52	16	13	8	14		
Známy genotyp jedince, otce i matky	Stejný čip	111	6	1					27	238
		333	15	2		2	1			
	Rozdílný čip	112	12					1	211	
		113	51	5						
		122	6					10		
		123	52	9				10		
		133	30	11	1		2	2		
223	2			2						
233	1	4								

II.3. Výběr SNP lokusů do panelu pro ověřování původu

Pro výběr SNP lokusů do panelu jsme pro každý SNP lokus hodnotili jeho GenCall skóre, frekvenci minoritní alely a umístění lokusu na chromozomech. Vyhodnocení bylo provedeno zvlášť pro každé plemeno. Vzhledem k tomu, že ověřování původu bude probíhat u zvířat genotypovaných na různých čipech, jsou výsledky uvedeny pro lokusy společné všem použitým čipům.

II.3.1. Vyhodnocení GenCall skóre

Vyhodnocení GenCall skóre (GC) vychází ze snahy zahrnout otázku kvality stanovení genotypu do problematiky ověřování původu prasat. GC je hodnota přiřazená každému SNP genotypu. K určení dvou alel daného SNP slouží dvě různě značené oligonukleotidové sondy, které se vážou na cílovou sekvenci tohoto SNP. Hybridizace sond s cílovou sekvencí vytváří fluorescenční signál, jehož intenzita se měří a vyhodnocuje pomocí dodávaného software. U referenčního souboru mnoha vzorků je stanoven klastrovací algoritmus aplikovaný na zjištěné fluorescenční úrovně každého SNP k rozlišení tří potencionálních genotypů. Kvalita těchto klastrů je měřena tzv. GenTrain skóre, které popisuje tvar klastrů a relativní vzdálenost signálu SNP uvnitř klastru (More a kol. 2019).

GC vyjadřuje u daného SNP vzdálenost středu jeho klastru od fluorescenčního signálu hodnoceného vzorku. GC je tedy primárně navržen k odfiltrování chybných genotypů, DNA a/nebo lokusů. GC pod 0,2 všeobecně značí chybný genotyp, zatímco SNP lokusy s GC vyšší než 0,7 většinou mají dobře vyjádřené genotypy (Illumina Inc., 2005). Ve výstupech ze softwaru Illumina GenomeStudio pro vyhodnocování genotypů nejsou publikovány genotypy s hodnotou GC < 0,15 (Berry et al., 2021). Celkovou kvalitu vzorku popisuje tzv. Call Rate, který vyjadřuje podíl SNP lokusů s určeným genotypem ze všech analyzovaných lokusů u daného vzorku (Zhao a kol., 2018).

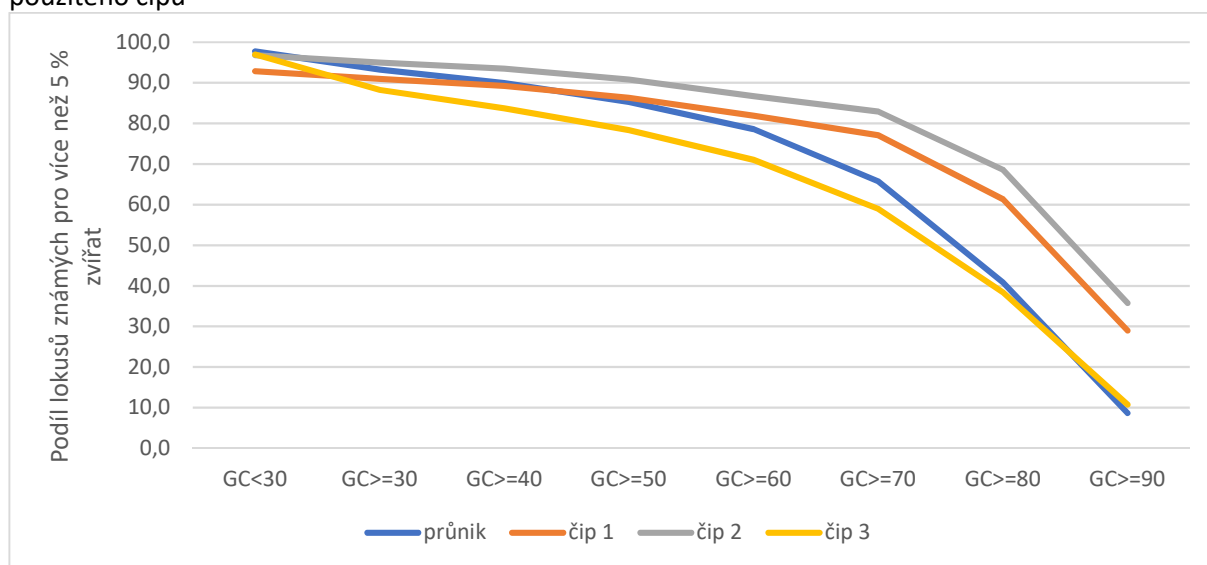
Pro stanovení paternity nebo parentity by genotyp daného SNP měl být známý pro většinu zvířat. Stanovili jsme, že za lokus se známým genotypem budeme považovat lokus, ve kterém je při zvoleném GC znám genotyp pro více než 5 % zvířat. V tabulce 4 je shrnuta změna podílu lokusů se známým genotypem při rozdílných GC. Při GC < 30 (15 < GC < 30) je u více než 5 % zvířat známo cca 97 % z celkového počtu 32898 lokusů, poté podíl známých lokusů lineárně klesá až do GC ≥ 50 (83 % u L - 86 % u BU) a dále pak klesá na méně než 10 % známých lokusů při GC ≥ 90. U čipu 1 a 2 je pokles v podílu známých genotypů při vyšších GC pozvolnější než u čipu 3 (graf 1). Mezi plemeny nejsou v počtu známých genotypů výraznější rozdíly (graf 2). Z celkového počtu 32898 lokusů SNP má při GC ≥ 70 17192 lokusů známý genotyp u všech plemen, 9067 neznámý genotyp u všech plemen a zbývající počet 6639 lokusů je známých pro 1 až 5 plemen (graf 3). Při GC ≥ 80 je situace téměř opačná: z celkového počtu lokusů má 17572 lokusů genotyp neznámý u všech plemen, 9902 lokusů genotyp známý u všech plemen a zbývajících 5424 lokusů je známo pro 1-5 plemen.

Tabulka 4 Podíl lokusů se známým genotypem* při různých GC skóre

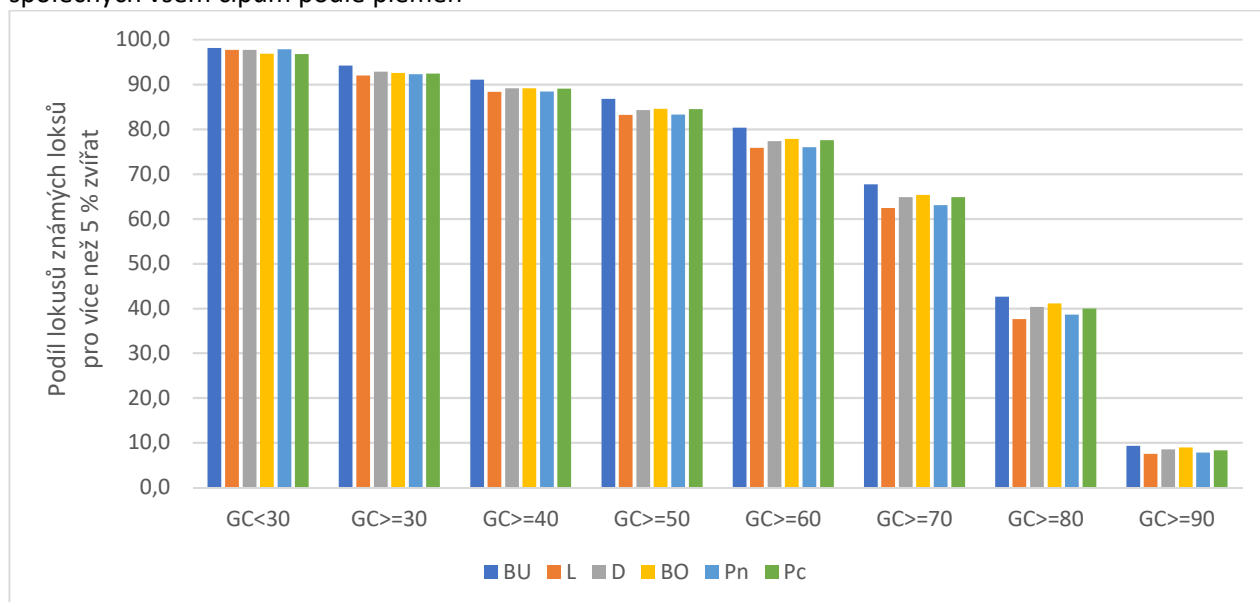
Plem.	Čip	vzorků	Podíl lokusů se známým genotypem u více než 5 % zvířat při:							
			GC < 30	GC ≥ 30	GC ≥ 40	GC ≥ 50	GC ≥ 60	GC ≥ 70	GC ≥ 80	GC ≥ 90
BU	1	279	93,5	91,8	90,3	87,8	83,8	80,1	66,0	34,0
	2	62	97,2	95,5	94,1	91,7	87,7	84,1	69,7	36,5
	3	417	97,6	90,5	86,4	81,5	74,4	62,5	41,4	11,9
	Průnik	758	98,1	94,2	91,1	86,8	80,4	67,7	42,6	9,3
L	1	104	92,8	90,8	89,0	85,8	80,6	73,8	54,8	20,7
	2	23	97,5	96,0	94,7	92,1	88,1	84,7	70,3	36,8
	3	135	96,6	85,6	80,6	74,7	66,8	54,4	34,6	9,3
	Průnik	262	97,7	92,0	88,4	83,2	75,9	62,4	37,6	7,5
D	1	26	94,1	92,5	91,0	88,4	84,4	80,7	66,6	34,3
	2	8	97,4	95,7	94,3	91,8	87,9	84,4	69,7	36,0
	3	50	96,5	88,3	83,7	78,3	71,0	59,0	38,4	10,5
	Průnik	84	97,7	92,8	89,1	84,2	77,3	64,8	40,3	8,5
BO	1	34	92,5	90,6	89,1	86,5	82,5	78,9	64,9	32,9
	2	15	92,2	89,2	87,0	83,7	78,7	74,2	60,7	31,2
	3	24	96,1	87,1	82,3	76,8	69,4	57,3	37,3	10,3
	Průnik	73	96,9	92,6	89,1	84,6	77,8	65,3	41,1	8,9

Pn	1	36	93,6	91,6	89,4	85,4	79,1	69,8	48,1	15,9
	2	9	97,0	95,4	94,0	91,4	87,4	83,8	69,6	36,4
	3	59	95,9	85,2	80,2	74,2	66,2	54,0	34,2	9,1
	Průnik	104	97,8	92,3	88,4	83,3	76,0	63,1	38,6	7,8
PC	1	111	90,8	88,2	86,1	82,6	78,3	73,3	57,8	25,9
	2	73	97,0	95,2	93,7	91,0	86,8	83,0	68,5	35,6
	3	66	94,9	81,8	76,4	70,3	62,4	50,3	31,5	8,4
	Průnik	250	96,8	92,4	89,0	84,5	77,5	64,8	40,0	8,3

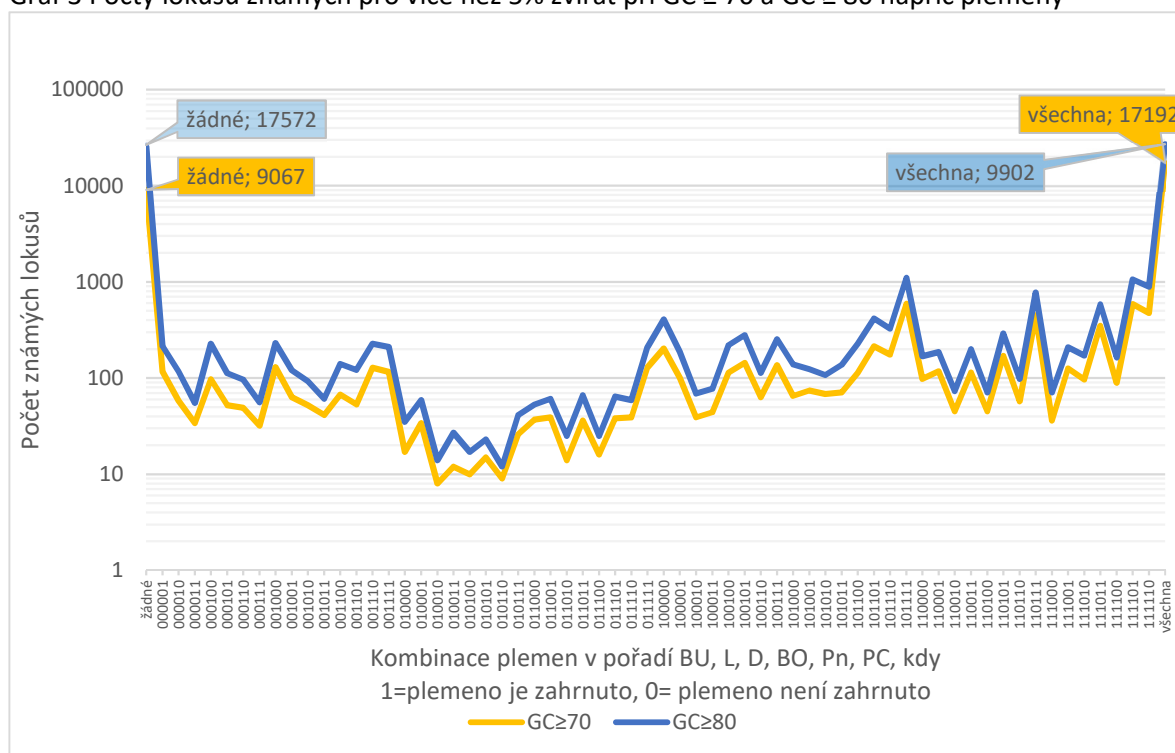
Graf 1 Podíl lokusů známých pro více než 5 % zvířat při různých GC skóre napříč plemeny podle druhu použitého čipu



Graf 2 Podíl lokusů se známým genotypem u více než 5 % zvířat při různých GC skóre u SNP lokusů společných všem čipům podle plemen



Graf 3 Počty lokusů známých pro více než 5% zvířat při GC ≥ 70 a GC ≥ 80 napříč plemeny



II.3.2. Vyhodnocení frekvencí minoritních alel a umístění na chromozomech

Frekvence alel byla vyhodnocena u SNP lokusů společných všem čipům, které splňovaly podmínku známého genotypu pro více než 5 % zvířat při zvoleném GC ≥ 70 a GC ≥ 80. Do SNP panelu by bylo vhodné vybrat lokusy, které vykazují co nejvyšší frekvence obou alel (ideálně $pA=0,5$ a $pB = 0,5$), neboli lokusy s co nejvyšší frekvencí alely, která se vyskytuje méně (minoritní alela).

Počty a podíly lokusů se zvolenými frekvencemi minoritní alely (pM) jsou uvedeny v tabulce 5. Lokusů se známým genotypem při GC ≥ 70 bylo u jednotlivých plemen 20,5 – 22,3 tisíce, při GC ≥ 80 12,3-14 tisíc. Lokusů s frekvencí minoritní alely 30 až 50 % bylo cca 7,9 až 9,9 tisíce při GC ≥ 70 a cca 5 - 6 tisíc při GC ≥ 80, pro obě GC bylo nejméně lokusů u D a PN. Z těchto lokusů je 435 (GC ≥ 70) nebo 240 (GC ≥ 80), které plní maximální hranici 5 % zvířat s neznámým genotypem při zvoleném GC a frekvenci minoritní alely $30\% \leq pM \leq 50\%$ (graf 4) a nejsou na chromozomu XY nebo bez známého umístění na chromozomu – chromozom s označením 0 (tabulka 6).

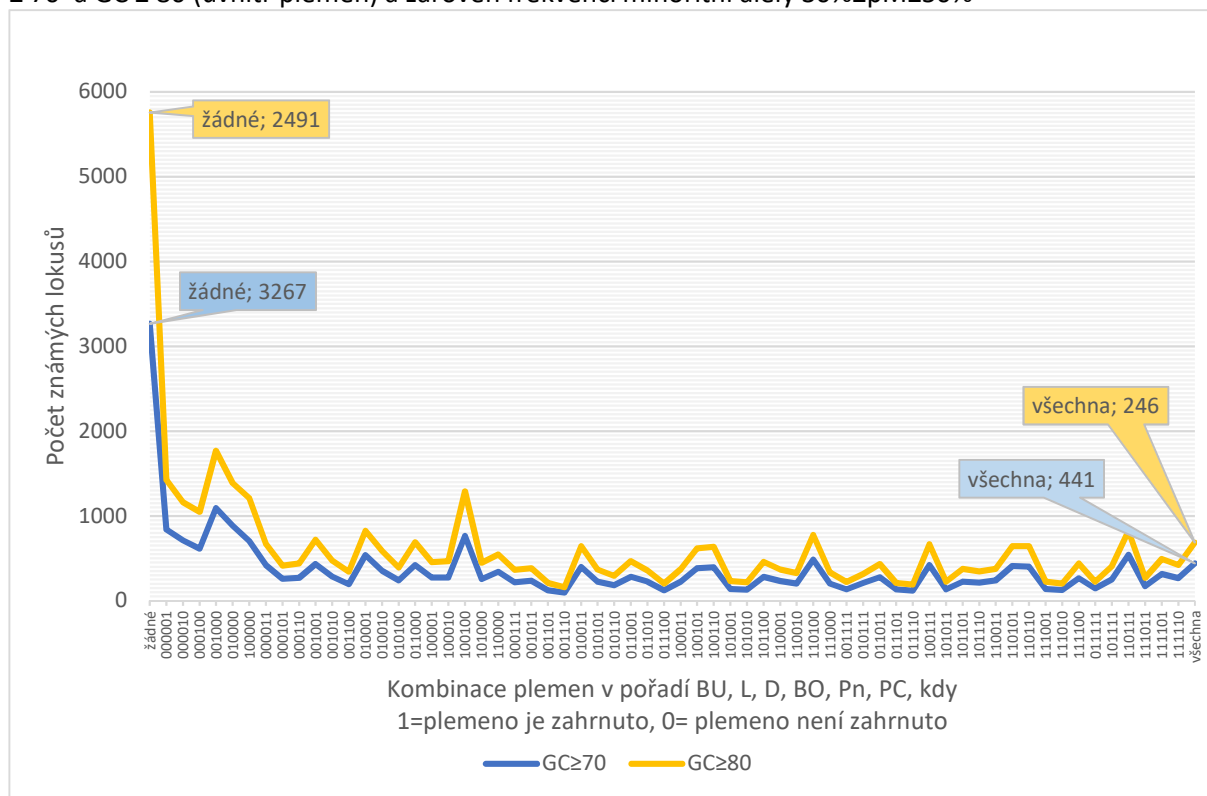
Tabulka 5 Vyhodnocení frekvencí minoritní alely u lokusů se známým genotypem

Pleme- no	GC ¹	Počet SNP ²	Podíl (počet) SNP lokusů při frekvenci minoritní alely (pM):				
			pM <10 %	$10\% \leq pM < 20\%$	$20\% \leq pM < 30\%$	$30\% \leq pM < 40\%$	$40\% \leq pM \leq 50\%$
ČBU	70	22263	16,36	18,40	20,95	22,83 (5082)	21,46 (4777)
	80	14021	16,25	18,59	21,34	22,74 (3189)	21,08 (2955)
ČL	70	20529	13,61	18,28	21,55	22,89 (4700)	23,66 (4858)
	80	12363	14,08	18,79	21,74	22,66 (2801)	22,73 (2810)
D	70	21323	24,10	19,68	19,16	19,11 (4074)	17,96 (3829)
	80	13261	24,38	19,22	18,92	19,18 (2544)	18,29 (2426)
BO	70	21492	18,25	17,94	20,21	21,24 (4565)	22,35 (4804)
	80	13526	18,48	18,24	20,26	20,64 (2792)	22,02 (2978)
PN	70	20748	18,52	19,50	19,85	21,03 (4364)	21,10 (4378)
	80	12692	18,63	19,60	20,24	20,52 (2604)	21,02 (2668)
PC	70	21319	16,94	18,21	20,62	21,68 (4622)	22,55 (4807)
	80	13154	17,34	18,38	20,90	21,37 (2811)	22,01 (2895)

¹ GC vyšší nebo roven

² Počet SNP s genotypem známým pro více než 5 % zvířat při daném GC

Graf 4 Průnik lokusů napříč plemeny. Lokusy splňují minimální 95% podíl zvířat se známým genotypem při GC ≥ 70 a GC ≥ 80 (uvnitř plemen) a zároveň frekvenci minoritní alely $30\% \leq pM \leq 50\%$



Tabulka 6 Umístění lokusů na chromozomech. Uvedeny jsou lokusy, které v rámci plemen splňují minimální podíl zvířat se známým genotypem při zvoleném GC a frekvenci minoritní alely $30\% \leq pM \leq 50\%$

Chromo- zom	Počet lokusů s $30\% \leq pM \leq 50\%$ a se známým genotypem u více než 5% zvířat při GC:		Chromo- zom	Počet lokusů s $30\% \leq pM \leq 50\%$ a se známým genotypem u více než 5% zvířat při GC:	
	GC ≥ 80	GC ≥ 70		GC ≥ 80	GC ≥ 70
0	2	5	11	3	12
1	30	50	12	4	6
2	6	13	13	21	37
3	10	18	14	40	65
4	14	35	15	16	25
5	6	23	16	11	18
6	18	34	17	5	6
7	12	17	18	5	8
8	8	17	XY	1	1
9	21	35	Celkem	243 ¹	441 ¹
10	10	16		240 ²	435 ²

¹ počet lokusů včetně neznámého chromozomu (0) a XY, ² počet lokusů s vyloučením lokusů bez známého umístění na chromozomech (0) a XY.

II.3.3. SNP panely

Z výše uvedených postupů výběru lokusů (GC, frekvence minoritní alely, umístění na chromozomech) plynou dva možné SNP panely lišící se především v minimálním požadavku na GC: panel705 (max. 5% zvířat

s neznámým genotypem při GC \geq 70) a panel805 (max. 5% zvířat s neznámým genotypem při a GC \geq 80).
Přehled SNP lokusů v obou panelech je uveden v tabulce 7.

Tabulka 7 Lokusy zahrnuté do navrhovaných SNP panelů, jejich pořadí v rámci panelů a pořadí na jednotlivých čípech

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
1	ALGA0001790	207	202	1247	1
2	ALGA0002540	302	294	1313	
3	ALGA0003525	477	466	1429	2
4	ALGA0003646	501	490	1450	3
5	ALGA0003741	514	503	1460	4
6	ALGA0005375	845	828	1686	
7	ALGA0005394	850	833	1688	5
8	ALGA0006186	1041	1021	1789	6
9	ALGA0006512	1116	1094	1823	7
10	ALGA0006895	1195	1171	1870	8
11	ALGA0007474	1354	1330	1964	9
12	ALGA0008203	1546	1520	2064	
13	ALGA0008406	1588	1557	2079	10
14	ALGA0009024	1723	1689	2156	
15	ALGA0009895	1832	1795	2227	
16	ALGA0010839	1918	1876	2272	
17	ALGA0012365	2041	1989	2329	
18	ALGA0013668	2256	2196	2465	11
19	ALGA0014480	2385	2320	2547	
20	ALGA0014483	2386	2321	2548	12
21	ALGA0017946	2817	2729	2840	
22	ALGA0018219	2852	2763	2863	13
23	ALGA0019055	2963	2871	2934	14
24	ALGA0019913	3092	2996	3004	15
25	ALGA0020749	3235	3135	3100	16
26	ALGA0021679	3335	3231	3160	
27	ALGA0023059	3432	3324	3218	
28	ALGA0024103	3575	3467	3307	
29	ALGA0024228	3609	3501	3323	
30	ALGA0024478	3661	3552	3348	17
31	ALGA0024578	3679	3570	3361	
32	ALGA0025092	3810	3697	3426	
33	ALGA0026607	4121	4001	3603	18
34	ALGA0026994	4164	4043	3637	19
35	ALGA0028117	4320	4194	3732	
36	ALGA0028239	4332	4205	3740	
37	ALGA0028467	4357	4230	3759	
38	ALGA0028802	4406	4276	3783	20
39	ALGA0029104	4445	4313	3813	
40	ALGA0030095	4534	4395	3864	21
41	ALGA0031498	4697	4547	3966	
42	ALGA0031586	4711	4561	3974	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
43	ALGA0032018	4815	4660	4021	22
44	ALGA0032317	4862	4705	4045	
45	ALGA0032767	4907	4750	4073	
46	ALGA0032941	4931	4774	4088	
47	ALGA0033952	5105	4941	4183	
48	ALGA0034179	5134	4970	4200	
49	ALGA0034888	5221	5054	4252	
50	ALGA0035355	5282	5112	4288	
51	ALGA0035365	5285	5115	4290	
52	ALGA0035387	5288	5118	4292	23
53	ALGA0036718	5466	5293	4411	24
54	ALGA0037677	5606	5422	4486	
55	ALGA0039041	5751	5558	4530	
56	ALGA0039474	5799	5604	4557	25
57	ALGA0040677	5928	5726	4639	26
58	ALGA0043059	6294	6077	4849	27
59	ALGA0043483	6347	6128	4884	
60	ALGA0047477	6858	6623	5167	28
61	ALGA0047611	6876	6641	5179	
62	ALGA0049751	7307	7058	5419	
63	ALGA0050408	7365	7115	5448	29
64	ALGA0051708	7463	7205	5504	30
65	ALGA0051749	7469	7211	5507	
66	ALGA0051934	7497	7237	5526	31
67	ALGA0051955	7501	7240	5529	32
68	ALGA0052921	7616	7353	5603	33
69	ALGA0054421	7870	7602	5758	
70	ALGA0054994	7967	7698	5824	
71	ALGA0056626	8144	7867	5920	34
72	ALGA0056816	8163	7886	5926	35
73	ALGA0058427	8312	8027	5986	
74	ALGA0063028	8948	8635	6310	
75	ALGA0063213	8963	8649	6320	
76	ALGA0066858	9303	8974	6470	
77	ALGA0067341	9348	9016	6486	36
78	ALGA0067833	9417	9084	6532	37
79	ALGA0067862	9421	9088	6533	38
80	ALGA0068355	9471	9136	6569	39
81	ALGA0069507	9623	9284	6678	40
82	ALGA0071911	10078	9728	6956	41
83	ALGA0072833	10264	9908	7060	
84	ALGA0072903	10285	9929	7077	42

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
85	ALGA0073627	10386	10025	7138	43
86	ALGA0074254	10458	10092	7189	44
87	ALGA0074315	10466	10100	7192	45
88	ALGA0074380	10474	10107	7196	46
89	ALGA0074381	10475	10108	7197	47
90	ALGA0075247	10553	10184	7238	
91	ALGA0075462	10573	10204	7255	48
92	ALGA0076318	10674	10304	7323	49
93	ALGA0076667	10728	10356	7360	50
94	ALGA0076744	10741	10369	7369	
95	ALGA0077324	10838	10463	7437	51
96	ALGA0077360	10842	10467	7441	52
97	ALGA0077425	10857	10482	7452	
98	ALGA0077433	10860	10485	7455	53
99	ALGA0077581	10882	10507	7468	54
100	ALGA0084558	11872	11455	8058	
101	ALGA0085228	11989	11567	8121	
102	ALGA0085422	12022	11600	8134	55
103	ALGA0087527	12433	12002	8387	
104	ALGA0087869	12464	12030	8409	
105	ALGA0089281	12602	12160	8497	
106	ALGA0090781	12850	12404	8654	56
107	ALGA0091071	12885	12439	8678	57
108	ALGA0091362	12938	12489	8708	58
109	ALGA0091527	12964	12515	8723	
110	ALGA0094834	13346	12880	8916	59
111	ALGA0097148	13597	13123	9025	60
112	ALGA0098358	13809	13327	9148	
113	ALGA0098403	13816	13334	9151	61
114	ALGA0098906	13880	13395	9185	62
115	ALGA0102100	14308	13808	9363	63
116	ALGA0102786	14401	13900	9413	64
117	ALGA0103459	14546	14036	9493	65
118	ALGA0104320	14752	14230	9598	66
119	ALGA0104519	14788	14265	9618	67
120	ALGA0105328	14972	14438	9705	
121	ALGA0105509	15018	14482	9731	
122	ALGA0107784	15554	14987	9988	
123	ALGA0108236	15684	15113	10051	68
124	ALGA0109079	15866	15284	10143	
125	ALGA0111742	16492	15877	10456	
126	ALGA0112514	16680	16057	10549	69
127	ALGA0112970	16778	16150	10594	
128	ALGA0113830	16973	16333	10684	
129	ALGA0114065	17028	16386	10712	70
130	ALGA0114408	17104	16457	10755	71
131	ALGA0114854	17198	16549	10809	72

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
132	ALGA0115452	17328	16670	10878	73
133	ALGA0117002	17669	16988	11047	74
134	ALGA0117579	17772	17087	11095	
135	ALGA0119138	18135	17428	11263	
136	ALGA0119392	18199	17490	11296	75
137	ALGA0119450	18209	17500	11300	76
138	ALGA0120242	18397	17677	11382	
139	ALGA0122219	18731	18001	11551	
140	ALGA0124167	19136	18388	11737	77
141	ALGA0124243	19147	18399	11743	78
142	ASGA0000640	19275	18521	11814	79
143	ASGA0001168	19325	18567	11850	80
144	ASGA0001735	19405	18647	11894	81
145	ASGA0002001	19439	18679	11916	82
146	ASGA0002800	19553	18791	11995	83
147	ASGA0003720	19742	18977	12132	84
148	ASGA0004685	19933	19165	12242	
149	ASGA0005405	20087	19315	12333	
150	ASGA0005442	20094	19322	12338	85
151	ASGA0011756	20898	20098	12846	
152	ASGA0012490	20961	20160	12882	86
153	ASGA0015631	21296	20482	13093	
154	ASGA0015984	21336	20521	13122	
155	ASGA0017803	21495	20674	13226	
156	ASGA0018410	21557	20735	13264	
157	ASGA0019358	21702	20874	13355	87
158	ASGA0020073	21859	21026	13447	88
159	ASGA0024099	22277	21431	13727	89
160	ASGA0025399	22433	21580	13826	
161	ASGA0026338	22563	21708	13900	
162	ASGA0026508	22578	21723	13911	90
163	ASGA0029650	22929	22063	14131	
164	ASGA0030401	23006	22138	14179	91
165	ASGA0031873	23170	22301	14256	92
166	ASGA0035466	23587	22705	14517	93
167	ASGA0036827	23717	22827	14593	94
168	ASGA0038503	23897	23004	14703	
169	ASGA0040664	24195	23289	14896	95
170	ASGA0042135	24307	23394	14977	96
171	ASGA0042377	24322	23408	14988	
172	ASGA0042615	24374	23458	15013	97
173	ASGA0044098	24594	23671	15176	
174	ASGA0046622	24836	23907	15294	
175	ASGA0047582	24928	23994	15344	98
176	ASGA0048497	25023	24086	15391	99
177	ASGA0049925	25148	24208	15450	
178	ASGA0050023	25156	24216	15456	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
179	ASGA0053310	25488	24533	15653	100
180	ASGA0053453	25499	24544	15657	
181	ASGA0055532	25641	24679	15724	
182	ASGA0055883	25681	24719	15749	
183	ASGA0058816	26099	25124	16004	101
184	ASGA0059163	26165	25190	16052	
185	ASGA0060118	26313	25331	16145	
186	ASGA0061781	26458	25466	16226	102
187	ASGA0062678	26573	25577	16301	
188	ASGA0063151	26648	25650	16348	103
189	ASGA0063160	26651	25652	16349	
190	ASGA0063175	26656	25657	16353	104
191	ASGA0063176	26657	25658	16354	105
192	ASGA0063186	26660	25661	16357	
193	ASGA0063188	26661	25662	16358	106
194	ASGA0063192	26662	25663	16359	107
195	ASGA0063201	26665	25666	16361	
196	ASGA0063205	26666	25667	16362	
197	ASGA0063206	26667	25668	16363	108
198	ASGA0063207	26668	25669	16364	109
199	ASGA0063228	26670	25671	16366	
200	ASGA0063229	26671	25672	16367	110
201	ASGA0063232	26672	25673	16368	111
202	ASGA0063238	26673	25674	16369	
203	ASGA0063319	26689	25690	16382	112
204	ASGA0063323	26690	25691	16383	
205	ASGA0063366	26694	25695	16384	113
206	ASGA0063411	26711	25711	16394	
207	ASGA0064847	26901	25897	16519	
208	ASGA0066844	27153	26143	16685	
209	ASGA0068498	27302	26286	16774	114
210	ASGA0068630	27325	26308	16792	115
211	ASGA0068936	27364	26346	16820	116
212	ASGA0069382	27420	26401	16860	117
213	ASGA0069432	27432	26412	16869	
214	ASGA0069448	27436	26416	16871	
215	ASGA0070029	27539	26518	16934	118
216	ASGA0071211	27725	26701	17067	119
217	ASGA0071226	27729	26705	17070	120
218	ASGA0072851	27878	26843	17163	121
219	ASGA0073034	27904	26869	17182	122
220	ASGA0073036	27905	26870	17183	123
221	ASGA0076112	28257	27214	17391	124
222	ASGA0077952	28437	27388	17473	125
223	ASGA0083083	29178	28102	17809	126
224	ASGA0083191	29201	28124	17821	
225	ASGA0083653	29286	28202	17863	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
226	ASGA0086210	29737	28640	18080	
227	ASGA0088953	29896	28794	18160	127
228	ASGA0089038	29915	28812	18169	
229	ASGA0091538	30517	29383	18459	128
230	ASGA0092473	30729	29586	18561	129
231	ASGA0092488	30735	29592	18566	
232	ASGA0093046	30864	29717	18634	
233	ASGA0093156	30888	29741	18646	130
234	ASGA0093631	30989	29835	18701	131
235	ASGA0094554	31231	30064	18813	132
236	ASGA0094670	31255	30087	18830	133
237	ASGA0094688	31258	30090	18833	
238	ASGA0095649	31474	30299	18934	
239	ASGA0096149	31586	30406	18991	134
240	ASGA0096354	31624	30443	19013	
241	ASGA0096955	31774	30586	19086	
242	ASGA0097151	31812	30621	19105	135
243	ASGA0097605	31918	30721	19161	
244	ASGA0097750	31955	30757	19181	136
245	ASGA0097769	31959	30761	19183	137
246	ASGA0098368	32095	30889	19255	
247	ASGA0098479	32121	30915	19272	
248	ASGA0098610	32150	30941	19288	
249	ASGA0098960	32234	31024	19334	
250	ASGA0099106	32273	31063	19358	
251	ASGA0099314	32326	31114	19385	138
252	ASGA0100297	32555	31331	19494	
253	ASGA0100672	32636	31410	19534	
254	ASGA0102042	32966	31727	19696	139
255	ASGA0102908	33154	31910	19791	
256	ASGA0105325	33719	32452	20073	140
257	ASGA0105620	33791	32520	20114	
258	CAIL0000146	34151	32871	20246	141
259	CASI0008842	34477	33192	20362	
260	DBNP0002145	34791	33498	20503	142
261	DIAS0000267	35013	33715	20627	
262	DIAS0000538	35109	33809	20687	
263	DIAS0001040	35278	33977	20792	
264	DIAS0001058	35284	33983	20796	143
265	DIAS0001201	35338	34037	20831	144
266	DIAS0001261	35350	34049	20839	
267	DIAS0003279	35784	34475	21104	145
268	DIAS0004318	35939	34628	21181	146
269	DIAS0004465	35983	34669	21209	
270	DRGA0000298	36146	34829	21315	147
271	DRGA0000636	36206	34885	21352	
272	DRGA0001418	36377	35051	21468	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
273	DRGA0001699	36470	35142	21501	148
274	DRGA0002388	36661	35332	21572	
275	DRGA0004390	36984	35644	21756	149
276	DRGA0004616	37027	35683	21780	
277	DRGA0004810	37066	35720	21805	
278	DRGA0006517	37370	36013	21940	
279	DRGA0007943	37639	36274	22060	150
280	DRGA0008866	37803	36432	22161	151
281	DRGA0008912	37810	36439	22168	152
282	DRGA0009036	37824	36452	22178	
283	DRGA0009899	38003	36627	22278	153
284	DRGA0010231	38030	36653	22290	
285	DRGA0010450	38052	36674	22300	154
286	DRGA0010966	38128	36749	22337	
287	DRGA0013770	38605	37202	22602	155
288	DRGA0013810	38613	37210	22608	156
289	DRGA0015530	38958	37548	22796	
290	DRGA0016846	39142	37725	22899	157
291	DRGA0017605	39319	37896	22982	158
292	H3GA0000513	39369	37944	23009	
293	H3GA0001144	39429	38002	23057	159
294	H3GA0001315	39454	38025	23073	160
295	H3GA0012483	40649	39183	23810	
296	H3GA0012720	40693	39226	23837	
297	H3GA0012873	40725	39255	23858	161
298	H3GA0013429	40787	39316	23895	162
299	H3GA0015371	40956	39478	24005	
300	H3GA0020035	41385	39885	24269	
301	H3GA0020039	41387	39887	24270	
302	H3GA0020186	41413	39911	24283	
303	H3GA0024222	41780	40267	24504	
304	H3GA0024522	41809	40296	24521	163
305	H3GA0024530	41812	40299	24524	164
306	H3GA0025865	41981	40459	24631	165
307	H3GA0026218	41999	40475	24645	166
308	H3GA0026474	42015	40491	24656	167
309	H3GA0026867	42058	40531	24687	168
310	H3GA0026923	42063	40535	24690	
311	H3GA0028334	42255	40724	24827	169
312	H3GA0031192	42477	40932	24957	170
313	H3GA0032077	42589	41038	25021	171
314	H3GA0032297	42610	41058	25036	
315	H3GA0032530	42640	41087	25057	172
316	H3GA0037650	43094	41527	25330	173
317	H3GA0037849	43123	41555	25351	
318	H3GA0038738	43187	41616	25401	174
319	H3GA0039110	43207	41634	25408	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
320	H3GA0039542	43246	41671	25433	175
321	H3GA0039704	43269	41694	25442	176
322	H3GA0039737	43276	41701	25445	177
323	H3GA0040186	43329	41750	25476	178
324	H3GA0043731	43645	42051	25686	179
325	H3GA0045300	43843	42242	25820	180
326	H3GA0046923	44004	42398	25925	181
327	H3GA0046969	44009	42403	25929	
328	H3GA0047235	44030	42423	25943	
329	H3GA0048573	44143	42530	26004	182
330	H3GA0052815	44673	43044	26274	
331	H3GA0056705	45360	43702	26636	
332	INRA0006959	45928	44258	26829	183
333	INRA0007591	45949	44278	26842	184
334	INRA0021527	46443	44762	27033	185
335	INRA0025434	46546	44862	27064	186
336	INRA0033776	46836	45144	27182	187
337	INRA0040890	47023	45325	27256	188
338	INRA0043392	47117	45417	27298	189
339	INRA0043964	47151	45450	27318	
340	INRA0043972	47153	45452	27319	190
341	INRA0043983	47155	45454	27321	191
342	INRA0049135	47389	45685	27424	192
343	INRA0056201	47651	45943	27512	193
344	M1GA0004815	48182	46461	27777	194
345	M1GA0007422	48342	46618	27884	
346	M1GA0007494	48347	46623	27887	
347	M1GA0008559	48428	46703	27940	195
348	M1GA0009455	48479	46753	27968	196
349	M1GA0009632	48494	46766	27975	197
350	M1GA0010156	48535	46804	27998	198
351	M1GA0010987	48599	46868	28040	199
352	M1GA0011796	48634	46901	28063	
353	M1GA0012065	48668	46932	28085	
354	M1GA0013846	48752	47010	28139	
355	M1GA0015002	48806	47059	28170	
356	M1GA0018398	48974	47216	28254	200
357	M1GA0019145	49020	47261	28286	
358	M1GA0024345	49350	47573	28453	201
359	M1GA0024771	49383	47606	28470	
360	M1GA0024787	49385	47608	28471	
361	M1GA0026456	49536	47750	28538	
362	MARC0002374	49873	48067	28708	202
363	MARC0002503	49890	48084	28722	203
364	MARC0002796	49932	48124	28739	
365	MARC0004695	50182	48360	28861	204
366	MARC0005109	50240	48418	28892	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
367	MARC0006658	50433	48605	28982	205
368	MARC0006798	50453	48624	28992	
369	MARC0007573	50547	48717	29038	206
370	MARC0008762	50686	48852	29108	
371	MARC0008934	50708	48874	29120	
372	MARC0011128	50979	49139	29256	
373	MARC0011569	51026	49186	29283	207
374	MARC0011622	51033	49193	29290	208
375	MARC0012729	51160	49316	29347	209
376	MARC0012973	51183	49339	29359	210
377	MARC0014155	51310	49460	29422	211
378	MARC0014344	51340	49490	29442	
379	MARC0015213	51448	49594	29493	212
380	MARC0018157	51840	49971	29691	
381	MARC0018401	51863	49993	29696	213
382	MARC0021603	52249	50365	29865	
383	MARC0025847	52685	50784	30081	214
384	MARC0026937	52818	50913	30137	215
385	MARC0029930	53205	51278	30312	
386	MARC0031610	53432	51497	30432	
387	MARC0032057	53502	51564	30465	216
388	MARC0032360	53548	51609	30484	
389	MARC0033973	53767	51820	30577	217
390	MARC0034413	53830	51878	30607	218
391	MARC0034587	53857	51903	30617	219
392	MARC0036724	54133	52165	30748	
393	MARC0042884	54731	52738	31053	
394	MARC0043274	54771	52777	31071	220
395	MARC0043488	54793	52799	31084	221
396	MARC0044183	54880	52883	31125	
397	MARC0047822	55247	53236	31298	222
398	MARC0047828	55248	53237	31299	
399	MARC0048767	55317	53305	31333	223
400	MARC0050566	55501	53483	31423	224
401	MARC0050704	55519	53500	31436	225
402	MARC0050770	55524	53504	31439	226
403	MARC0051061	55562	53541	31456	
404	MARC0051233	55585	53563	31463	227
405	MARC0051329	55599	53576	31472	
406	MARC0056112	56165	54124	31746	
407	MARC0058373	56437	54387	31876	228
408	MARC0058812	56496	54444	31897	
409	MARC0059260	56540	54484	31916	
410	MARC0060060	56628	54569	31968	229
411	MARC0065490	57085	55008	32182	
412	MARC0066980	57192	55111	32239	230
413	MARC0068884	57370	55281	32328	

Poř. 705	Název lokusu	Poř. čip1	Poř. čip2	Poř. čip3	Poř. 805
414	MARC0071130	57628	55528	32453	
415	MARC0073090	57832	55724	32542	
416	MARC0075799	58115	55998	32677	231
417	MARC0076441	58176	56056	32706	232
418	MARC0078906	58352	56222	32789	233
419	MARC0082286	58552	56411	32887	234
420	MARC0082369	58570	56427	32898	
421	MARC0082964	58625	56481	32919	
422	MARC0086143	58943	56790	33073	
423	MARC0086616	58990	56833	33090	235
424	MARC0094887	59810	57624	33496	
425	MARC0095029	59822	57636	33500	236
426	MARC0095887	59915	57725	33543	
427	MARC0097674	60067	57872	33612	
428	MARC0099264	60186	57985	33668	
429	MARC0101759	60320	58116	33724	
430	MARC0103451	60378	58173	33751	237
431	MARC0110411	60726	58512	33919	238
432	MARC0111844	60852	58630	33961	239
433	MARC0113569	61009	58778	34032	240
434	SIRI0001105	61422	59179	34344	
435	SIRI0001302	61475	59232	34373	

II.4. Vyhodnocení příbuznosti zvířat pomocí SNP panelů

V dostupném souboru SNP dat bylo provedeno vyhodnocení příbuznosti vlastním programem pedigreeCheck (fortan95). Data z laboratoří finalResults.csv (finalResults.txt) byla převedena do formátu „0125“ (genotypy jedince jsou vyjádřeny jako 0 = BB, 1 = AB, 2 = AA, 5 = genotyp neznámý: genotyp laboratoří nezveřejněn při GC<0,15) tak, aby pořadí SNP bylo u různých chipů stejné (vlastní program plink2OnlyMap – fortran95). Soubory byly vytvořeny pro každé plemeno zvlášť a obsahovaly všechny dostupné vzorky daného plemene bez ohledu na kvalitu vyhodnocení vzorku (CallRate). Algoritmus použitý pro posouzení shody/neshody genotypu jedince a obou rodičů nebo jedince a jednoho rodiče (druhý rodič je neznámý) je uveden v tabulce 8.

Tabulka 8 Posouzení shody/neshody genotypu jedince a rodiče/rodičů (legenda pod tabulkou)

			rodič 1			
			AA	AB	BB	--
			2	1	0	5
rodič 2	AA	2	genotypy potomka			
			AA: 2	AA: 2	AA: 2	AA: 2
			AB: 1	AB: 1	AB: 1	AB: 1
			BB: 0	BB: 0	BB: 0	BB: 0
	AB	1	AA: 2	AA: 2	AA: 2	AA: 2
			AB: 1	AB: 1	AB: 1	AB: 1
			BB: 0	BB: 0	BB: 0	BB: 0
			AA: 2	AA: 2	AA: 2	AA: 2
	BB	0	AB: 1	AB: 1	AB: 1	AB: 1
			BB: 0	BB: 0	BB: 0	BB: 0
			AA: 2	AA: 2	AA: 2	AA: 2
			AB: 1	AB: 1	AB: 1	AB: 1
	--	5	BB: 0	BB: 0	BB: 0	BB: 0
			AA: 2	AA: 2	AA: 2	AA: 2
			AB: 1	AB: 1	AB: 1	AB: 1
			BB: 0	BB: 0	BB: 0	BB: 0

nesouhlasí	souhlasí neinformativní	souhlasí	neznámý
------------	-------------------------	----------	---------

II.4.1 Vyhodnocení nekonzistentních dat

Srovnání rodokmenových dat a dat SNP genotypů bylo provedeno vždy v rámci plemen. Vzhledem ke způsobu sběru a genotypování vzorků není možné u vzorků vykazujících nesoulad rodokmenu a zjištěné příbuznosti zvířat provést opakovaný odběr a genotypování. Na každý nesoulad je tedy nutné pohlížet buď jako na chybu rodokmenu v databázi kontroly užitečnosti nebo na chybu v odběru nebo zpracování vzorku (chybný odběr a označení vzorku, kontaminace, záměna vzorku při pozdější manipulaci apod.).

Bylo provedeno porovnání genotypů jedinců s jednotlivými rodiči i porovnání genotypů jedinců s oběma rodiči. Příbuzenský vztah byl vyloučen při více než 1 neshodě mezi SNP genotypy. U zvířat se zjištěným nesouladem mezi genotypy byla provedena kontrola genotypu jedince a rodiče s ostatními příbuznými zvířaty – rodiči nebo potomky. Z této kontroly vyplynula buď možnost oprav rodokmenu jedince nebo označení vzorku nevěrohodným a jeho vyloučení z dalších analýz. Souhrn navržených úprav je uveden v tabulkách 9-11. Celkem bylo vyhodnoceno jako nesprávných (nevěrohodný vzorek/vzorky nebo chyba rodokmenu) 56 z 1552 vzorků (tj. 3,6 %): 27 ze 758 u BU (3,6 %), 16 z 262 u L (6,1 %), 5 z 84 u D (5,9 %), 3 ze 73 u BO (4,1 %), žádný ze 104 u PN (0 %) a 5 z 250 u PC

(2,0 %). U některých ze vzorků může být v budoucnu s nárůstem údajů chybovost upřesněna (vzorky, u nichž nebylo možné rozhodnout, který je chybný a bylo nutné vyloučit více příbuzných jedinců pro nedostatek dalších údajů).

Většina zjištění neshody mezi daty rodokmenů a daty ze SNP genotypů při porovnání jedinec-rodíč byla potvrzena porovnáními mezi jedincem a oběma rodiči. Výjimkou jsou 3 případy, kdy informace o genotypu obou rodičů vedla k vyloučení jedince, ale porovnání jedince s každým z rodičů jednotlivě by k vyloučení příbuznosti (při limitu více než 1 neshody v genotypu) nevedlo (zvířata 119190834, 120292359, 120292360). Tato zjištění byla pouze u plemen BU a L, což odpovídá počtu jedinců s genotypovanými oběma rodiči a je pravděpodobné, že při vyšším počtu porovnání u ostatních plemen, by se tyto případy vyskytovaly také.

Tabulka 9. Výsledky analýzy rodokmenů a SNP dat u plemene bílé ušlechtilé (červeně jsou označeny vzorky, u nichž je možné předpokládat chybu vzorku – nevěrohodný vzorek - NV; modře jsou označena zvířata, u nichž lze předpokládat chybu v rodokmenu; zeleně podbarveny jsou nalezené vztahy mezi zvířaty odpovídající pozicím jedinec – rodič nebo jedinec–rodič1–rodič2).

Porovnání genotypů zvířat a potomků				Porovnání genotypů zvíře – rodič 1 – rodič 2
Jedinec ¹	Rodiče	Pot.	Řešení	
	S ² /V ³	S ² /V ³		
118043430	1/0	7/5	119043645 – oprava otce na 117045117 nebo NV	119043645-118043430-118041339 – nesouhlasí 119043645-118041339-117045117- souhlasí 119043650-118041339 - 117045117- souhlasí
118041339	0/0	2/0	119043650 – oprava otce na 117045117 nebo NV	
119043645	1/1	0/0		
119043650	1/1	0/0		
118043430	1/0	7/5	119043846 – otec na 118042556 nebo NV	
119043846	0/1	0/0	119043848 – otec na 118042556 nebo NV	
119043848	0/1	0/0	119043850 – otec na 118042556 nebo NV	
119043850	0/1	0/0		
118191568	0/0	3/2	119043816 – NV	
119043816	0/1	0/0	119043817 – NV	
119043817	0/1	0/0		
114190684	0/0	1/1	116037439 – nesouhlasí s otcem, souhlasí s potomkem – možná chyba v rodokmenu	
116037439	0/1	1/0		
116037384	1/0	2/0		
114191614	0/0	6/1	Potomek 117191645 – NV	
117191645	0/1	0/0		
117037471	1/1	3/0	matka 116036824 – NV	
117237474	1/1	4/0	nebo oprava rodokmenu	
116036824	0/0	0/2		
118044781	1/1	1/0	Matka 117042963 chybně v rodokmenu	118044781-116045620-117042963 - nesouhlasí
117042963	1/0	1/1		
116045620	0/0	6/0		
116034739	1/0	3/1	Potomek 118103218 – NV	118103218-116034739-116102752 – nesouhlasí
116102752	0/0	0/1	Matka 116102752 – NV	
118103218	0/2	0/0		
116037246	0/0	5/1	119103583 - 118034057 - nesouhlasí	119037560-118034057-116037246 – nesouhlasí 119037560-118034057-117036724 – datum narození zvířete odpovídá datu vrhu 117036724
118034057	0/2	19/6	119103593 - 118034057- 1 neshoda	
119037560	1/1	0/0	119103671 – 118034057 – 1 neshoda 119103671 – shoda 1 potomek (0 lok.)	
117102934	1/0	1/1	119103690 – 118034057 – 1 neshoda	
119103583	0/2	0/0	120010663 – 118034057 – 1 neshoda	
117102913	1/0	1/0	119037560 – 118034057 – souhlasí	
119103568	1/1	1/0	119103568 - 118034057- 1 neshoda, 119103568 - shoda 1 potomek (0 lok.)	
117044843	1/0	2/1	Potomek 119040422 – NV	
119040422	0/1	0/0		

119192814	0/0	0/2	119192814 nesouhlasí s oběma potomky - NV	120192687-119192814-118192114 – nesouhlasí
120192687	1/1	0/0		120192889-119192814-119190645 – nesouhlasí
119190645	0/0	1/0		
120192889	1/1	0/0		
117044852	1/0	6/1	119041950 – NV	119041950-117044852-117045839 – nesouhlasí
117045839	2/0	0/1		
119041950	1/1	0/0		
118042898	0/0	12/3	119043986 – NV	119043986-118042898-118044339 – nesouhlasí
118044339	1/0	4/1	119044120 – souhlasí s 117193175	119043986-117045277-117193175 – souhlasí,
119043986	0/2	0/0	119044122 – souhlasí s 117193175	ale časově nepravděpodobné
119044120	0/1	0/0		
119044122	0/1	0/0		
118191567	0/0	12/1	120103868 – NV	
120103868	0/1	0/0		
118038380	1/0	0/1	119169900 -NV	
119169900	0/1	0/0		
119192814	0/0	0/2	119192814 nesouhlasí s oběma potomky - NV	120192687-119192814-118192114 - nesouhlasí
118192114	0/0	0/1		120192889-119192814-119190645 – nesouhlasí
117192584	0/0	10/0	Z výsledků porovnání nevyplyvá žádný nesoulad.	119190834-117192584-117192656 - nesouhlasí
117192656	1/0	1/0		
119190834	2/0	0/0		
119038612	2/0	2/0	Z výsledků porovnání nevyplyvá žádný nesoulad.	121036919-119038612-119037165 – 1 neshoda
119037165	1/0	1/0		
121036919	1/0	1/0		

Tabulka 10. Výsledky analýzy rodokmenů a SNP dat – plemeno landrase (červeně jsou označeny vzorky, u nichž je možné předpokládat chybu vzorku – nevěrohodný vzorek - NV; modře jsou označena zvířata, u nichž lze předpokládat chybu v rodokmenu; zeleně podbarveny jsou nalezené vztahy mezi zvířaty odpovídající pozicím jedinec – rodič nebo jedinec–rodič1–rodič2).

Porovnání genotypů zvířat a potomků				Porovnání genotypů zvíře – rodič 1 – rodič 2
Jedinec ¹	Rodiče	Pot.	Řešení	
	S ² /V ³	S ² /V ³		
113263236	0/0	13/1	115263255 – pravděpodobně chybný otec v rodokmenu	
115263255	0/1	2/0		
113293525	0/0	2/1	115293021 – bez dalších vazeb – NV	
115293021	0/1	0/0		
115250519	0/0	6/1	117262009 – bez dalších vazeb – NV	
117262009	0/1	0/0		
115263697	0/0	1/1	118260349 – nesouhlasí s otcem ani se 2 svými	
118260349	0/1	0/2	potomky – NV	
119260754	1/0	0/1	Z dostupných údajů nelze usoudit na chybu	
120263344	0/1	0/0	vzorku/rodokmenu – obě zvířata NV	
118260898	1/0	6/0	118260349 – NV	119260670-118260898-118260349 - nesouhlasí
118260349	0/1	0/2		119260673-118260898-118260349 – nesouhlasí
119260670	1/1	0/0		
119260673	1/1	0/0		
118292833	0/0	1/3	118292833 –120292359 1 neshoda	120292359-118292833-118292060 – 3 neshody
118292060	1/0	2/0	120292359-118292833 – 1 neshoda	120292360-118292833-118292060 – 3 neshody
118292059	1/0	2/0	120292360-118292833 - 1 neshoda	120292274-118292833-118292059 – 1 neshoda
120292359	1/1	1/0	120292542-118292833 – 3 neshody	
120292360	1/1	1/0		
120292274	2/0	0/0		
120292542	0/1	0/0		
118292827	0/0	1/1	Potomek 119293059 – bez dalších vazeb – NV	120292068-118292827-118292650 – souhlasí
118292650	0/0	1/0		
119293059	0/1	0/0		
120292068	2/0	0/0		

117292964	0/0	1/1	119292308 – 117292964 – nesouhlasí	119292898-117292964-118292014 - souhlasí
118292014	1/0	2/0	120292854 – 119292308 – nesouhlasí	
119292898	2/0	0/0		
119292308	0/1	0/1		
118292116	0/0	0/2	Z dostupných údajů nelze usoudit na chybu vzorku/rodokmenu – NV pro všechna zvířata	
119292623	0/1	0/0		
119292628	0/1	0/0		

Tabulka 11. Výsledky analýzy rodokmenů a SNP dat – plemeno duroc, pietrain a přeštické černostrakaté (červeně jsou označeny vzorky, u nichž je možné předpokládat chybu vzorku – nevěrohodný vzorek - NV; modře jsou označena zvířata, u nichž lze předpokládat chybu v rodokmenu; zeleně podbarveny jsou nalezené vztahy mezi zvířaty odpovídající pozicím jedinec – rodič nebo jedinec–rodič1-rodič2).

Porovnání genotypů zvířat a potomků				Porovnání genotypů zvíře – rodič 1 – rodič 2
Jedinec ¹	Rodiče	Pot.	Řešení	
	S ² /V ³	S ² /V ³		
117300153	1/0	3/1	119301128 – NV	
119301128	0/1	0/0		
115300135	0/0	4/1	119301001 – NV	
119301001	0/1	0/0		
118352135	0/0	2/1	119352309 – NV	
119352309	0/1	0/0		
119352439	0/0	0/1	Z dostupných údajů nelze usoudit na chybu vzorku/rodokmenu – NV pro obě zvířata	
120301378	0/1	0/0		
115451120	0/0	0/1	Z dostupných údajů nelze usoudit na chybu vzorku/rodokmenu – NV pro všechna zvířata	
116451404	0/1	0/1		
118450752	0/0	0/1		
108968007	1/0	10/2	116968809 – genotypován 2x :	
116968809	0/2	0/0	186: neogen z 9.7.2021 – neshoda	
vzorek 186			162:illumina z 9.6. 2021 – shoda	
115969290	1/0	5/1	116966673 – NV	116966673-115969290-115966633 – nesouhlasí
115966633	1/0	1/1		116966673-116966688-115966638 – souhlasí
116966673	0/2	0/0		herealistické
108912971	0/0	2/0	Nejpravděpodobněji chyba vzorku 110912705	
110912705	1/0	0/1		
113912410	0/1	1/0	108911296: illumina 4.6.2020 soubor 15 řádek 9 -	
108911296	0/0	2/2	neshoda, illumina 4.6.2020 soubor 4 řádek 23 - shoda	
vzorek 96				
111912513	1/1	3/0	117931296 – NV	
116930869	0/0	26/1		
117931296	0/1	0/0		

II.4.2 Porovnání navržených panelů

Mezi výsledky hodnocení příbuznosti navrženými panely nebyly zaznamenány výraznější odchylky (tabulka 12 a 13). Při porovnání jedinců s jedním rodičem byl mezi panely zjištěn pouze rozdíl v počtu vyloučených jedinců při limitu nesouhlasných genotypů = 0 způsobený rozdílem v zahrnutí/nezahrnutí 1 lokusu do panelů. Větší rozdíly jsou způsobeny stanovením limitu nesouhlasných genotypů pro vyloučení jedince. Byly testovány dva limity (L): $L>0$, kdy je příbuzenský vztah vyloučen při 1 a více nesouhlasných genotypů a $L>1$, kdy je příbuzenský vztah vyloučen při více než 1 nesouhlasném genotypu. Ve většině porovnávaných případů by mohla být pro vyloučení jedince stanovena nulová tolerance v počtu nesouhlasných genotypů. Výjimkou jsou případy shrnuté v tabulce 10 a 11 u zvířat 118034057 a jeho potomků, u 121036919, kdy by nulová tolerance vedla k vyloučení pravděpodobně správných jedinců. Naopak u 118292833 a jeho potomků by vyšší než nulový limit vedl k potvrzení pravděpodobně nesprávných zvířat.

Tabulka 12 Výsledky porovnání genotypu jedince s jedním rodičem

Plemeno	N	Počet vyloučených vztahů jedinec – rodič při zvoleném limitním počtu nesouhlasných genotypů (L)			
		Panel705		Panel805	
		L>0	L>1	L>0	L>1
BU	749	34*	27	28*	27
L	215	15	12	15	12
D	54	4	4	4	4
BO	44	2	2	2	2
PN	53	0	0	0	0
PC	282	10	8	10	8

* zvíře-rodič 119103568-118034057, 119103593-118034057, 119103671-118034057, 119103690-118034057, 119103663-118034057, 119191572-117193196: 1 nesouhlasný genotyp u panel705 a žádný nesouhlasný genotyp u panel805

Tabulka 13 Výsledky porovnání genotypů jedince s oběma rodiči

Plemeno	N ¹	Počet vyloučených vztahů jedinec – rodič1 - rodič2 při zvoleném limitním počtu nesouhlasných genotypů (L)					
		panel705		panel805		Rozdíly	
		L>0	L>1	L>0	L>1		
BU	199	15	13	14	13	119103568-118034057-117102913 9 (vylouč. při p705>0) 121036919-19038612-119037165 (vylouč. při L>0)	
L	32	5	4	4	2	120292274-118292833-118292059 (vylouč. při p705>0) 120292359-118292833-118292060 (nevylouč. při p805>1) 120292360-118292833-118292060 (nevylouč. při p805>1)	
D	3	0	0	0	0		
BO	2	0	0	0	0		
PN	3	0	0	0	0		
PC	39	1	1	1	1	116966673 – 115969290 – 115966633	

N¹: Počet provedených porovnávaní: počet vzorků se známými genotypy SNP, které mají zároveň známý genotyp pro oba rodiče

II.4.3 Vyhodnocení falešně pozitivních vztahů mezi zvířaty

Pro ověření, s jakou chybou lze využít navrhovaný panel pro určení pravděpodobných rodičů pro potomka, bylo provedeno hodnocení u všech kombinací vzorků ($n * (n-1) * (n-2)$ kombinací pro n vzorků) bez ohledu na věk nebo pohlaví. Výsledky uvedené v tabulce 13 zahrnují pak pouze ty kombinace, kdy je kombinace zvířat reálná (odlišné pohlaví, ročník narození rodiče nižší než ročník narození potomka apod.) Vyhodnocení bylo provedeno v rámci plemene. Výsledky analýzy jsou shrnuty v tabulce 14. Falešně pozitivní vztah jedince a

obou rodičů byl zjištěn pouze u plemene BU a L a to u zvířat navržených pro opravu rodokmenu nebo u vzorků považovaných za nevěrohodné.

Tabulka 14 Vyhodnocení vztahů mezi zvířaty a oběma rodiči, kde z rodokmenu tento vztah nevyplývá

Ple- meno	Kombinací ¹	Vyhodnocen vztah jedinec – rodič1 – rodič 2 u zvířat, kde z rodokmenu tento vztah nevyplývá (L>1)	
		Počet ²	Popis
BU	433797336	13	4x u zvířat navržených pro opravu rodokmenu 3x u zvířat, jejichž vzorky byly označeny za nevěrohodné 5x u polosourozenců s rodokmenem potvrzeným daty ze SNP, kdy místo otce 119043986 je navrženo zvíře 119043986, jehož vzorek je nevěrohodný
L	17779320	3 (1)	2x zvíře s nevěrohodným vzorkem (1x u panelu705) 2x kombinace s 118292833 - nevěrohodný vzorek
D	571704	0	
BO	373176	0	
PN	1092624	0	
PC	15438000	0	

¹ Počet hodnocených kombinací vzorků bez ohledu na věk nebo pohlaví ($n*(n-1)*(n-2)$ pro n genotypovaných vzorků); ² Počet kombinací, které byly porovnáním genotypů vyhodnoceny jako jedinec-rodič1-rodič2, přestože z rodokmenu tento vztah nevyplývá (pokud se mezi panely liší, v závorce je uveden počet zjištěný panelem705)

II.4.4 Závěr

Byly navrženy dva panely SNP lokusů pro hodnocení příbuznosti zvířat. V obou panelech jsou lokusy, jejichž genotypy jsou určeny s dostatečnou mírou spolehlivosti (min. GC ≥ 70) a které vykázaly vysoký podíl minoritní alely ($pM \geq 30\%$) u všech hodnocených plemen. V obou panelech jsou lokusy lokalizované na všechny autozomy. Navržené SNP panely je možné využít k ověřování původu prasat. U plemen bílé ušlechtilé, landrase a přeštické černostrakaté bylo vyhodnoceno dostatečné množství zvířat, které zajišťují stabilitu pro vyhodnocení příbuzností. U otcovských plemen, jejichž populace jsou navíc velmi závislé na přísunu zvířat ze zahraničí, bude nutné robustnost navržených panelů průběžně ověřovat.

III. Srovnání novosti postupů

Doposud bylo ověřování původu prasat v ČR prováděno pomocí mikrosatelitních lokusů. Rozvoj genotypování prasat umožňuje využít ke kontrole původu data o SNP genotypech. SNP genotypy jsou získávány s cílem genomického hodnocení prasat v ČR. Změna metody umožňuje provádět pouze jednu analýzu DNA pokrývající jak genomické hodnocení, tak kontrolu původu. U prasat na rozdíl od skotu nebyl dosud stanoven celosvětově platný panel pro analýzu příbuzností. Metodika se zabývá návrhem panelů pro hodnocení příbuzností prasat a vyhodnocením jejich účinnosti. Předkládaný metodický postup stanovení parentity prasat s využitím SNP dat v podmínkách ČR doposud nebyl vyvíjen, je zcela nový a dostáváme se s ním na úroveň šlechtitelských programů mnohých vyspělých zemí i komerčních firem.

IV. Popis uplatnění metodiky

Metodiku budou využívat chovatelé prasat zapojení do šlechtitelského programu CzePig Svazu chovatelů prasat z.s. a chovatelé plemene genové rezervy přeštické černostrakaté. Pro obě skupiny plemen prasat vede Svaz chovatelů prasat z.s. plemennou knihu. Sofistikované hodnocení příbuznosti zvířat je nezbytnou součástí šlechtitelské činnosti. Využití dat o SNP genotypech ke kontrole původu je v souladu s celosvětovým vývojem v této oblasti.

V. Ekonomické aspekty

Předkládaná certifikovaná metodika byla vypracována v rámci projektu NAZV QK1910217. Výsledky metodiky budou využívány k ověřování a osvědčování původu prasat, což je jedno ze základních šlechtitelských opatření podle zákona č. 154/2000 Sb. o šlechtění, plemenitbě a evidenci hospodářských zvířat. V souladu

s doporučením Rady vlády pro výzkum jsou poznatky, jež metodika přináší, poskytovány chovatelům a všem oprávněným osobám zdarma. Využití získaných poznatků při rutinním ověřování původu zvířat nevytváří bezprostřední zisk, ale bude přispívat ke zkvalitnění šlechtitelské práce v chovu prasat a tím může pozitivně ovlivnit rentabilitu celé horizontální programy CzePig.

VI. Seznam použité související literatury

Berry D. P. , Dunne F. L., Evans R. D., McDermott K. , O'Brien A. C. (2021): Concordance rate in cattle and sheep between genotypes differing in Illumina GenCall quality score. *Animal Genetics.*, 52, 208–213. doi: : 10.1111/age.13043

Illumina Inc. (2005): Illumina GenCall Data Analysis Software. Dostupné z:

https://www.illumina.com/Documents/products/technotes/technote_gencall_data_analysis_software.pdf

Krupa E., Moravčíková N., Krupová Z., Žáková E. (2021): Assessment of the Genetic Diversity of a Local Pig Breed Using Pedigree and SNP Data. *Genes*, 12: 1972.

Krupa E., Schröffelová D., Žáková E., Němcová L., Krupová Z., Vrtková I. (2019): Možnosti sběru, analýzy a správy SNP dat. *Náš chov*, 79(11): 31-34

More M., Gutiérrez G., Rothschild M., Bertolini F., Ponce A. & de León F. (2019) Evaluation of SNP genotyping in Alpacas using the bovine HD genotyping beadchip. *Frontiers in Genetics* 10, 361.

Schröffelová D., Němečková L., Kučera J., Lipovský D., Hromádková J., Přibáňová M., Šteiger V. (2019a): Systém odběru vzorků DNA. *Českomoravská společnost chovatelů, a.s.*, 26 s. ISBN 978-80-87633-03-8.

Zhao S., Jing W., Samuels D.C., Sheng Q., Shyr Y., Guo Y. (2018): Strategies for processing and quality control of Illumina genotyping arrays. *Briefings in Bioinformatics*, 19(5), 2018, 765–775. doi: 10.1093/bib/bbx012

VII. Seznam publikací, které předcházejí metodice

Krupa E., Schröffelová D., Žáková E., Němcová L., Krupová Z., Vrtková I. (2019): Možnosti sběru, analýzy a správy SNP dat. *Náš chov*, 79(11): 31-34

Krupa E., Moravčíková N., Krupová Z., Žáková E. (2021): Assessment of the Genetic Diversity of a Local Pig Breed Using Pedigree and SNP Data. *Genes*, 12: 1972.

Schröffelová D., Němečková L., Kučera J., Lipovský D., Hromádková J., Přibáňová M., Šteiger V. (2019a): Systém odběru vzorků DNA. *Českomoravská společnost chovatelů, a.s.*, 26 s. ISBN 978-80-87633-03-8.

Schröffelová, D. a kol. (2019b): Standardní operační postupy – SOP ZL1312 Laboratoře iGenetiky ČMSCH, a.s. (zkušební laboratoř 1312). Zpracováno v rámci akreditace metody: Detekce SNP pomocí microarray's technologie na genotypovacích Infinium Bead Chips Illumina v celogenomové DNA teplokrevných zvířat – prase. Viz. Osvědčení o akreditaci č.227/2019 podle ČSN EN ISO/IEC 17025:2018 a příloze k osvědčení https://www.cai.cz/OA/pdf/P227_2019_CS.pdf

Jména oponentů

doc. Ing. Karel Mach, CSc., Emeritní docent, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita, Praha

Ing. Zdeňka Majzlíková, Česká plemenářská inspekce, Praha

Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu NAZV QK1910217 s názvem „Vytvoření referenční populace a vývoj postupů pro odhad genomických plemenných hodnot znaků prasat zařazených do Českého národního šlechtitelského programu“.

Vydal: Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves
Název: Hodnocení příbuznosti prasat prostřednictvím SNP dat
Autoři: Ing. Eliška Žáková, Ph.D. (60 %)
Ing. Emil Krupa, Ph.D. (30 %)
Ing. Zuzana Krupová, Ph.D. (10 %)

ISBN 978-80-7403-278-3

Vydáno bez jazykové úpravy.

© Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha Uhřetěves

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i.

Přátelství 815

104 00 Praha Uhřetěves

WWW.VUZV.CZ