



INTER-EXCELLENCE  
ACTION



MINISTERSTVO ZEMĚLSTVÍ



## CERTIFIKOVANÁ METODIKA

**Ověření příbuzenského vztahu mezi prarodičem a jedincem**

**Autorský kolektiv:**

Luboš Vostrý, Michaela Brzáková, Hana Vostrá-Vydrová

**ISBN 978-80-213-3167-9**

**2022**

# CERTIFIKOVANÁ METODIKA

## Ověření příbuzenského vztahu mezi prarodičem a jedincem

### Vydavatel

Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00 Praha-Suchdol

### Forma vydání

Metodika je vydána pouze elektronicky ve formátu PDF.

### Zveřejněno na webové stránce

<https://metodiky.agrobiologie.cz/>

### Autoři a jejich podíl na tvorbě certifikované metodiky

prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D. 34 %

Ing. Michaela Brzáková, Ph.D. 33 %

Ing. Hana Vostrá-Vydrová, Ph.D. 33 %

### Oponenti certifikované metodiky

**Ing. Zdeňka Majzlíková**

Česká plemenářská inspekce, Praha

**doc. Ing. Karel Mach, CSc.**

Česká zemědělská univerzita v Praze

### Dedikace na projekty

Metodika vznikla v rámci řešení výzkumných projektů MŠMT INTER-EXCELLENCE LTAUSA19117 a MZE NAZV Země QK1810253.

### Rok vydání

2022

**ISBN 978-80-213-3167-9**

## I. Cíl metodiky

Cílem metodiky bylo vypracovat postup pro ověření příbuznosti mezi jedincem a jeho předkem (děd či bába) na základě molekulárně genetických data v případě, že chybí molekulárně genetické informace rodičů. Postup nalezne uplatnění v rutinním provozu ověřování příbuznosti Českomoravskou společností chovatelů a. s.

## II. Vlastní popis metodiky

### II.1. Úvod

V současné době je rutinně genotypováno velké množství jedinců dojeného skotu za účelem předpovědi genomické plemenné hodnoty. Tyto informace mohou být využity pro ověření příbuzenského vztahu mezi jedincem a rodiči, či dokonce mezi jedincem a prarodiči, v případě že molekulárně genetické informace rodičů nejsou k dispozici. S využitím molekulárně genetických dat (SNP analýzy), by měl být vyloučen příbuzenský vztah mezi jedincem a rodičem, pokud jedinec je na určitém lokusu homozygot dominantní (AA) a rodič je homozygot recesivní (aa) a naopak. Z důvodu chyb při genotypizaci, je vhodné uvažovat i o možnosti existenci opačných homozygotních sestav u jedince a prarodiče.

### II.3. Vlastní výpočet

Pro ověření příbuzenského vztahu bylo navrženo použití metody tzv. „konfliktních genotypů“. Tato metoda vychází z metodiky Hayes B. J. (2011) a je implementována například do programů rodiny BLUPF90 Misztal et al. (2002). Metoda je založena na skutečnosti, že příbuzní jedinci: rodič a potomek by měli mít podobný genotyp. To znamená, že pokud má rodič genotyp  $AA$  potomek nemůže mít genotyp  $BB$ . Samozřejmě je potřeba brát v úvahu i chybu genotypování. Misztal et al. (2002) považují za významnou chybovost od 1 %. Pokud je konfliktů mezi genotypy více, není možné uvažovat jedince  $X$  jako rodiče jedince  $Y$ .

Ověření příbuzenského vztahu mezi prarodičem a jedincem je komplikovanější, a to z toho důvodu, že u rodiče mohlo dojít k možným rekombinacím v genomu, které neznáme. Pro tyto případy bývá využívána metoda regresní analýzy, pomocí které se stanovuje přípustná hranice konfliktů ( $AA$  vs.  $BB$ ). Vytvoření regresních koeficientů ale není možné, pokud máme malý počet rodin. Pro tyto případy může být použita metodika navržená Council on Dairy Cattle Breeding ([www.uscdcb.com](http://www.uscdcb.com)), která však musí být upravena na tuzemská data.

Skutečná prahová hodnota závisí na počtu lokusů, které byly vybrány do analýzy. Lokusy jsou vybírány tak, že jedinec i jeho prarodič musí nést homozygotní sestavu ,AA‘, či ,BB‘. Regresní rovnice pro přípustnou hodnotu konfliktů vzniklou chybovostí při genotypování odpovídá vztahu:

$$\text{prahová hodnota konfliktů} = 32,70071 - 0,00184 * (\text{počet vybraných genotypů}), \quad (1)$$

kdy orientační prahová hodnota přípustných konfliktních genotypů je uvedena v tabulce 1.

Pro ověření vhodnosti dané metodiky byly ČSMCH a. s. vybrány tři rozdílné rodiny – viz příloha).

Tabulka 1. Přípustná prahová hodnota konfliktních genotypů u jedince a předka v závislosti na počtu vybraných lokusů (m) vycházející ze vztahu (1)

Počet vybraných lokusů (m)	Podíl přípustných konfliktních lokusů (v %)
3000	27,2
4000	25,5
5000	23,5
6000	19,8
7000	18,0
8000	18,0
Atd.	...

### II.3.1 Vlastní algoritmus navržené metody

Vlastní algoritmus pro výběr hraniční hodnoty konfliktních genotypů se skládá z následujících kroků:

- 1) výběr testovaného prarodiče a jedince
- 2) výběr lokusů, které ani u jednoho jedince z páru neobsahují chybějící hodnoty (,- -‘)
- 3) zjištění počtu lokusů vstupující do analýzy (pokud je počet lokusů (m) v analýze <12000 není potřeba dalších úprav, pokud  $m > 12000$ , je potřeba náhodně vybrat 12000 lokusů.
- 5) pro účel porovnání vybrat pouze homozygotní sestavy lokusů, tzn. lokusy, ve kterých se ani u jednoho z jedinců v páru nenachází heterozygotní sestava (,AB‘)
- 6) Spočítat procento lokusů, které obsahují buď ,AA‘ u předka a ,BB‘ u potomka, nebo ,BB‘ u předka a ,AA‘ u potomka – tzv. konfliktní lokus.
- 7) Stanovit přípustné hranice konfliktů, které mohly vzniknout chybovostí při genotypování. Hranice konfliktů se stanoví dle regresní rovnice:  $32,70071 - 0,00184 * m$ , kde  $m$  je počet lokusů bez ,--‘ u jedinců X a Y.

8) Porovnat procento skutečných konfliktů viz. bod 6) a přípustné hranice konfliktů viz. bod 7) a potvrdit či vyvrátit, zda mezi jedinci X a Y existuje příbuzenský vztah.

Ověření metody u vybraných rodin je uvedeno v tabulkách 2 - 4.

Regresní vztah předpokládá analýzu na SNP čípech s nízkou hustotou. Tyto SNP čipy však v ČR nejsou z důvodu ekonomické nevýhodnosti využívány. Nejběžnější SNP čipy používané v ČR obsahují 50 000 SNP. Na této hustotě SNP čipů dává daný regresní vztah chybné odhady (viz tabulka 5). Z toho důvodu musel být stanoven maximální počet vybraných lokusů. Na základě analýzy tuzemských dat byla tato hodnota stanovena na  $m = 12\ 000$ .

### **III. Srovnání „novosti postupů“**

Nesprávné informace o příbuzenském vztahu mezi jedinci může výrazně ovlivnit přesnost předpovědi genomické, ale i konvenční plemenné hodnoty a následně výši genetického zisku. Novým přínosem této metodiky je adaptace metodiky ověření příbuzenského vztahu mezi prarodiči a jedincem na podmínky České republiky. Postup je využitelný i v případě, že nejsou dostupné molekulárně genetické informace rodiče. Navrhovaná metoda „konfliktních genotypů“ musela být upravena na počty dostupných lokusů, které se běžně používají při genomické selekci v České republice. Zpřesnění (korekce) příbuzenských vztahů výrazně přispěje k zpřesnění předpovědi genetického založení jedince (plemenné hodnoty).

### **IV. Popis uplatnění certifikované metodiky**

Předkládaná metodika je podkladem pro rutinní ověřování příbuznosti mezi jedincem a jeho prarodičem, v případě chybějících molekulárně genetických informací rodičů. Metodika bude uplatněna prostřednictvím organizace Českomoravská společnost chovatelů a.s. Výsledky této metodiky budou využívány příslušnými svazy chovatelů hospodářských zvířat, například Svazem chovatelů holštýnského skotu.

### **V. Ekonomické aspekty**

Předkládaná certifikovaná metodika slouží k ověření a opravě rodokmenových záznamů využívaných ve šlechtění dojeného skotu. Daná metodika bude využívána ČMSCH, a.s. podle zákona č.110/1997 Sb. O potravinách a zákona č. 154/2000 Sb. O šlechtění, plemenitbě a evidenci hospodářských zvířat ve znění pozdějších předpisů je ČMSCH právnická osoba pověřena ministerstvem k výkonu činností podle jednotlivých bodů § 23c. Jmenovitě podle odstavců 1 a 2 a §7 je povinna poskytovat chovatelům a oprávněným osobám údaje, zpracovávat, zveřejňovat a evidovat výsledky, což se týká

i o ověřování příbuzenských vztahů mezi jedinci. V souladu s doporučením Rady vlády pro výzkum uvádíme, že ČMSCH, a.s. nevytváří těmito činnostmi zisk, poskytuje široké chovatelské veřejnosti co nejobektivnější údaje a vyhodnocením celostátních databází vytváří podklady pro prokázání kvality plemenářské práce chovatelů.

## **VI. Seznam použité související literatury**

Hayes B. J. (2011): Technical note: Efficient parentage assignment and pedigree reconstruction with dense single nucleotide polymorphism data. *Journal of Dairy Science*. 94:2114–2117.

Misztal, I., Tsuruta, S., Strabel, T., Auvray, B., Druet, T., Lee, D. (2002): BLUPF90 and related programs (BGF90). In. *Proc. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Montpellier, France, Session 28, 1-2.

## **VII. Seznam publikací, které předcházely metodice**

Vostrý L., Vostrá-Vydrová H., Moravčíková M., Kasarda R., Cubric-Curik V., Curik I. (2021): Genomic diversity and population structure of Holstein Friesian: Czech population perspective. *Book of Abstracts of the 72nd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*. Davos, Švýcarsko, 30. srpna – 3. září 2021, s. 128. ISBN: 978-90-9696-366-2

Vostrý L., Vostrá Vydrová H., Cubric-Curik V., Moravčíková N., Kasarda R., Špehar M., Potočník K., Sölker J., Curik I. (2021): Estimation of effective population size for Holstein-Friesian cattle metapopulation. *Book of abstracts of International symposium Animal Science Days 2021*, Gödölle, Maďarsko, 13. - 7. 9. 2021, s. 17.

## VIII. Přílohy a tabulky

### Seznam použitých rodin pro ověření vhodnosti navržené metody

Rodina č. 1:

Bába	B1
Matka	M1
Potomstvo	D11
	D12
	D13
	D14
	D15
	D16
	D17
	D18
	D19
	D110
	D111
	D112
	D113

Rodina č. 2:

Bába	B2
Matka	M2
Potomstvo	D21
	D22
	D23
	D24
	D25

Rodina č. 3:

Bába	B3
Matka	M3
Potomstvo	D31
	D32
	D33
	D34
	D35

## Výsledky ověření příbuznosti mezi jedinci z jednotlivých rodin použitých pro ověření metody

Tabulka 2: Výsledky pro jedince B1 (prarodič v rodině č. 1) a jedinci z analyzovaných rodin (tučně jsou označeni jedinci z příslušné rodiny č. 1).

prarodič	jedinec	% konfliktů	% hranice	počet konfliktů	počet. homoz. sestav	počet SNP	příbuznost
<b>B1</b>	<b>M1</b>	<b>0</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>4710</b>	<b>10876</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-1</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>345</b>	<b>4714</b>	<b>11160</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-2</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>380</b>	<b>4890</b>	<b>11167</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-3</b>	<b>6</b>	<b>12</b>	<b>286</b>	<b>4707</b>	<b>11167</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-4</b>	<b>7</b>	<b>12</b>	<b>350</b>	<b>4766</b>	<b>11165</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-5</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>377</b>	<b>4790</b>	<b>11166</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-6</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>325</b>	<b>4378</b>	<b>10351</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-7</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>374</b>	<b>4405</b>	<b>10345</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-8</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>428</b>	<b>4301</b>	<b>10346</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-9</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>326</b>	<b>4283</b>	<b>10336</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-10</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>429</b>	<b>4258</b>	<b>10351</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-11</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	<b>267</b>	<b>4205</b>	<b>10346</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-12</b>	<b>8</b>	<b>14</b>	<b>359</b>	<b>4258</b>	<b>10346</b>	<b>ANO</b>
<b>B1</b>	<b>D1-13</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	<b>356</b>	<b>4691</b>	<b>10878</b>	<b>ANO</b>
B1	M2	16	13	677	4225	10879	NE
B1	D2-1	17	13	734	4344	10875	NE
B1	D2-2	17	12	796	4573	11169	NE
B1	D2-3	18	12	823	4596	11168	NE
B1	D2-4	16	12	759	4617	11165	NE
B1	D2-5	15	12	670	4417	11165	NE
B1	M3	17	14	702	4043	10349	NE
B1	D3-1	17	13	750	4469	10879	NE
B1	D3-2	17	14	722	4217	10345	NE
B1	D3-3	20	14	848	4300	10350	NE
B1	D3-4	17	13	751	4388	10880	NE
B1	D3-5	19	14	824	4330	10349	NE



Tabulka 3: Výsledky pro jedince B2 (prarodič v rodině 2) a jedinci z analyzovaných rodin (tučně jsou označeni jedinci z příslušné rodiny č. 2).

prarodič	jedinec	% konfliktů	% hranice	počet konfliktů	počet. homoz. sestav	počet SNP	příbuznost
B2	M1	18	18	571	3128	8051	NE
B2	D1-1	20	18	650	3205	8051	NE
B2	D1-2	18	18	551	3084	7773	NE
B2	D1-3	20	18	598	2975	7774	NE
B2	D1-4	18	18	551	3008	7778	NE
B2	D1-5	18	18	574	3133	7766	NE
B2	D1-6	18	18	500	3130	7775	NE
B2	D1-7	22	18	685	3132	7776	NE
B2	D1-8	20	18	628	3089	7779	NE
B2	D1-9	18	18	569	3339	8181	NE
B2	D1-10	21	18	679	3294	8181	NE
B2	D1-11	18	18	576	3243	8183	NE
B2	D1-12	18	18	592	3352	8182	NE
B2	D1-13	18	18	580	3276	8179	NE
<b>B2</b>	<b>M2</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>2</b>	<b>3309</b>	<b>8052</b>	<b>ANO</b>
<b>B2</b>	<b>D2-1</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>288</b>	<b>3308</b>	<b>8051</b>	<b>ANO</b>
<b>B2</b>	<b>D2-2</b>	<b>13</b>	<b>18</b>	<b>426</b>	<b>3378</b>	<b>8184</b>	<b>ANO</b>
<b>B2</b>	<b>D2-3</b>	<b>10</b>	<b>18</b>	<b>349</b>	<b>3472</b>	<b>8183</b>	<b>ANO</b>
<b>B2</b>	<b>D2-4</b>	<b>9</b>	<b>18</b>	<b>302</b>	<b>3433</b>	<b>8182</b>	<b>ANO</b>
<b>B2</b>	<b>D2-5</b>	<b>8</b>	<b>18</b>	<b>278</b>	<b>3406</b>	<b>8181</b>	<b>ANO</b>
B2	M3	22	18	638	2913	7776	NE
B2	D3-1	22	18	692	3167	8051	NE
B2	D3-2	24	18	738	3099	7774	NE
B2	D3-3	24	18	756	3191	7779	NE
B2	D3-4	23	18	737	3159	8052	NE
B2	D3-5	23	18	727	3144	7775	NE

Tabulka 4: Výsledky pro jedince 3 (prarodič v rodině č. 3) a jedinci z analyzovaných rodin (tučně jsou označeni jedinci z příslušné rodiny č. 3 při použití náhodně vybraných 12000 SNP).

Prarodič	Jedinec	% konfliktů	% hranice	počet konfliktů	počet. homoz. sestav	počet SNP	příbuznost
B3	M1	13	11	808	6174	12000	NE
B3	D1-1	12	11	754	6202	12000	NE
B3	D1-2	15	11	855	5837	12000	NE
B3	D1-3	15	11	843	5757	12000	NE
B3	D1-4	13	11	784	5813	12000	NE
B3	D1-5	15	11	876	5883	12000	NE
B3	D1-6	15	11	917	5954	12000	NE
B3	D1-7	15	11	904	5959	12000	NE
B3	D1-8	14	11	831	5950	12000	NE
B3	D1-9	12	11	792	6596	12000	NE
B3	D1-10	12	11	779	6426	12000	NE
B3	D1-11	12	11	775	6488	12000	NE
B3	D1-12	12	11	803	6512	12000	NE
B3	D1-13	13	11	831	6474	12000	NE
B3	M2	13	11	768	6103	12000	NE
B3	D2-1	12	11	745	6185	12000	NE
B3	D2-2	11	11	712	6557	12000	NE
B3	D2-3	12	11	763	6575	12000	NE
B3	D2-4	12	11	769	6433	12000	NE
B3	D2-5	12	11	797	6431	12000	NE
<b>B3</b>	<b>M3</b>	<b>0</b>	<b>11</b>	<b>2</b>	<b>6276</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>
<b>B3</b>	<b>D3-1</b>	<b>4</b>	<b>11</b>	<b>245</b>	<b>6496</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>
<b>B3</b>	<b>D3-2</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>352</b>	<b>6256</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>
<b>B3</b>	<b>D3-3</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>367</b>	<b>6479</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>
<b>B3</b>	<b>D3-4</b>	<b>02</b>	<b>11</b>	<b>133</b>	<b>6787</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>
<b>B3</b>	<b>D3-5</b>	<b>05</b>	<b>11</b>	<b>322</b>	<b>6379</b>	<b>12000</b>	<b>ANO</b>

Tabulka 5: Výsledky pro jedince B3 (prarodič v rodině 3) a jedinci z analyzovaných rodin (tučně jsou označeni jedinci z příslušné rodiny č. 3 při použití všech známých SNP).

prarodič	jedinec	% konfliktů	% hranice	počet konfliktů	počet. homoz. sestav	počet SNP	příbuznost
B3	M1	13	-53	3125	23836	46386	NE
B3	D1-1	12	-53	3016	24294	46376	NE
B3	D1-2	15	-43	2983	20211	41282	NE
B3	D1-3	15	-43	2934	20041	41284	NE
B3	D1-4	14	-43	2722	19950	41292	NE
B3	D1-5	15	-43	3061	20540	41246	NE
B3	D1-6	15	-43	3084	20483	41278	NE
B3	D1-7	15	-43	3078	20333	41280	NE
B3	D1-8	14	-43	2892	20440	41298	NE
B3	D1-9	12	-65	3643	29194	53129	NE
B3	D1-10	12	-65	3575	28691	53115	NE
B3	D1-11	12	-65	3272	28440	53100	NE
B3	D1-12	12	-65	3523	28996	53097	NE
B3	D1-13	13	-65	3602	28493	53074	NE
B3	M2	12	-53	2767	23799	46375	NE
B3	D2-1	12	-53	2844	23868	46380	NE
B3	D2-2	11	-65	3160	28585	53098	NE
B3	D2-3	12	-65	3331	28674	53122	NE
B3	D2-4	12	-65	3391	28848	53118	NE
B3	D2-5	12	-65	3364	28283	53090	NE
<b>B3</b>	<b>M3</b>	<b>0</b>	<b>-43</b>	<b>5</b>	<b>21497</b>	<b>41292</b>	<b>NE</b>
<b>B3</b>	<b>D3-1</b>	<b>4</b>	<b>-53</b>	<b>945</b>	<b>25340</b>	<b>46390</b>	<b>NE</b>
<b>B3</b>	<b>D3-2</b>	<b>6</b>	<b>-43</b>	<b>1241</b>	<b>21449</b>	<b>41293</b>	<b>NE</b>
<b>B3</b>	<b>D3-3</b>	<b>6</b>	<b>-43</b>	<b>1245</b>	<b>22077</b>	<b>41298</b>	<b>NE</b>
<b>B3</b>	<b>D3-4</b>	<b>2</b>	<b>-53</b>	<b>542</b>	<b>26022</b>	<b>46394</b>	<b>NE</b>
<b>B3</b>	<b>D3-5</b>	<b>6</b>	<b>-43</b>	<b>1227</b>	<b>22000</b>	<b>41282</b>	<b>NE</b>

**Česká plemenářská inspekce**  
Slezská 100/7, Praha 2, 120 00

vydává

**OSVĚDČENÍ**

1663/2022 - 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: **Ověření příbuzenského vztahu mezi prarodičem a jedincem**

Autor / autoři: **Prof. Ing. Luboš Vostrý, Ph.D., Ing. Michaela Brzáková, Ph.D., Ing. Hana Vostrá – Vydrová, Ph.D.**

Název organizace/ů: **Česká zemědělská univerzita v Praze**

Místo vydání: **Česká zemědělská univerzita v Praze se sídlem Kamýčká 129, 165 00 Praha - Suchbát**

Rok vydání: **2022**

Metodika byla vypracována v rámci řešení grantu MŠMT LTAUSA19117 a NAZV QK1810253

Jméno zástupce odborného útvaru státní správy:

Ing. Zdenka Majzlíková

Funkce zástupce odborného útvaru státní správy:

ředitelka

V Praze dne 10. 3. 2022

Česká plemenářská inspekce  
Slezská 100/7  
120 00 Praha 2  
2

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

Souhlas ředitele Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZe:

V Praze dne 10. 3. 2022

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