

Metodické přístupy k odhadu efektivní velikosti populace

Autoři – Luboš Vostrý, Barbora Hofmanová, Hana Vostrá-Vydrová, Karolína Dvořáková Machová

Studijní materiál

Ochrana ohrožených druhů zvířat je jednou z nejdůležitějších cílů pro současné biologické vědní odvětví, zvláště z pohledu udržení přirozeného ekosystému. V případě domestikovaných zvířat, je konzervační program obvykle zahájen u plemen, která představují jedinečné genetické a fenotypové vlastnosti. Tradiční šlechtitelské programy jsou hlavně založeny na selekci za účelem zlepšení ekonomicky důležitých vlastností. Důsledkem této selekce je omezení genetické proměnlivosti dané populace. Tudíž konzervační programy je potřeba zaměřit na plemena či druhy zvířat, které mají zachovanou významnou část genetické proměnlivosti (FAO, 2000). Mezi hlavní faktory ovlivňující ztrátu genetické diverzity patří efekt nazývaný efekt hrdla láhve (bottleneck) (Vicente et al., 2012). Efekt hrdla láhve (bottleneck efekt) vzniká při náhlém snížení počtu jedinců účastnících se reprodukce, které vede k výraznému snížení početnosti populace. Tato populace může během následujících generací obnovit svoji početnost, avšak vlivem genového posunu může dojít k podstatné změně genetické skladby této populace, tj. ke změnám alelových četností (Relichová, 2009). Otázka genetické diverzity se v posledních několika desetiletích stala hodně diskutovanou, kvůli zvyšování industrializace zemědělství a s ní postupující genetickou uniformitou plodin i hospodářských zvířat. Rozmanitost plemen hospodářských zvířat je však nezbytná pro budoucí přizpůsobení různým onemocněním, produkčním systémům, měnícím se klimatickým i tržním podmínkám (FAO 2000). Obecně se proto záchranné programy zaměřují hlavně na ohrožená lokální plemena (Notter 1999). Ta bývají obvykle hůře zmapovaná, ale obecně vykazují daleko větší genetickou variabilitu než celosvětově rozšířená plemena s jedinečnými ekonomicky žádoucími vlastnostmi (FAO 2000).

Biologickou diverzitu popisujeme jako rozsah veškeré různorodosti, kterou můžeme v přírodě nalézt (Mészáros 2018). Lze ji analyzovat na základě různých charakteristik: fenotypových (morfologických), cytologických, biochemických a molekulárních (Saravanan et al. 2022). Genetickou diverzitou je ale míněn rozsah variability (polymorfismus) přímo v sekvenci DNA (Ellegren & Galtier 2016).

Z molekulárního hlediska existují tři hlavní typy variability, a to jednonukleotidové polymorfismy (SNP), delece nebo inserce různých délek a variace počtů a délek repetitivních sekvencí (VNTR)

(Vignal et al. 2002). Nové alely se objevují s každou další generací spontánní mutací díky replikačním chybám nebo působením mutagenů a z teoretického hlediska tedy můžeme genetickou diverzitu označit za výsledek rovnováhy mezi zánikem a vznikem těchto vloh (Ellegren & Galtier 2016). Rychlost mutací se v rámci různých úrovněvých celků jaderného genomu snižuje směrem od jednotlivých genů až k variabilitě na chromozomální úrovni (Hodgkinson & Eyre-Walker 2011), která se ještě navíc významně liší mezi autozomy a gonozomy (Ellegren & Galtier 2016). Výrazné rozdíly v mutačních rychlostech existují rovněž mezi jadernou a mitochondriální DNA, mezi zárodečnou a somatickou linií buněk, jakožto i mezi různými druhy (Lynch 2010).

Chov ovcí se v posledních desetiletích vlivem socioekonomických změn přeorientoval směrem k intenzivnějšímu chovu několika málo vysoce produktivních kosmopolitních plemen (Dalvit et al. 2009). V minulém století se produktivita orné půdy zvyšovala o 2 % ročně vlivem rychlého technického i genetického pokroku. Následkem toho poklesla cena obilí i jiných plodin a pro řadu zemědělců se tak stalo levnějším krmit obilím než výhradně spoléhat na pastvu, což razantně změnilo celé systémy chovu. Nově vyšlechtěná zvířata s vysokou produkcí spolu s pokročilými technologiemi chovu vytlačily tradiční systémy chovu do ústraní kvůli jejich vyšší rizikovosti (Mendelsohn 2003). Situaci vedoucí k rychlým ztrátám genetické diverzity ještě zhoršilo nevhodné používání BLUP modelu plemenných hodnot. S ním se sice maximalizuje odpověď na selekci, ale může vést k výběru blízce příbuzných jedinců (van Wyk et al. 2009). Vybraní příbuzní jedinci pak dále zvyšují úroveň příbuzenské plemenitby do budoucna (van Wyk et al. 2009). Tento postup není ideální rovněž proto, že úspěšnost budoucího zlepšování produkce může záviset na genetické diverzitě, která se za současných selekčních podmínek jeví jako neutrální a může zcela vymizet kvůli pouhému nezdokumentování prospěšnosti (Tapio et al. 2006a).

S nástupem genomické selekce se logicky předpokládalo, že tento důsledek vymizí, protože genomická selekce na základě celého genomu by měla zdůraznit rozdíly mezi sourozenci a snižovat tak šanci na jejich současný výběr na základě přesnějšího odhadu komponentu mendelistické dědičnosti a tím i plemenných hodnot (Daetwyler et al. 2007). Jak ale ukazuje řada studií u skotu, tak opak je často pravdou (např.: Forutan et al. 2018; Scott et al. 2021). V důsledku genomické selekce se snižuje generační interval a variabilita mendelistického vzorkování, které opět vede ke zvýšení inbreedingu, snížení efektivní velikosti populace a náhodné fixaci nebo ztrátě alel, ať už vlivem genetického driftu nebo selekce (Makanjuola et al. 2020b). Proto byl navržen alternativní přístup genomické selekce na základě principu kontribuční selekce s cílem udržet pod kontrolou inbreeding – optimální kontribuční genomická selekce (Sonesson et al. 2012; Woolliams et al. 2015). Hlavním principem je maximalizace genetické odezvy za dané úrovně příbuzenské plemenitby na základě příbuznosti kandidátů na selekci a zohledněním jejich genetického příspěvku (Dagnachew & Meuwissen 2016).

Efektivní velikost populace

Wright (1968) definoval efektivní velikost populace (N_e) jako velikost idealizované populace, která může poskytnout shodný nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby nebo míru změny v proměnlivosti četností alel v pozorované populaci. Tento pojem je základním parametrem široce používaným jako kritérium pro stanovení stavu ohrožení nejen u hospodářských zvířat (FAO, 2000). Jak Falconer a Mackay (1998) uvádějí, N_e je považováno za základní parametr z důvodu, že existuje vztah mezi N_e a nárůstem příbuzenské plemenitby, úrovní fitness a mezi ztrátou genetické proměnlivosti způsobenou náhodným genetickým driftem.

Efektivní velikost populace a idealizovaná populace (Caballero, 1994)

V nekonečně velké populaci a bez přítomnosti mutace, migrace a selekce zůstává četnost alel a genotypů stálá přes jednotlivé generace. Avšak u konečné populace frekvence alel náhodně kolísají z generace na generaci v důsledku omezeného výběru genů. Tento jev je nazýván jevem disperzním, nebo-li *genetický drift*. Díky tomuto genetickému driftu dochází k fixaci alel v populaci. U nestrukturovaných populací je možné genetický drift hodnotit jednoduchým parametrem jako je *efektivní velikost populace* (N_e), který je možné odhadovat i v polních podmínkách. Jak již bylo zmíněno, nejjednodušší podmínky, za kterých může být zmíněný disperzní proces studován je *idealizovaná populace*, která zahrnuje nekonečnou, náhodně se pářící populaci, kterou je možno rozdělit na nekonečně mnoho subpopulací. Každá subpopulace zahrnuje konstantní počet pářících se jedinců (N) za generaci. V každé subpopulaci rodiče vytvářejí nekonečně mnoho samčích i samičích gamet, z kterých pouze u $2N$ gamet dojde k splynutí a k tvorbě N zygot následné generace. V idealizované populaci všichni jedinci přežívají od zygot k dospělým jedincům a každý jedinec má shodnou pravděpodobnost plodit potomstvo. V této idealizované populaci nedochází k systematickým změnám v četnosti alel, nedochází k překrývání generací a jsou uvažovány pouze autozomální lokusy.

V této idealizované populaci je možné sledovat disperzní procesy jako výběr gamet, nebo jako proces příbuzenské plemenitby, neboť oba jevy zvyšují proměnlivost frekvence alel mezi subpopulacemi.

Za těchto idealizovaných podmínek vykazuje výběr gamet binární rozdělení a rozptyl změny genetické proměnlivosti je možné vyjádřit jako:

$$\sigma_{\Delta q}^2 = \frac{q(1-q)}{2N}, \quad (1)$$

kde q je frekvence alel v nekonečné populaci. Koeficient příbuzenské plemenitby v generaci t je pak možno odvodit ze vztahu, kde první část představuje kopie genů podle původu (identity by descent)

jedinců v generaci $t-1$ a druhá část kopie genů jedince v předchozí generaci. Nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby je pak možno vyjádřit jako:

$$\Delta F = \frac{1}{2N}, \quad (2)$$

kde

$$\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1 - F_t}. \quad (3)$$

V důsledku příbuzenské plemenitby dochází k poklesu heterozygotnosti z generace na generaci dle vztahu

$$\lambda = \frac{H_t}{H_{t-1}} = 1 - \Delta F, \quad (4)$$

nebo relativně k základní populaci

$$\frac{H_t}{H_0} = 1 - F^t = (1 - \Delta F)^t. \quad (5)$$

Vztah mezi proměnlivostí alel přes subpopulace a koeficientu příbuzenské plemenitby je možné pak vyjádřit jako

$$\sigma_{q,t-1}^2 = q(1-q) \left[1 - \left(1 - \frac{1}{2N} \right)^t \right] = q(1-q)F_t, \quad (6)$$

kde vrácení se o jednu generaci zpět ($t-1$) je z důvodu, že genetický drift začíná o 1 generaci dříve než se vyskytne příbuzenská plemenitba, pokud je uvažováno samooplození. Pokud samooplození není uvažováno (u většiny savců) vzniká genetický drift o dvě generace dříve. Tudíž, při náhodném výběru N jedinců do plemenitby z nekonečně velké populace není zatím přítomna příbuzenská plemenitba, ale již došlo ke genetickému driftu.

Na základě poznatků uvedených výše, je efektivní velikost populace definována jako velikost idealizované populace, která poskytuje nárůst proměnlivosti ve změně frekvence alel, nebo nárůst příbuzenské plemenitby, jakého je dosahováno ve sledované populaci, tj.:

$$N_e = \frac{q(1-q)}{2\sigma_{dq}^2}, \text{ nebo } N_e = \frac{1}{2\Delta F}. \quad (7)$$

Tudíž N_e hodnotí míru genetického driftu a změnu příbuzenské plemenitby v populaci (Caballero, 1994).

Rozdíl v počtu samců a samic (Caballero, 1994)

Předpokládejme rozdíly mezi počtem samců (N_n) a samic (N_m), které jsou v průběhu generací konstantní. Polovina genů v jakékoli generaci (např. $t-1$) pochází od otců a druhá polovina genů pochází od matek. Pravděpodobnost, že dvě alely v generaci $t-1$, které splynou v populaci t v potomka (zygotu) pocházejí od jednoho jedince v generaci $t-2$, je $\frac{1}{4}$ a pravděpodobnost, že pocházejí od plemeníka je tudíž $\frac{1}{4}N_n$ (podobně je tomu u samic). Tudíž pravděpodobnost, že dvě alely, které

splývají v generaci t v zygotu, pocházejí od shodného jedince (bez ohledu na pohlaví) je $\frac{1}{4}N_n + \frac{1}{4}N_m$. V idealizované populaci je tato pravděpodobnost rovna $\frac{1}{N_e}$, což se rovná $\frac{1}{N_e}$ (Wright, 1938). Z tohoto vztahu je pak možné odvodit, že

$$N_e = \frac{4N_nN_m}{N_n + N_m}. \quad (8)$$

Z výše uvedeného vyplývá, že $N = N_n + N_m$, $n_s = \frac{N_n}{N}$, $m = \frac{N_m}{N}$, tudíž $N_e = 4n_smN$, z čehož plyne, že N_e je maximální (a odpovídá přímo N) když $n_s = m = \frac{1}{2}$. V ostatních případech je $N_e < N$. Dále z výše uvedeného vyplývá, že méně početné pohlaví má vyšší vliv na hodnotu N_e . Například jestliže $n_s = 0,01$ tj. $N_n = 0,01N$ a $N_m = 0,99N$, tudíž $N_e \approx 0,04N = 4N_n$.

Nestejná velikost populace přes generace (Caballero, 1994)

V idealizované populaci je počet pářících se jedinců konstantní (N , nebo N_n , N_m) přes jednotlivé generace. Pokud budeme uvažovat situaci, kdy počty jedinců se během generací mění s N_i jedinců za generaci i , očekávaná heterozygotnost v generaci t vyjádřena relativně k heterozygotnosti v základní generaci je

$$\frac{H_t}{H_0} = \prod_{i=1}^t \left(1 - \frac{1}{2N_i}\right). \quad (9)$$

Pokud nahradíme N_e za N ve vztahu (48) a (51) získáme

$$\frac{H_t}{H_0} = \left(1 - \frac{1}{2N_e}\right)^t. \quad (10)$$

Jestliže je populace velká a počet generací malý může být tento vztah upraven na

$$\frac{1}{N_e} \approx \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \frac{1}{N_i} \quad (\text{Wright, 1938}). \quad (11)$$

Při zohlednění rozdílného počtu samců a samic (8) je možné vztah (11) upravit na:

$$\frac{1}{N_e} \approx \frac{1}{t} \sum_{i=1}^t \left(\frac{1}{4N_{n,i}} + \frac{1}{N_{m,i}} \right). \quad (12)$$

Protože se jedná o harmonický průměr, vyplývají ze vztahu dva důležité body:

- 1) Maximální N_e vzniká tehdy, když $\sum_{i=1}^t N_i$ je konstantní velikostí populace přes jednotlivé generace.
- 2) N_e je výrazně ovlivněna i snížením počtu jedinců v jednom období.

Z toho vyplývá, že vzniklý efekt hrdla láhve (bottleneck), který způsobil zvýšení hodnoty příbuzenské plemenitby, nemůže být kompenzován pozdějším zvýšením velikosti populace. A to z toho důvodu, že četnost možných mutací je nízká i ve velkých populacích.

Jak již bylo zmíněno, genetický drift vzniká dvě generace dříve než příbuzenská plemenitba. Pokud se velikost populace mění v průběhu generací, genetický drift závisí na počtu jedinců v generaci. Zatímco příbuzenská plemenitba závisí na počtech jedinců v generaci prarodičů.

Odhad efektivní velikosti populace ze skutečné populace

Jak již bylo uvedeno, výše uvedené postupy jsou odvozené z idealizované populace. Například, vztah (8) představuje možnost zohlednění rozdílného počtu samců a samic v populaci. Vztah (12) navíc zohledňuje možné kolísání počtů jedinců z generací na generaci. Tyto vztahy však neberou v úvahu příbuznost mezi jedinci a uvažují samčí a samičí jedince za nepříbuzné. Cervantes et al. (2008) uvádí, že předpoklad idealizované populace je však nápomocný při odvození počtu efektivní velikosti populace ve skutečné populaci, ve které dochází k selekci, nenáhodnému páření a k překrývání generací. Gutiérrez et al. (2003) navrhli postup uplatnitelný v reálné populaci, který využívá nárůstu příbuzenské plemenitby dle roků narození (vztah 7), kde $\Delta F = \frac{F_t - F_{t-1}}{1 - F_{t-1}}$, kde F_t a F_{t-1} jsou průměrné koeficienty příbuzenské plemenitby v roku (generaci) t a $t-1$. Gutiérrez et al. (2008) však uvádějí, že tato metoda nemusí být spolehlivá v případech, kdy dochází k změně v systému páření. Například pokud dojde po období, kdy byli páření blízcí příbuzní, k změně a jsou páření méně příbuzní jedinci, tato metoda může poskytovat nereálné záporné hodnoty N_e . Gutiérrez et al. (2008) následně odvodil vztah pro odhad realizované efektivní velikosti populace, která odpovídá skutečným populacím. Tuto metodu je možné odvodit takto:

Předpokládejme populaci o velikosti N jedinců odpovídající podmínkám idealizované populace. V těchto podmínkách hodnota koeficientu příbuzenské plemenitby hypotetické generace t může být získána ze vztahu:

$$F_t = 1 - (1 - \Delta F)^t. \quad (13)$$

Tato myšlenka vychází z hodnot koeficientu příbuzenské plemenitby a hodnoty ekvivalentu nepřekrývajících se generací (Maignel et al., 1996), pro každého jedince zahrnutého do referenční populace. Pokud bude dále uvažováno, že všichni jedinci v referenční populaci mají shodnou hodnotu koeficientu příbuzenské plemenitby ($F_t = F_i$) pak nárůst koeficientu příbuzenské plemenitby může být stanoven jako:

$$\Delta F_i = 1 - \sqrt[EqG_i]{1 - F_i}, \quad (14)$$

kde EqG_i v tomto případě představuje ekvivalent kompletnosti generací předků (Maignel et al., 1996). Průměrná hodnota ekvivalentu kompletnosti generací předků (Maignel et al. 1996) odpovídá počtu generací v diskrétních (nepřekrývajících se) populacích (Wooliams a Mäntysaari, 1995). Z toho vyplývá, že je možné vztah použít na reálné populace. Soubor hodnot ΔF_i odhadnutých pro každého jedince v referenční populaci je následně využit pro odhad N_e referenční populace. Realizovaná N_e je pak přímo odvozena z průměrné hodnoty ΔF_i dle vztahu:

$$N_{eF} = \frac{1}{2\Delta F}. \quad (15)$$

Další metodu, která odpovídá reálným populacím, navrhli Cervantes et al. (2008). Tato metoda je založena na *základě zvýšení hodnoty původového koeficientu*: kdy se pro realizované efektivní velikosti populace využívá zvýšení hodnoty původového (f_{XY}) koeficientu pro všechny jedince j a k (ΔC_{jk} , Cervantes et al., 2011) s ohledem na $\Delta C_{jk} = 1 - \frac{EqG_j + EqG_k}{2} \sqrt{1 - C_{jk}}$, kde EqG_j a EqG_k je ekvivalent kompletních generací (Maignel *et al.*, 1996) jedinců j a k , ΔC_{jk} je zvýšení původového koeficientu mezi párem jedinců j a k a C_{jk} je koeficient příbuzenské plemenitby možných potomků jedinců j a k . Realizovaná efektivní velikost populace může být odhadnuta s využitím vztahu (Cervantes et al., 2011):

$$N_{eC} = \frac{1}{2\Delta C}, \quad (16)$$

kde ΔC je průměrné zvýšení původového koeficientu mezi jedinci j a k v referenční populaci.

Rozdíly mezi odhady efektivních velikostí populací založených na nárůstu koeficientu příbuzenské plemenitby (N_{eF}) a nárůstu původového koeficientu mezi dvěma jedinci (N_{eC}) poskytují informace o možném nenáhodném páření mezi jedinci ve sledované populaci či subpopulacích a možném snížení hodnoty genetické rozmanitosti v následujících generacích v důsledku kombinací rodičovských párů. Pokud by populace byla považována za idealizovanou populaci, N_{eF} a N_{eC} by měly dosahovat shodných hodnot. Neshoda mezi těmito parametry poukazuje na preferovaný výběr rodičovských párů. Jinými slovy, porovnání hodnot N_{eC} a N_{eF} umožňuje charakterizaci vlivu preferenčního připárování v populaci (Cervantes et al., 2011). Pokud hodnoty poměru N_{eC}/N_{eF} dosahují hodnoty nižší než 1 je zřejmé, že ve sledované populaci nedochází k preferenčnímu připárování, které by rozdělovalo danou populaci na další subpopulace. A naopak, pokud by hodnoty poměru N_{eC}/N_{eF} dosahovaly hodnoty vyšší než 1 znamenalo by to, že v populaci dochází k preferenčnímu připárování, díky kterému by docházelo k rozdělení populace na další subpopulace. V těchto subpopulacích by hodnoty příbuznosti dosahovaly vyšších hodnot než mezi subpopulacemi a proto by celková příbuznost dosahovala nižších hodnot než průměrný koeficient příbuzenské plemenitby.

Realizovaná efektivní velikost populace může být vyložena jako celková efektivní velikost v průběhu času, který vedl k současné úrovni koeficientu příbuzenské plemenitby od populace zakladatelů.

Literatura

- Caballero, A. 1994. Developmnets in the prediction of effective population-size. *Heredity*. 73 (6). 657-679.
- Cervantes, I., Goyache, F., Molina, A., Valera, M., Gutiérrez, J. P. 2011. Application of individual increase in inbreeding to estimate effective size from real pedigrees. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 125. 301–310.
- Daetwyler, H.D, Villanueva, B., Bijma, P., Woolliams, J.A. 2007. Inbreeding in genome-wide selection. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 124:369–376.
- Dagnachew, B.S, Meuwissen, T.H.E. 2016. A fast Newton–Raphson based iterative algorithm for large scale optimal contribution selection. *Genetics Selection Evolution* 48.
- Dalvit C, de Marchi M, Zanetti E, Cassandro M. 2009. Genetic variation and population structure of Italian native sheep breeds undergoing in situ conservation1. *Journal of Animal Science* 87:3837–3844.
- Ellegren, H., Galtier, N. 2016. Determinants of genetic diversity. *Nature Reviews Genetics* 17:422–433
- Falconer, D. S., Mackay, T. F. C. 1996. Introduction into quantitative genetics. Longman House, Harlow Essex., p. 464. ISBN: 978-0582243026.
- FAO, 2000. Secondary guidelines for development of farm animal genetic resources management plans. Management of small populations at risk. FAO. Rome. Italy. p. 219.
- Forutan M, Ansari Mahyari S, Baes C, Melzer N, Schenkel FS, Sargolzaei M. 2018. Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics* 19:1–12.
- Gutiérrez, J. P., Cervantes, I., Molina, A., Valera, M., & Goyache, F. (2008). Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genetics selection evolution*, 40(4), 359-378.
- Hodgkinson A, Eyre-Walker A. 2011. Variation in the mutation rate across mammalian genomes. *Nature Reviews Genetics* 12:756–766.
- Lynch M. 2010. Evolution of the mutation rate. *Trends in Genetics* 26:345–352.
- Maignel, L., Boichard, D., Verrier, E. 1996. Genetic variability of French dairy breeds estimated from pedigree information. *Interbull Bull*, 14. 49-54.
- Makanjuola, B.O, Miglior, F., Abdalla, E.A., Maltecca, C., Schenkel, F.S., Baes, C.F. 2020. Effect of genomic selection on rate of inbreeding and coancestry and effective population size of Holstein and Jersey cattle populations. *Journal of Dairy Science* 103:5183–5199.

- Mendelsohn, R., 2003. The challenge of conserving indigenous domesticated animals. *Ecological Economics* 45:501–510.
- Mészáros G. 2018. Genomic descriptors of biodiversity – A review. *Die Bodenkultur: Journal of Land Management, Food and Environment* 69:73–83. Available from <https://www.sciendo.com/article/10.2478/boku-2018-0007>.
- Notter DR. 1999. The importance of genetic diversity in livestock populations of the future. *Journal of Animal Science* 77:61. Available from <https://academic.oup.com/jas/article/77/1/61-69/4625321>.
- Relichova, J. 2009. *Genetika populací*. Masarykova univerzita, ISBN: 978-80-210-4795-2
- Saravanan KA, Panigrahi M, Kumar H, Bhushan B. 2022. Advanced software programs for the analysis of genetic diversity in livestock genomics: a mini review. *Biological Rhythm Research* 53:358–368.
- Scott, B.A, Haile-Mariam, M., Cocks, B.G., Pryce, J.E. 2021. How genomic selection has increased rates of genetic gain and inbreeding in the Australian national herd, genomic information nucleus, and bulls. *Journal of Dairy Science* 104:11832–11849.
- Sonesson, A.K, Woolliams, J.A, Meuwissen, T.H. 2012. Genomic selection requires genomic control of inbreeding. *Genetics Selection Evolution* 44.
- Tapio M, Marzanov N, Ozerov M, Činkulov M, Gonzarenko G, Kiselyova T, Murawski M, Viinalass H, Kantanen J. 2006b. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian, and Central Asian Areas. *Molecular Biology and Evolution* 23:1776–1783.
- van Wyk JB, Fair MD, Cloete SWP. 2009. Case study: The effect of inbreeding on the production and reproduction traits in the Elsenburg Dormer sheep stud. *Livestock Science* 120:218–224.
- Vicente, A. A., Carolin, N., Gama, L. T. 2014. Genetic diversity in th Lusitano horse breed assessed by pedigree analysis. *Livestock Science*. 148. 16-25.
- Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. 2002. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution* 34:275–305.
- Wright, S. 1968. *The Theory of Gene Frequencies: Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 2. Chicago University press, Chicago, USA. p. 520. ISBN: 9780226910390.
- Wright, S. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science* 87, 430–431 (1938).
- Wooliams J.A., Mäntysaari E.A. 1995. Genetic contributions of Finnish Ayrshire bulls over four generations. *Animal Science*, 61: 177-187.
- Wooliams, J.A., Berg, P., Dagnachew, B.S., Meuwissen, T.H.E. 2015. Genetic contributions and their optimization. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 132:89–99.