

# **STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST**

**Obor č. 7: Zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství**

## **Závislost vybraných fenotypových znaků plemene Welsh Mountain Pony na alele G**

**Dušek Martin  
Plzeňský kraj**

**Blovce 2021**

# **STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST**

**Obor č. 7: Zemědělství, potravinářství, lesní a vodní hospodářství**

## **Závislost vybraných fenotypových znaků plemene Welsh Mountain Pony na alele G**

## **Dependence of selected phenotypic traits of Welsh Mountain Pony breed on the G allele**

**Autoři:** Dušek Martin

**Škola:** Gymnázium, Blovice, Družstevní 650, 336 13 Blovice

**Kraj:** Plzeňský kraj

**Konzultant:** Mgr. Hana Tlapová

Blovice 2021

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracoval/a samostatně a použil/a jsem pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších předpisů.

V Blovicích dne 10. 3. 2021 .....

Dušek Martin

## **Poděkování**

Rád bych zde poděkoval Mgr. Haně Tlapové za trpělivé vedení a odbornou pomoc při zpracování této práce a Ing. Lence Duškové za spolupráci při získávání informací o zkoumaných zvířatech Welsh Mountain Pony. Dále bych rád poděkoval majitelům daných koní za možnost získání podkladů pro tento výzkum, jmenovitě: Pavel Blažek, Peggy Coulthard, Elizabeth French, Peter Jones, Raymond Harrison, Žaneta Lodziánová, Markéta Pišová, Mahulena Richterová, Sian White, Rosie Wilson a Harold Zoet.

## **Anotace**

Tato práce se zabývá závislostí vybraných fenotypových znaků (barva po narození, postup vybělování, zbarvení flea-bitten, vitiligo) na alelovém zastoupení genu G (gray) u koní plemen Welsh Pony & Cob (konkrétně u plemene Welsh Mountain Pony). Poukazuje hlavně na semidominantní chování těchto znaků, které by mohlo chovatelům usnadnit určování genotypu koní. V úvodní teoretické části je též shrnuta základní charakteristika plemen Welsh Pony & Cob spolu se základními principy dědičnosti barev srsti u koní.

Během výzkumu bylo pozorováno 49 koní plemene velšský horský pony – sekce A – 6 zvířat dominantně homozygotních (genotyp GG), 23 zvířat heterozygotních (genotyp Gg), 8 zvířat recesivně homozygotních (genotyp gg) a 12 zvířat nepotvrzeného genotypu (genotypová kategorie G-). U těchto jedinců byly pozorovány znaky: barva po narození, postup vybělování, zbarvení flea-bitten a vitiligo.

Na základě získaných výsledků lze za charakteristický projev recesivně homozygotního genotypu gg považovat zesvětlené (tzv. juvenilní) zbarvení po narození, typické krémově zabarvenou spodní částí těla. Charakteristickým znakem heterozygotů (genotyp Gg) je zbarvení hříbat podobné barvě srsti dospělé příslušné podkladové barvy (tzv. adultní zbarvení), rychlejší vybělování chlupů na těle (případně rovnoměrné vybělování), výskyt specklingu v jakémkoli rozsahu (fenotyp flea-bitten) a absence vitiliga (hlavně před 15. rokem věku koně). Charakteristickým znakem dominantních homozygotů je výrazně ztmavená srst po narození, rychlejší vybělování hřívy, absence specklingu a výrazně vyvinuté vitiligo (pozorovatelné většinou již od 5. roku věku koně).

Tímto způsobem můžeme na základě fenotypových znaků (bez potřeby nákladného testování genetickou laboratoří) s celkem vysokou přesností odhadnout zastoupení alel genu G jedinců, jejichž genotyp není prokazatelně zřejmý například z rodokmenu či fenotypu potomstva.

## **Klíčová slova**

alela G (gray); postupné vybělování; Welsh Mountain Pony

## **Annotation**

This thesis deals with the dependence of selected phenotypic traits (colour after birth, progression of greying, flea-bitten grey, vitiligo) on the allelic representation of the G (grey) gene in Welsh Pony & Cob breeds (Welsh Mountain Pony in particular). It mainly points out the semi-dominant behaviour of these traits, which could make it easier for breeders to determine the genotype of horses. The introductory theoretical part also summarizes the basic characteristics of the Welsh Pony & Cob breeds, along with the basic principles of heredity of coat colour in horses.

During the research, 49 horses of the Welsh Mountain Pony – section A – breed were observed, 6 animals dominantly homozygous (genotype GG), 23 animals heterozygous (genotype Gg), 8 animals recessively homozygous (genotype gg) and 12 animals of unconfirmed genotype (genotype category G-). In these individuals, the following traits were observed: colour after birth, progression of greying, flea-bitten grey and vitiligo.

Based on the obtained results, the characteristic manifestation of the recessively homozygous genotype gg is a lightened (so-called juvenile) colour after birth, typical for its cream-colored lower part of the body. Characteristic traits of heterozygotes (genotype Gg) are the colour of foals similar to the adult base color, faster coat greying (or equal greying), occurrence of speckling in any extent (flea-bitten phenotype) and absence of vitiligo (mainly before the age of 15). Characteristic traits of dominant homozygotes are significantly darkened coat after birth, faster mane and tail greying, absence of speckling and distinctly developed vitiligo (mostly noticeable from the age of 5).

This way, we can estimate the representation of G gene alleles in individuals, whose genotype is not obvious from the pedigree or the phenotype of progeny for instance (without the need of expensive testing by a genetic laboratory).

## **Keywords**

allele G (grey); greying; Welsh Mountain Pony

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Charakteristika velšských plemen koní a dědičnosti barev jejich srsti</b> .....	<b>10</b>
2.1 Plemena Welsh Pony & Cob.....	10
2.1.1 Sekce A: Velšský horský pony (The Welsh Mountain Pony).....	11
2.1.2 Sekce B: Velšský pony (The Welsh Pony).....	11
2.1.3 Sekce C: Velšský pony v typu kob (The Welsh Pony of Cob type).....	12
2.1.4 Sekce D: Velšský kob (The Welsh Cob).....	12
2.1.5 WPBR: Podílový velš (The Welsh Part-Bred).....	12
2.2 Barva jako produkční znak.....	13
2.3 Základy dědičnosti barev u koní.....	14
2.3.1 Základy Mendelistické dědičnosti.....	14
2.3.2 Popis genů významných pro zbarvení koní.....	15
2.4 Molekulární podstata zbarvení gray.....	23
<b>3 Materiál a metody</b> .....	<b>24</b>
3.1 Pozorování jedinci.....	24
3.2 Určování alelismu pro gen G u vybraných jedinců.....	24
3.2.1 Určení genotypu gg (recesivní homozygot).....	24
3.2.2 Určení genotypu Gg (heterozygot).....	25
3.2.3 Určení genotypu GG (dominantní homozygot).....	25
3.3 Stanovení fenotypových stupňů u jednotlivých jevů.....	26
3.4 Přiřazení fenotypových stupňů u jednotlivých znaků.....	26
<b>4 Výsledky</b> .....	<b>27</b>
4.1 Barva po narození.....	27
4.1.1 Charakteristika barvy po narození.....	27
4.1.2 Stanovení fenotypových stupňů u barvy po narození.....	27
4.1.3 Závislost barvy po narození na alelismu genu gray.....	28
4.2 Postup vybělování.....	29
4.2.1 Charakteristika postupu vybělování.....	29
4.2.2 Stanovení fenotypových stupňů u postupu vybělování.....	29
4.2.3 Závislost postupu vybělování na alelismu genu gray.....	30
4.3 Zbarvení flea-bitten.....	31
4.3.1 Charakteristika zbarvení flea-bitten.....	31
4.3.2 Stanovení fenotypových stupňů u zbarvení flea-bitten.....	32
4.3.3 Závislost zbarvení flea-bitten na alelismu genu gray.....	32
4.4 Vitiligo.....	34
4.4.1 Charakteristika vitiliga.....	34
4.4.2 Stanovení fenotypových stupňů u vitiliga.....	34
4.4.3 Závislost vitiliga na alelismu genu gray.....	35
4.5 Melanomy.....	36
4.6 Genotypová kategorie G-.....	36

<b>5</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>38</b>
<b>6</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>Seznam použitých zkratk.....</b>	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>Seznam použité literatury.....</b>	<b>45</b>
<b>9</b>	<b>Seznam obrázků a tabulek.....</b>	<b>47</b>
<b>10</b>	<b>Příloha 1: Tabulka pozorovaných jedinců.....</b>	<b>1</b>



# 1 ÚVOD

Jedním z nejdůležitějších fenotypových projevů dnešních koní je barva srsti. Vzhledem k rekreačním účelům, ke kterým v současnosti slouží většina koní světa, hraje tento znak nesmírně důležitou roli v oblíbenosti, respektive v prodejnosti, daného zvířete. V chovatelství koní je tak barva srsti jedním z hlavních produkčních znaků s významným dopadem na ekonomiku chovu koní.

Na výsledné barvě srsti u koní se v různé míře podílí velké množství genů, od genů determinujících základní barvy (hnědá, rezavá a černá – geny *agouti* a *extension*) přes geny modifikující podkladovou barvu (*dilution genes* – geny zesvětlující) až po geny způsobující depigmentaci chlupů v různé míře (*patterns and depigmentation genes*; viz kap. 2.3.2). Mezi tyto geny se řadí i gen *G* (*gray*), jehož dominantní mutantní alela *G* způsobuje postupné vybělování srsti. Alela *G* tímto způsobem překrývá výskyt většiny ostatních genů ovlivňujících zbarvení koně (funguje epistaticky nad většinou ostatních genů). Chovatelům se tak vyplatí znát genotyp (genetickou výbavu) svých zvířat, zejména u genu *G*, jelikož například dominantní homozygot pro alelu *G* (genotyp *GG*) zaručeně předá jednu ze svých dominantních alel svému potomstvu (všichni potomci tohoto jedince postupem věku vybělí). Zvířata vykazující fenotyp *gray* se navíc nenarodí bílá, což mnohým majitelům znemožňuje snadnou identifikaci genotypu hříběte.

Přestože již existují četné studie pojednávající o genetice barev srsti u koní, stále se jedná o neprobádanou oblast vědy s množstvím nezodpovězených otázek a neobjasněných principů, jejichž vysvětlení může přinést výrazný pokrok v chovatelské, biologické, veterinární, případně i medicínské rovině.

Tato práce se zabývá fenotypovými projevy alely *G* s možným semidominantním chováním (míra či druh jejich projevu závisí na zastoupení alel v genotypu jedince) a klade si za hlavní cíl potvrdit či vyvrátit semidominantní charakter následujících jevů spojených s výskytem alely *G* a případně přiřadit jejich jednotlivé projevy k možným kombinacím alel genu *G*: barva po narození, postup vybělování, zbarvení *flea-bitten* a *vitaligo* („*vitaligo-like depigmentation*“).

Součástí následujícího výzkumu jsou jedinci druhu *Equus caballus* (dnešní domestikovaný kůň) plemene *Welsh Mountain Pony* (Velšský horský pony – sekce A).

Určení semidominantního charakteru těchto znaků by mohlo přinést snazší identifikaci zastoupení alel genu *G* v genotypu zvířat plemene *Welsh Mountain Pony* (i všech koní jakožto zástupců druhu *Equus caballus*) bez nutného užití testu genetickou laboratoří. Na základě fenotypu jedinců by byla možná snazší identifikace genotypu již bezprostředně po

narození příslušného hříběte (pozorování barvy po narození), v raných stádiích jeho vývoje (sledování postupu vybělování) i v pozdějším věku zvířete (výskyt zbarvení flea-bitten či vitiliga).

Problematikou alely G u koní se již zabývalo velké množství prací, avšak většina z nich se věnuje zejména molekulárnímu původu zbarvení gray. Některé studie naznačují možnou míru semidominance některých jevů spojených s alelou G, nicméně tato práce nabízí jedinečný pohled na vliv alelového zastoupení genu G na konkrétních fenotypových projevech, zejména na barvě po narození, které nebylo v této problematice věnováno příliš prostoru, přestože pochopení vlivu počtu mutantních alel G právě na barvu po narození by znamenalo výrazný přínos pro chovatele (barva po narození je prvním pozorovatelným znakem zvířete, na základě kterého by bylo možné velmi rychle určit jeho genotyp).

Pro správnou interpretaci práce byla v teoretické části shrnuta charakteristika plemen Welsh Pony & Cob (mezi něž patří i zkoumané plemeno Welsh Mountain Pony) a základní principy dědičnosti barev srsti u koní obecně, jejichž pochopení je klíčové v oblasti problematiky této práce.

## 2 CHARAKTERISTIKA VELŠSKÝCH PLEMEN KONÍ A DĚDIČNOSTI BAREV JEJICH SRSTI

### 2.1 Plemena Welsh Pony & Cob

Welsh Pony & Cob je označení pro plemena koní původem z britského Walesu, která v současnosti patří k nejrozšířenějším plemenům koní na celém světě. Jejich všestrannost, houževnatost, inteligence i líbivý zevnějšek činí z velšských plemen ideální základ pro chov koní na celém světě.

Tato plemena se nadále dělí do čtyř hlavních sekcí. Welsh Pony & Cob Society (WPCS) [1], britská organizace zabývající se registrací čistokrevných zvířat Welsh Pony & Cob do velšské plemenné knihy, je definuje takto:

- **Sekce A: Velšský horský pony (The Welsh Mountain Pony)** – výška hřbetu v kohoutku (dále jen KVH) do 121,9 cm (12 hands); povolené všechny barvy kromě strakáčů [1]
- **Sekce B: Velšský pony (The Welsh Pony)** – KVH do 137,2 cm (13 hands 2 inches); povolené všechny barvy kromě strakáčů [1]
- **Sekce C: Velšský pony v typu kob (The Welsh Pony of Cob type)** – KVH do 137,2 cm (13 hands 2 inches); od sekce B se liší mohutnějším tělem; povolené všechny barvy kromě strakáčů [1]
- **Sekce D: Velšský kob (The Welsh Cob)** – KVH nad 137,2 cm (13 hands 2 inches) neomezená; povolené všechny barvy kromě strakáčů [1]

V současné době existují i 3 dodatečné registry, kterými jsou:

- **WPBR: Podílový velš nebo-li velšský polokrevník (The Welsh Part-Bred)** – KVH neomezená; kůň musí mít v rodokmenu minimálně 12,5 % registrované velšské krve (ze strany otce, matky i kumulativně od obou), povolené všechny barvy včetně strakáčů [1]
- **Sekce E: Valaši** – vykastrovaní hřebci zapsaní v jakékoli sekci nebo nezapsaní vykastrovaní hřebci, kteří však splňují podmínky pro zapsání do některé ze sekcí [1]
- **Sekce X** – čistokrevná zvířata, která ovšem nesplňují podmínky pro zapsání do plemenné knihy; především koně nepovolené barvy a potomci hřebců nelicencovaných u WPCS; účast jedinců sekce X na oficiálních výstavách čistokrevných velšských plemen a dražbách společnosti je nežádoucí [1]

Všechny sekce Welsh Pony & Cob jsou původem odvozené od velšských horských pony (sekce A), jejichž existence v kopcích Walesu je průkazná již z období Římanů na ostrově Velké Británie, nejspíš se zde však velšští horští poníci vyskytovali už po tisíce let. Římané se pravděpodobně zasloužili o dnešní vzhled velšů, který značně připomíná plemeno arabských koní. Právě arabští koně doprovázeli římské osadníky z afrických výprav na britské ostrovy, kde docházelo ke křížení arabů s tehdejšími velšskými horskými poníky a po odchodu Římanů v roce 410 zde tito kříženci zůstali. Za vlády Jindřicha VIII. v 16. století se velšští poníci museli opět stáhnout do hor Walesu, neboť nesplňovali královy ideály válečného koně. Král tak nechával utratit všechny koně menšího vzrůstu. Nepříliš hostinné podmínky kopců Walesu přežili pouze jedinci vyšší odolnosti a inteligence, kteří tyto (v chovatelství velmi ceněné) vlastnosti dále přenášeli na své potomstvo. V průběhu let postupně vznikal nový typ velšského koně – vzrůstem značně větší a mohutnější velšský kob (The Welsh Cob). Kolem roku 1700 začala rapidně stoupat oblíbenost těchto plemen, spolu s ovceci vypásali četné velšské kopce a odváděli různé práce na farmě, tahali povozy s lidmi a čím dál tím častěji se ocitali v roli jezdeckých koní. V roce 1901 byla skupinou nadšenců a bohatších chovatelů založena organizace Welsh Pony & Cob Society (WPCS), díky níž se chov velšských plemen značně izoloval a došlo k roztrídění zvířat Welsh Pony & Cob na čtyři výše zmíněné základní sekce A, B, C a D. [1,2]

### **2.1.1 Sekce A: Velšský horský pony (The Welsh Mountain Pony)**

Velšský horský pony je nejstarší a původní sekcí plemen Welsh Pony & Cob. Jedinci sekce A vznikají výhradně křížením pouze s jedinci sekce A ( $A \times A = A$ ; viz Tab. 1). Velšský horský pony musí mít kohoutkovou výšku (KVH) maximálně 121,9 cm (12 hands). Typickými rysy jsou energický volný pohyb a malá hlava s širokým čelem zužující se k nozdram, kterou doplňují velké výrazné oči a malé úměrně umístěné uši. Velšský horský pony je houževnatý, všestranný a značně inteligentní. Je tak zvířetem pro děti na ježdění, typická mechanika pohybu připomíná mechaniku pohybu plemen užívaných například v drezúře a charakterové vlastnosti velšských horských pony jsou ideální k práci s těmi nejmenšími jezdci. Používají se v jezdeckví, vozatajství či výstavnictví. Vzhledem k uzavřenosti chovu velšských pony sekce A se jedná o zvířata s výborným exteriérem, velšští horští poníci jsou proto považováni za nejkrásnější pony plemeno, což také zvyšuje jejich chovatelský význam, často se totiž pořizují pouze k rekreačním účelům. [1]

### **2.1.2 Sekce B: Velšský pony (The Welsh Pony)**

Velšský pony sekce B je plemeno vůbec nejmladší a nejpozději uzavřené po chovatelské stránce. Sekce B vznikala postupným křížením původních sekcí A a D mnohdy spolu s jinými nevelšskými plemeny až přibližně do minulého století, dnes lze pro narození velšského poníka sekce B křížit buď jedince sekce B mezi sebou, nebo jedince sekce B

s jedincem sekce A (viz Tab. 1). Velšský pony sekce B nesmí být v kohoutku vyšší než 137,2 cm (13 hands 2 inches). Větší důraz je kladen na jezdecké a sportovní vlastnosti. Obdobně jako velšský pony sekce A je vhodný pro děti na ježdění. [1]

### **2.1.3 Sekce C: Velšský pony v typu kob (The Welsh Pony of Cob type)**

Velšský pony v typu kob je zvíře výšky jedince sekce B s vlastnostmi jedince sekce D. Tato sekce vznikala podobně jako sekce B, současné možné křížení je popsáno v tabulce Tab. 1. Jeho kohoutková výška také nesmí překročit 137,2 cm (13 hands 2 inches). Na rozdíl od sekce B je žádoucí co největší hmota na podobnou výšku. Stává se čím dál populárnější sekcí, jelikož její jedinci jsou schopni uvést jak děti, tak dospělé jezdce. Tato zvířata se také výrazně uplatňují v zápřeži díky své síle. [1]

### **2.1.4 Sekce D: Velšský kob (The Welsh Cob)**

Velšský kob je druhou nejstarší sekcí, která vznikala na britských ostrovech křížením hřebců velšských horských poníků (sekce A) s lokálními chladnokrevnými klisnami, které sekcí A dodaly větší vzrůst a hmotu. Dnes mohou vzniknout křížením jakékoli základní velšské sekce se sekcí D (viz Tab. 1) za předpokladu, že potomek dosáhne minimální kohoutkové výšky (KVH) 137,2 cm (13 hands 2 inches). Velšští kobové jsou velmi populární, jsou dostatečně silní, aby bez potíží uvezli dospělého jezdce, na druhou stranu většinou i dostatečně klidní, aby mohli vozit malé děti. Jsou vhodní do zápřeže či na jiné výkonnostní sporty, kde jsou jejich kvality celosvětově oceňovány. [1]

### **2.1.5 WPBR: Podílový velš (The Welsh Part-Bred)**

Sekce WPBR se nepovažuje za plnohodnotnou základní sekci plemen Welsh Pony & Cob, nicméně stále přibírá na významu. Jedná se o zvířata vzniklá křížením velšské krve s ostatními plemeny. Jedinci sekce Welsh Part-Bred nejsou nijak omezení výškou v kohoutku ani zbarvením (na rozdíl od výše zmíněných sekcí obsahuje sekce WPBR i strakaté koně). Musí však mít v rodokmenu alespoň 12,5 % velšské registrované krve ze strany matky, otce či kumulativně od obou (krve sekce A, B, C nebo D zapsané ve velšské plemenné knize WPCS). Sekce WPBR umožňuje přišlechtit některé vlastnosti plemen Welsh Pony & Cob do jiných plemen, kterým je takto dodávána výdrž, mechanika pohybu nebo kvalitní kostra. Welsh Part-Bred je tedy důkazem pozitivního vlivu vlastností velšských plemen v chovatelství koní obecně. [1]

Tab. 1: Možné křížení plemen Welsh Pony & Cob [autorem tabulky je autor práce]

Sekce	A	B	C	D	WPBR
A	A	B	C	C; D	WPBR
B	B	B	C	C; D	WPBR
C	C	C	C	C; D	WPBR
D	C; D	C; D	C; D	D	WPBR
WPBR	WPBR	WPBR	WPBR	WPBR	WPBR

## 2.2 Barva jako produkční znak

Barva srsti je kvalitativní znak zvířete patrný pouhým okem s velmi výrazným vlivem na celkový vzhled jedince. Tato vlastnost má v dnešní době významný dopad na ekonomiku chovu, jelikož u většiny zájemců o koupi koně obecně hraje barva velkou roli, zejména v laické sféře (kde mnohdy hraje roli jedinou).

Na počátku domestikace nebyla barva podstatným rysem, koně byli užíváni převážně jako pracovní síla v zemědělství a hornictví (zde se uplatnili zejména silní, ale zároveň prostorově menší zástupci plemene Welsh Mountain Pony, nebo-li velšský horský pony – sekce A). Postupem času se koně ocitali v ozbrojených konfliktech jako prostředek pro rychlý transport po bojišti. Při válčení již barva měla určitý smysl, generálové některých armád sedlali koně bílé srsti jako odznak své hodnosti. I bojové jednotky stejné armády se navzájem mezi sebou často odlišovaly právě zbarvením koní pro snazší identifikaci. Při různých taženích se vyplatilo velet jednotce s tmavými zvířaty bez jakýchkoli odznaků, aby je nepřítel hůř spatřil. Nicméně během průmyslové revoluce v 2. polovině 18. století byla koňská síla postupně nahrazována stroji. Koně ztráceli význam jak v hospodářství, tak na poli válečném, kde byli nahrazeni střelnými zbraněmi a obrněnými vozidly. Lidé však v koních spatřili nový význam, význam rekreační. Tato zvířata začala sloužit ke sportovním účelům, například k ježdění a záprahu. Z čisté síly a pouhého dopravního prostředku se z koně čím dál tím více stával partner pro člověka. Právě v rámci rekreačního významu přibrala barva srsti výrazně na své důležitosti. Zbarvení daného jedince je dnes jedním z hlavních aspektů jeho oblíbenosti, respektive prodejnosti. V dobách minulých stačili k práci pouze jedinci základních barev (hnědák, vraník a ryzák). Dnes se však vlivem spontánních mutací a následného šlechtění vyskytuje pestrá škála barev srsti koní. Oblíbení jsou například jedinci zesvětlených fenotypů (cream, dun, silver, atd. – viz kap. 2.3.2) či jiných kontrastních fenotypů, které kupce nějak zaujmou (vraníci s bílými odznaky na nohou a hlavě). Na druhou stranu s sebou některé mutantní zbarvení mohou nést i určité zdravotní predispozice, které jedincům znesnadňují život (syndrom MCOA ovlivňující správnou funkci očí u koní silver – viz kap. 2.3.2). Pro chovatele je tak důležité vědět, jaké zbarvení ponese potomci jeho zvířat, aby mohl ovlivnit svůj chov v závislosti na okolní poptávce nebo aby mohl předejít některým nežádoucím jevům.

Schopnost rozpoznat genetické založení jedince (genotyp) pro dědičnost barvy srsti na základě jeho zevnějšku je obzvláště výhodná v případě dominantního zbarvení gray (bělouš či lidově „šiml“), které překrývá výskyt většiny ostatních barev (funguje epistaticky nad ostatními barvami). Hříbata této barvy nejsou totiž bílá od narození, což mnohým chovatelům znemožňuje správnou identifikaci jejich zbarvení.

Prvním zaregistrovaným jedincem plemene Welsh Pony & Cob barvy gray ve Welsh Stud Book (oficiální velšské plemenné knize) byl hřebec Dyoll Starlight, jehož matka, Dyoll Moonlight, v roce 1886 přinesla bílé zbarvení vůbec poprvé do plemene velšských poníků. Dyoll Starlight je tedy průkazným společným předkem všech běloušů. Mutaci gray nejspíš nesl již arabský hřebec bílé barvy, který se dostal do velšských kopců již kolem roku 1840. [2]

## **2.3 Základy dědičnosti barev u koní**

Principy dědičnosti barev u koní jsou pro všechna plemena stejné. Základní barvy koní, hnědá, rezavá a černá, jsou definovány interakcí pouze dvou genů (E – extension; A – Agouti). Postupem času však vznikala nová zbarvení vlivem různých mutací, přirozenou selekcí a později umělým šlechtěním barev koní chovateli. Nyní je podle americké Veterinary Genetics Laboratory [3] nalezeno přes 300 různých genů podílejících se na zbarvení savců. Ovšem vliv spousty z nich na výslednou barvu koní nebyl zatím zcela objasněn. Hlavní principy genetiky barev u koní vychází ze základů Mendelistické dědičnosti.

### **2.3.1 Základy Mendelistické dědičnosti**

Základem genetiky všech organismů jsou tři základní principy dědičnosti definované Gregorem Johannem Mendelem (1822–1884), brněnským katolickým knězem a zakladatelem oboru genetiky. Jedná se o principy dominance, segregace a nezávislé kombinace. [4]

Genom dnešního domestikovaného koně (*Equus caballus*) obsahuje 32 párů chromozomů [5] v somatických (tělních) buňkách, které nesou genetickou informaci v genech. Gen je základní dědičná jednotka, určitý úsek DNA (kyseliny deoxyribonukleové) na chromozomu kódující jeden polypeptid s určitou biologickou funkcí. Tyto geny mají své dominantní a recesivní formy zvané alely, které existují ve dvojici nebo celé alelové sérii (tři či více alel). Daný jedinec vlastní na svých chromozomech právě dvě alely daného genu. Každá z nich se nachází na určitém lokusu, specifickém místě na chromozomu. Chromozomy se v buňkách vyskytují v párech, v rámci kterých je jeden chromozom původem od matky a jeden od otce. Alely jednoho genu jsou umístěny právě v jednom páru chromozomů, jedna alela na chromozomu od matky, druhá na chromozomu od otce. Tyto alely mohou být buď dominantní (značeny velkým písmenem), nebo recesivní

(značeny malým písmenem). Dle Mendelova principu dominance obecně platí, že dominantní alela genu může svým výskytem překrýt projev alely recesivní. Pokud má jedinec obě alely příslušného genu totožné, je označován jako homozygot (dominantní homozygot – AA; recesivní homozygot – aa). Obsahuje-li genotyp (genová výbava daného organismu) jedince jednu dominantní a jednu recesivní alelu, označuje se tento jedinec jako heterozygot (genotyp Aa). Genotyp jedince přímo ovlivňuje jeho fenotyp (soubor pozorovatelných znaků organismu), při úplné dominanci tedy platí, že dominantní homozygot bude mít fenotyp shodný s heterozygotem (například koně hnědé barvy mohou mít alely genu agouti AA i Aa – viz podkapitola 2.3.2), recesivní homozygot bude vykazovat odlišný fenotyp (jedinci černé barvy budou genotypu aa – viz podkapitola 2.3.2). Některé alely však mohou být neúplně dominantní (semidominantní), u těchto alel nepřekrývá dominantní alela zcela alelu recesivní. Heterozygot semidominantní alely tedy bude fenotypově odlišný od dominantního homozygota (například gen cream – viz podkapitola 2.3.2). Dále existují i geny kodominantní (intermediární), jejichž alely fungují nezávisle (žádná z alel není dominantní nad druhou). [4]

Vlastní dědičnost funguje na Mendelově principu segregace. Rodič se dvěma alelami daného genu předá potomku v pohlavní buňce (gametě) pouze jednu z nich, a to v důsledku segregace (vzájemného oddělení) alel při tvorbě gamet (vajíček u samic; spermií u samců). Potomek obdrží prostřednictvím gamet vždy jednu alelu od matky a druhou od otce. [4]

Třetím principem Mendelistické dědičnosti je princip nezávislé kombinace, který tvrdí, že alely různých genů se segregují nezávisle na sobě. Kombinací různě segregovaných alel různých genů obsažených v gametách rodičů vzniká variabilní potomstvo (ovšem ne každé dva geny se segregují zcela nezávisle, existuje i řada výjimek). [4]

## **2.3.2 Popis genů významných pro zbarvení koní**

### **2.3.2.1 Geny základních barev**

Největší dopad na zbarvení koní mají dva geny determinující tři základní barvy: rezavou, černou a hnědou. Těmito geny jsou gen E (extension, red factor) a gen A (agouti).

#### **Gen E – extension, red factor**

Extension gen, v molekulární biologii také označován jako melanocortin 1 receptor (MC1R), podmiňuje tvorbu pigmentu v melanocytech (buňkách tvořících pigment). Pigmenty v srsti koní jsou černý eumelanin a červený phaeomelanin. Je-li v melanocytech tvořen eumelanin a není-li znemožněna jeho distribuce po celém těle (genem agouti), pak eumelanin opticky překrývá barvu červeného phaeomelaninu. Pokud je kůň recesivní homozygot pro gen extension (genotyp ee), je v jeho těle produkován pouze pigment phaeomelanin a je rezavé barvy (není-li jeho barva ovlivněna dalšími geny). Pokud je



dominantním homozygotem (genotyp EE) nebo heterozygotem (genotyp Ee) pro extension gen, je v jeho těle produkován i eumelanin a kůň je černý nebo hnědý (není-li jeho barva ovlivněna dalšími geny). Californská Veterinary Genetics Laboratory uvádí i alelu  $e^a$  (alternate recessive red factor allele), která má totožný účinek jako recesivní alela e. Tato alela je ovšem velmi vzácná a potvrzená pouze u několika plemen (například plemen Black Forest a Knabstrupského koně). [3]

### Gen A – agouti

Agouti gen (ASIP, Agouti-signaling protein) je zodpovědný za nerovnoměrnou distribuci eumelaninu (pokud je v závislosti na genu extension vůbec přítomen – genotypy EE a Ee) po těle. V dominantně homozygotním (genotyp AA) a heterozygotním (genotyp Aa) stavu omezuje rozložení černého eumelaninu výhradně na hřívu, ocas a spodní část nohou. Zbytek těla těchto koní je zbarven červeným phaeomelaninem a jedinci jsou hnědého fenotypu (bay; není-li ovlivněn dalšími geny). U koní s recesivně homozygotním genotypem (aa) je eumelanin rozšířen po celém těle, čímž vzniká černý vraník (black; není-li ovlivněn dalšími geny). Nepůvodní recesivní alela (a) zodpovědná za rovnoměrné černé zbarvení vznikla mutací, respektive delecí (odstraněním) 11 bází v exonu 2 genu ASIP. [3]

Některé zdroje též uvádí další alelu  $A^t$ , která má být údajně recesivní vzhledem k alele A a dominantní k recesivní alele a. Alela  $A^t$  by měla být v genotypech  $A^tA^t$  či  $A^tA$  zodpovědná za tmavě hnědé zbarvení prosvětlené v okolí nozder, slabin a očí (seal brown). V současné době se testování její přítomnosti již nenabízí, jelikož nebylo příliš přesné. [7,8,9]

V závislosti na těchto dvou genech rozlišujeme u koní tři základní barvy:

- ryzák (chestnut): genotyp ee --
- hnědák (bay): genotyp E- A-  
(pomlčky označují libovolné alely daného genu bez vlivu na tento fenotyp)
- vraník (black): genotyp E- aa



Obr. 1: Příklad ryzáka (vlevo), hnědáka (uprostřed) a vraníka (vpravo) plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková]

### 2.3.2.2 Geny zesvětlující

Základní barvy mohou být dále upravovány zesvětlujícími geny (dilution genes), jež výrazně rozšiřují počet možných barev srsti.

#### Gen Cr – cream

Cream gen má zesvětlující účinek na oba typy pigmentu v srsti koní (eumelanin a phaeomelanin). Cream zesvětlení je způsobeno mutací v exonu 2 genu MATP (Membrane-associated transporter protein). [6]. Tato mutace (přesněji SNP = single nukleotide polymorphism, záměna jedné báze nukleotidu v řetězci DNA) zřejmě narušuje náležitý transport molekul pigmentu k vyvíjejícím se melanocytům. Gen Cr je neúplně dominantní (semidominantní), dominantní homozygoti (genotyp CrCr) se tedy budou fenotypově lišit od heterozygotů (genotyp CrN, N značí normální nezesvětlující alelu – normal, non-dilute). Fenotyp těchto jedinců také závisí na podkladové základní barvě.

Gen cream je zodpovědný za tyto fenotypy: [3,6]

- ryzák (NN) je zesvětlen na palomino (CrN) až cremello (CrCr)
- hnědák (NN) je zesvětlen na buckskin (CrN) až perlino (CrCr)
- vraník (NN) je zesvětlen na smokey black (CrN) až smokey cream (CrCr)



Obr. 2: Příklad zbarvení palomino (vlevo), buckskin (uprostřed) a smokey black (vpravo) u jedinců Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková]

Barvy jedinců dominantně homozygotních (genotyp CrCr) jsou zředěny tak výrazně, že jsou tito koně často mylně označováni za albíny. V porovnání se skutečnými albíny jiných živočišných druhů však u jedinců genotypu CrCr vyskytuje pigment v očích (albíni mají depigmentované i oči, které se opticky jeví rudé v důsledku prokrvení sítnice), lze je tak označit pouze za pseudoalbíny.

#### Gen Prl – pearl

Pearl je vzácný druh zesvětlení způsobený recesivní alelou Prl identifikovaný u plemen Quarter horse a španělských plemen (například lusitánský či andaluský kůň). Zesvětlený fenotyp je patrný pouze u recesivně homozygotních jedinců (genotyp PrlPr1). Genotypy

PrlN a NN nemají vliv na fenotyp koně. Zajímavostí je, že mutace zodpovědná za pearl zesvětlení se nachází na genu SLC45A2 (Solute Carrier 45 family A2), jehož součástí je i gen MATP (na němž je i mutace genu cream). U zvířat, která vlastní jednu alelu genu cream i jednu alelu genu pearl, dochází ke vzniku tzv. compound heterozygote („složený heterozygot“; genotyp CrPrl). Tito jedinci vykazují stejný fenotyp jako jedinci genotypu CrCr (pseudo-double cream dilute phenotype). [3,6]

### **Gen D – dun**

Dun gen je charakteristický zesvětlením všech tří základních barev srsti. Hříva, ocas a dolní část končetin však zůstává v základní barvě. Jedná se o geneticky původní jev, proto jsou pro něj typické tzv. primitivní znaky – úhoří pruh na zádech, zebrování končetin či oslí kříž na kohoutku. Gen dun má tři alely: D (dun dilute), nd1 (non-dun 1) a nd2 (non-dun 2). Tyto alely jsou ve vztahu  $D > nd1 > nd2$  (D je dominantní nad nd1 i nd2; nd1 je dominantní nad nd2). Jedinci s dominantní alelou D (genotypy Dnd1, Dnd2 a DD) budou vykazovat dun fenotyp, zesvětlená srst (v závislosti na podkladové barvě), hříva, ocas a spodní část končetin v základní barvě a primitivní znaky v různé míře. Jedinci s genotypy nd1nd1 a nd1nd2 nebudou mít zesvětlenou srst genem dun, nicméně mohou vykazovat primitivní znaky v různé míře. Koně s recesivně homozygotním genotypem nd2nd2 nebudou zesvětlení genem dun a nebudou se u nich vyskytovat žádné primitivní znaky. Samotné zesvětlení je řízeno lokalizovanou expresí genu TBX3 (T-box transcription factor 3) ve folikulu chlupů, která vede k asymetrickému ukládání pigmentu v rostoucí srsti, čímž dochází k celkovému zesvětlení těla. Absence tohoto zesvětlení je způsobena delecí (odstraněním) části DNA vedoucí k narušení exprese TBX3. [3,6]

Koně zesvětlení genem dun (genotypy Dnd1, Dnd2 a DD) ponosou zbarvení v závislosti na své podkladové barvě:

- ryzák je zesvětlen na červeného plaváka (red dun)
- hnědák je zesvětlen na plaváka (dun, český pojem plavák se však nešťastně pojí i s barvou buckskin)
- vraník je zesvětlen na grullo (myší šed')

### **Gen Z – silver**

Zesvětlení silver postihuje výhradně pigment eumelanin (nemá tedy vliv na rezavé koně). Je způsobeno mutací v exonu 11 genu PMEL17 (premelanosome protein 17; silver locus protein homolog 17). Jedná se o dominantní alelu Z, která v genotypch ZZ a ZN způsobuje u vraníků i hnědáků zesvětlení hřívy a ocasu na stříbrnou (silver gray), krémovou až bílou (tzv. flaxen mane). Srst na zbytku těla je u vraníků zesvětlena na čokoládově hnědou, u hnědáků je na zbytku těla zesvětlena pouze spodní část nohou (původně zbarvena eumelaninem). S genem silver se ovšem pojí i nechvalně známý syndrom MCOA (Multiple Congenital Ocular Abnormalities syndrome), který má

negativní vliv na oči postižených jedinců. MCOA syndrom se projevuje semidominantně, jedinci dominantně homozygotní pro gen silver (genotyp ZZ) mají závažnější znaky než heterozygoti (genotyp ZN). Na rozdíl od projevu silver na zbarvení srsti se MCOA projevuje i u rezavých jedinců. Koně s jednou kopií mutace silver (genotyp ZN) mohou častěji trpět cystami a abscesy na rohovce (cyst phenotype), obě kopie genu silver (genotyp ZZ) mohou dále způsobit i různé anomálie a deformace ve struktuře očí, které často vedou až k úplné slepotě (MCOA phenotype). [3]

### **Gen Ch – champagne**

Zesvětlení champagne má na svědomí úplně dominantní alela Ch vzniklá mutací na exonu 2 genu SLC36A1 (Solute Carrier 36 family A1). Jedinci dominantně homozygotní (genotyp ChCh) a heterozygotní (ChN) vykazují stejný zesvětlený fenotyp. Závisí ale na podkladové základní barvě; zesvětlením ryzáka vzniká fenotyp gold champagne, hnědák se champagne zesvětlením je amber champagne a champagne na černém podkladu produkuje fenotyp classic champagne. Tento gen se však téměř nevyskytuje u plemen Welsh Pony & Cob. [3]

### **Gen Mu – mushroom**

Zbarvení mushroom bylo nalezeno pouze u zakrslého plemene Shetland Pony a v menší míře i u plemene Miniature Horse. Jedná se o zředění červeného phaeomelaninu, je tak nejvíce patrné na ryzácích. Alela Mu, zodpovědná za sépiové zbarvení těla ryzáků často doprovázené vybělenou hřívou a ocasem (flaxen mane), je recesivní mutací v jednom z pigmentačních genů. Zesvětlený fenotyp budou vykazovat pouze jedinci homozygotní pro alelu Mu (genotyp MuMu). [3]

### **Fenotyp flaxen**

U některých rezavých koní se můžeme setkat s fenotypem flaxen, který se vyznačuje zesvětlenou hřívou a ocasem do krémové až bílé barvy (flaxen mane). Tento jev se vyskytuje pouze u ryzáků. U vraníků a hnědáků se vyskytuje podobný silver fenotyp, ten se však vyznačuje i zesvětlením srsti na těle, navíc silver gen je schopen zředit pouze černý eumelanin, který se u ryzáků netvoří. Dříve se flaxen fenotyp považoval za projev dominantní alely  $F^f$  genu flaxen (F), tato teorie však nebyla na molekulární úrovni potvrzena a nyní se uvažuje i nad možností, že je tento fenotyp podmíněn polygeny (více geny malého účinku). Podle některých studií na koních plemene Morgan se flaxen nejspíš dědí recesivně a může se skrývat i v koních tmavších barev, neboť existují potomci s flaxen fenotypem po černých a hnědých rodičích. Některá plemena jako Haflinger dokonce nesou flaxen zbarvení jako plemenný znak. [10,11]



Obr. 3: Příklad fenotypu flaxen u plemene Welsh Mountain Pony (vlevo) a u plemene Haflinger (vpravo)  
[foto: Ing. Lenka Dušková]

### 2.3.2.3 Geny způsobující depigmentaci

Modifikující účinek na barvu koní mohou mít i geny způsobující depigmentaci (white spotting pattern genes; patterns and depigmentation genes). Tyto geny fungují epistaticky (nadřazeně) nad geny základních i zesvětlených barev. Do této skupiny řadíme i geny projevující se strakatostí srsti v různé míře, geny appaloosa pattern-1 (PATN1), appaloosa spotting (či coat pattern) nebo-li leopard complex (LP), tobiano (TO), sabino 1 (SB1), splashed white (SW1-6) a frame overo, označované také jako lethal white overo (LWO), jelikož jedinci dominantně homozygotní pro lethal white overo (genotyp OO) umírají brzy po narození vlivem narušení funkce trávicí soustavy. [3,6]

Výraznější vliv na chov plemen Welsh pony & Cob mají fenotypy dominant white, roan a gray.

#### Dominant white

Tímto pojmem je označována třída bílých barevných vzorů, u kterých koně s jednou kopií daného genu budou z 50-100% bílí. [6]. V průběhu let byly identifikovány geny W1, W2, W3, W4 (Camarillo white), W5, W6, W7, W8, W9, W10, W11, W13, W20 a W22. Některé z těchto alel byly identifikovány jako spontánní (samovolné) mutace vyskytující se pouze u jediného koně, který zahynul bez potomstva a alela se s ním ztratila. V současné době nabývají největšího chovatelského významu alely W4 (Camarillo white), W5, W10, W20 a W22. Všechny alely dominant white vznikaly mutacemi na genu KIT (receptor tyrosine kinase). KIT gen je klíčový ve tvorbě a vývoji spousty buněčných typů včetně krevních buněk a právě melanocytů. Bílé obrazce v srsti koní tak vznikají absencí těchto melanocytů. U jedinců dominant white dochází i ke ztrátě barvy kůže, která se opticky jeví růžová. Je potvrzeno, že alely W5, W10, W20 a W22 sdílejí společný lokus, alela W4 (camarillo white) se pravděpodobně vyskytuje na odlišném lokusu. [3,6]

### **Alela CW (W4) – cammarillo white**

Tato alela se vyskytuje pouze u plemene Camarillo White Horse, které vyšlechtil Adolfo Camarillo v Californii. Zde zakoupil bílého hřebce Sultana, zřejmě prvního nositele mutantní alely W4. Sultan byl křížen s klisnami plemene morgan za vzniku plemene Camarillo White Horse. Alela CW je dominantní a v heterozygotním stavu (genotyp CWN) způsobuje 100% vybělení celého těla kromě očí, které žádná alela dominant white nevyběluje, jedinci s dominant white tedy nemohou být považováni za pravé albíny. Jedinci dominantně homozygotní (genotyp CWCW) nebyli dosud evidováni, existuje domněnka, že alela CW je v dominantně homozygotním stavu embryonálně letální (jedinci zahynou ve stádiu embrya). [3]

### **Alely W5, W10, W20 a W22**

Tyto alely sdílejí společný lokus. Fenotypové projevy těchto alel a jejich kombinací jsou různorodé od bílých skvrn v srsti až po 100% bílé zbarvení (kromě očí). Alely W5 a W22 se vyskytují zejména u anglických plnokrevníků a jejich kříženců, alela W10 se vyskytuje u plemen Quarter Horse, Appaloosa a některých amerických pony plemen. Alela W20, evolučně mnohem starší než ostatní, se vyskytuje téměř u všech plemen, včetně plemen Welsh Pony & Cob. Jedinci s genotypy W5N W10N a W22N mohou vykazovat různé fenotypy od zvýšeného počtu bílých odznaků na hlavě a nohou až po 100% bílé zbarvení těla. Jedinci homozygotní pro alely W5, W10 a W22 (genotypy W5W5, W10W10 a W22W22) nebyli pozorováni, nejspíš jsou v homozygotním stavu tyto tři alely embryonálně letální. Také existence složených heterozygotů (compound heterozygote) těchto alel není potvrzena (genotypy W5W10, W10W22, W5W22 atd.) Samotná alela W20 nevykazuje takové vybělení jako ostatní alely na téže lokusu. Jedinci heterozygotní i homozygotní pro tuto alelu (genotypy W20N a W20W20) vykazují obecně podobné fenotypy, výrazné odznaky na hlavě a nohou, popřípadě malé množství bílých skvrn po těle. V kombinaci s ostatními alelami (compound heterozygotes; genotypy W20W5, W20W10 a W20W22) má však alela W20 značný zesilující účinek na vybělenou plochu na těle a tyto složení heterozygoti jsou zpravidla celí bílí. [3]

### **Gen Rn – (classic) roan**

Jedinci fenotypu roan mají v srsti základní barvy vmíchány bílé chlupy. Hlava, hřívá, ocas a dolní část končetin zůstává v podkladové barvě. Roan koně mají tento fenotyp patrný až po prvním přelínání. Bílé chlupy jsou u fenotypu classic roan vmíchány v srsti víceméně rovnoměrně, což ho odlišuje od velice podobného vzoru zvaného roaning. U roangu jsou bílé chlupy rozmístěny nepravidelně a dědičnost tohoto fenoménu zatím nebyla zjištěna. Alela fenotypu classic roan (Rn) je dominantní. Heterozygoti (genotyp RnN) a dominantní homozygoti (RnRn) budou vykazovat roan zbarvení. Dřívější studie a pozorování nahrávaly embryonální letalitu alely Rn v dominantně homozygotním stavu (genotyp RnRn), nicméně jsou v současnosti potvrzené i případy živých koní plemene Quarter

Horse s oběma kopiemi tohoto genu. Přesná lokace mutace genu Rn nebyla zatím nalezena, pravděpodobně se bude nacházet na již zmíněném genu KIT, popřípadě v jeho blízkosti. To by mohlo mít za následek embryonální letalitu většiny homozygotních jedinců. [3]



Obr. 4: Příklad fenotypu red roan u plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková]

## Gen G – gray

Gen gray způsobuje postupné vybělování u koní, jejichž srst je časem zcela bílá (tito jedinci jsou lidově označováni jako „šimlové“). Kůže těchto koní však zůstává pigmentovaná (na rozdíl od dominant white). Toto postupné vybělování srsti je patrné zpravidla již od prvního přelínání příslušného hříbete (první výměně srsti – kolem 2. měsíce života) a nemá u všech koní stejný průběh. Koně zbarvení gray mohou během svého života vystřídat řadu fenotypů (např. rose gray, steel gray či dapple gray = tzv. grošování), které se mohou jedinec od jedince lišit. Hříbata se tedy nenarodí bílá, což často znemožňuje některým chovatelům bezpečné určení genotypu jedince na základě jeho fenotypu po narození. Zbarvení gray je způsobeno mutací v intronu 6 genu STX17 (syntaxin 17; podrobněji viz kap. 2.4). Gen G je považován za úplně dominantní gen. Srst jedinců s alespoň jednou kopií alely G (genotypy GG a Gg) bude s věkem postupně vybělovat až do bílé. [3]

Tato práce nicméně nabídne pohled na některé jevy doprovázející fenotyp gray s možným semidominantním chováním (barva po narození, zbarvení flea-bitten, vitiligo či postup vybělování), který by mohl přinést snazší identifikaci alelismu genu G zejména u plemen Welsh Pony & Cob bez potřeby genetického testování.



Obr. 5: Příklad jedinců fenotypu gray v různých stádiích vybělování (vlevo) a plně vyběleného jedince (vpravo) plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková]

## 2.4 Molekulární podstata zbarvení gray

Vybělování koní je autozomální znak (jeho gen je přítomen na nepohlavním chromozómu, nebo-li autozómu) způsobený mutantní alelou G (gray). Hříbata jedinců barvy gray se rodí se zbarvenou srstí, která ztrácí pigmentaci až s postupem věku. Kůže těchto koní však zůstává plně pigmentována po celý jejich život. [3]. Tento fakt dlouho znemožňoval logické objasnění tohoto fenoménu.

Roku 2008 byl proveden výzkum na univerzitě ve švédském městě Uppsala [12,13], který tuto problematiku objasnil. Mutace způsobující zbarvení gray byla lokalizována a identifikována jako duplikace (zdvojení) 4,6 kilobází (tisíců nukleotidových bází v rámci DNA) intronu 6 genu STX17 (syntaxin 17). Tato duplikace způsobuje nadměrnou produkci melanocytů (buněk produkujících pigment), což vede k tmavému zbarvení kůže. Kůže jedinců s fenotypem gray je vlivem nadměrného výskytu pigmentu tmavší a silnější než u ostatních zbarvení, na druhou stranu i více náchylná k melanomům (na rozdíl od lidského melanomu nezhoubný kožní nádor). I ve folikulech chlupů srsti dochází k nadprodukcí melanocytů, nicméně na rozdíl od dermálních (kožních) melanocytů tyto buňky hynou ihned po dokončení syntézy pigmentu srsti apoptózou (programovanou buněčnou smrtí). Během růstu nové srsti jsou nové melanocyty folikulů doplněny ze zásob kmenových buněk. Vlivem nadměrného množení melanocytů v důsledku duplikace STX17 postupně dochází k vyčerpání veškerých melanocytů a k následné ztrátě pigmentu v srsti, což vede k typické bílé podobě fenotypu gray. Kůže zůstává zcela pigmentována v důsledku delšího životního cyklu dermálních melanocytů. [12,13]



## **3 MATERIÁL A METODY**

### **3.1 Pozorování jedinci**

Ve výzkumu bylo pozorováno 49 jedinců druhu *Equus caballus* plemene Welsh Mountain Pony (Velšský horský pony – sekce A) pocházejících z České republiky, Nizozemí a Spojeného království Velké Británie a Severního Irska narozených v letech 1990 až 2020, z toho 28 hřebců (popřípadě valachů) a 21 klisen.

V rámci výzkumu byl pomocí níže uvedených postupů (viz kap. 2.2) určen alelismus daných jedinců pro gen G (gray). Na základě toho bylo zařazeno 6 jedinců do kategorie GG (dominantní homozygoti), 23 jedinců do kategorie Gg (heterozygoti), 8 jedinců do kategorie gg (recesivní homozygoti) a 12 jedinců do kategorie G-, jejichž genotyp se nepodařilo pomocí níže popsanych postupů jednoznačně prokázat.

Z vybraných zvířat bylo 45 jedinců použito ve výzkumu závislosti barvy po narození na alele G (u zbylých jedinců nebyl dohledán dostatečně průkazný materiál zobrazující barvu po narození). V oblasti výzkumu závislosti postupu vybělování na alele G bylo pozorováno 39 koní (zbylí jedinci byli genotypu gg, v době výzkumu práce nedosáhli požadovaného věku nebo u nich nebyl dohledán dostatečně průkazný materiál určující postup vybělování) a u 30 zvířat byla zkoumána závislost zbarvení flea-bitten a vitiliga na alele G (zbylí jedinci byli genotypu gg, v době výzkumu práce nedosáhli požadovaného věku nebo u nich nebyl dohledán dostatečně průkazný materiál potvrzující či vyvracející výskyt vitiliga a zbarvení flea-bitten).

### **3.2 Určování alelismu pro gen G u vybraných jedinců**

Pro správné vyhodnocení této práce je stěžejní znalost alelismu jednotlivých pozorovaných zvířat na alelu G genu gray. Při určování alelismu pro gen G bylo užito základních Mendelovských principů dědičnosti a objasněných vlastností alely G. Mutantní alela G způsobující postupné vybělování srsti se dědí úplně dominantně, postupné vybělování srsti je tak patrné jak u dominantních homozygotů (GG), tak u heterozygotů (Gg). Recesivní homozygoti (gg) nevykazují fenotyp gray (podrobněji viz kap. 2.3 a 2.4).

#### **3.2.1 Určení genotypu gg (recesivní homozygot)**

Recesivní homozygoti pro gen G nebudou vykazovat fenotyp gray, který je u plemen Welsh Pony & Cob zpravidla prokazatelný již při prvním přelínání (první výměně srsti – kolem 2. měsíce života). Genotyp gg je tak prokazatelný od raného věku na základě

fenotypu jednice (po prvním přelínání na něm nejsou patrné známky vybělování srsti). U některých jedinců lze genotyp  $gg$  jednoznačně prokázat pomocí genotypu rodičů za předpokladu, že oba byli též recesivní homozygoti  $gg$ .

### **3.2.2 Určení genotypu $Gg$ (heterozygot)**

Základním předpokladem pro potvrzení genotypu  $Gg$  je fakt, že jedinec tohoto genotypu vykazuje fenotyp gray (při prvním přelínání jsou patrné známky vybělování). V některých případech jednoznačné odlišení genotypu  $Gg$  (heterozygot) od genotypu  $GG$  (dominantní homozygot) poskytuje:

#### **Testování v genetické laboratoři**

Testování zvířete v genetické laboratoři je pravděpodobně nejspolehlivějším (nicméně i nejnákladnějším) způsobem, jak jednoznačně zjistit alelismus pro daný gen. Bohužel, žádný z pozorovaných jedinců nemá pozitivní výsledek testu pro genotyp  $Gg$ .

#### **Genotyp rodičů**

Heterozygot pro alelu  $G$  je jednoznačně prokazatelný na základě jeho původu, pokud samotný jedinec vykazuje fenotyp gray a zároveň je jeden z jeho rodičů recesivní homozygot (genotyp  $gg$ ). Potom by alespoň jedna z gamet prokazatelně přenesla na potomka recesivní alelu  $g$ . Výskyt dominantní alely  $G$  je patrný z fenotypu gray (a tedy i z genotypu druhého rodiče  $G-$ , kde pomlčka označuje libovolnou alelu daného genu bez vlivu na daný fenotyp).

#### **Fenotyp potomstva**

Genotyp  $Gg$  je jednoznačně prokazatelný na základě fenotypu potomstva, jestliže daný jedinec vykazuje fenotyp gray a zároveň má alespoň jednoho barevného potomka (genotypu  $gg$ ). Jedna ze dvou recesivních alel  $g$  potomka musela být prokazatelně dle základních Mendelovských principů dědičnosti přenesena z gamety daného jedince (jedinec tedy musí být genotypu  $Gg$ ).

### **3.2.3 Určení genotypu $GG$ (dominantní homozygot)**

Základním předpokladem pro potvrzení genotypu  $GG$  je fakt, že jedinec jednoho z těchto genotypů vykazuje fenotyp gray (při prvním přelínání jsou patrné známky vybělování). V některých případech jednoznačné odlišení genotypu  $Gg$  (heterozygot) od genotypu  $GG$  (dominantní homozygot) poskytuje:

## **Testování v genetické laboratoři**

Testování zvířete v genetické laboratoři je pravděpodobně nejspolehlivějším (nicméně i nejnákladnějším) způsobem, jak jednoznačně zjistit alelismus pro daný gen. Jeden z pozorovaných jedinců je prokázán dominantní homozygot na základě genetického testu.

### **Genotyp rodičů**

Dominantně homozygotní genotyp GG je jednoznačně prokazatelný na základě genotypu rodičů pouze tehdy, jsou-li oba rodiče daného jedince dominantní homozygoti pro gen G.

### **Fenotyp potomstva**

Genotyp GG je víceméně prokazatelný na základě fenotypu potomstva, pokud všichni potomci daného jedince jsou bílí (vykazují fenotyp gray). Pro zvýšení přesnosti výzkumu a současného částečného vyloučení díla náhody byl stanoven určitý počet potomků pro jednoznačné prokázání dominantní homozygotnosti pro gen G. Na základě tohoto počtu budou za dominantní homozygoty GG považováni i jinak neprůkazní jedinci, kteří měli alespoň 4 potomky, z nichž všichni vykazují fenotyp gray.

Na základě těchto informací byli všichni pozorovaní jedinci rozděleni do kategorií: gg (recesivní homozygoti), Gg (heterozygoti), GG (dominantní homozygoti) a G- (jedinci vykazující fenotyp gray, jejichž alelismus nelze jednoznačně prokázat podle výše popsaných principů).

## **3.3 Stanovení fenotypových stupňů u jednotlivých jevů**

Pro zvýšení přehlednosti výzkumu byly vymezeny u jednotlivých pozorovaných jevů tzv. fenotypové stupně. Tyto stupně jsou vymezeny na základě fenotypových projevů u pozorovaných vlastností, přesněji na základě jejich druhu či míry projevu (viz kapitola 4).

## **3.4 Přiřazení fenotypových stupňů u jednotlivých znaků**

Fenotypové stupně daných znaků byly k jednotlivým koním přiřazeny na základě informací a poznatků získaných přímým pozorováním těchto zvířat (respektive jejich fenotypových znaků), z fotografického materiálu poskytnutého chovateli nebo současnými majiteli, popřípadě ze slovního popisu chovatelů nebo současných majitelů.

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Barva po narození

#### 4.1.1 Charakteristika barvy po narození

Typickým projevem alely gray je postupné vybělování jedince s věkem. Kůň fenotypu gray tak není bílý již od narození a zbarvení čerstvě narozených gray zvířat se může značně lišit. Vzhled hříbete velkou měrou závisí na podkladové barvě (barvě, kterou by kůň měl bez vlivu alely gray) a nejspíš právě na alelismu genu gray.

#### 4.1.2 Stanovení fenotypových stupňů u barvy po narození

**Stupeň -1 (juvenilní zbarvení)** – jedinec vykazuje po narození tzv. juvenilní (mladistvé) zbarvení; kůň má barvu srsti světlejší než je barva dospělé příslušné podkladové barvy doprovázenou krémově zabarvenou spodní částí těla; tato krémově zabarvená část zvířete není ostře ohraničena (zesvětlená podkladová barva se u nohou postupně mění v krémovou); u čerstvě narozených hříbat s tímto zbarvením je obtížné jednoznačně odlišit odznaky na nohou (pokud nedosahují nad hranici mezi krémovou a barevnou srstí)

**Stupeň 0 (adultní zbarvení)** – jedinec vykazuje po narození zbarvení téměř identické adultnímu (dospělému) zbarvení příslušné podkladové barvy; kůň má snadno rozlišitelné a ostře ohraničené odznaky na nohou (pokud nějaké má)

**Stupeň 1 (ztmavené zbarvení)** – jedinec vykazuje tmavší odstín, který může již po narození zcela potlačit podkladovou barvu příslušného dospělého; kůň má snadno rozlišitelné a ostře ohraničené odznaky na nohou (pokud nějaké má)

Stupeň -1



Stupeň 0



Stupeň 1

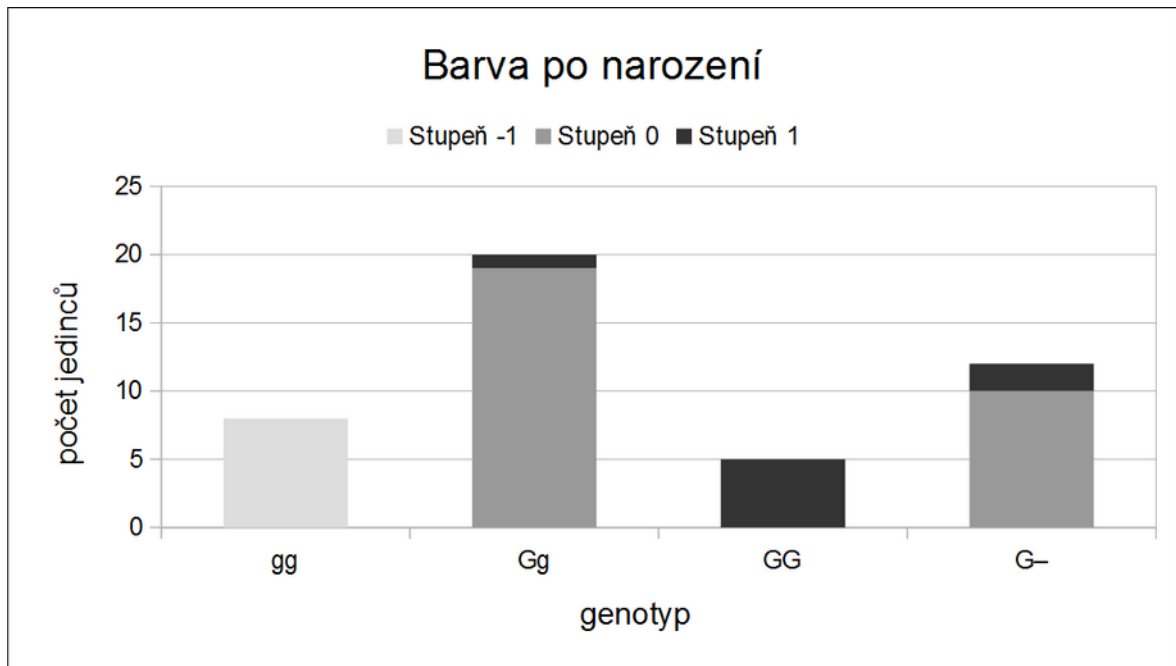


Obr. 6: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku barva po narození u jedinců hnědé barvy (genotyp E- A-) [foto: Ing. Lenka Dušková]

### 4.1.3 Závislost barvy po narození na alelismu genu gray

V oblasti výzkumu závislosti barvy po narození na alele G bylo pozorováno 45 jedinců genotypových kategorií GG (dominantní homozygoti; 5 jedinců), Gg (heterozygoti; 20 jedinců), G- (jedinci neobjasněného genotypu; 12 jedinců) včetně kategorie gg (recesivní homozygoti; 8 jedinců), která poskytuje i porovnání barev po narození u jedinců nevykazujících fenotyp gray. Zbarvení zvířat bylo pozorováno těsně po narození jedinců, tedy přímo v den narození daných hříbat.

Z 5 jedinců genotypu GG byl všem 5 přiřazen fenotypový stupeň 1 (ztmavené zbarvení). Z 20 heterozygotních zvířat (genotyp Gg) byl 19 hříbatům přiřazen fenotypový stupeň 0 (adultní zbarvení) a 1 hříběti fenotypový stupeň 1 (ztmavené zbarvení). Z 8 koní genotypu gg byl všem 8 přiřazen fenotypový stupeň -1 (juvenilní zbarvení). Z 12 jedinců nepotvrzeného genotypu (kategorie G-) byl 10 jedincům přiřazen fenotypový stupeň 0 (adultní zbarvení) a 2 fenotypový stupeň 1 (ztmavené zbarvení).



Obr. 7: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku barva po narození [autorem grafu je autor práce]

Na základě těchto výsledků lze usuzovat, že pro jedince dominantně homozygotní pro alelu G genu gray (GG) je typický ztmavený fenotyp (stupeň 1) těsně po narození (100 % zkoumaných jedinců kategorie GG). Hříbata heterozygotní pro alelu G mají zpravidla adultní fenotyp (stupeň 0) po narození (95 % zkoumaných jedinců kategorie Gg) a recesivně homozygotní koně (gg) vykazují po narození juvenilní fenotyp (stupeň -1; 100 % zkoumaných jedinců kategorie gg).

Tato variace ve zbarvení hříbat by zřejmě mohla souviset právě s alelovým zastoupením genu G. Jedinci dominantně homozygotního genotypu GG produkují (důsledkem duplikace 4,6 tisíců nukleotidových bází v rámci DNA intronu 6 genu STX17 viz kap. 2.4) ve folikulech chlupů tolik pigmentu, že už po narození se jeví jejich srst jako velmi tmavá, dominantní homozygoti také vybělují značně rychleji než heterozygoti, jelikož dochází k rychlejší spotřebě kmenových buněk (tito jedinci nesou duplikaci v STX17 na obou homolozích – chromozomech daného páru – jejich genom obsahuje danou sekvenci tedy celkem čtyřikrát). Naopak u recesivních homozygotů (kteří nevykazují fenotyp gray) se srst zbarvuje postupně do základní barvy příslušného dospělého jedince, přičemž nedochází k nadměrnému množení melanocytů a k následnému předčasnému vyčerpání příslušných kmenových buněk (doprovázené postupným vybělováním srsti). [12]

## **4.2 Postup vybělování**

### **4.2.1 Charakteristika postupu vybělování**

U jedinců zbarvení gray dochází k postupnému vybělování barevných chlupů na bílé. U plemen Welsh Pony & Cob tento proces zpravidla začíná při prvním přelínání (první výměně srsti – kolem 2. měsíce života) na čele a kolem očních oblouků. Jedinci se v různém věku liší počtem a rozložením šedých či bílých chlupů na těle. Koně zbarvení gray tak mohou v průběhu vybělování nést velké množství různorodých fenotypů od barvy po narození až do zcela bílé (např. dark gray, steel gray, rose gray či dapple gray = tzv. grošování, které se také může jedinec od jedince značně lišit). Složitost procesu vybělování v srsti jako takové činí tento fenomén velmi obtížně zkoumatelným. Je však možné bez větších potíží pozorovat rychlost vybělování žíní hřívy a ocasu v porovnání se srstí na zbytku těla, respektive sledovat jejich kontrast.

#### 4.2.2 Stanovení fenotypových stupňů u postupu vybělování

**Stupeň -1 (vyběluje dříve hříva)** – hříva a ocas jedince vybělují výrazně rychleji než zbytek těla; v průběhu vybělování pozorovatelný fenotyp bílé hřívy a ocasu s černým až šedým zbytkem těla

**Stupeň 0 (vyběluje rovnoměrně)** – hříva, ocas i zbytek těla vybělují přibližně stejnou rychlostí; v průběhu vybělování není významně patrný rozdíl mezi hřívou a ocasem v porovnání se zbytkem těla

**Stupeň 1 (vyběluje dříve tělo)** – srst na těle vyběluje výrazně rychleji než hříva a ocas; v průběhu vybělování pozorovatelný fenotyp černé až šedé hřívy s ocasem a světle šedým až bílým zbytkem těla

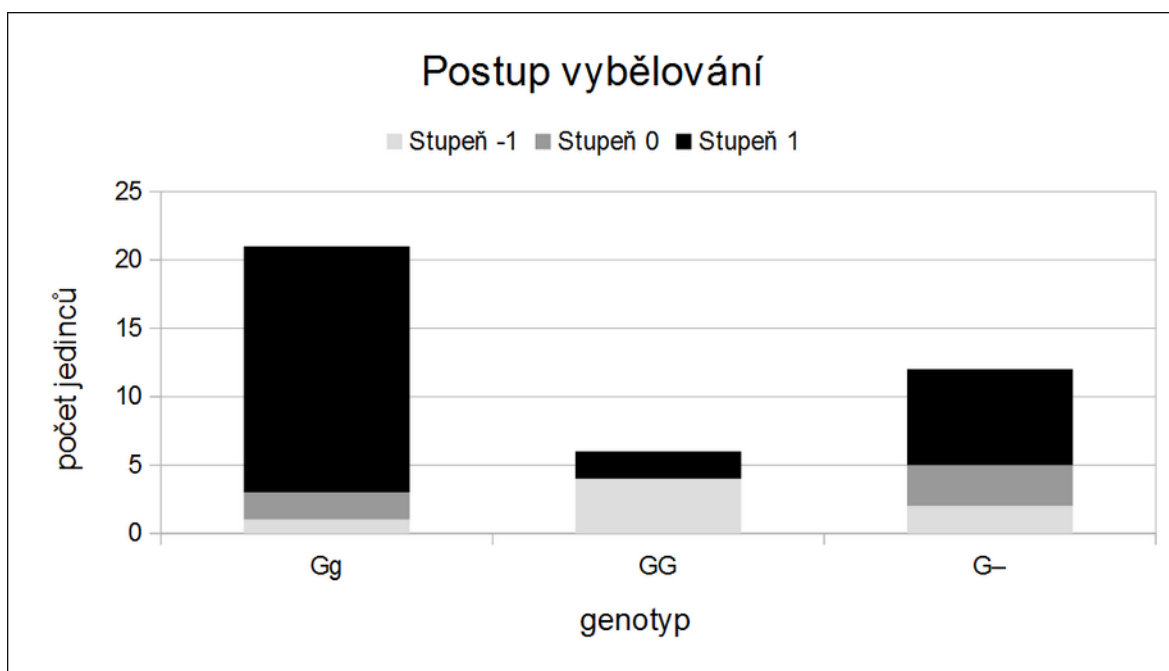


Obr. 8: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku postup vybělování [foto: Ing. Lenka Dušková]

#### 4.2.3 Závislost postupu vybělování na alelismu genu gray

Pro zjištění závislosti postupu vybělování na alele G genu gray bylo zkoumáno 39 zvířat genotypových kategorií GG (dominantní homozygoti; 6 jedinců), Gg (heterozygoti; 21 jedinců) a G- (jedinci neobjasněného genotypu; 12 jedinců). U jedinců genotypu gg (recesivní homozygoti nevykazující fenotyp gray) není postup vybělování pozorovatelný. Postup vybělování byl pozorován v časovém horizontu od 0,5 roku až do 2 let věku daných zvířat (v tomto časovém rozpětí je postup vybělování nejvýraznější).

Z 6 jedinců genotypu GG byl 4 přidělen fenotypový stupeň -1 (vyběluje dříve hříva) a 2 fenotypový stupeň 1 (vyběluje dříve tělo). Z 21 heterozygotních koní byl 1 přiřazen fenotypový stupeň -1 (vyběluje dříve hříva), 2 koním byl přiřazen stupeň 0 (vyběluje rovnoměrně) a 18 heterozygotním jedincům byl přiřazen stupeň 1 (vyběluje dříve srst). Z 12 jedinců neobjasněného genotypu (kategorie G-) byl 2 přiřazen stupeň -1 (vyběluje dříve hříva), 3 zvířatům byl přidělen stupeň 0 (vyběluje rovnoměrně) a 7 stupeň 1 (vyběluje dříve tělo).



Obr. 9: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku postup vybělování [autorem grafu je autor práce]

Z těchto výsledků lze usuzovat, že pro jedince heterozygotní pro alelu G je typické rychlejší vybělování srsti na těle oproti hřívě a ocasu (fenotypový stupeň 1; přibližně 85,71 % zkoumaných jedinců genotypu Gg). U jedinců dominantně homozygotních převažuje stupeň -1 (hříva a ocas vybělují dříve než tělo; 66,67 % zkoumaných jedinců genotypu GG), nicméně tato převaha není tak výrazná (pravděpodobně vzhledem k nepříliš velkému počtu zkoumaných dominantně homozygotních jedinců současně s možnou interakcí jiných genetických či negenetických faktorů).

## 4.3 Zbarvení flea-bitten

### 4.3.1 Charakteristika zbarvení flea-bitten

Někteří jedinci zbarvení gray vykazují fenotyp známý jako flea-bitten („pokousaný mouchami“). U koní tohoto fenotypu se v bílé srsti v různé míře objevují tečky v podkladové barvě. Tento tzv. speckling se objevuje přibližně kolem 5. roku života a s rostoucím věkem se počet teček v srsti zvyšuje. U některých plemen se můžeme setkat i s pojmy „blood marks“ či „blood shoulder“, jedná se o celé skvrny srsti v podkladové barvě, které se nachází zpravidla v oblasti plecí. U plemen Welsh Pony & Cob se však většinou setkáme pouze s fenotypem flea-bitten. Zajímavé však je, že chlupy jedinců těchto fenotypů nejprve vybělí a až v šedé či bílé srsti se začne postupně objevovat speckling (respektive blood marks) v podkladové barvě, čímž se zvířeti částečně navrací původní zbarvení.



### 4.3.2 Stanovení fenotypových stupňů u zbarvení flea-bitten

**Stupeň 0 (žádný speckling)** – srst neobsahuje speckling v žádném rozsahu

**Stupeň 1 (mírný speckling)** – srst obsahuje speckling v malém rozsahu v podobě sporadicky se vyskytujících ložisek; speckling se zdaleka nevyskytuje na celém povrchu těla

**Stupeň 2 (výrazný speckling)** – srst obsahuje výrazný speckling na téměř celém povrchu těla

Stupeň 0

Stupeň 1

Stupeň 2

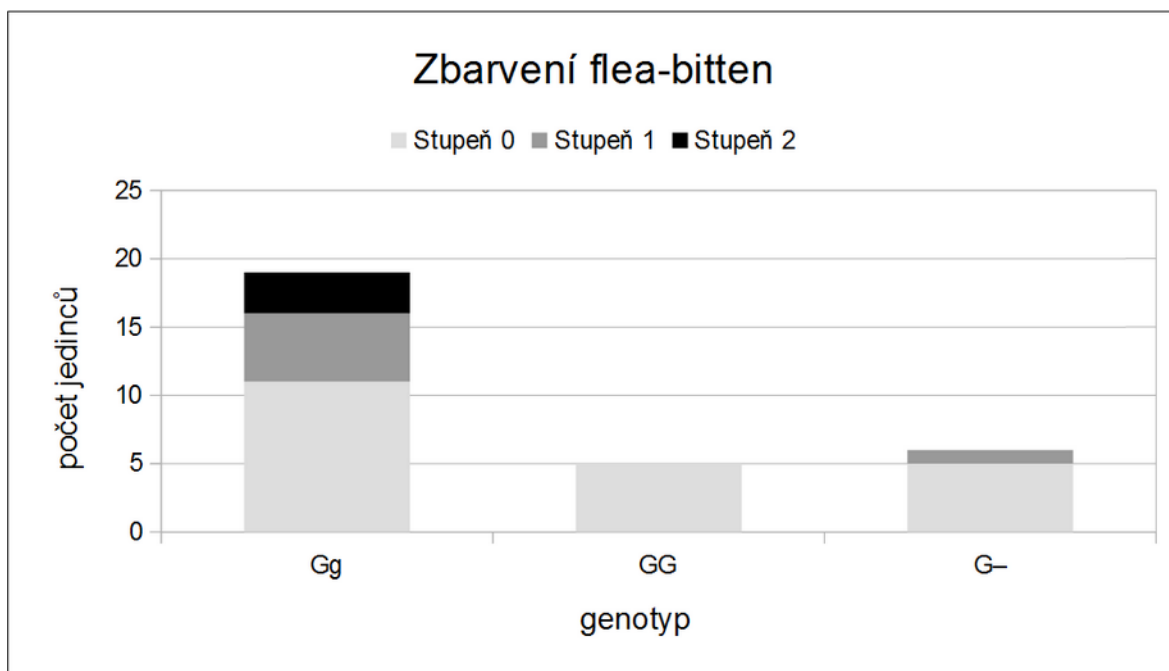


Obr. 10: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku zbarvení flea-bitten [foto: Ing. Lenka Dušková]

### 4.3.3 Závislost zbarvení flea-bitten na alelismu genu gray

V oblasti výzkumu závislosti zbarvení flea-bitten na alele G genu gray bylo pozorováno 30 koní genotypových kategorií GG (dominantní homozygoti; 5 jedinců), Gg (heterozygoti; 19 jedinců) a G- (jedinci nepotvrzeného genotypu; 6 jedinců). U jedinců genotypu gg (recesivní homozygoti nevykazující fenotyp gray) není zbarvení flea-bitten pozorovatelné. Zbarvení flea-bitten bylo zkoumáno v časovém horizontu od 5 let věku daných zvířat výš (zbarvení flea-bitten zpravidla nebývá patrné dříve).

Z 5 koní genotypu GG byl všem 5 přiřazen fenotypový stupeň 0 (žádný speckling). Z 19 heterozygotních jedinců byl 11 koním přiřazen stupeň 0 (žádný speckling), 5 zvířatům byl přiřazen stupeň 1 (mírný speckling) a 3 jedincům stupeň 2 (výrazný speckling). Z 6 jedinců genotypové kategorie G- (koně nepotvrzeného genotypu) byl 5 přiřazen fenotypový stupeň 0 (žádný speckling) a 1 stupeň 1 (mírný speckling).



Obr. 11: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku zbarvení flea-bitten [autorem grafu je autor práce]

V tomto výzkumu tedy nebyl na žádném dominantně homozygotním zvířeti (GG) patrný speckling v jakémkoli rozsahu (stupeň 0). Mohli bychom proto usuzovat, že zbarvení flea-bitten je zpravidla výsadou heterozygotů pro alelu G (genotyp Gg), jelikož 100 % jedinců vykazujících speckling v jakémkoli rozsahu je genotypu Gg. Na druhou stranu nelze prokázat, že každý heterozygot pro alelu G bude vykazovat speckling (ze zkoumaných jedinců genotypu Gg přibližně 57,89 % jedinců nevykazuje speckling v žádném rozsahu, přibližně 26,32 % jedinců vykazuje mírný speckling stupně 1 a přibližně 15,79 % jedinců vykazuje speckling stupně 2).

Zbarvení flea-bitten nebylo zatím zcela objasněno na molekulární úrovni, nicméně nabízí se zde možnost určité deaktivace (či dokonce ztráty) alely G v některých somatických buňkách, v nichž se opětovně vyskytují melanocyty folikulů chlupů spolu s původním pigmentem. To by nasvědčovalo i domněnce výskytu specklingu zejména u heterozygotů pro gen gray (deaktivace jedné alely je pravděpodobnější a snazší než deaktivace dvou alel). [12]

## 4.4 Vitiligo

### 4.4.1 Charakteristika vitiliga

Alela gray s sebou může nést i tzv. „vitiligo-like depigmentation“ (depigmentace podobná vitiligu – ztráta zbarvení kůže, zejména v oblasti nozder, očí a genitálií, která se rozšiřuje s věkem), pro zjednodušení v práci označované pouze jako „vitiligo“. Tento fenomén se může objevit u některých jedinců kolem 5. roku života. V porovnání s odznaky na hlavě zpravidla nemá vitiligo souvislou lineární hranici a s věkem roste vzhledem k tělu koně, zatímco skutečné odznaky vzhledem k tělu koně nemění velikost.

### 4.4.2 Stanovení fenotypových stupňů u vitiliga

**Stupeň 0 (žádné vitiligo)** – na jedinci není patrné vitiligo v žádném rozsahu

**Stupeň 1 (mírné vitiligo)** – na jedinci jsou patrné známky depigmentace na místech dříve prokazatelně pigmentovaných

**Stupeň 2 (výrazné vitiligo)** – na jedinci je patrné výrazně vyvinuté vitiligo zpravidla na více místech současně

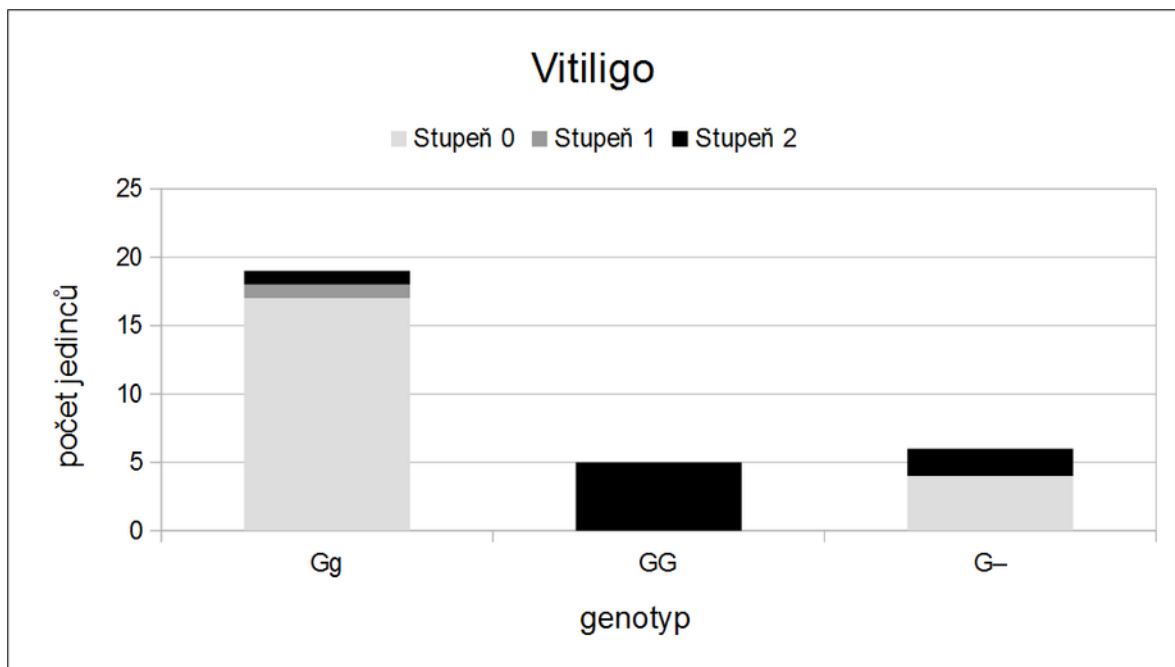


Obr. 12: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku vitiligo; u stupně 0 není patrné žádné vitiligo (růžová skvrna zde představuje pouze ostře ohraničený vrozený odznak, který se s věkem nerozšiřuje); u stupně 1 je v tomto případě počínající vitiligo patrné zejména na pyscích; stupeň 2 představuje již výrazně rozvinuté vitiligo v okolí celého odznaku, charakteristické s věkem se rozšiřujícími nepravidelnými okraji [foto: Ing. Lenka Dušková]

### 4.4.3 Závislost vitiliga na alelismu genu gray

U sledování závislosti vitiliga na alele G genu gray bylo zkoumáno 30 jedinců genotypových kategorií GG (dominantní homozygoti; 5 jedinců), Gg (heterozygoti; 19 jedinců) a G- (jedinci nepotvrzeného genotypu; 6 jedinců). U jedinců genotypu gg (recesivní homozygoti nevykazující fenotyp gray) není vitiligo významné v kontextu této práce. Vitiligo bylo zkoumáno v časovém horizontu od 5 let věku daných zvířat výš (tento fenomén zpravidla nebývá patrný dříve).

Z 5 zvířat genotypu GG byl všem 5 přiřazen fenotypový stupeň 2 (výrazné vitiligo). Z 19 heterozygotních koní byl 17 přiřazen fenotypový stupeň 0 (žádné vitiligo), fenotypové stupně 1 a 2 (mírné a výrazné vitiligo) byly zastoupeny každý 1 zvířetem. Z 6 jedinců neprokázaného genotypu (kategorie G-) byl 4 koním přiřazen stupeň 0 (žádné vitiligo) a zbylým 2 přiřazen stupeň 2 (výrazné vitiligo).



Obr. 13: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku vitiligo [autorem grafu je autor práce]

S přihlédnutím k těmto poznatkům lze usuzovat, že výskyt vitiliga je velmi frekventovaný u dominantních homozygotů (100 % zkoumaných jedinců genotypu GG vykazovalo stupeň 2 výskytu vitiliga), nicméně výskyt vitiliga jako takového nutně nemusí znamenat dominantní homozygotnost alely G (přibližně 22,22 % zkoumaných jedinců s patrným vitiligem v jakémkoli rozsahu byli heterozygoti pro alelu G). V tomto směru je však také nutno podotknout, že se nemusí jednat o „vitiligo-like depigmentation“ spojenou

s alelou G, nýbrž o vitiligo způsobené jinými faktory. Navíc se lze často setkat s případy, kdy se vitiligo projeví v relativně vysokém věku nehledě na genotyp zvířete (u obou heterozygotních jedinců fenotypových stupňů 1 až 2 bylo vitiligo pozorováno po 15 letech věku daných zvířat).

## 4.5 Melanomy

Vzhledem k nedostatečným materiálním možnostem středoškolského studenta nebylo sebráno dostatečně průkazné množství podkladů pro výzkum závislosti výskytu melanomů na alele G genu gray, přestože bylo několik jedinců s melanomy ve výzkumu zastoupeno. Nicméně vzhledem k významu melanomů v problematice této práce byly alespoň okrajově zmíněny:

Zvířata nesoucí mutantní alelu G mohou zejména v pokročilém věku trpět na melanomy (na rozdíl od lidských melanomů nezhoubné kožní nádory). Tvorba melanomů podle nedávných studií [14] přímo souvisí s duplikací části genu STX17. Tato výše zmíněná duplikace má za následek zvýšenou expresi genů STX17 a NR4A3 (Nuclear Receptor Subfamily 4, group A, member 3), která se s rostoucím počtem kopií mutantní alely G zvyšuje. Zvýšená exprese genů STX17 a NR4A3 vlivem mutantní alely G by vysvětlovala častější výskyt melanomů u dominantních homozygotů, v jejichž nádorových buňkách melanomů bylo nalezeno až osm kopií oné duplikované sekvence. [14]

## 4.6 Genotypová kategorie G-

Součástí výzkumu v této práci bylo i 12 jedinců vykazujících fenotyp gray, jejichž genovou výbavu nebylo možné podle principů a postupů popsaných v kapitole 3.2 jednoznačně prokázat. Nicméně na základě poznatků z výzkumu závislosti jednotlivých fenotypových projevů na alele G lze jejich genotyp alespoň odhadnout:

U 6 jedinců kategorie G- byly pozorovány všechny zkoumané fenotypové projevy (barva po narození, postup vybělování, zbarvení flea-bitten a vitiligo).

U 2 koní byla v hodnotách těchto znaků následující shoda:

- barva po narození – stupeň 1 (ztmavené zbarvení)
- postup vybělování – stupeň -1 (vyběluje dříve hřívá)
- zbarvení flea-bitten – stupeň 0 (žádný speckling)
- vitiligo – stupeň 2 (výrazné vitiligo)

Všechny tyto hodnoty nasvědčují u této dvojice genové výbavě dominantního homozygota (genotyp GG)

U dalších 4 jedinců byla v hodnotách pozorovaných znaků následující shoda:

- barva po narození – stupeň 0 (adultní zbarvení)
- postup vybělování – stupeň 1 (vyběluje dříve tělo)
- vitiligo – stupeň 0 (žádné vitiligo)
- jednomu z této čtveřice byl pro zbarvení flea-bitten přiřazen stupeň 1 (mírný speckling), u ostatních se speckling nevyskytoval v žádné míře (stupeň 0)

Tyto hodnoty by naopak nasvědčovaly genotypu Gg (heterozygot)

U zbylých 6 zvířat kategorie G- byly zkoumány pouze 2 znaky (barva po narození a postup vybělování). Těmto 6 koním byl přiřazen pro barvu po narození fenotypový stupeň 0 (adultní zbarvení), fenotypový projev postup vybělování byl zastoupen 3 jedinci stupně 0 (vyběluje rovnoměrně) a 3 jedinci stupně 1 (vyběluje dříve tělo).

Na základě těchto hodnot bychom těchto 6 jedinců mohli považovat za heterozygoty pro alelu G.

Tímto způsobem lze u genotypové kategorie G- o 12 koních využitím poznatků z tohoto výzkumu odhadnout genotyp 2 z nich jako dominantně homozygotní (genotyp GG) a 10 z nich jako heterozygotní (Gg). Takto lze odhadnout alelismus pro gen G (gray) na základě fenotypu jedince bez nutnosti genetického testu, a to dokonce i u čerstvě narozených hříbat na základě jejich zbarvení. Tato metoda však není zcela 100%, měla by sloužit spíše jako orientační odhad či jako doplňková metoda při určování genotypu jedince.

## 5 DISKUZE

Vzhledem k získaným výsledkům lze prokázat semidominanci barvy po narození v závislosti na alele G. Všichni zkoumaní jedinci dominantně homozygotního genotypu GG vykazovali fenotypový stupeň 1 pro barvu po narození (ztmavené zbarvení) a všem jedincům recesivně homozygotního genotypu gg (zařazených do výzkumu pro porovnání barev po narození i s jedinci, kteří nevykazují fenotyp gray) byl přiřazen stupeň -1 (juvenilní zbarvení). U drtivé většiny heterozygotů Gg (95 %) byl pozorován stupeň 0 (adultní zbarvení).

Tyto výsledky jsou podpořeny studiemi ze švédské Uppsaly [12], které naznačují, že před samotnou ztrátou pigmentu v chlupech dochází k nadprodukci melanocytů (spolu s pigmentem), která se projevuje tmavým zabarvením srsti. V důsledku přílišné produkce pigmentu jsou předčasně vyčerpány zásoby kmenových buněk melanocytů folikulu chlupů, čímž dochází k postupné depigmentaci chlupů v srsti. Tato nadprodukce melanocytů je výraznější u dominantních homozygotů, protože tito jedinci nesou mutantní duplikaci genu STX17 na obou alelách. Srst je tak již bezprostředně po narození velmi tmavá. [12]

Zařazení zbytku heterozygotních jedinců Gg (5 %) k fenotypovému stupni 1 (ztmavené zbarvení) nejpravděpodobněji souvisí přímo s podkladovou barvou jedince. Například adultní zbarvení hříbete černé barvy vykazuje podobné rysy jako fenotypový stupeň 1 (ztmavené zbarvení).

S přihlédnutím k výsledkům v oblasti postupu vybělování lze předpokládat semidominantní chování postupu vybělování v závislosti na alele G. V porovnání s barvou po narození však tato oblast provedeného výzkumu neukazuje tak výraznou převahu určitého fenotypového stupně v rámci jednotlivých genotypových kategorií. Dvě třetiny dominantně homozygotních jedinců GG vykazovaly fenotypový stupeň -1 (vyběluje dříve hříva) a většinu heterozygotním jedincům (85,71 %) byl přiřazen stupeň 1 (vyběluje dříve tělo).

Lze tak předpokládat, že pro jedince s jedinou mutantní alelou G (genotyp Gg) je typické rychlejší vybělování srsti na těle (fenotypový stupeň 1) a pro jedince s oběma mutantními alelami G (genotyp GG) rychlejší vybělování hřívy s ocasem (fenotypový stupeň -1). Tyto fenotypové stupně se ovšem v daných genotypech neobjevují zcela výlučně, ve výzkumu byli pozorováni jak jedinci genotypu Gg s fenotypovým stupněm -1 (vyběluje dříve hříva), tak jedinci genotypu GG s fenotypovým stupněm 1 (vyběluje dříve tělo). Všichni pozorovaní jedinci s fenotypovým stupněm 0 (vyběluje rovnoměrně) byli genotypu Gg (popřípadě jim byl tento genotyp přiřazen v kap. 4.6, pojednávající o genotypové kategorii G-), avšak vzhledem k obojaké povaze tohoto fenotypového stupně (tento stupeň byl

záměrně označen číslem 0, jelikož z hlediska projevu leží mezi stupni 1 a -1) nelze předpokládat zcela výlučný výskyt pouze u heterozygotního genotypu Gg. Je tak vysoce pravděpodobné, že v postupu vybělování hrají roli i jiné genetické či negenetické vlivy.

Na základě získaných výsledků lze potvrdit semidominantní charakter zbarvení flea-bitten v závislosti na alele G. Na žádném ze zkoumaných dominantně homozygotních zvířat pro alelu G (genotyp GG) nebyl zaznamenán speckling (výskyt teček v podkladové barvě) v žádném rozsahu (fenotypový stupeň 0). Všichni jedinci s jakkoli vyvinutým specklingem byli tedy heterozygoti pro alelu G (genotyp Gg; fenotypové stupně 1 a 2).

Lze tak usuzovat, že výskyt specklingu je téměř zcela výlučný pro heterozygotní genotyp Gg, na druhou stranu nelze potvrdit, že všichni heterozygoti budou během svého života vykazovat speckling (přibližně 26,32 % pozorovaných heterozygotů vykazuje mírný speckling stupně 1, přibližně 15,79 % heterozygotních jedinců vykazuje speckling stupně 2 a 57,89 % heterozygotů nevykazuje speckling v žádném rozsahu).

Výsledky této práce v oblasti zbarvení flea-bitten odpovídají švédským studiím z univerzity v Uppsale [12], podle nichž mohou být pigmentované tečky v bílé srsti (speckling) výsledkem jakési deaktivace nebo ztráty mutantní duplikace v STX17. Tento způsob vzniku specklingu by vysvětloval častější výskyt fenotypu flea-bitten u heterozygotních koní pro alelu G (genotyp Gg), jelikož inaktivace jedné alely je na buněčné úrovni mnohem pravděpodobnější než inaktivace obou alel. [12]

Zajímavým faktem je, že všichni jedinci vykazující fenotypový stupeň 2 (výrazný speckling) jsou navzájem blízce příbuzní, což by mohlo nasvědčovat roli dalších genetických faktorů ve výskytu fenotypu flea-bitten.

Potvrdit lze i semidominantní charakter výskytu vitiliga v závislosti na alele G. Výrazně vyvinuté vitiligo se vyskytovalo u všech jedinců genotypu GG (fenotypový stupeň 2). Je tak patrné, že pro jedince dominantně homozygotní (genotyp GG) je výskyt vitiliga (respektive „vitiligo-like depigmentation“) typickým znakem. Opět zde ale nemůžeme psát o zcela výlučném výskytu vitiliga u genotypu GG (přibližně 22,22 % zkoumaných jedinců s patrným vitiligem v jakémkoli rozsahu byli heterozygoti pro alelu G).

Nicméně určité procento jedinců s patrným vitiligem nemusí nutně vykazovat tzv. „vitiligo-like depigmentation“ spojenou s výskytem alely G, nýbrž vitiligo způsobené jinými faktory (např. výživou či věkem – u všech heterozygotních jedinců bylo vitiligo v jakémkoli rozsahu patrné až po 15 letech věku koně).



Výše zmíněné výsledky této práce byly i prakticky využity při identifikaci alelismu pro gen G u 12 koní genotypové kategorie G- (jedinců vykazujících fenotyp gray, u kterých nebylo možné jednoznačně prokázat genotyp na základě principů a postupů popsanych v kap. 3.2). Z těchto 12 koní byl 2 přiřazen genotyp GG (dominantní homozygot) a 10 genotyp Gg (heterozygot).



Obr. 14: Porovnání vzhledu heterozygota pro gen G (na obou fotografiích jedinec vlevo) s dominantním homozygotem pro gen G (na obou fotografiích jedinec vpravo) [foto: Ing. Lenka Dušková]

K ověření poznatků této práce by bylo vhodné testování jedinců genotypové kategorie G- genetickou laboratoří. Výsledné genotypy testovaných zvířat by byly porovnány s odhadovanými genotypy pro potvrzení (či vyvrácení) výše zmíněných poznatků.

Pro zvýšení přesnosti a k doplnění výzkumu zabývajícího se problematikou závislosti určitých fenotypových znaků na alele G by byl žádoucí větší počet zkoumaných živočichů (zejména jedinců dominantně homozygotních), popřípadě možnost blíže zkoumat dané jevy spolu s alelou G na molekulární úrovni (např. pro potvrzení či vyvrácení možné inaktivace alely G v somatických buňkách jedinců s fenotypem flea-bitten).

## 6 ZÁVĚR

Barva srsti je v současné době jedním z nejdůležitějších produkčních znaků v ekonomice chovu koní. Klíčovou rolí v prodejnosti těchto zvířat hraje zevnějšek, jehož velmi výraznou složkou je právě zbarvení srsti. Chovatelé by tak měli mít určitý přehled o genotypu svých zvířat, aby mohli případně reagovat na okolní poptávku. To samozřejmě platí i pro gen G (gray). Mutantní alela tohoto genu, která způsobuje postupné vybělování chlupů, překrývá fenotypový projev většiny ostatních genů, čímž významně ovlivňuje výsledný vzhled koně.

Tato práce nabízí pohled na semidominantní charakter určitých fenotypových znaků doprovázejících mutantní alelu G, který by mohl výrazně usnadnit identifikaci alelového zastoupení genu G bez nutnosti nákladného testování genetickou laboratoří.

Semidominantní chování bylo potvrzeno alespoň z části u všech pozorovaných jevů (barva po narození, postup vybělování, zbarvení flea-bitten, vitiligo). Na základě výsledků této práce lze k jednotlivým genotypům přiřadit následující charakteristické vlastnosti:

### **genotyp gg (recesivní homozygot; nevykazuje fenotyp gray)**

- barva po narození – stupeň -1 (juvenilní zbarvení)

ostatní znaky nebyly u genotypu gg zkoumány, jelikož recesivní homozygoti pro gen G nevykazují po prvním přelínání fenotyp gray (a ostatní fenotypové znaky s ním spojené)

### **genotyp Gg (heterozygot)**

- barva po narození – stupeň 0 (adultní zbarvení)
- postup vybělování – stupně 1 a 0 (vyběluje dříve tělo a vyběluje rovnoměrně)
- zbarvení flea-bitten – stupně 0 až 2 (speckling v různém rozsahu)
- vitiligo – stupeň 0 (žádné vitiligo)

### **genotyp GG (dominantní homozygot)**

- barva po narození – stupeň 1 (ztmavené zbarvení)
- postup vybělování – stupeň -1 (vyběluje dříve hřívá)
- zbarvení flea-bitten – stupeň 0 (žádný speckling)
- vitiligo – stupeň 2 (výrazné vitiligo)

Tyto charakteristické znaky nedefinují jediné výlučně se vyskytující znaky v daném genotypu (ve výzkumu je např. jedinec heterozygotního genotypu, kterému hřívá vybělila dříve než tělo), spíše slouží k orientačnímu znázornění většinového zastoupení daných znaků v rámci těchto genotypů.

Pomocí těchto charakteristických fenotypových projevů lze snadněji určit genotyp zvířete již bezprostředně po narození (na základě barvy hříběte), v jeho raném vývoji (na základě postupu vybělování) i v pozdějším věku zvířete (na základě výskytu zbarvení flea-bitten či vitiliga).

Jako neefektivnější způsob identifikace genotypu zvířete na základě jeho fenotypových znaků se jeví pozorování barvy těsně po narození (jednotlivé genotypy mají ve výzkumu barvy po narození téměř zcela vyhraněné fenotypové stupně). U tohoto znaku má význam brát na vědomí i jedince recesivně dominantního genotypu gg, protože fenotyp gray je většinou patrný až při prvním přelínání. Tímto způsobem lze identifikovat i hříbě genotypu gg ještě dříve, než poprvé vymění srst (za předpokladu, že není potomkem dominantního homozygota, pak by od něho totiž zaručeně obdržel jednu z mutantních alel G).

Jako méně efektivní se jeví sledování postupu vybělování (v rámci jednotlivých genotypů výzkum neukázal tak výraznou převahu určitého fenotypového stupně), nicméně může sloužit k podpůrné funkci při identifikaci zastoupení alel genu G.

Velmi efektivním indikátorem při určování genotypu jedinců gray se zdá být výskyt zbarvení flea-bitten. Pokud zvíře vykazuje speckling v jakémkoli rozsahu, lze ho s vysokou pravděpodobností zařadit k heterozygotnímu genotypu Gg (jelikož se v rámci tohoto výzkumu tento fenomén u dominantně homozygotních jedinců nevyskytoval).

Podobně lze přiřadit výskyt vitiliga k dominantně homozygotnímu genotypu GG. Nicméně v této oblasti výzkumu se našli i jedinci heterozygotní pro alelu G s vyvinutým vitiligem (stupně 1 i 2), avšak u těchto jedinců bylo vitiligo patrné až po 15 letech věku. Na základě těchto výsledků lze usuzovat, že „vitiligo-like“ depigmentace spojená s výskytem obou mutantních alel G je pozorovatelná zpravidla již mezi 5 a 15 lety života koně. Vitiligo objevující se až po 15. roku života jedince tedy nejspíš nesouvisí s dominantně homozygotním zastoupením alel G (ačkoliv souvislost tohoto druhu vitiliga s genem gray nelze vyloučit).

V rámci tohoto výzkumu nebyl nalezen žádný jedinec se současně vyvinutým vitiligem i specklingem. Je tak velmi pravděpodobné, že zbarvení flea-bitten a „vitiligo-like depigmentation“ pozorovaná u homozygotních jedinců se navzájem mohou vylučovat.

Stanovené cíle práce byly jednoznačně splněny, jak v oblasti potvrzení semidominantních rysů pozorovaných znaků, tak v přiřazení jednotlivých projevů těchto znaků k možným kombinacím alel genu G. Dosažené výsledky byly navíc teoreticky podpořeny studiemi ze švédské univerzity v Uppsale [12,13,14] a rovněž prakticky využity v kapitole 4.6 pojednávající o genotypové kategorii G-, v níž bylo na základě poznatků získaných z této práce přiřazeno 12 jedinců neobjasněného genotypu k jednotlivým genotypům.

Pro ověření poznatků této práce bych doporučil potvrzení genotypu 12 jedinců kategorie G- testováním genetickou laboratoří. K zvýšení přesnosti výzkumu závislosti jednotlivých znaků na genotypu jedince by bylo žádoucí pozorování většího počtu jedinců (zejména jedinců dominantně homozygotního genotypu GG).

Semidominantní charakter některých znaků fenotypu gray přináší nový inovativní způsob identifikace genotypu koní na základě jejich fenotypu, který by mnohým chovatelům mohl ušetřit materiální prostředky i čas. Návazně by bylo velmi zajímavé sledovat tyto aspekty zbarvení gray na molekulární úrovni, např. zkoumat možný vliv jiných faktorů na postup vybělování či objasnit molekulární podstatu specklingu (potvrdit či vyvrátit inaktivaci mutantní alely G v somatických buňkách).

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

WPCS	Welsh Pony & Cob Society
KVH	kohoutková výška hůlková (výška zvířete od země ke kohoutku)
WPBR	The Welsh Part-Bred (podílový velš)
MCOA syndrom	Multiple Congenital Ocular Abnormalities syndrome (syndrom doprovázející gen silver postihující oči jedince)
DNA	kyselina deoxyribonukleová (deoxyribonucleic acid)
MC1R	melanocortin 1 receptor
ASIP	agouti-signaling protein
MATP	membrane-associated transporter protein
SNP	single nukleotide polymorphism (záměna jedné báze nukleotidu)
SLC45A2	solute carrier 45 family A2
TBX3	T-box transcription factor 3
PMEL17	premelanosome protein 17; silver locus protein homolog 17
SLC36A1	solute carrier 36 family A1
KIT	receptor tyrosine kinase
STX17	syntaxin 17
NR4A3	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3

## 8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Welcome to the Welsh Pony & Cob Society - WPCS* [online]. Aberystwyth: WPCS [cit. 2019-01-10]. Dostupné z: <https://wpcs.uk.com/>
- [2] DAVIES, Wynne. *The Welsh Mountain Pony*. London: J. A. Allen & Company Limited, 1993, s. 3–8. ISBN 0-85131-571-2.
- [3] *Veterinary Genetics Laboratory* [online]. Davis (California): The Regents of the University of California, Davis campus [cit. 2020-10-28]. Dostupné z: <https://vgl.ucdavis.edu/>
- [4] SNUSTAD, D. Peter a Michael J. SIMMONS, RELICHOVÁ, Jiřina, ed. *Genetika*. Druhé, aktualizované vydání. Přeložil Jiří DOŠKAŘ, přeložil Jiří FAJKUS, přeložil Petr HOŘÍN, přeložil Aleš KNOLL, přeložil Petr KUGLÍK, přeložil Jan ŠMARDA, přeložil Jana ŠMARDOVÁ, přeložil Renata VESELSKÁ, přeložil Boris VYSKOT. Brno: Masarykova univerzita, 2017, s. 40–76. ISBN 978-80-210-8613-5.
- [5] *Equus caballus (ID 145) - Genome - NCBI. National Center for Biotechnology Information* [online]. [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?term=equus%20caballus>
- [6] *Animal Genetics | Genetic Testing Services* [online]. Tallahassee (Florida): Animal Genetics, c1992-2021 [cit. 2020-10-28]. Dostupné z: <https://www.animalgenetics.us/>
- [7] *Modifiers in Horses | Color Genetics. Color Genetics | The Colors of Life* [online]. [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://colorgenetics.info/equine/modifiers-horses>
- [8] *The Enigmatic Brown Horse | Color Genetics. Color Genetics | The Colors of Life* [online]. [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://colorgenetics.info/equine/enigmatic-brown-horse>
- [9] *Pet DNA Services of AZ - Equine Services* [online]. [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20090522151520/http://www.petdnaservicesaz.com/Equine.html>
- [10] *Flaxen Color Genetic Research in Progress. The Horse – Your Guide to Equine Health Care* [online]. 2009 [cit. 2020-10-30]. Dostupné z: <https://thehorse.com/153492/flaxen-color-genetic-research-in-progress/>
- [11] *Flaxen Chestnut Color Inheritance Studied. The Horse – Your Guide to Equine Health Care* [online]. 2010 [cit. 2020-10-30]. Dostupné z: <https://thehorse.com/154222/flaxen-chestnut-color-inheritance-studied/>

[12] PIELBERG, Gerli Rosengren, et al. A cis-acting regulatory mutation causes premature hair greying and susceptibility to melanoma in the horse. In: *Nature Genetics* [online]. Springer Nature Limited, c2021, 20 July 2008 [cit. 2020-10-30].  
Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1038/ng.185>

[13] SUNDSTRÖM, Elisabeth, et al. Identification of a melanocyte-specific, microphthalmia-associated transcription factor-dependent regulatory element in the intronic duplication causing hair greying and melanoma in horses. In: *Wiley Online Library* [online]. Wiley, c1999-2021 [cit. 2020-10-30].  
Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2011.00902.x>

[14] SUNDSTRÖM, Elisabeth, et al. Copy number expansion of the STX17 duplication in melanoma tissue from Grey horses. In: *BMC Genomics* [online]. BioMed Central, c2021, 02 August 2012 [cit. 2021-03-08].  
Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-365>

## 9 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obr. 1: Příklad ryzáka (vlevo), hnědáka (uprostřed) a vraníka (vpravo) plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková].....	16
Obr. 2: Příklad zbarvení palomino (vlevo), buckskin (uprostřed) a smokey black (vpravo) u jedinců Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková].....	17
Obr. 3: Příklad fenotypu flaxen u plemene Welsh Mountain Pony (vlevo) a u plemene Haflinger (vpravo) [foto: Ing. Lenka Dušková].....	20
Obr. 4: Příklad fenotypu red roan u plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková]..	22
Obr. 5: Příklad jedinců fenotypu gray v různých stádiích vybělování (vlevo) a plně vyběleného jedince (vpravo) plemene Welsh Mountain Pony [foto: Ing. Lenka Dušková].....	23
Obr. 6: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku barva po narození u jedinců hnědé barvy (genotyp E- A-) [foto: Ing. Lenka Dušková].....	27
Obr. 7: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku barva po narození [autorem grafu je autor práce].....	28
Obr. 8: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku postup vybělování [foto: Ing. Lenka Dušková].....	30
Obr. 9: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku postup vybělování [autorem grafu je autor práce].....	31
Obr. 10: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku zbarvení flea-bitten [foto: Ing. Lenka Dušková].....	32
Obr. 11: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku zbarvení flea-bitten [autorem grafu je autor práce].....	33
Obr. 12: Příklady jednotlivých fenotypových stupňů znaku vitiligo; u stupně 0 není patrné žádné vitiligo (růžová skvrna zde představuje pouze ostře ohraničený vrozený odznak, který se s věkem nerozšiřuje); u stupně 1 je v tomto případě počínající vitiligo patrné zejména na pyscích; stupeň 2 představuje již výrazně rozvinuté vitiligo v okolí celého odznaku, charakteristické s věkem se rozšiřujícími nepravidelnými okraji [foto: Ing. Lenka Dušková].....	34
Obr. 13: Graf četnosti jednotlivých fenotypových stupňů v závislosti na genotypu jedinců u znaku vitiligo [autorem grafu je autor práce].....	35
Obr. 14: Porovnání vzhledu heterozygota pro gen G (na obou fotografiích jedinec vlevo) s dominantním homozygotem pro gen G (na obou fotografiích jedinec vpravo) [foto: Ing. Lenka Dušková].....	40
Tab. 1: Možné křížení plemen Welsh Pony & Cob [autorem tabulky je autor práce].....	13



## 10 PŘÍLOHA 1: TABULKA POZOROVANÝCH JEDINCŮ

Výčet všech pozorovaných jedinců spolu s jejich fenotypovými stupni u zkoumaných znaků a podklady pro určení jejich genotypu; genotyp G- (ve sloupci: Genotyp) označuje jedince nepodloženého (podle principů popsaných v kapitole 3.2) genotypu, písmeno v závorce udává odhadovanou alelu pomocí postupů v kapitole 4.6; pomlčky u genotypu rodičů (sloupec: Rodiče) zastupují libovolnou alelu genu G bez vlivu na určení genotypu jejich potomka; (test) – daný genotyp je potvrzen testem genetickou laboratoří; (15+) – daný fenotypový stupeň byl patrný až po 15 letech věku daného jedince

Jedinec	Rok narození	Genotyp	Rodiče	Potomstvo	Barva po narození	Postup vybělování	Flea-Bitten	Vitiligo
Criccieth Anwr	1990	Gg	Gg × G-	Obojí	0	1	1	0
Scrafton Pussyfoot	1992	Gg	Gg × G-	Obojí		1	2	0
Vechtzicht's Hywel	1995	Gg	gg × G-	Obojí	0	1	0	0
Gleiniant Damsion	1997	Gg	G- × G-	Obojí	0	1	0	1(15+)
Menai Seren Mai	1999	Gg	G- × G-	Obojí			0	2(15+)
Trawel Artuš	2000	Gg	G- × gg	Obojí	0	1	0	0
Cellwen Xeros	2002	Gg	G- × G-	Obojí	0	1	1	0
Llanfrechfa Patriot	2002	Gg	gg × G-	Bílé	0	1	2	0
Llanfrechfa Princess	2003	Gg	gg × G-	Obojí	1	1	2	0
Trawel Romantika	2003	gg	Gg × gg		-1			
Trawel Regina	2004	Gg	gg × G-	Bílé	0	1	1	0
Dyfed Czar	2006	Gg	G- × gg	Obojí		1	0	0
Gleiniant Cayenne	2006	GG	GG × GG	Bílé	1	-1	0	2
Zonneweide Mercury	2007	GG	GG × Gg	Bílé		1	0	2
Goldmane Darth Vader	2008	gg	Gg × Gg		-1			
Goldmane Rincewind	2008	gg	Gg × gg		-1			
Llanfrechfa Serenity	2008	Gg	G- × gg		0	1	0	0
Eppynt Silent Whisper	2009	GG	Gg × Gg	Bílé	1	-1	0	2
Goldmane Enterprise	2009	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	0		
Windmill Jadyň	2009	gg	gg × Gg		-1			
Baledon Michaelangelo	2010	Gg	G- × gg	Bílé	0	1	0	0
Goldmane Dillinger	2010	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	1	1	0
Goldmane Red Alert	2010	Gg	GG × gg	Obojí	0	1	1	0
Goldmane Rubicon	2010	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	1	0	0
Calamity Zuriel Casanova	2011	GG	GG × G-	Bílé	1	1	0	2
Penboeth Persia	2011	Gg	Gg × GG	Obojí	0	1	1	0
Dukeshill Picture	2012	Gg	G- × gg	Barevné	0	-1	0	0
Goldmane Dark Athena	2012	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	0		
Goldmane Russian Roulette	2012	Gg	GG × gg	Bílé	0	1	0	0
Vazan Sebastian	2013	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	1	0	0
Goldmane Dickson	2014	G-(g)	GG × Gg	Nemá	0	1	0	0
Goldmane Jango	2014	Gg	GG × gg	Nemá	0	0	0	0
Goldmane Silent Victory	2014	GG	GG × GG	Nemá	1	-1	0	2
Goldmane Welsh Rathian	2014	Gg	GG × gg	Bílé	0	1	0	0
Llanfrechfa Daffodil	2014	G-(G)	GG × Gg	Bílé	1	-1	0	2
Vazan Roderik	2014	G-(G)	GG × Gg	Nemá	1	-1	0	2
Goldmane Risky Business	2016	gg	Gg × gg		-1			
Goldmane Silent Verence	2016	G-(g)	Gg × GG	Nemá	0	1		
Vazan Fflawiau Arian	2016	Gg	GG × gg	Nemá	0	1		
Goldmane Jack Daniels	2017	gg	Gg × gg		-1			
Goldmane Rum Praline	2017	G-(g)	Gg × Gg	Nemá	0	0		
Goldmane Revenger	2018	Gg	Gg × gg	Nemá	0	0		
Goldmane Silent Vision	2018	G-(g)	Gg × GG	Nemá	0	1		
Goldmane Drax	2019	G-(g)	Gg × GG	Nemá	0	1		
Goldmane Jarvis	2019	Gg	Gg × gg	Nemá	0	1		
Penhwnllys Prince Charming	2019	gg	gg × gg		-1			
Vazan Richard	2019	GG(test)	GG × Gg	Nemá	1	-1		
Goldmane Rose Honey	2020	Gg	Gg × gg	Nemá	0			
Putwell Rupert	2020	gg	gg × gg		-1			