

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra zoologie

**Genetická podstata fenotypové
variability u domestikovaných
živočichů**

Bakalářská práce

Veronika Majerová

Praha, 2010

Školitel: RNDr. Radka Storchová, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Radky Storchové, Ph.D., na základě citované literatury a vlastních poznatků.

V Praze, dne 19.4.2010.

.....

Veronika Majerová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat své školitelce RNDr. Radce Storchové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, užitečné rady a pomoc při zpracování této práce. Poděkování dále patří mým rodičům za podporu a obětavost během mého studia.

Abstrakt

Jakým způsobem vzniká tak ohromující fenotypová variabilita u různých druhů živočichů je jistě jednou z důležitých otázek evoluční biologie. Vznik a změny fenotypové variability během evoluce je možné zkoumat u domestikovaných živočichů. Domestikované druhy živočichů představují vynikající model pro studium molekulárních mechanismů, odpovědných za vznik nových fenotypů, díky ohromné morfologické rozmanitosti mezi jednotlivými plemeny, snadnému chovu a křížení v zajetí a také díky časté znalosti genomové sekvence. Cílem této bakalářské práce je shrnout současné poznatky o konkrétních mutacích, které jsou odpovědné za vznik nových morfologických znaků u domestikovaných živočichů. Tyto poznatky nám mohou pomoci objasnit, jak funguje evoluce na molekulární úrovni.

Klíčová slova: domestikace, morfologická variabilita, mutace, pes, gen, holub

Abstract

Understanding the mechanisms responsible for the origin of morphological variability among different species of animals represents an important goal in evolutionary biology. Origin and changes of the phenotypic variability during the evolution is possible to study in domesticated animals. The domesticated species of animals represent a brilliant model for studying the molecular mechanisms responsible for origin of new phenotypes due to enormous morphological variability of different domesticated breeds, effortless breeding in captivity and frequent knowledge of the genomic sequence. The aim of this bachelor work is to summarize actual findings about concrete mutations which are responsible for the origination of the new morphological characters in the domesticated animals. These findings can help us to clarify how the evolution functions on the molecular level.

Key words: domestication, morphological variability, mutation, dog, gene, pigeon

Obsah

Abstrakt.....	4
1. Úvod.....	6
2. Domestikace	7
2.1 Umělá selekce.....	8
2.2 Změny fenotypu spojené s domestikací.....	8
3. Geny a mutace podmiňující fenotypovou variabilitu u domestikovaných živočichů	11
3.1 Barevné variace psí srsti	12
3.2 Délka a vlnitost srsti u psů	13
3.3 Záhada velikosti psích plemen	14
3.4 Tajemství krátkých psích nohou.....	16
3.5 KIT u domácích prasat a myší.....	16
3.6 Zbarvení koní	17
4. Domestikace u holubů	18
4.1 Morfologická variabilita u vybraných plemen holubů	18
5. Závěr	21
6. Návaznost na diplomovou práci	22
7. Zdroje a použitá literatura	23

1. Úvod

„Srovnáme-li jedince jedné variety či subvariety našich starších domácích rostlin a živočichů, jedno z prvních překvapujících zjištění bude, že se od sebe většinou liší více než jedinci jakéhokoliv přirozeného druhu či variety. Zamyslíme-li se nad nesmírnou rozmanitostí domestikovaných rostlin a živočichů, kteří byli po dlouhou dobu vystavováni velice odlišným klimatickým podmínkám a velice odlišnému zacházení, musíme uznat, že je tato nesmírná rozmanitost výsledkem skutečnosti, že domestikace probíhala za mnohem méně jednotných a v leccčem jiných podmínkách než vývoj původních přirozených druhů.“ (Charles Darwin. O vzniku druhů přirozeným výběrem. Nakladatelství Academia, 2007)

Už Charles Darwin rozpoznal, že domestikace představuje důležitý a ohromný zdroj rozmanitosti v morfoložických, behaviorálních i fyziologických znacích. Je s podivem, jak ohromná variabilita může vzniknout z jednoho volně žijícího a ne příliš variabilního druhu. Stačí si například představit na jedné straně vlka a na straně druhé různá psí plemena, která jsou tak rozdílná, že kdyby se jednalo o volně žijící živočichy, těžko bychom je zařadili do stejného druhu. Otázkou je, jak tato ohromná variabilita vzniká a jakými genetickými změnami je podmíněna. Jedná se o nukleotidové záměny v kódujících oblastech genů, o mutace v regulačních oblastech genů, o genové duplikace či o změny v hypermutabilních oblastech jako jsou například repetitivní sekvence? Hlavním cílem této práce bude shrnout dosavadní poznatky o genetické podstatě morfoložické variability u domestikovaných živočichů. Zaměřím se pouze na již identifikované mutace. Protože určité geny nebo typy mutací mohou být identifikovatelné snadněji než jiné, může být tento výčet do určité míry zkreslený. Například snadněji se identifikují geny s velkým účinkem odpovědné za kvalitativní znaky, jako je například barva srsti, než geny s malým účinkem odpovědné za kvantitativní znaky, které se svojí povahou mohou teoreticky lišit.

Práce je členěna do několika kapitol. První kapitola se zabývá obecným vysvětlením pojmu domestikace, jejím přibližným časováním a změnou fenotypu vlivem domestikace. Druhá kapitola se zaměřuje na již známé geny a jejich mutace, které svým účinkem formují zevnějšek u různých druhů domestikovaných živočichů. S ohledem na moji budoucí

diplomovou práci je třetí kapitola zaměřená na holuby, jejich domestikaci, morfologickou rozmanitost a předka všech holubů, holuba skalního (*Columba livia*).

2. Domestikace

Domestikace, také zdomácnění, je proces, při kterém člověk nahrazením přirozeného výběru umělou cílevědomou selekcí přeměnil divoce žijící druhy v rozmanitá plemena lišící se od původního předka morfologickými, fyziologickými či behaviorálními znaky. Za domestikovaný organismus je považován takový druh, který lze snadno chovat a úspěšně rozmnožovat v zajetí. Patří sem také druhy, které byly dlouhodobým chovem vyšlechtěny pro různé účely či užitek - hospodářská zvířata, stejně jako zvířata laboratorní, kultovní a v neposlední řadě široká škála dnes chovaných domácích mazlíčků. Člověk tedy zajišťuje jejich výživu, podmínky pro život a usměrňuje jejich rozmnožování. Slovo domestikace se používá i u obdobného procesu v případě rostlin. Ne všechny druhy se ale pro domestikaci hodí. Podmínkou úspěšného procesu je především silný stádový či smečkový pud, který zjednodušuje komunikaci s člověkem. Druhy nesmí být úzkými potravními specialisty a také jsou vhodné příznivé historické souvislosti. Ke zdomácnění celé řady tradičních zvířat došlo většinou v oblastech s určitou kulturní vyspělostí lidské populace a současným výskytem vhodného divokého předka. Zdomácnění různých druhů živočichů probíhalo velmi podobným způsobem. Od počátečního zajetí a držení divokých zvířat se přešlo k jejich postupnému ochočování. Finální fází celého procesu je vlastní chov zvířat, při kterém dochází k přetváření podle představ člověka.

Prvotní důvody domestikace se v mnohém lišily od dnešního využití. U řady druhů byly hlavní příčinou kultovní záležitosti (skot, drůbež). V té době náboženství mnoha kmenů požadovalo časté obětování zvířat, sloužila tedy nejprve k rituálním účelům. Až později se tato zvířata začala využívat i hospodářsky. V některých případech mluvíme o samovolné domestikaci (zvířata se k člověku přiřadila téměř dobrovolně – pes, kočka, holub), jindy se člověk na některé druhy soustředil záměrně (nejprve bylo třeba zvíře zkrotit – kůň) – jde o vědomou domestikaci.

U některých druhů dochází k procesu tzv. feralizace (zdivočení, dedomestikace), kdy člověk úmyslně či neúmyslně vypustí do volné přírody zdomácnělá zvířata (např. holub domácí). Při zdivočení dojde k vyloučení extrémů, avšak nikdy nedojde k návratu na úroveň divokých zvířat. Domestikace je nevratný proces (Majzlík, 2000).

Některé druhy byly domestikovány už v dávné minulosti, jiné teprve v nedávno uplynulých desetiletích. Průběh i časové rozpětí domestikace většiny klasických domácích zvířat nejsou do detailů přesně známy. Počátky domestikačního procesu spadají do přelomu

starší a mladší doby kamenné (paleolitu a neolitu). Tehdy se z člověka sběrače a člověka lovce stává usedlý člověk zemědělec. Časová hranice by měla být přibližně 12 000 let před naším letopočtem (Ložek, 1973). V té době byl domestikovaný např. pes, ovce či koza. O těchto datech by se ovšem dalo spekulovat, neboť svědectví v době prvního ochočení živočichů je více než chatrné.

2.1 Umělá selekce

Umělý výběr je proces úmyslné modifikace druhu, při kterém dochází ke změnám ve fenotypové variabilitě. Na rozdíl od přírodního výběru je prováděný člověkem. Vystavuje tedy organismy novým měnícím se podmínkám, což iniciuje jejich proměnlivost. Výběr člověkem je daný spíše ekonomickými, kulturními a estetickými hledisky než přežitím druhu jako u přírodního výběru. Umělý výběr je tedy obecně považován za hybnou sílu domestikace (Driscoll et al., 2009). Uplatňuje se hlavně v plemenitbě a šlechtění. Prostřednictvím umělého výběru je možno selektovat např. nejrychleji rostoucí jedince, jedince s vynikající kvalitou, s vysokým stupněm odolnosti apod., a to podle požadavků šlechtitelského cíle. Tento výběr nám například také dokázal vygenerovat více než 200 odlišných plemen psů.

Umělým výběrem se mění genetické složení jednotlivých domestikovaných variet. Chovatel vybírá jedince podle fenotypových znaků, taková skupina vybraných jedinců se poté liší frekvencí alel. Důsledkem změn v četnosti alel dochází ke změnám ve fenotypu. Cílem selekce je tedy změna genetického složení populace a změna dědičného základu například hospodářských zvířat v žádoucím směru (Majzlík, 2000). Rozdíl mezi umělou a přirozenou selekcí je v tom, že přirozená selekce je slepý přírodní proces (nezamýšlený), zatímco umělá je vyvolána člověkem s určitým záměrem.

2.2 Změny fenotypu spojené s domestikací

Proces domestikace vede k rozsáhlým změnám fenotypu, které můžeme u domestikovaných živočichů pozorovat. Od původních předků se posléze domestikovaná zvířata liší především v morfologii, anatomii, fyziologii a chování.

Morfologické změny, ke kterým při domestikaci dochází, jsou u živočichů nejvíce viditelným rysem (Thompson, 1917). Při domestikaci dochází ke změnám velikosti i tvaru těla, významné jsou rozdíly ve zbarvení. U všech druhů se objevily typy zbarvení pokryvu těla, které se nevyskytují u divokých druhů (bílé zbarvení), různé odstíny, strakatost, pruhování, albinismus. Dochází i ke změnám kůže - tvorba řas, laloků, záhybů, rohů, klopení uší (u králíků, ovcí, koz, psů aj.) (Majzlík, 2000). Také se mění kvalita a délka

srsti. Výrazné změny osrstění se projevují prodloužením srsti (angorismus), nebo naopak zkrácením srsti (rexismus) či úplnou absencí srsti (naháč).

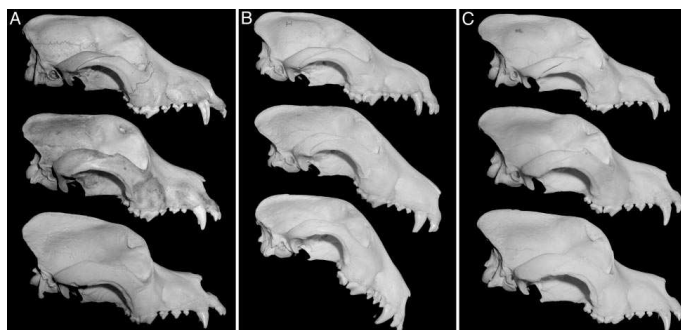
Významné jsou také změny anatomických znaků. Důsledkem domestikace došlo ke zmenšení mozku a srdce, kostra se stává jemnější a méně odolná. K jevům, doprovázející domestikaci, patří i změna fyziologie zvířat. Především se jedná o častější říje domácích zvířat a větší rozmnožovací schopnost. Také se urychluje dospívání a dochází k prodlužování laktace (Fogle, 2007). Mění se biorytmy, například prasata původně noční živočichové, dnes s denní aktivitou, i schopnost péče o potomstvo. Některé typicky monogamní druhy (husy) se mění na polygamní. U většiny druhů vede domestikace ke snížení odolnosti vůči chorobám. Zásadní rozdíly vidíme i v chování zvířat. Domácí zvířata ztratila plachost a u některých druhů vymizely instinkty nutné pro přežití ve volné přírodě (Kolesnikov, 2003).

3. Geny a mutace podmiňující fenotypovou variabilitu u domestikovaných živočichů

Rozmanitost tělního plánu u domestikovaných živočichů je obrovská, v rámci velikosti i struktury. Mechanismy, které vytvářejí takové rozmanitosti, mají jasný genetický základ (Levine and Tjian, 2003, Carroll, 2000). Podrobnější zkoumání vývoje individuálních struktur dokazuje, že jeden stejný protein může formovat utváření různých částí těla (pleiotropie). Proto může selekce na jeden znak vést k současné změně jiných znaků. Zde uvedu jeden příklad: před několika lety se biologové pokusili ochočit divoké lišky polární. Z každé generace vybrali k odchovu jen mláďata, která byla krotší než jejich rodiče. U lišcat, s bílými předky, se najednou začalo objevovat strakaté zbarvení a angorská srst. Došlo u nich ke zkrácení čenichu, změně ušního boltce a k dalším odlišnostem fyzického vzhledu. Nešlo o desetiletí přeměn, ale jen o pár generací. Lišky se měnily doslova před očima (Trut, 2009). Je tedy patrné, že změny u domestikovaných živočichů mohou probíhat velmi rychle. Rychlost morfologického vývoje dokazují také fosilní záznamy kostí vyhynulých a žijících druhů domestikovaných živočichů (obrázek 1) (Fondon and Garner, 2004).

Obrázek 1: Rychlá evoluce plemen.

(A) Čistokrevný St. Bernard, lebka z roku 1850 (nahore), 1921 (střed) a 1967 (spodní část).
(B) Čistokrevný teriér, 1931 (nahore), 1950 (střed), 1976 (spodní část). (C) Čistokrevný Newfoundland, 1926 (nahore), 1964 (střed), 1971 (spodní část).
Převzato a upraveno z: Fondon and Garner, 2004.



Jednou z nejzajímavějších a stále nezodpovězenou otázkou je, jaké typy genetických změn vedou k těmto morfologickým změnám. Jak je možné, že je vznik variability tak rychlý? Kolik mutací je třeba k morfologické změně? Jedná se o změny v protein kódujících či regulačních oblastech? Odpovědi na tyto otázky nám můžou pomoci odhalit mechanismy evoluce na molekulární úrovni. Nejvíce genů podmiňujících morfologickou variabilitu

u domestikovaných živočichů bylo zatím objeveno u psů. Především proto, že psi jsou důležitým modelovým organismem v genetickém výzkumu a známe jejich celogenomovou sekvenci.

3.1 Barevné variace psí srsti

V posledních letech bylo objeveno několik genů odpovědných za různou pigmentaci srsti u psů. Bylo identifikováno sedm genů, které určují specifickou barvu srsti: MC1R (melanocortin 1 receptor), TYPR1 (tyrosinase related protein 1), ASIP (agouti signal peptide), MLPH (melanophilin), SILV (silver homolog), MITF (microphthalmia-associated transcription factor) a CBD103 (beta-defensin 103) (Lightner, 2009).

MC1R byl prvním genem studovaným molekulárně genetickými metodami. Tento gen byl zmapován na 5. chromozom. Byla popsána mutace způsobující záměnu stopkodónu za arginin a tím ztrátu funkce proteinu, která zapříčiňuje jasně červené nebo žluté zbarvení srsti (Schmutz et al., 2001). Mutace je přítomna u mnoha plemen psů. Gen MC1R je znám také jako lokus E. Mutantní alela je označována jako e a původní (divoká) dominantní alela E (Little, 1957). Existuje ještě třetí alela E^M , která vznikla nukleotidovou substitucí. Melanistické (tmavé) překrytí způsobené jednou kopií této alely je viditelné u psů, kteří jsou plaví a skvrnití. Psi, kteří mají například bílé čumáky, neprodukují melanin v těchto oblastech těla a neprojeví se u nich ani překrytí.

TYPR1 je gen, který způsobuje hnědou barvu srsti a byl lokalizován na 11. chromozomu (Schmutz et al., 2002). Byly detekovány tři alely tohoto genu, které způsobují hnědé zbarvení srsti. Alela b^s obsahuje stop kodon v exonu 5, druhá alela b^d obsahuje delecii prolinu také v exonu 5 a třetí alela b^c je charakterizována substitucí v exonu 2. Všechny tři alely byly detekovány u zkoumaných plemen s hnědou barvou srsti, ale u některých plemen neměli jedinci žádnou ze tří alel. Je tedy možné, že existuje další mutace v genu TYPR1, která ještě nebyla odhalena. Alely TYPR1 interagují s alelami MC1R. Pes, genotypu e/e , má poté krémovou, žlutou nebo červenou barvu srsti. Všichni psi, kteří mají barvu srsti černou, hnědou nebo šedou, ji zdědili dominantně a mají nejméně jednu alelu E nebo E^M (Kerns et al., 2007, Candille et al., 2007).

Gen ASIP leží na 24. chromozomu (Kerns et al., 2004). Má několik alel (a^y , a^w , a^t , a), z nichž divoký typ alely a^w způsobuje, že některé chlupy mají po celé délce střídavě pigmentované proužky. Tyto proužkované chlupy se vyskytují typicky na hřbetu trupu. Sekvence této alely je kompletně shodná se sekvencí vlka (Berryere et al., 2005) a sekvence aminokyselin v proteinu stejná jako u kojota (Schmutz et al., 2007). Recessivní alela a tohoto

genu způsobuje černé zbarvení srsti u plemen jako je např. Německý ovčák, Shetlandský ovčák, Puli (Kerns et al., 2004, Berryere et al., 2005). Alela a^y , děděná jako dominantní, způsobuje plavé zbarvení srsti. U alely a^l se předpokládá, že způsobuje zbarvení černá-světle hnědá. Skvrnitost se projevuje po celém těle u psů s alespoň jednou alelou a^y genu ASIP nebo jen na břišní straně u psů s genotypem a^l/a^l (Berryere et al., 2005). V kódující sekvenci této alely (exon 2-4) nebyl zjištěn žádný rozdíl ve srovnání s divokou alelou způsobující aguti fenotyp. Je však možné, že se alela liší mutací v oblasti promotoru, která způsobuje různou mírou transkripce tohoto genu.

CBD103 je gen, který se nachází na 16. chromosomu a má také vztah k pigmentaci. Způsobuje černé zbarvení srsti. Jedna kopie alely k^{br} v přítomnosti alely k^y způsobuje fenotyp známý jako skvrnitost (Kerns et al., 2007). Je to způsobeno střídáním pruhů phaeomelaninu a eumelaninu různých odstínů.

Barevná variabilita u psů tedy není ovlivněna jen jedním genem, ale hned několika. Z těch nejvíce prozkoumaných jsou to hlavně geny MC1R, TYPR1, ASIP a CBD103. Mutace, které způsobují morfologickou změnu v barvě srsti, se nachází ve většině případů v kódujících oblastech a jsou to převážně záměny aminokyselin.

3.2 Délka a vlnitost srsti u psů

Genetický základ barvy srsti je již dobře zmapovaný, relativně málo je známo o genech, které mají vliv na délku a vlnitost srsti. Byly provedeny celogenomové studie na více než 1000 psů z 80 domácích chovů, aby identifikovaly geny spojené s psí srstí. Tato studie objevila zřetelné změny ve třech genech: RSPO2 (R-spondin-2), FGF5 (fibroblast growth factor) a KRT71 (keratin 71) (Cadieu et al., 2009). Rozmanitý a komplexní souhrn zevních znaků jedince, co se srsti týče, tak může být redukován na kombinatorické efekty pouze několik málo genů (Cadieu et al., 2009).

Gen FGF5 se u psů nachází na chromozomu 32. V mnoha případech bylo dokázáno, že je příčinou dlouhých chlupů. Mutace v genu FGF5, při které dochází k záměně cysteinu za fenylalanin, byly identifikovány u Velšského jezevčíka (Housley and Venta, 2006). Mutací dojde k vyřazení genu z činnosti, cyklus růstu je delší a vyústí v delší srst. Alela tohoto genu je zřejmě recesivní.

Gen KRT71, ležící na chromozomu 27, nese zodpovědnost za kadeřavost chlupů. U psů byla nalezena jen jedna mutace, která je spojena se změnou aminokyseliny. Tento gen produkuje keratin typu II, který se exprimuje do vnitřního vlasového váčku (Sundberg et al., 1997).

Gen RSPO2, nacházející se na 13 chromozomu, dává vznik kníru a obočí. Tito psi si nesou ve své alele nejméně jednu kopii obsahující inserci za kódující oblastí. Tato nekódující vložená oblast genu ovlivňuje stabilitu přepisu mRNA, ze které se daný protein vytváří. Alela tohoto genu je patrně dominantní (Cadieu et al., 2009).

Plemena krátkosrstá mají divoké typy alel všech těchto tří genů. Plemena dlouhosrstá si nesou ve velké většině mutaci genu FGF5. Varianta mutací v RSPO2 a KRT71 pak znamená kadeřavou drsnou srst, ve struktuře podobnou teriérovi, FGF5 s RSPO2 odpovídá dlouhé srsti, kníru a obočí, ale srst je spíše měkká a kombinace FGF5 s KRT71 zapříčiňuje dlouhou a kadeřavou srst (obrázek 2) (Cadieu et al., 2009). Drsnosrstá plemena mají vždy knír a obočí a nesou si mutaci genu RSPO2. Žádné z těchto změn nebyly nalezeny u šedých vlků ani u krátkosrstých plemen psů. Nebyli zatím nalezeni žádní psi, kteří by si nesli jen mutaci v KRT71. Pokud budou přítomny všechny tři mutace příslušných genů, budou mít psi dlouhou kudrnatou srst a knír i obočí.

Za zmínku nepochybně stojí pruh srsti rostoucí obráceně, tvořící tzv. hřeben, který najdeme u plemene Rhodéský ridgeback. Šířka tohoto pruhu je přibližně 5 cm, začíná mezi lopatkami a končí na bedrech. Tato ojedinělost je způsobena duplikací v genu FGF5, který hraje určitou roli ve vývoji (Hillbertz et al., 2007).

Variace u psí srsti je spojena jen s několika geny, a jak ukazuje nová studie, jsou to především tři geny, které hrají závažnou roli. Mutace, odpovědné za tyto změny, jsou opět především záměny aminokyselin, ale objevuje se i duplikace genu. Zde je vidět, jak souhra jen několika málo genů, může vyzdvihnout variabilitu psí srsti až do ohromných rozměrů.

3.3 Záhada velikosti psích plemen

Při rozsáhlých DNA analýzách bylo zjištěno, že lokus na chromozomu 15, má rozhodující význam pro velikost psů. Uvnitř tohoto lokusu byla identifikovaná mutace v genu IGF1 (insulin-like growth factor 1). Čivavy, pekinézové nebo malí teriéři mají tedy kromě bizarního vzhledu a nepatrných rozměrů společnou i jinou vlastnost. Ukázalo se, že malí psi vždy nesou specifickou variantu genu významného růstového faktoru IGF1 (Sutter et al., 2007). Při analýzách bylo také zároveň zjištěno, že měli v krvi oproti velkým psům méně proteinu IGF1. Postupně vyšlo najevo, že stejnou variantu tohoto genu nese každé malé psí plemeno, na které se badatelé podívali. Psí plemena radikálně odlišných velikostí existují nejméně 10 000 let, objevená varianta genu IGF1 tedy podle všeho bude minimálně tak stará (Schell et al, 1999). U divokých předků psů, čili vlků, tato varianta není známa. Psi, kteří doprovázeli lidi na obchodních cestách, alely genu rychle rozšířili na velké územní vzdálenosti. Chovem a

selekcí byl potom gen zakotven v lokálních populacích. K tomu jistě přispělo, že v mnohém směru byli menší psi výhodnější než větší.

Obrázek 2: Délka a vlnitost srsti u psů.

A – divoké typy alel všech tří genů, krátkosrsté plemeno (Baset), B – mutace v genu RSPO2, drsnosrstá plemena, mají vždy knír a obočí (Australský teriér), C – mutace v genech RSPO2 a KRT71, kadeřavá drsná srst (Elderteriér), D – mutace v genu FGF5, dlouhá srst (Zlatý retrívr), E – mutace v genech FGF5 a RSPO2, dlouhá měkká srst, knír a obočí (Bearded kolie), F – mutace v genech FGF5 a KRT71, dlouhá kadeřavá srst (Irský vodní španěl), G – mutace ve všech třech genech, dlouhá kadeřavá srst, knír i obočí (Bišon frise).

Převzato a upraveno z: Cadieu, et al., 2009.

	FENOTYP	FGF5	RSPO2	KRT71
A	krátká srst	-	-	-
B	drsná srst, knír, obočí	-	+	-
C	kadeřavá drsná srst	-	+	+
D	dlouhá srst	+	-	-
E	dlouhá měkká srst, knír, obočí	+	+	-
F	dlouhá kadeřavá srst	+	-	+
G	dlouhá kadeřavá srst, knír, obočí	+	+	+



Otázkou je, kde a kdy došlo ke vzniku této mutace. Rozsáhlá analýza mutací v genu u 17 světových populací vlka poukazuje na fakt, že DNA poblíž mutace IGF1 malých psů je nejpodobnější populacím vlků z regionu spojujícího Izrael, Irán a Indii. Výsledky se navíc shodují s vykopávkami malých psů v tomto regionu datovanými na stáří zhruba 12 tis. let. (Gray et al., 2010).

U genu IGF1 bylo objeveno několik mutací v kódující sekvenci, ale ještě nebylo přesně zjištěno, která z těch mutací je přímo odpovědná za různou velikost u psů. Nicméně ohromnou variabilitu ve velikosti psů dokazuje fakt, že nejmenším psem na světě je čivava, která může mít výšku v kohoutku jen 15 cm a váhu do 3 kg. Naopak největší plemena jsou

doga a irský vlkodav, dosahující výšky okolo 90 cm a více. Jejich váha se pohybuje okolo 75 kg (obrázek 3).

Obrázek 3: Různá velikost psích plemen.

Čivava vs. Německá doga

Převzato a upraveno z internetové stránky: <http://s3.amazonaws.com/pixmac-preview/000000156236.jpg>



3.4 Tajemství krátkých psích nohou

Americkými vědci bylo zjištěno, že za dramatickou změnu v délce psích končetin, jako například u jezevčíka nebo basseta, je zodpovědný nový gen vzniklý neobvyklým způsobem.

Po srovnávací genetické studii u krátkonohých plemen psů a psích plemen s normálně rostlými končetinami, bylo zjištěno, že krátkonohost je způsobena pomnožením genu pro růstový faktor FGF4. Došlo zde k retropozici, tj. přepisu molekuly mRNA do DNA a jejímu vmezeření na nové místo genomu. Nová kopie genu se dostala do blízkosti silného promotoru, který zvyšuje aktivitu genu. Psům s takto pozměněnou DNA předčasně kostnatí chrupavčité části kostí a to vede ke zkrácení končetin (obrázek 4) (Parker et al., 2009). FGF4 můžeme tedy považovat za další gen, který se podílí na morfologické variabilitě u psů.

Je zřejmé, že mutace hrají v pestrosti zbarvení, velikosti i struktuře srsti velký význam. U psů vyústili ve velmi zajímavé, neobvyklé a leckdy až jedinečné variace (obrázek 5). Tyto změny mohou být zafixovány v populaci jednotlivých ras a zůstat v ní po mnoho dalších generací, ať už jako užitečné adaptace nebo znaky nesoucí rysy příjemné pro lidské oko.

3.5 KIT u domácích prasat a myši

Prase domácí je domestikovaná forma prasete divokého. Původní (divoké) zbarvení je tmavohnědé až černé, konečky štětín bývají světlejší. Barevné odchylky nebo skvrny se začaly objevovat až po zkřížení s domácími prasaty. Například dominantní bílý fenotyp je způsobený duplikací v genu KIT (Marklund et al., 1998). U prasat se objevují tři alely tohoto genu: recesivní alela, která nese divoké zbarvení, semidominantní alela pro flekatý fenotyp

a plně dominantní alela, která je zodpovědná za bílý pokryv těla (Johansson et al., 1992).

KIT má více funkcí, kromě normální distribuce pigmentových buněk ovlivňuje i distribuci nervových buněk. U myši (homozygotních jedinců) má ale mutace genu KIT jiný účinek než u prasat, často letální. Může se projevit například poruchou slyšení nebo pigmentu (Giebel et al., 1991).

Obrázek 4: Rozdílná délka psích nohou, která je způsobena pomnožením genu FGF4.
Vlevo krátkonohá psí plemena, vpravo plemena s normálně rostlými končetinami.
Převzato a upraveno z: Parker et al., 2009.



3.6 Zbarvení koní

Zbarvení koní je ovlivňováno působením nejméně 16 genů. Z těch hlavních je to gen W (white). Mutace v tomto genu, při které dochází k tvorbě předčasného stopkodónu, a tedy ke zkrácení proteinu, způsobuje bílé zbarvení. Gen má dvě alely: dominantní W a recesivní w . Homozygotní stav W/W je letální, kůň s genotypem W/w je typický albín s nepigmentovanou srstí, kůží i očima a koně w/w jsou pigmentovaní (Haase et al., 2007). Gen E (extension) nese dvě alely: dominantní E , která určuje tvorbu černého pigmentu a recesivní e tvořící červený pigment. Pokud kůň nese recesivní alely e/e , nazývá se ryzák. Dalším genem je A (aguti), který určuje rozmístění černého pigmentu. Pokud je současně přítomen gen G (grey), dochází ke ztrátě pigmentu - tzv. vybělování koní (Kakoi et al., 2009).

Mezi zesvětlující geny, které způsobují ředění přítomného pigmentu, patří gen CR (crem) a jeho mutace, při které dochází k záměně aminokyselin. V tomto případě bude například od hnědáka geneticky odvozen plavák. U genu CH (champagne), ležícím na 14. chromozomu, byla nalezena mutace (nukleotidová substituce v exonu 2), která má také zesvětlující účinek (Cook et al., 2008). Gen G (Gray) leží na 25. chromozomu a vylučuje pigment ze srsti. Hříbě se rodí pigmentované zpravidla s příměsí bílých chlupů na hlavě a s postupujícím věkem ztrácí pigment přítomný v srsti na celém těle – vyběluje se (Pielberg et al., 2005).

Dalšími fenotypovými projevy je tzv. Leopard komplex. Jsou to bílé odznaky vyskytující se nejčastěji u plemene Appaloosa. Neovlivňuje základní zbarvení těla,

pouze ho překrývá. Řadíme sem Mottled (tečkování), které se projevuje výskytem různě velkých teček na pokožce tlamy, očních víček, genitálií a konečníku. Na pigmentované kůži jsou skvrny růžové, na nepigmentované kůži jsou skvrny pigmentované. Tečkování je také spojeno s výskytem pruhování na kopytech. Blanket (deka) je nejběžnější forma odznaků. Bílá plocha (deka) přehozena nejčastěji v oblasti zad s ostře ohraničenými, skvrnitými okraji. V bílé bývají přimísena tmavé odznaky. Leopard je charakteristický výskytem pigmentových skvrn na bílém podkladu. Snowflake (sněhová vločka) se projevuje výskytem bílých skvrn na pigmentovaném podkladu (Sponenberg et al., 1990).

U koní způsobuje barevnou rozmanitost více genů než u psů. Ale mutace, které jsou za to odpovědné, se opět nachází v kódující oblasti a většinou vedou ke vzniku předčasných stopkodónů nebo aminokyselinovým substitucím.

Obrázek 5: Ukázka obrovské variability psích plemen.
Od barvy a velikosti až po délku srsti.
Převzato a upraveno z: Schmutz and Berryere, 2007.



4. Domestikace u holubů

Vzhledem k tématu mé budoucí diplomové práce bych se v této kapitole chtěla jen krátce zmínit o domestikaci a morfologické variabilitě holubů. Holub skalní, který je předkem domestikovaných holubů, existuje na této zemi přinejmenším 20 milionů let. Tuto skutečnost dokazují fosilní nálezy, kterými jsou zbytky kostí uchované ve skalách. Z toho vyplývá, že původní holub skalní žil mezi útesy a skalnatými výběžky, v puklinách a dutinách skal v Africe, Asii, Evropě a Blízkém východě (Darwin, 1875).

První zmínka o holubech pochází z doby Egyptské dynastie - 3000 let př. Kr. Pravděpodobně to souvisí se vznikem chrámových staveb, které různými výklenky poskytovaly dobré hnízdní příležitosti v blízkosti lidí. Tito holubi byli považováni za „hosty bohů“ a byli tedy posvátnými ptáky (Bureš and Zavadil, 1972). Teprve později, když lidé poznali chutnost masa, stal se holub užitečným domácím zvířetem. Tím docházelo k dalšímu rozšiřování. Holubi byli také chováni pro závodění nebo k tomu, aby nosili zprávy. Značnou plasticitou divokého druhu vzniklo množství plemen, navzájem odlišných nejen morfologickými znaky, ale i různými vlastnostmi. Tím si také získali značnou oblibu u lidí.

4.1 Morfologická variabilita u vybraných plemen holubů

Jednotlivá plemena holubů domácích vykazují ohromnou morfologickou variabilitu, ať už se jedná o barvu, změnu anatomických znaků či velikost. Například Kariér má masité přívěsky na hlavě, značně prodloužená oční víčka, zvětšené vnější nozdry a široký ústní otvor. U Kotrláka tvar zobáku připomíná zobák pěnkavovitých, jsou obdařeni dědičným zvykem létat velice vysoko v sevřeném hejnu a vrhat se střemhlav dolů. Runt je plemeno velkých rozměrů s dlouhým masivním zobákem a velkýma nohama, některá podplemena mají velmi dlouhý krk, jiná dlouhá křídla a ocas, jiná krátký ocas. Indián je příbuzný kariéra, ale má velmi krátký a široký zobák. Voláč má značně prodloužené tělo, křídla a nohy, nesmírně vyvinuté vole, které zvětšuje nafouknutím. U Turbita můžeme pozorovat krátký a kuželovitý zobák a na prsou má linii protiběžných per. Parukář má vzadu na šíji obrácená pera - vytváří kapuci, také má prodloužená křídla a ocasní pera. Bublák je typický tím, že vydává velmi odlišný zvuk od ostatních plemen. Pavík má 30-40 ocasních per místo 12-14, nosí je roztažená a napřímená (dotýkají se per hlavy), má zakrnělou mazovou žlázu (Petržílka and Tyller, 2004). Na kostrách plemen můžeme vidět proměnlivé lícni kosti (délka, šířka, zakřivení), spodní čelist (tvar, šířka délka), počet ocasních a křížových obratlů, počet žeber (šířka, výskyt výrůstků), rozměr a tvar otvorů v hrudní kosti, rozevření a rozměry vidlice. Další odlišnosti jsou šířka

ústního otvoru, délka očních víček a nosních otvorů, jazyka, velikost volete a horní části jícnu, vývin nebo zakrnění mazové žlázy. Za povšimnutí také stojí počet křídelních a ocasních per, délka křídel a ocasu k sobě navzájem a k tělu, délka nohou a chodidel, počet štitků na prstech, vývin blány mezi prsty, období plného vypeření, stav chmíří písklat, hlas a temperament, u některých plemen je znatelný i pohlavní dimorfismus (Darwin, 1875). Zatím se ještě neví, jaké geny způsobují tak ohromnou morfologickou variabilitu pozorovanou u holubů.

I přes obrovskou rozmanitost jsou ale všechna plemena potomkem holuba skalního. Holub skalní je břidlicově modrý a má bílý kostřec (místo nad kořenem ocasu), ale jeho indický poddruh *Columbia livia intermedia* má kostřec modravý. Na konci ocasu má temný pruh, spodek vnějších per je vně bíle olemován, na křídlech jsou dva černé pruhy. Některá polodomácí plemena mají kromě dvou černých pruhů také černě skvrnitá křídla (těchto několik znaků se nevyskytuje pohromadě u žádného jiného druhu celé této čeledi) (Bureš and Zavadil, 1972).

Ferální holubi jsou původní domestikanti, kteří posléze utekli do volné přírody. Taková populace holubů vznikla z populací holubů domácích. Ferální holubi byli tedy dříve morfologicky různorodí. V průběhu feralizace ale začal mezi ferálními holubi převažovat fenotyp dosti podobný divokému fenotypu. U ferálních holubů dochází také ke křížení s divokým holubem skalním. Otázkou je, jak to ovlivnilo genetickou variabilitu holuba skalního a zda ještě původní divoký druh v populaci existuje.

5. Závěr

Nesmírná rozmanitost domestikovaných živočichů má jasný genetický základ a často je výsledkem jen několika málo genů, přičemž kombinace jejich alel dává vznik někdy až pozoruhodnému fenotypu. V procesu zrodu nových variant hrají důležitou roli mutace. Většinou jsou to mutace v kódující oblasti, které vedou k záměně aminokyselin nebo ke vzniku předčasných stopkodónů. Ale uplatňuje se také duplikace genů, která rovněž poskytuje evoluci nový genetický materiál. Předpokládá se, že jistou roli budou mít i mutace v regulačních oblastech, které mění míru exprese genu. Mutační změny jsou rychlé procesy, a proto stačí jen několik málo generací k tomu, aby se vytvořil nový fenotyp. Pokud tyto změny nemají výrazně negativní (letální) následek pro svého nositele, mohou se v populaci působením umělého výběru zafixovat. Znalost genetických změn nám tedy umožňuje odhalit a pochopit tajemství fenotypových proměn u domestikovaných živočichů.

6. Návaznost na diplomovou práci

V mé budoucí diplomové práci bych se chtěla zabývat studiem genetické variability u holubů. Jednak proto, že je to jakási tradice v naší rodině a jednak proto, že by bylo zajímavé zjistit, jak genetická variabilita ovlivňuje fenotyp u různých druhů holubů. Mezi domestikovanými ptáky jsou holubi nejvariabilnějším druhem, co se morfologie týče. O čem se ale moc neví, je genetická podstata této variability. Jedním z možných cílů mé diplomové práce bude hledat geny odpovědné za morfologickou variabilitu u domestikovaných holubů. Dalším možným úkolem bude srovnání genetické variability u domácích a ferálních holubů. U ferálních holubů dochází k částečnému návratu k původně divokým znakům. Otázkou tedy je, zda se ferální holubi vrátili na genetickou úroveň předka všech holubů, holuba skalního. A v neposlední řadě by bylo určitě zajímavé zjistit, jak je to vůbec v dnešní době s holubem skalním. Existuje ještě? Nebo už úplně splynul s ferálními holubí, se kterými se kříží?

7. Zdroje a použitá literatura

Berryere T. G., Kerns J. A., Barsh G. S., Schmutz S. M. 2005. Association of an Agouti allele with fawn or sable coat color in domestic dogs. *Mammalian Genome*. 16, 262-72.

Bureš J., Zavadil R. 1972. Příručka chovatele holubů. Vydalo Státní zemědělské nakladatelství, Praha.

Cadiou E., Neff M. W., Quignon P., Walsh K., Chase K., Parker H. G., Vonholdt B. M., Rhue A., Boyko A., Byers A., Wong A., Mosher D. S., Elkahouloun A. G., Spady T. C., André C., Lark K. G., Cargill M., Bustamante C. D., Wayne R. K., Ostrander E. A. 2009. Coat variation in the domestic dog is governed by variants in three genes. *Science*. 2;326(5949):150-3.

Carroll S. B. 2000. Endless forms: the evolution of gene regulation and morphological diversity. *Cell* 101:577–580.

Cook D., Brooks S., Bellone R., Bailey E. 2008. Missense mutation in exon 2 of SLC36A1 responsible for champagne dilution in horses. *PLoS Genet*. 4(9):e1000195.

Darwin C. 1875. The variation of animals and plants under domestication. Vol. II, 2nd edition. London, John Murray, 1875. p. 495.

Darwin C. 2007. O vzniku druhů přírodním výběrem. Nakladatelství Academia, Praha.

Driscoll C. A., Macdonald D. W., O'Brien S. J. 2009. From wild animals to domestic pets, an evolutionary view of domestication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106 Suppl 1:9971-8.

Fogle B. 2007. Psi - velký ilustrovaný průvodce. Nakladatelství Slovart.

Fondon J. W. and Garner H. R. 2004. Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 101(52):18058-63.

Giebel L. B., Spritz R. A. 1991. Mutation of the KIT (mast/stem cell growth factor receptor) protooncogene in human piebaldism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 88(19):8696-9.

- Gray M. M., Sutter N. B., Ostrander E. A., Wayne R. K. 2010. The IGF1 small dog haplotype is derived from Middle Eastern grey wolves. *BMC Biol.* 8:16.
- Haase B., Brooks S. A., Schlumbaum A., Azor P. J., Bailey E., Alaeddine F., Mevissen M., Burger D., Poncet P. A., Rieder S., Leeb T. 2007. Allelic heterogeneity at the equine KIT locus in dominant white (W) horses. *PLoS Genet.* 3(11):e195.
- Hillbertz N. H., Isaksson M., Karlsson E. K., Hellmén E., Pielberg G. R., Savolainen P., Wade C. M., von Euler H., Gustafson U., Hedhammar A., Nilsson M., Lindblad-Toh K., Andersson L., Andersson G. 2007. Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOV1 causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs. *Nat Genet.* 39(11):1318-20.
- Housley D. J., Venta P. J. 2006. The long and the short of it: evidence that FGF5 is a major determinant of canine 'hair'-itability. *Anim Genet.* 37(4):309-15.
- Johansson M., Ellegren H., Marklund L., Gustavsson U., Ringmar-Cederberg E., Andersson K., Edfors-Lilja I., Andersson L. 1992. The gene for dominant white color in the pig is closely linked to ALB and PDGRFRA on chromosome 8. *Genomics.* 14(4):965-9.
- Kakoi H., T. Tozaki, S. Nagata, H. Gawahara & I. Kijima-Suda. 2009. Development of a method for simultaneously genotyping multiple horse coat colour loci and genetic investigation of basic colour variation in Thoroughbred and Misaki horses in Japan. *J Anim Breed Genet.* 126(6):425-31.
- Kerns J. A. Julie, Edward J. Cargill, Leigh Anne Clark, Sophie I. Candille, Tom G. Berryere, Michael Olivier, George Lust, Rory J. Todhunter, Sheila M. Schmutz, Keith E. Murphy and Gregory S. Barsh. 2007. Linkage and Segregation Analysis of Black and Brindle Coat Color in Domestic Dogs. *Genetics.* 176: 1679-1689.
- Kerns J. A., Newton J., Berryere T. G., Rubin E. M., Cheng J. F., Schmutz S. M., Barsh G. S. 2004. Characterization of the dog Agouti gene and a nonagoutimutation in German Shepherd Dogs. *Mamm Genome.* 15(10):798-808.

- Kolesnikov A. 2003. A "Siberian Exile" for Siberians: Will They Ever Be Back. *Cat Magazine "Droug"*. Russia.
- Levine M. and Tjian R. 2003. Transcription regulation and animal diversity. *Nature*. 424:147–151.
- Lightner J. K. 2009. Genetics of Coat Color II. *Answers Research Journal*. 2: 79-84.
- Little C. C. 1957. The Inheritance of Coat Colour in Dogs. Comstock, Ithaca, NY.
- Ložek V. 1973. Příroda ve čtvrtohorách. Nakladatelství Academia, Praha.
- Majzlík I. 2000. Chov zvířat I. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Marklund S., Kijas J., Rodriguez-Martinez H., Rönnstrand L., Funa K., Moller M., Lange D., Edfors-Lilja I., Andersson L. 1998. Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic pig. *Genome Res*. 8(8):826-33.
- Parker H. G., VonHoldt B. M., Quignon P., Margulies E. H., Shao S., Mosher D. S., Spady T. C., Elkahloun A., Cargill M., Jones P. G., Maslen C. L., Acland G. M., Sutter N. B., Kuroki K., Bustamante C. D., Wayne R. K., Ostrander E. A. 2009. An expressed fgf4 retrogene is associated with breed-defining chondrodysplasia in domestic dogs. *Science*. 325(5943):995-8.
- Petržílka S., Tyller M. 2001. Holubi. Nakladatelství Aventinum, Praha.
- Pielberg G., Mikko S., Sandberg K., Andersson L. 2005. Comparative linkage mapping of the Grey coat colour gene in horses. *Anim Genet*. 36(5):390-5.
- Schell J. 1999. Phytohormone-independent division of tobacco protoplast-derived cells: retractions. *Science*. 284(5418):1275.
- Schmutz S. M., Moker J. S., Berryere T. G., Christison K. M., Dolf G. 2001. An SNP is used to map MC1R to dog chromosome 5. *Anim Genet*. 32(1):43-4.

Schmutz S. M., Berryere T. G., Goldfinch A. D. 2002. TYRP1 and MC1R genotypes and their effects on coat colour in dogs. *Mamm Genome*. 13, 380-7.

Schmutz S. M., Berryere T. G. 2007. Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review. *Anim Genet*. 38(6):539-49.

Sponenberg D. P., Carr G., Simak E., Schwink K. 1990. The inheritance of the leopard complex of spotting patterns in horses. *J Hered*. 81(4):323-31.

Sundberg J. P., M. H. Rourk, D. Boggess, M. E. Hogan, B. A. Sundberg, A. P. Bertolino. 1997. Angora Mouse Mutation: Altered Hair Cycle, Follicular Dystrophy, Phenotypic Maintenance of Skin Grafts, and Changes in Keratin Expression. *Vet Pathol*. 3: 171–179.

Sutter B. Nathan, Carlos D. Bustamante, Kevin Chase, Melissa M. Gray, Keyan Zhao, Lan Zhu, Badri Padhukasahasram, Eric Karlins, Sean Davis, Paul G. Jones, Pascale Quignon, Gary S. Johnson, Heidi G. Parker, Neale Fretwell, Dana S. Mosher, Dennis F. Lawler, Ebenezer Satyaraj, Magnus Nordborg, K. Gordon Lark, Robert K. Wayne, Elaine A. Ostrander. 2007. A Single IGF1 Allele Is a Major Determinant of Small Size in Dogs. *Science*. 316(5821):112-5.

Thompson D'AW. 1917. On Growth and Form. NY: Dover.

Trut L., Oskina I., Kharlamova A. 2009. Animal evolution during domestication: the domesticated fox as a model. *Bioessays*. 31(3):349-6.