

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



**Vyhodnocení intenzity zbarvení srsti u starokladrubskeho
vranika s ohledem na liniovou příslušnost**

Diplomová práce

Autor práce: Pavla Kohoutová

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vyhodnocení intenzity zbarvení srsti u starokladrubskeho vranika s ohledem na liniovou příslušnost" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. března 2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé práce, Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za trpělivost, kterou měla se všemi mými otázkami, i za to, že mě vždy nasměrovala správným směrem, a za pomoc se sběrem dat. Dále děkuji doc. Ing. Mgr. Ivanu Majzlíkovi, CSc., který se sběrem dat pomáhal, a doc. Ing. Luboši Vostrému, Ph.D., který poskytoval cenné rady při zpracování dat. Také bych chtěla touto cestou poděkovat vedení Národního hřebčína Kladruby nad Labem a jejich pobočce ve Slatiňanech za umožnění měření na zde ustájených koních a Jezdeckému klubu Pecínov. Ráda bych také poděkovala svým spolužákům za udržování dobré nálady při našich setkáních nad programem SAS, přátelům, rodině a hlavně mému budoucímu manželovi za psychickou podporu.

Vyhodnocení intenzity zbarvení srsti u starokladrubského vraníka s ohledem na liniovou příslušnost

Souhrn

Cílem této práce je předpovědět faktory, které by mohly ovlivňovat intenzitu černé barvy u starokladrubských vraníků. Měření zbarvení srsti probíhalo podle standardizovaného mezinárodního systému CIE (Commission Internationale de l'Éclairage $L^*a^*b^*$), přičemž jako nejdůležitější parametr byl uvažován parametr L^* (světlost/tmavost) a parametr a^* (barevné nasycení v barevné škále od zelené po červenou). Zároveň byl brán v potaz i parametr b^* (barevné nasycení ve škále od žluté do modré) a úplné barevné nasycení pomocí parametru Chroma, který byl vypočten z parametrů a^* a b^* . Změřeno bylo celkem 236 koní obou pohlaví, věku od 1 do 24 let, v různých podmínkách ustájení. Koně byli měřeni na čtyřech místech těla (krk, plec, břicho a záď) pomocí přístroje Minolta Spectrophotometer 2500d, následně bylo použito procedury GLM v programu SAS (SAS Institute Inc., 2012) k otestování vlivu věku, linie, pohlaví, místa měření a období/ustájení na charakteristiky zbarvení srsti ($L^*a^*b^*$). Efekty věk, pohlaví, místo měření a období/ustájení byly shledány statisticky významnými ($p < 0,001$) u všech tří parametrů ($L^*a^*b^*$). Efekt linie byl shledán významným pouze na vyšší hladině významnosti ($p < 0,05$) pouze u parametru L^* a a^* . Nebylo tedy potvrzeno empirické pozorování chovatelů, kteří tvrdili, že koně z linie Romke jsou tmavší než koně z ostatních linií. Toto tvrzení je pravděpodobně neplatné z důvodu toho, že v chovu starokladrubských koní funguje rotační připouštěcí plán a každá linie tedy má v sobě i krev (genetický materiál) ostatních linií. Potvrzena byla rozdílná intenzita barvy v závislosti na období a ustájení. Nejvýraznější změna barvy byla pozorována převážně při permanentním pobytu na pastvě v létě, barva srsti se měnila v závislosti na slunečním svitu. Dále bylo zjištěno, že barva starokladrubských koní s věkem nepatrně zesvětluje. Odhadované iritability byly počítány pomocí programu REMLF90 (Misztal, 1998). Celková heritabilita (tj. heritabilita všech měřených částí těla dohromady) pro parametr L^* dosahovala hodnoty $h^2 = 0,11$. U parametru a^* bylo dosaženo vyšší hodnoty heritability ($h^2 = 0,18$). Samostatnou kapitolou jsou odhadované plemenné hodnoty (OPH) pro čtyři vybrané plemeníky, kteří měli

v testovaném souboru více než 10 potomků. Ve všech parametrech zbarvení ($L^*a^*b^*$) byli tito plemenci shledáni jako mírní zlepšovatelé, v poměru k dosaženým hodnotám OPH ostatních koní ale byli shledáni spíše jako průměrní.

Klíčová slova: starokladrubský kůň – zbarvení srsti – liniová příslušnost – spektrofotometrie

Evaluation of the coat colour intensity according to line affiliation in Old Kladruber black horses

Summary

The aim of this diploma thesis is to estimate the factors, which can influence the intensity of coat colour in black variety of Old Kladruber horse breed. The measurement of coat colour was according to standardized international procedures CIE (Commission Internationale de l'Eclairage L*a*b*) where the most important parameter was considered parameter L* (lightness) and parameter a* (colour saturation from green to red). Furthermore, there was taken into consideration the parameter b* and the total colour saturation which is parameter Chroma (calculated from parameters a* and b*). The total measurement was made for 236 horses of both sexes, aged from 1 to 24 years, in the different housing conditions. Horses were measured at four parts of the body (neck, shoulder, belly and back) with Minolta Spectrophotometer 2500d device and then the measurements were used in GLM procedure in SAS programme (SAS Institute Inc., 2012) to evaluate the influence of age, line, sex, measured place on horse body and season/housing effects to the intensity of coat colour (L*a*b*). The effects of age, sex, measured place on body and season/housing were found statistical significant ($p < 0,001$) at all three parameters (L*a*b*). The effect line was found significant only at higher level ($p < 0,05$) at parameter L* and a* only. The empirical evidence from breeders, which said that the horses of Romke line has darker black colour than the horses of other lines, was not confirmed. This statement is probably invalid due to the rotary breeding plans which means that every line contains blood (genetic material) from the other lines. Dependence of the different intensity of coat colour on the season/housing was confirmed. The highest changes in colour was observed on horses with permanent stay on pasture during summer season, the colour depended on the sunlight conditions. There was also found, that coat colour of Old Kladruber horses gets lighter during years of the horse age. The predicted heritabilities calculated with REMLF90 (Misztal, 1998) programme. Total heritability (i. e. heritability of all body parts together) for L* parameter reached $h^2=0,11$. At parameter a* was reached higher value in heritability ($h^2=0,18$). Finally, there were estimated the breeding values for four chosen stallions that had in the tested population more than 10

offsprings. In all three parameters (L*a*b*) were those stallions found out as a slight improvers, however, compared with all tested individuals was those breeding values discovered as average.

Keywords: Old Kladruber horse – coat colour – line affiliation - spectrophotometry

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíle práce	2
3	Hypotézy	3
4	Přehled literatury	4
4.1	Genetická determinace zbarvení u koní.....	4
4.2	Determinace základních barev koní.....	4
4.2.1	Extension (<i>E</i>)	5
4.2.2	Agouti (<i>A</i>)	6
4.3	Determinace zesvětlených (ředěných) zbarvení	7
4.3.1	Cream (<i>Cr</i>) nebo Colour (<i>C</i>).....	7
4.3.2	Dun (<i>D</i>)	8
4.3.3	Silver nebo Silver dapple (<i>Z</i>)	9
4.3.4	Champagne (<i>Ch</i>)	10
4.3.5	Pearl (<i>Prl</i>)	11
4.4	Determinace bílých (white-based) zbarvení.....	11
4.4.1	Grey (<i>G</i>).....	12
4.4.2	Roan (<i>Rn</i>).....	13
4.4.3	White (<i>W</i>).....	14
4.4.4	Albino (<i>c</i>).....	15
4.5	Determinace strakatých zbarvení.....	15
4.5.1	Tobiano (<i>To</i>)	16
4.5.2	Overo (<i>O</i>).....	17
4.5.3	Sabino (<i>SB</i>)	18
4.5.4	Leopard nebo Leopard complex (<i>Lp</i>)	18
4.6	Kvantitativní charakteristika zbarvení.....	20
4.7	Starokladrubský kůň se zřetelem k vranné variantě.....	21
4.7.1	Historie.....	22
4.7.2	Současný starokladrubský kůň (vraník).....	24
4.7.2.1	Chovný cíl	24
4.7.2.2	Šlechtitelský program.....	25

4.7.2.3	Zkušební řád – zkoušky výkonnosti hřebců a klisen.....	26
4.7.2.4	Řád plemenné knihy.....	26
4.7.2.5	Pojmenování koní.....	28
4.7.2.6	Označování a identifikace plemenných zvířat.....	29
5	Materiál a metody	30
5.1	Soubor (struktura) dat.....	30
5.2	Kvantitativní charakteristika černé barvy jako závisle proměnné	32
5.3	Statistické vyhodnocení výsledků a odhad genetických parametrů	33
6	Výsledky.....	36
6.1	Popisné charakteristiky souboru dat.....	36
6.2	Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu černé barvy	37
6.2.1	Parametr L*.....	38
6.2.1.1	Efekt linie	38
6.2.2	Parametr a*	39
6.2.2.1	Efekt linie	40
6.2.3	Parametr b*	41
6.2.4	Parametr Chroma	41
6.3	Grafické znázornění výsledků.....	42
6.3.1	Parametr L*.....	42
6.3.1.1	Efekt věku	42
6.3.1.2	Efekt pohlaví	42
6.3.1.3	Efekt linie	43
6.3.1.4	Efekt místa měření	43
6.3.1.5	Efekt období/ustájení	44
6.3.2	Parametr a*	45
6.3.2.1	Efekt věku	45
6.3.2.2	Efekt pohlaví	45
6.3.2.3	Efekt linie	46
6.3.2.4	Efekt místa měření	46
6.3.2.5	Efekt období/ustájení	47
6.4	Regrese parametrů v závislosti na věku.....	47

6.5	Fenotypové korelace.....	47
6.5.1	Parametr L*.....	48
6.5.2	Parametr a*.....	48
6.6	Genetické parametry	49
6.6.1	Heritabilita sledovaných znaků.....	49
6.6.1.1	Heritabilita a variance pro parametr L*	49
6.6.1.2	Heritabilita a variance pro parametr a*	49
6.6.1.3	Heritabilita a variance pro parametr b*	50
6.6.1.4	Heritabilita a variance pro parametr Chroma	50
6.6.2	Odhad plemenné hodnoty u vybraných hřebců	51
7	Diskuze.....	52
8	Závěr	56
9	Seznam literatury	57
10	Přílohy.....	62
	Seznam příloh.....	66

1 Úvod

Fascinace zbarvením zvířat je u lidí zakořeněná už od pradávna. A právě tato fascinace přivedla lidi k myšlence, jestli je možné zbarvení u zvířat nějak ovlivnit. Analýzou záznamů z plemenných knih a záměrným pářením zvířat konkrétního fenotypu bylo objeveno, že dědičnost zbarvení u koní se řídí zákony mendelistické genetiky. Moderní metody molekulární genetiky jsou v dnešní době stále více využívány chovateli k uskutečňování jejich chovatelských a šlechtitelských cílů.

Předci dnešních koní byli zbarveni v široké škále hnědých odstínů, které měly za cíl poskytovat ochranu před predátory. Dnešní paleta barev u koní je díky šlechtění značně široká od černé, hnědé nebo ryzé, po bílou a řadě odstínů, až po různě tečkované nebo jinak vzorované zbarvení. Podobně je tomu i u jiných druhů domestikovaných zvířat, které člověk časem přetvořil k obrazu svému. Některé geny pro barvy u koní pravděpodobně fungují podobně například i u myší a jiných druhů savců.

V našich podmínkách je u koní určována barva pouze okem. Jelikož jsou některé nuance u barev okem obtížně odlišitelné, může být mnoho barev určeno nesprávně. To může být problémem v další plemenitbě. Testování na základě analýzy DNA proto může pomoci chovatelům k dosažení požadovaného zbarvení.

2 Cíle práce

1. Kvantitativní charakteristika intenzity černé barvy u starokladrubského koně.
Vytvoření databáze objektivních fenotypových charakteristik zbarvení.
2. Analýza faktorů (genetických a negenetických), které mohou mít vliv na intenzitu černé barvy u starokladrubského vraníka.
3. Odhad genetických parametrů (heritability) pro intenzitu černého zbarvení.
4. Odhad plemenné hodnoty pro intenzitu černého zbarvení u vybraných hřebců.

3 Hypotézy

1. Mezi liniemi starokladrubskeho vranika existuji rozdily v intenzite cerneho zbarveni.
2. Vek ma vliv na intenzitu cerné barvy u starokladrubskeho vranika.
3. Mezi letni a zimni srsti se vyskytují rozdily v intenzite cerné barvy u starokladrubskeho vranika.
4. Na intenzitu cerné barvy ma vliv pohlavi.

4 Přehled literatury

4.1 Genetická determinace zbarvení u koní

Dědičnost barev u koní funguje na principu mendelistické genetiky. V případě koní jsou ale možnosti použití těchto principů omezenější, jelikož koně jsou uniparní zvířata (tj. klisna má standardně jen jedno mládě) a mají poměrně dlouhé období březosti. Prokazatelnost určeného genotypu jen za pomoci mendelistické genetiky by mohla být velmi zdoluhavá (Bowling and Ruvinski, 2000).

Původní barva předků dnešních koní byla v odstínech hnědé, která poskytovala ochranu před predátory. Zbarvení u koní je závislé na dvanácti lokusech, nejdůležitější z nich jsou však dva, lokus Extension (*E*) a lokus Agouti (*A*), které determinují vznik třem základním zbarvením: vraník (black), světlý hnědák (bay) a tmavý ryzák (chestnut). Další zbarvení mohou vzniknout zředěním základních barev (dilution – podílí se několik lokusů) nebo přítomností alespoň jedné dominantní alely na lokusu Grey (*G*), která dává vzniknout vybělujícímu zbarvení u běloušů. Na dalších lokusech se nachází geny, které mají vliv na vznik dalších barev, např. genů pro bílou, díky kterým vzniká tečkované či tygrovane zbarvení. Tato zbarvení se častěji vyskytují u určitých plemen koní. Některé variace a nuance mezi jednotlivými zbarvenými jsou tak nepatrné, že je často lidské oko nemusí zachytit správně. Například kůň ve zbarvení černý hnědák může v určitých světelných podmínkách vypadat jako vraník. Vyvinutí spolehlivého testování na základě analýzy DNA proto může pomoci chovatelům a majitelům při uskutečňování jejich šlechtitelských a chovatelských cílů (Thiruvankadan et al., 2008).

S tím souhlasí i studie Cieslak et al. (2013), podle jejichž výsledků je nutné genetické testování barev. V dané studii bylo několik případů, u nichž barva určená „okem“ hodnotitele nesouhlasila s výsledkem genetického testování.

4.2 Determinace základních barev koní

U savců je základním pigmentem pro zbarvení melanin. Ten se nachází v melanocytech, které nacházíme u dospělých zvířat v chlupových folikulech, v kůži, v duhovce, a některých vnitřních orgánech. Melanin se vyskytuje ve dvou typech, jako eumelanin (který je odpovědný za škálu od hnědé po černou) a phaeomelanin (na kterém závisí odstíny od nažloutlých po načervenalé). Zbarvení srsti závisí na genech, které ovládají expresi pigmentu v melanocytech, nebo na přítomnosti, tvaru, počtu či uspořádání pigmentových granulí. Lokusy, které se podílí na kontrole eumelaninu a phaeomelaninu a které zapínají tvorbu

základních barev (chestnut, bay, black), jsou Agouti (A) a Extension (E) (Bowling and Ruvinski, 2000).

Interakce mezi dvěma základními lokusy je taková, že v případě alespoň jedné dominantní alely na každém z lokusů ($E-A$ -) vznikne hnědé zbarvení, v případě alespoň jen jedné dominantní alely na lokusu E a recesivní sestavy na lokusu A pak vznikne černé zbarvení ($E-aa$). U ryzého zbarvení mohou být obě alely recesivní ($eeaa$) nebo alespoň jedna dominantní na lokusu A a recesivní sestava na lokusu E ($A-ee$) (Rieder, 2009).

4.2.1 Extension (E)

Lokus Extension (E) určuje typ vznikajícího základního pigmentu v srsti. To se může projevit ve zbarvení celého těla a kůň je tedy celý černý, nebo může mít v černé barvě jen distální části končetin, ocas, hřívu, uši a oblast pysků. Geneticky koně mají nebo nemají potenciál k produkci černé barvy podle typu genotypu na tomto lokusu. Alela e je známá jako červený faktor (red factor). Výsledné zbarvení je u heterozygotů (Ee) a dominantních homozygotů (EE) závislé na sestavě genů na lokusu Agouti (A). Pokud je zvíře recesivní homozygot (ee), geny na lokusu Agouti (A) výsledné zbarvení již neovlivní. Výsledné zbarvení je nejčastěji v ryzém odstínu nebo jeho zředění, ale kůže je vždy černě pigmentovaná (Adrian, 2013).

Thiruvankadan et al. (2008) tvrdí, že alely na tomto lokusu snižují nebo zvyšují množství eumelaninu v srsti s opačným efektem k phaeomelaninu. Platí tedy, že dominantní alela E zvyšuje množství eumelaninu a snižuje množství phaeomelaninu a alela e naopak zvyšuje phaeomelanin a snižuje eumelanin. Melanocyty mohou tvořit oba typy melaninu, ale obvykle tvoří jeden nebo druhý, nikoli oba. Produkce eumelaninu je závislá na α -melanocyty stimulujícím hormonu (α -MSH), pokud se však receptory melanocytů nesečkají s tímto hormonem, produkují phaeomelanin.

Podle Sponenberg and Weis (1997) jsou na lokusu E možné dokonce tři alely (E , e , E^D), přítomné u konkrétního jedince ale mohou být jen dvě. Alelu E^D nazývají dominantně černá (dominant black). Alela E umožňuje černohnědému pigmentu rozšíření po celém těle při současné absenci alely A . Recesivně homozygotní sestava (ee) působí podobně, jako přítomnost alely A . E^D pak má zvyšovat černý pigment v jakékoli srsti, dokonce může maskovat přítomnost alely A . To vysvětluje, jak dva černí rodiče mohou mít hnědé hříbě. Existenci alely testovali na několika světle hnědých (bay) a ryzích (chestnut) klisnách, které všechny měly s černým hřebcem (který měl alelu E^D) černá nebo skoro černá hříbata.

MC1R (Melanocortin-1-receptor) je hlavním genem pro ryzou (chestnut) barvu, jehož alely se nacházejí na extension lokusu. Za pomoci metody PCR bylo zjištěno, že rozdíl mezi chestnut (*ee*) a hnědou nebo černou barvou (*E-*) je ve výměně jedné aminokyseliny za jinou (83Ser → Phe) (Marklund et al., 1996).

Podle Sponenberg (2009) existují tři odlišné typy vraníků. Anglická nomenklatura používá pro označení těchto odlišných typů vraníků termíny jet black (lesklá černá srst bez barevných změn v průběhu roku), fading (vraníci s černou barvou bez lesku a možností změn v barvě v letním období) a non-fading (vraníci s uhlově černou a lesklou barvou). Rozdíly v jejich genetické determinaci nejsou dosud známy, předpokládá se, že non-fading zbarvení je vůči fading recesivní.

4.2.2 Agouti (*A*)

Agouti lokus ovlivňuje distribuci černého pigmentu na těle zvířat. Dominantní alela *A* omezuje černý pigment pouze na hřívu, ocas a distální konce končetin. Kontroluje tedy pouze distribuci melaninu a projeví se pouze tehdy, pokud je zároveň přítomná alespoň jedna dominantní alela *E* na Extension lokusu (Bowling and Ruvinski, 2000).

Koně, kteří mají homozygotně dominantní sestavu (*AA*) nebo heterozygotní sestavu (*Aa*) zodpovědnou za limitování exprese černé barvy sice nejsou černí, ale je u nich viditelný tmavší pigment v červeném zbarvení na určitých částech těla. Další alela, která se na tomto lokusu může vyskytnout je *A^t*, která limituje černý pigment a je zodpovědná za zbarvení známé jako černý hnědák (seal brown). *A^t* je zároveň dominantní k alele *a*, ale recesivní k alele *A*. Zároveň však černí hnědáci (seal brown) s výskytem alely *E* a s genotypem *A^tA^t* nebo *A^ta*, vypadali jako hnědáci (bay) s genotypem *A^ta*. Ostatní sestavy genů *AA*, *AA^t* nebo *Aa* determinují různé odstíny hnědé. Homozygotně recesivní jedinec se sestavou *aa* nemá agouti zbarvení, takže pokud by takový kůň měl alelu *E*, byl by černý. Dominantní alela agouti nebude mít žádný vliv u koní recesivně homozygotních v genu *ee*. Působení agouti genu je totiž závislé na černém pigmentu, který se ale u ryzáků nevyskytuje. (Adrian, 2013).

Podle Thiruvankadan et al. (2008) je Agouti lokus spojený s distribucí pigmentu eumelaninu a phaeomelaninu na různých místech těla. U divokého agouti typu (u savců vyjma koní) mají chlupy na konci nebo téměř na konci žlutý pruh díky granulím phaeomelaninu, zatímco na zbytku chlupu jsou černé nebo hnědé pigmentové granule. U koní k žádnému proužkování nedochází, Agouti lokus je zodpovědný pouze za hnědou (bay) nebo černou (black) barvu. Agouti lokus je zároveň odpovědný za tvorbu proteinu, který ruší působení *α-melanocyty*

stimulujícího hormonu (α -MSH) v melanocytech na některých částech těla. Tam převládne tento protein, melanocyty neodpovídají na α -MSH a tvoří phaeomelanin.

Podle Rieder (2009) způsobují geny na Extension lokusu tvorbu Melanocortin-1-receptoru (MC1R), jehož peptidový antagonist je Agouti signalling protein (ASIP), kódovaný na Agouti lokusu, který kontroluje množství melaninu u savců. Zároveň souhlasí s tím, že ASIP ruší působení *α -melanocyty stimulujícího hormonu* (α -MSH).

Podle Rieder et al. (2001) delece na obou alelách na exonu 2 (ADEX2) na Agouti signalling proteinu (ASIP) zcela souvisí s recesivní černou barvou (*aa*). Delece na ADEX2 je nejspíš zároveň odpovědná za regulaci kódování sekvence a ztráty funkce ASIP mutace, což vede k expresi černé barvy.

4.3 Determinace zesvětlených (ředěných) zbarvení

Ředěné zbarvení je vždy zesvětlená barva jedné ze základních barev (kódovaných Agouti a Extension lokusem) (Rieder, 2009).

Podle Thiruvankadan et al. (2008) jsou ředěná zbarvení v jistém smyslu podobná albinotickému fenotypu, jelikož postihují nejen intenzitu zbarvení srsti, ale též zbarvení očí. Fungují však na odlišném principu. Místo snížení množství pigmentových granulí se granula v tomto případě shlukují a jejich počet zůstává stejný. Právě tato koncentrace granulí na určitých místech má za následek zesvětlení základního zbarvení.

4.3.1 Cream (*Cr*) nebo Colour (*C*)

Nejvíce rozšířená zředěná barva se vyznačuje nazlátlým zbarvením srsti u koní s tmavou pigmentací kůže. Mezi tyto koně patří zejména koně ve zbarvení isabela (palomino) a plavák (buckskin). Koně ve zbarvení palomino mají bílé (plavě) zbarvenou hřívu a ocas, oproti nim koně ve zbarvení buckskin mají černou hřívu, ocas i distální části končetin. Zbarvení cremello a perlino také můžeme zařadit do těchto zbarvení, často jsou označovány jako pseudoalbinistická. Koně ve zbarvení cremello mají růžově zbarvenou kůži, modré oči a slonovinově zbarvenou srst. Perlino koně se vyznačují stejným typem zbarvení, mají jen lehce tmavší hřívu a ocas oproti zbytku těla (Bowling and Ruvinski, 2000).

Podle Cieslak et al. (2013) je za cream (*Cr*) zbarvení zodpovědný gen MATP (membrane-associated transporter protein) a PMEL17 (premelanosomal protein 17).

Podle Mariat et al. (2003) může za zbarvení cream příčinná mutace, která je lokalizovaná na exonu 2 na MATP genu. Díky této mutaci se změnil guanin za adenin, což vedlo k výměně

jedné aminokyseliny za jinou (Asp → Asn) a ke zbarvení cream. Tato mutace byla popsána i u myši a lidí.

Heterozygoti pro cream zbarvení (CC^{cr}) jsou zbarvení jako palomino, pokud mají základní barvu červenou (ee) nebo buckskin, když je základní barva hnědá (bay – A-E-). Černí koně (aaE-), kteří mají alespoň jednu dominantní kopii ředícího genu, mohou vykazovat jen nepatrně ředící efekt v srsti. Tito koně jsou nazýváni smoky black („kouřově černí“) a mohou mít též zesvětlenou barvu očí (oříškovou nebo jantarovou) (Sponenberg, 1996).

Geny na Colour (C) lokusu kontrolují akci tyrozinázy a produkci melaninu u ostatních savců, u koní jsou odpovědné za nazlátlou barvu u palomin a buckskinů a velmi zředěnou barvu u cremellů a perlinů. Alela pro zbarvení cream (Cr) ředí phaeomelanin (červený pigment) do žluta, když je genotyp heterozygotní, ale má velmi malý nebo žádný efekt na melanin (černý pigment). Pokud je sestava alel homozygotní ($C^{cr}C^{cr}$), srst je zředěna do vybledlé slonovinové, která je známá jako cremello a perlino. Nové poznatky z molekulárně genetických testů identifikovaly několik ředících genů u albino fenotypu. Geny pro tyrosinazu (TYR) a pro růžové ředění u očí (PED) mají alely pro zvláštní tvorbu pigmentace u jiných savců (např. myš nebo člověk) s efektem na ředění od velmi jemného po extrémní (albino), které jsou nejvíce spojované s cream genem (Cr) u koní (Bowling and Ruvinski, 2000).

Podle Rieder (2009) nemá u černého zbarvení jedna alela cream genu (C^{cr}) žádný vliv na černý fenotyp.

Thiruvenkadan et al. (2008) srovnávají ředící alely s albino alelou co se týče intenzity zbarvení a barvy očí. Podle nich ovšem téměř totožné zbarvení funguje na úplně odlišném mechanismu, konkrétně na shromažďování pigmentových granulí namísto zesvětlování pomocí snižování počtu granulí. Koncentrace pigmentu do nepravidelných shluků vede ke snižování absorpce světla, takže například černá srst díky tomu vypadá jako šedá. Díky shlukování je mnoho melanocytů s pigmentem uvízlých v jádře buňky, takže není možný jejich transport na okraj buňky.

4.3.2 Dun (D)

Oproti alele cream (C^{cr}) je alela dun (D) epistatická u všech základních barev (Extension a Agouti), heterozygoti nejsou pouhým okem rozeznatelní od dominantních homozygotů. Dun zbarvení se často vyznačuje také hřbetním (tzv. úhořím) pruhem, pruhováním na končetinách (podobným zebřímu) nebo jiným druhem tzv. primitivních znaků. Takové znaky se u jiných ředěných barvení srsti nevyskytují a jsou určující pro tento typ ředění pigmentace. Mezi dun

zbarvení lze podle základní barvy zařadit červené dun zbarvení (red dun), žluté dun zbarvení (yellow dun či zebra dun), grullo a „myší“ dun zbarvení (mouse dun) (Rieder, 2009).

Podle Adrian (2013) dominantně homozygotní sestava genu (*DD*) nebo heterozygotní sestava (*Dd*) ředí u koně s černou základní barvou jeho srst do zbarvení grullo, u hnědého základního zbarvení do „klasického“ dun zbarvení, a do červeného dun (red dun) v případě, že základní zbarvení je ryzé. Zároveň se u tohoto typu zbarvení kromě hřbetního pruhu vyskytuje také tmavší zbarvení plece a nohou. Zbarvení očí nebo kůže se nemění a zůstává stejné, jako základní.

Podle Bowling and Ruvinski (2000) dominantně děděné zbarvení dun ředí eumelanin i phaeomelanin. I oni tvrdí, že tento gen způsobuje některé z primitivních znaků, kromě jiného tmavší hlavu, zbarvení nohou, hřbetního pruhu, ramen a někdy i jiných odznaků. Zároveň je ale toho zbarvení často zaměňováno s cream (*C^{cr}*) ředěním a mnoho majitelů a chovatelů koní má potíže se správným určením barvy. Dun (*D*) ředí pigment phaeomelanin do červenorůžového, žlutočerveného nebo žlutého zbarvení, avšak ředí phaeomelanin pouze na těle, nikoliv v hřívě a ocasu. To je rozdíl oproti cream zbarvení (*C^{cr}*). Dun (*D*) také ředí eumelanin na těle do myší šedé barvy, oproti tomu cream (*C^{cr}*) ho viditelně neředí. Vzorování u tohoto typu zbarvení (proužkování) může být od silně viditelného až po velmi slabé, avšak velmi slabé proužkování se může vyskytovat i u neředěných zbarvení. To může způsobovat problémy právě při určování zbarvení u dun a cream. Oproti cream zbarvení není u dun patrný dávkovací efekt. Pokud by kůň měl oba tyto ředící geny (dun i cream), vypadal by jako palomino s dun proužkováním. I přesto, že je tento gen spojován s ředěním barvy u myší, podobnost u koní zatím nebyl vysledována.

Rieder (2009) tvrdí, že protein kódovaný dun lokusem (*D*) zatím nebyl objeven.

Podle Thiruvankadan et al. (2008) u ryzáků dun gen (*D*) zředí barvu do růžovočerveného zbarvení s tmavšími červenými „primitivními“ znaky. Tyto znaky se zároveň téměř nevyskytují u koní, kteří nemají alespoň jednu alelu *D*. Je tedy velmi pravděpodobné, že „primitivní“ znaky jsou nějakým způsobem vázány na tuto alelu.

4.3.3 Silver nebo Silver dapple (*Z*)

Silver dapple (*Z*) zbarvení se vyznačuje plavou hřívou a ocasem spolu s čokoládovým až ryzým zbarvením těla (Rieder, 2009).

Podle Cieslak et al. (2013) je za cream (*Cr*) a silver dapple (*Z*) zbarvení zodpovědný gen *MATP* (membrane-associated transporter protein) a *PMEL17* (premelanosomal protein 17).

Díky mutaci genu MATP dochází k výměně kyseliny asparagové (Asp) za asparagin (Asn), kdežto u genu PMEL17 se jedná o záměnu argininu (Arg) za cystein (Cys).

Odpovědnost PMEL17 za silver zbarvení byla zjištěna Brunberg et al. (2006). Ve výzkumu bylo zjištěno, že u genu PMEL17 se jedná o záměnu Arg → Cys na exonu 11. Dále našli jednu aditivní mutaci na intronu 9, která by také mohla vykazovat asociaci se silver zbarvením.

Rieder (2009) také souhlasí s tím, že PMEL17 gen souvisí se zbarvením silver dapple (Z).

Tento gen se odráží pouze na černém pigmentu, červený (phaeomelanin) pigment nijak nemění. S dominantní alelou (Z) na tomto lokusu je černá základní barva zesvětlena na čokoládově hnědou nebo černočokoládovou a hříva s ocasem jsou zesvětleny do stříbrošedé nebo plavé. Koně s původní hnědou barvou mají zesvětlen nejčastěji jen ocas do stříbrného odstínu (silver-maned chestnut nebo silver bay). U původních ryzáků má alela (Z) podobný dopad, jen s méně výrazným zesvětlením hřívy a ocasu. Často jsou tyto ryzáci nazýváni silver sorrel, ale často se velmi špatně odlišují od zvířat v sorrel zbarvení (Thiruvankadan, 2008).

Bowling and Ruvinski (2000) uvádějí, že koně, kteří mají jako základní barvu hnědou, mohou být se silver (Z) genem zaměněni s ryzáky. I on tvrdí, že gen nemá efekt na zbarvení srsti způsobené phaeomelaninem (např. ryzák), kromě plavé nebo stříbrné hřívy a ocasu, a že je děděno dominantně. Toto zbarvení je často nazýváno silver sorrel, avšak velmi špatně se odlišuje od sorrel zbarvení a občas může být zaměněno se zbarvením palomino.

4.3.4 Champagne (*Ch*)

Champagne (*Ch*) je dominantní gen, který ředí všechny základní barvy nebo modifikace základních barev. Ředí černé zbarvení do hnědé a ryzé do zlatavého. Koně s genem champagne (*Ch*) mají jantarově zbarvené oči a levandulově zbarvenou kůži s tmavšími skvrnkami, které se objevují s věkem.

Podle Cook et al. (2008) je za champagne zbarvení odpovědný SLC36A1 (solute carrier 36 family A1) gen, na jehož exonu 2 byla nalezena záměna aminokyseliny threoninu za arginin (Thr → Arg).

Rieder (2009) tvrdí, že champagne zbarvení může být zaměněno s cream zbarvením nebo se silver zbarvením.

U černé základní barvy se champagne (*Ch*) gen projeví světle hnědým zbarvením s tmavě hnědým ocasem, hřívou a končetinami (classical champagne). S hnědou základní barvou se champagne projeví žlutým zbarvením s hnědými znaky (amber champagne) a u ryzé základní

barvy se projeví žlutozlatou barvou se stejně zbarvenými znaky (gold champagne). S cremello nebo také cream alelou (C^{cr}) se díky aditivní interakci genů tvoří zbarvení zvané ivory champagne, které však není okem rozeznatelné od cremello zbarvení (Thiruvankadan et al., 2008).

Podle Adrian (2013) mají koně ve zbarvení champagne v srsti bronzový nádech s charakteristickými načervenalými skvrnkami na kůži. Oči mohou mít odstín od zelené přes oříškovou po modrou. U dospělých koní tohoto zbarvení se vyskytuje také růžová kůže okolo očí.

Bowling and Ruvinski (2000) tvrdí, že champagne gen působí na eumelanin, který následně tvoří olivové zbarvení a phaeomelanin tvoří žluté nebo zlatavé zbarvení. Kůže je šedě svrnitá, chlupy mají metalické odlesky a barva očí je při narození modrá a s věkem tmavne do oříškova. Zároveň se může stát, že při určité základní barvě srsti může zbarvení koně vypadat jako srst ve zbarvení palomino nebo buckskin bez zesvětlené hřívy a ocasu. Hlavní geny odpovědné za toto zbarvení mohou být pravděpodobně podobné k ostatním ředěným zbarvením.

4.3.5 Pearl (*Prl*)

Adrian (2013) zmiňuje ještě pearl gen (*Prl*) jako další zesvětlující gen, který se projeví jen v recesivní sestavě genů (*prlprl*). Toto zbarvení je také označováno jako barlink factor. U ryzáků se projeví meruňkovým zbarvením srsti. Jedna recesivní alela tohoto genu nemá žádný efekt, pokud není přítomna také jedna dominantní alela cream genu (*Cr*), které se projeví jako u dvou alel cream genu ($C^{cr}C^{cr}$), tedy zbarvením perlino nebo cremello (nebo spíše pseudo-perlino a pseudo-cremello). Pearl zbarvení je často zaměňováno s champagne (*Ch*) zbarvením. Kůže u toho zbarvení je světlá.

Bowling and Ruvinski (2000) ani Thiruvankadan et al. (2008) toto zbarvení nezmiňují.

4.4 Determinace bílých (white-based) zbarvení

Bílá zbarvení mohou mít různé vzezření od celého bílého těla po pouze bílé vzorování s bílými příměsemi chlupů v barevné srsti či úplnou depigmentaci kůže, očí i srsti. Zároveň může jít o zbarvení, které může být v homozygotně dominantní podobě letální (roan a dominant white) (Bowling and Ruvinski, 2000). I přesto jsou tato zbarvení stále v popředí zájmu chovatelů, jelikož v přírodě nejsou a nikdy nebyla příliš častá a stále v sobě mají punc výjimečnosti.

Vybělující bílé zbarvení je možné pouze s minimálně jednou dominantní alelou (G -), nezáleží na základní barvě. Totéž platí pro roan zbarvení (Rn -) a dominant white (W -), u kterých ale může být homozygotně dominantní sestava letální (Rieder, 2009). Úplný albín (albino) by musel mít na lokusu C homozygotně recesivní sestavu (cc), která se ale u koní pravděpodobně nevyskytuje (Thiruvankadan et al., 2008).

4.4.1 Grey (G)

Gen pro Grey (G) zbarvení je odpovědný za progresivní destrukci melaninu s narůstajícím věkem a tedy i za vybělování. Ten je zároveň epistatický ke genům na lokusech E a A (Bowling and Ruvinski, 2000).

Gen pro vybělování (G) pravděpodobně brání melaninovým granulím proniknout do chlupů nebo může zastavit jeho syntézu. Díky tomu dochází k vybělování srsti spolu s věkem, které začíná po vylinání hříběcí plně zbarvené srsti, objevováním prvních bílých chlupů (Rieder et al., 2001).

Na základě výzkumu u lipických koní podle Pielberg et al. (2008) heterozygoti (Gg) vybělují pomaleji a intenzita vybělování nemusí být stejná jako u homozygotně dominantních jedinců (GG). Se stejným výsledkem k tomuto dospěl i tým Hofmanová et al. (2010) u starokladrubských koní.

Vybělování nejčastěji končí okolo 6 – 7 roku věku koně, ale u některých jedinců k úplnému vybělení nemusí dojít nikdy. Alela G je epistatická nad všemi ostatními barvami kromě alely W (white) (Hofmanová et al., 2010).

Podle Thiruvankadan et al. (2008) se vybělující koně rodí s barvou závislou na přítomných genech pro jiná zbarvení a vybělují brzy po narození, nejčastěji se vybělování projeví několika bílými chlupy okolo očí. Poté se progresivně objevují bílé chlupy s narůstajícím věkem. Rozšíření vybělování se různí mezi plemeny. Toto zbarvení má bohužel i negativní vliv, kterým je častější přítomnost melanomů oproti nevybělujícím jedincům. Tyto melanomy jsou zapříčiněny nahromaděním melanocytů a melanofágů v kůži a jsou velmi podobné benigním mateřským znaménkům u člověka. Tyto tumory se nejčastěji vyskytují na ventrálních částech ocasu a v perineální oblasti, mohou se vyskytnout také na hlavě, krku, u slinných žláz nebo v oblasti genitálu.

Podle výzkumu týmu Hofmanová a Majzlík (2006) se u bílé variety koní plemene starokladrubský kůň vyskytuje po 15. roku věku u 82,75 % testovaných koní melanom a

poprvé se může objevit už okolo šestého roku věku. Zatím není znám vztah mezi procesem vybělování a výskytem melanomů, potvrzené bylo jen to, že výskyt melanomu je dědičný.

Vybělující bělouši se rodí s pigmentovanou kůží, která jim, na rozdíl od pigmentu v chlupech, zůstává i po vybělení. Výjimkou z tohoto pravidla jsou bílé odznaky a vilitigo (porucha pigmentace). Data také ukazují, že vybělování je podmíněno starým typem mutace. Vybělující bělouši také nesou mutaci, vedoucí ke ztrátě funkce Agouti signalling protein (ASIP) a díky antagonistickému Melanocortin-1-receptoru (MC1R) se zvyšuje výskyt a rozvoj melanomů. Zatím se neví, co přesně je za výskyt melanomů zodpovědné, jelikož byly nalezeny rozdíly v produkci melaninu mezi chlupovými folikuly a kožními melanocyty (Rieder, 2009).

Podle Pielberg et al. (2008) je vybělování následkem mutace, která vznikla duplikací intronu 6 na STX17 (syntaxin-17). Kromě toho je gen STX17 a také nedaleký NR4A3 pravděpodobně zodpovědný za melanomy u vybělujících zvířat. Vybělující zvířata mají také mutaci, která vede ke ztrátě nebo oslabení funkce ASIP (agouti signaling protein), což má za následek větší četnost melanomů. S tím souvisí zvýšená funkce melanocortin-1 receptoru, která také zvyšuje pravděpodobnost rozvoje melanomů.

4.4.2 Roan (*Rn*)

O roan (*Rn*) zbarvení nebo také vzorování hovoříme v případě, že kůň má v srsti příměs bílých chlupů na jakékoli podkladové barvě. Takové zbarvení je podobné tomu, které můžeme vidět u mladých vybělujících běloušů (Grey), avšak s věkem už se dále progresivněji nemění. Roan zbarvení by ideálně mělo být kombinací 50 % bílých a zbylých 50 % jinak barevných chlupů, ale bílé příměsi by neměly být přítomny na končetinách a hlavě. Poměr bílých a barevných chlupů se často liší. Podle některých studií je dominantně homozygotní sestava na tomto lokusu letální, podle jiných i přesto žijí koně, kteří jsou dominantními homozygoty (Bowling and Ruvinski, 2000).

Thiruvankadan et al. (2008) uvádí, že na místech, kde měl kůň dříve nějakou ránu, se většinou bílé příměsi chlupů později nevyskytnou. Zároveň tvrdí, že homozygotně dominantní sestava tohoto genu (*RnRn*) působí letálně už v děloze.

Nepravidelné vzorování se tvoří díky působení některých genů v okolí slabin, hrudníku a u kořene ocasu, může působit opticky tak, že kůň vypadá jako bíle poprášený nebo lehce zasněžený (Adrian, 2013).

Podle Sponenberg (2009) je bílá skvrnitost způsobena migrací, výběrem nebo funkcí melanocytů. Je několik lokusů, které jsou odpovědné za skvrnitost a prokvetlost u různých druhů zvířat. Jedním z nich je receptor pro endotelin B, což je vazomotorická látka, nebo gen mast cell growth factor (známý spíše jako KIT lokus). Právě tento lokus je zodpovědný za několik různých druhů bílé skvrnitosti, jako je právě roan, sabino, dominantně bílá (dominant white), možná je i spojitost se „stříkanou bílou“ (splashed white) a částečně se zbarvením tobiano.

4.4.3 White (W)

U toho typu zbarvení má kůň (na rozdíl od vybělujícího bělouše) kůži růžovou, bílou srst, ocas i hřívu, a oči nejčastěji v barvě hnědé (Bowling and Ruvinski, 2000).

Bílý (white) gen je determinacním faktorem pro to, jestli kůň bude mít úplnou nebo nebude mít žádnou pigmentaci. Výjimkou v tomto případě jsou oči, čímž se odlišuje od albína (albino). Pigmentace kromě očí v tomto případě zahrnuje i pigmentaci očních víček nebo pochvy. Někdy se dominantně bílí koně nazývají také pseudoalbíni (pseudo-albino) nebo falešní albíni (false-albino). Dominantně homozygotní sestava tohoto genu (WW) je embryonálně letální, podobně jako v případě roan zbarvení, v děloze dochází k absorpci embrya (Adrian, 2013).

U myši a prasat je tento gen spojený s ALB (gen pro albumin), podobně jako je tomu u tobiano a roan zbarvení u koní. U myši je homozygotně dominantní sestava genu (WW) letální, za což pravděpodobně může delece určité části genomu, zároveň je podle Bowling and Ruvinski (2000) spojena s mutacemi v lokusu KIT (lokus mast cell growth factor). Podle těchto skutečností lze předpokládat, že skutečnosti prokázané u myši a prasat jsou analogické k situaci u dominantně bílých koní.

Podle Rieder (2009) je dominantně bílá (dominant white) také spojována s mutacemi na KIT lokusu. Zároveň tvrdí, že i lokus pro sabino (SB) zbarvení se také spojuje s mutacemi na KIT lokusu a že někteří koně, kteří jsou geneticky dominantně bílí, mohou vypadat podobně jako sabino, tj. mít jen bílé tečky nebo skvrny v srsti.

Mau et al. (2004) provedli histologii kůže u dominantně bílého koně (dominant white – W_w), kde objevili melanocyty a melaninová granula na pigmentovaných částech a žádné melanocyty ani melaninová granula nebyla detekována na nepigmentované kůži. Zároveň neobjevili na KIT genu nic neobvyklého, kromě jediné výjimky, a to na intronu 3, kde se u bílých (white) koní vyskytoval alespoň jeden adenin místo guaninu.

Tmavoocí bíle zbarvení koně se zřídka mohou narodit po dvou barevných rodičích, rodí se ale s pigmentovanými chlupy okolo uší a na uších, v hřívě a na zádi, kde s věkem pigment ztrácejí. Bílí koně po tmavém rodiči nebo obou tmavých rodičích se mohou také narodit s velkými pigmentovanými plochami v srsti a nikdy nebudou zcela bílí. Zatím však nebylo zcela objasněno, jak k těmto zvláštním pigmentacím po plně zbarvených rodičích dochází, u určitých plemen se tak děje častěji. U pokusů na myších modelech se jednalo o genovou nestabilitu u určitých genů a aktivitu retropozonů s možnými genovými duplikacemi (v podobě retrotranspozice), které mohly vést až k alteraci této genové sekvence (Bowling and Ruvinski, 2000).

4.4.4 Albino (c)

I přesto, že albín (albino) může na první pohled vypadat jako dominantně bílý kůň (dominant white), jelikož nemá žádný pigment v srsti ani v rohovině, dominantně bílý kůň má pigmentované oči a růžovou kůži. Oproti tomu má albín (albino) oči červené (nebo narůžovělé), tedy také bez pigmentu, a bílou kůži. Nepigmentované oči jsou často poškozené a kůň může hůře vidět nebo může být dokonce zcela slepý. Skutečný albinismus je ale velmi vzácný, častější je záměna s dominantně bílým (dominant white) jedincem (Adrian, 2013). Skuteční albíni mají zároveň normální tvar a počet melanocytů, ale kůži, oči i chlupy mají úplně depigmentované (Rieder, 2009).

Podle Thirukenkadan et al. (2008) řídí albino lokus (c) intenzitu pigmentace srsti, očí i kůže. Albino lokus kóduje enzym tyrozinázu, která je nezbytná pro melanogenezi. Pigmentace je pomocí albino alel zmenšována postupně od tzv. divokého typu alely (wild type) C po recesivní „albino“ alelu c, která je odpovědná za toto zbarvení. Recesivní alely jsou zodpovědné za produkci abnormálních forem tyrozinázy, což může vést až k její úplné neaktivitě, pokud je jedinec homozygotně recesivní (cc). Melanocyty jsou sice přítomny, ale neschopné melanogeneze.

Někteří autoři tvrdí, že se skutečný albinismus u koní nevyskytuje.

4.5 Determinace strakatých zbarvení

Bílá skvrnitost neboli strakatost se může vyskytnout na jakkoli zbarveném pozadí. Zároveň je skvrnitost ovládána zcela jinými lokusy, díky kterým překryje zbarvení daného pozadí (Thirukenkadan et al., 2008).

Skvrnitost může mít různou velikost, tvar i umístění na těle (Rieder, 2009).

Podle Sponenberg (2009) je skvrnitost ovládaná jinými lokusy než ostatní zbarvení. Tyto lokusy mají podíl na funkci, existenci nebo migraci melanocytů a díky tomu jsou následně viditelné různě rozmístěné bílé skvrny. Jeden z těchto lokusů je receptorem pro endotelin B, který je postižen frame mutací. Jiným zodpovědným lokusem může být mast cell growth factor lokus (KIT lokus).

4.5.1 Tobiano (*To*)

Tobiano zbarvení se vyznačuje bílými, nepigmentovanými místy, která jsou charakteristická zřetelným lemováním. Bílá místa dosahují až na hřbet i přes něj a obvykle zasahují na všechny čtyři končetiny. Hlava nenese žádné znaky skvrnitosti, může mít obvyklé odznaky, známé u základních zbarvení (Rieder, 2009).

Podle Thiruvankadan et al. (2008) mají koně ve zbarvení tobiano vždy tmavé oči.

Zbarvení se může vyskytovat na libovolném podkladě. Vzor se objevuje už po narození díky růžově zbarvené kůži na určitých místech. Mezi tato místa můžeme zařadit výše zmíněné nohy. Bílé plochy přecházejí přes páteř, jsou na krku a kohoutku. Bílé zbarvení je na těle ve velkých plochách, ale jsou velmi variabilní v rozsáhlosti a jsou jen minimálně symetrické. Zároveň se uvnitř bílých ploch mohou nacházet barevné skvrny (tzv. sekundární skvrnitost). U tohoto zbarvení od sebe nejsou okem nerozpoznatelní dominantní homozygoti a heterozygoti (Bowling and Ruvinski, 2000).

Gen pro tobiano (*To*) zbarvení tvoří podle Andersson and Sandberg (1982) vazbovou skupinu LG II s geny pro ALB (albumin), GC (vitamin D binding protein), *E* (extension gen), ES (esterázu) a *Rn* (roan zbarvení).

Polymorfismus MSP1, identifikovaný na intronu 13 (substituce cytosinu za guanin) lokusu KIT byl zjištěn u koní s jednolitým zbarvením (solid) a u koní ve zbarvení tobiano. Jeho součástí je alela KM1, která je odpovědná za tobiano zbarvení. Tato alela však byla ve výzkumu Brooks et al. (2002) nalezena také u několika koní (3 ze 129) s jednolitým zbarvením, proto asociace alely se zbarvením není absolutní. I přesto je tato metoda k určení domnělých homozygotů pro tobiano zbarvení mnohem účinnější než současná metoda, při které se využívá albuminu (ALB) a alely GC (vitamin D binding protein gene).

Podle Bowling and Ruvinski (2000) je tobiano třetím zbarvením (vedle dominantně bílé a roan zbarvení), u kterého se diskutuje o možnosti, že je spojeno s alelami na KIT lokusu.

Podle Sponenberg (2009) je KIT lokus zodpovědný za zbarvení roan, sabino I a dominantně bílou a s největší pravděpodobností i se „stříkanou“ bílou (splashed white) nebo s tobiano zbarvením.

4.5.2 Overo (*O*)

Overo je podle Bowling and Ruvinski (2000) název, který se používá pro všechna skvrnitá zbarvení, která jsou odlišná od tobiano zbarvení nebo leopard zbarvení. Overo zbarvení je viditelné už při narození a může se vyznačovat bílým zbarvením na malých i velkých plochách. Velmi časté jsou asymetrické skvrny po stranách krku a na bříše, časté jsou i bílé nohy. Overo jedinec je vždy heterozygot v Overo lokusu (*Oo*).

I když většina autorů tvrdí, že bílá barva u overo zbarvení nesahá přes hřbet, Adrian (2013) s tím nesouhlasí a tvrdí naopak, že bílá sahá přes hřbet téměř vždy.

U tohoto zbarvení je znám syndrom úhynu bílých hříbat (OLWS), který je dáván do souvislosti s pářením overo jedinců mezi sebou. Tato hříbata jsou na lokusu Overo dominantně homozygotní (*OO*) (Bowling and Ruvinski, 2000).

Podle výzkumu Metallinos et al. (1998), ve kterém bylo testováno 40 koní ve frame overo zbarvení, nebyl žádný z těchto koní dominantně homozygotní na lokus Overo (*OO*), všichni byli heterozygoti (*Oo*). Zároveň otestovali 10 uhynulých bílých hříbat, která byla všechna na lokusu Overo dominantně homozygotní (*OO*).

Patologie tohoto syndromu je známá tím, že hříbata postrádají střešní nervová ganglia a zároveň mají nedostatek pigmentu (bílá barva), což jsou stejné příznaky, které byly zjištěny i u lidí s Hirschsprungovou chorobou (Santschi et al., 1998; Rieder, 2009).

Syndrom úhynu bílých hříbat se zdá být stejný jako podobný syndrom u myší zbarvení piebald. S tímto syndromem je dávána do spojitosti mutace v endotelin B receptoru, která zapříčiňuje změnu dinukleotidu TC v AG, což má za následek změnu aminokyseliny lysinu v izoleucin a tím i rozvinutí choroby. Za overo fenotypem ale může být více genů, jako je tomu u bílé skvrnitosti u lidí, kde byly nalezeny mutace nejen pro endotelin 3 (EDN3), ale i pro RET prot-onkogen (RET) a Waardenburgův syndrom (PAX3) (Bowling and Ruvinski, 2000).

U overo zbarvení je velmi častá bíle zbarvená většina hlavy, končetiny jsou bílé jen částečně nebo vůbec a velmi často mají tyto koně modré nebo částečně modré oči. Bílé části těla jsou často nepravidelně rozmístěné po těle. V některých zemích je možné tento typ zbarvení nalézt pod pojmem piebald (černobílá) nebo skewbald (jiná barva s bílou). Někteří autoři k overo

zbarvení řadí kromě toho i tzv. frame overo, zbarvení sabino a „stříkanou“ bílou, někteří naopak tvrdí, že jsou tato zbarvení geneticky odlišná (Thirukenkadan et al., 2008).

4.5.3 Sabino (*SB*)

U tohoto zbarvení jsou nejčastěji z větší části bílé nohy a hlava, kdežto na břicho je častější spíše tečkování než velké skvrny (Brooks and Bailey, 2005; Thirukenkadan et al., 2008).

Polymorfismus jednoho nukleotidu (single nucleotide polymorphism = SNP) v KIT intronu 16 je odpovědný za přeskočení exonu 17 a je příčinou zbarvení sabino I. Tento polymorfismus (SNP) mohou mít kromě koní ve zbarvení sabino I také některá celobílá zvířata. Avšak ne všechna sabino zvířata tento polymorfismus mají. (Rieder, 2009).

SNP u tohoto genu má za následek výměnu thyminové báze na intronu 16 za adeninovou. Celobílá zvířata jsou v tomto polymorfismu homozygotní (tzn. že oba dva introny 16 na alele přeskakují exon 17), zatímco sabino I jsou heterozygotní (Brooks and Bailey, 2005; Thirukenkadan et al., 2008).

Podle výzkumu Brooks and Bailey (2005) mohou být celobílá zvířata také heterozygotní v sabino I lokusu za předpokladu, že mají v genotypu více druhů bílého vzorování. Tento SNP je zodpovědný za přeskočení exonu 17 pouze u sabino I fenotypu, u ostatních sabino fenotypů se na utváření tohoto zbarvení podílí jiné mechanismy.

4.5.4 Leopard nebo Leopard complex (*Lp*)

Pod názvy leopard, leopard spotting či leopard complex najdeme často také označení appaloosa gen, protože toto zbarvení najdeme nejčastěji právě u tohoto plemene. Tito koně mají v srsti symetrické bílé skvrny nebo kropenatý vzor po celém těle či na určitých místech (bedra, záď, hřbet). U těchto koní je také obvyklé tečkování na tmavé kůži (často v oblasti genitálií, rekta a huby, objevuje se i proužkování na kopytech a bílé rámování očí (Adrian, 2013).

Bílé vzorování se může začít rozšiřovat až okolo pátého roku života koně, ale některá vzorování jsou patrná už od narození. Zbarvení se může vyskytnout u všech základních barev koní a může být přítomno i s dalšími skvrnitými zbarveními (tobiano a overo). Existuje hypotéza, že leopard gen funguje jako neúplně dominantní gen, takže koně homozygotně dominantní (*LPLP*) mají na těle více bílé v menším počtu velkých skvrn (jsou známí jako few-spot leopards) na rozdíl od heterozygotů (*LPlp*), kteří mají více menších bílých skvrn (Bowling and Ruvinski, 2000).

U koní homozygotních v tomto genu (*LpLp*) je také velmi častá noční slepota nebo jiná oční onemocnění. Vrozená noční slepota (CSNB – congenital stationary night blindness) je spojovaná se třemi polymorfismy jednoho nukleotidu (SNP) v oblasti genu TRPM1 (transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 1), který je dáván do souvislosti s leopard complexem (Bellone et al., 2008; Sandmeyer et al., 2012). TRP proteiny mají pravděpodobně roli v kontrole koncentrace intracelulárního Ca^{2+} . Snížená exprese TRPM1 v očích a kůži může pozměnit bipolární signalizaci buňky a funkci melanocytů, což může být příčinou spojitosti vrozené noční slepoty (CSNB) s leopard complexem (Bellone et al., 2008).

Bowling and Ruvinsky (2000) uvádí, že toto zbarvení se nazývá také tiger spotting a bílé skvrny (nebo prokvetlost) jsou nejčastěji na bocích. Kompletní zbarvení se ukáže až ve věku okolo pěti let, ale už při narození je patrné na kůži tečkování. Zároveň bílá barva může být na jakémkoli podkladě, který může být zesvětlen nebo ztmaven a mohou být přítomny také bílé znaky jiných zbarvení (tobiano, overo). Srst ve skvrnách má často jinou texturu, která je patrná častěji v zimní srsti. Genem, který je možná odpovědný za toto zbarvení, je MITF (microphthalmia-associated transcription factor), který je zodpovědný také za vilitigo.

Leopard gen je zároveň dáván do spojitosti s pink eye dilution („růžové zesvětlení oka“) a TRPM1 (transient receptor potential channel subfamily M member 1) neboli MLSN1 (melastanin). Snížená exprese TRPM1 v kůži a sítnici je nejspíš zodpovědná za noční slepotu u leopardů. TRP bílkoviny nejspíše hrají roli v kontrole koncentrace vápníku (Ca^{2+}) v buňkách (Rieder, 2009).

Podle Thiruvankadan et al. (2008) existuje podobnost mezi leopard complexem a genem *Rw* (rump-white = bílá zád') u myši.

Tab. 1: Přehled fenotypových projevů zbarvení s genotypy na jednotlivých lokusech (pomlčka v řádku znamená libovolnou kombinaci na příslušném lokusu, u písmena značí libovolnou druhou alelu stejného typu – dominantní nebo recesivní)

Alely →	White	Grey	Black	Red	Cream/ Colour	Champagne	Dun	Silver dapple	Roan	Tobiano	Overo	Leopard Spotting	Sabino
Fenotyp ↓	W	G	E	A	CCr/C	CH	D	Z	RN	TO	O	LP	SB
White	Ww	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grey	ww	G-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chestnut	ww	gg	ee	-	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Bay	ww	gg	E-	A-	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Black	ww	gg	E-	aa	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Smoky black	ww	gg	E-	aa	CCrC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Smoky cream	ww	gg	E-	aa	CcrCcr	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Champagne	ww	gg	E-	aa	CC	CH.	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Palomino	ww	gg	ee	-	CcrC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Buckskin	ww	gg	E-	A-	CcrC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Perlino	ww	gg	E-	A-	CcrCcr	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Cremello	ww	gg	-	-	CcrCcr	chch	-	-	-	-	-	-	-
Grullo	ww	gg	E-	aa	CC	chch	D-	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Red Dun	ww	gg	ee	-	CC	chch	D-	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Bay Dun	ww	gg	E-	A-	CC	chch	D-	zz	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Silver dapple	ww	gg	E-	aa	CC	chch	dd	Z.	rnrn	toto	oo	lppl	sbsb
Tobiano	ww	gg	-	-	CC	chch	dd	zz	rnrn	TO-	oo	lppl	sbsb
Overo	ww	gg	-	-	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	O-	lppl	sbsb
Leopard	ww	gg	-	-	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	LP-	sbsb
Sabino	ww	gg	-	-	CC	chch	dd	zz	rnrn	toto	oo	lppl	SB-
Roan	ww	gg	-	-	CC	chch	dd	zz	RN-	toto	o	lppl	sbsb

4.6 Kvantitativní charakteristika zbarvení

Různodost zbarvení má na svědomí především melanin, na kterém závisí podoba pigmentových granulí v melanocytech. Dědičnost zbarvení byla studována převážně na základě kvalitativních charakteristik (Bowling and Ruvinski, 2000).

Objektivního posouzení genetických parametrů lze ale dosáhnout také kvantitativně za pomoci spektrometrického posouzení reflektance. Pro potvrzení kvantitativního posouzení

barvy je také možné použít vztahu mezi světlostí/tmavostí (parametrem L^*) a celkovým obsahem melaninu v chlupech (Toth et al., 2006).

K měření je nejčastěji používán standardizovaný mezinárodní postup Commission Internationale de l'Éclairage $L^*a^*b^*$ (zkráceně CIE $L^*a^*b^*$), jehož jednotlivé složky v sobě spojují měření světlosti/tmavosti L^* (lightness), červenost a^* (redness) a žlutost b^* (yellowness). Z těchto hodnot se dá zároveň vypočítat ještě sytost barvy (Chroma). Kromě těchto znaků lze pomocí této metody měření posoudit i parametry dědičnosti (Curik et al., 2013).

Podle týmu Toth et al. (2006) závisí snižování parametru L^* na zvyšování celkového obsahu melaninu v chlupech. Změny v parametru L^* jsou zároveň spojovány se změnami intenzity zbarvení srsti, které se s léty může měnit v závislosti na věku (Toth et al., 2006; Curik et al., 2013).

Černé a bílé zbarvení srsti s sebou také nese nižší hodnoty v parametrech a^* , b^* a Chroma díky téměř achromatickému založení zbarvení běloušů a vraníků. Koeficient heritability pro parametr L^* u skupiny barevných koní (tj. vraníků, hnědáků a ryzáků) byl pomocí měření na různých částech těla koní (krk, plec a břicho) odhadnut na relativně nízké úrovni ($h^2 = 0,21$), pokud se bere jako srovnání koeficient heritability pro zbarvení u brojleřního masa ($h^2 = 0,50 - 0,57$). Oproti hodnotám parametru L^* vykazovaly ostatní parametry (a^* , b^* , Chroma) o mnoho vyšší heritabilitu ($h^2 = 0,79 - 0,85$), ale nižší opakovatelnost (Toth et al., 2006).

Oproti barevným koním vstupuje do popředí u běloušů také proměnlivost v úrovni vybělení v závislosti na věku. Podle týmu Curik et al. (2013) lipičtí koně do šesti let vykazují značnou fenotypovou proměnlivost v úrovni vybělení a v deseti letech dosáhla zvířata svého konečného zbarvení. U barevných koní nic v takovém měřítku zjištěno nebylo, jediný možný vliv byl pozorován z hlediska sezon u šedáků (blue dun) plemene polský koník (léto/zima) (Stachurska et al., 2004).

Heritabilita pro vybělování dosáhla v porovnání s barevnými koňmi u homozygotně dominantních koní v lokusu G (GG) vysoké úrovně ($h^2 = 0,76$) (Curik et al., 2013).

4.7 Starokladrubský kůň se zřetelem k vrané variantě

Starokladrubský kůň je teplokrevným plemenem, vzniklým na podkladě starošpanělské a staroitalské krve. V České republice se plemeno kontinuálně chová už přes 400 let a je zároveň naším jediným autochtonním plemenem (Dušek et al., 2011).

Starokladrubský kůň je jedinečným národním plemenem, jehož bílá varianta je národní kulturní památkou (od roku 2002) (Misař, 2011).

V roce 1996 došlo k uzavření plemenné knihy proti imigraci cizích genů, takže do plemenitby už nesmí vstoupit žádné zvíře, které není zapsané v plemenné knize. Toto opatření bylo uskutečnitelné díky úspěšně ukončené regeneraci starokladrubského vraníka a zvyšujícím se početním stavům koní tohoto plemene (Machek, 2010).

4.7.1 Historie

Kladrubský hřebčín byl založen v roce 1579 Rudolfem II. s cílem produkce koní pro španělský císařský dvůr a vojenské potřeby (Dušek et al., 2011).

Samostatná plemenná kniha je vedena už od roku 1757. Kladrubský hřebčín měl na počátku mnoho společného s hřebčínem Lipica, původně zde byli ustájeni a šlechtěni koně starošpanělští a staroitalští (neapolští) (Misař, 2011).

Okolo roku 1830 se rozhodla správa dvorních hřebčinů chovat v kladrubském hřebčíně mohutnějšího kočárového koně a koně k ceremoniálním účelům (galakarosiéra), díky čemuž byl tento typ preferovaný i u italsko-španělských koní (Misař, 2011).

S tímto cílem byli do Kladrub dováženi koně ze Španělska a Itálie. Tito koně byli podstatně mohutnější a byli také většího rámce. Původně byla populace koní barevně pestrá, škála sahala od plaváků, hnědáků a vraníků přes ryzáky až po bělouše, albíny a strakoše. Později se chov ustálil pouze na dvou barevných variantách – vrané a bílé (Dušek et al., 2011).

Vraný hřebec Peppoli (1764) z takto chovaných koní zplodil s bělkou Aurora bělouše Imperatore (1775), který dal s vrankou Mosca zakladatele nejstaršího kmene starokladrubských běloušů Generale (1787). On sám měl syna s klisnou Bellonou, který se stal zakladatelem dalšího kmene Generalissimus (1797). Ten se udržel v chovu až do roku 1929. Linie byla obnovena až prostřednictvím poslední dcery linie 407 Generalissimus a pokračovatelem kmene Generale, hřebcem Generalissimus XXIII.

Později založili kmen vraníků dva italsko-španělští hřebci stejného jména Sacramoso, další založil italsko-španělský vraník Napoleone. Napoleone měl ve svém původu i koně způsobilé pro tah. Kmen Napoleone však později zanikl (Misař, 2011).

Od počátku 19. století bylo kladrubské stádo doplňováno koňmi z arcibiskupského hřebčína Reiss a importy z Dánska a Holštýnska. Především dánští koně odpovídali svou mohutností, ušlechtilostí i silou požadovanému typu. Od roku 1827 bylo k rozšíření krevní základny a ke korekci tělesné stavby používáno arabských koní a lipicánů, v roce 1950 se jednalo o hřebce Favory a 5 lipických klisen. Později byla genetická základna běloušů neúspěšně rozšiřována orlovským klusákem a úspěšněji andaluským hřebcem Rudolfo. Taktéž neúspěšné bylo

rozšiřování základny o anglického plnokrevníka nebo plemena podobného typu. Stádo vraníků se snažilo o rozšíření základny z podobných zdrojů jako stádo běloušů a navíc ještě z arcibiskupského hřebčína v Kroměříži (Misař, 2011).

Po vzniku ČSR byl chov plemene redukován, stádo vraníků bylo roku 1932 přesunuto z Kladrub do hřebčína olomouckého arcibiskupství v Hukvaldech a později rozpuštěno (rozprodáno). O obnovu plemene se naštěstí zasadil prof. MUDr. et PhDr. Bílek, který vypracoval projekt k regeneraci plemene. Pro regeneraci starokladrubského vraníka bylo sestaveno stádo ze zbytků dřívějšího vraného stáda (3 hřebci a 7 klisen), ze smíšených běloušů a vraníků (5 klisen), čistokrevných i křížených starokladrubských běloušů (15 klisen), lipicánů (18 klisen) a klisen neznámého původu, orlovských klisen a teplokrevných klisen českého chovu (11 klisen) (Misař, 2011).

Počátky regenerace probíhaly v hřebčíně v Průhonicích v letech 1940 až 1946. V roce 1946 byl chov vrané varianty přemístěn do Slatiňanského hřebčína, kde regenerační proces pokračoval.

Díky regeneraci byly zachovány typické plemenné znaky, zároveň byly zlepšeny některé exteriérové nedostatky i chody. Mezi nejpodstatnější zlepšení lze zařadit zlepšování tělesného rámce a zvětšení tělesné výšky o několik centimetrů. Úměrně k tomu došlo také k zvětšení obvodu hrudníku a holeně. Zlepšení těchto znaků bylo markantní už u F4 generace. Později se také podařilo navýšit podíl kladrubské krve na hodnoty podobné u běloušů (Dušek et al., 1992).

Na úspěchu první vlny regenerace měl hlavní podíl kvalitní hřebec Sacramoso XXXI (1927), který byl zakladatelem linie Solo (Dušek et al., 2011).

Typ starokladrubského vraníka sjednotili kromě Sacramoso XXXI (Solo senior) i 530 Sacramoso XXIX-3 Avara a Sacramoso XXX (kladrubolipický hřebec), kromě nich dále Maestoso I, Pluto II, 260 Neapolitano Gratia a Siglavi Pakra (lipický hřebec). Díky těmto plemeníkům bylo stádo typově sjednoceno a vytvořen modernizovaný typ starokladrubského vraníka. Později bylo použito v chovu i fríského hřebce Romke (1966), zakladatele dalšího kmene (Misař, 2011).

Fríský hřebec Romke ovlivnil vrané stádo starokladrubského koně v několika vlastnostech, hlavně dopomohl k ustálení barvy s minimem odznaků a ke zlepšení mechaniky pohybu. V prvopočátcích bylo jeho použití v chovu (u F1 generace) hodně diskutované, v delším časovém horizontu je ale jeho přínos nesporný.

V druhé polovině 19. století přestal být zájem o koně k reprezentačním účelům. Díky tomu se šlechtění galakarosíerů ocitlo v izolaci a čelilo depresi z příbuzenské plemenitby. Správa hřebčína tomuto nebezpečí čelila kromě výše zmíněného použití cizích plemen také vzájemným pářením běloušů s vraníky. Nevýhodou byla následná delší doba vybělování u běloušů z tohoto spojení (Misař, 2011).

4.7.2 Současný starokladrubský kůň (vraník)

4.7.2.1 Chovný cíl

Cílem je zachování jediného původního českého plemene koní typu galakarosíera, s důrazem na jeho použití k ceremoniálním a reprezentačním účelům, soutěžím spřežení, drezuře, baroknímu ježdění a rekreačnímu ježdění.

Starokladrubský kůň se svým exteriérem velmi odlišuje od jiných kočárových koní díky své typické klabonosé hlavě s výrazným tmavým okem. Je to kůň středně velkého až velkého, mírně obdélníkového rámce s korektní stavbou těla a harmonickými proporcemi. Krk má vysoko nasazený, přiměřené délky, klenutý a dobře osvalený. Má méně znatelný kohoutek, který navazuje na středně dlouhý hřbet s dobře vázanými bedry. Hrudník je středně široký a hluboký, lopatka je přiměřeně dlouhá, její úhlení umožňuje typickou vysokou akci. Zád' je středně široká, zezadu oválná nebo mírně střechovitá a dobře osvalená. Končetiny jsou přiměřeně kostnaté, se širokými a pevnými kopyty, klouby jsou výrazné, suché. Starokladrubský kůň je charakteristický mechanikou pohybu s vysokou klusovou akcí hrudních končetin a kadencovanými chody. Žádoucí jsou vraníci a bělouši, tolerovaní jsou hnědáci a ryzáci (Šancová, 2010).

Bělouši musí být vybělující, jejich kůže je tmavošedě pigmentovaná, s výskytem bílých znaků (růžová kůže), u hříbat při narození může mít srst různé odstíny základních barev a různý stupeň prokvetlosti.

Vraníci mají kůži tmavošedě pigmentovanou vyjma odznaků růžové barvy, bílé odznaky jsou nežádoucí, menší bílé odznaky jsou přípustné na spodní části končetin a na hlavě.

Vyskytují se tři typy vraníků:

- vraníci s uhlově černou a lesklou barvou po celé roční období,
- vraníci s černou barvou bez lesku,
- vraníci s černou barvou bez lesku, kteří v letním období vykazují hnědý nebo ryzí nádech černé barvy (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012; Sponenberg, 2009).

1. Svou povahou a vyspělostí se řadí mezi pozdní plemena. Plemeno je ceněno pro svou dlouhověkost, dobrou plodnost, pevnou konstituci, adaptabilitu a dobrou krmitelnost. Starokladrubští koně jsou živého temperamentu, vyrovnaného charakteru, mají být snadno ovladatelní, učenliví, pracovití a dobře spolupracující s člověkem (Šancová, 2010).

Kohoutková výška hůlková (KVH) by se měla pohybovat ve věku 4 let u hřebců od 162 do 174 cm s průměrem 165 cm a u klisen od 159 do 171 cm s průměrem 164 cm (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012).

Současná populace se skládá z 5 čistokrevných klasických kmenů (Generale, Generelissimus, Sacramoso, Solo, Favory) a 3 čistokrevných neklasických kmenů (Siglavi Pakra, Romke, Rudolfo). Mezi kmeny vraníků patří Solo a Siglavi Pakra, kmeny Generalissimus, Sacramoso a Romke se vyskytují v obou barevných variantách (Šancová, 2010).

Zakladatelek čistokrevných klasických rodin je osm, neklasických čistokrevných zakladatelek rodin je sedm. Mezi čistokrevné zakladatelky klasických rodin patří: Africa, Rava Deflorata, Almerina, Sardinia, Ragusa, Cariera, Madar VI. Mezi neklasické čistokrevné zakladatelky patří: 15 Narcis (I), 67 Xandra, 154 Bárta, Favira Č3912, Dana (G) Č3934, 292 Ritorna, Gita (G) Č399 (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012).

4.7.2.2 Šlechtitelský program

Šlechtitelský program zahrnuje opatření, která směřují k zajištění chovného cíle. Nejdůležitějšími body šlechtitelského programu jsou (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012):

1. Informační systém údajů o zvířatech
2. Označování a identifikace zvířat
3. Evidence, registrace a ověřování původu zvířat
4. Kontrola užitkovosti (vlastnosti produkční – růst a vývin, vlastnosti reprodukční – samčí a samičí plodnost a dlouhověkost, kontrola dědičnosti/zdraví)
5. Kontrola výkonnosti (zkušební systém – zkoušky výkonnosti a sportovní výkonnost)
6. Popis, evidence a vyhodnocení znaků lineárního popisu
7. Ocenění genetické hodnoty (odhad plemenné hodnoty)
8. Selektce
9. Sestavení a realizace přípařovacích plánů
10. Využití biotechnických metod ve šlechtění.

4.7.2.3 Zkušební řád – zkoušky výkonnosti hřebců a klisen

Před zapsáním do plemenné knihy (kromě klisen zařazených do přípravného oddílu 2.PPK), musí nejméně čtyřletí hřebci a klisny požadovaného původu (podle Řádu PK) absolvovat přiměřený výcvik zakončený zkouškami výkonnosti, které jsou dvoudenní, dále posouzení celkového tělesného vývinu podle růstového standardu, musí být zdraví (prosti dědičně podmíněných konstitučních vad a chorob), musí odpovídat posuzovaným znakům s použitím desetibodové stupnice s možností použití půlbodů (typ a pohlavní výraz, exteriér, výkonnost) (Šancová, 2010).

Slovně jsou znaky vyjádřeny následovně (Řád plemenné knihy starokladrubskeho koně, 2012):

- 1 – 2 body nedostatečně
- 3 – 4 body podprůměrný
- 5 – 6 bodů průměrný
- 7 – 8 bodů nadprůměrný
- 9 – 10 bodů vynikající.

Typ a pohlavní výraz (A) je posuzován podle charakteristiky v chovném cíli. V exteriéru (B) se hodnotí tyto části: hlava, krk, hřbet a bedra, hrudník, záď, končetiny hrudní (včetně kopyt), končetiny pánevní (včetně kopyt), celkový soulad. Ve výkonnosti (C) se hodnotí jednak výcvik (C1), dále disciplíny výkonnosti – příjezděnost (C2), mechanika pohybu (C3), maraton (C4), ovladatelnost spřežení (C5) a spolehlivost v tahu o samotě (C6). Podmínkou úspěšného absolvování zkoušek je získání min. 5 bodů u typu a exteriéru a min. 4 bodů u každé z částí ve výkonnosti (C1, C2, C3, C4, C5, C6). Pokud kůň nesplní jen jednu z disciplín, může tuto disciplínu opakovat maximálně 2x. V případě zranění v průběhu zkoušek může kůň opakovat celé zkoušky nebo jen disciplíny, které neabsolvoval (Šancová, 2010).

V chovu se využívá příbuzenská plemenitba, koeficient příbuznosti dosahoval v roce 1992 v průměru $F\bar{x} = 5,26 \%$ ($s = 3,68$; $v = 70,2 \%$) u vraníků, podobných hodnot dosahoval koeficient inbreedingu i u stáda běloušů. Hodnoty $F\bar{x}$ nebyly v roce 1992 oproti jiným plemenům nijak vysoké, měly ale velkou variabilitu (v) (Dušek et al., 1992).

Podle týmu Vostrý et al. (2011) jsou nynější hodnoty $F\bar{x}$ vyšší a dosahují v průměru hodnoty $7,6 \%$ ($s = 3,8$), podobné hodnoty inbreedingu byly ale zjištěny i u českých chladnokrevníků.

4.7.2.4 Řád plemenné knihy

Pro plemeno starokladrubskeho koní je zřízena PK, kterou spravuje Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Plemenná kniha je řízena devítičlennou Radou PK, které předsedá

ředitel/ka NH Kladruby n. Labem, a která stanovuje metodické a organizační postupy šlechtění populace, včetně zásad vedení a řízení PK. Členy Rady PK jsou dále 3 zástupci Národního hřebčína Kladruby nad Labem, s. p. o., 4 zástupci privátních chovatelů a 1 zástupce Mze ČR. Rada PK také jmenuje členy chovatelské komise, které přísluší posuzování exteriéru u hřebců a klisen, hodnocení koní při předvýběrech hřebců a při zkouškách výkonnosti. Dalšími orgány PK je chovatelská komise (tříčlenná pro každou chovatelskou akci – posuzování exteriéru), výběrová komise (tříčlenná – výběr hřebců pro plemenitbu), genetická komise (poradní orgán Rady PK) a veterinární komise (poradní orgán Rady PK). PK je vedena formou počítačové databáze, která je průběžně aktualizována a duplicitně je vedena též ručně psanou formou s ohledem na kulturně historické aspekty (Šancová, 2010).

Plemenné knihy a registry jsou členěny takto (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012):

Plemenní hřebci

Jedinec pocházejí z rodičů zapsaných v PK, otcové a otcové matek musí být zapsáni v PK v přímé mateřské linii až do 5. generace předků. Podmínkou pro zapsání hřebce do PK musí být dosažení min. 7 bodů v typu, exteriéru a mechanice pohybu. Zároveň musí splňovat standard plemene pro KVH. Plemenným hřebcem může být pouze bělouš nebo vraník. Výjimečně může být zapsán i hřebec bez zkoušek výkonnosti, je-li zařazení nezbytné např. pro zachování kmene. Před zapsáním do úředního registru plemeníků musí mít hřebec osvědčení o genetickém typu (DNA), zároveň musí být provedeno vyšetření spermatu ke kvalitativnímu posouzení pohlavní funkce hřebce.

Plemenné klisny

Podmínkou pro zapsání klisny do hlavního oddílu (HPK, PK) a přípravného oddílu (1. PPK) je absolvování zkoušek výkonnosti.

Klisna může být označena jako elitní (preferovaná – PREF), které bude uvedeno v potvrzení o původu koně, pokud je z jejího potomstva zařazený jeden plemeník a jedna plemenná klisna (HPK, PK) nebo dva zařazení plemeníci nebo tři zařazené klisny (HPK, PK) nebo má tři potomky s výkonností „T“ ve spřežení.

Hlavní plemenná kniha (HPK): Jedinec pocházejí z rodičů zapsaných v PK, otcové a otcové matek musí být zapsáni v PK v přímé mateřské linii až do 5. generace předků. Podmínkou pro

zapsání klisny do HPK musí být dosažení min. 7 bodů v typu, exteriéru a mechanice pohybu. Hodnocení ostatních užitkových znaků nesmí být nižší než 5 bodů. Zároveň musí splňovat standard plemene pro KVH.

Plemenná kniha (PK): Jedinec pocházejí z rodičů zapsaných v PK, otcové a otcové matek musí být zapsáni v PK v přímé mateřské linii až do 5. generace předků. Podmínkou pro zapsání klisny do HPK musí být dosažení min. 6 bodů v typu, exteriéru a mechanice pohybu. Hodnocení ostatních užitkových znaků nesmí být nižší než 5 bodů. Zároveň musí splňovat standard plemene pro KVH.

1. pomocná plemenná kniha (1. PPK): Jedinec pocházejí z rodičů zapsaných v PK, otcové a otcové matek musí být zapsáni v PK v přímé mateřské linii až do 3. generace předků. Podmínkou pro zapsání klisny do HPK musí být dosažení min. 4 bodů ve znacích zkoušky výkonnosti. Klisna nemusí splňovat standard plemene pro KVH.

2. pomocná plemenná kniha (2. PPK): Jedinec pocházejí z rodičů zapsaných v PK, otcové a otcové matek musí být zapsáni v PK v přímé mateřské linii až do 3. generace předků. Hranice pro hodnocení zkoušek výkonnosti není stanovena. Klisna může být zapsána, i pokud neabsolvovala výkonnostní zkoušky nebo je nedokončila, musí být ale předvedena k ohodnocení typu a exteriéru. Klisna nemusí splňovat standard plemene pro KVH. Klisny z tohoto registru mohou být přeřazeny do vyššího oddílu plemenné knihy, pokud dodatečně absolvují výkonnostní zkoušky.

Kromě výše popsanych součástí má plemenná kniha ještě tyto oddíly: plemenný registr, registr chovatelů a připouštěcí registr.

4.7.2.5 Pojmenování koní

Pojmenování starokladrubských koní se řídí přesnými pravidly (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012):

Plemenní hřebci

Při zařazení do chovu dostane hřelec jméno, které je složeno ze jména kmene (otcovské linie) na 1. místě, jména matky hřebce na 2. místě a z římského, tzv. „kmenového čísla,“ které označuje pořadí hřebce v otcovské linii na 3. místě. Římská čísla se přidělují od I do L, po přidělení L se začíná nová číselná řada, tj. od I. Je-li jméno kmene složeno ze dvou jmen (např. Siglavi Pakra), druhé jméno se uvádí pouze jako písmeno s tečkou (Siglavi P.).

Mladí hřebci

Při narození nebo při označování dostane hřelec jméno, které je složeno ze jména kmene (otcovské linie) na 1. místě, jména matky hřebce na 2. místě a z římského, tzv. „kmenového čísla,“ které označuje pořadí hřebce v otcovské linii na 3. místě. Dále pokračuje jméno pomlčkou a arabskou číslicí, označující pořadové číslo hřebce po otci.

Mladé a plemenné klisny

Jména jsou tvořena v souladu s kulturně historickými aspekty vzniku plemene a jsou přidělována a schvalována nositelem PK. Plemenná kniha vede seznam jmen pro nově registrované klisny s členěním podle rodin. Jméno dostane klisna po narození nebo při označování a počáteční písmeno jména je shodné se jménem matky (rodiny). Jméno již jednou použité smí být opět použito po uplynutí nejméně dvou chovných generací.

4.7.2.6 Označování a identifikace plemenných zvířat

K označování se používají výžehy spolu se slovním a grafickým popisem. U koní narozených v zahraničí je povoleno ověření původu analýzou DNA se slovním a grafickým popisem. Koně se označují na základě historické tradice systémem kmenových a rodových výžehů.

Levé sedlo – kmenový výžeh otce nahoře, pod ním rodový výžeh matky

Pravé sedlo – pořadové číslo hřebce po otci

Levé stehno nebo levá žuchva – vlastní výžeh chovatele (nepovinný).

5 Materiál a metody

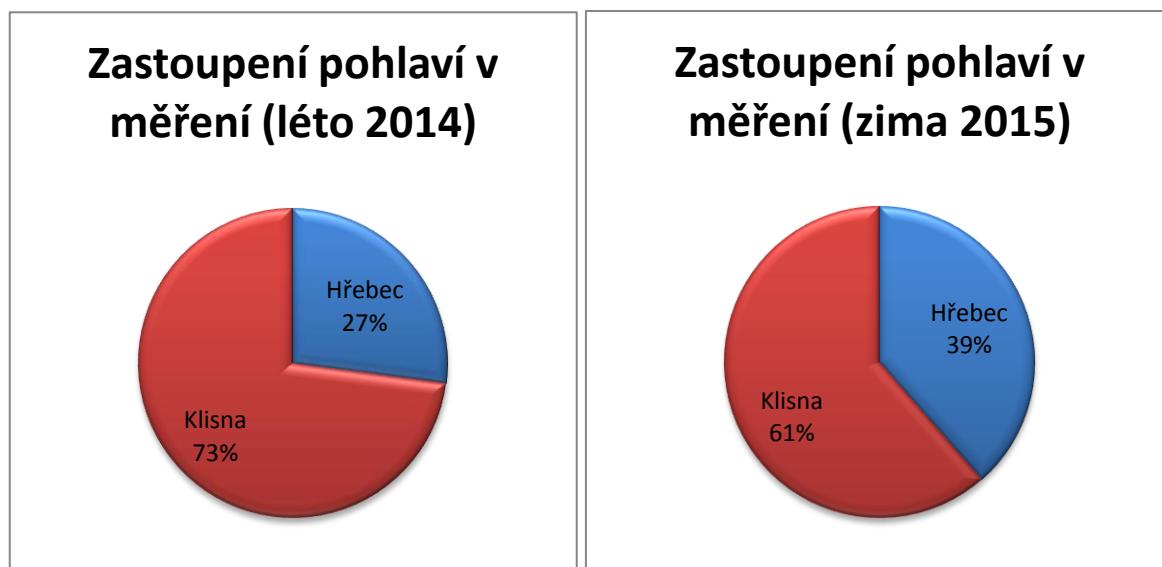
5.1 Soubor (struktura) dat

Celkem bylo sledováno a zanalyzováno 236 koní plemene starokladrubský vraník různých věkových kategorií. Rodokmen těchto zvířat byl zaznamenán až k 6. generaci předků (pro odhad heritability a plemenných hodnot).

Byla prováděna měření ve dvou po sobě následujících obdobích – v létě a v zimě. Konkrétně bylo provedeno 144 měření v letním období a 192 měření v období zimním. Z letního období se vyskytuje i v zimním období celkem 100 koní. Pro lepší přehlednost uvádím strukturu dat odděleně pro každé období. Z důvodu nízkého zastoupení byli valaši pro účely statistického vyhodnocení přiřazeni ke hřebcům.

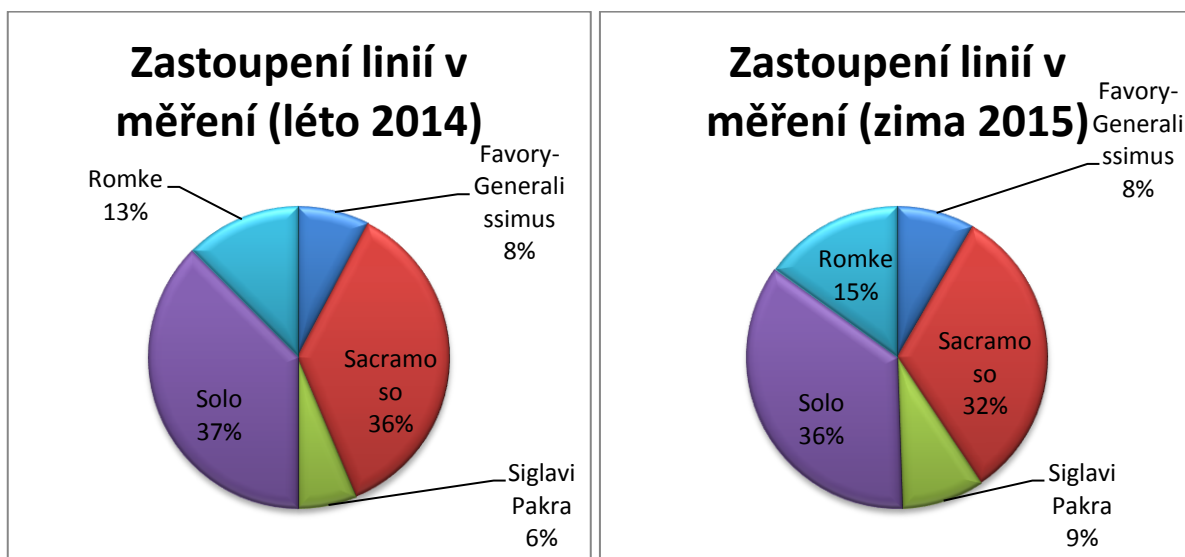
V letním období bylo ze 144 koní 105 klisen (což je 73 %) a 39 hřebců (valachů; což je 27 %). V zimním období bylo ze 192 koní 118 klisen (což je 61 %) a 74 hřebců (valachů; což je 39 %) (Graf. 1 a 2).

Graf 1 a 2: Zastoupení pohlaví v měření v letním a zimním období



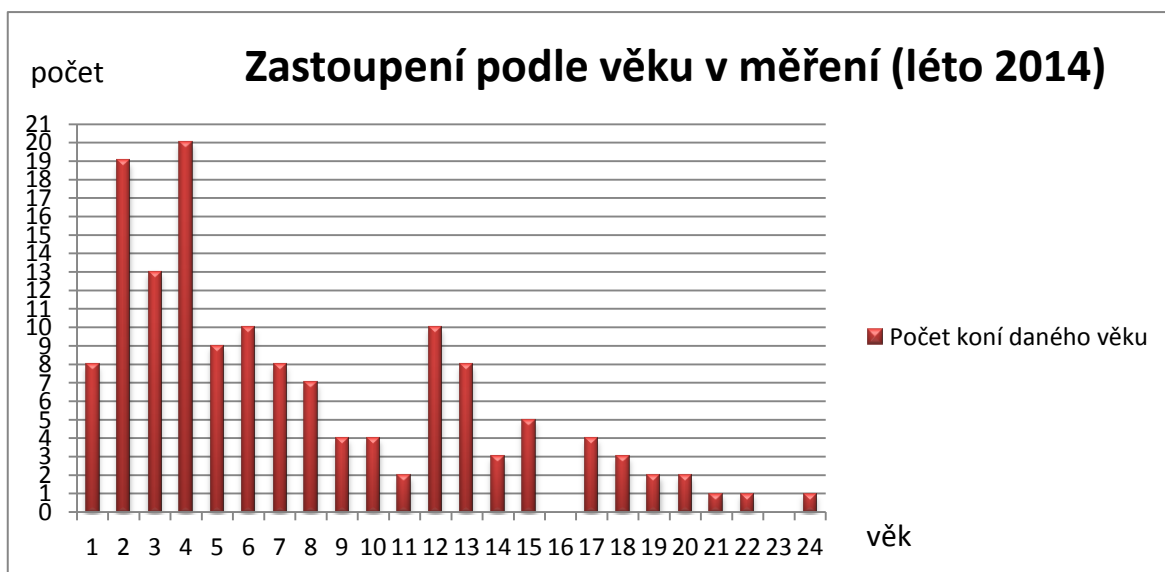
Liniové zastoupení v jednotlivých obdobích bylo procentuálně podobné, nejvíce byli zastoupeni jedinci linie Solo a Sacramoso (Graf 3 a 4).

Graf 3 a 4: Zastoupení linií v měřeních v letním a zimním období

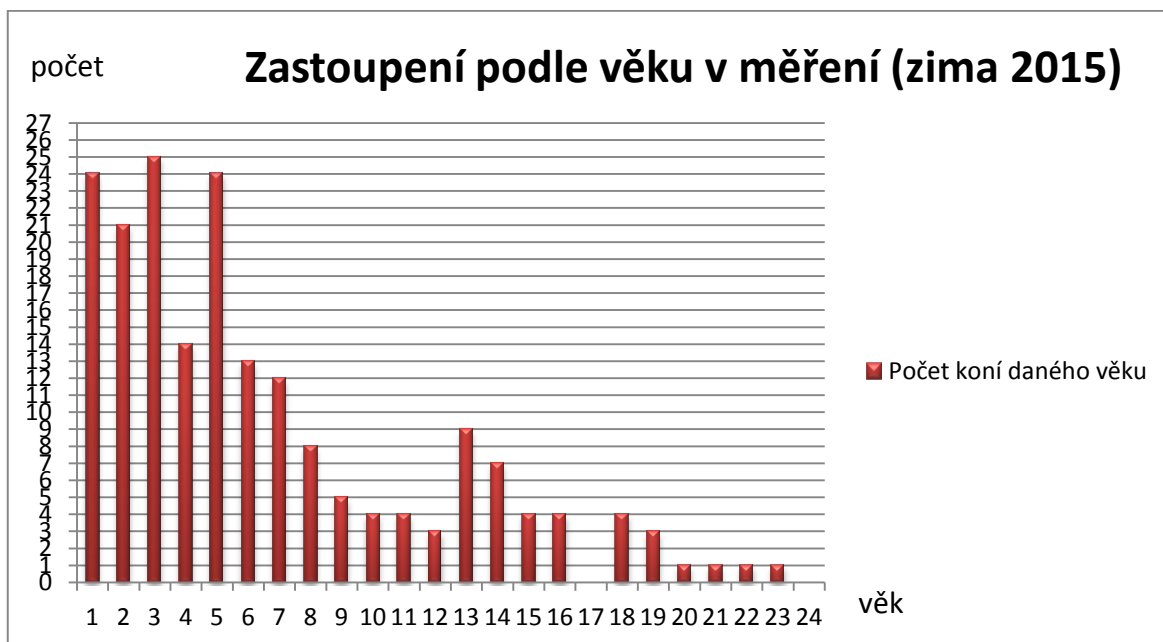


Nejvíce zastoupení v obou měřeních byli jedinci ve věku 1 – 5 let (Graf 5 a 6).

Graf 5: Zastoupení jedinců podle věku v letním období



Graf 6: Zastoupení jedinců podle věku v zimním období



Kromě koní chovaných v hřebčíně Slatiňany byla zařazena i zvířata ze stájí v Heřmanově Městci.

5.2 Kvantitativní charakteristika černé barvy jako závisle proměnné

K objektivnímu měření charakteristik černé barvy byl použit přístroj Minolta Spectrophotometer 2500d. Následně byla data z přístroje převedena do počítače pomocí počítačového programu SpectraMagic (Toth et al., 2006).

Mezi měřené parametry podle systému CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) patří:

L* - jas barvy v ose černá-bílá neboli lightness (0 = černá, 100 = bílá),

a* - zbarvení v ose červená-zelená neboli redness (+60 = červená, -60 = zelená),

b* - zbarvení v ose žlutá-modrá neboli yellowness (+60 = žlutá, -60 = modrá)

Chroma – sytost barvy neboli colour saturation, která využívá hodnot a* a b* podle vzorce

$Chroma = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ (0 = šedá, 100 = čisté spektrální barvy) (Toth et al., 2006).

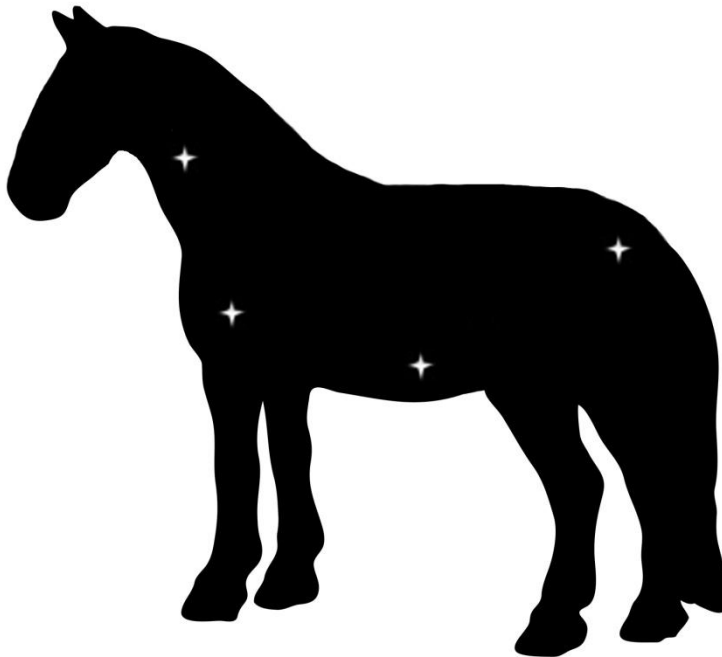
V případě černého zbarvení je nejdůležitější hodnota L*, dále je podstatné také zbarvení v ose červená-zelená (a*) z důvodu možného výskytu nahnědlého zbarvení v srsti.

Měření bylo prováděno u každého zvířete na čtyřech místech těla – na krku, na pleci, na bříše a na zádi (Obr. 1). Každá zaznamenaná hodnota pak představuje průměr ze tří, po sobě

následujících měření. U měření se využilo také dvou různých období (v zimní a letní srsti), aby se zahrnula případná barevná nestálost v různých obdobích roku.

Pro další zpracování dat byla použita pouze reflektance včetně rozptýlených složek (SCI).

Obr. 1: Místa měření na koni



5.3 Statistické vyhodnocení výsledků a odhad genetických parametrů

Vliv efektů ovlivňujících intenzitu černé barvy byl analyzován pomocí obecného lineárního modelu (GLM), metodou nejmenších čtverců (LSM) s využitím programu SAS (SAS Institute Inc., 2012).

Grafy byly vytvořeny pomocí programů MS Excel a STATISTICA 12 (StatSoft Inc., 2013).

Uvažované modelové rovnice byly následující:

$$L = \mu + b_1 \text{VĚK}_m + b_2 \text{VĚK}_m^2 + \text{POHLAVÍ}_k + \text{LINIE}_l + \text{MÍSTO MĚŘENÍ}_j + \text{OBDOBÍ/USTÁJENÍ}_i + t p_n + a_o + e_{ijklmno} \quad (1)$$

$$a = \mu + b_1 \text{VĚK}_m + b_2 \text{VĚK}_m^2 + \text{POHLAVÍ}_k + \text{LINIE}_l + \text{MÍSTO MĚŘENÍ}_j + \text{OBDOBÍ/USTÁJENÍ}_i + \text{tp}_n + a_o + e_{ijklmno} \quad (2)$$

$$b = \mu + b_1 \text{VĚK}_m + b_2 \text{VĚK}_m^2 + \text{POHLAVÍ}_k + \text{LINIE}_l + \text{MÍSTO MĚŘENÍ}_j + \text{OBDOBÍ/USTÁJENÍ}_i + \text{tp}_n + a_o + e_{ijklmno} \quad (3)$$

$$\text{Chroma} = \mu + b_1 \text{VĚK}_m + b_2 \text{VĚK}_m^2 + \text{POHLAVÍ}_k + \text{LINIE}_l + \text{MÍSTO MĚŘENÍ}_j + \text{OBDOBÍ/USTÁJENÍ}_i + \text{tp}_n + a_o + e_{ijklmno} \quad (4)$$

Kde:

μ – průměrná hodnota

$b_1 \text{VĚK}_m$ – fixní lineární regrese na věk hodnocení ($m = 1, 2, 3, \dots, 24$)

$b_2 \text{VĚK}_m^2$ – fixní kvadratická regrese na věk hodnocení ($m = 1, 2, 3, \dots, 24$)

POHLAVÍ_k – fixní efekt pohlaví ($k = 1$ – hřebec, 2 – klisna)

LINIE_l – fixní efekt linie ($l = 1$ – Favory - Generalissimus, 2 – Sacramoso, 3 – Siglavi Pakra, 4 – Solo, 5 – Romke)

MÍSTO MĚŘENÍ_j – fixní efekt místa měření na koni ($j = 1$ – krk, 2 – plec, 3 – břicho, 4 – zád)

OBDOBÍ/USTÁJENÍ_i – fixní efekt období a ustájení ($i = 1$ – léto/stáj, 2 – léto/venku, 3 – zima)

tp_n – náhodný efekt trvalého prostředí jedince

a_o – náhodný efekt jedince

$e_{ijklmno}$ – náhodný efekt reziduální chyby

Závislé proměnné:

L: teoreticky od 1 do 100

a: teoreticky od -60 do +60

b: teoreticky od -60 do +60

Chroma: teoreticky od 0 do 100

Komponenty rozptylu a koeficienty dědivosti byly odhadnuty metodou REML s pomocí programu REMLF90 (Misztal, 1998).

Základní lineární modelová rovnice má v maticovém zápise tvar:

$$Y = Xb + Zu + e$$

Y – vektor pozorovaných dat (vyhodnocovaná vlastnost)

X, Z – matice plánu pokusu pevných a náhodných efektů

b, u – vektory řešení pro pevné a náhodné efekty

e – náhodný efekt reziduální chyby (Jakubec et al., 1999)

Z časových důvodů byla pro odhad genetických parametrů použita pouze data získaná v letním období.

Jako fixní (pevné) efekty byly uvažovány věk, pohlaví, linie, způsob ustájení.

Jako náhodný efekt byl uvažován přímý efekt jedince a náhodný efekt reziduální chyby.

Jako závisle proměnné byly použity hodnoty parametrů naměřené na jednotlivých místech na těle (krk, plec, břicho, zád') a poté hodnota získaná zprůměrováním těchto čtyř získaných údajů u každého jedince.

Předpokládáme, že jednotlivé efekty vykazují normální rozdělení s nulovým průměrem a variancí (σ^2).

$$V_a = A \sigma^2$$

$$V_e = I \sigma_e^2$$

kde:

σ_a^2 – aditivně genetická variance přímého efektu

σ_e^2 – variance efektu reziduální chyby

A – matice příbuznosti

I – jednotková matice

Populační parametry byly odvozeny z odhadnutých variančně – kovariančních komponent:

σ_y^2 – fenotypová variance [$\sigma_y^2 = \sigma_a^2 + \sigma_e^2$]

h_a^2 – koeficienty přímé dědivosti [$h_a^2 = \sigma_a^2 / \sigma_y^2$]

6 Výsledky

6.1 Popisné charakteristiky souboru dat

V celkovém souboru dat, kde bylo zanalyzováno 236 koní, byla střední hodnota pro parametr L^* 21,9, přičemž dosažené hodnoty se pohybovaly v intervalu od 16,24 do 31,18. Pro parametr a^* byla zjištěna střední hodnota 2,27. Dosažené hodnoty se pohybovaly v intervalu od 0,72 do 7,87. U parametru b^* činila střední hodnota 2,64, přičemž hodnoty se nacházely v intervalu od 0,04 do 13,68. U Chromy, která byla počítána z hodnot parametrů a^* a b^* , se hodnoty pohybovaly v rozmezí od 0,74 do 15,78.

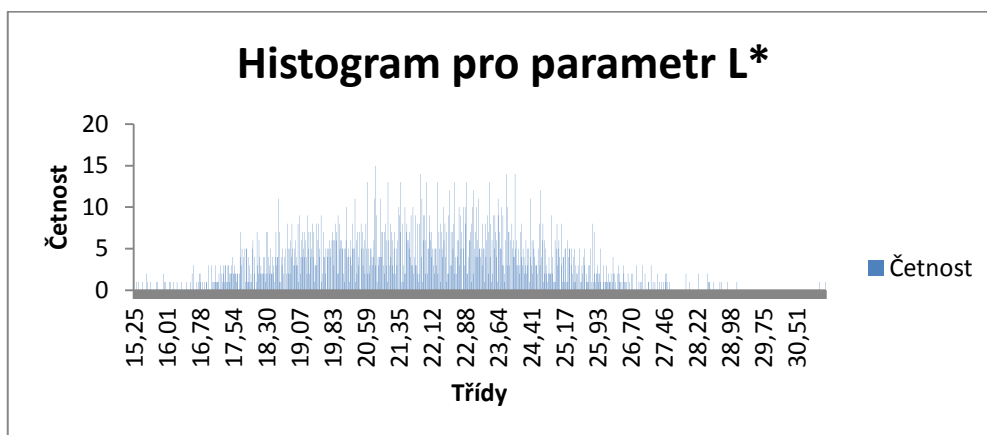
Z tabulky (Tab. 2) vyplývá, že nejvyšší variabilita byla zjištěna u parametru b^* (67,59 %) a nejnižší naopak u parametru L^* (jen 11, 13 %). Parametr L^* je tedy nejméně proměnlivý.

Tab. 2: Popisná statistika u parametrů L^* , a^* , b^*

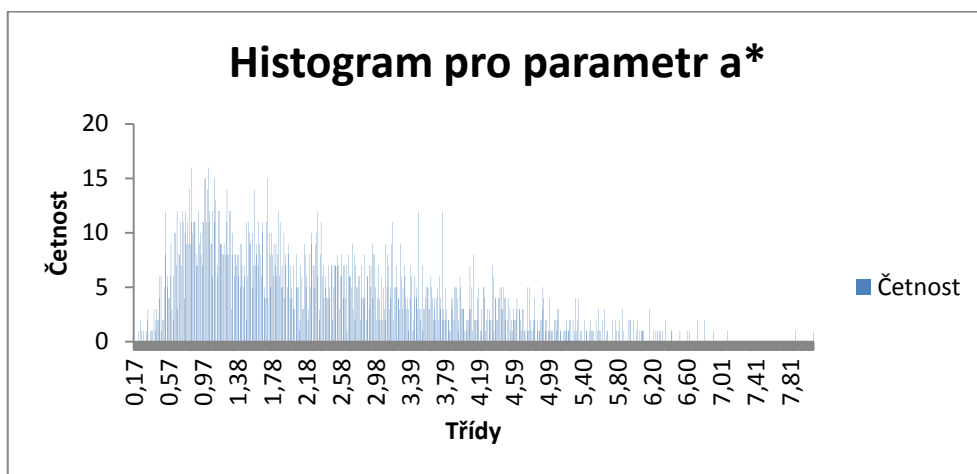
	Střední hodnota	Chyba střední hodnoty	Směrodatná odchylka	Varianční koeficient
L^*	21,9	0,0664	2,44	11,13
a^*	2,27	0,0364	1,34	58,99
b^*	2,64	0,0486	1,78	67,59

Pro parametr L^* bylo zjištěno normální rozdělení četnosti (Graf 7). U parametru a^* a b^* se rozdělení četností blíží normálnímu rozdělení (Graf 8 a 9).

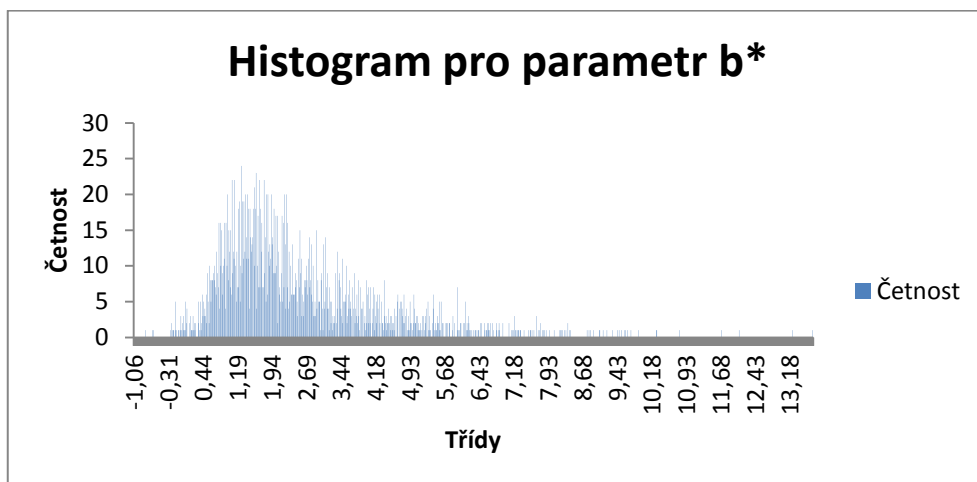
Graf 7: Rozdělení četností pro parametr L^*



Graf 8: Rozdělení četností pro parametr a*



Graf 9: Rozdělení četností pro parametr b*



6.2 Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu černé barvy

Faktorů, které mohou ovlivňovat intenzitu černé barvy, může být mnoho. V práci byl ověřován efekt pohlaví, liniové příslušnosti, věku, místa měření a období měření s ustájením (Tab. 3). Analýza GLM za pomoci programu SAS (SAS Institute Inc., 2012) potvrdila tento model jako významný ($p < 0,0001$) a všechny efekty kromě efektu linie byly na úrovni statistické průkaznosti (Tab. 3 a 6).

6.2.1 Parametr L*

Parametr L* je pro hodnocení intenzity černé barvy jedním z nejdůležitějších, jelikož sleduje barevnou škálu od černé po bílou. Byly sledovány jeho změny v závislosti na některých efektech.

Tab. 3: Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu černé barvy (hodnota L*)

Efekt	SV	Součet čtverců	Průměr čtverců	F	P
Věk	1	341,62	341,62	98,78	<0,0001
Věk²	1	181,2	181,2	52,39	<0,0001
Pohlaví	1	191,77	191,77	55,45	<0,0001
Linie	4	37,85	9,46	2,74	0,0276
Místo měření	3	1614,34	538,11	155,60	<0,0001
Období/ustájení	2	807,56	403,78	116,76	<0,0001

6.2.1.1 Efekt linie

Z vypočítaných průměrných hodnot pro intenzitu černé barvy (Tab. 4) je patrné, že nejtmašších hodnot dosahuje linie Siglavi Pakra, následovaná linií Favory-Generalissimus. Chybovost u těchto dvou linií zároveň vykazuje nejvyšší hodnoty.

Tab. 4: Průměrné hodnoty intenzity černé barvy pro jednotlivé linie (hodnota L*)

Linie	LSMEAN	SE	H0: průměr = 0 Pr> t
1 – Favory-Generalissimus	20,94	0,1869	<0,0001
2 – Sacramoso	21,25	0,0931	<0,0001
3 – Siglavi Pakra	20,88	0,1902	<0,0001
4 – Solo	21,4	0,0924	<0,0001
5 – Romke	21,37	0,1432	<0,0001

Podle výsledků Scheffeho testu (Tab. 5) vyšly významné rozdíly mezi liniemi Favory-Generalissimus a Solo, Siglavi Pakra a Solo, Siglavi Pakra a Romke ($\alpha < 0,05$).

Tab. 5: Scheffeho test pro jednotlivé linie (hodnota L*) Pr > |t| H0:

LSMean(1) = LSMean(2)

	Favory- Generalissimus	Sacramoso	Siglavi Pakra	Solo	Romke
Favory- Generalissimus					
Sacramoso	0,1219				
Siglavi Pakra	0,8144	0,0713			
Solo	0,0197	0,2077	0,0102		
Romke	0,0574	0,4651	0,0305	0,8369	

6.2.2 Parametr a*

Další neméně důležitým parametrem pro zohlednění k intenzitě černé barvy je parametr a*, jelikož shrnuje odstíny červené barvy a má vliv na výsledné senzoričké posouzení černé barvy (Tab. 6). Zde byl zjišťován pouze efekt linie.

Tab. 6: Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu hnědých odstínů barvy (hodnota a*)

Efekt	SV	Součet čtverců	Průměr čtverců	F	P
Věk	1	131,44	131,44	222,72	<0,0001
Věk²	1	84,34	84,34	142,91	<0,0001
Pohlaví	1	50,97	50,97	86,36	<0,0001
Linie	4	6,95	1,74	2,94	0,0194
Místo měření	3	279,76	93,25	158,02	<0,0001
Období/ustájení	2	1079,12	539,56	914,28	<0,0001

6.2.2.1 Efekt linie

Nejvíce do hněda (resp. do červena) vyšly průměrně linie Solo a Siglavi Pakra. Linie Siglavi Pakra vykazovala zároveň největší chybovost, což může být zapříčiněno tím, že v souboru dat bylo jedinců této linie nejméně (Tab. 7).

Tab. 7: Průměrné hodnoty intenzity hnědé barvy pro jednotlivé linie (hodnota a*)

Linie	LSMEAN	SE	H0: průměr = 0 Pr > t
1 – Favory-Generalissimus	2,59	0,0772	<0,0001
2 – Sacramoso	2,49	0,0384	<0,0001
3 – Siglavi Pakra	2,61	0,0786	<0,0001
4 – Solo	2,64	0,0382	<0,0001
5 – Romke	2,46	0,0591	<0,0001

V Scheffeho testu pro parametr a* (Tab. 8) byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi liniemi Solo a Sacramoso ($\alpha < 0,005$), mezi linií Solo a Romke byl zjištěn statisticky významný rozdíl na při vyšší hladině významnosti ($\alpha < 0,01$). Mezi dalšími liniemi žádný statisticky významný rozdíl zjištěn nebyl.

Tab. 8: Scheffeho test pro jednotlivé linie (hodnota a*) Pr > |t| H0: LSMean(1) = LSMean(2)

	Favory-Generalissimus	Sacramoso	Siglavi Pakra	Solo	Romke
Favory-Generalissimus					
Sacramoso	0,2272				
Siglavi Pakra	0,8870	0,1749			
Solo	0,6010	0,0046	0,7407		
Romke	0,1621	0,6510	0,1193	0,0097	

6.2.3 Parametr b*

Dalším měřeným parametrem byl parametr b*, jelikož shrnuje odstíny žluté-modré barvy. Efekt linie u tohoto parametru shledán jako nevýznamný (Tab. 9).

Tab. 9: Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu žlutých odstínů barvy (hodnota b*)

Efekt	SV	Součet čtverců	Průměr čtverců	F	P
Věk	1	194,4	194,40	134,69	<0,0001
Věk²	1	139,26	139,26	96,49	<0,0001
Pohlaví	1	169,67	169,67	117,56	<0,0001
Linie	4	10,59	2,65	1,83	0,1199
Místo měření	3	600,18	200,06	138,61	<0,0001
Období/ustájení	2	1193,75	596,87	413,55	<0,0001

6.2.4 Parametr Chroma

Dalším měřeným parametrem byl parametr Chroma, který byl počítán podle vzorce z parametrů a* a b* a ukazuje sytost barvy.

Efekt linie u tohoto parametru shledán jako nevýznamný (Tab. 10).

Tab. 10: Statistická analýza faktorů ovlivňujících intenzitu hnědých odstínů barvy (hodnota Chroma)

Efekt	SV	Součet čtverců	Průměr čtverců	F	P
Věk	1	322,65	322,65	168,02	<0,0001
Věk²	1	222,00	222,00	115,61	<0,0001
Pohlaví	1	203,85	203,85	106,16	<0,0001
Linie	4	16,37	4,09	2,13	0,0747
Místo měření	3	859,68	286,56	149,23	<0,0001
Období/ustájení	2	2257,87	1128,93	587,90	<0,0001

6.3 Grafické znázornění výsledků

Z důvodu velkého množství výsledků je uvedeno v této části pouze vyhodnocení parametrů L^* a a^* , které mají na intenzitu černé barvy největší vliv.

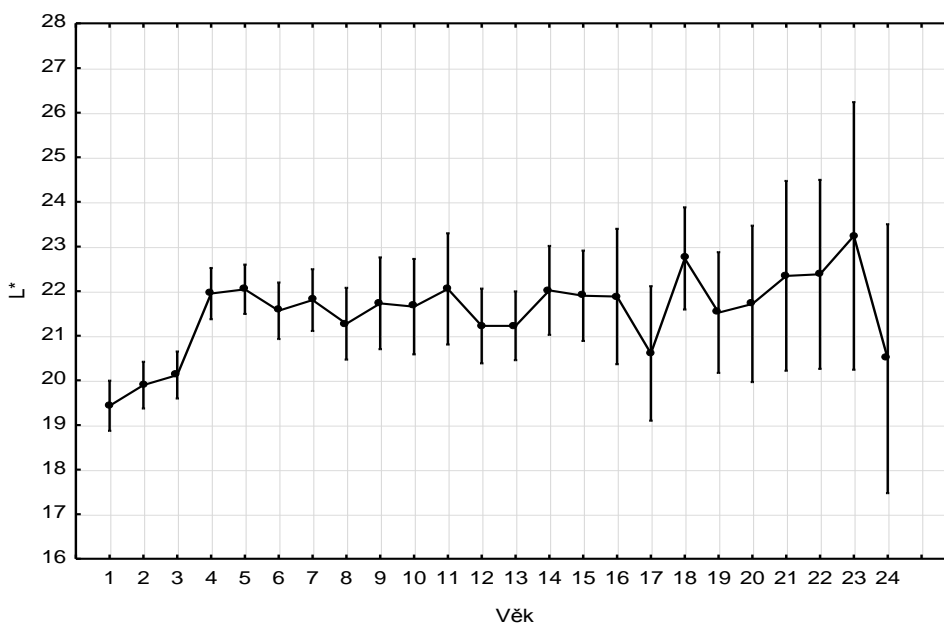
Pomocí metody nejmenších čtverců (LSM) za pomoci programu STATISTICA 12 (StatSoft Inc., 2013) byly zjišťovány závislosti intenzity černé barvy (parametr L^*) a hnědé barvy (parametr a^*) na věku, pohlaví, linii, místě měření a období/ustájení.

6.3.1 Parametr L^*

6.3.1.1 Efekt věku

Nižší věkové kategorie (do 3 let) vykazují nižší hodnoty v parametru L^* oproti starším koním. Koně starší 20. let mají kvůli nízkému zastoupení jedinců v měření široký interval spolehlivosti (označeno vertikálami), díky kterému se nedají statisticky porovnat (Graf 10).

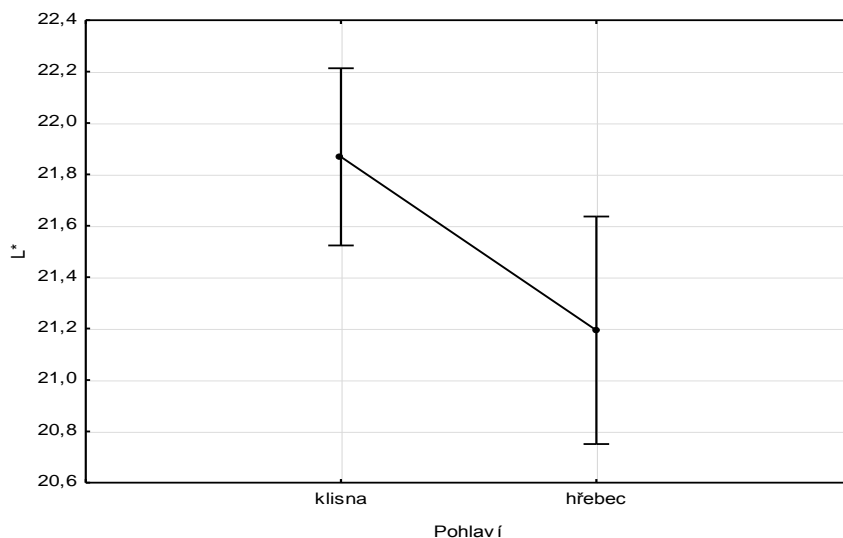
Graf 10: Závislost intenzity černé barvy (L^*) na věku



6.3.1.2 Efekt pohlaví

Z grafu (Graf 11) vyplývá, že klisny plemene kladrubský vraník dosahují nižší intenzity černé barvy oproti hřebcům.

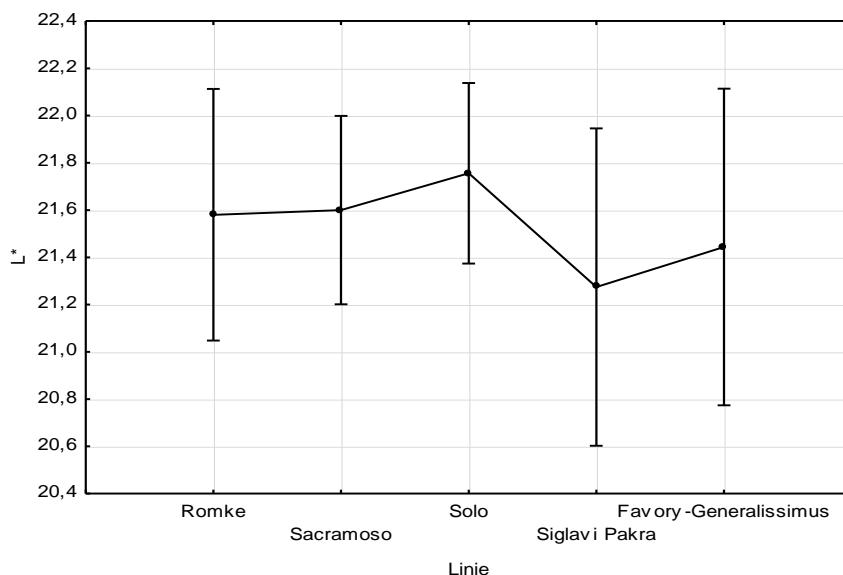
Graf 11: Závislost intenzity černé barvy (L^*) na pohlaví



6.3.1.3 Efekt linie

Na grafu (Graf 12) vidíme, že nejvyšší intenzity černé barvy dosahuje linie Siglavi Pakra, zároveň je u této linie nejširší interval spolehlivosti. Naopak nejnižší intenzity černé barvy dosahovala linie Solo, která má zároveň nejužší interval spolehlivosti.

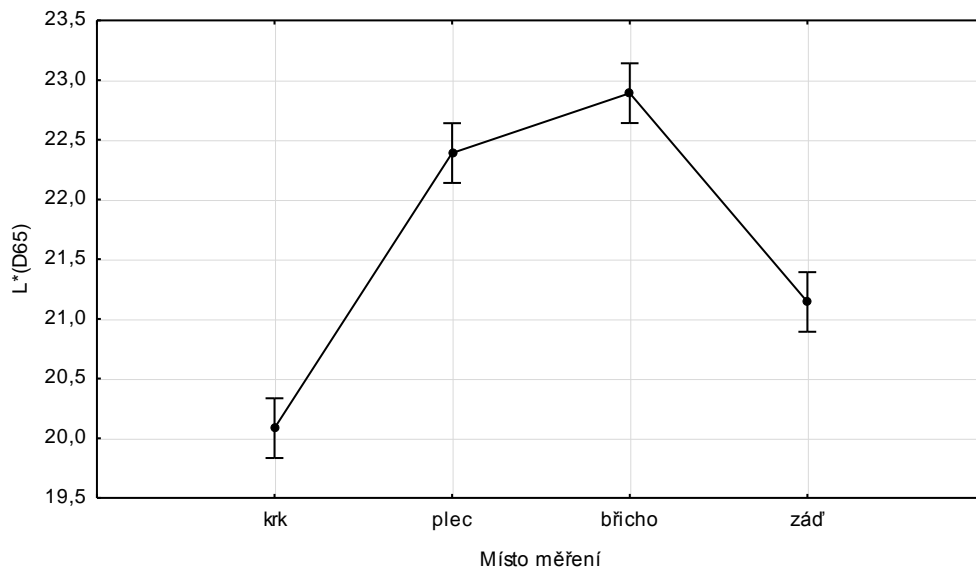
Graf 12: Závislost intenzity černé barvy (L^*) na linii



6.3.1.4 Efekt místa měření

Z grafu (Graf 13) je patrné, že nejvyšší intenzita černé barvy byla změřena na krku, zatímco nejmenší intenzitu černé barvy vykazovala partie břicha.

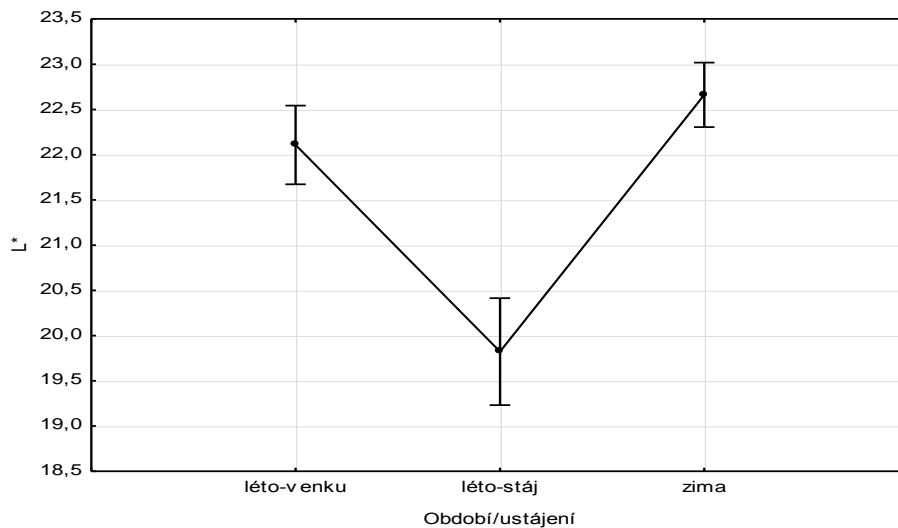
Graf 13: Závislost intenzity černé barvy (L^*) na místě měření



6.3.1.5 Efekt období/ustájení

Z grafu (Graf 14) je patrné, že nejvyšší intenzity černé barvy dosahovala zvířata, která byla v letním období ustájena. Zvířata, která v létě chodila ven, dosahovala nižší intenzity černého zbarvení. Úplně nejnižší intenzity černé barvy dosahovala zvířata v zimním období.

Graf 14: Závislost intenzity černé barvy (L^*) na období/ustájení

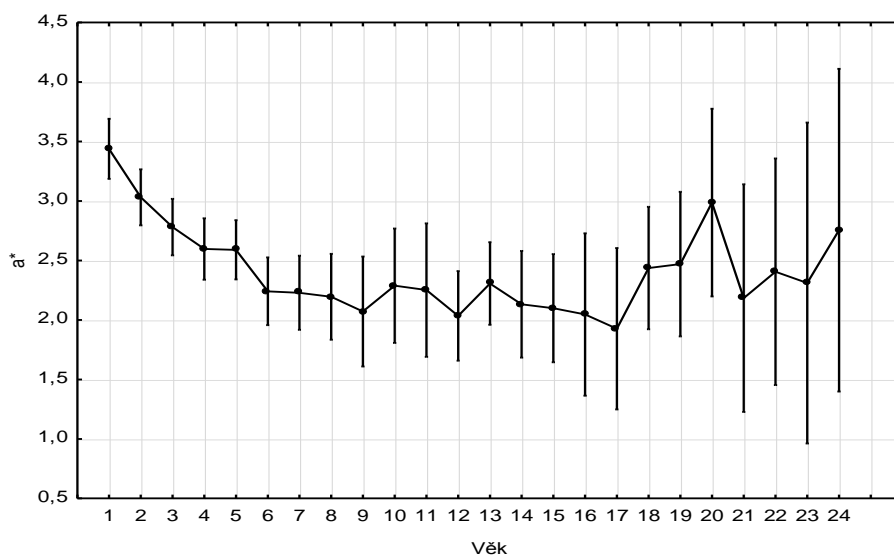


6.3.2 Parametr a^*

6.3.2.1 Efekt věku

Nižší věkové kategorie (do 5 let) vykazují vyšší hodnoty v parametru a^* oproti starším jedincům. U koní starších 20. let nemohlo být provedeno srovnání kvůli malému počtu jedinců zapojených do sledování, a tím způsobeného nižšího intervalu spolehlivosti (označeno vertikálami – Graf 15).

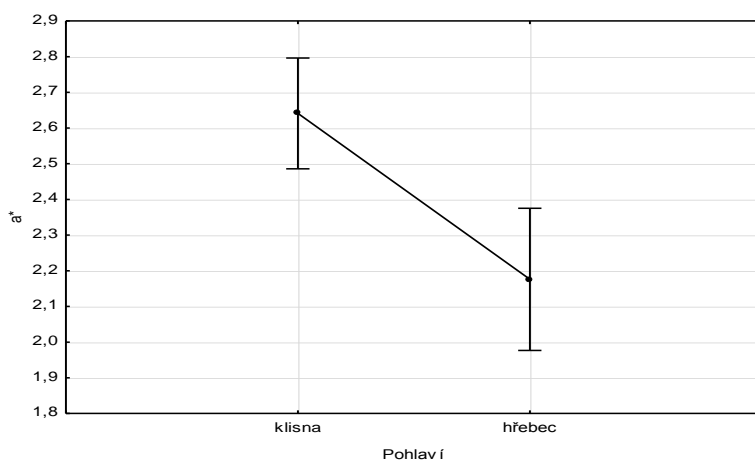
Graf 15: Závislost intenzity hnědé barvy (a^*) na věku



6.3.2.2 Efekt pohlaví

Z grafu (Graf 16) vyplývá, že u klisen je barva podle škály a^* více do červeného spektra oproti hřebcům.

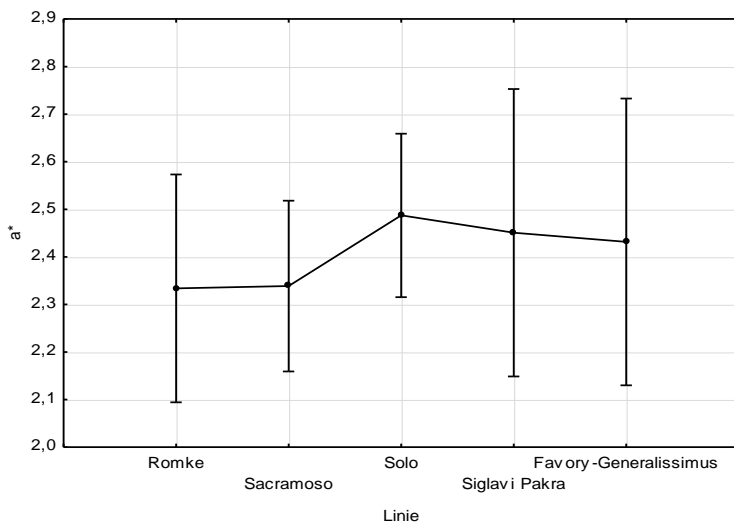
Graf 16: Závislost intenzity hnědé barvy (a^*) na pohlaví



6.3.2.3 Efekt linie

Barevná škála linie Solo podle parametru a^* (Graf 17) nejvíce zasahuje do červeného spektra oproti ostatním liniím. Naopak nejméně do hněda (červená) podle parametru a^* byla shledána linie Romke, avšak s širším intervalem spolehlivosti z důvodu nižšího zastoupení jedinců v měření.

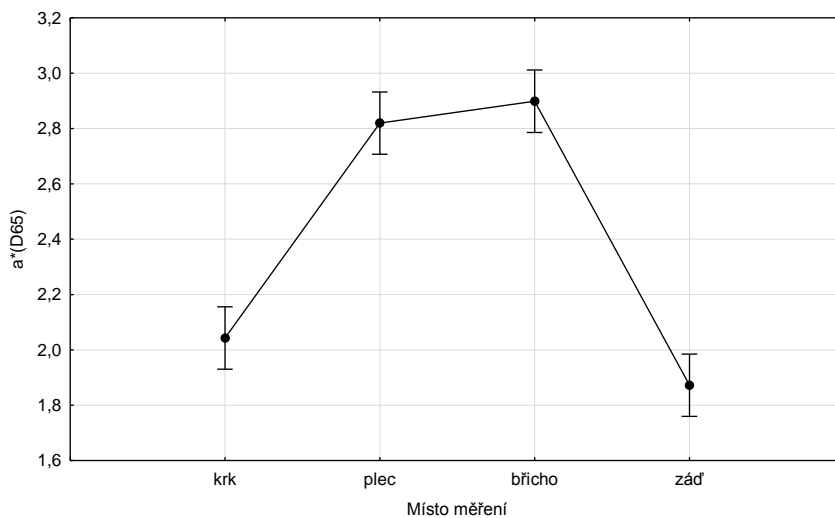
Graf 17: Závislost intenzity hnědé barvy (a^*) na linii



6.3.2.4 Efekt místa měření

Z grafu (Graf 18) je patrné, že nejvyšší intenzity narezlé barvy bylo dosaženo na břicho, zatímco nejmenší intenzitu vykazovala partie zádi.

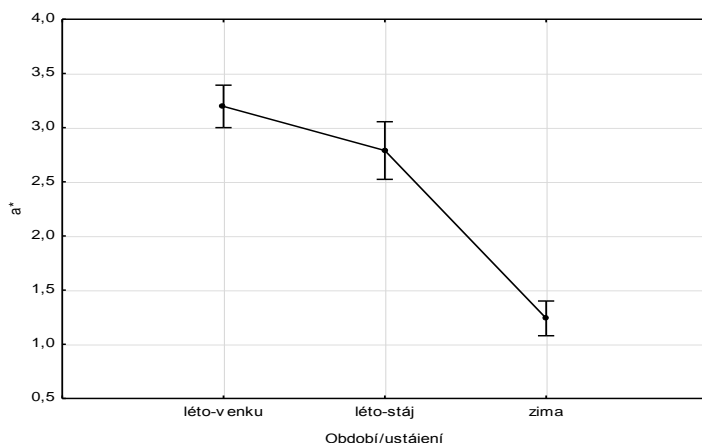
Graf 18: Závislost intenzity hnědé barvy (a^*) na místě měření



6.3.2.5 Efekt období/ustájení

Z grafu (Graf 19) vyplývá, že nejnižší intenzity narezlé barvy dosahovali koně v zimním období, zatímco koně, kteří byli v letním období venku, dosahovali nejvyšší intenzity.

Graf 19: Závislost intenzity hnědé barvy (a^*) na období/ustájení



6.4 Regrese parametrů v závislosti na věku

Pomocí lineární regrese bylo zjištěno, že s postupujícím věkem hodnoty u parametru L^* mírně rostou, zatímco u ostatních parametrů (a^* , b^* a Chroma) postupně klesají (Tab. 11). Na výpočet byl použit program STATISTICA 12 (StatSoft Inc., 2013).

Tab. 11: Regrese v závislosti na věku s intervalem spolehlivosti $\pm 95\%$

Roky věku	L^*	a^*	b^*	Chroma
4	21,27 \pm 0,10559	3,76 \pm 0,156352	3,79 \pm 0,106936	5,43 \pm 0,178912
8	21,29 \pm 0,08918	3,58 \pm 0,13206	3,68 \pm 0,090322	5,22 \pm 0,151114
12	21,31 \pm 0,11465	3,40 \pm 0,169767	3,58 \pm 0,116111	5,00 \pm 0,194261
16	21,33 \pm 0,16347	3,22 \pm 0,242051	3,48 \pm 0,165549	4,78 \pm 0,276975

6.5 Fenotypové korelace

Fenotypové korelace mezi jednotlivými parametry byly odhadnuty pomocí Pearsonova korelačního koeficientu (Tab. 12). Z uvedených hodnot vyplývá, že největší souvislost mají parametry a^* a b^* , tzn., že u koní s vyšší hodnotou na hnědé škále souvisí i vyšší hodnota na škále žluté barvy. Ostatní mezi sebou korelované parametry na sobě nejsou příliš závislé, parametr L^* a a^* pak téměř vůbec.

Tab. 12: Odhadnuté fenotypové korelace mezi jednotlivými proměnnými barevné škály L*a*b*

	L*	a*	b*
L*	1		
a*	0,0333	1	
b*	0,3002	0,8922	1

6.5.1 Parametr L*

Mezi všemi místy měření byla zjištěna souvislost (Tab. 13), největší souvislost byla zjištěna mezi břichem a plecí (0,8047).

Tab. 13: Odhadnuté fenotypové korelace pro jednotlivá měřená místa (parametr L*)

L*	Krk	Plec	Břicho	Zád'
Krk	1			
Plec	0,6924	1		
Břicho	0,6814	0,8047	1	
Zád'	0,7389	0,6510	0,7300	1

6.5.2 Parametr a*

Mezi všemi místy měření u parametru a* je souvislost (Tab. 14), nejvyšší hodnoty byly zjištěny mezi zádí a břichem (0,91) a mezi plecí a břichem.

Tab. 14: Odhadnuté fenotypové korelace pro jednotlivá měřená místa (parametr a*)

a*	Krk	Plec	Břicho	Zád'
Krk	1			
Plec	0,9142	1		
Břicho	0,9015	0,8921	1	
Zád'	0,8730	0,8852	0,9159	1

6.6 Genetické parametry

6.6.1 Heritabilita sledovaných znaků

Vliv genotypu na proměnlivost sledovaných parametrů je vyjádřen odhadem koeficientů dědivosti (Tab. 15, 16, 17 a 18). Nejnižší hodnoty koeficientu heritability vykazuje parametr L^* , který má zároveň nejvyšší fenotypovou varianci. Naopak nejvyšší hodnoty variance byly zjištěny pro parametr a^* . Nejvyšší hodnoty heritability byly u všech parametrů zjištěny na zádi. (Tab. 15, 16, 17 a 18).

6.6.1.1 Heritabilita a variance pro parametr L^*

Nejvyšší heritabilita pro parametr L^* (Tab. 15) byla zjištěna při měření na zádi ($h^2 = 0,29$), naopak nejnižších hodnot dosahovala v krajině břicha ($h^2 = 0,15$). Průměrná heritabilita pro parametr L^* (tj. na celém koni) dosahovala nižších hodnot ($h^2 = 0,11$). Nejvyšší genetické variance bylo dosaženo na krku (0,64), nejnižší pak na břiše (0,49).

Tab. 15: Variance a heritabilita pro L^*

L^*	Variance (genetická)	Variance (reziduální)	Heritabilita (h^2)
L^* krk	0,64	2,69	0,19
L^* plec	0,62	2,68	0,19
L^* břicho	0,49	2,78	0,15
L^* záď	0,58	1,44	0,29
L^* celkové	0,18	1,51	0,11

6.6.1.2 Heritabilita a variance pro parametr a^*

Nejvyšší heritabilita pro parametr a^* (Tab. 16) byla zjištěna při měření na zádi ($h^2 = 0,32$), naopak nejnižších hodnot dosahovala na krku ($h^2 = 0,16$). Průměrná heritabilita pro parametr a^* (tj. na celém koni) přesáhla nejnižší heritabilitu ($h^2 = 0,18$). Nejvyšší genetická variance byla zjištěna na pleci (0,31), zatímco nejnižší na krku (pouze 0,08).

Tab. 16: Variance a heritabilita pro a*

a*	Variance (genetická)	Variance (reziduální)	Heritabilita (h²)
a* krk	0,08	0,44	0,16
a* plec	0,31	0,72	0,30
a* břicho	0,22	0,97	0,18
a* zád'	0,23	0,48	0,32
a* celkové	0,11	0,52	0,18

6.6.1.3 Heritabilita a variance pro parametr b*

Nejvyšší heritabilita pro parametr b* (Tab. 17) byla zjištěna při měření na zádi ($h^2 = 0,37$), naopak nejnižších hodnot dosahovala na krku ($h^2 = 0,20$). Průměrná heritabilita pro parametr b* (tj. na celém koni) byla oproti ostatním velmi nízká ($h^2 = 0,14$). Nejvyšší genetická variance byla zjištěna na pleci (0,88), zatímco nejnižší na krku (0,20).

Tab. 17: Variance a heritabilita pro b*

b*	Variance (genetická)	Variance (reziduální)	Heritabilita (h²)
b* krk	0,20	0,79	0,20
b* plec	0,88	2,43	0,27
b* břicho	0,73	2,84	0,20
b* zád'	0,45	0,78	0,37
b* celkové	0,22	1,34	0,14

6.6.1.4 Heritabilita a variance pro parametr Chroma

Nejvyšší heritabilita pro parametr Chroma (Tab. 18) byla zjištěna při měření na zádi ($h^2 = 0,35$), naopak nejnižších hodnot dosahovala na krku ($h^2 = 0,18$). Průměrná heritabilita pro parametr Chroma (tj. na celém koni) byla oproti ostatním nižší ($h^2 = 0,15$). Nejvyšších hodnot dosahovala genetická variance u plece (1,14), zatímco nejnižších u krku (0,26).

Tab. 18: Variance a heritabilita pro Chroma

Chroma	Variance (genetická)	Variance (reziduální)	Heritabilita (h^2)
Chroma krk	0,26	1,19	0,18
Chroma plec	1,14	3,05	0,27
Chroma břicho	0,86	3,65	0,19
Chroma zád'	0,65	1,20	0,35
Chroma celkové	0,32	1,80	0,15

6.6.2 Odhad plemenné hodnoty u vybraných hřebců

Pomocí programů SAS (SAS Institute Inc., 2012), REMLF90 (Misztal, 1998) a BLUPF90 (Misztal, 1997) byl vypočítán odhad plemenné hodnoty (OPH) pomocí BLUP-Animal modelu pro jednotlivé parametry L^* , a^* , b^* a Chroma. V následující tabulce (Tab. 19) jsou plemenné hodnoty čtyř hřebců, kteří měli ve sledované skupině 10 a více potomků. Pro srovnání tabulka obsahuje i hodnoty PH v daném souboru minimální a maximální. Z porovnání je zřejmé, že uvedení hřebci jsou podle daných OPH z pohledu zbarvení spíše průměrní. V porovnání k ostatním hodnotám jsou pak mírní zlepšovatelé, jelikož je cílem dosáhnout co nejnižší hodnoty.

Tab. 19: Odhadované plemenné hodnoty vybraných hřebců s více jak 10 potomky

	Romke Eleja X	Sacramoso Mantova X	Solo Elea XXII	Solo Siria XXIX	Minimum	Maximum
L^*	-0,35	-0,37	-0,39	-0,20	-2,32	2,75
a^*	-0,38	-0,41	-0,58	-0,30	-1,67	1,82
b^*	-0,76	-0,78	-1,06	-0,56	-2,53	2,92
Chroma	-0,56	-0,85	-1,16	-0,6	-2,99	3,42

Program REMLF90 nepočítá chyby. Lze předpokládat, že vzhledem k malému počtu změřených jedinců budou velké a výsledky tedy nemusí být spolehlivé.

7 Diskuze

U koní plemene kladrubský vraník dochází z hlediska přípařovacího plánu k rotačnímu skupinovému přípařování. Přípařovací plán staví na klisnách z kmenů rozdílných od hřebců, které se pravidelně střídají. Intenzita černého zbarvení (parametr L^*) ani další zkoumaný parametr (parametr a^*) by tedy neměl souviset s chovatelskými zásahy z hlediska přípařovacího plánu. To bylo potvrzeno i ve výsledcích, jelikož linie jako jediný efekt nebyla vyhodnocena jako statisticky průkazná. Empirické pozorování chovatelů, kteří tvrdí, že koně linie Romke jsou tmavší než koně z ostatních linií kvůli krvi fríského koně, nebylo potvrzeno. Efekt věku se může zdát oproti bílým koním nevýznamný, jelikož u černých koní nedochází k přílišné změně barvy v průběhu života. I přesto byl tento efekt vyhodnocen jako statisticky průkazný. U bílých koní je proces vybělování nejčastěji dokončen okolo 10. roku věku (Curik et al., 2013). V porovnání s tím bylo u kladrubských vraníků zjištěno, že zvyšování hodnot parametru L^* bylo s věkem pozvolné (tj. barva koní s věkem mírně zesvětlala). Větší výkyvy byly znát od 20 let věku koní, což může však být způsobeno menším zastoupením jedinců v měřeních. Jako řešení se nabízí sloučení starších koní do jedné skupiny, případně rozdělit všechny jedince na věkové skupiny z důvodu menšího počtu jedinců a zlepšení přesnosti měření.

V případě efektu pohlaví hovoří výsledky u obou zkoumaných parametrů (L^* a a^*) zcela jasně. Klisny byly v průměru vždy světlejší než hřebci. Rozdíly ale nebyly příliš velké ani pro jeden z obou zkoumaných parametrů (průměry: $L^* = 21,87$ pro klisny a $L^* = 21,19$ pro hřebce; $a^* = 2,64$ pro klisny a $a^* = 2,17$ pro hřebce). Tento výsledek může být zkrácen faktem, že většina hřebců je pouštěna v letním období na pastvu jen na omezenou dobu. Podle týmu Stachurska et al. (2004) byli shledáni hřebci polského konika tmavší (parametr L^*), z hlediska parametru a^* byla obě pohlaví vyrovnaná. Rozdíl v parametru a^* je pravděpodobně způsoben odlišnou reflektancí blue dun zbarvení ve škále červená-zelená (parametr a^*).

U efektu místo měření bylo zjištěno, že nejsvětlejších hodnot dosahují kladrubští vraníci v oblasti břicha, následuje oblast plece a zádě, a jako nejtmaší byla vyhodnocena oblast krku. V průměru dosahovala oblast krku hodnoty $L^* = 20,08$, v oblasti břicha bylo dosaženo průměrně $L^* = 22,89$. U parametru a^* byla nejrezavější oblastí na těle koně břicho, následováno oblastí plece a krku a nejméně rezavý nádech vykazovala oblast zádi. Zatím nebylo objasněno, proč dosahovali měření koně nejrezavějšího zbarvení v partiích břicha, zatímco nejméně červený odstín se u nich vyskytoval na zádi i přesto, že je tato partie nejvíce

vystavena slunečnímu záření. Oblast břicha vykazovala v průměru hodnoty $a^* = 2,89$ a oblast zádi $a^* = 1,87$. Tým Toth et al. (2004) prováděl měření také na různých místech u koní plemene nonius, vybral ovšem pouze tři – krk, plec a břicho). V práci je zmíněn pouze průměrný výsledek pro všechny partie dohromady u černě zbarvených koní $L^* = 23,27 \pm 3,51$. Tato hodnota pro černé zbarvení je mírně vyšší než kladrubského vraníka. Kladrubský vraník tedy dosahuje tmavší barvy než plemeno nonius. Hodnoty chyby jsou ale dost vysoké z důvodu počtu měřených koní u uváděné studie ($N = 23$), proto mohou být zavádějící. Hodnota podle stejného týmu pro parametr $a^* = 2,45 \pm 1,50$ odpovídá střední hodnotě všech partií u kladrubského vraníka. Mezi všemi místy měření byla zjištěna středně silná až silná závislost. Hodnota Pearsonova korelačního koeficientu pro parametr L^* se pohybovala od $r = 0,651$ mezi plecí a zádí po $r = 0,8047$ mezi plecí a břichem). Pro parametr a^* byly hodnoty ještě vyšší, zjištěna byla silná závislost (nejvyšší hodnoty bylo dosaženo mezi krkem a plecí $r = 0,9159$, nejnižší mezi krkem a zádí $r = 0,8730$).

Dalším z vyhodnocovaných efektů bylo období (resp. období/ustájení). Podle týmu Toth et al. (2006) lze u koní vyzorovat změny v intenzitě zbarvení srsti během letního pastevního období. Toto bylo potvrzeno u parametru L^* z hlediska rozdílu mezi koňmi plemene kladrubský vraník chodícími v létě na pastvu a koňmi, kteří trávili venku pouze omezenou dobu, kdy rozdíl v průměrných hodnotách byl markantní ($L^* = 22,1$ pro koně na pastvě a $L^* = 19,82$ pro koně primárně ze stájí). U koní plemene polský koník, kteří byli ve zbarvení šedý plavák (blue dun), bylo zároveň potvrzeno, že barva srsti v zimě je světlejší než v létě, méně do červena a více do žluta než v letním období (Stachurska et al., 2004). Dá se tedy usuzovat, že sluneční svit má na černé zbarvení podobný efekt a čas strávený venku na pastvě se může projevit i ve zbarvení srsti.

Hodnoty předpovědi regrese jednotlivých parametrů v závislosti na věku u parametru L^* mírně rostly. U jednotlivých let (4, 8, 12, 16) dosahovaly hodnoty téměř nepatrných rozdílů ($L^*_4 = 21,27 \pm 0,1$; $L^*_8 = 21,29 \pm 0,08$; $L^*_{12} = 21,31 \pm 0,11$; $L^*_{16} = 21,33 \pm 0,16$). Stejná předpověď byla provedena i týmem Toth et al. (2006) u plemene nonius, kde hodnoty také vykazovaly stoupající tendenci, ale rozdíly byly patrnější a chyba větší ($L^*_4 = 20,64 \pm 0,44$; $L^*_8 = 20,89 \pm 0,44$; $L^*_{12} = 21,14 \pm 0,44$; $L^*_{16} = 21,40 \pm 0,44$). To může být způsobeno nejen rozdílným plemenem, kterému byly hodnoty předpovídány, ale také tím, že u týmu Toth et al. (2006) bylo použito k měření příliš málo jedinců (23 koní) a chybovost je tedy větší.

Hodnoty předpovědi regrese jednotlivých parametrů v závislosti na věku u parametru a^* mírně klesaly. U jednotlivých let (4, 8, 12, 16) dosahovaly hodnoty téměř nepatrných rozdílů

($a^*_{4} = 3,76 \pm 0,16$; $a^*_{8} = 3,58 \pm 0,13$; $a^*_{12} = 3,40 \pm 0,17$; $a^*_{16} = 3,22 \pm 0,24$). Stejná předpověď byla provedena i týmem Toth et al. (2006) u plemene nonius, kde hodnoty také vykazovaly zpočátku klesající tendenci, v odhadovaném 16tém roce věku se ale začaly nepatrně zvedat a pravděpodobně by měly s vyšším věkem stoupající tendenci a tvar křivky. Rozdíly díky této tendenci byly méně patrné, i když chyba oproti měření u kladrubských vraníků byla větší jen nepatrně ($a^*_{4} = 2,18 \pm 0,25$; $a^*_{8} = 2,07 \pm 0,25$; $a^*_{12} = 2,03 \pm 0,25$; $a^*_{16} = 2,04 \pm 0,25$). Rozdíly mohou být způsobeno nejen rozdílným plemenem, kterému byly hodnoty předpovídány, ale také tím, že u týmu Toth et al. (2006) bylo použito k měření příliš málo jedinců a chybovost je tedy pravděpodobně větší.

Odhadovaná celková heritabilita dosáhla pro parametr L^* u kladrubských vraníků relativně nízkých hodnot ($h^2 = 0,11$), z pohledu jednotlivých míst měření jsou hodnoty již vyšší ($h^2_{\text{krk}} = 0,19$; $h^2_{\text{plec}} = 0,19$; $h^2_{\text{břicho}} = 0,15$; $h^2_{\text{záď}} = 0,29$), nejvyšší heritability bylo dosaženo na zádi.

Týmu Toth et al. (2006) vyšla celková heritabilita vyšší ($h^2 = 0,21$), do výpočtu ale bylo zapojeno málo jedinců a navíc různých barev i plemen (ryzáci-gidran, hnědáci-nonius a vraníci-nonius).

Celková heritabilita pro parametr a^* dosáhla u kladrubských vraníků vyšších hodnot než u parametru L^* ($h^2 = 0,18$), přičemž jednotlivá místa měření dosahovala kromě jednoho místa vyšších hodnot ($h^2_{\text{krk}} = 0,16$; $h^2_{\text{plec}} = 0,30$; $h^2_{\text{břicho}} = 0,18$; $h^2_{\text{záď}} = 0,32$). Nejvyšší heritability bylo dosaženo na zádi, stejně jako u parametru a^* . Oproti výsledkům týmu Toth et al. (2006) však byly tyto hodnoty velmi nízké, předpovězené hodnoty heritability v dané studii se pohybovaly od $h^2 = 0,79$ do $h^2 = 0,85$. Rozsah hodnot byl shodný pro parametr a^* i b^* . Rozdíl mezi výsledky u kladrubských vraníků a prací týmu Toth et al. (2006) může být způsoben měřením různých plemen koní i barevných typů a zároveň nižším zapojením jedinců do měření.

U parametru b^* byla zjištěna celková heritabilita nižší oproti parametru a^* ($h^2 = 0,14$), ale vyšší oproti parametru L^* . Nejvyšší hodnota byla zjištěna na zádi, ostatní místa dosahovala výrazně nižších hodnot ($h^2_{\text{krk}} = 0,20$; $h^2_{\text{plec}} = 0,27$; $h^2_{\text{břicho}} = 0,20$; $h^2_{\text{záď}} = 0,37$). Oproti výsledkům týmu Toth et al. (2006) jsou hodnoty nízké. Rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny nižším počtem jedinců a různými plemeny a barvami.

Odhadované plemené hodnoty (OPH) pro vybrané plemeníky dosahují relativně nízkých hodnot, i přesto jsou tito plemeníci mírnými zlepšovатели, co se zbarvení týče. Oproti nejlepšímu výsledku z OPH (-2,32) v parametru L^* dosahovali vybraní plemeníci v průměru

o 1,99 nižšího výsledku a oproti nejlepšímu výsledku v parametru a^* (-1,67) dosahovali plemeníci v průměru o 1,2525 nižšího výsledku. Plemeníci starokladrubského koně však nejsou vybíráni do plemenitby z hlediska zbarvení, nýbrž podle fenotypové hodnoty získané kontrolou užitečnosti, výkonnosti a znaků lineárního popisu (Řád plemenné knihy starokladrubského koně, 2012). Hodnoty OPH mají tedy pouze informativní charakter. Pokud by v budoucnu v plemeni došlo ke zhoršení fenotypové intenzity černého zbarvení, v praxi by mohlo být stanovení OPH z hlediska zbarvení zvaženo, případně by o efekt zbarvení mohlo být rozšířeno stávající stanovení OPH.

Zatím nebyla vědecky potvrzena genetická determinace různých variant u vraníků (jet black, fading black, non-fading black). Je však pravděpodobné, že na genetickou determinaci má vliv více genů malého účinku a s tím souvisí i fenotypový projev.

Je možné, že genotyp na lokusu Extension by mohl mít vliv na přítomnost narezlé barvy srsti. Ve starokladrubské populaci se vyskytuje v tomto lokusu pravděpodobně nejvíce dominantních homozygotů (EE), vzhledem k občasnému narození ryzého zvířete je ale velmi pravděpodobné, že v populaci musí být i heterozygoti (Ee). Je tedy možné, že přítomnost jedné recesivní alely (e) by mohla mít vliv na přítomnost narezlé barvy srsti.

Tyto otázky by se daly výhledově řešit s využitím genomiky. Jedním z předpokladů úspěšnosti těchto analýz je dostupnost objektivních fenotypových údajů o jedincích, které byly získány při řešení této diplomové práce.

8 Závěr

Předkládaná práce je první studií zabývající se objektivním hodnocením zbarvení u starokladrubskeho vraníka. Ačkoli u běloušů a dalších barev koní jiných plemen koní bylo provedeno několik podobných studií za použití stejné metodiky (Curik et al., 2013; Toth et al. 2006), u vraníků nic v takovém měřítku zkoumáno nebylo. Výsledky zde předkládané potvrdily některé obecně známé fakty – zesvětlování srsti v závislosti na čase stráveném na pastvě a rozdíly mezi barvou srsti v letním a zimním období nebo pozvolné zesvětlování srsti vraníků v závislosti na věku. Hodnoty OPH zde mají pouze informativní charakter, v budoucnu by ale mohly být brány v potaz v případě fenotypového zhoršení intenzity černé barvy srsti a využívány jako jeden z možných požadavků na plemeníka v budoucí plemenitbě. Získaná data je možné použít i v dalších studiích.

V práci nebylo potvrzeno, že mezi liniemi kladrubskeho vraníka existují z hlediska intenzity barvy srsti rozdíly, tento jediný efekt byl shledán významným pouze na vyšší hladině významnosti ($p < 0,05$). Ostatní zvolené efekty (věk, pohlaví, místo měření období/ustájení) byly vyhodnoceny jako vysoce průkazné ($p < 0,001$).

Závěrem lze říci, že všechny cíle byly splněny a potvrzeny byly téměř všechny hypotézy kromě hypotézy č. 1, částečně byla potvrzena hypotéza č. 2. Vliv linie, a tedy empirické pozorování chovatelů, nebyl prokázán. Vliv věku byl prokázán pouze částečně.

Získané poznatky této práce jsou použitelné v další plemenitbě a šlechtění nejen starokladrubskeho vraníka, ale též jiných černě zbarvených plemen koní, a to z hlediska tvorby šlechtitelské strategie, selekce nebo sestavování přípařovacích plánů.

Zde popsané údaje a výsledky z hlediska fenotypu mohou být také využity k dalšímu výzkumu na poli genomiky.

9 Seznam literatury

- ADRIAN, J. A. L. 2013. Equine Color Genetics and Deoxyribonucleic Acid Testing. *Journal of Veterinary Science & Technology*. 4 (2). 1-7.
- ANDERSSON, L., SANDBERG, K. 1982. A linkage group composed of free coat color genes and free serum protein loci in horses. *The Journal of Heredity*. 73 (2). 91-94.
- BELLONE, R. R., BROOKS, S. A., SANDMEYER, L., MURPHY, B. A., FORSYTH, G., ARCHER, S., BAILEY, E., GRAHN, B. 2008. Differential Gene Expression of TRPM1, the Potential Cause of Congenital Stationary Night Blindness and Coat Spotting Patterns (LP) in the Appaloosa Horse (*Equus caballus*). *Genetics*. 179 (4). 1861-1870.
- BOWLING, A. T., RUVINSKY, A. 2000. *The Genetics of the Horse*. CABI Publishing. Wallingford. p. 527. ISBN: 0-85199-429-6.
- BROOKS, S. A., BAILEY, E. 2005. Exon skipping in the KIT gene causes a Sabino spotting pattern in horses. *Mammalian Genome*. 16 (11). 893-902.
- BROOKS, S. A., TERRY, R. B., BAILEY, E. 2002. A PCR-RFLP for KIT associated with tobiano spotting pattern in horses. *Animal genetics*. 33 (4). 301-303.
- BRUNBERG, E., ANDERSSON, L., COTHRAN, G., SANDBERG, K., MIKKO, S., LINDGREN, G. 2006. A missense mutation in PMEL17 is associated with the Silver coat color in the horse. *BMC genetics*. 7 (1). 46.
- CIESLAK, J., CHOLEWINSKI, G., MACKOWSKI, M. 2013. Genotyping of coat color genes (MC1R, ASIP, PMEL17 and MATP) polymorphism in cold-blooded horses bred in Poland reveals sporadic mistakes in phenotypic descriptions. *Animal Science Papers and Reports*. 31 (2). 159-164.
- COOK, D., BROOKS, S., BELLONE, R., BAILEY, E. 2008. Missense mutation in exon 2 of SLC36A1 responsible for champagne dilution in horses. *PLoS genetics*. 4 (9). 1-9.

CURIK, I., DRUML, T., SELTENHAMMER, M., SUNDSTRÖM, E., PIELBERG, G. R., ANDERSSON, L., SÖLKNER, J. 2013. Complex Inheritance of Melanoma and Pigmentation of Coat and Skin in Grey Horses. *PloS genetics*. 9 (2). 1-9.

DUŠEK, J., HUČKO, V., KLEMENT, J., PELLAROVÁ, A. 1992. Chov koní v Československu. Brázda. Praha. 173 s. ISBN: 80-209-0168-X.

DUŠEK, J., MISAŘ, D., MÜLLER, Z., NAVRÁTIL, J., RAJMAN, J., TLUČHOŘ, V., ŽLUMOV, P. 2011. Chov koní. 3. vydání. Brázda. Praha. 398 s. ISBN: 978-80-209-0388-4.

HOFMANOVÁ, B., MAJZLÍK, I. 2006. Výskyt a kvantifikace melanomu u starokladrubských běloušů s ohledem na liniovou příslušnost. *Acta fytotechnika et zootechnica*. 9 (mimoriadne číslo - special). 40-42.

HOFMANOVÁ, B., MAJZLÍK, I., VOSTRÝ, L., MACH K. 2010. Zbarvení starokladrubských koní a jeho diverzita. *Acta fytotechnika et zootechnica*. 13 (mimoriadne číslo - special). 9-12.

JAKUBEC, V., ŘÍHA, J., GOLDA, J., MAJZLÍK, I. 1999. Odhad plemenné hodnoty hospodářských zvířat / Estimate of breeding value in farm animals. VÚCHS Rapotín. Rapotín. 177 s.

MACHEK, J. 2010. Koně starokladrubští po roce 1989. In: DYKOVÁ, Z. ŠANCOVÁ, Z. 2010. Plemenná kniha starokladrubských koní / Studbook of the Oldkladruby Horse. Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Kladruby nad Labem. 320 s. ISBN: 978-80-254-9004-4.

MARIAT, D., TAOURIT, S., GUÉRIN, G. 2003. A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse. *Genetics Selection Evolution*. 35 (1). 119-133.

MARKLUND, L., MOLLER, M. J., SANDBERG, K., ANDERSSON, L. 1996. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian Genome*. 7 (12). 895-899.

MAU, C., PONCET, P. A., BUCHER, B., STRANZINGER, G., RIEDER, S. 2004. Genetic mapping of dominant white (W), a homozygous lethal condition in the horse (*Equus caballus*). *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 121 (6). 374-383.

METALLINOS, D. L., BOWLING, A. T., RINE, J. 1998. A missence mutation in the endothelin-B receptor gene is associated with Lethal White Foal Syndrome: an equine version of Hirschsprung Disease. *Mammalian genome*. 9 (6). 426-431.

MISAŘ, D. 2011. Vývoj chovu koní v Čechách, na Moravě a na Slovensku. Brázda. Praha. 195 s. ISBN: 978-80-209-0383-9.

MISZTAL, I. 1998. REMLF90 Manual [online]. 2. dubna 1998 [cit. 2014-12-20]. Dostupný z: <<http://nce.ads.uga.edu/~ignacy/numpub/blupf90/docs/remlf90.pdf>>.

MISZTAL, I. 1997. BLUPF90 - a flexible mixed model program in Fortran 90 [online]. 17. listopadu 1997 [cit. 2014-12-20]. Dostupný z: <<http://nce.ads.uga.edu/~ignacy/numpub/blupf90/docs/blupf90.pdf>>.

PIELBERG, G. R., GOLOVKO, A., SUNDSTRÖM, E., CURIK, I., LENNARTSSON, J., SELTENHAMMER, M. N., DRUML, T., BINNS, M., FITZSIMMONS, C., LINDGREN, G., SANDBERG, K., BAUMUNG, R., VETTERLEIN, M., STRÖMBERG, S., GRABHERR, M., WADE, C., LINDBLAD-TOH, K., PONTÉN, F., HELDIN, C. H., SÖLKNER, J., ANDERSSON, L. 2008. A cis-acting regulatory mutation causes premature hair graying and susceptibility to melanoma in the horse. *Nature genetics*. 40 (8). 1004-1009.

RIEDER, S. 2009. Molecular tests for coat colours in horses. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 126 (6). 415-424.

RIEDER, S., TAOURIT, S., MARIAT, D., LANGLOIS, B., GUÉRIN, G. 2001. Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian genome*. 12 (6). 450-455.

Řád plemenné knihy starokladrubského koně [online]. 2012. 1. ledna 2012 [cit. 2014-12-02].
Národní hřebčín Kladruby nad Labem. 43 s. Dostupný z:
< <http://www.nhkladruby.cz/prilohy/radpk.pdf> >.

SANDMEYER, L. S., BELLONE, R. R., ARCHER, S., BAUER, B. S., NELSON, J., FORSYTH, G., GRAHN, B. H. 2012. Congenital stationary night blindness is associated with the leopard complex in the miniature horse. *Veterinary Ophthalmology*. 15 (1). 18-22.

SANTSCHI, E., PURDY, A. K., VELBERG, S. T., VROTSOS, P. D., KAESE, H., MICKELSON, J. R. 1998. Endothelin receptor B polymorphism associated with lethal white foal syndrome in horses. *Mammalian Genome*. 9 (6). 306-309.

SAS. SAS Institute Inc. 2012. SAS® 9.3 In-Database Products: User's Guide, Fourth Edition [online]. 1. prosince 2012 [cit. 2014-12-15]. SAS Institute Inc. Cary, NC. Dostupný z: <<http://support.sas.com/documentation/cdl/en/indebug/65980/PDF/default/indebug.pdf>>.

SPONENBERG, D. P., WEISE, M. C. 1997. Dominant black in horses. *Genetics Selection Evolution*. 29 (3). 403-408.

SPONENBERG, D. P. 2009. *Equine Color Genetics*. 3rd edition. Wiley-Blackwell. Oxford. p. 296. ISBN: 978-0-8138-1364-6.

STACHURSKA, A., PIETA, M., JAWORSKI, Z., USSING, A. P., BRUSNIAK, A., FLOREK, M. 2004. Colour variation in blue dun Polish konik and Bilgoraj horses. *Livestock Production Science*. 90 (2-3). 201-209.

STATISTICA 12. StatSoft Inc. 2013. *Electronic Statistics Textbook* [online]. [cit. 2014-12-18]. StatSoft. Tulsa, OK. Dostupný z: <<http://www.statsoft.com/textbook/>>.

ŠANCOVÁ, Z. 2010. Zásady chovu starokladrubských koní. In: DYKOVÁ, Z. ŠANCOVÁ, Z. 2010. *Plemenná kniha starokladrubských koní / Studbook of the Oldkladruby Horse*. Národní hřebčín Kladruby nad Labem. Kladruby nad Labem. 320 s. ISBN: 978-80-254-9004-4.

THIRUVENKADAN, A. K., KANDASAMY, N., PANNEERSELVAM, S. 2008. Coat colour inheritance in horses. *Livestock Science*. 117 (2). 109-129.

TOTH, I., BODO, I., SÖLKNER, J., CURIK, I. 2004. Genetic diversity of the Hair Colour in Horses. In: 55th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (EAAP), September 5-9, 2004, Bled, Slovenia. Wageningen Academic Publishers. Wageningen. p. 316. ISBN: 978-90-8686-529-1.

TOTH, Z., KAPS, M., SÖLKNER, J., BODO, I., CURIK, I. 2006. Quantitative genetic aspects of coat color in horses. *Journal of Animal Science*. 84 (10). 2623-2628.

VOSTRÝ, L., KRACÍKOVÁ, O., HOFMANOVÁ, B., CZERNEKOVÁ, V., KOTT, T., PŘIBYL, J. 2011. Intra-line and inter-line genetic diversity in sire lines of the Old Kladruber horse based on microsatellite analysis of DNA. *Czech Journal of Animal Science*. 56 (4). 163-175.

10 Přílohy

Obrázek 1: Měření pomocí spektrofotometru na fríském koni – partie břicha

Foto: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.



Obrázek 2: Měření pomocí spektrofotometru na fríském koni – partie zádi

Foto: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.



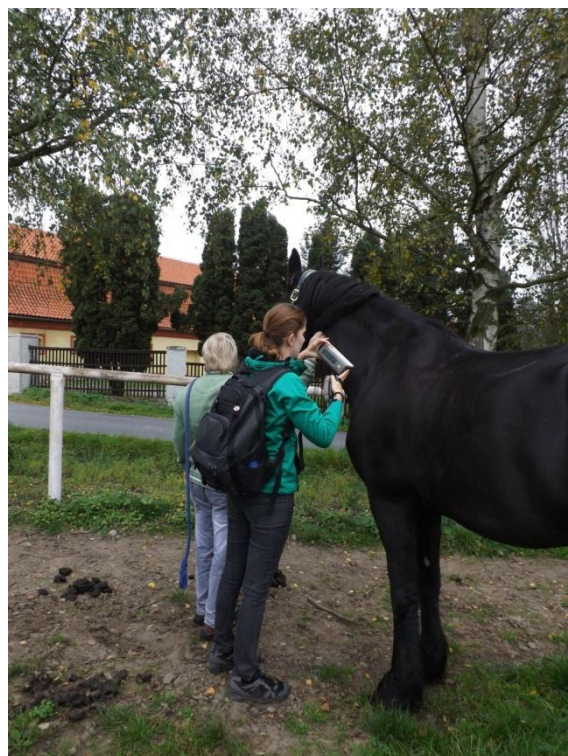
Obrázek 3: Měření pomocí spektrofotometru na fríském koni – partie plece

Foto: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.



Obrázek 4: Měření pomocí spektrofotometru na fríském koni – partie krku

Foto: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.



Obrázek 5: Romke Eleja X

Foto: Hřebčín Kladruby nad Labem - http://www.aschk.cz/kld/plemenici/133254_1.jpg



Obrázek 6: Sacramoso Mantova X

Foto: Hřebčín Kladruby nad Labem - http://www.aschk.cz/kld/plemenici/136439_1.jpg



Obrázek 7: Solo Elea XXII

Foto: Hřebčín Kladruby nad Labem - http://www.aschk.cz/kld/plemenici/130628_1.jpg



Obrázek 8: Solo Siria XXIX

Foto: Hřebčín Kladruby nad Labem - http://www.aschk.cz/kld/plemenici/117480_1.jpg



Seznam příloh

Obrázek 1: Měření pomoci spektrofotometru na fríském koni – partie břicha	62
Obrázek 2: Měření pomoci spektrofotometru na fríském koni – partie zádi	62
Obrázek 3: Měření pomoci spektrofotometru na fríském koni – partie plece.....	63
Obrázek 4: Měření pomoci spektrofotometru na fríském koni – partie krku.....	63
Obrázek 5: Romke Eleja X	64
Obrázek 6: Sacramoso Mantova X	64
Obrázek 7: Solo Elea XXII	65
Obrázek 8: Solo Siria XXIX	65