

Merle – odhalení jeho tajemství

Veškeré informace pochází z knihy “Merle - SINE Insertion from Mc - Mh - The Incredible Story of Merle” 2018 Mary Langevin
www.merle-sine-insertion-from-mc-mh.com

Založené na publikovaných článcích – “Merle phenotypes in dogs - SILV SINE insertions from Mc to Mh” - “langevin et al”

Mary Langevin, Helena Synkova, Tereza Jancuskova, Sona Pekova

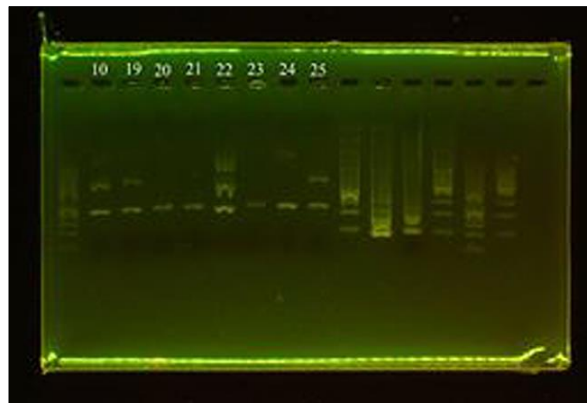
Published: September 20, 2018 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198536>

Pokud jste již nějaký čas chovatelem australských ovčáků, pravděpodobně vaše fena někdy vyprodukovala štěně, které vás vedlo k zamyšlení, co vlastně vidíte. Pravděpodobně to byly bílé znaky, které jste neočekávali a které nejsou standardní; štěňata vypadající jako dilute, avšak d/d genotyp v tomto spojení nebyl možný; hnědavé či vybledlé odstíny na černé srsti; odchov s převládající bílou i přesto, že jeden z rodičů byl solid; Merle štěňata, i když ani jeden z rodičů Merle nebyl; solid štěňata, i když jeden z rodičů byl M/M a celý vrh tak naopak měl být Merle; vzácný tweed vzor Merle, který se nepodobá ani rodičům či sourozencům. (*Tweed popisujeme jako vzor Merle, který se projevuje náhodným střídáním zesvětlených a solid oblastí, obvykle ve dvou až třech odlišitelných odstínech. Kdysi byl považován za Merle modifikátor, nicméně nyní víme, že vzniká při několika kombinacích Merle genotypů*).

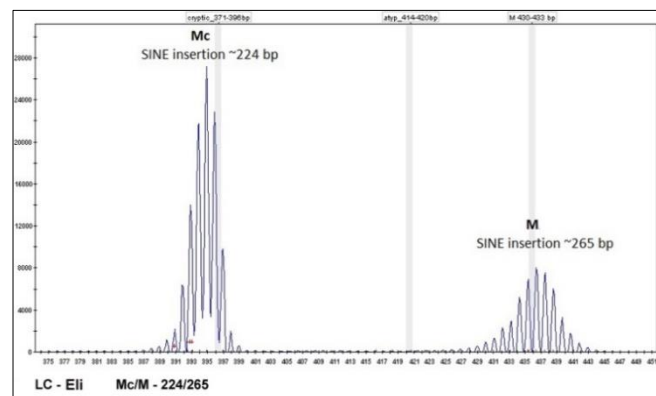
Okolo Merle bylo vždy spousta otázek. Hlavním předmětem zkoumání je nyní SINE inserce – mutace v SILV genu. Tato SINE inserce sestává ze tří částí, hlavy, těla a konce (tzv. poly-A konce), který obsahuje dlouhý řetězec opakujících se párů bází. Mutace znemožňuje buňkám produkovat normální pigment a mění tak vzhled u Merle zvířete na střídající se oblasti zesvětlené a původní srsti. Když Dr. LA Clark v roce 2006 identifikoval Merle mutaci, bylo to naprosto vzrušující! Mysleli jsme, že získáme odpovědi na otázky, které chovatele trápí již po mnoho generací. Ovšem co přišlo poté, opět vzneslo vlnu znepokojení – solid pes, který byl testován jako M/M, ovšem nevyprodukoval žádná Merle štěňata. Jak k tomu mohlo dojít? Opět tedy zůstalo mnoho otázek nezodpovězených. Testování bylo mnohými považováno za nesprávné a v roce 2009 jediná laboratoř, která v té době měla na testování Merle patent, stáhla tento test ze své nabídky.

V roce 2010 představil Theromi Fisher svůj ABI 3500 Genetic Analyzer. V té době jsme si to ještě neuvědomovali, ale tento pokrokový analyzátor by nám už v té době mohl dát odpovědi, které jsme hledali, a poskytnout chovatelům informace, které by významně pomohly při výběru chovných párů.

Původní Merle test totiž uměl pouze přesně identifikovat výše zmíněné „tělo“ Merle mutace a předpokládalo se, že jakákoliv přiměřená délka poly-A konce by se ve výsledku prostě projevila jako Merle vzor. Za použití nových technologií můžeme nyní spočítat přesný počet párů bází u poly-A konce, což je objev, který naprosto mění situaci. Podmínky a kvalita produktů použitých pro tento výzkum jsou však tristní. Pro optimální výsledek je nutná pouze ta nejvyšší kvalita.



Originální výsledek Merle testu - označen jako Mc/M



Výsledek chromatogramu ve vysokém rozlišení zahrnující páry bází - Mc/M - 224/265

Nyní je naším úkolem přiřadit délku v párech bází u poly-A konce (genotyp) k Merle vzoru, který se projeví na zvířeti (tedy k fenotypu). Délka každé alely (poznámka překladatele: délka poly-A konce, dále však pro zjednodušení pouze alely) dle publikace (2018 „Langevin et al“) byla specifikována tak, aby co nejvíce odpovídala potřebám chovatelů a osvětlila ne pouze to, jak bude sám o sobě vypadat konkrétní pes, ale především jak se projeví v chovu dál v kombinaci s různými protějšky. Abychom dosáhli přesného průměru genotyp = fenotyp, musíme umět pracovat také s rodokmeny; znát rodiče zvířete, potomky a příbuzné naskrz generacemi. Ačkoliv jsem zodpovědná za stanovení hranic mezi všemi 6 Merle alelami, není to pouze má práce. Mnoho majitelů a chovatelů plemen ze všech koutů světa se nabídlo s testováním a analýzou rodokmenů u stovek svých psů. Toto je přímý důkaz toho, jak chovatelé, kteří jsou vlastně v „první linii“ při rozeznávání barev a vzorů od rodičů k potomkům, mohou být velmi nápomocní laboratořím při jejich výzkumu a vyvíjení nových testů.

Poznámka autorky: Často mi pokládáte dotazy, proč každá laboratoř doposud nedisponuje novou testovací metodou. Odpověď – ABI 3500 Genetic Analyzer stojí přibližně 200 000 amerických dolarů, tedy vysoký finanční obnos, který si každá laboratoř nemůže dovolit. Tím spíše disponuje-li už starším modelem.

Pro tento článek jsem použila především příklady z řad Australských ovčáků. Nicméně některé případy bylo lepší osvětlit za použití příkladů u jiných plemen. Merle se totiž chová stejně, napříč plemeny.

Poznámka: spousta Australských ovčáků na obrázcích je ze států Evropy, kde je zakázáno kupírovat ocasy.

Sedm alel na M lokusu

Stanovení hranic pro nové Merle alely byl náročný úkol s velkou zodpovědností. Poly-A konec je totiž „kontinuum“ o délce 200 – 280 párů bází. Slovo kontinuum je definováno jako „souvislý celek, kde žádná část není viditelně odlišná od své sousedící části, ačkoliv oba její konce nebo extrémy jsou velmi odlišné jeden od druhého“. Kontinuum je plynulé, bez zlomů nebo přerušení, pokračuje bez mezer a navazuje. Takže jak a proč tedy rozdělit páry bází do skupin a pojmenovat je jako separátní alely?

Učinila jsem tak, abych odpověděla na tři nejvíce důležité otázky chovatelů:

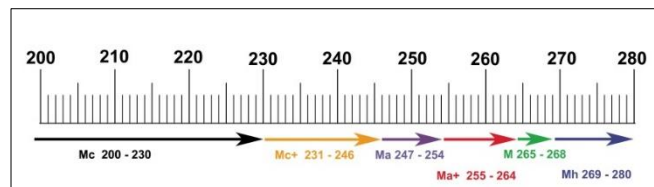
- 1) Které kombinace alel se projeví jako Merle vzor?
- 2) Jak jasný a zřetelný Merle vzor bude?
- 3) Které kombinace alel mohou odstranit pigment v rámci Merle vzoru až do bílé?

Toto jsou pro chovatele velmi důležité aspekty, zejména usiluje-li o to, aby ve svém chovu produkoval Merle vzor, který odpovídá standardu plemene. Stejně tak jsou tyto znalosti důležité pro ty, kteří nechtějí ve svém chovu produkovat tzv. „double merle“ potomky. Chovatelé nepotřebují znát pouze nejčastější fenotypový projev pro danou alelu a její kombinace, ale především jak se takový pes bude dále projevovat v chovu, jaký vzor budou mít jeho potomci, když bude spojen s tím daným protějškem. Toto jsou ty nejzásadnější otázky a alely m, Mc, Mc+, Ma, Ma+, M a Mh nám na ně poskytují odpovědi.

Merle je „neúplně dominantní“, jedna alela tedy ne úplně zcela dominuje druhé. V souvislosti s tím, jaké dvě alely potomek od rodičů zdědí, může být vzor projeven jako „něco mezi“ nebo i jako úplně odlišný od původního vzoru rodičů. Když jsme stanovovali počty párů bází pro každou alelu, nezajímalo nás pouze, jak se daná alela bude projevovat v heterozygotní kombinaci s ne-merle, ale u každé z nich musíme vzít v potaz také jak se chová jako homozygotní či v kombinaci s jinou Merle alelou.

Existuje 28 možných kombinací ze 7 alel. 14 z těchto kombinací pak může odstranit pigment do bílé. V tomto článku nemohu obsáhnout všechny známé kombinace, nicméně se budu soustředit na příklady, které pomohou osvětlit důvody neobvyklých fenotypů.

•	m	Ne-merle; původní typ	
•	Mc	kryptické merle	200 – 230 bp
•	Mc+	kryptické merle +	231 – 246 bp
•	Ma	atypické merle	247 – 254 bp
•	Ma+	atypické merle +	255 – 264 bp
•	M	merle	265 – 268 bp
•	Mh	harlekýn merle	269 – 280 bp



Škála Merle - OD CHOVATELŮ PRO CHOVATELE

Můžeme předpokládat, že Mh – harlekýn merle - je jako nejdelší alela tou původní, zděděnou od předků. Takže jak pak vznikly všechny další druhy?

Mozaicismus

Výsledky testů, které vzbudily největší rozruch a odhalily mnoho dříve nevysvětlených nesrovnalostí, které byly spatřeny u některých merle vzorů a rozdílů ve fenotypu předávaného z rodiče na potomka, byly tzv. mozaikového typu. Dobře si pamatuji svůj úžas, když jsem poprvé uviděla mozaikový výsledek: „CO JE TOHLE?!“ a pak ten okamžik hlubokého odhalení, kdy do sebe vše zapadlo a začalo dávat smysl.

Mozaicismus – „somatický mozaicismus“ nebo také „somatická mutace“ je přítomnost dvou nebo více buněk s různými genotypy v těle jednoho psa. Mozaicismus Merle je výsledkem mutace (zkrácení poly-A konce) v jedné buňce během rané fáze embryonálního vývoje. Tato mutace se pak namnoží během replikace buněk. Alely se zkrácenou délkou se tak budou vyskytovat pouze v některých dospělých buňkách v různých částech těla zvířete. Z 308 testovaných Merle psů jich 56 mělo mozaiku -průměrně tedy 18 % nebo také 1 z každých 5,5 testovaných psů mělo 3 nebo více rozdílných alel na M lokusu. Což dokazuje, že mozaika je poměrně běžná.

Poznámka: Poly-A konec u Merle není svým zkracováním vůbec ojedinělý. Pro všechny konce u SINE mutací je zkracování běžné. Je to také způsob, jak mohou vědci zjistit stáří inserce - čím je konec delší, tím čerstvější inserce je. Jako příklad: „at“ alela – pálení na A lokusu - je považována za starší SINE mutaci, jelikož délky poly-A konců jsou zde velmi krátké a stabilní na počtu 99-100 bp. Nicméně soudit stáří u Merle poly-A konce v tomto případě objektivně nelze, jelikož v chovu plemen psů dávno nefunguje přírodní výběr. Zkracování je uměle ovlivněno právě námi, chovateli, kteří se snažíme Merle vzor zachovat a vybíráme vizuálně vzory odpovídající delším alelám M a Mh. Pokud by Merle vzor byl ponechán pouze na přírodě, již by byl dávno „ztracen“, jelikož by se všechny alely zkrátily do podoby Mc.

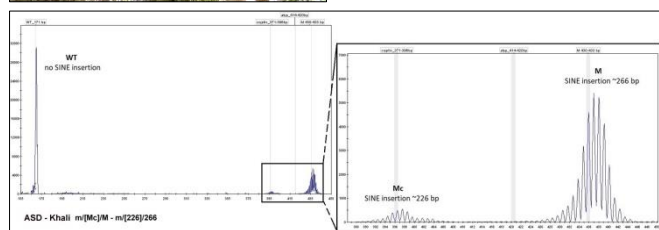
Obvykle zkrácenou alelu obsahuje pouze malá část buněk – nazýváme ji „minoritní alela/y“ a ve výsledcích testů je uváděna v hranaté závorce. Dvě alely s vyššími píky a chromatogramu, které představují větší frakci buněk, nazýváme „majoritní alely“. Ve většině případů jsou majoritní alely ty, které mají zároveň největší počet párů bází – jsou to alely zděděné od obou rodičů.

Avšak v některých velmi zajímavých případech se mutované buňky namnožily více, než je běžné a pak existuje větší frakce se zkrácenou alelou, než je ta původní zděděná od rodičů. Tato původní alela od rodičů se pak stává naopak „minoritní“ a mutovaná „majoritní“. Její projev ve fenotypu bude záviset na tom, jak se mutované buňky namnoží a na velikosti frakce každé z alel, které pes nese. Ve většině případů není možné pouze na základě fenotypu zjistit, že pes nese Merle mozaiku, avšak v případech, kdy se buňky nesoucí zkrácenou alelu namnožily ve větším množství, fenotyp psa se bude dramaticky lišit od toho, co by se dalo očekávat od dvou alel zděděných po rodičích.

Navíc pokud se mutace objeví ve velmi raném vývoji, může být přítomna nejen v somatických (tělních) buňkách, ale také v buňkách zárodečných. Somatické buňky se objeví pouze na těle zvířete, zahrnují veškeré buňky kromě reprodukčních. Zárodečné buňky se naopak vyskytují pouze v pohlavních orgánech – u samic ve vaječnících a u samců ve varlatech. Mutace zárodečné buňky tak mění její genetické složení. To znamená, že mutované buňky mohou být nalezeny buď v ejakulátu nebo vajíčkách. Tímto způsobem pak zárodečná mutace může ovlivnit potomky zvířete s Merle mozaikou a může být předána dalším generacím.

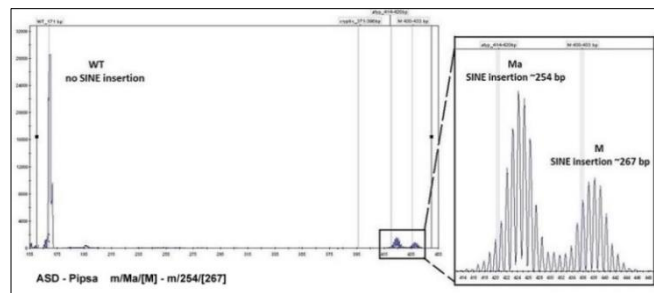
Zkrácená alela může být předána dalším generacím.

Khali je příkladem typického výsledku mozaiky. Má buňky obojího typu: $m/M - m/266$ buňky (původní buňky zděděné od rodičů) a také $m/Mc - m/226$ buňky (buňky obsahující zkrácenou/mutovanou alelu). Všimněte si vysokého píku původní M alely a zároveň nízkého píku alely Mc . To udává, že ve vzorku bylo mnohem méně m/Mc buněk než m/M . Khaliin fenotyp tak nebyl ovlivněn minoritní alelou a vůbec bychom neřekli, že je případem mozaicismu.



Khali - $m/[Mc]/M - m/[226]/266$

U **Pipsina** mozaikového výsledku si všimněte výšek obou píků. Buňky obsahující zkrácené $Ma - 254$ alely se namnožily více než je běžné a staly se tak majoritní alelou. Původní alela $M - 267$ zděděná od jednoho z rodičů se naopak stala alelou minoritní. Pipsa nese oboje buňky: $m/m - m/267$ a $m/Ma - m/254$. Procentuální výskyt dvou různých typů buněk se projevil na neobvyklým fenotypem v Pipsině srsti.



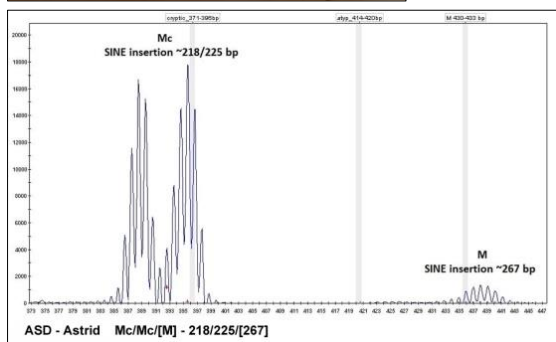
Pipsa - $m/Ma/[M] - m/254/[267]$

Pippa je příkladem jediného odchovaného štěněte ve vrhu, kde se nečekaně projevil tweedový vzor, který není typický pro m/M vzor její matky a ostatních sourozenců. Vše bylo vysvětleno výsledkem jejího testu. Pippa má některé buňky $m/M - m/266$ obsahující originální alely zděděné po matce a také $m/Mc+$ buňky obsahující zkrácenou $Mc+$ alelu.



Pippa - $m/[Mc+]/M - m/[240]/266$

Astrid je příklad tzv. „minimal Merle“ vzoru způsobeného mozaicismem. Od své matky zdědila původní alely M – 267 a od otce Mc – 255. (*Pro tento případ byli testováni oba rodiče Astrid.*) Buňky, které zmutovaly z M do Mc -218 se replikovaly ve velmi vysoké míře a ponechaly tak na srsti Astrid pouze malou oblast m/M buněk na omezených částech těla. V současné době neznáme důvod různé míry replikace buněk.



Astrid – Mc/Mc/[M] – 218/226/[267]

Tyto čtyři příklady demonstrují, jak snadno se nová zkrácená alela může projevit v chovu a budoucích generacích bez tušení chovatele.

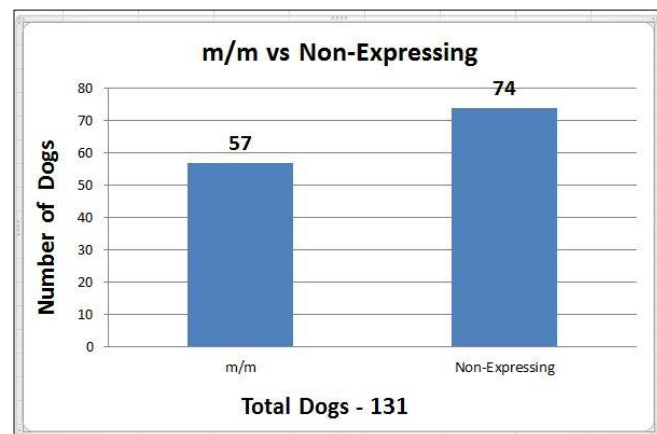
Khaliina Mc – 226 bp; Pipsina Ma – 254 bp; Pippina Mc+ – 240 bp a Astridina Mc – 218 bp by mohly být potenciálně předány budoucím potomkům.

Tyto kratší alely jako Mc, Mc+ a Ma se v heterozygotní sestavě totiž „neprojevují“.

Tím pádem jakýkoliv solid odchov může být považován za ne-merle a přitom může být ve skutečnosti **m/Mc, m/Mc+ nebo m/Ma**. Mc alela nebude mít v budoucnu dopad na budoucí chov nebo vzor jako takový, avšak Mc+ a Ma mohou potenciálně způsobit bílé znaky pokud se skombinují s alelou M. *Chov na Mc+ alele bude probrán dále v článku.*

Pokud budeme chovat na Mc – 200 -230 bp, nebudeme o tom mít nejmenší tušení. Poly-A konec se tolik zkrátí, že se bude chovat stejně, jako ne-merle. Abych dala čtenáři lepší šanci porozumět problematice častosti výskytu těchto krátkých alel, především Mc, přináším výsledky on-line průzkumu od chovatelů/majitelů AUO, kde je zobrazeno, kolik solid psů neslo ve skutečnosti zkrácenou neprojevující se Merle alelu Mc, Mc+ a Ma.

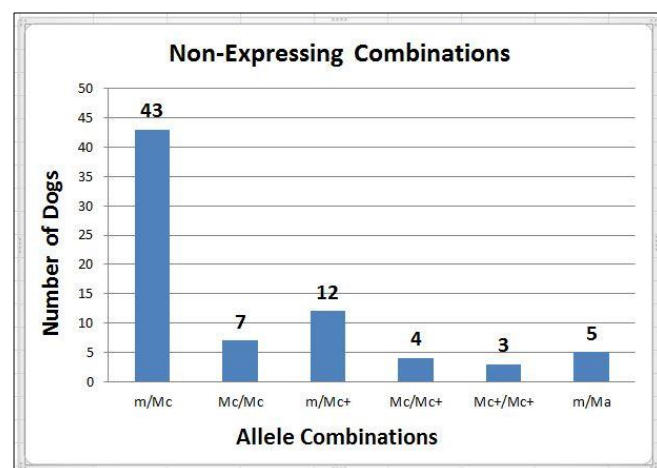
Celkový počet psů – 131



Procentuální výskyt m/m (ne-merle) = 43 %

Procentuální výskyt psů s kratšími alelami bez Merle projevu (Mc, Mc+ a Ma) = 57 %

Rozdělení alel bez projevu – celkem 74



38 % psů fenotypového projevu solid bylo m/Mc nebo Mc/Mc. Tito psi se v chovu budou dále chovat jako ne-merle. Pokud budou spojeni s M – Merle protějškem, žádný pigment nebude vybělen.

19 % psů fenotypového projevu solid bylo Mc+ nebo Ma. Pokud budou spojeni s M- Merle protějškem, může být pigment vybělen!

Tento malý průzkum je indikátorem toho, jak časté tyto zkrácené alely v populaci jsou, a jak často považujeme solid psy za m/m (ne-merle). U Mc alely, která je tou nejběžnější, je zároveň vidět, jak často jsme ji historicky zařazovali do našeho chovu, aniž bychom o ní měli tušení, jelikož nám nezpůsobovala žádné defekty.

Takový procentuální výskyt by pravděpodobně platil pro jakékoliv plemeno, které má Merle jako plemenný znak a je součástí standardu. *U plemen, kde bylo Merle zbarvení zařazeno do chovu teprve nedávno můžeme očekávat zatím ne tolik vysoký procentuální výskyt těchto zkrácených alel.*

Následující část článku detailně popíše, jak jsme v minulosti užívali termín „cryptic merle“ a jaké je nyní jeho správné znění. Tyto informace osobně považuji za nejdůležitější sdělení z celého článku.

Abychom zachovali genetickou diverzitu všech Merle plemen, je pro chovatele velice důležité plně porozumět chovu s Mc alelou 200 – 230 bp.

Definujeme Mc – Cryptic Merle 200 – 230 bp

Původ názvu slova „cryptic“ pochází ze slova „crypticus“ – latinsky „skrytý či skrýt“. Termín „cryptic merle“ tedy doposud byl po desetiletí používán přesněji pro označení „psa, který je tzv. skrytý merle“. Nejčastěji naleznete slovo cryptic ve spojení s výrazy jako je „skrytý, maskovaný, ghost nebo fantom“. Všechna tato slova mají ten samý význam – „pes, který je pokládán díky svému fenotypu za ne-merle, ale v následném chovu se projeví jako Merle (produkuje viditelný Merle vzor).

Je velmi důležité si uvědomit, že výraz „cryptic“ byl v tomto slova smyslu používán pouze jako „popisný výraz“ a ne jako opravdový „genetický termín“. Byl používán jako označení něčeho, co jsme nebyli schopni pochopit a technologicky probádat. V tomto případě přesnou délku Merle poly-A konce. *Poznámka: u některých plemen je výraz cryptic používán také pro označení zvířat, která jsou „minimal merle“. Tento barevný projev je však způsobem dvěma jinými důvody. Jeden je výše uvedený mozaicismus u příkladu Astrid a druhý bude popsán dále, v sekci Mh – Harlekýn Merle.*

V roce 2015 byl publikován článek, který oficiálně pojmenoval „Cryptic merle“ alelu – Mc. Avšak tento výzkum byl skutečně za použití staré metody testování a byl založen pouze na fenotypu, ne na výsledku chovu. To vedlo popsání Mc alely jako příliš dlouhé v párech bází. Tato délka odpovídá v publikaci „Langevin et al“ dohromady alelám Mc, Mc+ a Ma, které se sice v heterozygotní sestavě chovají jako neprojevující se, nicméně v následném chovu se projevují jinak.

Bohužel to, že tento článek pojmenoval alelu Mc-Cryptic Merle a výraz „cryptic“ se tím pádem stal za ta léta nadužívaným a komplikovaným (jelikož jím bylo popisováno více různých projevů dohromady); znamená dnes pro mnoho chovatelů různých plemen rozdílné věci.

Moje volba názvu pro tuto alelu by bývala byla Mt – Truncated Merle. Truncated v překladu znamená „zkrácené, seříznuté, omezené“, což vystihuje Mc alelu perfektně.

Již dříve jsem zmínila, že nastavení hranic mezi alelami byl obrovsky těžký úkol, se kterým přišla obří zodpovědnost. Počet párů bází, které vystihují Mc alelu byl z nich doposud ten nejdůležitější. Potřebujeme se zaručit každému chovateli, že pokud je jeho pes testován jako Mc 200 -230 bp, není zde riziko vybělení pigmentu v případě spojení takového psa s M partnerem a tím pádem nevznikne riziko objevení vad, jako jsou vady sluchu a zraku způsobené Merle.

**Jakýkoliv pes testovaný jako m/Mc a Mc/Mc může být bezpečně spojen s M partnerem, přičemž Mc alela se zde bude chovat stejně jako ne-merle.
Pes, který je Mc/M nebude mít vybělený pigment v důsledku kombinace těchto alel.**

Takže co to má co do činění s ochranou genetické diverzity všech Merle plemen?

Alela Mc je nejčastější „neprojevující se“ alelou. Jak už bylo zmíněno, SINE inserce Merle poly-A konce se zkracuje mnohem častěji k Mc než k ostatním délkám a pokračuje se zkracováním i z délky Mc+. To se děje prostřednictvím mozaicismu již od doby, kdy se Merle poprvé objevilo. Můžeme předpokládat, že všechna plemena, která se chovají na Merle znak, mají v průměru v populaci 38 % z fenotypově solid psů, kteří nesou minimálně jednu Mc alelu a 1 % těch, kteří mají alely dvě. Vždy jsme tedy chovali s Mc alelou, pouze jsme o tom nevěděli. Základním pravidlem je vždy spojovat „merle x solid“, abychom zamezili „double merle“ potomkům. Toto pravidlo z velké části sloužilo chovatelům po celá léta velmi dobře. *Je zde ovšem výjimka, kdy se Merle x Solid spojení nevyvede tak, jak se očekává. Její příklady uvedu později.*

Předtím, než se posuneme dále, bych ráda zmínila ještě terminologii „double merle“. Technicky to není přímo genetický termín. Nikdy bychom neřekli něco jako „dvojitě pálení“ nebo „dvojitě černý“. Tento výraz byl v minulosti používán ne pouze jako označení psa, který je M/M, tedy homozygot pro M alelu, ale obecně spíše jako označení pro bílé zbarvení, které vzniká kombinací dvou Merle alel, s možností vad sluchu a/ nebo zraku. S novými poznatky o merle alelách, které se objevily v posledních pár letech, a novými alelami, které jsou závislé na délce poly-A konce u SINE inserce a byly nedávno přidány do M lokusu, vyvstávají nové otázky – co tedy označit za „double merle“? Nebo ještě lépe, které kombinace Merle alel mohou vytvořit bílou v merle vzoru a přináší tak riziko vzniku výše uvedených vad? Ze všech 28 možných kombinací Merle alel je zde 14, které mají tuto nepříjemnou schopnost. Nejsem schopna poskytnout příklady fotografií u všech kombinací, ale uvedu seznam všech těchto alel, seřazených od nejkratší po nejdelší.

Mc+/Ma+, Ma/Ma+, Ma+/Ma+

Mc+/M, Ma/M, Ma+/M, M/nM

m/Mh, Mc/Mh, Mc+/Mh, Ma/Mh, Ma+/Mh, M/Mh, Mh/Mh

Poznámka: všimněte si, že Mh může vybělit pigment už pouze v heterozygotní kombinaci.

Musíme tedy předdefinovat, co považujeme za „double merle“. Mc/Mc+ není „double merle“ pes. Mc+/Ma a Ma/Ma také nejsou „double merle“.

A především Mc/M není Double Merle, jelikož žádný pigment zde není ze srsti vymazán.



ZZ - m/Mc - m/210



Kai - Mc/Mc - 225/225



Harper - Mc/M - 221/268



Kenzie - Mc/M - 200/267

Nyní zpátky k problematice genetické diverzity. V současné době existuje 16 laboratorí, které nabízí Merle test. Úplný seznam naleznete na tomto odkaze: www.merle-sine-insertion-from-mc-mh.com/labs-offering-merle-testing. Pět z těchto laboratorí nabízí testování za využití metod, které jsou schopny vysokého rozlišení. A pouze dvě z nich jsou k tomu schopny navíc nabídnout spočítání počtu párů bází, test na mozaiku a aktualizované informace týkající se Mc alely. Jedenáct laboratorí však nadále používá zastaralou metodu testování a pouze dvě laboratoře uvádějí správné informace o genetice Mc. Tím pádem nám vychází, že ve 12 laboratorích stále mají na svých webových stránkách zastaralé a „geneticky“ nesprávné informace. A tyto informace stále nadále citovány a opakovány na stovkách dalších webů, stejně jako jsou stále citovány i informace ze starých Merle studií. Často podložené pouze popisem fenotypu, a ne genetickým testováním.

Pokud budete na Googlu hledat výraz „Cryptic merle“, získáte odkazy na další a další stránky používající staré termíny a překroucené a geneticky nesprávné výklady tématu. Za poslední roky jsem zaznamenala pouze malý pokrok ve snaze laboratorí a chovatelských webů aktualizovat své informace o Merle na správné. Škoda, která byla za ta léta mezi veřejností napáchána, může být pro některá plemena přímo katastrofální tím, že pes

testovaný jako Mc – 230 bp (a méně) bude vykastrován či vyloučen z chovatelského programu, protože se stále domníváme, že Mc znamená „skryté“ ghost či fantom Merle. A bude se tedy reprodukovat stejně, jako Merle jedinec a dá vzniknout Double merle potomkům, pokud bude spojen s klasicky viditelně Merle protějškem.

Následující informace jsou převzaty přímo z Google vyhledávače: „Spousta solid psů jsou ve skutečnosti cryptic nebo fantom merle a mohou vyprodukovat buďto merle nebo double merle potomky. Cryptic, ghost nebo fantom merle je pes, který se fenotypově jeví, jako ne-merle nebo má velmi slabě viditelné skvrny, které mohou být opomenuty. Takové zvíře, které se sice neprojevuje merle fenotypem, však může disponovat merle genotypem a následně vyprodukovat merle potomstvo. Takové psy nazýváme Cryptic merle.“

Velice děsivé, že?!

Informace jako tato v minulosti ovšem nebyly příliš na škodu, když neexistoval test, který by spolehlivě odhalil Merle nebo Mc alelu. Chovatelé zakládali své informace na zkušenostech a výsledcích vlastního chovu. Nyní, když máme k dispozici technologii pro přesné testování Merle poly-A konce, jsme si vědomi toho, jak častý je výskyt Mc 200-230 bp alely. Průměrně zhruba 38 %.

Co kdybychom těchto 38 % psů, kteří jsou fenotypově solid, vyjmuli z našich chovatelských programů? Na základě výsledku Mc?

Genetická diverzita by v tu chvíli byla velice ovlivněna. Už jsem se setkala se psy, kteří byli testováni jako Mc a následně vykastrováni a vyjmuti z chovu na základě informací, které jejich majitelé našli na internetu nebo dali na rady laboratoře, aby nespojovali jejich Mc psa s M díky riziku double merle a nepředávali tak tuto „nebezpečnou alelu“ dalším generacím.

Ještě naléhavější je situace v Evropě, kde je potřeba, aby Mc alela byla hromadně pochopena. Neboť ve spoustě registrů a chovatelských klubů dochází k zákazu chovu či registrování vrhů z Merle x Merle spojení. Což zahrnuje i kombinace Mc x M a Mc x Mc. Představte si tu nezvratnou škodu, která může být napáchána zúžením genetické základny, pokud z chovu vyloučíme veškerá Mc zvířata. Genetická základna se rapidně zmenší, pokud se sníží počet genetických variant předávaných dalším generacím.

Je nepřípustné vyloučit z chovu psa pouze na základě jeho Mc výsledku, navíc úplně nepochopenému! Hranice 230 párů bází byla stanovena pro Mc alelu záměrně. Abychom byli schopni garantovat, že se bude chovat stejně jako „ne-merle“ a že nebude odstraněn pigment do bílé, pokud bude takový pes spojen s M. Víím, že výraz „garantovat“ je možná silné slovo v této situaci a dost možná ne příliš vědecké. Nicméně v tomto případě si stojím za jeho použitím. Limit u počtu párů bází, který jsem určila u Mc alely, by mohl být lehce vyšší, možná i 234 bp, ale viděla jsem případ, kde se u psa 235 bp spojeného s M již pigment začal vybělovat.

Poznámka: Pokud by každý Mc pes byl vyjmut z chovatelského programu, nikdy bychom tento proces vylučování nezastavili. Mozaicismus se děje totiž neustále. Není možné zabránit přirozenému zkracování poly-A konce. Pokud vezmeme v potaz, že 18 % z populace psů nese mozaiku a 55 % z těchto psů nese navíc zkrácenou Mc alelu, není prostě žádný způsob, jak se ho „zbavit“.

Následující příklad ukazuje fenu fenotypově solid, která vyprodukovala štěňata s tzv. „white body splashes“ (skvrny bílé srsti) s partnerem m/M - m/266. Testování potvrdilo, že Figgy není m/m, ale nese neprojevující se Mc+ 240 bp alelu. Kombinace její Mc+ a otcovy M alely vyústila v 240/266 potomky, jejichž pigment byl odstraněn až do bílé. **Pirate je díky této kombinaci oboustranně hluchý a jednostranně slepý. Toto je ten velmi důležitý důvod, proč hranice Mc alely byla stanovena už na 230 bp.**



Otec - Royce m/M - m/266



Matka - Figgy m/Mc+ - m/240



Potomek - Mc+/M - 240/266, S/S



Potomek - Mc+/M - 240/266

Upřímně doufám, že pokud chovatel obdrží výsledek Mc 200 – 230 bp u jinak fenotypově solid psa, bude si jist tím, že jej může bezpečně spojit s viditelně Merle protějškem. Nicméně si myslím, že se musíme podívat ještě na jeden velmi důležitý fakt, než se posuneme dále:

Mc se neprodukuje do délky M

V minulosti byly informace ohledně prodlužování alel opět založeny pouze na fenotypu a zastaralé metodě testování bez možnosti spočítat přesný počet párů bází a co víc, nebylo možno odhalit mozaiku. U příkladu Astrid jsme viděli minoritní M alelu zděděnou od matky. Astrid se tedy v chovu projeví jako Merle jedinec. A co kdyby byla testována starou metodou? Pak její výsledek vyjde Mc/Mc a žádné M zde vidět nebude. Přesto má na svém těle viditelné oblasti Merle srsti a může produkovat Merle potomstvo. Předpoklad by tedy byl, že její Mc může způsobovat malé oblasti Merle na těle a nějakým záhadným způsobem se může prodloužit do M a být předáno další generaci.

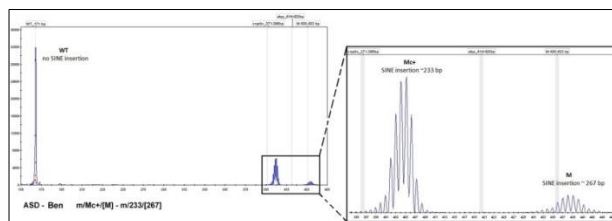
Jakýkoliv pes, který je testovaný jako Mc a vyprodukoval zároveň Merle potomky, musí mít ve svém genotypu přítomnou M alelu.

Jakýkoliv případ prokazující Mc prodlužující se do M (i kdyby založený na novém testování) je pouze a jenom příkladem toho, že jsme nezkoumali dostatečně do hloubky. Následující případ je Minimal merle pes testovaný jako m/Mc, za použití nejnovější technologické metody a přesto vyprodukoval Merle potomky. Předpoklad by byl, že tedy m/Mc může projevit malé oblasti vzoru a může se prodloužit do M. To ale není možné.

Byla mi dána možnost se v tomto případě pustit do výzkumu hlouběji a zajistit test jeho zárodečných buněk (ze vzorku ejakulátu). Jasný předpoklad – pokud mohl mít Merle potomky, potom prostě musí M alelu sám mít. Jak již bylo v předchozím textu zmíněno, mozaicismus se může vyskytovat pouze v některých buňkách a v některých částech těla zvířete. Benovo minoritní M alela očividně nebyla přítomna ve vzorku při prvním testování, ale tím, že předal své Merle potomkům, musí být přítomna v jeho zárodečných buňkách. A samozřejmě, jak jsme očekávali, tento předpoklad byl potvrzen a Ben má minoritní M alelu.



m/Mc+/[M] - m/233/[267]



Výsledek testu Benova ejakulátu jasně ukazuje minoritní M alelu.



Ram - Mc/M - 220/268

Drum - Mc/Mc+ - 220/234

Tuna - m/Mc - m/219

Tito tři potomci Bena zdědili každý jednu z jeho tří různých alel – první štěně zdědilo M, druhé Mc+ a třetí jeho m alelu.

Poznámka: +/- 1 bp je v mezích tolerance přesnosti. Mc 220 alela byla zděděna od matky.

Na začátku psaní tohoto článku jsem nepředpokládala, že se tolik budu věnovat tématu Mc, ale jelikož je pro chovatele a genetickou diverzitu velmi důležitá, chtěla jsem se ujistit, že tuto oblast pokryji dostatečně detailně a zodpovím tím všechny možné dotazy a existující pochyby.

Unikátní fenotypy

Jak jsem zmínila na začátku článku, je mnoho zvláštností, které se chovateli mohou objevit v porodním boxu. Pippa je příkladem „neobvyklého Tweed Merle vzoru, jaký nemají jak rodiče, tak sourozenci“. Ten získala díky mozaicismu. Vrh po Figgy a Royce byl zase příkladem „nestandardních bílých znaků“. Ty vznikly díky kombinaci Mc^+ a M .

Následující příklady ukazují „dilute projev srsti, kde není možné, aby pes byl d/d^+ “. Alely kratších délek a jejich kombinace se velmi často projeví totiž jako dilute vypadající srst.



Ellenor - Mc^+/Ma - 243/249, D/D



Indie - Mc/Ma - 222/247, D/D



Catahoula- Ma/Ma - 249/249



Catahoula - Mc^+/Ma , 245/249, D/D

Následující obrázky jsou příkladem „hnědavého nádechu či vyblednutí srsti u černých odchovů“. Kombinace Mc a Mc^+ může často vyústit v takovému neobvyklé odstíny.



Maverick - Mc/Mc^+ - 224/235



Sky Mc^+/Mc^+ 234/246



Mayla - Mc/Mc^+ - 211/233



Rabbit - Mc/Mc - 225/225

Tyto obrázky jsou příkladem „Merle odchovu u spojení, kde nebylo vůbec očekáváno na základě toho, že rodiče nemají žádný Merle vzor“. V případech jako je tento je možné, že oba rodiče nesou kratší neprojevující se alelu v heterozygotní kombinaci a u potomků se pak spojí do homozygotní sestavy.



Otec - Rico m/Ma - $m/247$



Matka - Mac m/Ma^+ - $m/258$



Merle vzorovaní potomci Ma/Ma^+ - 247/258

Tato štěňata by mohla být snadno zaměněna za typické m/M Merle ale v chovu se tak nadále chovat nebudou. Pokud by byla spojena s m/m partnerem, všichni výslední potomci by bylo neprojevující se m/Ma $m/247$ nebo m/Ma^+ - $m/258$.

Následujícím případ to demonstruje myslím velmi pěkně:



Otec - Boaz - m/m



Matka - Selah - Ma/Ma - 250/250

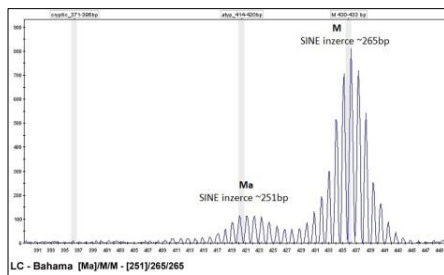


Všechny výsledné odchovy jsou m/Ma - $m/250$ neprojevující se - plemene Catahoula

V tomto příkladu vidíme „solid štěně z vrhu, kde jeden z rodičů je M/M a všechna štěňata by tak měla být také Merle“. Štěně je výsledkem působení mozaicismu, kdy zdědilo matčinu minoritní neprojevující se Ma alelu. V minulosti by takovýto případ byl silně znepokojující!



Bahama - [Ma]/M/M - 251/265/265



Jeden z potomků zdědil Bahaminu minoritní Ma alelu.



**Zbývá ještě vysvětlit jednu velice důležitou záležitost.
„Potomci s převládající bílou, i když je jeden z rodičů fenotypově solid.“**

Občas je tento jev důsledkem spojení partnerů, kdy jeden nese viditelný Merle vzor a druhý jej geneticky „maskuje“ díky dalším alelám ovlivňujícím psí srst. Phaeomelanin (nebo také „červený pigment“ u e/e – Recesivně červené/ žluté a Ay – čisté sable) nedovolí M- Merle alele, aby se projevila. To je také důvodem, proč mnoho plemenných standardů nepovoluje tato zbarvení - pro jejich schopnost maskovat Merle vzor. V genetické terminologii toto popisujeme jako tzv. „epistázi“, kdy jeden lokus nebo alela potlačuje účinek alely druhé.



Border Collie - m/M - m/267, e/e

Merle vzor maskován ee - recesivně červenou



Welsh Shepherd - m/M m - 268, Ay

Merle vzor maskován Ay - Čistým sable

Poznámka: Alela Mh je přesto schopna způsobit slabý vzor i u těchto zbarvení (Sable a Recesivní červená).

Dalším důvodem pro neprojevení Merle vzoru je již výše popsáný mozaicismus. Jak již bylo řečeno, psi, kteří nesou Merle jako mozaiku a mají zároveň větší procento buněk s alelou s kratší délkou, se často projeví jako jedinci s velmi neobvyklou kresbou v srsti anebo jako v těchto případech, Merle se na nich neukáže vůbec nijak.



Catahoula - m/[Ma]/M - m/[250]/266



Kallan - Mc/Mc/[Ma+] - 218/218/[261]

Třetím důvodem pro Merle vzor, který se na zvířeti neprojeví, je alela Mh. Harlekýn merle je navíc u plemen Australský ovčák velice běžná.

Mh – Harlekýn Merle

Alela Mh má širokou paletu fenotypů se třemi různými projevy. Dva z nich jsou velmi typické a rozpoznatelné.

- 1) „Minimal Merle“ – vysoké procento těla vykazuje solid zbarvení s malými libovolnými oblastmi Merle vzoru. Tyto oblasti se nejčastěji vyskytují na okrajových částech těla – hlava/tlama, nohy a ramena. Někteří jedinci mohou také vykazovat více rozšířené bílé znaky. Než je typické pro tzv. Irský vzor (Poznámka překladatele – typické bílé znaky) - to může zahrnovat větší bílý límec, bílou na končetinách nad úroveň lokte, bílou za hranici ramen přesahující kohoutek a bílou rozšiřující se z břicha směrem vzhůru. **Občas je Merle vzor natolik „minimální“ nebo byl natolik „vymazán“ bílou“ že zůstal nepovšimnut.**
- 2) Klasický vzor, který byl v minulosti označován jako „ovčácký harlekýn“. Náhodné oblasti těla jsou vyběleny, zkombinované se solid oblastmi, které mohou mít tweed vzor a mohou tak obsahovat několik různých odstínů navíc i s Merle vzorem. Můžou být přítomny i přesahující bílé znaky popsané v případě 1, ale jsou méně postřehnutelné díky již vyběleným oblastem na těle.
- 3) Někteří psi odpovídající projevem spíše m/M ale jsou stále schopni produkovat potomky s fenotypem popsáným výše v příkladech 1 a 2. Tito potomci zdědili tu samou délku alely, jako má rodič a stejně tak se může dále reprodukovat (všemi třemi uvedenými způsoby).

m/Mh, Mc/Mh, Mc+/Mh, Ma/Mh, Ma+/Mh, M/Mh a M/Mh kombinace jsou fenotypově neodlišitelné!

Poznámka – M/Mh a Mh/Mh se mohou projevit větším procentem bílé barvy na těle celkově.

Projev u 1) - Minimal Merle



Peetu - m/Mh - m/272



Peetu – jediná merle oblast na těle



Ellie - Mc+/Mh - 234/271



Border Collie - m/Mh - m/269

Projev u 3) – Následující psi mají fenotyp snadno zaměnitelný za typický m/M vzor.



Stella - Mc+/Mh - 235/269



Baxter - m/Mh - m/270



Poppy - m/[Mc]/Mh - m/[23]/270



Winnie - Mc/Mh - 217/269

Projev u 2) – Klasický vzor (v minulosti nazýván jako „ovčácký harlekýn“)

Mh potomci se ne nutně vždy projeví stejně jako jejich rodiče, byť nesou stejnou délku alely v párech bází. Jakýkoliv z těchto tří fenotypů může být projeven i v jednom vrhu zároveň.

Tento příklad ukazuje 3 generace, všichni nesou stejnou délku Mh – 271 bp.



Ehaw - m/Mh - m/273



Winnie - m/Mh - m/273



Flutter - Minimal Merle



Lucchese - “ovčácký harlekýn”



Harley - m/Mh - m/272



Quinn - m/Mh - m/274



Goose - Otec - “ovčácký harlekýn”



Ellie – Babička - Minimal Merle

Tento příklad Minimal Merle fenotypu může zůstat nepovšimnut u chovatele či budoucího majitele velmi jednoduše.



Willow - m/[Mc+]/Mh -m/[240]/271

Příklad Mh Catahouly, která nevykazuje vůbec žádný Merle vzor.



Catahoula – m/Mh - m/272

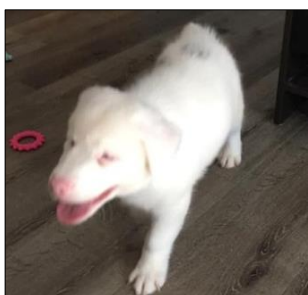
A nyní příklad „potomka s převažující bílou, přestože jeden z rodičů byl fenotypově solid“. Způsobil to Mh otec, který viditelně nemá žádný Merle vzor a byl považován za ne-merle. Toto štěně je však výsledkem jeho odchovu s Merle fenou.



Tripp - m/[Ma]/Mh - m/[250]/277



Merle matka s vrhem



Potomek s převažující bílou, oboustranně hluchý a zrakově postižený.

Závěr

Během uplynulých dvou let nás nová technologie poháněla kupředu k porozumění mnoha způsobům projevu Merle. Od počátku, kdy jsme věděli velice málo, k porozumění většině otázek ohledně fenotypu. Mnoho spojení a výsledků testů, které v minulosti nedávaly smysl, může být nyní vysvětleno. Od mnoha dlouholetých chovatelů napříč celým světem jsem slyšela, že konečně mají odpovědi na své otázky, které je po desetiletí trápily. Prokázání výsledků mozaiky a dědičnosti minoritní alely byl jedním z nejdůležitějších dodatků do výsledků genetických testů. Tyto Merle alely vznikající de novo jsou pak rodiči snadno předávány na další generace, měníc tak genotyp odchovů a celých linií.

Nyní jsme schopni spočítat přesný počet párů bází u Merle poly-A konce a přesně alokovat 6 délek Merle SINE tak, aby se genotyp rovnal fenotypu, což je klíčové především pro alelu Mc. Pro budoucí zdraví a genetickou diverzitu všech našich plemen je pro chovatele nezbytné plně porozumět problematice Mc alely a jejímu projevu v chovu. Musíme vzít do vlastních rukou naše další vzdělávání a předat tyto vědomosti dalším kolegům z řad chovatelů. Je načase, abychom všichni zapomněli na to, co jsme se doposud naučili, přehodnotili vše, co jsme se nyní o Merle dozvěděli a už nikdy se nespoleháli na Google vyhledávač. 😊 Zkrátka musí nastat jednoznačné vyvrácení staré víry a přijetí nových vědeckých poznatků genetického testování. Pokud chceme zachovat blaho příštích generací, neexistuje nic „mezi t

“It ain’t what you know that gets you into trouble. It’s what you know for sure that just ain’t so.”
~ Mark Twain ~

Poděkování

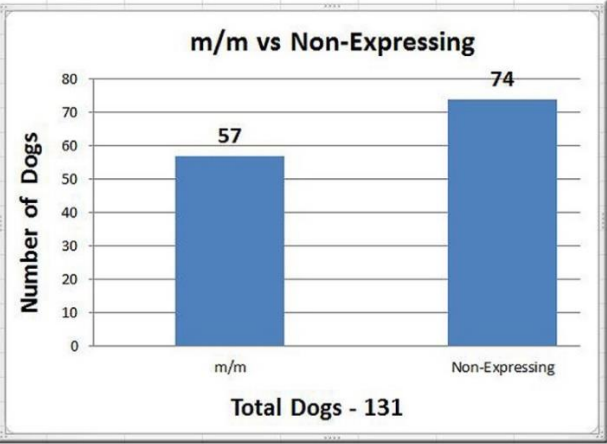
Karen Smiley Comb – za neúnavné vzdělávání členů komunity plemene Australský ovčák. Pro vedení majitelů při genetickém testování, pro vysvětlování výsledků a pomoc chovatelům porozumět odlišnostem, které vidí ve svých porodních boxech. Pro veškeré povzbuzování a pokračující podporu. Neměli bychom nikdy tak velký počet testovaných Australských ovčáků pro zveřejněný článek nebo mou knihu, pokud by nebylo Karen. Mé nejvřelejší díky!

Tyler Cooper - za podporu při šíření tohoto článku a jeho důležitosti. Za jeho povzbuzování a asistenci během psaní. Díky, Tyler!

Přeložila: Ing. Barbora Hynková

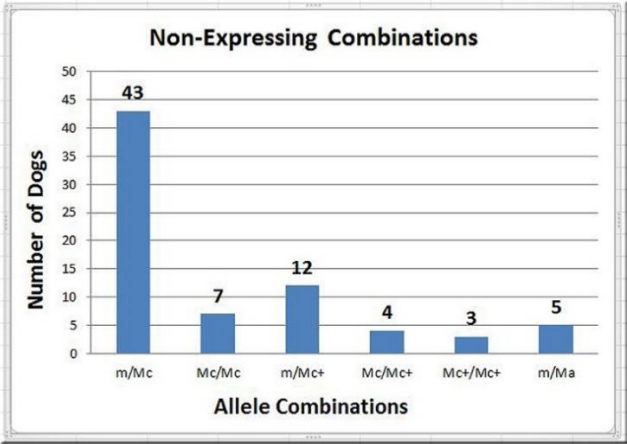
Následující grafy porovnávají procentuální poměry u dat poskytnutých laboratořemi Tilia. Zahrnují 785 testovaných merle psů všech plemen. Z těchto 785 je 286 ne – merle fenotypu – 146 z nich je m/m a 140 z nich má kratší neprojevující se M alelu.

Aussie Survey - Total dogs - 131



Percentage of m/m - Non-Merle - 43%
Percentage of dogs having a shorter Non-Expressing allele of Mc, Mc+ or Ma - 57%

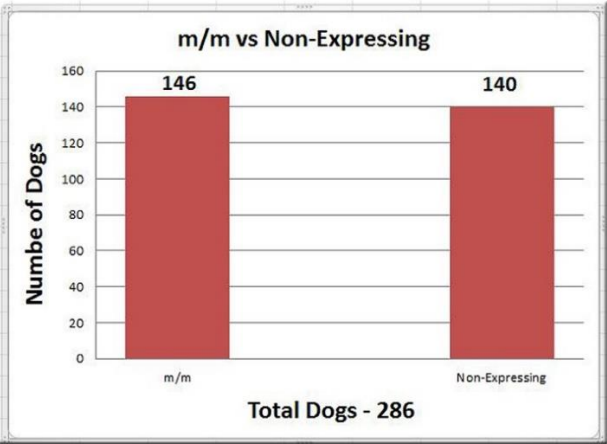
Breakdown of Non-Expressing Alleles Total 74



38% of phenotypically solids dogs are either m/Mc or Mc/Mc. These dogs will breed the same as non-Merle. When bred to an M - Merle mate no pigment will be deleted to white.

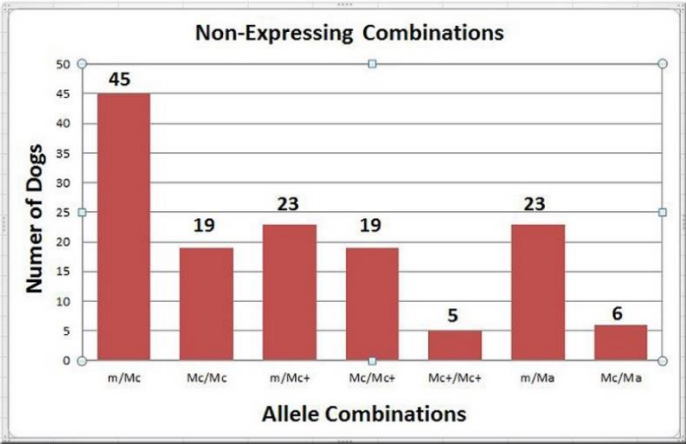
19% of phenotypically solids dogs have either an Mc+ or Ma allele which can delete pigment to white when paired with M.

Tilia Labs - All Breeds - Total - 286



Percentage of m/m - Non-Merle - 51%
Percentage of dogs having a shorter Non-Expressing allele of Mc, Mc+ or Ma - 49%

Breakdown of Non-Expressing Alleles Total 140



23% of phenotypically solids dogs are either m/Mc or Mc/Mc. These dogs will breed the same as non-Merle. When bred to an M - Merle mate no pigment will be deleted to white.

26% of phenotypically solids dogs have either an Mc+ or Ma allele which can delete pigment to white when paired with M.

Vysvětlivky ke grafům:

1) Průzkum u AUO - celkový počet psů 131

(m/m vs neprojevující se alely)

- procentuální výskyt m/m – Ne-Merle = 43 %

- procentuální výskyt psů s kratší, neprojevující se alelou Mc, Mc+ a Ma = 57 %

2) Rozpad neprojevujících se Merle alel – celkový počet 74

(kombinace genotypů)

- 38 % fenotypově solid psů jsou buď m/Mc nebo Mc/Mc. Tito psi se v chovu budou projevoval jako Ne-Merle. Pokud budou spojeni s M – Merle partnerem, nebude pigment vymazán až do bílé.

- 19 % z fenotypově solid psů má buď Mc+ nebo Ma alelu, která naopak pigment do bílé v kombinaci s M partnerem vymazat může.

3) Laboratoře Tilia – všechna plemena – celkový počet psů 286

(m/m vs neprojevující se alely)

- procentuální výskyt m/m – Ne-Merle = 51 %

- procentuální výskyt psů s kratší, neprojevující se alelou Mc, Mc+ a Ma = 49 %

4) Rozpad neprojevujících se Merle alel – celkový počet 140

(kombinace genotypů)

- 23 % fenotypově solid psů jsou buď m/Mc nebo Mc/Mc. Tito psi se v chovu budou projevoval jako Ne-Merle. Pokud budou spojeni s M – Merle partnerem, nebude pigment vymazán až do bílé.

- 26 % z fenotypově solid psů má buď Mc+ nebo Ma alelu, která naopak pigment do bílé v kombinaci s M partnerem vymazat může.