

Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser¹, S. Wolf-Hofstetter¹, F. Acklin-Menzi¹, E. Studer², D. Rediger², F. R. Seefried³, C. Drögemüller¹

¹Institut für Genetik, Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern; ²Wiederkäuferklinik, Vetsuisse-Fakultät, Universität Bern; ³Qualitas AG, Zug

Zusammenfassung

Vereinzelt treten in der Schweiz schwarz-weiss gescheckte Kälber auf, die im pigmentierten Bereich ein besonderes Fell aufweisen. Ansonsten sind diese Tiere normal entwickelt. Die weissen Haare sind normal, sie erscheinen jedoch verhältnismässig lang und glatt. Dagegen sind die pigmentierten Haare kraus und verkürzt. Zudem weisen die betroffenen Tiere eine variable Intensität der Fellfarbe im pigmentierten Bereich auf. Betroffene Kälber erscheinen bei Geburt eher schwarz, wobei mit zunehmendem Alter unterschiedlich aufgehellte Farben von rotbräunlich bis grau auftreten. Bei adulten Rindern erscheinen die farbigen Haare eher glatt, jedoch deutlich verkürzt. Damit verbunden ist eine sich während des Wachstums verstärkende, variable und auf den pigmentierten Bereich des Fells beschränkte Minderbehaarung. Dieses Phänomen der farbassozierten Hypotrichose ist zuvor international in verschiedenen Fleischrinderpopulationen beschrieben worden. Diese Rinder sind oftmals einfarbig schwarz mit nur wenigen kleinen weissen Abzeichen. Auf Grund des Haarverlusts im pigmentierten Fell und insbesondere am pigmentierten Schwanz ist neben dem Begriff der kreuzungsbedingten kongenitalen Hypotrichose auch vom *rat-tail syndrome* gesprochen worden. Molekulargenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass die betroffenen Tiere jeweils heterozygote Träger für zwei mit der Pigmentierung assoziierten Varianten in zwei verschiedenen Genen gewesen sind. Dieselbe Genotyp-Konstellation weisen auch die hier vorgestellten 33 ähnlich betroffenen Rinder aus der Schweiz auf. Einerseits tragen sie jeweils eine Kopie der *MC1R* Genvariante für die dominant vererbte schwarze Fellfarbe, sowie eine Kopie der rezessiv vererbten Rotfaktorvariante im *MC1R* Gen. Andererseits sind alle Fälle heterozygote Anlageträger für eine Variante im *PMEL* Gen, die mit einer semidominant vererbten Form der Farbverdünnung (falb) bei Simmental, Hereford und Highland Cattle assoziiert ist. Die seit Jahrzehnten praktizierte Einkreuzung der Ras-

Grey, curly and short-haired Swiss Holstein cattle show genetic traces of the Simmental breed

Occasionally black-and-white spotted calves appear in Switzerland, which show a special fur only in the pigmented area. Otherwise these animals are normally developed. The white hairs are normal, but they appear relatively long and smooth, because the pigmented hairs are curly and thus appear shortened. In addition, the affected animals show a variable intensity of coat colour in the pigmented area. At birth affected calves often appear black, whereas older cattle show bright colours from reddish brown to grey. This is associated with a variable hair loss that increases during growth and is limited to the pigmented area of the coat. In adult cattle the coloured hairs appear rather smooth, but they are considerably shorter. This phenomenon of pigmentation-associated hypotrichosis was previously described internationally in various beef cattle populations. The affected cattle are often solid black and show only small white spots. Therefore, the loss of hair at the pigmented fur and most visibly at the pigmented tail is called *rat-tail syndrome*. Another name used is also crossbreeding-related congenital hypotrichosis. Molecular genetic investigations showed that the affected animals are heterozygous carriers for two variants in two different genes associated with pigmentation. The same genotype constellation was found in the 33 similarly affected cattle from Switzerland presented here. On one hand, they each carry a copy of the *MC1R* gene gain-of-function variant causing dominant black, as well as a copy of the recessively inherited red factor loss-of-function variant in the *MC1R* gene. On the other hand, all cases are heterozygous carriers for a variant in the *PMEL* gene that is associated with a semi-dominantly inherited form of colour dilution (dun or silver) in Simmental, Hereford and Highland Cattle. The introgression of Holstein cattle into the Original Simmental breed, which has been practised for decades, explains

<https://doi.org/10.17236/sat00272>

Eingereicht: 29.10.2019
Angenommen: 30.06.2020

Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser et al.

se Holstein ins Original Simmental erklärt das gelegentliche Vorkommen dieses Phänomens in der Schweizer Rinderzucht.

Schlüsselwörter: Hypotrichose, Kraushaar, Kreuzungszucht, *MC1R*, *PMEL*, *rat-tail syndrome*, Rind

the occasional occurrence of this phenomenon in Swiss cattle breeding.

Keywords: cattle, crossbred, curly hair, hypotrichosis, *MC1R*, *PMEL*, *rat-tail syndrome*

Einleitung

Erstmals 1989 wurde in den USA eine besondere Form der kongenitalen Hypotrichose mit einem kurzen, gekrausten, farbverdünnten und spärlichen Haarkleid bei Rindern aus Kreuzungen verschiedener Rassen beschrieben.¹ Bei den grösstenteils körperdeckend pigmentierten Kreuzungstieren erschien durch die Anomalie der pigmentierten Haare am ganzen Körper insbesondere der Schwanz auffallend minderbehaart oder kahl, so dass dieses Phänomen als *rat-tail syndrome* bezeichnet wurde.^{1,2,3,4} Damals wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Entstehung dieser Anomalie bei Kreuzungen von schwarz gefärbten Angus oder Holstein Rindern mit farblich aufgehellten europäischen Rassen wie z.B. Simmental, Charolais oder Gelbvieh in Verbindung steht.^{1,2} Dabei wurde festgestellt, dass das Erscheinungsbild des

Haarkleids im pigmentierten Bereich der betroffenen Tiere variierte, aber die Haare in den weissen Partien des Fells, soweit vorhanden, von normaler Länge waren und im Vergleich länger wirkten als die pigmentierten Haare.^{1,2,3,4,5} Bei der Untersuchung der pigmentierten Haare unter dem Lichtmikroskop wurde festgestellt, dass die farbigen Haare bei solchen Tieren verkürzt und gewellt bis gekraust sind und einen unregelmässigen Durchmesser mit unebenem Haarschaft aufweisen.¹ Die Melaningranula in diesen Haaren waren vergrössert, zum Teil aggregiert sowie unregelmässig angeordnet. Die pigmentierten Haare von normalen Kontrolltieren waren dagegen länger, gerade und von gleichmässigem Durchmesser mit glatter Oberfläche. Die Melaningranula in den pigmentierten Haaren der normalen Kontrolltiere sind nicht vergrössert, nicht aggregiert und gleichmässig im Haar verteilt (Abb. 1). Die weissen Haare der betroffenen Tiere sind gerade, symmetrisch und soweit normal.¹ In den ersten Studien wurde anfänglich vermutet, dass das schütterere Haarkleid der betroffenen Rinder eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit insbesondere in den Wintermonaten zur Folge haben kann.^{1,2} Diese Anfälligkeit wurde aber nicht weiter untersucht. Lediglich der Zuwachs wurde mit nicht betroffenen Mastkälbern verglichen. Bei 12 Monate alten Kälbern mit dem *rat-tail syndrome* war der Zuwachs über die Wintermonate etwas geringer als in der Kontrollgruppe.² Die Kälber dieser Studie wurden zudem auf Spurenelementmängel, die solche Haardeformitäten verursachen könnten, hin untersucht. Es konnten jedoch keine entsprechenden Defizite für die vorliegenden Haarveränderungen verantwortlich gemacht werden.² Schon vor der Jahrtausendwende wurde angesichts der Häufung des Phänomens in Folge gezielter Anpaarungen vermutet, dass betroffene Tiere mindestens eine Kopie der damals noch nicht bekannten dominant vererbten Mutation für die schwarze Fellfärbung von Rindern aufweisen müssen und dabei gleichzeitig heterozygot an einem zweiten, unbekanntem Gen sind.²

Im Jahr 2006 wurde das *rat-tail syndrome* erstmals bei US-amerikanischen Kreuzungstieren molekulargenetisch untersucht.³ Wie zuvor bereits vermutet, konnte gezeigt werden, dass die betroffenen Rinder jeweils heterozygot für eine im Jahr 1995 entdeckte Variante im *MC1R* Gen waren.^{3,6} Diese proteinverändernde Punktmutation im sogenannten Extensionslocus bestimmt die dominant vererbte schwarze Fellfarbe zahlreicher

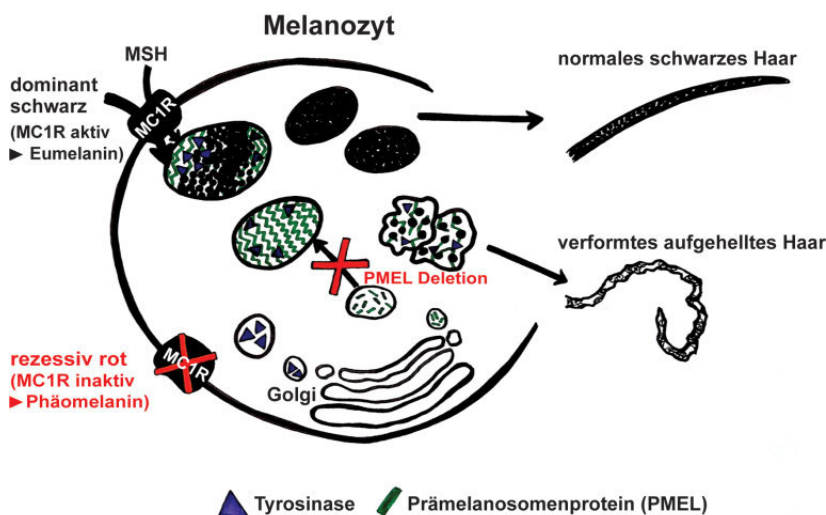


Abb. 1: Übersicht zur Funktion der Gene *MC1R* und *PMEL* an der Entstehung der pigmentierungsassoziierten Anomalie des Fells bei Rindern aus Kreuzungen von Holstein und Simmental. Die rassetypische *MC1R* Genvariante der schwarzen Holsteins führt zu einer permanenten Aktivierung des transmembranen *MC1R*-Rezeptors der Melanozyoten und zu einer Erhöhung des Tyrosinasespiegels, der die Synthese des schwarzen Pigments (Eumelanin) bewirkt. Bei ursprünglichen Rinderrassen ist eine Bindung des melanozytenstimulierende Hormon (MSH) zur Aktivierung des *MC1R*-Rezeptors notwendig. Die rote Farbe (Phäomelanin) der Simmentaler erklärt sich durch Homozygotie für eine *MC1R*-Funktionsverlustvariante. Betroffene Kreuzungstiere sind heterozygot für zwei Varianten im *MC1R*-Gen (dominant schwarz, rezessiv rot) und somit sogenannte Rotfaktorträger. Gleichzeitig sind die Tiere heterozygot für eine Deletionsvariante im *PMEL*-Gen, die den normalen Aufbau einer Fibrillen-Matrix in den Melanosomen verhindert. Diese besondere Genotyp-Konstellation erklärt eine gestörte Eumelaninsynthese. In der Konsequenz sind die Melaningranula verformt sowie aggregiert und beinhalten sehr wenig Pigment, da die normale *PMEL*-Fibrillenmatrix nicht zur Verfügung steht. Diese veränderten Melaningranula verursachen die aufgehellte, grau erscheinende Farbe sowie die abnormale Morphologie der Haare, welche insgesamt verformt und brüchig sind.

Rinderrassen (z.B. beim Angus oder Holstein). Die Mutation bewirkt einen Aminosäureaustausch im Melanocortin 1 Rezeptor (MC1R), der den Tyrosinasegehalt in den Pigmentzellen (Melanozyten) steuert. Tyrosinase ist das limitierende Enzym bei der Synthese von Melaninen: Hohe Konzentrationen an Tyrosinase führen zur Produktion von Eumelanin (dunkle Farbe, z.B. braun oder schwarz), während niedrige Konzentrationen zur Produktion von Phäomelanin (helle Farbe, z.B. rot oder gelb) führen. Das melanozytenstimulierende Hormon (MSH) führt nach Binden an den MC1R-Rezeptor zu einer Erhöhung des Tyrosinasespiegels. Die mit dominant schwarz assoziierte *MC1R* Genvariante führt zu einer permanenten Aktivierung des MC1R-Rezeptors und somit zu einer stetigen Produktion von Tyrosinase und bedingt daher, dass die Tiere eine dunkle Fellfarbe aufweisen (Abb. 1). Dabei ist keine Bindung von MSH erforderlich, da die Folgen der Mutation alleine ausreichen, um einen dauerhaft erhöhten Tyrosinasespiegel zu erzeugen.⁶ Als Gegensatz dazu kommt sowohl in der Rasse Holstein als auch beim Simmental eine rezessiv vererbte Variante des *MC1R* Gens vor, der sogenannte Rotfaktor. Diese Einzelbasendeletion resultiert in einem nicht-funktionalen MC1R-Rezeptor und somit in einem verminderten Tyrosinasegehalt und so zu einer Produktion von Phäomelanin (gelb-rotes Pigment). Homozygote Rinder zeigen eine rote Fellfarbe. Bei heterozygoten Tieren dieser beiden letztgenannten Mutationen am MC1R-Rezeptor dominiert die schwarze Farbe mit dem permanent funktionierenden Rezeptor.⁶ Alle bisher beschriebenen Tiere mit dem *rat-tail syndrome* sowie die in dieser Arbeit vorgestellten Fälle weisen diesen heterozygoten Genotyp im MC1R Gen auf und ihre pigmentierten Haare sollten daher schwarz sein.

Zur Erklärung des farbverdünnten, krausen, kurzen Fells braucht es also noch ein zweites Gen. Das ursprünglich unbekanntes zweite Gen, das an der Entstehung vom *rat-tail syndrome* oder der kreuzungsbedingten kongenitalen Hypotrichose beziehungsweise des farbverdünnten, krausen, kurzen Fells beteiligt ist, ist das *PMEL*-Gen. Das *PMEL* Gen wird in Melanozyten exprimiert und kodiert das prämelanosomale Protein oder Melanozytenprotein PMEL. Dieses Protein bildet intraluminale Fibrillen in frühen Stadien der Melanosomen. Melanosomen sind spezialisierte intrazelluläre Organellen in Melanozyten, in welchen die Melaninpigmente (Eumelanin oder Phäomelanin) produziert und gespeichert werden. Auf den intraluminale Fibrillen lagern sich die Pigmente in späteren Melanosomen-Stadien an (Abb. 1). Das PMEL-Protein hat dabei sowohl auf frühe als auch späte endosomale Stadien der Melanosomen einen wichtigen Einfluss. Beim Ausfall des *PMEL*-Gens treten deutliche Formveränderungen der Melanosomen auf und Knockout-Mäuse zeigten einen wesentlich ver-

ringerten Eumelaningehalt in ihren Haaren.⁷ Neuere Experimente haben gezeigt, dass das Stilllegen vom *PMEL*-Gen die Lysosomen in den Melanozyten aktiviert und somit vermehrt Tyrosinase abgebaut wird und es zu einer Unterdrückung der Melanogenese (Melanosomen-Entwicklung) kommt und somit in diesen Melanozyten deutlich reduzierte Melaningealte erreicht werden.⁸ Der genaue Mechanismus für diese Aktivierung ist jedoch noch nicht geklärt. Es ist klar, dass die Genexpression der Tyrosinase nicht gehemmt ist. Man vermutet, dass die Lysosomenaktivierung und der damit verbundene Abbau von Tyrosinase durch Nichtvorhandenseins des *PMEL*-Protein ausgelöst wird, da dem Enzym so keine Matrix für die Eumelaninsynthese zur Verfügung steht. Die Melanozyten der Knockout-Mäuse enthalten weniger Melanosomen und dafür mehr Lysosomen, was vermuten lässt, dass die nicht-funktionellen Melanosomen und die freie Tyrosinase wieder abgebaut werden, wenn das *PMEL* Protein fehlt.⁸

Im Jahr 2006 konnte erstmals gezeigt werden, dass *rat-tail syndrome* - Fälle von Kreuzungsrindern (Holstein × Simmental) heterozygote Anlageträger für eine 3 Basenpaare umfassende Deletionsvariante im proteinkodierenden Bereich des *PMEL* Gens sind, die offensichtlich mit einer semidominant vererbten Form der Farbverdünnung (falb) bei verschiedenen Rassen assoziiert ist.³ Somit wurde eine bestimmte *PMEL* und *MC1R* Genotyp-Konstellation im Zusammenhang mit dem *rat-tail syndrome* bei Rindern erstmals molekulargenetisch belegt.³ Es wurde nachgewiesen, dass, wie zuvor vermutet, betroffene Rinder neben der *PMEL* Variante sowohl eine Kopie der *MC1R* Genvariante für die dominant vererbte schwarze Fellfarbe tragen, als auch eine Kopie der rezessiv vererbten Rotfaktorvariante in diesem Gen.³ Später wurde in einem Fallbericht aus Neuseeland 2008 ein Kreuzungsrind (roter Herefordbulle × schwarze Holsteinkuh) vorgestellt, welches die gleichen heterozygoten Genotypen am *MC1R* und am *PMEL* Gen aufwies und auch den gleichen Phänotyp mit krausem, verkürztem und aufgehelltem Fell im pigmentierten Bereich zeigte.⁵ Hereford Rinder haben durch ihr rassetypisches Fellmuster keinen pigmentierten Schwanz und daher wurde in diesem Fall die Bezeichnung *rat-tail syndrome* nicht verwendet. Da der weiße Schwanz nicht betroffen war, passte die zuvor schon verwendete Diagnose *kreuzungsbedingte kongenitale Hypotrichose* offensichtlich besser.⁵

Im Jahr 2012 folgte dann eine weitere Studie aus Kanada. Hier wurde bei Rindern der Rasse Highland Cattle gezeigt, dass die semidominant vererbte Deletionsvariante im *PMEL* Gen eine Farbaufhellung sowohl bei Tieren mit schwarzer (Eumelanin) als auch roter (Phäomelanin) Grundfarbe verursacht.⁹ Eigene Daten bestätigen, dass diese Genvariante auch beim Original Sim-

Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser et al.

Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser et al.

mental die falbe Fellfärbung erklärt. Die aufgehellte Fellfarbe der Charolais erklärt sich dagegen mit einer anderen proteinverändernden Punktmutation im *PMEL* Gen. Dabei handelt es sich also um eine Mutation im selben Gen, aber an einer anderen Stelle und somit um eine andere Genvariante.^{4,10} Auch bei vielen braun gefärbten Yaks, die normalerweise schwarz sind, wurde kürzlich eine andere ursächliche *PMEL*-Variante für die Farbaufhellung nachgewiesen.¹¹

Im Jahr 2016 wurde in Deutschland bei Kreuzungstieren aus schwarzen Holsteins und Charolais ebenfalls das *rat-tail syndrome* beobachtet. Die betroffenen Tiere waren einerseits heterozygote Träger für die mit der schwarzen Fellfarbe assoziierten *MC1R* Genvariante durch die Einkreuzung der Holstein, sowie andererseits heterozygot für die beim Charolais zuvor identifizierten, zweiten farbaufhellenden Variante im *PMEL* Gen.^{4,10}

Bei anderen Spezies wurde das *PMEL*-Gen ebenfalls mit einer Farbaufhellung in Verbindung gebracht: So zum Beispiel 2006 bei Pferden und Hunden mit einer offensichtlichen Farbaufhellung (*silver*) bzw. Farbverdünnung (*merle*).^{12,13} Auch beim Geflügel mit einem hellen, gelblichen Federkleid wurden kausale Varianten im *PMEL*-Gen beschrieben und die gelbe Farbe ist höchstwahrscheinlich durch einen reduzierten Eumelanin Gehalt in den Federn zu erklären.^{14,15} Die Inaktivierung des *PMEL* Gens bei ansonsten normal entwickelten Mäusen führt zu einer erheblichen Verringerung des Eumelanin Gehalts im Haar und zu der zuvor beschriebenen Formveränderung der Melanosomen.⁷

In diesem Artikel stellen wir 33 gescheckte Rinder aus Kreuzungen von Holstein und Simmental vor, bei denen Besonderheiten nur im pigmentierten Bereich des Fells auftreten, entsprechend der zuvor im Ausland beschriebenen *kreuzungsbedingten kongenitalen Hypotrichose* bzw. dem *rat-tail syndrome*. Anhand von molekulargenetischen Untersuchungen sollte geklärt werden, ob dieser in der Schweiz auftretende Phänotyp durch die gleiche genetische Ursache bestimmt wird. In Anbetracht der jüngeren Geschichte der Schweizer Rinderzucht (Einkreuzung von Holstein in Original Simmental) kommt dieser Phänotyp mit der pigmentierungsassoziierten Hypotrichose hierzulande offensichtlich sporadisch vor.

Fallbeschreibung

Im Laufe des vergangenen Jahrzehnts wurden dem Institut für Genetik insgesamt sieben Rinder mit auffällig krausen und verkürzten Haaren im farbverdünnten Fell vorgestellt. Die Anomalie war interessanterweise nur im pigmentierten Bereich des Fells vorhanden. Nach Angaben der Besitzer wiesen die ansonsten normal entwickelten Tiere diese Besonderheiten seit Geburt auf. Daraufhin wurde im Frühjahr 2019 in Zusammenarbeit mit der Zuchtorganisation swissherdbook ein Aufruf gestartet, um weitere ähnlich betroffene Tiere zu ermitteln. Insgesamt wurden den Autoren 26 weitere Fälle gemeldet, von denen Fotoaufnahmen sowie Haarwurzelproben für die spätere Genotypisierung erfasst worden sind. Eine entsprechende Tierversuchsbewilligung (BE75-16) lag vor.

Von den 33 schwarz-weiss gescheckten Tieren waren 4 Rinder männlich und 29 Rinder weiblich. Dieser deutliche Unterschied beruht wahrscheinlich darauf, dass vor allem die weiblichen Rinder für die Nachzucht aufgezogen werden und die Stierkälber vorher geschlachtet werden. Insgesamt wurden 12 Kälber, sowie 6 Jungrinder und 15 laktierende Kühe unterschiedlichen Alters untersucht. Neben einem Kreuzungstier (Limousin × Holstein) waren die übrigen 32 Tiere im Herdebuch den



Abb. 2: Beispiele für die aufgehellte Fellfarbe bei Holsteinrindern. (a) Deutliche Farbaufhellung im Vergleich zur schwarzen Holsteinkuh im Hintergrund. (b) Aufgehellte Fellfarbe sowie schütterere Behaarung im Kopfbereich. (c) Betroffenes frisch geborenes Kalb, welches schon eine Farbverdünnung zeigt. (d) Grau-rötlich erscheinendes kurzes Fell, das weiße Haar ist normal. (e) Kopf eines betroffenen Kalbes mit Farbaufhellung und Hypotrichose im Vergleich zu einem normalen Kalb rechts. (f) Aufgehelltes schwarzes Fell, das weiße Haar ist normal.

Holstein bzw. ein Tier der Swiss Fleckvieh Populationen zugeordnet worden. Der Holsteinblutanteil dieser 32 Tiere variierte zwischen 50% und 99% und betrug im Mittel 88.4%, wogegen der Simmentalblutanteil zwischen 1% und 50% und im Mittel bei 11.4% lag. Das zeigt, dass der Simmentalblutanteil bei den meisten betroffenen Tieren nur noch zu einem geringen Teil vorhanden ist.

Im Vergleich zu den rassetypisch schwarzbunt gefärbten Holsteins zeigten alle 33 betroffenen Tiere eine eher helle, zum Teil grau-rötlich erscheinende Färbung im pigmentierten Bereich des Fells (Abb. 2). Bei allen untersuchten Jungrindern und Kühen war eine verstärkte Farbaufhellung zu beobachten. Die zum Teil eher schwarz erscheinenden Kälber wiesen im pigmentierten Bereich des Fells auffällig krause und verkürzte Haare auf (Abb. 3) und gelegentlich bereits Farbveränderungen (Abb. 2c). Auch bei den Jungrindern erschienen die dunklen Haare kraus oder schon stark verkürzt oder hypotrichotisch. Die weissen Haare erschienen bei allen Tieren jeweils glatt und normal lang (Abb. 2–4). Bei den Kühen waren die pigmentierten Haare eher glatt aber verkürzt. Bei allen untersuchten Tieren zeigte sich eine Hypotrichose im pigmentierten Bereich des Fells, die während des Wachstums variabel ausgeprägt war (Abb. 4). Diese pigmentierungsassoziierte Hypotrichose war auch am Kopf sehr auffallend. Bereits bei jungen Kälbern waren die Partien an den Ohren sowie um das Flotzmaul und periorbital deutlich ausgeprägt (Abb. 2e). Weiter waren stark beanspruchte Körperregionen wie der Hals bei Anbindehaltung oder Fressfanggittern verstärkt betroffen.

Genetische Analysen

Die Isolierung von genomischer DNA aus Haarwurzelnproben oder Blut wurde mit dem Maxwell Kit (Promega, Dübendorf) gemäss Anleitung durchgeführt. Die Sequenzanalysen der beiden Varianten im *MC1R* Gen (NM_174108.2: c.296T>C; p.Leu99Pro (dominant schwarz) und c.311delG; p.Gly104fs (rezessiv rot)) und der Variante im *PMEL* Gen (NM_001080215.2: c.54_56delTCT; p.Leu19del) wurden mittels PCR und anschliessender direkter Sequenzierung auf dem 3730 DNA-Analyser (ThermoFisher, Reinach) durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass alle hier präsentierten 33 Fälle jeweils eine Kopie der untersuchten Varianten aufwiesen. Einerseits waren alle Tiere heterozygot für die dominant vererbte schwarze Fellfarbe verursachende Variante im *MC1R* Gen sowie Träger einer Kopie der rezessiv vererbten Rotfaktorvariante. Andererseits waren alle Fälle heterozygote Anlageträger für die Variante im *PMEL* Gen, die mit einer semidominant vererbten Form der Farbverdünnung (falb) bei verschiedenen Rassen



Abb. 3: Beispiele für das krause und verkürzte Haar im pigmentierten Bereich des Fells bei Kälbern. (a-h) Das weisse Haar ist normal. Die pigmentierten Haare sind aufgeheilt und zum Teil rötlich. (f) Eine Hypotrichose an den Ohren ist oftmals bereits früh ausgeprägt.

assoziiert ist.^{3,5,6,9} Zudem konnten die gleichen Varianten erstmals auch bei einer Kreuzung aus Limousin × Holstein nachgewiesen werden.

Genomische Analysen

Anhand der Daten, die im Rahmen der vom Zuchtverband routinemässig durchgeführten DNA-Genotypisierung für die genomische Selektion ermittelt wurden, konnten indirekt Träger der mit den beiden verantwortlichen Genvarianten assoziierten Haplotypen in den Schweizer Holstein bzw. Swiss Fleckvieh Populationen bestimmt werden. Nach Angaben der Qualitas AG (Zug) liegt die Häufigkeit des gemeinsamen Vorkommens von Heterozygotie für die *MC1R* und *PMEL* Varianten bei rund 41'000 genotypisierten Schweizer Tieren bei ca. 0.6% in der Rasse Holstein und bei ca. 0.3% in der Rasse Swiss Fleckvieh.

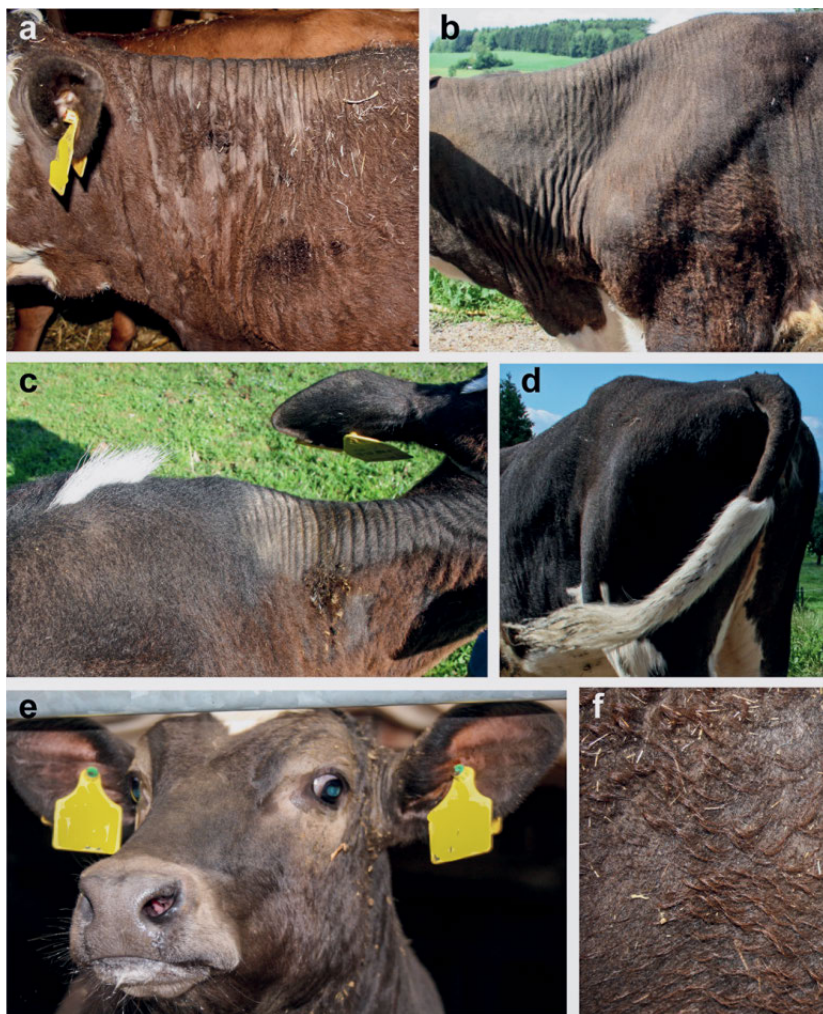


Abb. 4: Beispiele für die Hypotrichose im pigmentierten Bereich des Fells. (a-f) Die Hypotrichose ist besonders deutlich im Hals-Nackenbereich und am Kopf. Die Ohren, sowie der Bereich um das Flotzmaul und um die Augen herum sind besonders stark betroffen. (c+d) Deutliche Hypotrichose im pigmentierten Bereich im Vergleich zum normalen weissen Fell.

Diskussion

Dieser Fallbericht beschreibt erstmalig das Vorkommen einer kongenitalen, pigmentierungsassoziierten Anomalie des Fells bei Rindern in der Schweiz, die zuvor im Ausland als *rat-tail syndrome* oder *kreuzungsbedingte kongenitale Hypotrichose* beschrieben wurde.^{1,2,3,4,5} Für die insgesamt 33 Fälle dieser Arbeit in der Schweiz wurde gezeigt, dass die zuvor bei betroffenen Rindern vorgefundenen Varianten bei ausländischen Simmental und Hereford in den beiden Genen *MC1R* und *PMEL* jeweils heterozygot vorliegen.^{3,5} Diese mit der Pigmentierung bei Rindern assoziierten Gene weisen rassespezifische Varianten auf, die nur bei Vorliegen dieser bestimmten Genotyp-Konstellation zu diesem Phänotyp mit Aufhellung, Kräuselung und Verkürzung der Haare im pigmentierten Bereich des Fells führen. Ein wesentliches Erkennungsmerkmal einer Rasse ist die Farbe und Fellzeichnung. Rassespezifisch sind dabei die

Genvarianten, die die verschiedenen Fellfarben verursachen: Die mit schwarz assoziierte *MC1R*-Variante bei Holstein oder Angus Rindern, die eine Farbaufhellung verursachende *PMEL*-Varianten bei Simmental, Hereford, Highland Cattle oder Limousin bzw. Charolais.^{3,4,5,6,9,10} Das beobachtete Phänomen bedingt offenbar eine Kreuzung von Rindern mit schwarzer und aufgehellter bzw. falber Fellfarbe. Allerdings treten betroffene Tiere nicht nur nach Kreuzung reinrassiger Rinder auf, sondern offensichtlich genügt das Vorhandensein der bestimmten *MC1R*- und *PMEL*-Allele bei ansonsten unauffälligen Rindern. Die hier vorgestellten Fälle weisen einen teilweise sehr niedrigen Original Simmental-Blutanteil auf. Durch die jüngere Geschichte der Schweizer Rinderzucht kommt das Kreuzen von Holstein und Original Simmental Rindern vereinzelt vor und darum überrascht es nicht, dass dieses oben beschriebene Phänomen sporadisch vorkommt. Die Entwicklung der Rasse Swiss Fleckvieh beruht auf der Kreuzung von Holstein und Original Simmental, jedoch handelt es sich dabei um die Kreuzung mit Red Holstein Rindern, die die Mutation für die schwarze Farbe nicht tragen. Nur durch diese seit Jahrzehnten praktizierte Einkreuzung von Holsteintieren in die Rasse Original Simmental kann das Vorhandensein der mit der falben Fellfarbe assoziierten *PMEL* Variante in Rindern der Rassen Swiss Fleckvieh und Holstein (Sektion Red Holstein) erklärt werden. Die als Simmental bezeichneten Rinder im Ausland weisen nach Einkreuzung von Fleischrassen wie Angus oftmals nur noch einen geringen Original Simmental-Blutanteil auf.

Die mittlerweile umfangreich zur Verfügung stehenden Genotypisierungsdaten der Zuchtorganisationen erlaubten die Bestimmung der Häufigkeit von Tieren mit Heterozygotie an diesen beiden Stellen im Genom. Aktuell werden auch vermehrt schwarzbunte Holsteinkühe mit Stieren der Rassen Limousin und Simmental angepaart, da die Kälber aus diesen Gebrauchskreuzungen einen höheren Marktwert bei der Schlachtung erzielen. Da diese Kälber normalerweise nicht für die genomische Selektion genotypisiert werden, kann vermutet werden, dass die hier vorgestellte Anomalie häufiger vorkommt, als die durch die Qualitas AG ermittelten 0,5%.

In den hier vorgestellten Fällen erscheint die Bezeichnung *rat-tail syndrome* als ungeeignet, denn die betroffenen gescheckten Tiere aus der Kreuzung von Simmental bzw. Limousin und Holstein Rindern weisen alle eine weisse Schwanzspitze auf. Somit zeigen die Fälle keine Minderbehaarung der Schwanzquaste. Daher wird bevorzugt, bei den betroffenen Rindern von einer *pigmentierungsassoziierten Anomalie des Fells* zu sprechen. In den früheren Studien zeigten die Rinder mit *rat-tail syndrome* flächendeckend im pigmentierten Bereich solche Haarveränderungen und keinesfalls nur am Schwanz, dieser

war bei diesen jedoch so auffällig, dass dieses Syndrom entsprechend bezeichnet wurde.¹ Die fehlende Scheckung bei diesen als Simmental bezeichneten Rindern beruht auf der Einkreuzung von anderen einfarbigen Rassen wie z.B. Angus.

Es kann vermutet werden, dass manche Tiere, die insbesondere im Halsbereich eine lokal stärker ausgeprägte Hypotrichose zeigten, diese infolge einer haltungsbedingt erhöhten mechanischen Belastung in diesem Körperbereich entwickelt haben. Zum Beispiel durch das Selbstfanggitter oder durch Anbindehaltung. Anhaltspunkte für das Vorliegen einer zuvor beschriebenen, reduzierten Zuwachsrates und erhöhten Krankheitsanfälligkeit betroffener Rinder während der Wintermonate wurden nicht untersucht, zumal die hier vorgestellten Fälle mehrheitlich ausgewachsene Milchkühe waren.²

Der kürzlich bei Deutschen Fleckviehrindern mit einer Variante im *KRT27* Gen assoziierte Kraushaarphänotyp betrifft sowohl die pigmentierten Haare, als auch die weissen Fellabschnitte.¹⁶ Diese Variante konnte daher hier ausgeschlossen werden, da Keratin 27 bei der Bildung von Keratinintermediärfilamenten in der inneren Wurzelscheide aller Haare beteiligt ist, ohne Unterschied zwischen pigmentierten und weissen Haaren.¹⁶

Neben der Anomalie bei den Rindern wurde auch beim Hund bereits der Zusammenhang einer Hypotrichose mit der Pigmentierung des Fells beschrieben. Die beim Hund mit einer Variante im *MLPH* Gen assoziierte *colour dilution alopecia* ist durch eine aufgehellte Pigmentierung gekennzeichnet und geht vereinzelt mit Haarverlust einher, der auch nur die pigmentierten Haare bei gescheckten Individuen betrifft.¹⁷

Das bei den hier vorgestellten Rindern beteiligte *PMEL* Gen kodiert ein Protein, das ausschließlich in den Melanosomenstadien von pigmentproduzierenden Zellen vorkommt. Es konnte gezeigt werden, dass das *PMEL* Protein mit der Ausbildung spezifischer Fibrillen in den Melanosomen eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der normalen Pigmentproduktion spielt.⁷ Das *PMEL* Gen wurde bei verschiedenen Spezies für eine Aufhellung des Fells beziehungsweise des Federkleids als verantwortlich befunden.^{7,9,10,11,12,13,14,15} Die Deletionsvariante im *PMEL* Gen beim Rind verkürzt das Protein um eine Aminosäure. Es wird vermutet, dass die Ausbildung der normalen Fibrillen verändert wird, was zu einer Formveränderung der Melaningranula führt und dass durch die fehlende Fibrillen-Matrix eine reduzierte Eumelaninbildung und -ablagerung verur-

sacht wird (Abb. 1). Als weitere Folge wird angenommen, dass diese aggregierten und formveränderten Melaningranula im Haar unregelmässig angeordnet sind und zur fehlerhaften Ausbildung der Haarschäfte führen und schlussendlich die krausen und vermutlich brüchigeren Haare erklären könnten. Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Haaren von mit *rat-tail syndrome* betroffenen Rindern haben gezeigt, dass die pigmentierten Haare eine Formveränderung und eine Aggregation von Pigmentgranula, sowie eine durch ungleichmässige Haaroberfläche und Formveränderung gekennzeichnete abnormale Morphologie aufweisen.¹ Diese durch die abnormale Pigmentierung ausgelöste abnormale Morphologie der nicht-weissen Haare könnte die Erklärung für die gekrauste Form und die Hypotrichose darstellen, indem die malformierten Haare eher abbrechen als normales gerades Haar mit einer physiologischen Haarstruktur (Abb. 1). Der geringere Pigmentgehalt und die ungleiche Verteilung des Pigments im Haar aufgrund der Aggregation der Melaningranula erklärt somit die aufgehellte Fellfarbe. Die mit der *PMEL* Gen assoziierte Farbverdünnung in gleichzeitiger Gegenwart des permanent aktivierten Melanocortin 1-Rezeptors erklärt hochwahrscheinlich die Entstehung der Anomalie der pigmentierten Haare bei den hier vorgestellten Rindern. Für genauere Aussagen zu Fragen wie und wann genau das *PMEL*-Gen in die Eumelaninsynthese eingreift und ob bzw. welchen Effekt es bei der Phäomelaninsynthese hat, machen zu können, gilt es weitere grundlegende Studien abzuwarten.

Schlussfolgerung

Mit den hier vorgestellten Fällen von Rindern aus Kreuzungen von Holstein und Simmental mit einer *pigmentierungsassoziierten Anomalie des Fells* haben wir das Vorkommen dieser zuvor bei Fleischrindern als *rat-tail syndrome* bezeichneten Anomalie erstmals in der Schweiz nachgewiesen. Offensichtlich kommt diese bislang hier unbekannte, genetisch bedingte Besonderheit häufiger vor.

Dank

Die Autoren bedanken sich bei allen Landwirten, die ihre Tiere für diese Studie zur Verfügung gestellt haben. Vielen Dank auch an Alex Barenco (swissherdbook) für die Unterstützung bei der Probenbeschaffung sowie bei Nathalie Besuchet-Schmutz für die Genotypisierung.

Graue, kraus- und kurzhäufige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser et al.

Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf

M. Hauser et al.

Des bovins Holstein suisses à poils gris, bouclés et courts présentent des traces génétiques de la race Simmental

En Suisse, on peut parfois observer des veaux tachetés noirs et blancs présentant un pelage spécial uniquement dans la zone pigmentée des poils. Ces animaux sont normalement développés; les poils blancs sont normaux mais semblent relativement longs et lisses, alors que les poils pigmentés sont bouclés et raccourcis. En outre, les animaux atteints présentent une intensité variable de la couleur du pelage dans la zone pigmentée. À la naissance, ces veaux apparaissent souvent noirs, alors qu'en grandissant ils présentent une couleur plus claire allant du brun rougeâtre au gris. Chez les bovins adultes, les poils colorés semblent plutôt lisses mais sont nettement raccourcis. Ceci est associé à une diminution de la pilosité variable augmentant pendant la croissance et se limitant à la zone pigmentée du pelage. Ce phénomène d'hypotrichose associée à la pigmentation a déjà été décrit au niveau international dans diverses races à viande bovines. Ces bovins sont souvent d'un noir uniforme et ne présentent que de petites taches blanches. En raison de la perte de poils dans le pelage pigmenté et plus visiblement au niveau de la queue pigmentée, on appelle ce syndrome *syndrome de la queue de rat* (*rat-tail syndrom*), également appelé hypotrichose congénitale liée au croisement. Les études de génétique moléculaire ont montré que les animaux affectés sont porteurs hétérozygotes de deux variantes de deux gènes différents associés à la pigmentation. La même constellation génotypique a été retrouvée chez les 33 bovins suisses présentés ici. D'une part, ces derniers portent chacun une copie de la variante du gène dominant *MC1R* causant le noir, ainsi qu'une copie de la variante récessive du facteur rouge dans le gène *MC1R*. D'autre part, tous les cas sont porteurs hétérozygotes d'une variante du gène *PMEL* associée à une forme de dilution de couleur semi-dominante héréditaire (dun ou argent) chez les races Simmental, Hereford et Highland Cattle. Le croisement des bovins Holstein avec la race Simmental originale, pratiquée depuis des décennies, explique la présence occasionnelle de ce phénomène dans l'élevage bovin suisse.

Mots-clés: bovins, croisés, poil frisé, hypotrichose, *MC1R*, *PMEL*, syndrome de la queue de rat, *rat-tail syndrom*

I bovini svizzeri Holstein grigi, ricci e a pelo corto presentano tracce genetiche della razza Simmental

Di tanto in tanto, in Svizzera nascono vitelli maculati di bianco e nero, che hanno un pelo particolare solo nella zona pigmentata. Altrimenti questi animali hanno uno sviluppo normale. I peli bianchi sono normali, ma appaiono relativamente lunghi e lisci mentre i peli pigmentati sono ricci e corti. Inoltre, gli animali in questione mostrano un'intensità variabile del colore del mantello nella zona pigmentata. I vitelli coinvolti tendono ad apparire neri alla nascita, ma con l'età cambiano con vari gradi di schiarimento dal bruno rossastro al grigio. Nei bovini adulti, i peli colorati appaiono piuttosto lisci, ma notevolmente accorciati. Questo viene associato durante la crescita a un incremento della pelosità ridotta che è variabile e limitata alla zona pigmentata del mantello. Questo fenomeno di ipotricosi associata ai colori è stato già precedentemente descritto a livello internazionale in varie popolazioni di bovini da carne. Questi bovini sono spesso di colore nero monocromatico con solo poche e piccole macchie bianche. A causa della perdita dei peli del mantello pigmentato e soprattutto sulla coda pigmentata, è stato usato il termine *rat-tail syndrome* in aggiunta al termine ipotricosi congenita causata dall'incrocio. Studi di genetica molecolare hanno dimostrato che gli animali colpiti erano portatori eterozigoti per due varianti associate alla pigmentazione in due geni diversi. La stessa costellazione di genotipi si è rilevata anche nei 33 bovini qui presentati provenienti dalla Svizzera, che sono stati colpiti in modo molto simile. Da un lato, ognuno di essi porta una copia della variante del gene *MC1R* per il colore del mantello nero ereditato dominante, così come una copia della variante del fattore rosso ereditato recessivamente nel gene *MC1R*. D'altra parte, tutti i casi sono portatori eterozigoti per una variante del gene *PMEL* associata a una forma semidominante di dispersione del colore (giallo pallido) nelle razze Simmental, Hereford e Highland Cattle. L'incrocio della razza Holstein con la razza Original Simmental, praticato da decenni, spiega il verificarsi occasionale di questo fenomeno nell'allevamento bovino svizzero.

Parole chiave: Ipotricosi, peli ricci, incrocio, *MC1R*, *PMEL*, *rat-tail syndrome*, bestiame

Literatur

- ¹ Ayers JR, Leipold HW, Schalles R, Cole D: Pathological studies of cross-related congenital hypotrichosis in cattle. *Zentralbl Veterinarmed A* 1989; 36: 447-452.
- ² Schalles RR, Cundiff LV: Inheritance of the "rat-tail" syndrome and its effect on calf performance. *J Anim Sci* 1999; 77: 1144-1147.
- ³ Hecht B: Sequence analysis of PMEL17 as candidate gene for causing rat-tail syndrome in cattle. Masterthesis: Brigham Young University 2006 <https://scholarsarchive.byu.edu/etd/498>.
- ⁴ Knaust J, Hadlich F, Weikard R, Kuehn C: Epistatic interactions between at least three loci determine the "rat-tail" phenotype in cattle. *Genet Sel Evol* 2016; 48: 26.
- ⁵ Jolly RD, Wills JL, Kenny JE, Cahill JI, Howe L: Coat-colour dilution and hypotrichosis in Hereford crossbred calves. *N Z Vet J* 2008; 56: 74-77.
- ⁶ Klungland H, Våge DI, Gomez-Raya L, Adalsteinsson S, Lien S: The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. *Mamm Genome* 1995; 6: 636-639.
- ⁷ Hellström AR, Watt B, Fard SS, Tenza D, Mannström P, Narfström K, Ekestén B, Ito S, Wakamatsu K, Larsson J, Ulfendahl M, Kullander K, Raposo G, Kerje S, Hallböök F, Marks MS, Andersson L: Inactivation of Pmel alters melanosome shape but has only a subtle effect on visible pigmentation. *PLoS Genet* 2011; 7: e1002285.
- ⁸ Sun L, Hu L, Zhang P, Li H, Sun J, Wang H, Xie X, Hu J: Silencing of PMEL attenuates melanization via activating lysosomes and degradation of tyrosinase by lysosomes. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 503: 2536-2542.
- ⁹ Schmutz SM, Dreger DL: Interaction of MC1R and PMEL alleles on solid coat colors in Highland cattle. *Anim Genet* 2013; 44: 9-13.
- ¹⁰ Gutiérrez-Gil B, Wiener P, Williams JL: Genetic effects on coat colour in cattle: dilution of eumelanin and phaeomelanin pigments in an F2-Backcross Charolais × Holstein population. *BMC Genetics* 2007; 8: 56.
- ¹¹ Zhang MQ, Xu X, Luo SJ: The genetics of brown coat color and white spotting in domestic yaks (*Bos grunniens*). *Anim Genet* 2014; 45: 652-659.
- ¹² Brunberg E, Andersson L, Cothran G, Sandberg K, Mikko S, Lindgren G: A missense mutation in PMEL17 is associated with the silver coat color in the horse. *BMC Genet* 2006; 7: 46.
- ¹³ Clark LA, Wahl JM, Rees CA, Murphy KE: Retrotransposon insertion in SILV is responsible for merle patterning of the domestic dog. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 1376-1381.
- ¹⁴ Kerje S, Sharma P, Gunnarsson U, Kim H, Bagchi S, Fredriksson R, Schütz K, Jensen P, von Heijne G, Okimoto R, Andersson L: The dominant white, dun and smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the PMEL17 gene. *Genetics* 2004; 168: 1507-1518.
- ¹⁵ Ishishita S, Takahashi M, Yamaguchi K, Kinoshita K, Nakano M, Nunome M, Kitahara S, Tatsumoto S, Go Y, Shigenobu S, Matsuda Y: Nonsense mutation in PMEL is associated with yellowish plumage colour phenotype in Japanese quail. *Sci Rep* 2018; 8: 16732.
- ¹⁶ Daetwyler HD, Capitan A, Pausch H, Stothard P, van Binsbergen R, Brøndum RF, Liao X, Djari A, Rodriguez SC, Grohs C, Esquerré D, Bouchez O, Rossignol MN, Klopp C, Rocha D, Fritz S, Eggen A, Bowman PJ, Coote D, Chamberlain AJ, Anderson C, VanTassel CP, Hulsegge I, Goddard ME, Gulbrandsen B, Lund MS, Veerkamp RF, Boichard DA, Fries R, Hayes BJ: Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nat Genet* 2014; 46: 858-865.
- ¹⁷ Drögemüller C, Philipp U, Haase B, Günzel-Apel AR, Leeb T: A noncoding melanophilin gene (MLPH) SNP at the splice donor of exon 1 represents a candidate causal mutation for coat color dilution in dogs. *J Hered* 2007; 98: 468-473.
- Graue, kraus- und kurzhaarige Schweizer Holstein Rinder weisen genetische Spuren der Rasse Simmental auf
M. Hauser et al.

Korrespondenz

Cord Drögemüller
Institut für Genetik
Vetsuisse-Fakultät
Universität Bern
Bremgartenstrasse 109a
CH-3001 Bern
Telefon: +41(0)31 631 25 29
E-Mail: cord.droegemueller@vetsuisse.unibe.ch