

## Pferdezucht: Genetische Tests für die Fellfarben Fuchs, Braun und Schwarz. Ergebnisse einer ersten Untersuchung in der Schweizer Freibergerpferderasse.

J. Henner<sup>1,2</sup>, P.A. Poncet<sup>3</sup>, L. Aebi<sup>3</sup>, C. Hagger<sup>1</sup>, G. Stranzinger<sup>1,2</sup>, S. Rieder<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Nutztierwissenschaften der ETH Zürich, <sup>2</sup>Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Zürich,

<sup>3</sup>Haras National, Avenches

### Zusammenfassung

Während der Domestikation der Haustiere und der eigentlichen Rassenbildung kam der Fellfarbe besondere Bedeutung zu. Tierzüchter bevorzugten bestimmte Farbphänotypen, weil sie sie mit gewissen Charakter-, Leistungs- und Fitnesseigenschaften in Verbindung brachten. Daneben beeinflussten soziokulturelle Gründe Farbpräferenzen. Seit kurzem stehen zwei genetische Tests auf DNA-Ebene zur Verfügung, die es erlauben versteckte Träger der rezessiven Allele für Fuchs und Schwarz zu bestimmen. Die drei Grundfarben des Pferdes, Fuchs, Braun und Schwarz sind damit genetisch erklärbar. In einer Stichprobe von 162 Schweizer Freibergerpferden wurden die Allele für Fuchs und Schwarz typisiert. Die Analyse der Allelfrequenzen zeigt, dass in der Freibergerpopulation das Fuchsallel stark verbreitet, das Allel für Schwarz aber selten ist. Rare Fellfarben sind am Markt gefragt. Die statistische Untersuchung von 1369 Nachkommen von fünf Hengsten lässt die Vermutung zu, dass beim Freiberger die seltenen dunkleren Nuancen der Grundfarben (Dunkelbraun und Dunkelfuchs) einem rezessiven Erbgang folgen.

**Schlüsselwörter:** Farbgenetik – Agouti – Extension – Freiberger Pferd – Biodiversität

### Horse breeding: genetic tests for the coat colors chestnut, bay and black. Results from a first study in the Swiss Franches-Montagnes horse breed.

Coat color played an important role during domestication and formation of breeds. Live-stock breeders often had special preferences for particular color phenotypes because they believed them to be associated with performance or fitness traits. Socio-cultural reasons might have had an influence on color selection as well. Recently genetic tests on DNA level got available to genotype in any individual horse for basic horse coat colors (chestnut, bay, black). In particular, hidden carriers of the recessive chestnut and black allele are recognizable with these tests. A sample of 162 Franches-Montagnes horses from Switzerland was genotyped for the alleles for chestnut and black. The analysis of allele frequencies revealed a high prevalence of the chestnut allele and a low frequency of the black allele in this population. Rare colors are in demand on the market. The statistical analysis of 1369 offspring from five stallions indicate, that darker shades of basic color phenotypes (dark chestnut, dark bay) follow a recessive mode of inheritance in the Franches-Montagnes horse breed.

**Key words:** coat color genetics – agouti – extension – Franches-Montagnes – biodiversity

## Einleitung

**«Das Haarkleid des Pferdes muss sein Wesen charakterisieren (arabisches Sprichwort aus Forbis, 1980).»**

In der Domestikationsgeschichte der Nutztiere und zum Zeitpunkt der eigentlichen Rassenbildung haben Fell- und Gefiederfarben eine entscheidende Rolle gespielt. Neben ruhigem, wenig ängstlichem Verhalten, dürften visuelle Aspekte,

wie von der Wildfarbe abweichendes Haarkleid oder Gefieder, die individuelle Tierausswahl durch den Menschen auf dem Weg der Haustierwerdung begünstigt haben. Von Bedeutung mag der Wunsch gewesen sein, etwas Aussergewöhnliches zu besitzen, in dem Fall ein Tier besonderer Farbe (Hemmer, 1983). Zudem repräsentierten bestimmte Farben (z.B. schwarz-weiss) symbolisch Werte im Rahmen von rituellen und kultischen

Handlungen (Fruchtbarkeit, Erntedank etc.). Auf die Verbindung zwischen Leistungsmerkmalen oder Krankheiten und Farbvarianten deuten oft volkstümliche Sprichwörter hin. Weiter sprechen Farbphänotypen unser ästhetisches Empfinden an und haben in Tierzüchterkreisen regionale, traditionelle und soziokulturelle Bedeutung behalten. Tiere «gesuchter» Farbe können am Markt höhere Preise erzielen als vergleichbare Tiere ohne «besonderen» Farbtypus.

***«Tradition they say, can teach us a lot, so here is what horsemen, on color, have thought. A BAY is hardy, a CHESTNUT is fast and you can't kill a BUCKSKIN: he'll last and last. A GREY is gentle, a SORREL is hot, a DUN is a horse you'll be happy you bought. WHITE EYES are flighty, WHITE FEET may crack while some won't rely on the FEET of a BLACK. Some PINTOS are lucky, like the medicine hat, but all horsemen agree the BEST COLOR is FAT (Sprichwort anonymen Herkunft aus Sponenberg, 1996).»***

Heute kennt man aus der Entwicklungsbiologie parallel verlaufende Wege der pigmentbildenden Zellen (Melanozyten) und Nervenzellen. Beide entstammen demselben embryonalen Gewebe, der aus dem äusseren Keimblatt (Ektoderm) gebildeten Neuralleiste. Deshalb erscheinen Beziehungen zwischen domestikationserleichternden Verhaltensmerkmalen und bestimmten Farbphänotypen heute eher erklärbar, als dies auf den ersten Blick den Anschein macht (Anderson, 1997; Grandin, 1998). Aus Domestikationsversuchen an Wildtieren, insbesondere Füchsen, geht hervor, dass auf Zähmheit selektierte Tiere eine von der Wildform abweichende, «non-agouti» Fellfärbung aufweisen (Keeler, 1975; Belyaev, 1979). Ein in der Pferdewelt bekannter italienischer Vollblutpferdezüchter des 20. Jahrhunderts, Federico Tesio, wurde u.a. berühmt für seine Analysen zu den mendelschen Gesetzen und deren Umsetzung und Anwendung in der praktischen Pferdezucht. Fellfarben und mit ihnen in Verbindung gebrachte Eigenschaften nehmen bei ihm ebenfalls einen wichtigen Platz ein. Allerdings waren Tesios genetische Kenntnisse aus heutiger Sicht limitiert und seine Interpretationen stark durch den damaligen Zeitgeist geprägt (Tesio, 1958).

Viele an der Pigmentsynthese und der Melanozytenbildung beteiligte Gene haben pleiotrope Wirkung, d.h. sie beeinflussen die Entwicklung unterschiedlicher Zellen (z. B. Melanozyten, primordiale Keimzellen, Erythrozyten, Neuronen). Solche Beziehungen bilden die Grundlage von Zusammenhängen zwischen Farbphänotypen und komplexen Merkmalen wie beispielsweise Krank-

heiten (Barsh, 1996). Beim Pferd sind dazu das «Overo lethal white foal syndrome» (OLWS), «Lethal dominant white», sowie die Melanomentwicklung beim alternden Schimmel zu nennen (Pulos und Hutt, 1969; Santschi et al., 1998; Rieder et al., 2000). Weiter sind auch Anpassungen an gewisse Umweltbedingungen erwähnenswert: Bekannt ist, dass Tiere mit weissem Haarkleid und dunkler Haut (z. B. Camargue Pferde – Duncan, 1992) unter heissen Klimabedingungen und hoher Sonneneinstrahlung ihren Wärmehaushalt besser regulieren können, besser vor UV-Strahlung geschützt sind und weniger von Ektoparasiten befallen werden als Nutztiere dunkler Fellfarbe (Legel, 1989).

Innerartlich weisen Wildtiere im Gegensatz zu domestizierten Tieren in der Regel weniger farbliche Variation auf. Dementsprechend kann grössere farbliche Variation als eine Leistung züchterischen Wirkens von Seiten des Menschen betrachtet werden. Dies ist ein Beitrag an die Variabilität des Genoms einer bestimmten Spezies und damit der Biodiversität. Der erwähnten, teilweise nachgewiesenen Verbindung von Farbphänotypen und Leistungs- oder Krankheitsmerkmalen kommt dabei besondere Bedeutung zu.

Nach heutigem Kenntnisstand vererben sich Fell- und Gefiederfarben mehrheitlich nach einfachen mendelschen Gesetzmässigkeiten. Bekannt und selektionsmässig genutzt wurde dies schon im 19. Jahrhundert bei der Züchtung sogenannter «Fancy Mice» (Searle, 1968). Diese, insbesondere bei Mäusen gemachten Erkenntnisse übertrug man im Laufe der Zeit auf viele andere Säugetiere, darunter auch auf das Pferd (Trommershausen-Smith et al., 1976).

Als Grundfellfarben des Pferdes können Fuchs, Braun und Schwarz angesehen werden (Bowling und Ruvinsky, 2000). Alle drei Farbtypen unterstehen einer mehr oder weniger starken Variation (heller – dunkler Fuchs; heller – dunkler Brauner; «fading» – «non-fading» Schwarz). Die drei Farben sind das Resultat der Epistasie (interallele Genwirkung) zwischen Allelen an zwei verschiedenen Genen: Dem Melanocyte-stimulating-hormone-receptor-1 (MC1R) und dem Agouti-signaling-protein (ASIP). MC1R fördert die Verbreitung von dunklem Pigment (Eumelanin) über den Körper und wird deshalb als «Extension» Gen bezeichnet. Die Pigmentausbreitung geschieht in Abhängigkeit von alpha-Melanocyte-stimulating-hormone ( $\alpha$ -MSH). ASIP, codiert durch das «Agoutigen», wirkt als Antagonist gegen  $\alpha$ -MSH. Funktionelle Mutationen an diesen beiden Genen haben beim Pferd hauptsächlich folgende Wirkung:

- Bei Verlust der Funktion von MC1R wird anstelle von Eumelanin nur noch die rot-gelbe

Pigmentvariante (Phäomelanin) ins Haarkleid abgegeben. Dieses Rot (Fuchs) wird bei Pferden rezessiv vererbt und das zuständige Allel mit dem Buchstaben «e» bezeichnet. Das «Normallel» wäre «E». Ein Fuchs besitzt immer den Genotyp «e/e» an MC1R/Extension.

- Bei Verlust der Funktion von ASIP geht die antagonistische Wirkung auf  $\alpha$ -MSH verloren; bei funktionierendem MC1R resultiert eine überdurchschnittlich starke Ausprägung von Eumelanin und damit ein homogen schwarzes Haarkleid. Wie Rot (Fuchs), wird beim Pferd auch die schwarze Farbe (Rappe) rezessiv vererbt. Das zuständige Allel von ASIP wird mit «a» bezeichnet. Das «Normallel» wäre «A». Ein Rappe besitzt immer den Genotyp «a/a» an ASIP/Agouti, darf aber gleichzeitig nicht den Genotyp «e/e» an MC1R aufweisen. Letzteres würde die Auswirkungen von «a/a» aufheben (epistatischer Effekt), das Pferd wäre ein Fuchs, aber gleichzeitig und dabei phänotypisch nicht erkennbar, Träger des Genotyps für Schwarz.

Sowohl das Allel «e» wie auch «a» wurden beim Pferd auf der Ebene der DNA charakterisiert. Es stehen Tests zur Verfügung, diese am Einzeltier zu bestimmen (Marklund et al., 1996; Rieder et al. 2001). Zwei Allele an einem Genort führen zu drei Genotypen. Zwei Gene mit je zwei Allelen ergeben neun verschiedene Genotypen (3<sup>2</sup>; wobei n gleich der Anzahl Gene mit je zwei Allelen). Diese und die dazugehörigen Phänotypen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Daraus geht hervor, dass für alle drei Grundfarben mehrere Genotypen möglich sind. Das wiederum erklärt möglicherweise einen Teil der innerfarblichen Variation (Rieder et al., 2001). Beispielsweise wären Rappen mit leicht rotem Haaranteil Träger des Rotallels «e». Dieses Phänomen ist auch bei Schwarzen Rotfaktorträgern in der Holsteinrasse beim Rind bekannt (Jörg et al., 1996). Weiter fanden Rieder et al. (2001) eine statistisch signifikante Tendenz zu phänotypisch hellerem Braun bei braunen «e»-Trägern.

Tabelle 1: Genotypen und Phänotypen der Allele «E, e» an MC1R sowie «A, a» an ASIP

Genotyp	Phänotyp Fellfarbe
AA EE	«Reines» Braun
AA Ee	Braun, «Rotallelträger»
AA ee	Fuchs
Aa EE	Braun, «Schwarzallelträger»
Aa Ee	Braun, «Rot- und Schwarzallelträger»
Aa ee	Fuchs, «Schwarzallelträger»
aa EE	Schwarz (Rappe)
aa Ee	Schwarz (Rappe), «Rotallelträger»
aa ee	Fuchs («verdeckter» Rappe)

Tabelle 2: Zusammensetzung der Stichprobe von Freibergerpferden (FM).

FM-Familie & Unterfamilien	Väterliche Stammlinie	%	Anzahl
F1	Vaillant – Drapeau	1,9	3
F1	Vaillant – Elu	21,0	34
F1	Vaillant – Hunter	17,9	29
F1	Vaillant – Regulus	1,2	2
F1	Vaillant – Vagabond	2,4	4
F1	Vaillant – Verdun	0,6	1
F1	Vaillant – Wigar	0,6	1
F3	Imprévu – Judo	8,0	13
F3	Imprévu – Jura	2,5	4
F3	Imprévu – Jurassien	3,7	6
F22	Doktryner	1,9	3
F25	Nello	2,5	4
F26	Alsacien	29,0	47
F27	Noé	4,9	8
F28	Qui-Sait	1,9	3
<b>Total</b>		<b>100</b>	<b>162</b>
<b>Verteilung der Farbphänotypen</b>			
	Fuchs	18,5	30
	Dunkelfuchs	1,9	3
	Stichelfuchs	0,6	1
	schwarz	1,9	3
	braun	42,0	68
	dunkelbraun	11,1	18
	Schimmel	15,4	25
	weiss	8,0	13
	weiss-gescheckt	0,6	1
<b>Total</b>		<b>100</b>	<b>162</b>

In der vorliegenden Studie wurden die erwähnten Tests erstmals an einer grösseren repräsentativen Stichprobe von Schweizer Pferden der Rasse Franches-Montagnes (Freiberger-FM) durchgeführt und ausgewertet. Speziell analysiert wurden zudem die Farbnuancen Dunkelbraun und Dunkelfuchs.

## Tiere, Material und Methoden

### Tiere

Von insgesamt 162 Freibergerpferden wurden Blut- oder Haarproben gesammelt. Die Blutentnahme erfolgte per Vacutainer (Venoject, Terumo Belgien) aus der Vena jugularis. Haare wurden jeweils aus Mähne oder Schweif gezupft. Bei letzterem ist wichtig, dass Haarwurzelzellen mitgewonnen werden. Angaben zur Abstammung stellte der Schweizerische Freibergerzuchtverband über die Herdebuchstelle in Avenches zur Verfügung. Die Stichprobe enthält Pferde aus den bedeutenden Stammlinien der Freibergerzucht (nur die väterliche Linie wurde aufgeführt) und repräsentiert alle in dieser Rasse geläufigen Farbphänotypen (Tab. 2). Auch Schimmel, sie werden «farbig» geboren, und weissgeborene/weiss-gescheckte Pferde besitzen einen Genotyp an den

Genen für MC1R bzw. Agouti. Aus diesem Grund und damit möglichst alle Farbphänotypen der Freiberrasse vertreten waren, fanden sie Einzug in die Studie.

#### DNA-Isolation

DNA wurde nach folgendem Protokoll isoliert und anschliessend bei 4 °C gelagert: Gewinnung eines Leukozytenpellets aus Vollblut (200 µl EDTA-Blut) durch Zentrifugation und Hämolyse, resp. Präparation einiger Haarwurzeln (5–6) aus gezupften Mähnen- oder Schweifhaaren. Denaturierung der erwähnten Ausgangsprodukte in 100 µl 20mM NaOH während 15 Minuten bei 97 °C mit anschliessender Ausfällung der DNA und Stabilisierung des Gemisches durch Beigabe von 100 µl 200mM HCl/100mM TrisHCl pH 8.5. Für eine PCR Reaktion wurden ein bis zwei Mikroliter dieser DNA verwendet.

#### Diagnostische Tests zur Erkennung der Allele «E, e» und «A, a» an MC1R und ASIP

Die Durchführung der Tests an MC1R und ASIP erfolgte nach Rieder et al. (2001): Per PCR wurden die Mutationsstelle umgebenden Genabschnitte von MC1R und ASIP, mittels pferdespezifischer Primersequenzen amplifiziert.

Primer für MC1R:

- TestMe-F:  
5' CCTGGAAGTGTCCATTCCTGATG 3'
- TestMe-R:  
5' GTAGTAAGCGATGAAGAGGGTGC 3'

Primer für ASIP:

- TestADEx2-F:  
5' CTTTGTCTCTCTTTGAAGCATTG 3'
- TestADEx2-R:  
5' GAGAAGTCCAAGGCCTACCTTG 3'

Diese Sequenzabschnitte sind in der «GenBank» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) unter den Zugriffsnummern AF288357 bzw. AF288358 zu finden.

Die PCR unterteilte sich in einen Denaturierungsschritt bei 95 °C während 5 Minuten, gefolgt von 35 Zyklen à 30 Sekunden Denaturierung bei 95 °C, 30 Sekunden Annealing bei 58 °C sowie 30 Sekunden Extension bei 72 °C. Abgeschlossen wurde die Reaktion mittels einer Extension bei 72 °C während sieben Minuten. Das PCR-Reaktionsgemisch (25 µl) für beide Amplifikate setzte sich wie folgt zusammen: 1–2 µl DNA, 2.5 µl (10×) Puffer, 4 µl dNTP's (1.25mM Gemisch), je 0.5 µl Forward- und Reverseprimer (20 µM) und 0.5 µl Taq-Polymerase (Amersham-Pharmacia Biotech, Piscataway USA). Mit sterilem Wasser wurde

schliesslich auf ein Endvolumen von 25 µl ergänzt. Für MC1R ergab sich ein Amplifikat (PCR-Produkt) von 445bp und für ASIP ein solches von 102bp.

Durch die «e»-Punktmutation (Cytosin zu Thymin) entsteht an dieser Position von MC1R eine Schnittstelle, die von dem Restriktionsenzym TaqI erkannt wird. Der Verdau des Ausgangsamplikates MC1R (445bp) mit diesem Enzym erfolgte nach den Angaben des Herstellers (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Deutschland): Dem PCR-Reaktionsgemisch von 25 µl wurden entsprechend 3 µl (10×) Verdauungspuffer B und 0.5 µl TaqI (5U) zugegeben. Auf ein Endvolumen von 30 µl ergänzte man mit 1.5 µl sterilem Wasser. Verdaut wurde bei 65 °C während ein bis zwei Stunden. Die elektrophoretische Auftrennung der daraus resultierenden Fragmente (ca. 450bp, 300bp, 150bp) und damit die Darstellung der verschiedenen Allele von MC1R erfolgte auf einem ethidiumbromid-haltigen 1–2% Agarosegel.

Die «a»-Mutation in Agouti basiert auf einer Deletion von 11bp in Exon 2 von ASIP. Die Fragmente der Agoutiallele können damit direkt, durch eine einfache PCR mit anschliessender elektrophoretischer Auftrennung des Amplifikats (ca. 100bp bzw. 90bp), auf einem 4% Agarosegel, dargestellt werden.

#### Berechnung der Allel- und Genotypfrequenzen

Die Allele an den beiden Genen wurden einzeln ausgezählt und deren Frequenz bestimmt und in Prozent ausgedrückt (Tab. 3). Die Berechnung der erwarteten kombinierten Genotypfrequenzen an den beiden Genen erfolgte nach Falconer (1984) basierend auf dem Gesetz von Hardy-Weinberg. MC1R (ECA3p12) und ASIP (ECA22q15) liegen beim Pferd auf zwei verschiedenen Chromosomen und segregieren unabhängig voneinander.

#### Mikrosatelliten Marker und genetische Kopplungsanalyse

In der dunkelbraun-dunkelfuchs Familie (Abb. 1) wurden Mikrosatelliten Marker aus der *HOR*-

Tabelle 3: Allelfrequenzen von «E, e» und «A, a» bei 162 typisierten FM-Pferden.

MC1R	Anzahl Allele	%
<b>E</b>	148	<b>45,7</b>
<b>e</b>	176	<b>54,3</b>
<b>Total</b>	324	100
Agouti	Anzahl Allele	%
<b>A</b>	291	<b>89,8</b>
<b>a</b>	33	<b>10,2</b>
<b>Total</b>	324	100

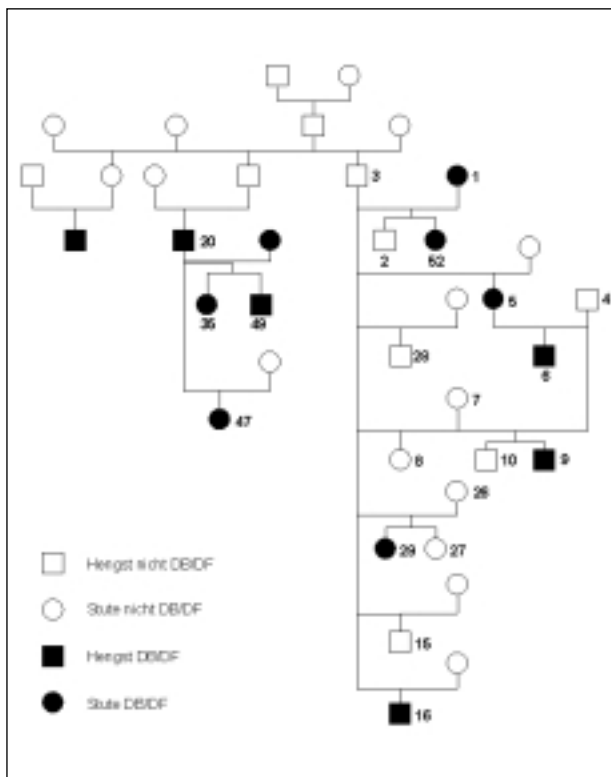


Abbildung 1: Pedigree zu Dunkelbraun und Dunkelfuchs. Ein rezessives «Dunkelallel» scheint in dieser Familie zu segregieren. Die Nummern bezeichnen MC1R/ASIP und Mikrosatelliten Marker typisierte Pferde aus der FM-Gesamtstichprobe von 162 Tieren.

SEMAP (<http://locus.jouy.inra.fr>; LEX38, SGCV28, TKY5, COR1, COR22, UM022, LEX63) analog zu Rieder et al. (2000b) typisiert. Eine genetische Kopplungsanalyse anhand der Pedigree-, Phänotyp- und Markerdaten erfolgte mittels der Software LINKAGE Package (Terwilliger und Ott, 1994) über einen Server des UK HGMP Resource Centre in Cambridge GB (<http://www.hgmp.mrc.ac.uk/>).

## Ergebnisse

Die errechneten Allelfrequenzen zu MC1R und ASIP, basierend auf 162 Freiberger Pferden sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Darin fällt einerseits der hohe Anteil des «e»-Allels (54,3%) und andererseits die tiefe Frequenz des «a»-Allels (10,2%) auf. Die resultierenden Genotypfrequenzen sind in Tabelle 4 dargestellt. Die Stichprobenpopulation weicht,

Tabelle 4: Haplo- und Genotypfrequenzen

	%	EA	Ea	eA	ea
		41	4.5	49	5.5
EA	41	17	2	20	2
Ea	4.5	2	0.2	2	0.25
eA	49	20	2	24	3
ea	5.5	2	0.25	3	0.3

bezogen auf die Allelfrequenzen an MC1R und ASIP, nicht signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ab (HWG MC1R:  $\chi^2 = 3,1$ ; HWG ASIP:  $\chi^2 = 0,5$ ). Für die Grundfarben, zusammengesetzt gemäss Tabelle 1, ergeben sich folgende Anteile in Prozent: Fuchs = 30,3%; Braun = 69,0% und Schwarz = 0,7%. Wie bereits erwähnt, ist ein Pferd des Genotyps «eeaa», aufgrund der Epistasie zwischen MC1R und ASIP, phänotypisch ein Fuchs obwohl genetisch neben fuchs auch schwarz. Die 0,3% Freiberger in dieser Klasse sind entsprechend dem Phänotyp den Füchsen zuzurechnen und nicht den Rappen.

Die genetische Untersuchung von Nuancen innerhalb der drei Grundfarben erwies sich aus verschiedenen Gründen als schwierig. Beispielsweise wirken Umwelteinflüsse, wie etwa Licht und Ernährung, in noch weitgehend unbekanntem Ausmass auf den Farbphänotyp (z. B. Wärmeabhängig-

Tabelle 5: Farbliche Verteilung der Nachkommen von «Dunkelallel» FM-Trägerhengsten

	Farbphänotypen Stuten						
	F	DF	S	B	DB	HB	G
<b>F a r b p h ä n o t y p e n</b>	<b>DF Hengst 1</b>						
	F	120		56			177
	DF	13	2	10		1	26
	B			118			118
	<b>Total</b>	134	2	184		1	<b>321</b>
<b>N a c h k o m m e n</b>	<b>DF Hengst 2</b>						
	F	104		49		1	154
	DF	51	10	18	4		83
	B		2	107			109
	DB				2		2
<b>N a c h k o m m e n</b>	HB			1			1
	<b>Total</b>	165	10	2	175	6	<b>359</b>
<b>N a c h k o m m e n</b>	<b>S Hengst 3</b>						
	F	73	8	31		2	115
	DF	2	2	1			5
	S	1		1			2
	B	52	2	115			3
<b>N a c h k o m m e n</b>	DB	4	4	17	7		32
	HB			1			1
	G						2
	<b>Total</b>	132	14	179	7	2	<b>340</b>
<b>N a c h k o m m e n</b>	<b>DB Hengst 4</b>						
	B	55		156			211
	DB	4	1	21	5		31
	HB			2			2
	<b>Total</b>	59	1	179	5		<b>244</b>
<b>N a c h k o m m e n</b>	<b>DB Hengst 5</b>						
	S	1					1
	B	32		52		1	85
	DB	6		12	1		19
	<b>Total</b>	39		64	1	1	<b>105</b>
<b>Gesamttotal</b>		<b>529</b>	<b>26</b>	<b>3</b>	<b>781</b>	<b>19</b>	<b>2</b>
							<b>9</b>
							<b>1369</b>

(F = Fuchs; DF = Dunkelfuchs; S = Schwarz; B = Braun; DB = Dunkelbraun; HB = Hellbraun; G = Schimmel)



keit der Tyrosinase) und nur «Extremtiere» unterscheiden sich in den Nuancen deutlich genug und ermöglichen damit eine einwandfreie Klassierung. Noch relativ klar abgrenzbar sind «dunklere» Farbschläge gegenüber der «Norm». Die geringe Zahl dunkler Nachkommen, Generationensprünge, sowie das Wissen, dass norm-farbige Eltern dunkle Nachkommen zeugen können, deuteten auf einen rezessiven Erbgang und lassen die Existenz eines «Dunkelgens» in der Population vermuten. Das Pedigree in Abbildung 1 verdeutlicht dies ebenfalls. Träger der dunklen Farbnuance (hier unabhängig davon ob Fuchs oder Brauner) wären demzufolge homozygote Träger eines «Dunkelallels» am «Dunkelgen». Entsprechend müsste die Paarung zweier dunkler Eltern zu ausschliesslich dunklen Nachkommen führen. Zur Prüfung dieser Arbeitshypothese wurde die Verteilung der Fellfarben in den phänotypisch einwandfrei abklärbaren Nachkommen von fünf Freibergerhengsten untersucht (zwei Dunkelfüchse, zwei Dunkelbraune, ein Rappe). Die Resultate sind der Tabelle 5 zu entnehmen. Die Einteilung basiert auf den Herdebucheinträgen. Die Daten stützen die Arbeitshypothese «rezessives Dunkelallel». Sofern Paarungen Dunkelfuchs × Dunkelfuchs, Dunkelbrauner × Dunkelbrauner und Dunkelfuchs × Dunkelbrauner vorkamen, resultierte immer ein dunkelfarbiges Fohlen. Hengst 3, ein Rappe, ist nur Träger des Dunkelallels und zeugte mit dunklen Stuten sowohl dunkle wie norm-farbige Fohlen. Insgesamt fanden sich 198 Fohlen dunklen Farbphänotyps unter den 1369 Nachkommen dieser fünf FM-Hengste.

In einem zusätzlichen Schritt wurde eine Pferdefamilie, in der das Dunkelallel segregiert (Abb. 1), zwecks Kopplungsanalyse, für verschiedene Mikrosatelliten Marker typisiert (Resultate hier nicht aufgeführt). Die genetischen Marker stehen für Chromosomenregionen des Pferdes auf ECA 7, ECA 22, ECA 23 in denen Gene vermutet werden oder bereits bekannt sind (Tyrosinase, Agouti, Tyrosinase-related protein 1), die u. a. eine Verdunkelung der Fuchsfarbe und Braun bewirken könnten. Bis jetzt fanden sich allerdings keine schlüssigen Beziehungen zwischen den dunklen Farbphänotypen und den erwähnten genetischen Markern resp. diesen Chromosomenregionen und Genen.

## Diskussion

Die Variation in den Grundfellfarben des Pferdes basiert auf funktionell wirksamen Genmutationen, aus diesen resultieren unterschiedliche, biologisch aktive Proteinvarianten. Deshalb sind sie, im Gegensatz zu den nicht-funktionell wirksamen (nicht-proteincodierenden) genetischen Markern (z. B. Mikrosatelliten, Intron-SNPs), echte Indika-

toren für die Variation im Pferdegenom und damit eines der Masse zur Kontrolle der genetischen Diversität in dieser Spezies. Die pleiotrope Wirkung vieler Gene und damit einhergehend mögliche Konsequenzen der Farbvariation auf Leistung und Fitness, erhalten im Rahmen der Biodiversitäts- und Rassenerhaltungsdiskussion zusätzliches Gewicht. Die vorliegende Studie zeigt die Verteilung der drei Pferdegrundfellfarben in der schweizerischen Freibergerpopulation auf und untersucht die Vererbung zweier farblicher Nuancen innerhalb dieser Grundfarben. Es wird festgestellt, dass die Grundfarbe Schwarz (Rappe) sowie die dunklen Ausprägungen von Braun und Fuchs in sehr tiefer Frequenz in der Freibergerpopulation vorkommen und deshalb von Züchtern und Pferdehaltern gesuchte, seltene Farbschläge sind.

Der rezessive Charakter der Fuchs- und Rappfarbe beim Pferd bringt es mit sich, dass heterozygote Träger dieser Allele allein äusserlich nicht als solche erkannt werden können. Die hier beschriebenen genetischen Tests erlauben die direkte Bestimmung des Rot- und Schwarzallels am Einzeltier. Als Konsequenz davon werden auf die erwähnten Farben ausgerichtete gezielte Paarungen möglich. Damit liesse sich beispielsweise der Anteil Rappen in der Freibergerpopulation fördern. Weiter sollte aufgrund unserer Resultate die direkte Paarung von Dunkelbraun × Dunkelbraun, Dunkelfuchs × Dunkelfuchs sowie Dunkelbraun × Dunkelfuchs jeweils zu dunkelbraunen oder dunkelfuchsfarbigem Freibergerfohlen führen. Es versteht sich dabei von selbst, dass ein Pferd nicht nur aus seiner Farbe besteht und bei der Zucht und Selektion in erster Linie auf morphologisch sowie charakter- und fitnessmässig entscheidende Merkmale geachtet werden muss. Allerdings kann, wie erwähnt und von marktwirtschaftlichen Überlegungen abgesehen, die Farbe diesbezüglich auch eine Rolle spielen.

Im Zeitalter der «Labelproduktion» und damit der genauen Prüfung von Produktions- und Warenfluss kommt dem Herkunftsnachweis eines Produktes besondere Bedeutung zu. Für Produkte tierischen Ursprungs könnte man sich in Zukunft vorstellen, dass in Populationen wo ausschliesslich eine oder wenige typische Farben vorkommen, mit den Farben assoziierte Genotypen, die rassenspezifische Erkennung des Einzeltiers sowie der von ihm stammenden Produkte erlaubt; sofern in letzteren noch DNA isolierbar ist. Insgesamt bedarf dies allerdings der Genotypen vieler Farbloce und nicht nur der beiden hier vorgestellten. Die zunehmend dynamische Entwicklung in der Pferdegenetik lässt erahnen, dass die hier beschriebenen Tests für die drei Grundfarben schon bald durch weitere, für andere Farbvarianten ergänzt und in die Praxis eingeführt

werden können. Damit entsteht neues Grundlagenwissen und die Aufklärung von Zusammenhängen zwischen Farbphänotypen und komplexen Merkmalen dürfte einen Schritt näher rücken.

## Dank

Wir bedanken uns herzlich bei den vielen verschiedenen Pferdebesitzern, die uns ihre Tiere zur Verfügung gestellt und damit die Untersuchung erst ermöglicht haben. Besonderer Dank gilt Frau A. Lüth, Herdebuchstelle des Schweizerischen Pferdezuchtverbandes, Avenches VD für ihre Hilfe bei der Zusammenstellung von Daten aus dem Zuchtbuch. Herrn L. Jallon, Geschäftsführer des Schweizerischen Freibergerzuchtverbandes für die

Unterstützung unseres Projektes. Dr. D. Burger und den Mitarbeitern des Reproduktionszentrums im Haras National, Avenches VD sowie den Tierärzten, Dr. U. Jenni, Au ZH, Dr. A. Glaus, St. Gallen SG, Dr. A. Hurni, Marbach LU, Dr. M. Bischoff, Sent GR für die Mithilfe bei der Probenbeschaffung. Dr. G. Guérin, LGBC, INRA, Jouy-en-Josas, France für den regen wissenschaftlichen Austausch. Die Studie wurde vom Bundesamt für Landwirtschaft mit einem Beitrag an die Materialkosten unterstützt und ist Teil einer Dissertation am Institut für Nutztierwissenschaften, Gruppe Züchtungsbiologie der ETH Zürich, wie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich, in Zusammenarbeit mit dem Nationalen Gestüt Avenches.

### **Élevage chevalin: des tests génétiques pour les couleurs des robes de base, alezan, bai et noir. Résultats d'une première étude dans la race Franches-Montagnes en Suisse.**

La coloration des robes a une importance particulière dans l'histoire de la domestication et de la formation des races. Les éleveurs avaient souvent des préférences spécifiques à ce qui concerne les phénotypes des robes, car ils avaient fait la liaison entre la robe et certains caractères de performance et de santé. En plus, des raisons socioculturelles influençaient la sélection. Aujourd'hui, il existe des tests génétiques au niveau ADN qui permettent de définir le génotype individuel des couleurs de base du cheval. Les porteurs cachés de l'allèle alezan et de l'allèle noir récessif deviennent détectables. Un échantillonnage de 162 chevaux de race Franches-Montagnes en Suisse a été analysé. L'analyse des fréquences alléliques a démontré que l'allèle alezan est très fréquent et que l'allèle noir est rare dans la population. Les robes rares sont demandées au marché. L'analyse statistique de 1369 descendants issus de cinq étalons a indiqué, que les nuances foncées des robes de base (alezan foncé, bai foncé) semble de suivre un mode d'hérédité récessive dans la race Franches-Montagnes.

### **Allevamento di cavalli: tests genetici riguardanti il colore del mantello per i cavalli sauro, bruno e nero. Risultati del primo esame per la razza svizzera Freiberger.**

Nel corso della domesticazione degli animali domestici e durante la formazione delle razze è stata data un'importanza particolare al colore del mantello. Gli allevatori hanno privilegiato determinati fenotipi del colore perchè erano in relazione con determinate particolarità del carattere, delle prestazioni e d'idoneità. Inoltre le preferenze dei colori sono state influenzate da motivi socio-culturali. Da qualche tempo sono disponibili due tests genetici basati sul DNA che permettono di determinare i portatori nascosti di alleli recessivi per i colori sauro e nero. I tre colori principali del cavallo, sauro, bruno e nero, sono quindi geneticamente spiegabili. Su un campione di 162 cavalli della razza svizzera Freiberger sono stati analizzati gli alleli per il sauro ed il nero. L'analisi della frequenza degli alleli mostra che l'allele per il colore sauro è molto diffuso nella popolazione dei Freiberger, mentre l'allele per il colore nero è raro. Mantelli di colori rari sono ricercati sul mercato. L'analisi statistica di 1369 discendenti di cinque stalloni fanno supporre che le rare sfumature dei colori principali (bruno scuro e sauro scuro) vengano trasmesse in maniera recessiva.

## Literatur

- Anderson D.J.: Cellular and molecular biology of neural crest cell lineage determination. *Trends in Genetics*, 1997, 13: 276–280.
- Barsh G.S.: The genetics of pigmentation: from fancy genes to complex traits. *Trends in Genetics* 1996, 12: 299–305.
- Belyaev D.K.: Destabilizing selection as a factor in domestication. *Journal of Heredity* 1979, 70: 301–308.
- Bowling A. T., Ruvinsky A.: *The Genetics of the Horse*. CABI Publishing, CAB International, Oxen UK, 2000.
- Duncan P.: *Horses and grasses: the nutritional ecology of equids and their impact on the Camargue*. Springer Verlag, New York USA, 1992.
- Falconer D.S.: *Einführung in die quantitative Genetik*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart D, 1984.
- Forbis J.: *Das klassische arabische Pferd*. Parey Buchverlag, Berlin D, 1980.
- Grandin T.: *Genetics and the behavior of domestic animals*. Academic Press, San Diego USA, 1998.
- Hemmer H.: *Domestikation Verarmung der Merkwelt*. Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft, Braunschweig D, 1983.
- Joerg H., Fries H.R., Meijerink E. and Stranzinger G.F.: Red coat color in Holstein cattle is associated with a deletion in the MSHR gene. *Mammalian Genome* 1996, 7: 317–318.
- Keeler C.E.: Genetics of behavior variations in color phases of the red fox. In «*The Wild Canids: Their Systematics, Behavioral Ecology and Evolution*». Editor Fox M.W. Van Nostrand-Reinhold, New York USA, 1975.
- Legel S.: *Nutztiere der Tropen und Subtropen*. Band 1–3. S. Hirzel Verlag, Leipzig, 1989.
- Marklund S., Moller M.J., Sandberg K. and Andersson L.A.: missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MC1R) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian Genome* 1996, 7: 895–899.
- Pulos W.L. and Hutt F.B.: Lethal dominant white in horses. *J. Heredity* 1969, 60: 59–63.
- Rieder S., Baerlocher H.U., Joerg H., Hagger Ch and Stranzinger G.: Charakterisierung von Schweizer-Neuweltkamelidenrassen mittels Mikrosatelliten-Markern. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 2000b, 142: 120–125.
- Rieder S., Stricker Ch., Joerg H., Dummer R. and Stranzinger G.: A comparative genetic approach for the investigation of aging grey horse melanoma. *J. Anim. Breed. Genet.* 2000, 117: 73–82.
- Rieder S., Taourit S., Mariat D., Langlois B. and Guérin G.: Mutations in the Agouti (ASIP), the Extension (MC1R) and the Brown (TYRP1) Loci and their Association to Coat Color Phenotypes in Horses. *Mammalian Genome* 2001, 12: 450–455.
- Santschi E.M., Purdy A.K., Valberg S.J., Vrotsos P.D., Kaese H. and Mickelson J.R.: Endothelin receptor B polymorphism associated with lethal white foal syndrome in horses. *Mammalian Genome* 1998, 306–309.
- Searle A.G.: *Comparative Genetics of Coat Color in Mammals*. Logos Press, London GB, 1968.
- Sponenberg D.P.: *Equine color genetics*. Iowa State University Press, Ames Iowa USA, 1996.
- Terwilliger J.D. and Ott J.: *Handbook of Human Genetic Linkage*. John Hopkins University Press, Baltimore Maryland USA, 1994.
- Tesio F.: *Breeding the Race-Horse*. London UK, 1958.
- Trommershausen-Smith A., Suzuki Y. and Stormont C.: Use of Blood Typing to Confirm Principles of Coat-Color Genetics in Horses. *J. Heredity* 1976, 67: 6–10.

## Korrespondenzadresse

Dr. Stefan Rieder, Institut für Nutztierwissenschaften, Gruppe Züchtungsbiologie,  
ETH-Zentrum, Tannenstrasse 1, CH-8092 Zürich

*Manuskripteingang: 3. Dezember 2001*

*In vorliegender Form angenommen: 14. Januar 2002*