

Umsetzung der Europäischen Innovationspartnerschaft  
„Landwirtschaftliche Produktivität und Nachhaltigkeit“ (EIP-AGRI)  
im Freistaat Sachsen

## **Endbericht**

für ein nach Richtlinie LIW/2014 mit Mitteln des ELER gefördertes Vorhaben

Titel des Vorhabens:

**Konzept zur Optimierung des Populationsmanagements beim  
Rheinisch-Deutschen Kaltblut (PSSM1 Kaltblutpferd)**

Autoren:

- Tina Hake
- Tobias Schnorr
- Dr. Kati Schöpke
- Christian Kubitz
- Dr. Uwe Hörügel
- Prof. Dr. Markus Freick

Hochschule für Technik und Wirtschaft (HTW) Dresden

## Inhalt

1.	Zusammenfassung der Projektplanung .....	4
1.1.	Problembeschreibung .....	4
1.2.	Zielformulierung .....	5
1.3.	Arbeitsplan .....	5
1.3.1.	Methodenbeschreibung .....	5
1.3.2.	Arbeits- und Lösungsweg .....	7
1.3.3.	Arbeitsbeiträge der einzelnen Mitglieder der operationellen Gruppe .....	8
1.4.	Erwartete Ergebnisse.....	10
2.	Darstellung des Projektverlaufs.....	11
2.1.	Arbeitsschritte, Design und Datenerhebungen .....	11
2.2.	Datenauswertung.....	13
3.	Projektergebnisse .....	17
3.1.	Einschätzung der Zielerreichung.....	17
3.2.	Hauptergebnisse des Projektes .....	17
3.2.1.	Haltungsform .....	17
3.2.2.	Fütterung .....	18
3.2.3.	Arbeit.....	20
3.2.4.	Gruppenvergleich der Allel- und Genotypfrequenzen sowie Anlageträgerschaft	21
3.2.5.	Beziehung der GYS1 Mutation zu den Leistungsparametern.....	30
3.2.6.	Populationsanalyse beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut anhand von Pedigrees und genomischen Daten.....	38
4.	Ergebnisverwertung .....	47
4.1.	Nutzung der Ergebnisse in der Praxis.....	47
4.2.	Maßnahmen zur Verbreitung der Ergebnisse .....	50
5.	Wirkung des Projektes .....	51
5.1.	Beitrag zu den Prioritäten der EU für die Entwicklung des ländlichen Raums .....	51
5.2.	Beitrag zu den Zielen der EIP-AGRI.....	52
5.3.	Beitrag zu den in der SWOT-Analyse festgestellten Bedarfen.....	53
6.	Zusammenarbeit in der operationellen Gruppe .....	54
6.1.	Ausgestaltung der Zusammenarbeit.....	54
6.2.	Mehrwert der operationellen Gruppe.....	54
7.	Verwendung der Zuwendung.....	54
8.	Schlussfolgerungen und Ausblick .....	55
8.1.	Rückblick.....	55

8.2. Ausblick.....	55
9. Studentische Abschlussarbeiten aus Daten des Projektes.....	56
10. Literaturverzeichnis .....	56
11. Anhang .....	58

# 1. Zusammenfassung der Projektplanung

## 1.1. Problembeschreibung

Der Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. (PZVST) führt deutschlandweit den Hauptteil der Zuchtpopulation der Rasse Rheinisch-Deutsches Kaltblut (RDK). Im Zuchtgebiet Sachsen waren mit Stand Dezember 2019 insgesamt 160 Zuchtstuten und 18 Hengste registriert. In jüngerer Vergangenheit hat der Gendefekt, der die Polysaccharid-Speichermyopathie Typ 1 (PSSM1) bedingt, in der Züchterschaft und der deutschen Pferdezucht rasant an Aufmerksamkeit und Bedeutung gewonnen (Nürnberg 2020). Diese Stoffwechselkrankheit kann, bei Ausbruch klinischer Symptome, zu erheblichen Leistungseinbußen führen (Baird et al. 2010). In Österreich konnte bei Norikern kein signifikanter Einfluss des Gendefekts auf die Abschlussnote der Leistungsprüfung festgestellt werden (Druml et al. 2017), wobei bekannt ist, dass das Alter ausschlaggebend für das Auftreten klinischer Symptome sein kann (Schwarz 2012). Jedoch konnte bisher keine unabdingbare Beziehung zwischen Genotyp und Phänotyp, d.h. dem Auftreten klinischer Symptome dokumentiert werden. Bei pferdegerechter Haltung und Arbeit der betroffenen Tiere ist es möglich, dass zeitlebens keine klinischen Symptome gezeigt werden beziehungsweise durch Anpassung von Fütterung und Haltung ist es möglich, dass Tiere sich gänzlich gesund präsentieren (University of Minnesota Equine Center 2011). Das RDK wird aufgrund der geringen effektiven Populationsgröße als gefährdet eingestuft und die Erhaltung genetischer Diversität ist von hoher Bedeutung. Die Trägerfrequenz (PSSM1) der Rasse wurde bisher auf 68% geschätzt (Baird et al. 2010). Die Verbreitung der Trägerschaft in der sächsisch-thüringischen Zuchtpopulation ist nicht bekannt und auch der Bezug zu Leistungsparametern aus Stations- und Feldprüfungen und dem Auftreten klinischer Auffälligkeiten wurde beim RDK bisher nicht untersucht. Um der Züchterschaft und dem Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. eine wissenschaftlich fundierte Beratung zu ermöglichen, sollte dieser Zusammenhang untersucht werden. Um eine fundierte Empfehlung zum Zuchteinsatz von Trägertieren zu treffen, sollte die Gesamtheit der aktiven Zuchtpferde für den Gendefekt (PSSM-Typ 1) und zusätzlich auf einem SNP-Beadchip ( $\geq 70k$ ) genotypisiert werden und die Genotypdaten in Bezug auf Leistungsparameter analysiert werden. In Rücksprache mit den Züchtern und Besitzern sollen ergänzend klinische Auffälligkeiten und tierärztliche Befunde in die Auswertung integriert werden. Die Genotypisierung auf einem SNP-Beadchip ermöglicht es, aktuelle Inzuchtkoeffi-

zienten, Verwandtschaftsgrade und effektive Populationsgröße zu bestimmen, um optimierte Anpaarungsentscheidungen zur Erhaltung der genetischen Diversität zu treffen.

## **1.2. Zielformulierung**

Ziel ist die Untersuchung der Trägerfrequenz des für PSSM1 kausalen Gendefekts im *GYS1*-Gen beim RDK in der Zuchtpopulation des RDK, die vom PZVST geführt wird sowie eine Analyse der Effekte auf Leistungsparameter (Leistungsprüfungsdaten) und Klinik dieser Pferde. Um eine fundierte Empfehlung zum Zuchteinsatz von Trägertieren zu treffen und Züchtern optimierte Anpaarungsentscheidungen zu ermöglichen, soll die aktive Zuchtpopulation umfassend genotypisiert (Gentest, SNP-Chip) werden. Letztlich wird ein Konzept zur Optimierung des Populationsmanagements entwickelt, das in Abhängigkeit der Ergebnisse zur Penetranz der Genmutation verschiedene Szenarien entwickelt. Dabei werden sowohl zur Haltung und zum Management als auch zur züchterischen Bearbeitung Empfehlungen erarbeitet.

Zusätzlich wird ein Anpaarungsplaner vorbereitet, der neben der abstammungsbasierten Berechnung des Verwandtschaftsgrades die Möglichkeit einräumt, den Genotyp zur berücksichtigen. Der Anpaarungsplaner soll über eine Online-Maske Züchtern bereitgestellt werden, wobei insbesondere die Integration von Genotypinformationen Innovationscharakter besitzt.

## **1.3. Arbeitsplan**

### **1.3.1. Methodenbeschreibung**

Die Projektaktivitäten gliederten sich in folgende Arbeitspakete:

1. Probennahme (Haare) zur Genotypisierung (Gentest, SNP-Chip)
2. Einsendung der Proben zu einem molekulargenetischen Labor zur Genotypisierung
3. Aufbereitung von Leistungsprüfungsdaten und Abstammungsdaten für beprobte Hengste und Stuten
4. Erarbeitung und Anwendung eines Fragebogens für Züchter und Besitzer bzgl. klinischer Auffälligkeiten und ggf. tierärztlicher Befunde

5. Statistische Auswertung inkl. Korrelationsstudien zwischen Genotyp und Leistungsparametern/ Klinik und Schätzung der Effekte auf Noten die Gesundheit/ Klinik (Fragebögen)
6. Berechnung von Inzuchtkoeffizienten, Verwandtschaftsgrad und effektiver Populationsgröße basierend auf SNP-Daten; Abgleich genetischer und pedigree-basierter Inzuchtkoeffizienten (Hinweise auf Korrektheit der Abstammung)
7. Verfassen von Empfehlungen zum Populationsmanagement und neuen Anpaarungen inkl. Erarbeitung eines (Online-) Anpaarungsplaners mit Berücksichtigung von Abstammung (Inzucht) und Genotyp (ggf. Gesundheit / Risikoreduktion)
8. Empfehlungen zur Spermaeinlagerung in die nationale Genbank (Bund-Länder-Vereinbarung)

### 1.3.2. Arbeits- und Lösungsweg

Der Arbeits- und Lösungsweg des Projektes wird folgend überblicksmäßig dargestellt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Tabellarische Übersicht zum Arbeits- und Lösungsweg

Arbeitspaket		OG-Mitglied	2021			2022												2023		
			IV			I			II			III			IV			I		
Nr.	Inhalt		Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz	Apr	Mai	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	Mrz
1	Methodenetablierung in den Zuchten; Probennahme (Haare)	PZV, SGV	1																	
2	Einsendung der Proben zum Labor / Genotypisierung	HTW, PZV							2											
3	Aufbereitung von Leistungsprüfungs- und Abstammungsdaten	PZV, SGV, HTW																		
4	Erarbeitung & Anwendung eines Fragebogens (Klinik, Haltung)	PZV, TSK, HTW, SGV																		
5	Statistische Auswertung	HTW																		
6	Berechnung Populationsparameter	HTW																		
7	Konzept Populationsmanagement: Empfehlungen zu Anpaarungen, Haltung und Management	PZV, TSK, HTW, SGV																		
8	Empfehlungen zur Spermaeinlagerung in die nationale Genbank	PZV, TSK, HTW, SGV																		
9	Publikation	HTW																		
10	Wissenstransfer (Informationsveranstaltung)	PZV, TSK, HTW, SGV																		
11	Organisation	HTW																		

Legende:

- Hauptarbeitsphase
- Puffer
- kontinuierliche Aufgabe

## Meilensteine im Projektverlauf (Tabelle 1)

1. Informationsveranstaltung für Züchter und Besitzer: Beginn IV. Quartal 2021
2. Ablieferung aller Haarproben zur Genotypisierung: Beginn II. Quartal 2022
3. Erhalt Ergebnisse Genotypisierung: Ende III. Quartal 2022
4. Abgeschlossene Aufbereitung Leistungs- und Abstammungsdaten:  
Mitte III. Quartal 2022
5. Digitalisierung der ausgefüllten Fragebögen abgeschlossen: Ende III. Quartal 2022
6. Abschluss statistische Auswertung: Beginn I. Quartal 2023
7. Abschluss Berechnung Populationsparameter: Beginn I. Quartal 2023
8. Freigabe Anpaarungsplaner: Ende I. Quartal 2023
9. Abschlussbericht: Ende I. Quartal 2023
10. Manuskript Publikation: Ende I. Quartal 2023
11. Informationsveranstaltung Ergebnisse: Ende I. Quartal 2023

### **1.3.3. Arbeitsbeiträge der einzelnen Mitglieder der operationellen Gruppe**

Im Rahmen dieses Projektes wurden die vorhandenen fachlichen Kompetenzen der beteiligten Institutionen, Verbände und Betriebe durch eine Intensivierung der Zusammenarbeit und Kommunikation vernetzt und gebündelt. Die Verfahren zur Sicherstellung der Transparenz der Tätigkeit und der Entscheidungsfindung sowie zur Vermeidung von Interessenkonflikten wurden in einem Kooperationsvertrag der operationellen Gruppe (OG) niedergeschrieben. Insgesamt fanden sieben Arbeitstreffen der Mitglieder der OG in einem Abstand von ungefähr drei Monaten in Form von Online-Meetings statt. Zudem wurden zwei Treffen der Mitglieder der OG in Präsenz durchgeführt, welche in der Geschäftsstelle des PZVST in Moritzburg stattfanden. Der Beitrag der Mitglieder der OG zur Gesamtstrategie des Projektes wird nachfolgend dargestellt:



### **Kooperationsbetrieb: Sächsische Gestütsverwaltung (SGV):**

Die Sächsische Gestütsverwaltung, zu der das Landgestüt in Moritzburg und das Hauptgestüt in Graditz gehören, stellt Züchtern aus Sachsen und auf nationaler und internationaler Ebene geprüfte Deckhengste für den Zuchteinsatz zur Verfügung. Insgesamt werden über 80 Deckhengste durch die SGV betreut, die über ein flächendeckendes Netz von 12 Deck- und Besamungsstationen den Züchtern bereitgestellt werden. Gegenwärtig finden sich darunter sieben RDK-Hengste, was dem Großteil der aktiven männlichen Zuchttiere in Sachsen entspricht. Die SGV leistet damit bereits einen fundamentalen Beitrag zur Zucht, dem Erhalt und der Betreuung dieser Rasse und ist ein wichtiger Ansprechpartner für Züchter.

- Mitwirken in Arbeitspaket 1; 2; 4; 7 und 8

### **Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V.**

Der Verband verfügt bei genügender Größe über zeitgemäße Strukturen, die eine möglichst umfassende individuelle Betreuung jedes einzelnen Züchters gewährleisten können. Basis der Zuchtorganisation bilden ca. 4.000 Züchter, die in 30 regionalen Zuchtvereinen organisiert sind. Für die spezifische Umsetzung der Zuchtprogramme der einzelnen Rassen wurden Rasseparlamente gebildet, in denen jeder Züchter ein Mitspracherecht hat. Im Verband verteilen sich derzeit ca. 5.000 Zuchtpferde auf 30 betreute Rassen. Die größte Population ist die des Deutschen Sportpferdes mit 1.200 Stuten, gefolgt von den Schweren Warmblütern mit ca. 900 Stuten. Es schließen sich an: 300 Kaltblüter, 400 Haflinger, 200 Reitponys und 1.000 Shetlandponys sowie 300 Stuten der Spezialpferderassen.

- Mitwirken in Arbeitspaket 1; 2; 3; 4; 7 und 8

### **Sächsische TSK, Pferdegesundheitsdienst (PGD):**

Die Beratung der Pferdehalter in allen tiergesundheitlichen und tierschutzrechtlichen Angelegenheiten ist eine Aufgabe der von der Tierseuchenkasse gemäß § 14 (4) Sächsisches Ausführungsgesetz zum Tiergesundheitsgesetz unterhaltenen Tiergesundheitsdienste. Es ist anzunehmen, dass in Beratungen von Pferdezüchtern der

Umgang mit Gendefekten auch zukünftig eine wichtige Fragestellung sein wird. Diese Beratungen müssen praxisrelevante Maßnahmen zur Vermeidung des Auftretens von Merkmalsträgern sowie die Auswirkungen von Gendefekten auf das Tierwohl, die Tiergesundheit und die Leistung enthalten.

- Mitwirken in Arbeitspaket 4; 7 und 8

### **HTW Dresden (Antragsteller)**

Die wissenschaftliche Leitung und Projektkoordination wurde von der Professur für Tierhygiene/Tierzucht an der Fakultät Landbau/Umwelt/Chemie übernommen. Neben der Lehre ist die anwendungsorientierte Forschung eine der Kernaufgaben von Hochschulen der angewandten Wissenschaften. Der Wissenstransfer des erreichten Erkenntnisgewinnes in die Praxis in Form von Informations- und Beratungsunterlagen, Publikationen entsprechend der Förderrichtlinie und in Fachzeitschriften sowie Vorträgen im Rahmen von Fortbildungsveranstaltungen war ein wichtiger Baustein dieses Projektes und wurde von der HTW übernommen.

- Mitwirken in Arbeitspaket 3; 4; 5; 6; 7 und 8

### **1.4. Erwartete Ergebnisse**

Das Thema unterstützt die Zuchtarbeit für das RDK im Zuchtgebiet Sachsen.

Die Ergebnisse ermöglichen dem PZVST fundierte Entscheidungen in zuchtleitenden Tätigkeiten, ein koordiniertes Populationsmanagement und eine gezielte Betreuung der Zuchtpopulation. Für Züchter und Pferdebesitzer/-halter leisten die Ergebnisse wertvolle Hilfestellung bei der Anpaarungsentscheidung sowie der Tierhaltung und -versorgung im Falle von betroffenen Tieren. Für die Sächsische Gestütsverwaltung leisten die Erkenntnisse eine Entscheidungshilfe für die Bestandsremontierung.

Die Kenntnis von Inzuchtkoeffizienten, effektiver Populationsgröße und Trägerstatus werden in der Tierauswahl für die nationalen Genbank Anwendung finden.

- optimiertes Konzept zum Populationsmanagement

- Handlungsempfehlungen zum Zuchteinsatz, der Haltung und Versorgung
- (Online-) Anpaarungsplaner
- Verbesserte Vernetzung und Zusammenarbeit der Institutionen (OG-Mitglieder)

## **2. Darstellung des Projektverlaufs**

### **2.1. Arbeitsschritte, Design und Datenerhebungen**

Die Feldstudie wurde bei 178 Pferden von 54 unterschiedlichen Besitzern vorrangig aus Sachsen und Thüringen und vereinzelt in anderen Bundesländern Deutschlands durchgeführt. Es wurden vorrangig Hengste und Stuten über 3 Jahre beprobt. Denn Voraussetzung war, dass das Pferd zuchtaktiv ist bzw. eine Zuchtabsicht vorliegt. Nur vereinzelt wurden auch jüngere Equiden beprobt, wenn die Besitzer glaubhaft versicherten, dass in Zukunft eine Zuchtabsicht besteht. Auf die Beprobung von Wallachen und aus der Zucht ausgeschiedenen Tiere wurde auf Grund der Irrelevanz für den Fortbestand der Rasse verzichtet.

Sämtliche zum Versuch gehörende Daten wurden im Zeitraum von Januar 2022 bis August 2022 erhoben (Tabelle 1). Die Datenerhebung zu Haltung, Fütterung und Arbeit erfolgte zunächst handschriftlich mit Hilfe eines Fragebogens, der vom Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. ausgearbeitet wurde und mit den jeweiligen Besitzern während der Beprobung der Pferde vor Ort handschriftlich ausgefüllt wurde. Ziel war es diese Unterschiede so detailliert wie möglich herauszuarbeiten und zu vergleichen. So sollte analysiert werden, ob und welche Einflüsse diese Umweltfaktoren auf das Auftreten der PSSM1-Symptome haben.

Neben dem Einfluss der Haltung, Fütterung und Arbeit auf das Krankheitsbild der PSSM1 positiv getesteten Pferde, sollte auch der Einfluss auf die Leistung der Tiere analysiert werden. Zusätzlich wurde auch eine Populationsanalyse anhand von Pedigrees und genomischen Daten durchgeführt. Dies geschah mit den vom PZVST zur Verfügung gestellten Leistungsprüfungsdaten von Tieren, die bereits eine Leistungsprüfung abgelegt hatten. Zur Verfügung standen die Leistungsprüfungsergebnisse von 342 Equiden. Bei jedem dieser Pferde war eine Gesamtnote angegeben, aber nicht für jedes einzelne alle Teilnoten bzw. Leistungsmerkmale. Von den 178 beprobten Individuen waren 44 in der Liste der Leistungsprüfungsdaten wieder zu finden. Ausgewertet

wurden nur jene Merkmale, welche pro Gruppe (negativ [Wildtyp]/positiv [Anlageträger]) mehr als N=6 aufwiesen. Alle anderen Merkmale wurden nicht in die statistische Auswertung mit einbezogen. Um den Datensatz zu erweitern, wurde eine Liste von 994 Pferden hinzugezogen, von denen 235 einen bekannten Genotyp oder zumindest ein bekanntes Allel haben und mit dem Datensatz der Leistungsprüfungsergebnisse abgeglichen. Viele RDK aus diesem Datensatz konnten nicht verwendet werden, da der Genotyp nur bei wenigen eindeutig bekannt war. Die Genotypen waren entweder durch Testergebnisse bekannt, teilweise wurden Genotypen auch über das 2. Mendelsche Gesetz berechnet. Diese Daten entstammen dem Hengstverteilungsplan (<https://pferde-sachsen-thueringen.de/zucht/hengste/hengstverteilungsplan>), Deckanzeigen in der Zeitschrift „Starke Pferde“ oder der FN (<https://www.pferd-aktuell.de/pferdezucht/gendefekte>). Damit wurde ein Datensatz kreiert, der 92 Pferde mit bekannter Leistungsprüfungsgesamtnote und bekanntem Genotypen enthielt. Auch hier wurden nur Leistungsmerkmale statistisch ausgewertet, welche N=6 oder mehr je Gruppe (Wildtyp/ Anlageträger) aufwiesen.

## **Probenahme**

Um den Einfluss der Haltung, Fütterung und Arbeit auf das Auftreten der typischen PSSM1-Symptome und die anderen Studienhypothesen zu überprüfen, wurde eine quantitative Feldstudie durchgeführt, bei welcher deduktiv vorgegangen wurde.

Obwohl nur wenige Besitzer direkt auf das Anschreiben reagiert haben, waren die meisten angefragten Züchter aufgeschlossen an dem Projekt teil zu nehmen. Neben denjenigen, die nicht auf das Anschreiben reagiert haben, musste auch mit denen, die geantwortet haben telefonischer Kontakt aufgenommen werden. In zwei Fällen war aus unterschiedlichen Gründen eine Kontaktaufnahme per Telefon nicht möglich, weshalb auf eine beim Pferdezuchtverband hinterlegte E-Mail-Adresse zurückgegriffen werden musste. Insgesamt wurden 72 Besitzer kontaktiert, von denen sich 51 bereit erklärten teilzunehmen. Mit den Besitzern wurde ein Termin für die Probenahme und die Befragung (beides fand in der Regel am selben Tag statt) ausgemacht und dann wurde von einem der beiden studentischen- bzw. wissenschaftlichen Hilfskräfte der Betrieb besucht und die Probenahme, sowie Befragung durchgeführt. Die Abfrage der Haltungsart erfolgte im persönlichen Gespräch mit dem Besitzer während der Bepro-

bung bzw. danach und wurde handschriftlich in den Fragebogen eingetragen. Die erfragten Informationen wurden dann schnellstmöglich in einer Exceltabelle digitalisiert. Die Haarproben wurden mittels eines Kamms oder Zange entfernt, in einzelne, durchsichtige Druckverschlussbeuteln aus Polyethylen eingefügt und anschließend kühl und dunkel gelagert. Wichtig dabei war, dass ausreichend genetisch verwertbares Material enthalten war. Das bedeutet, dass ausreichend Haarwurzeln (mindestens 30) an den Haaren sein mussten. Es wurden immer drei Proben je Pferd genommen. Eine für den Gentest, eine für die SNP-Analyse und eine Rückstellprobe für den Fall, dass aus einer entnommenen Probe nicht genug genetisches Material extrahiert werden konnte. Dies war bei zwei der 178 Proben der Fall. Für diese beiden Equiden kam dann die Rückstellprobe zum Einsatz. Aus diesen konnte dann ausreichend genetisches Material für die Analyse gewonnen werden. Sobald die Proben genommen und auf Lagertemperatur gebracht wurden, wurde die Kühlkette ständig aufrechterhalten, bis die Proben gesammelt mit der Post zum Labor geschickt wurden. Die Proben wurden am 27.07.2022 versendet. Die Ergebnisse der Genotypisierung lagen im September vollständig vor.

## **2.2. Datenauswertung**

Die Gentests wurden von LABOKLIN GMBH & CO.KG Labor für klinische Diagnostik durchgeführt (Steubenstraße 4 97688 Bad Kissingen Deutschland). LABOKLIN ist ein nach DIN EN ISO/IEC 17025:2018 akkreditiertes Labor, mit Nummern D-PL-13186-01-01 und D-PL-13186-01-02. Diese Akkreditierung bezieht sich auf alle in der Akkreditierungsurkunde aufgeführten Prüfverfahren (Gentest auf Mutation im Gen *GYS1*, die kausal für PSSM1 ist [Gentest patentiert: EP2121969B1]).

Die Erstellung von individuellen Genomprofilen erfolgte mittels einer SNP-Genotypisierung auf dem kommerziellen 80k-Beadchip Equine80select von Illumina Inc. (San Diego, USA). Die DNA-Isolation aus Haarwurzeln, die Prozessierung der Proben sowie die SNP-Genotypisierung wurden durch das IFN Schönow GmbH (Bernau/Berlin) durchgeführt und die Ergebnisse als Textdateien an die HTW Dresden übermittelt

(SNP-Genotypisierung mit mittlerer bis hoher Dichte [ $> 50.000$  Positionen], vorzugsweise mit dem SNP-BeadChip, der auch in der Reitpferdezucht in Deutschland Anwendung findet).

Das Ergebnis des Tests gibt Aufschluss darüber, ob das Pferd homozygot oder heterozygot für die GYS1-Mutation ist oder ob es kein Träger der Mutation ist (LABOKLIN 2021).

Die gewonnenen Daten wurden in das Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2021 (Microsoft Office 365, Microsoft Corporation, Redmond Washington/USA) übertragen. Der Vergleich zwischen den Studientieren war ein Vergleich von unabhängigen Stichproben. Die Auswertung der im Fragebogen erfassten Daten erfolgte mithilfe des Statistikprogramms IBM SPSS (SPSS-Version 27, IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland). Zuerst wurde eine deskriptive Auswertung der Haltungs-, Fütterungs- und Arbeitsdaten durchgeführt. Dazu wurde eine Exceltabelle, welche während der Probenahme erstellt wurde in SPSS übertragen und deskriptiv hinsichtlich Fütterung, Haltung und Arbeitsverhältnisse analysiert. Ebenso wurden die Genotyp- und die Allelfrequenz sowie die Anlageträgerschaft getrennt nach Geschlecht, Geburtsorten, Hengstlinien und Geburtsjahrgängen sowie Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht für die Gesamtpopulation ermittelt und dafür Kreuztabellen mit SPSS erstellt.

Für den Gruppenvergleich wurden einmal die drei unterschiedlichen Genotypen (N/N; N/PSSM und PSSM/PSSM) sowie der Gruppenunterschied zwischen Anlageträgern (N/PSSM und PSSM/PSSM) und Wildtypen (N/N) auf Signifikanz geprüft. Zur Berechnung des p-Wertes und der Effektstärke wurde der Chi-Quadrat Test nach Pearson (1876) gewählt, da die Werte nominal verteilt waren. Bedingung für den Chi-Quadrat Test ist, dass die erwarteten Häufigkeiten in jeder Zelle einen N-Wert von mehr als fünf aufweisen. Bei allen Tests, welche eine niedrigere Fallzahl als  $N = 20$  aufwiesen, wurde der exakte Wert nach Fischer zur Bestimmung der Signifikanz verwendet. Wurde ein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt, so wurde weiterhin ein Post-hoc Test durchgeführt, um festzustellen, welche Gruppen sich tatsächlich statistisch von welchen Gruppen unterscheiden.

Zum Schluss wurden die Leistungsprüfungsparameter zwischen den Genotypklassen (N/N vs. N/PSSM+PSSM/PSSM) verglichen. Hierzu wurden der Median und Interquartilsabstand sowie für besseres Verständnis für den praktischen Anwender Minimum,

Maximum und Mittelwert für die verschiedenen Leistungsprüfungsklassen mittels deskriptiver Statistik in SPSS ermittelt und in Tabellen und Box-Whisker-Plots veranschaulicht.

Abschließend wurden die Leistungsprüfungsnoten zwischen den Genotypklassen (N/N vs. N/PSSM + PSSM/PSSM) über den Mann-Whitney U Test im Statistikprogramm SPSS verglichen, um so festzustellen, ob zwischen den PSSM1 positiven und negativen Pferden ein signifikanter Unterschied in den Leistungsprüfungsnoten bestand. Der Mann-Whitney-U-Test ist ein nichtparametrischer Test, der für den Vergleich von zwei unabhängigen Stichproben verwendet wird, wenn die Daten nicht normalverteilt sind oder wenn die Varianzen zwischen den Gruppen ungleich sind. Eine Voraussetzung für die Anwendung des Tests ist, dass die abhängige Variable mindestens ordinalskaliert ist und dass es eine unabhängige Variable gibt, anhand derer die beiden zu vergleichenden Gruppen gebildet werden können (SCHWARZ & ENZLER 2019). Der Mann-Whitney-U-Test eignet sich besonders für kleine Stichproben oder nicht normalverteilte Daten. (SCHWARZ & ENZLER 2019). Für alle Varianten mit  $N > 30$  wurde die asymptotische Signifikanz verwendet und für alle Varianten mit  $N \leq 30$  die exakte Signifikanz. In allen beschriebenen inferenzstatistischen Analysen wurden Unterschiede bei  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant angesehen.

Für die Populationsanalyse anhand von Pedigrees und genomischen Daten wurden für die 178 Tiere der Stichprobe durch den Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. Abstammungsdaten für mindestens vier Ahnengenerationen bereitgestellt. Die Aufbereitung der Pedigreedaten erfolgte in R Version 3.6.2 (R Core Team, Wien, Österreich) und die Auswertung mittels spezifischer R-Softwarepakete (pedigree (Coster 2012), kinship2 (Sinnwell und Therneau 2020), optisel (Wellmann 2020)) sowie die online verfügbare Anwendung PopRep 2.0 (<https://popreport.fli.de/>, Groeneveld 2009). Insgesamt konnten für 161 der 178 Pferde entsprechende Informationen aggregiert und Pedigrees aufgebaut werden. Zur Berechnung der Inzuchtkoeffizienten im R-Paket Pedigree (Coster 2012) wurden alle verfügbaren Abstammungsinformationen genutzt. Mithilfe R Version 3.6.2 wurden aus den SNP-Genotypisierungsergebnissen eine ped- und map-Datei erstellt, die mit der Software PLINK v1.90b6.21 64-bit (19 Oct 2020) kompatibel sind. Es wurden nur SNP berücksichtigt, die einen GC-Score von  $\geq 0.4$  aufwiesen, andernfalls wurde der Genotyp als fehlend gesetzt (0 0). Für weitere



Auswertungen wurden nur Tiere berücksichtigt, die eine Genotypisierungsrate von  $\geq 95\%$  aufwiesen. Für die SNP wurden Qualitätsfilter für die Callrate ( $\geq 90\%$ ), Minor Allele Frequency (MAF  $\geq 1\%$ ) und das Hard-Weinberg-Equilibrium (HWE  $p \geq 0,001$ ) gesetzt. Für Auswertungen wurden nur autosomale Chromosomen verwendet, um einer Verzerrung durch geschlechtsspezifische Unterschiede vorzubeugen. Zur endgültigen Auswertung wurden infolge der Qualitätsfilter noch 172 Tiere mit 60.805 Positionen verwendet. Die Genotypisierungsrate des finalen Datensatzes lag bei 98,63%. Für die Analyse von langen Homozygotieabschnitten (Runs Of Homozygosity, ROH) und zur Ermittlung der autosomalen Gesamtlänge wurde außerdem ein virtuelles Pferd angelegt, das für jede SNP-Position homozygot war. Bei genomischen Inzuchtkoeffizienten, die anhand von ROHs ermittelt werden, wird der Anteil des autosomalen Genoms ins Verhältnis zum Genomanteil gesetzt, der mit ROH abgedeckt ist (gesamte ROH-Länge/gesamte verfügbare autosomale Genomlänge). Dabei kann die Mindestlänge der homozygoten Segmente über die Fenstergröße (window-size) variiert werden. Für die vorliegenden Auswertungen wurde die Fenstergröße auf je 20, 35, und 50 SNPs im Fenster gesetzt. Längere Homozygotieabschnitte sind i.d.R. Resultat jüngerer Inzucht und kürzere Abschnitte deuten auf länger zurückliegende Inzucht zurück (Forutan et al. 2018). Die Verwendung sehr kurzer Homozygotieabschnitte von beispielsweise fünf konsekutiven SNPs in einem Segment würde jedoch zu Überschätzungen der Inzucht führen, da solche Abschnitte auch zufällig auftreten könnten (Forutan et al. 2018). Die Ergebnisse der Inzuchtkoeffizientenberechnung nach Pedigree- und Genomdaten wurden anschließend über Pearson-Korrelation miteinander in Beziehung gesetzt. Die ROH wurden weiterhin dazu genutzt, Genomregionen aufzudecken, die unter besonderem positiven Selektionsdruck gestanden haben. Dazu wurde genomweite jeweils der Anteil Tiere abgebildet, der an einer Position ein ROH-Segment aufweisen kann. Damit ließ sich darstellen, in welchen Genomregionen besonders viele Tiere Reinerbigkeit aufwiesen. Ein weiterer Ansatz zur Untersuchung von Selektionssignaturen, der ohne das Hinzuziehen einer anderen Pferderasse als Vergleichsgruppe durchgeführt werden konnte, war der Fixation-Index nach Wright. Dafür wurden alle Anlageträger (Genotypen N/PSSM1 und PSSM1/PSSM1) mit Wildtypen (Genotyp N/N) verglichen. Zur Berechnung der  $F_{st}$ -Werte, welche die allelbasierte Differenzierung von (Sub-) Populationen anzeigen können, wurde der --fst-Befehl in PLINK 1.9 verwendet. Die Ergebnisse wurden anschließend mit R v. 3.6.2 in einem genomweiten Manhattanplot visualisiert und SNPs farblich hervorgehoben, die



den *GYS1*-Lokus flankieren (bis zu 4 Megabasen up- und downstream). Zur Untersuchung der Populationsstruktur wurde eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) in PLINK 1.9 anhand der SNP-Daten durchgeführt und anschließend in R v. 3.6.2 visualisiert.

### **3. Projektergebnisse**

#### **3.1. Einschätzung der Zielerreichung**

Das ursprüngliche Teilziel dieser Studie, herauszufinden, welchen Einfluss die Umwelteinflüsse auf die Symptomausprägung der PSSM1 positiven Pferde hat, konnte nicht erreicht werden, da bei den 178 Studientieren lediglich acht Pferde auszumachen waren, welche überhaupt Symptome zeigten, die sich mit PSSM1 in Verbindung bringen lassen. Dabei waren nur fünf dieser symptomatischen Pferde PSSM1 positiv und diese fünf hatten keine starken Symptome, sondern sehr unspezifische, welche sich auch durch andere Ursachen als PSSM1 begründen lassen könnten. Aufgrund dieser zu geringen verwertbaren Tierzahl, wurde nicht versucht den Einfluss der Haltung, Fütterung und Arbeit auf das Auftreten von Symptomen zu analysieren. Stattdessen wurde lediglich ein deskriptiver Überblick darüber gegeben werden, wie die Haltungsbedingungen der beprobten RDK im Durchschnitt der Population sind und kurz beschrieben werden, ob sich große Unterschiede zu den symptomatischen Pferden finden ließen.

#### **3.2. Hauptergebnisse des Projektes**

##### **3.2.1. Haltungsform**

Die Haltungsform war von Besitzer zu Besitzer unterschiedlich. Am weitesten verbreitet war die Haltung in der Einzelbox mit täglichem Freigang auf Weide oder den Paddock. Auch vertreten waren Offenställe und Laufställe. Aktivställe wurden von keinem der besuchten Züchter genutzt. In Tabelle 2 ist aufgeführt, welche Haltungsformen welchen Anteil in der Zucht haben, wieviel Platz den Tieren insgesamt in den Ausläufen, sowie Platz je Tier in einer Einzelbox zur Verfügung stehen und wie lange sie sich in dieser am Tag aufhalten.

**Tabelle 2: Durchschnittliche Aufenthaltsdauer in den unterschiedlichen Haltungssystemen pro Tag sowie deren Größe in Quadratmetern**

Haltungsform	Anteil Pferde in dieser Haltungsform N (%)	Haltungsdauer (h/d)		Größe des Haltungssystems (m <sup>2</sup> )	
		Min-Max	Mittelwert	Min-Max	Mittelwert
Weide	140 (87,5)	2-24	13,7	o.A.	o.A.
Paddock	74 (75,0)	1-16	5,8	90-7000	499,8
Einzelbox	80 (62,5)	4-24	13,8	7-47	15,2
Laufstall	64 (37,5)	1-24	11,8	17-117	79,1
Offenstall	12 (6,74)	4-16	10,0	12-300	119,0

o.A. – ohne Angabe, h = Stunde, d = Tag

Bei den symptomatischen Pferden gab es keine auffälligen Abweichungen in den Haltungssystemen oder den Zeitspannen, in welchen die symptomatischen Pferde gehalten wurden. 7/8 (87,5 %) dieser durften täglich zwischen zwei und 12 h auf die Weide, 6/8 (75 %) verbrachten zwischen zwei und 16 h in einem Paddock, welcher zwischen 225 und 7000 m<sup>2</sup> groß ist. In Einzelboxen, welche eine Größe zwischen 12 m<sup>2</sup> und 20m<sup>2</sup> aufweisen, verbringen 5/8 (62,5 %) der symptomatischen Equiden zwischen vier und 20 Stunden am Tag. Laufställe mit einer Größe von 100 m<sup>2</sup> - 117 m<sup>2</sup> wurden von 3/8 (37,5 %) dieser Tiere in einem täglichen Zeitraum zwischen 10 und 12 h genutzt.

### 3.2.2. Fütterung

Die Fütterung war ebenso betriebsindividuell wie die Haltung. Raufutter stand allen Equiden in Form von Heu zur Verfügung. Jedes Pferd hatte entweder Zugang zu einem Salz- oder Mineralleckstein. Vitaminfutter wurde nur sehr selten gefüttert, Sojaschrot und Mais überhaupt nicht.

Tabelle 3 zeigt auf wie viele Individuen der Population ein bestimmtes Futtermittel bekommen haben und in welchen Mengen.

**Tabelle 3: Einsatzhäufigkeit und Menge der eingesetzten Futtermittel**

Futtermittel	Einsatzhäufigkeit Futtermittel N (%)	Min-Max (kg)	Mittelwert (kg)
Heu	178 (100)	8,0-ad.l.	-
Heulage	92 (51,6)	4,0-ad.l.	-
Luzerne	2 (1,1)	0,2-2,0	1,1
Öl	20 (11,2)	0,01-0,1	0,03
Müsli	4 (2,2)	0,5-2,0	1,0
Mineralfutter	56 (31,4)	0,005-1,0	0,2
Vitaminfutter	2 (1,1)	0,03-0,10	0,06
Hafer	128 (71,9)	0,2-6,0	1,7
Gerste	10 (5,6)	2,0	2,0
Mais	-	-	-
Heucobs	5 (2,8)	1,5-2,0	1,6
Möhren/ Äpfel	19 (10,6)	0,2-10,0	3,0
Rübenschnitzel	17 (9,5)	0,5-4,0	1,2
Salzleckstein	61 (34,2)	ad.l.	ad.l.
Sojaschrot	-	-	-
Stroh	27 (15,1)	7,0	7,0
Leinschrot	8 (4,4)	0,01-0,2	0,1
Mischfutter/ Pellets	3 (1,6)	0,2-0,5	0,3

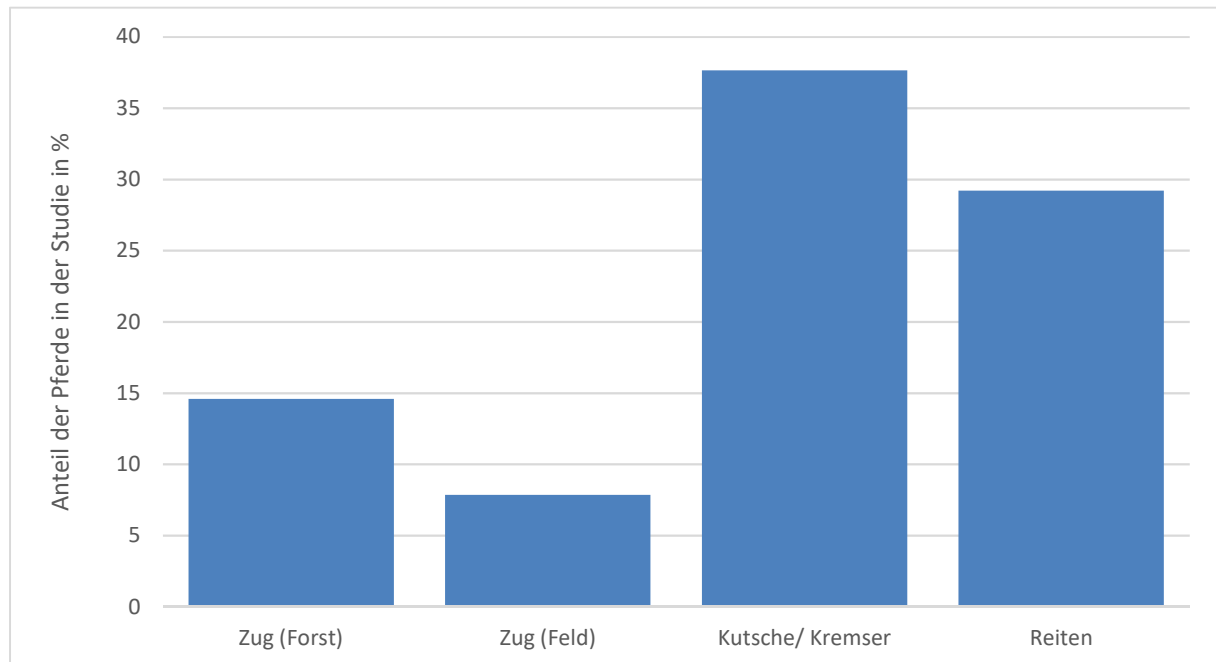
ad.l. – ad libitum (zur freien Verfügung)

Von den symptomatischen Pferden bekamen alle täglich Heu, 5/8 (62,5 %) zwischen 0,5 und 1,5 kg Hafer, 3/8 (37,5 %) bekamen 90 g Mineralfutter, 2/8 (25%) 7 kg Heulage und 1/8 (12,5 %) bekamen täglich 0,2 kg Luzerne, 28 g Vitaminfutter, 1,5 kg Heucobs und 20 g Leinschrot und 100 ml Leinöl.

Die weitere Auswertung der Fütterungsfrequenzen, sowie die Analyse der Futtermittelhersteller konnte aufgrund der wenigen symptomatischen Pferde keine statistische Auswertung durchgeführt werden.

### 3.2.3. Arbeit

Wie in **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** zu sehen ist, liegt der aktuelle Nutzungsschwerpunkt der RDK bei Kutsch- und Kremserfahrten. Mit 67/178 (37,6 %) Kutsch- und Kremseefahrten und 52/178 (29,2 %) Reiten werden die Pferde hierfür mehr als 3-mal so häufig eingesetzt als für die klassischen Zugarbeiten.



**Abbildung 1: Häufigkeit unterschiedlicher Arbeitsformen der Rheinisch-Deutschen Kaltblüter (Angaben in %)**

Tabelle 4 zeigt die ausgeführten Arbeiten, die Häufigkeit jener pro Woche und Dauer in Stunden pro Tag an.

**Tabelle 4: Art, Häufigkeit und Dauer der verrichteten Arbeit der beprobten Population**

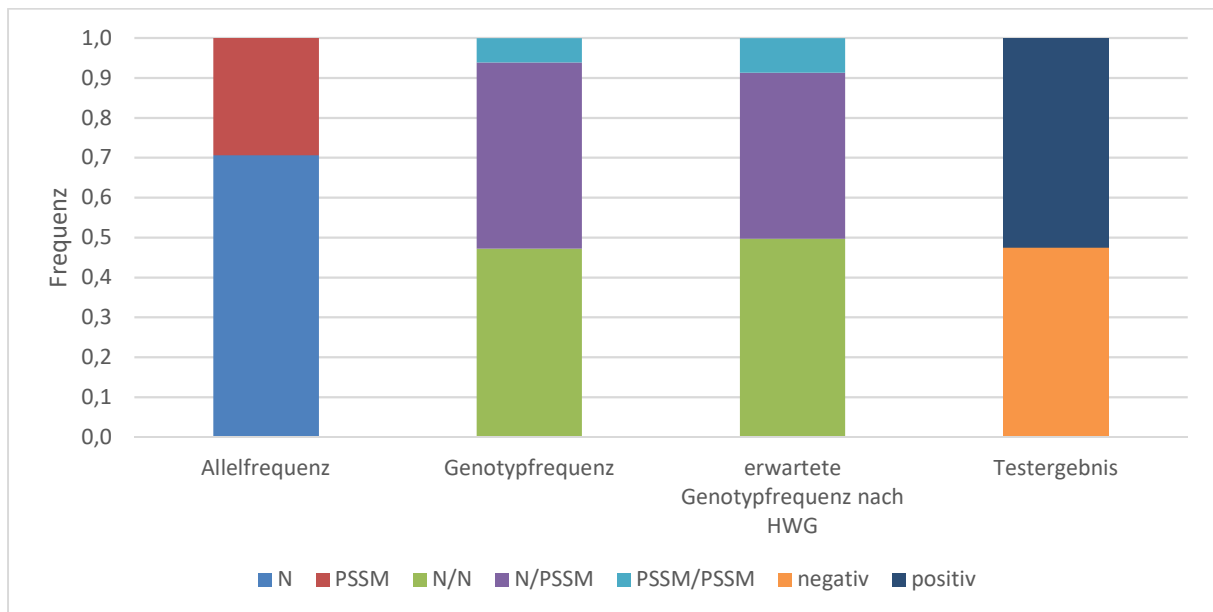
<b>Arbeitsform</b>		<b>Min-Max</b>	<b>Mittelwert</b>
Zug (Forst)	Tage/ Woche	0,5-6,0	1,4
	Stunden/ Tag	1,0-6,0	3,3
Zug (Feld)	Tage/ Woche	0,2-7,0	1,8
	Stunden/ Tag	1,0-5,0	2,7
Kutsche/ Kremser	Tage/ Woche	0,2-5,0	2,0
	Stunden/ Tag	1,0-8,0	2,6
Reiten	Tage/ Woche	0,2-7,0	2,7
	Stunden/ Tag	0,50 -5,00	1,70

Der auffälligste Unterschied, der bei den symptomatischen Pferden im Vergleich zur Gesamtpopulation heraussticht, ist die fehlende Zugarbeit. Keines dieser RDK wird für Forst oder Feldarbeit eingesetzt. 3/8 (37,5 %) ziehen einmal pro Woche zwischen zwei und drei Stunden eine Kutsche bzw. Kremser und 4/8 (50 %) der Pferde mit Krankheitsanzeichen wurden zwischen einem und zweieinhalbmal in der Woche für 0,5-2 h zum Reiten genutzt. Aufgrund der geringen Anzahl an symptomatischen Pferden konnte kein Einfluss der Arbeit, weder Frequenz noch Intensität, auf das Auftreten der klinischen Symptome ermittelt werden.

### **3.2.4. Gruppenvergleich der Allel- und Genotypfrequenzen sowie Anlageträgerschaft**

#### ***Gesamtpopulation***

Die Abbildung 2 stellt die Verteilung der Genotypen und die Allelfrequenz der Gesamtpopulation dar. Die Anlageträger entsprechen der Summe der Genotypen N/PSSM und PSSM/PSSM, also 52,8%. Der Anteil der Wildtypen entspricht 47,2 %.



**Abbildung 2: Allel-, Genotypfrequenz, erwartete Genotypfrequenz nach Hardy-Weinberg Gesetz und Anlageträgerschaft der Zuchtpopulation**

N = Allel N (Frequenz des nicht mutierten GYS1 Allels), PSSM = Allel PSSM (Frequenz des mutierten GYS1 Allels), N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger erwartete Genotypfrequenz nach HWG = erwartete Genotypfrequenz nach Hardy-Weinberg Gesetz (aus der Allelfrequenz errechnete Genotypfrequenz); Testergebnis = Ergebnis des Gentests auf das mutierte GYS1 Allel, negativ = Wildtyp, positiv = Anlageträger

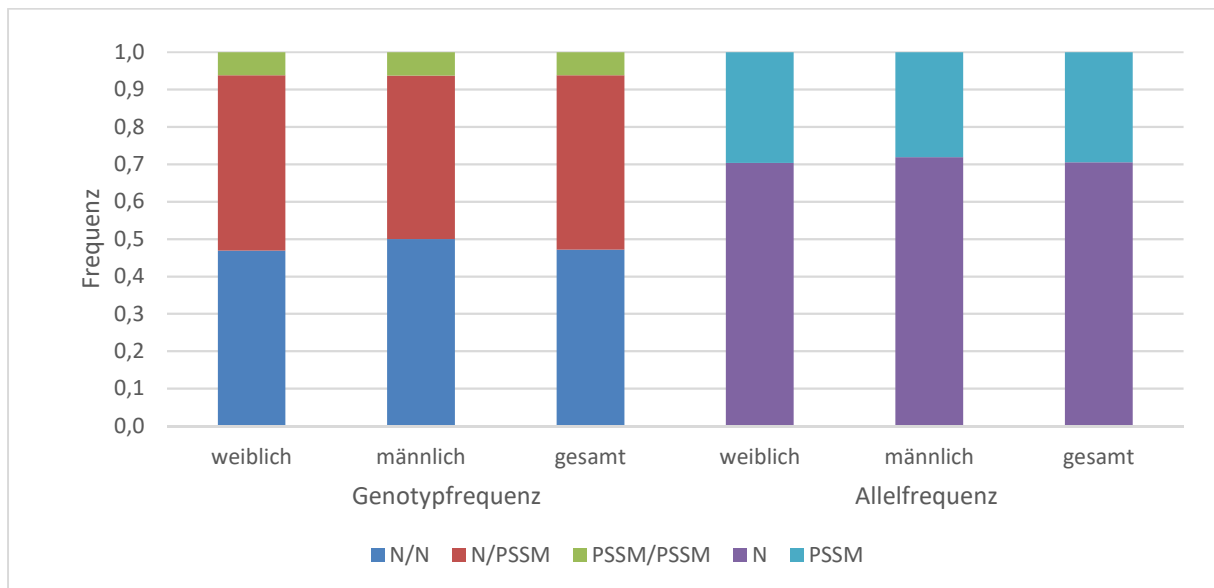
Die Anlageträger waren zu 84/94 (89,3 %) heterozygot positiv auf das PSSM1 Allel und 10/94 (10,6 %) homozygot.

Bei den Pferden, welche Symptome aufwiesen, entsprachen 3/8 (37,5 %) dem Wildtypen, 4/8 (50 %) wiesen einen heterozygoten und 1/8 (12,5 %) einen homozygoten Genotyp auf. Daraus ergibt sich bei den Anlageträgern ein Anteil von 4/5 (80,0 %) Einfachträgern und 1/5 (20,0 %) Doppelträgern.

Die nach dem Hardy-Weinberg Gesetz berechneten Genotypfrequenzen unterscheiden sich nicht signifikant von den tatsächlichen Genotypfrequenzen ( $p = 0,800$ ).

## **Geschlecht**

Wie in Abbildung 3 deutlich wird, ist im Genotyp kein signifikanter Gruppenunterschied nach Geschlecht beobachtbar.



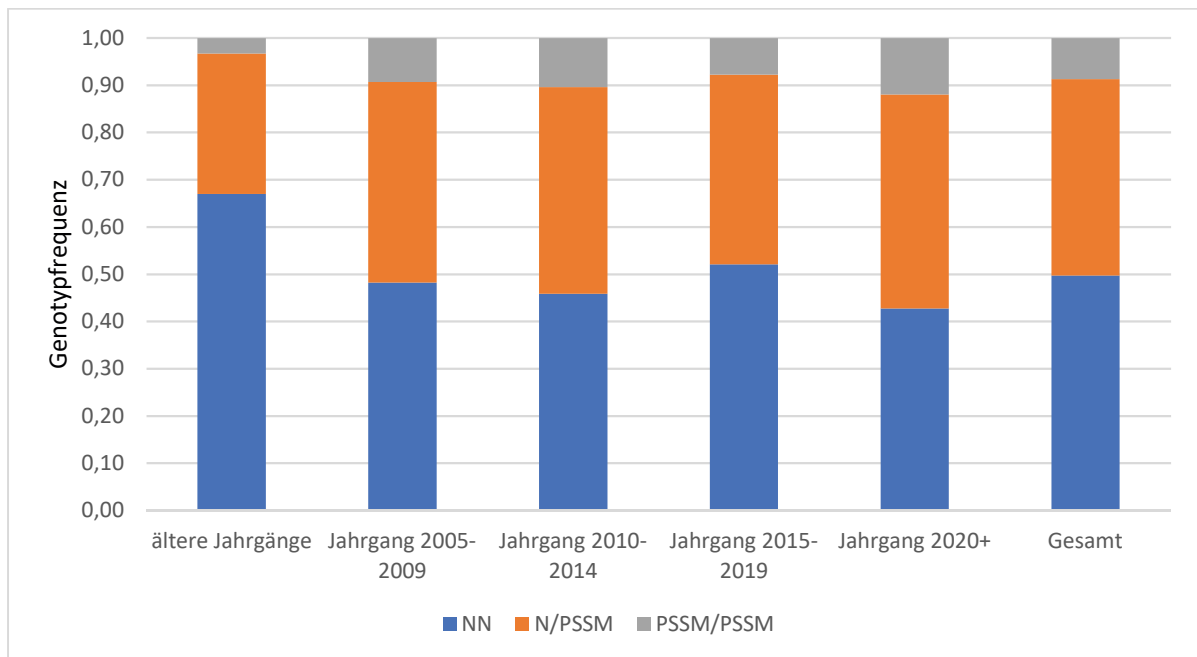
**Abbildung 3: Verteilung der Genotypen und Allelfrequenzen auf die Geschlechter (Genotyp:  $p=0.970$ )**

N = Allel N (Frequenz des nicht mutierten GYS 1 Allels), PSSM = Allel PSSM (Frequenz des mutierten GYS 1 Allels), N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger

So wie 162/178 (91 %) aller beprobten Pferde waren alle symptomatischen Pferde weiblichen Geschlechts. Auch die Anlageträgerschaft zeigte keine signifikanten Gruppenunterschiede bei den Geschlechtern ( $p = 0,813$ ).

### ***Einfluss Alter***

In Abbildung 4 ist die Genotypfrequenz unterschiedlicher Geburtsjahrgänge aufgezeigt.



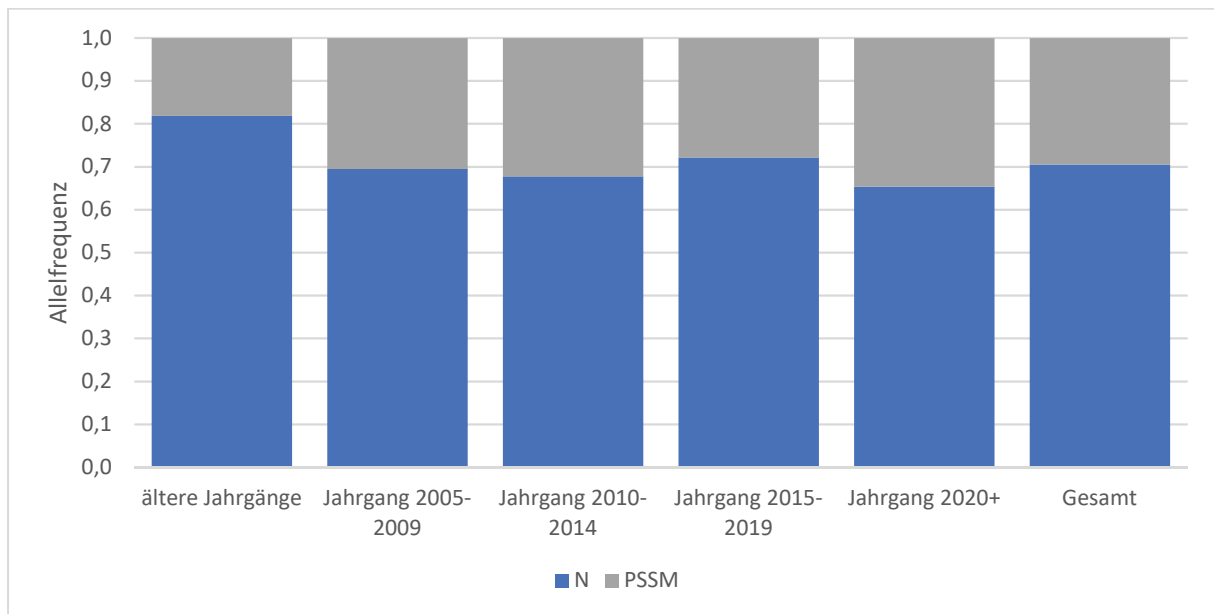
**Abbildung 4: Genotypfrequenz unterschiedlicher Geburtsjahrgänge (Genotyp:  $p=0,762$ )**

N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger)

Ebenso zeigen sich in Bezug auf die Anlageträgerschaft keine statistisch relevanten Gruppenunterschiede in den verschiedenen Geburtsjahrgängen ( $p = 0,672$ ).

Die berechneten Allelfrequenzen der Geburtszeiträume sind in Abbildung 5 zu sehen.





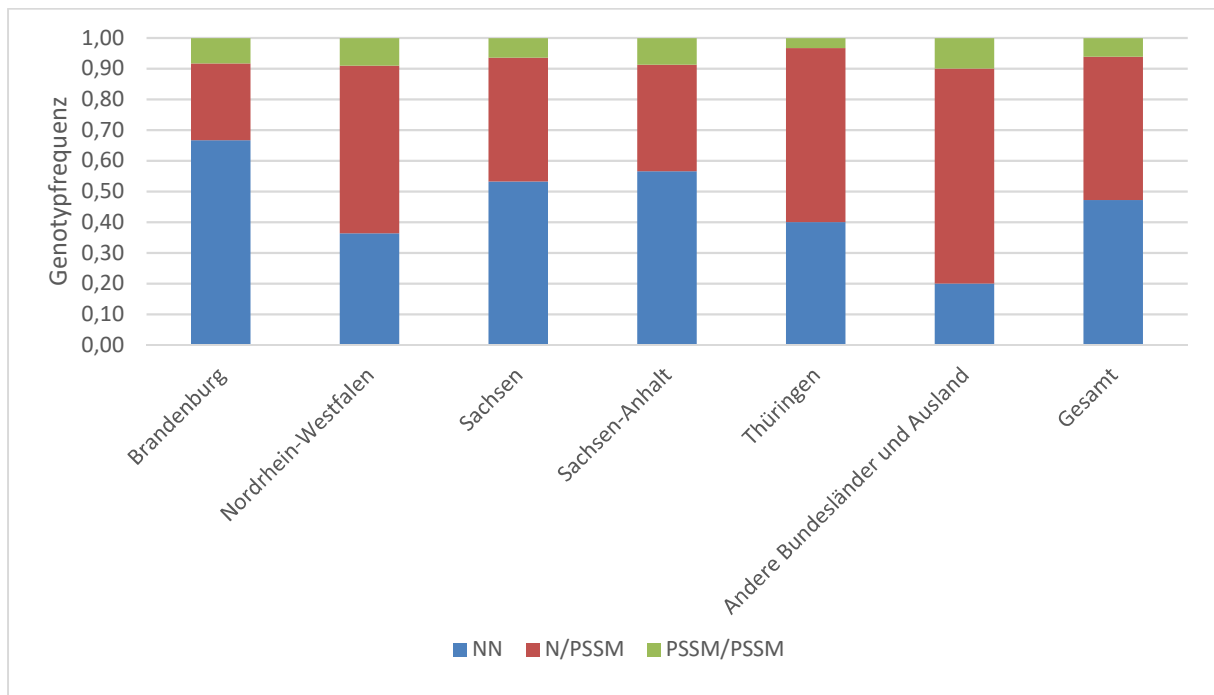
**Abbildung 5: Allelfrequenzen in unterschiedlichen Geburtszeiträumen**

N = Allel N (Frequenz des nicht mutierten GYS 1 Allels), PSSM = Allel PSSM (Frequenz des mutierten GYS 1 Allels)

Die symptomatischen Pferde hatten ein Durchschnittsalter von 9,3 Jahren. Die symptomatischen Pferde, die tatsächlich ein positives Testergebnis auf PSSM1 besitzen, hatten ein Durchschnittsalter von 8,4 Jahren, während das Durchschnittsalter der gesamten Stichprobe 8,8 Jahre entspricht.

### ***Herkunft***

Bei der Genotypfrequenz war kein statistisch belegbarer Gruppenunterschied bei unterschiedlichen Herkünften der Equiden festzustellen (Abbildung 6).

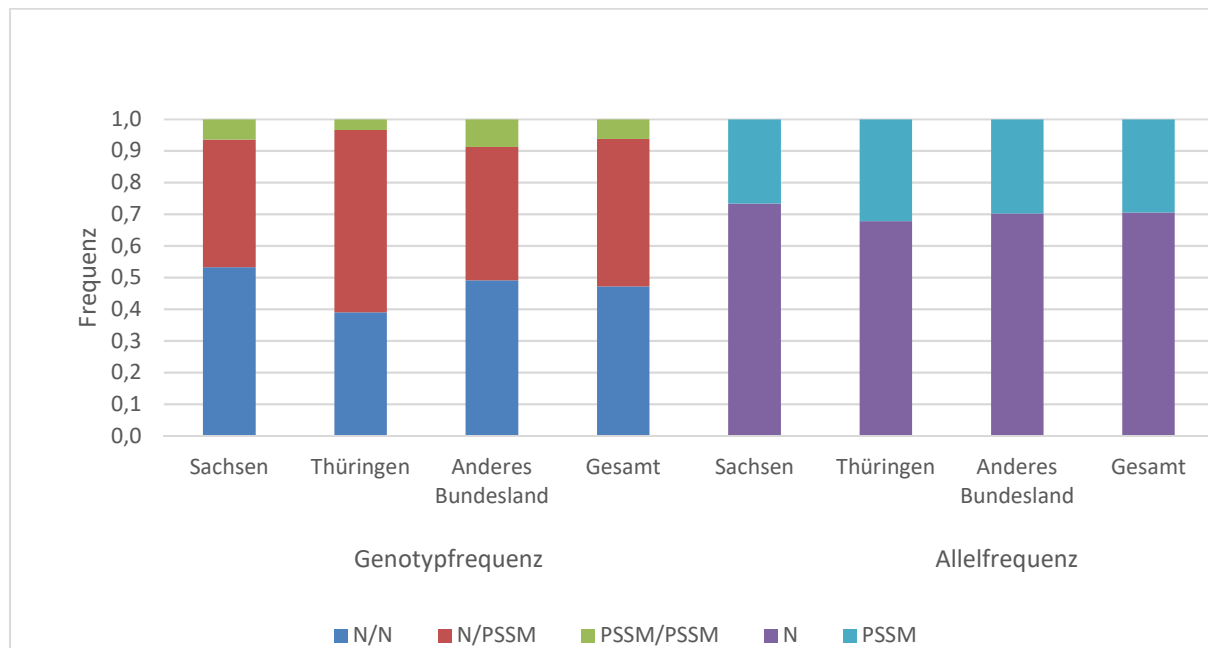


**Abbildung 6: Verteilung der unterschiedlichen Genotypen im Bundesland der Geburt (Genotyp:  $p=0,363$ )**

N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger

Auch der Gruppenunterschied zwischen den Wildtypen und den Anlageträgern war nicht signifikant ( $p = 0,142$ ).

Ebenfalls traten keine signifikanten Unterschiede in Genotyp oder Allelfrequenz bei einer alternativen Kategorisierung der Bundesländer auf ( $p = 0,337$ ) (Abbildung 7).

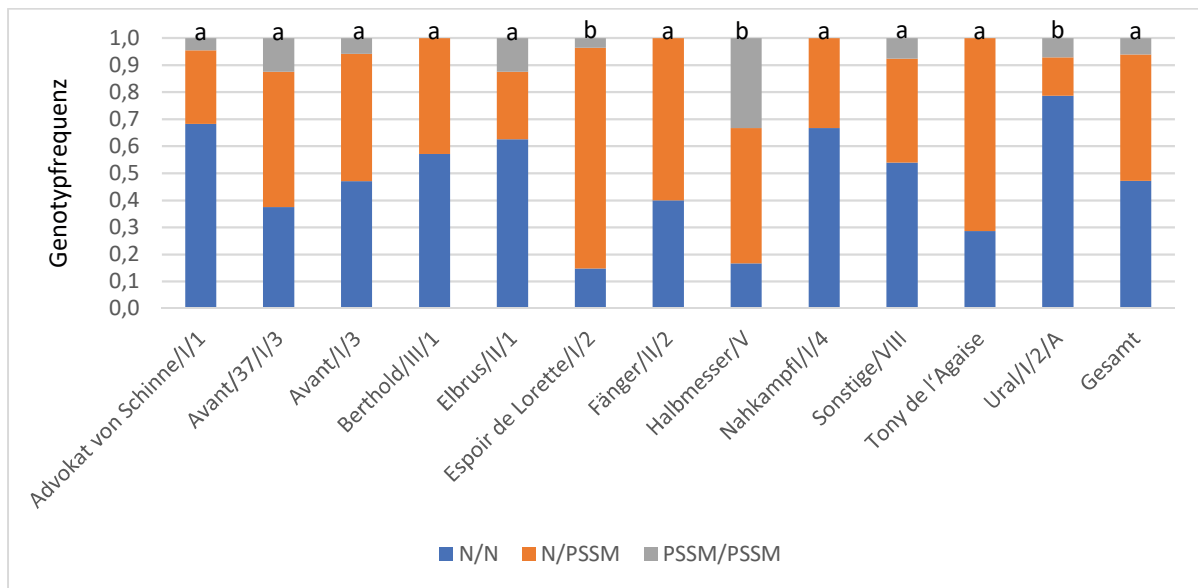


**Abbildung 7: Allel- und Genotyp Frequenzen für Sachsen, Thüringen und andere Bundesländer (Genotyp:  $p=0,328$ )**

N = Allel N (Häufigkeit des nicht mutierten GYS 1 Allels), PSSM = Allel PSSM (Frequenz des mutierten GYS 1 Allels), N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger

### ***Hengstlinien***

In der nachfolgenden Abbildung 8 sind die Genotypen der unterschiedlichen Hengstlinien dargestellt.

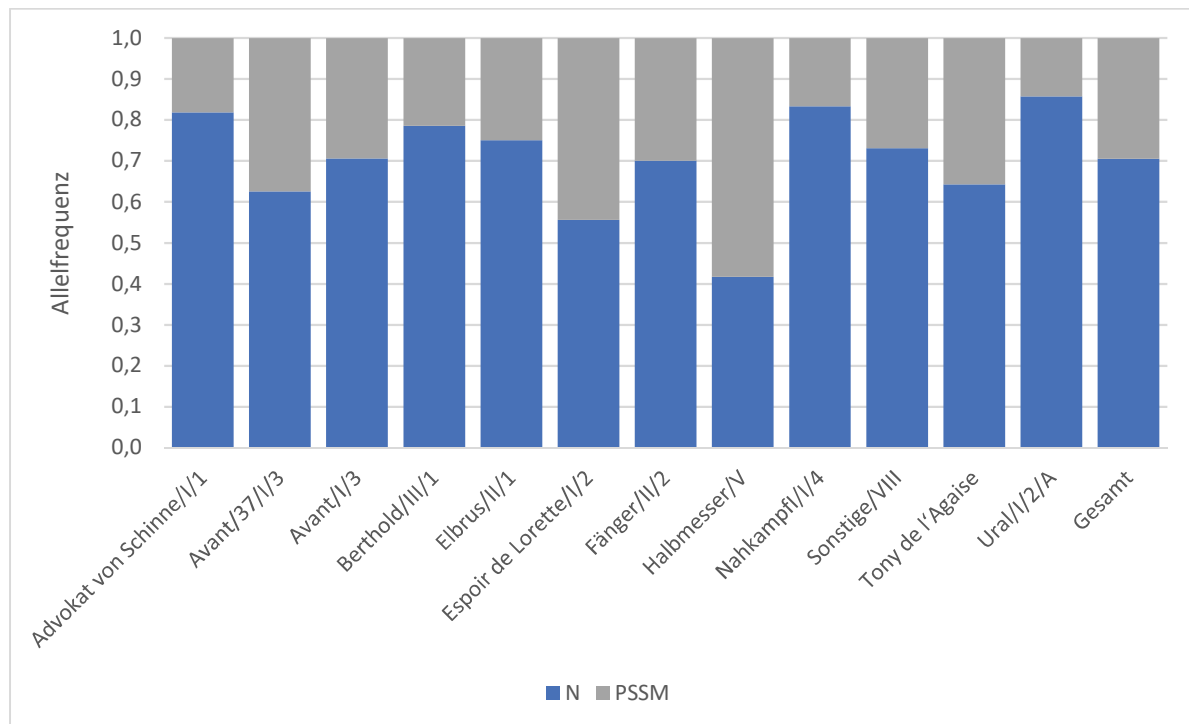


**Abbildung 8: Genotypen der unterschiedlichen Hengstlinien (Genotyp:  $p=0,013$ ,  $w=0,482$ )**

N/N = Wildtyp, N/PSSM = heterozygoter Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygoter Anlageträger; a, b – unterschiedliche Indizes kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen innerhalb der Gesamtstichprobe

Ebenso zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Anlageträgern und den Wildtypen. Hier entspricht der  $p$ -Wert = 0,005 und hat eine mittlere Effektstärke von  $w = 0,399$ . Die Hengstlinien, welche sich signifikant unterschieden, sind Advokat von Schine/I/1, Espoir de Lorette/I/2 und Ural/I/2/A.

Die berechneten Allelfrequenzen für die jeweiligen Hengstlinien sind in Abbildung 9 dargestellt.



**Abbildung 9: Allelfrequenzen der unterschiedlichen Hengstlinien**

N = Allel N (Häufigkeit des nicht mutierten GYS 1 Allels), PSSM = Allel PSSM (Frequenz des mutierten GYS 1 Allels)

Pferde, die eine auf PSSM1 hindeutende Krankheitsgeschichte aufwiesen (drei Wildtypen inkludiert), stammten jeweils zu 2/8 (25 %) von der Hengstlinie Espoir de Lorette//I//2 und Sonstige/VIII und zu jeweils 1/8 (12,5 %) von der Hengstlinie Advokat von Schinne//I//1, Avant//I//3, Fänger//II//2 und einer unbekanntem Linie ab.

Symptomatische Anlageträger stammen zu 2/5 (40 %) von der Hengstlinie Espoir de Lorette//I//2 ab und zu jeweils 1/5 (20 %) von Advokat von Schinne//I//1, Avant//I//3 und Fänger//II//2 ab. Jedoch war dieses Ergebnis zu erwarten, da es sich um eine genetische Eigenschaft handelt, welche autosomal vererbt wird und die Anlageträgerschaft vom Genotypen beider Eltern abhängt.

### 3.2.5. Beziehung der GYS1 Mutation zu den Leistungsparametern

#### **Einfacher Datensatz**

Die folgende Tabelle 5 zeigt eine Gegenüberstellung der Leistungsprüfungsergebnisse der PSSM1-positiven und PSSM1-negativen Pferde, sowie die vom Mann-Whitney-U-Test ausgegebene Signifikanz von allen beprobten Pferden zu denen Leistungsprüfungsdaten zur Verfügung standen.

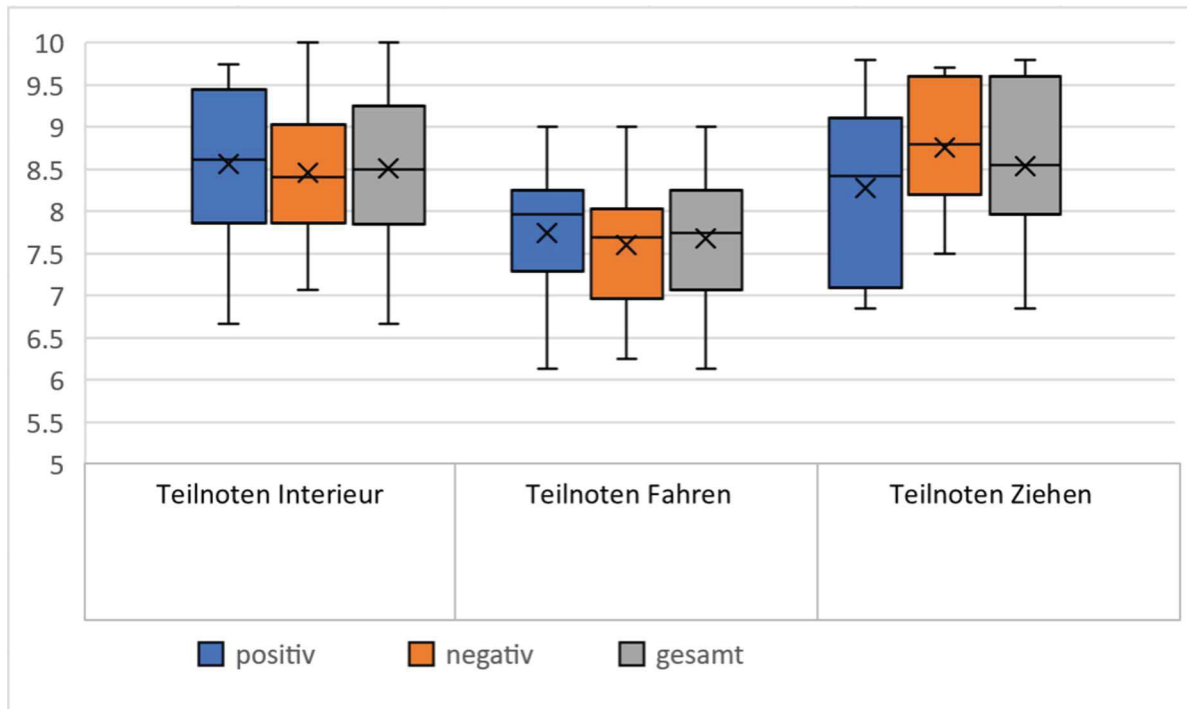
**Tabelle 5: Leistungsprüfungsergebnisse getrennt nach Anlageträgern und Wildtypen der beprobten Pferde**

Bewertungskriterium	Testergebnis	N	Mittelwert	Min-Max	p-Wert
Gesamtnote	positiv	16	8,2	6,8-9,2	0,111
	negativ	26	7,8	5,1-9,6	
	gesamt	42	7,9	5,1-9,6	
Teilnoten Interieur	positiv	15	8,5	6,6-9,7	0,856
	negativ	18	8,5	7,0-10,0	
	gesamt	33	8,5	6,6-10,0	
Teilnoten Fahren	positiv	15	7,8	6,1-9,0	0,415
	negativ	18	7,6	6,2-9,0	
	gesamt	33	7,7	6,1-9,0	
Teilnoten Ziehen	positiv	8	8,2	6,8-9,8	0,515
	negativ	10	8,7	7,5-9,7	
	gesamt	18	8,5	6,8-9,8	
Prüfung Fahren Schritt	positiv	16	7,6	5,5-9,0	0,976
	negativ	22	7,6	6,0-9,5	
	gesamt	38	7,6	5,5-9,5	
Prüfung Fahren Trab	positiv	16	7,9	6,5-9,5	0,323
	negativ	22	7,6	6,0-9,5	
	gesamt	38	7,7	6,0-9,5	
Prüfung Fahrenlage	positiv	10	8,0	5,0-9,0	0,508
	negativ	14	7,8	5,5-10,0	
	gesamt	24	7,9	5,0-10,0	
Prüfung Fahrenlage Fremdfahrer	positiv	13	7,7	7,0-9,5	0,847
	negativ	17	7,7	6,0-10,0	
	gesamt	30	7,7	6,0-10,0	

Fortsetzung Tab. 5

Prüfung Schwerer Zug Schlitten Verhalten und Umgänglichkeit beim Anspannen	positiv	10	8,5	6,0-9,5	0,886
	negativ	14	8,2	5,0-10,0	
	gesamt	24	8,3	5,0-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Arbeitswilligkeit	positiv	13	9,0	8,0-10,0	0,805
	negativ	17	9,0	8,0-10,0	
	gesamt	30	9,0	8,0-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Zugmanier	positiv	13	8,8	7,5-10,0	0,798
	negativ	17	8,6	7,0-10,0	
	gesamt	30	8,7	7,0-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Schritt	positiv	13	8,4	6,5-10,0	0,384
	negativ	17	8,1	6,0-10,0	
	gesamt	30	8,2	6,0-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Ver- halten und Umgänglichkeit beim Anspannen	positiv	10	9,0	7,5-10,0	0,508
	negativ	14	8,7	6,0-10,0	
	gesamt	24	8,8	6,0-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Ner- venstärke	positiv	13	8,6	7,0-10,0	0,408
	negativ	17	8,3	7,0-10,0	
	gesamt	30	8,4	7,0-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Rückemanier	positiv	13	8,5	6,5-10,0	0,268
	negativ	17	8,1	7,0-10,0	
	gesamt	30	8,3	6,5-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Schritt	positiv	13	8,5	6,5-10,0	0,642
	negativ	17	8,3	6,5-10,0	
	gesamt	30	8,4	6,5-10,0	

Keine der Teilnoten, die bei der Leistungsprüfung erhoben werden, zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Anlageträgern und den Wildtypen (Abbildung 10).



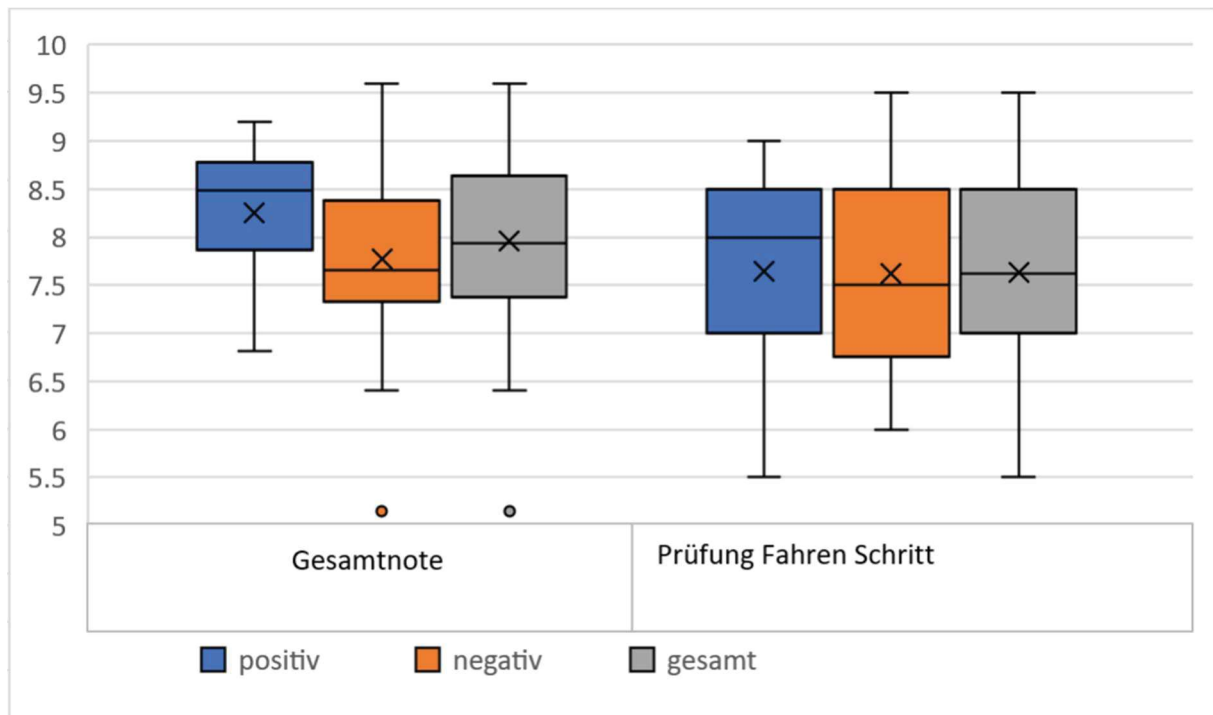
**Abbildung 10: Teilnoten der Leistungsprüfung der Anlageträger und der Wildtypen**

positiv = Anlageträger (Genotyp N/PSSM+ PSSM/PSSM), negativ = Wildtyp (Genotyp N/N) (Teilnoten Interieur:  $p=0,856$  ; Teilnoten Fahren:  $p=0,415$ ; Teilnoten Ziehen:  $p=0,515$ )

„Teilnoten Ziehen“ ist das einzige Merkmal, bei dem sowohl der Median als auch der Mittelwert beim Wildtypen besser abschneidet als bei den Anlageträgern. Beim Median beträgt der Unterschied lediglich 0,13 Notenpunkte, im Mittelwert handelt es sich um einen Unterschied von 0,47 Notenpunkten. Es ist jedoch auch hier keine statistische Signifikanz zu erkennen, da der p-Wert 0,515 beträgt und die Stichprobengröße mit  $N = 18$  die kleinste ist. In den anderen beiden Teilnoten erreichten die Anlageträger sowohl im Mittelwert als auch im Medianwert eine leicht bessere Note. In der „Teilnote Interieur“ entspricht der Unterschied in der Bewertung im Mittelwert 0,04 und im Medianwert 0,20 und in der Rubrik „Teilnoten Fahren“ 0,17 im Mittelwert und der Median weist eine Differenz von 0,31 Notenpunkten auf. Beide Gruppenunterschiede waren nicht signifikant.

In der Abbildung 11 ist Gesamtnote und das Leistungsmerkmal „Prüfung Fahren Schritt“ als Box-Whisker-Plot dargestellt. Auch diese Rubriken zeigen keine signifikanten Unterschiede.





**Abbildung 11: Box-Whisker-plots zur Darstellung der Gesamtnote Leistungsprüfungsergebnisse ( $p=0,111$ ) sowie des Leistungsmerkmals „Prüfung Fahren Schritt“ ( $p=0,976$ )**

positiv = Anlageträger (Genotyp N/PSSM+ PSSM/PSSM), negativ = Wildtyp (Genotyp N/N)

Die Gesamtnote ist die Note, welche mit  $p=0,111$  den niedrigsten  $p$ -Wert in diesem Datensatz aufweist. Jedoch reicht dieser Wert nicht aus, um eine Abhängigkeit vom Genotyp statistisch zu belegen. Anlageträger erreichten in der Gesamtnote einen Mittelwert von 8,22 und Wildtypen einen Mittelwert von 7,80 Notenpunkten.

Bei dem Leistungsmerkmal „Prüfung Fahren Schritt“ erreichten die positiv auf das mutierte *GYS1* getestete Allele eine durchschnittliche Wertung von 7,59 und die Wildtypen von 7,63. Zwischen den Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied ( $p=0,976$ ). Bei diesem Merkmal liegt der Durchschnittswert beim Wildtypen höher als bei dem des Anlageträgers, jedoch ist der Median bei den PSSM1-positiv getesteten Pferden um 0,12 Notenpunkte besser.

Alle anderen nicht im Detail beschriebenen Leistungsprüfungsmerkmale zeigten ebenfalls keine signifikanten Gruppenunterschiede und wiesen durchgehend bei den Anlageträgern im Mittelwert eine minimal bessere Bewertung auf und einen gleichen oder dezent höheren Medianwert als bei den Wildtypen.

## Erweiterter Datensatz

Wird der Datensatz um weitere Tiere aus anderen Zuchtgebieten Deutschlands mit bekanntem Genotyp erweitert und mit Leistungsprüfungsdaten früherer Leistungsprüfungen abgeglichen, kann dadurch die Tieranzahl pro Leistungsmerkmal erhöht werden. Dies ermöglicht die Auswertung dreier weiterer Leistungsprüfungsrubriken. Dargestellt ist dies in **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden..** In diesem Datensatz findet sich keine Rubrik mehr, in der die negativ auf PSSM1 getesteten Tiere einen besseren Medianwert haben als die positiv getesteten. Die Anlageträger weisen in allen Teilnoten einen gleichgroßen bis höheren Medianwert auf.

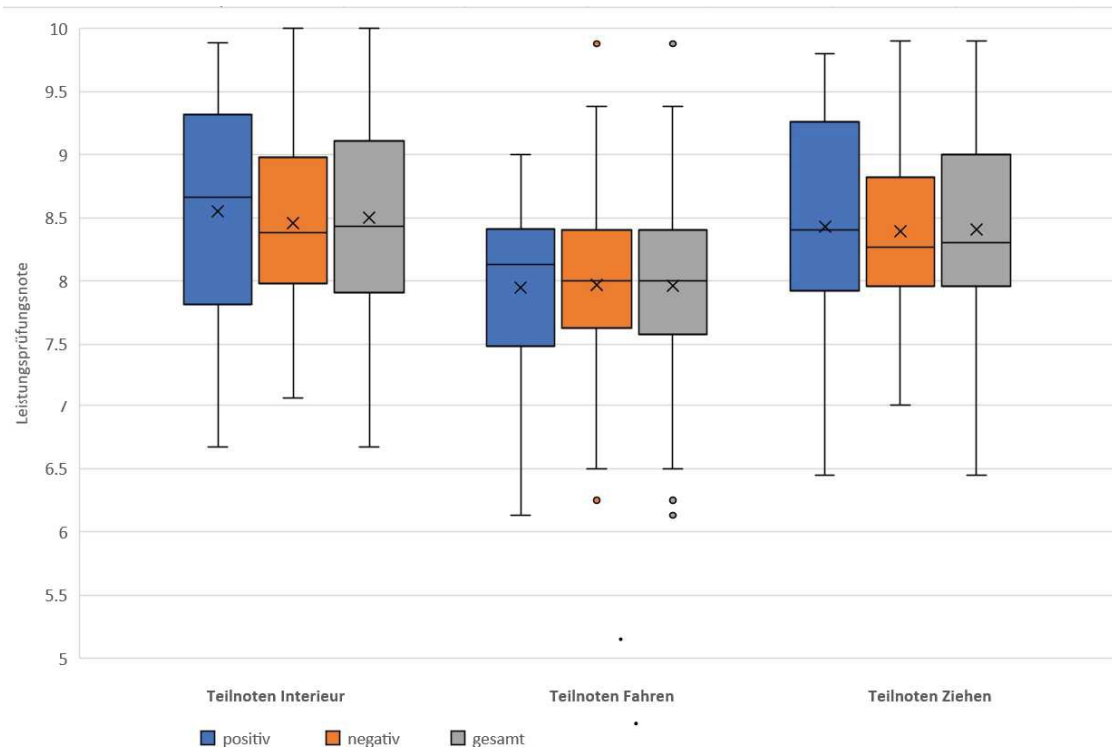
**Tabelle 6: Leistungsprüfungsergebnisse getrennt nach Anlageträgern und Wildtypen der beprobten Pferde um zusätzliche Individuen mit erweitert**

Prüfkriterium	Anlagestatus PSSM1	N	Mittelwert	Min – Max	p-Wert
Gesamtnote	positiv	36	8,2	6,8-9,2	0,136
	negativ	55	8,0	5,1-9,6	
	gesamt	91	8,1	5,1-9,6	
Teilnoten Interieur	positiv	32	8,5	6,7-9,9	0,500
	negativ	43	8,5	7,1-10,0	
	gesamt	75	8,5	6,7-10,0	
Teilnoten Fahren	positiv	32	7,95	6,1-9,0	0,919
	negativ	43	7,8	6,2-9,9	
	gesamt	75	8,0	6,1-9,9	
Teilnoten Ziehen	positiv	24	8,4	6,4-9,8	0,700
	negativ	28	8,4	7,0-9,9	
	gesamt	52	8,4	6,4-9,9	
Training Fahren Trab	positiv	8	7,3	6,5-7,5	0,857
	negativ	10	7,2	6,0-8,0	
	gesamt	18	7,2	6,0-8,0	
Training Fahren Schritt	positiv	8	6,9	6,0-7,5	0,551
	negativ	10	7,3	6,5-8,5	
	gesamt	18	7,1	6,0-8,5	
Prüfung Fahren Schritt	positiv	34	7,9	5,5-9,5	0,725
	negativ	49	7,9	6,0-10,0	
	gesamt	83	7,9	5,5-10,0	

Fortsetzung Tab. 6

Prüfung Fahren Trab	positiv	34	8,0	6,0-10,0	0,587
	negativ	49	7,8	6,0-10,0	
	gesamt	83	7,9	6,0-10,0	
Prüfung Fahrenlage	positiv	24	8,1	5,0-9,5	0,524
	negativ	37	8,1	5,5-10,0	
	gesamt	61	8,1	5,0-10,0	
Prüfung Fahrenlage Fremdfahrer	positiv	27	8,1	7,0-9,5	0,859
	negativ	41	8,2	6,0-10,0	
	gesamt	68	8,2	6,0-10,0	
Prüfung Fahren Fahrtauglichkeit	positiv	7	7,2	6,2-8,5	0,448
	negativ	8	6,8	5,8-8,0	
	gesamt	15	7,0	5,8-8,5	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Verhalten und Umgänglichkeit beim Anspannen	positiv	24	8,6	6,0-10,0	0,407
	negativ	37	8,3	5,0-10,0	
	gesamt	61	8,4	5,0-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Arbeitswilligkeit	positiv	27	8,9	7,5-10,0	0,5
	negativ	41	8,7	7,0-10,0	
	gesamt	68	8,8	7,0-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Zugmanier	positiv	27	8,7	6,5-10,0	0,452
	negativ	41	8,4	6,5-10,0	
	gesamt	68	8,5	6,5-10,0	
Prüfung Schwerer Zug Schlitten Schritt	positiv	27	8,4	6,0-10,0	0,139
	negativ	41	8,0	6,0-10,0	
	gesamt	68	8,1	6,0-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Verhalten und Umgänglichkeit beim Anspannen	positiv	24	9,0	7,5-10,0	0,069
	negativ	37	8,6	6,0-10,0	
	gesamt	61	8,7	6,0-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Nervenstärke	positiv	27	8,8	7,0-10,0	0,186
	negativ	41	8,4	6,5-10,0	
	gesamt	68	9,7	6,5-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Rückemanier	positiv	27	8,6	6,5-10,0	0,144
	negativ	41	8,3	7,0-10,0	
	gesamt	68	8,4	6,5-10,0	
Prüfung Schwachholzziehen Schritt	positiv	27	8,6	6,5-10,0	0,147
	negativ	41	8,1	6,0-10,0	
	gesamt	68	8,3	6,0-10,0	

Auch im erweiterten Datensatz bestanden keine statistisch signifikanten Gruppenunterschiede für die Einzelmerkmale. Die Teilnoten, die in der Leistungsprüfung bewertet wurden, sind in Abbildung 12 dargestellt.



**Abbildung 12: Teilnoten der Leistungsprüfung der Anlageträger und der Wildtypen**

positiv = Anlageträger (Genotyp N/PSSM+ PSSM/PSSM), negativ = Wildtyp (Genotyp N/N) (Teilnoten Interieur: p=0,500 ; Teilnoten Fahren: p=919; Teilnoten Ziehen: p=0,700)

Die „Teilnoten Fahren“ ist eines von den drei Teilnoten der Leistungsprüfung, in dem die Wildtypen mit einem Unterschied von 0,02 einen dezent besseren Notendurchschnitt erreichten. Der Medianwert liegt jedoch bei den PSSM1 positive Equiden 0,13 höher als bei den negativ getesteten.

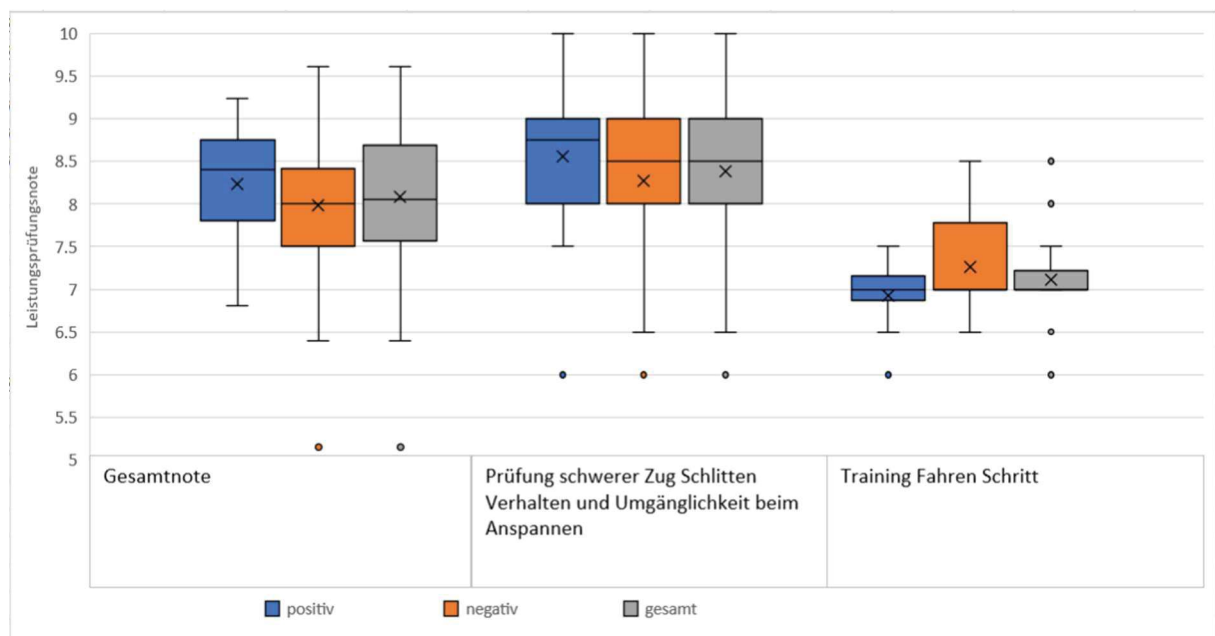
In den „Teilnoten Interieur“ und „Teilnoten Ziehen“ liegen sowohl der Mittelwert (um 0,09 und um 0,04) sowie der Medianwert der Leistungsprüfungsnote (um 0,28 und um 0,14) in der Gruppe der Anlageträger höher als bei den Wildtypen.

In **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** ist die Gesamtnote dargestellt, in welcher die Anlageträger im Mittelwert einen Notenvorsprung von 0,23 Punkten beträgt und im Median von 0,38. Der Gruppenunterschied ist mit p-Wert = 0,136 nicht statistisch signifikant.

„Prüfung schwerer Zug Schlitten Verhalten und Umgänglichkeit beim Anspannen“ ist das einzige betrachtete Leistungsprüfungsmerkmal, bei dem eine leichte Signifikanz

( $p < 0,1$ ) abzulesen ist. Auch hier haben die Anlageträger einen leicht besseren Notendurchschnitt von 0,45 und Medianwert von 0,25 Notenpunkten.

Das Leistungsmerkmal „Training Fahren Schritt“ ist eine von drei Rubriken, in der die Wildtypen im Durchschnitt eine bessere Note erzielten als die PSSM1 positiven Pferde. Hier entspricht der Unterschied 0,34 Notenpunkte. Die anderen beiden Leistungsmerkmale, in denen die Wildtypen überlegen waren, waren „Prüfung Fahrenlage Fremdfahrer“ mit einem p-Wert von 0,859 und „Teilnoten Fahren“ mit einem p-Wert von 0,919 und wiesen lediglich einen durchschnittlichen Notenunterschied von 0,02 auf.



**Abbildung 13: Gesamtnote der Leistungsprüfungsergebnisse sowie die Teilnote „Prüfung schwerer Zug Schlitten Verhalten“ und „Umgänglichkeit beim Anspannen und Training Fahren Schlitten“**

N/N = Wildtypen, N/PSSM = heterozygote Anlageträger, PSSM/PSSM = homozygote Anlageträger

In keinem der Leistungsmerkmale des erweiterten Datensatzes erreichten die Wildtypen einen höheren Medianwert als die Anlageträger und keines der Leistungsmerkmale weist einen statistisch signifikanten Unterschied auf.

### 3.2.6. Populationsanalyse beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut anhand von Pedigrees und genomischen Daten

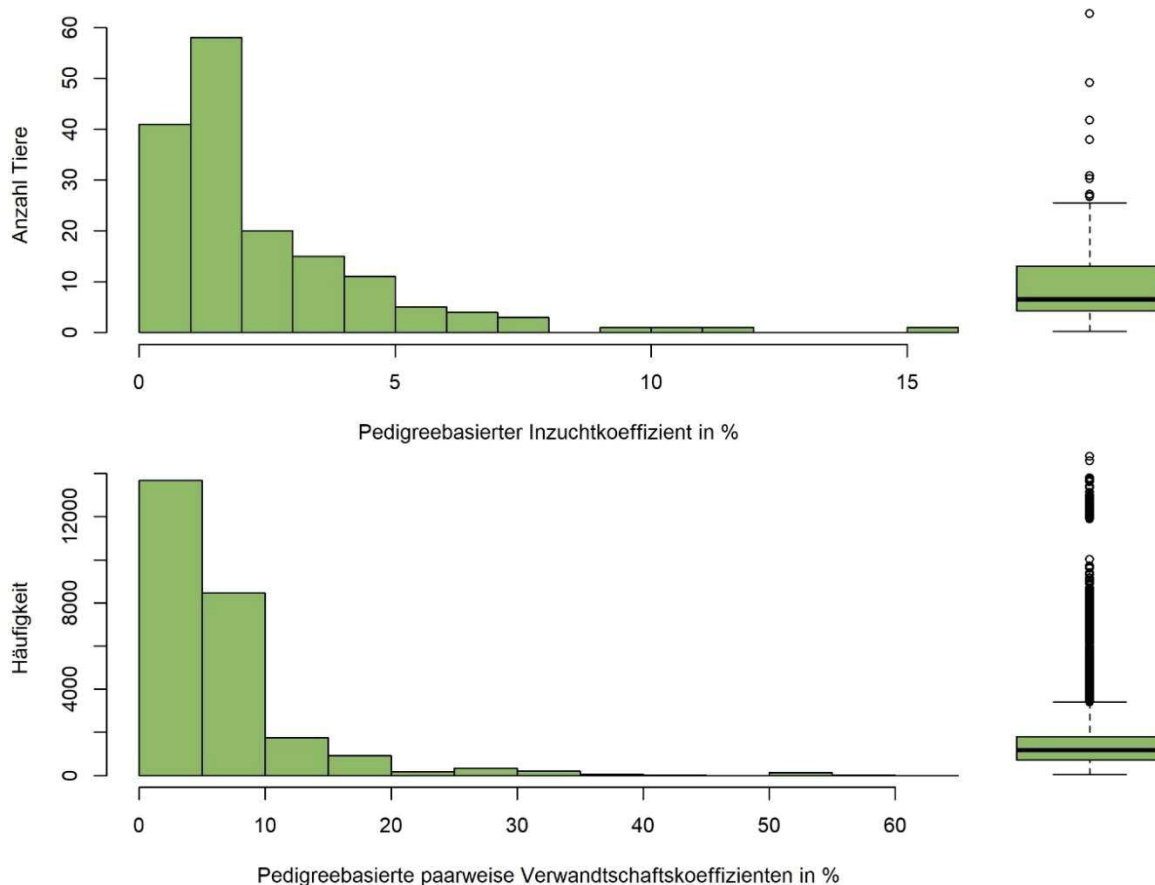
Die Auswertung der Abstammungsdaten ergaben für die Pferde der Strichprobe eine mittlere äquivalente vollständige Generationstiefe von  $7,60 \pm 0,85$  (Median: 7,59). Die für Berechnungen verfügbare Pedigreetiefe ist in Tabelle 7 ersichtlich.

**Tabelle 7: Dichte der Abstammungsinformationen der Stichprobe (N = 161)**

<b>Merkmal</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>	<b>MW</b>	<b>Median</b>	<b>SD</b>
<b>equiGen<sup>1</sup></b>	4,25	9,32	7,60	7,59	0,85
<b>Vollständige Generationen</b>	1,00	7,00	5,19	5,00	1,01
<b>Letzte bekannte Generationsstufe</b>	4,00	14,00	11,66	12,00	1,43

<sup>1</sup>equiGen = Anzahl der äquivalenten vollständigen Generationen, definiert als die Summe des Anteils der bekannten Vorfahren über alle zurückverfolgten Generationen (siehe Abbildung 14), MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Der mittlere Inzuchtkoeffizient F lag für die Stichprobe bei  $2,33\% \pm 2,28$  (Median: 1,52) mit einer Spanne von minimal 0,00% bis maximal 15,07%, wobei die Mehrheit der Tiere (73,91%) einen Inzuchtkoeffizienten von unter 3% aufwies (siehe Abbildung 15). Der Mittelwert der paarweisen Verwandtschaftskoeffizienten lag bei  $6,44\% \pm 6,62$  (Median: 4,76%) und rangierte von 0,00% bis 62,25% (siehe Abbildung 14).



**Abbildung 14: Verteilung der pedigreebasierten Inzuchtkoeffizienten und der paarweisen Verwandtschaftskoeffizienten beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut anhand von Histogrammen und Boxplots.**

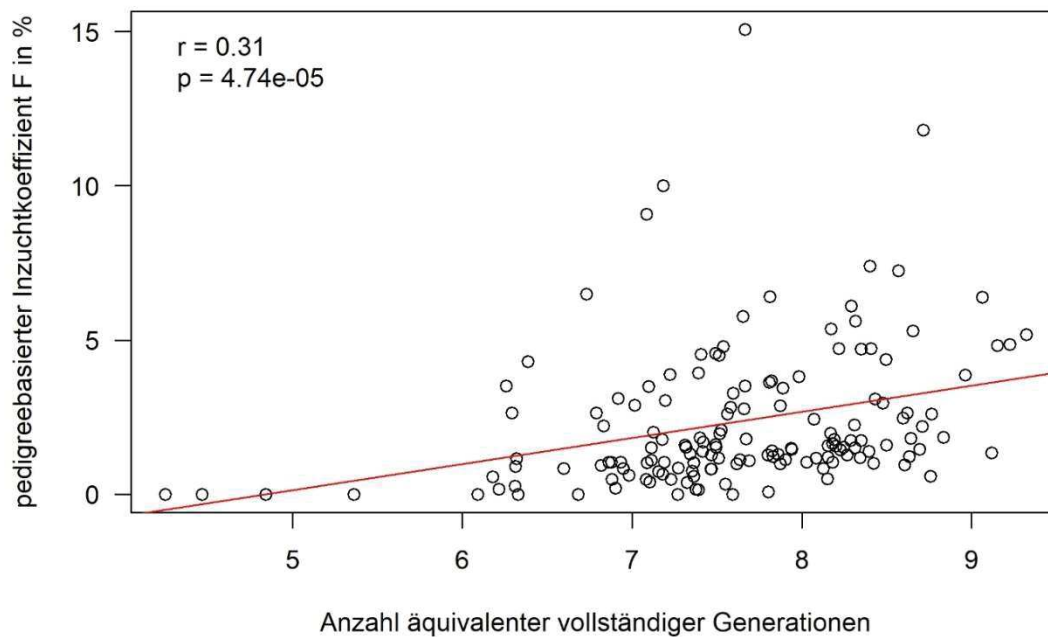
Die Höhe der berechneten Inzuchtkoeffizienten nimmt mit der Verfügbarkeit von Abstammungsinformationen kontinuierlich zu. Die Anzahl äquivalenter vollständiger Generationen (complete generation equivalent, Maignel et al. 1996) ist die aussagekräftigste Größe für den Informationsgehalt einer individuellen Abstammung. Sie entspricht der Summe der Anteile der bekannten Vorfahren eines Individuums über alle zurückverfolgten Generationen (siehe Abbildung 15). Aus der schematischen Abbildung 16 ergeben sich zwei vollständige Generationen, fünf Generationen für die letzte bekannte Generationsstufe und 3,59 äquivalente vollständige Generationen.

1. Generation Eltern	2. Generation Großeltern	3. Generation Urgroßeltern	4. Generation Ururgroßeltern	5. Generation Urururgroßel- tern
Vater	Vatervater	...		
		...		
		...		
	Vatermutter	...		
		...		
		...		
Mutter	Mutervater	...		
		...		
		...		
	Muttermutter	...		
		...		
		...		
100% bekannt (1,00)	100% bekannt (1,00)	75% bekannt (0,75)	50% bekannt (0,50)	34% bekannt (0,34)

**Abbildung 15: Schematische Darstellung des Terms „äquivalente vollständige Generation“ mit bekannten Vorfahren in Orange und unbekanntem Vorfahren in Weiß und dem Anteil der bekannten Vorfahren je Generationsstufe in der letzten Zeile**

Zwischen der Anzahl äquivalenter vollständiger Generationen und dem Inzuchtkoeffizienten  $F$  besteht eine signifikante ( $p \leq 0,05$ ) Korrelation von  $r = 0,31$  (siehe Abbildung 15). Insbesondere bei einer bedrohten Rasse wie dem Rheinisch-Deutschen Kaltblut gilt es daher das Maximum an verfügbaren Abstammungsinformationen bei der Berechnung von Inzuchtkoeffizienten und daraus resultierenden Anpaarungsempfehlungen zu nutzen. Lückige oder ungenügend tiefe Pedigrees führen zu einer Unterschätzung von Inzucht und Verwandtschaft.





**Abbildung 16: Korrelation zwischen der Anzahl äquivalenter vollständiger Generationen und dem pedigreebasierten Inzuchtkoeffizienten F**

Die Berechnung der effektiven Populationsgröße  $N_e$  über PopRep 2.0 (Groeneveld et al. 2009) ergab für das Jahr 2021 einen Wert von 125 Tieren. Die Größe der Zuchtpopulation des Rheinisch-Deutschen Kaltblutes kann folglich der Anzahl von 125 vollständig unverwandten Individuen unter panmiktischen Fortpflanzungsstrukturen gleichgesetzt werden. Die Berechnung der effektiven Populationsgröße kann über verschiedene Methoden erfolgen, wobei die Ecg-Methode nach Gutiérrez (2009) für den vorliegenden Datensatz als die stabilste festgestellt wurde. Die durch die Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen (GEH e.V.) verwendete zensusbasierte Berechnungsmethode würde für das Jahr 2021 einen Wert von 232 ergeben, der um das 1,9-fache über dem Ecg-Wert (Gutiérrez 2009) liegt. Die Zensusmethode führt bei dieser Rasse folglich zu einer starken Überschätzung (siehe Tabelle 8). Der Annahme folgend, dass die Inzucht- und Verwandtschaftskoeffizienten bei tieferen Pedigrees noch höher ausfallen würden, kann der Wert von 125 ebenfalls als überschätzt antizipiert werden.

**Tabelle 8: Pedigreebasierte effektive Populationsgröße  $N_e$  nach Zensusdaten und nach Gutiérrez (Ecg)**

$N_e$	MW	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
<b><math>N_e</math>-Zensus</b>	278	349	336	309	298	287	262	242	232	232	232
<b><math>N_e</math>-Ecg</b>	113	102	103	106	110	113	115	120	119	121	125

MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Die Berechnung genomischer Inzuchtkoeffizienten erfolgte mittels PLINK 1.9 mit drei verschiedenen Parametereinstellungen für die der Rechnung zugrundeliegenden langen Homozygotieabschnitte (ROH). Je nach definierter minimaler Länge der ROHs fallen die berechneten Inzuchtkoeffizienten höher oder niedriger aus (siehe Tabelle 9).

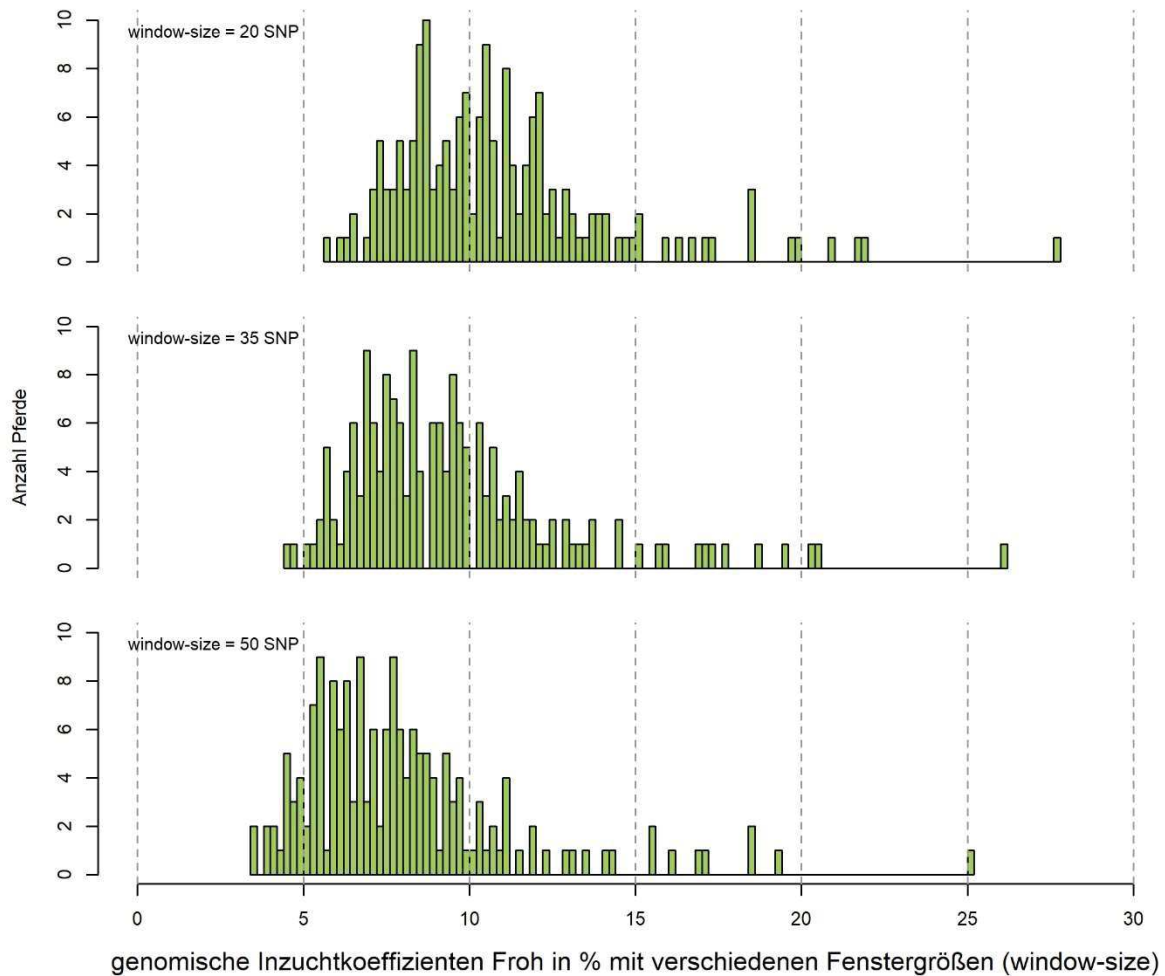
**Tabelle 9: Deskriptive Statistik der genomischen Inzuchtkoeffizienten Froh in Prozent mit unterschiedlichen Mindestlängen der Homozygotieabschnitte (20, 35 und 50 SNPs)**

Inzuchtkoeffizient	Min	Max	MW	Median	SD
<b>Froh-20 (%)</b>	5,61	27,62	10,88	10,28	3,32
<b>Froh-35 (%)</b>	4,54	26,18	9,47	8,88	3,30
<b>Froh-50 (%)</b>	3,44	25,16	8,04	7,47	3,26

Froh = genomischer Inzuchtkoeffizient unter Angabe der Fenstergröße (Anzahl SNP im Fenster), MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Hervorzuheben ist, dass die genomischen Inzuchtkoeffizienten im Mittel fünf bis acht Prozentpunkte über den pedigreebasierten Werten liegen, was für letztere eine Unterschätzung suggeriert. Wie in Abbildung 17 ersichtlich, steigen die genomische Inzuchtkoeffizienten, wenn die Fenstergröße reduziert wird, d.h. die ROH-Segmente eine geringere Mindestlänge haben. Die Fenstergröße von 20 bis 50 SNPs wird in der Literatur als geeignet beschrieben, um Inzuchtkoeffizienten zu ermitteln, die in ihrer Genauigkeit über der pedigreebasierten Berechnung liegen (Forutan et al. 2018). Erwähnenswert ist, dass das Individuum mit einem genomischen Inzuchtkoeffizienten von über 25% im Abstammungsdatensatz über keine ausreichenden Informationen zur Berechnung

eines Inzuchtkoeffizienten verfügte. Nachträgliche Recherchen belegten für dieses Pferd jedoch eine Abstammung aus einer Halbgeschwisterverpaarung, sodass der Wert plausibel ist. In der vorliegenden Stichprobe konnte für kein Tier ein genomischer Inzuchtwert unter 3,4% ermittelt werden.



**Abbildung 17: Verteilung der Häufigkeiten genomischer Inzuchtkoeffizienten in Abhängigkeit von der Parameterfestsetzung (window-size 20, 35, 50)**

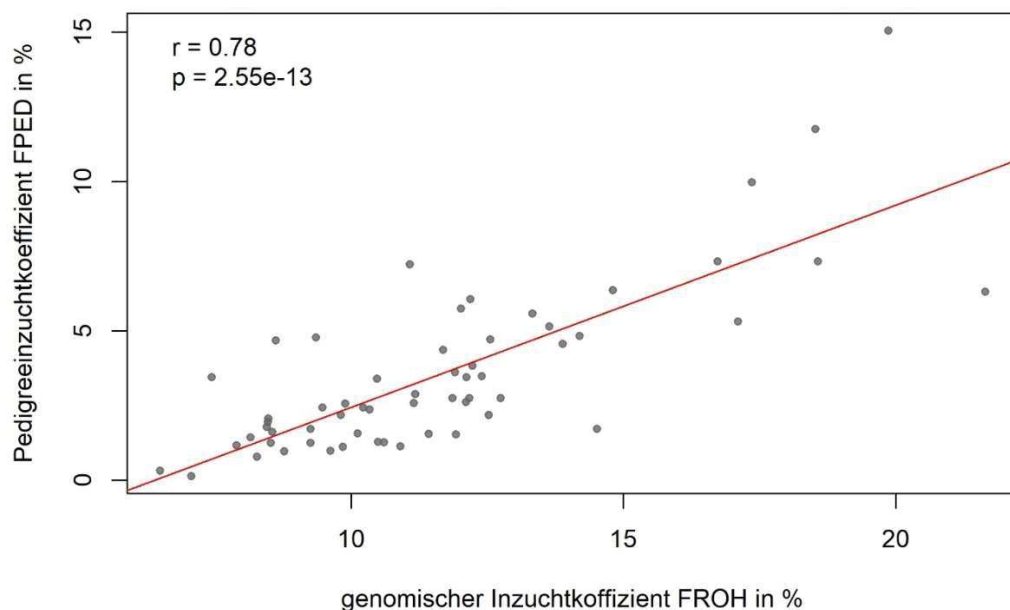
Die Korrelation zwischen den Ergebnissen der drei Parametereinstellungen waren signifikant ( $p \leq 0,05$ ) und mit  $r > 0,99$  extrem hoch. Die Korrelation der genomischen Inzuchtkoeffizienten zu den pedigreebasierten Werten lag mit  $r > 0,70$  ebenfalls im oberen Bereich und fiel unter Beschränkung auf Tiere mit mindestens sechs vollständigen Generationen mit  $r = 0,78$  noch höher aus (siehe Tabelle 10 und Abbildung 18). Bei

fehlender oder unvollständiger Abstammung ließen sich demnach auch genomisch zuverlässige Inzuchtkoeffizienten beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut berechnen.

**Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten  $r$  von pedigreebasierten (Fped) und genomischen (Froh) Inzuchtkoeffizienten unter Berücksichtigung der Anzahl äquivalenter vollständiger Generationen im Pedigree (mind. 6)**

Inzuchtkoeffizient	Froh-20	Froh-35	Froh-50
<b>Fped</b>	0,7081	0,7163	0,7204
<b>Fped-6</b>	0,7822	0,7828	0,7809
<b>Froh-20</b>		0,9971	0,9904
<b>Froh-35</b>			0,9943

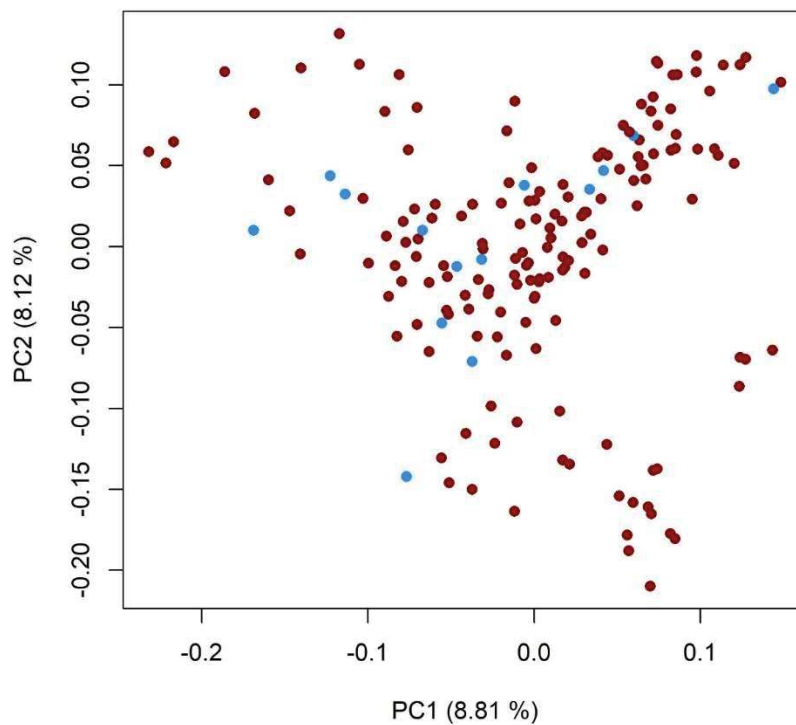
Fped = pedigreebasierter Inzuchtkoeffizient, Fped-6 = pedigreebasierter Inzuchtkoeffizient für Tiere mit mindestens sechs vollständigen Generationen, Froh = genomischer Inzuchtkoeffizient unter Angabe der Fenstergröße (Anzahl SNP im Fenster)



**Abbildung 18: Korrelation von pedigreebasierten (Fped) und genomischen (Froh) Inzuchtkoeffizienten unter Berücksichtigung der Anzahl äquivalenter vollständiger Generationen im Pedigree (mind. 6)**

Eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) der SNP-Daten zeigte, dass 16,93% der Variabilität durch die ersten beiden Hauptkomponenten (PC1, PC2) erklärt werden konnten

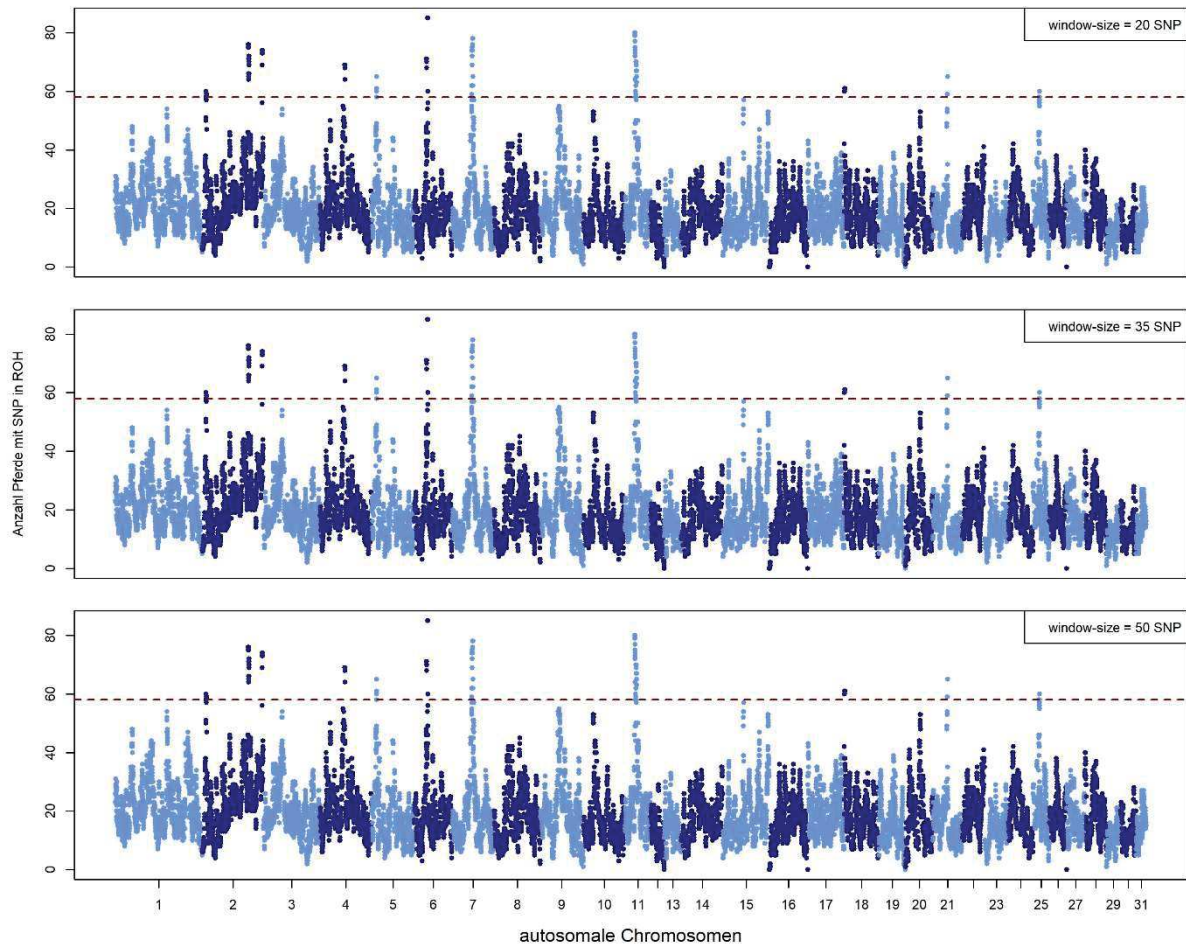
(siehe Abbildung 19). Eine Auftrennung der Stichprobe ist erkennbar, was jedoch nicht durch Faktoren wie Geschlecht oder Standort zu begründen ist. Die durch PC1 und PC2 erklärte Variabilität liegt über Werten, die beim Reitpferd dokumentiert wurden (Vosgerau et al. 2022).



**Abbildung 19: SNP-basierte Hauptkomponentenanalyse der Rheinisch-Deutschen Kaltblut-Population in Sachsen und Thüringen (N = 172) mit farblicher Unterscheidung nach Geschlecht (Hengst = blau, Stute = rot)**

Die eingehendere Untersuchung der ROH-Segmente ließ Genomregionen unter positivem Selektionsdruck auf den Chromosomen ECA 2, 7 und 11 erkennen und unter Verwendung kürzerer ROH-Mindestlängen (20 SNPs) auch Signaturen auf ECA 6, 18, 21 und 25 (siehe Abbildung 20). Der vermutlich unter Selektionsdruck befindliche Abschnitt auf Chromosom 11 beherbergt den HOXB-Komplex, der insbesondere während der Embryonalentwicklung eine entscheidende Rolle spielt. Selektionssignaturen wurden bereits in anderen Rassen in dieser Genomregion gefunden, z.B. beim Warmblut (Nolte et al. 2019) oder Noriker and Lipizzanern (Grilz-Seger et al 2019a, 2019b). Eine eingehendere Untersuchung der in den Signaturen gelegenen proteinkodierenden Genen wurde an dieser Stelle nicht verfolgt, da über die Analyse nur untersucht

werden sollte, ob sich eine klare Signatur im Bereich des Gens *GYS* befindet (ECA 10, 19,1-19,2 Mb). Dies war nicht der Fall.

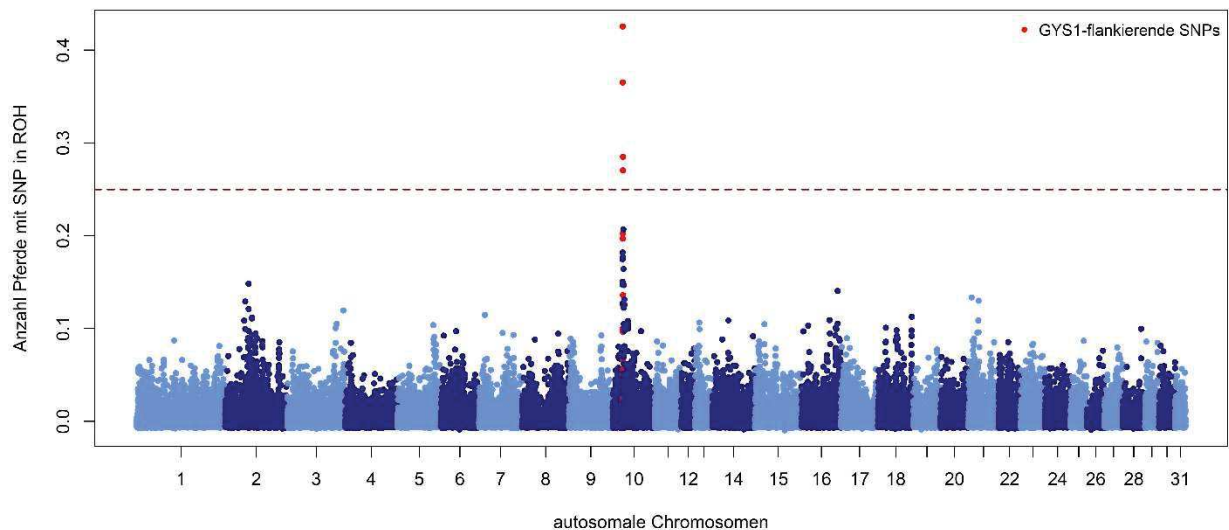


**Abbildung 20: Genomregionen auf autosomalen Chromosomen mit erhöhtem Aufkommen langer Homozygotie-Abschnitte bei 172 Rheinisch-Deutschen Kaltblütern (die rote Linie markiert ein Drittel der Tiere, N= 58)**

Da über Homozygotiesegmente keine Selektionssignatur auf ECA10 nachgewiesen werden konnte, sollte untersucht werden, ob die Gruppe der PSSM1-freien Type, d.h. Wildtypen (Genotyp N/N) sich genetisch nennenswert von der Gruppe der Anlageträger (N/PSSM1, PSSM1/PSSM1) unterschied. Dazu wurde der Datensatz von 172 Tieren in Wildtyp (N = 81) und Anlageträger definiert (N = 91). Über Wright's Fixation-Index wurde untersucht, ob die Gruppen aufgrund ihrer genetischen Struktur klar differenziert waren. Bei Pferderassen, die sich im Phänotyp stark unterscheiden, z.B. Kaltblüter und Arabische Vollblüter, wurden  $F_{st}$ -Werte von 0,122 berechnet (Gurgul et



al. 2019). Innerhalb von Reitpferderassen besteht dagegen kaum ein nennenswerter Unterschied und der mittlere  $F_{st}$ -Wert liegt bei 0,04 (Nolte 2022). Damit ist ein mittlerer  $F_{st}$ -Wert von 0,004 für Wildtypen und PSSM1-Anlageträger beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut nicht unerwartet niedrig, da es sich eigentlich um eine einzige Zuchtpopulation handelt. Die Unterscheidung anhand des Genotyps am *GYS1*-Lokus resultiert jedoch bei einer genomweiten Darstellung der  $F_{st}$ -Werte in einer klaren Signatur an ebenjener Position (siehe Abbildung 21). Hervorzuheben ist, dass die beiden Untergruppen sich in keiner anderen Genomregion so deutlich unterscheiden wie um das PSSM1-kausale *GYS1*-Gen.



**Abbildung 21:  $F_{st}$ -Statistik beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut für Wildtyp (N/N) und PSSM1-Anlageträger (N/PSSM1 und PSSM1/PSSM1)**

## 4. Ergebnisverwertung

### 4.1. Nutzung der Ergebnisse in der Praxis

In der züchterischen Praxis ist eine flächendeckende Verfügbarkeit von Genomprofilen für das Rheinisch-Deutsche Kaltblut in näherer Zukunft nicht absehbar, sodass dieses Instrument zum Monitoring und Management der Inzuchtkoeffizienten wenig geeignet erscheint. Die Ergebnisse machen jedoch deutlich, dass es bei den gegenwärtig verfügbaren Abstammungsdaten zu Unterschätzungen kommen kann. Dementsprechend wird empfohlen, die digital verfügbaren Abstammungsdaten in den Herdbüchern ggf.

zu korrigieren, d.h. mehrfach vergebene Lebensnummern auf ein Individuum umzuändern, und die Datenbasis unter Nutzung historischer Stutbücher zu erweitern. Somit könnten aussagekräftigere Inzucht- und Verwandtschaftskoeffizienten ermittelt werden, die dem Diversitätsmanagement der Rasse zugunsten kämen. Der berechnete mittlere Inzuchtkoeffizient der Stichprobe von  $2,33\% \pm 2,28$  liegt einen Prozentpunkt über früheren Ergebnissen, welche für die deutschlandweite Population erarbeitet wurden, wobei dort auch höhere Inzuchtkoeffizienten, begleitet durch vollständigere Pedigrees, in ostdeutschen Zuchtgebieten dokumentiert wurden (Biedermann et al. 2002). Aufgrund der deutlich höher liegenden genomischen Inzuchtkoeffizienten wird jedoch empfohlen, bei Anpaarungen stringente Grenzen für den Inzuchtgrad des geplanten Fohlens zu setzen. Für den Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. wurde ein pedigreebasiertes Anpaarungsprogramm für R kodiert, das eine Berücksichtigung des Genotyps bzw. die PSSM1-Veranlagung zulässt, wenn dies gewünscht ist. Es wird jedoch anhand der vorliegenden Ergebnisse empfohlen, der genetischen Diversität und den gewünschten Exterieur- und Leistungsmerkmalen bei der Anpaarungsplanung größeres Gewicht zukommen zu lassen als dem Anlagestatus für PSSM1. Das Programm beinhaltet als Datenbasis alle Pferde aus der vorliegenden Stichprobe, erweitert um archivierte Daten. Nichtsdestotrotz wird eine regelmäßige Aktualisierung der Datenbasis durch den Pferdezuchtverband notwendig sein. Das detaillierte **Konzept zur Optimierung des Populationsmanagements beim Rheinisch-Deutschen Kaltblut** für den Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. ist im Anhang 5 dargestellt.

### **Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten**

Der Projektansatz liefert durch die enge Zusammenarbeit zwischen dem landwirtschaftlichen Unternehmen (Kooperationsbetrieb), dem PZVST als tierzüchterische Vereinigung sowie des PGD der Sächsischen TSK und der HTW Dresden als wissenschaftliche Einrichtungen des Freistaates Sachsen wesentliche Grundlagen, um evidenzbasierte Daten zur Trägerfrequenz des Gendefektes PSSM1 beim RDK und dessen Auswirkungen auf die Leistung und Tiergesundheit zu generieren.

Die Ergebnisse ermöglichen dem PZVST fundierte Entscheidungen in zuchtleitenden Tätigkeiten und der Betreuung der Population. Für Züchter leisten die Ergebnisse wert-



volle Hilfestellung bei der Anpaarungsentscheidung und der Tierhaltung und -versorgung im Falle von betroffenen Tieren. Für die Sächsische Gestütsverwaltung leisten die Erkenntnisse eine Entscheidungshilfe für die Bestandsremontierung. Die Kenntnis von Inzuchtkoeffizienten, effektiver Populationsgröße und Trägerstatus werden in der Tierausswahl für die nationalen Genbank Anwendung finden.

In diesem Umfang ist diese Studie landes- und bundesweit die erste ihrer Art und wegweisend für die Entwicklung und züchterische Bearbeitung der Rasse. Insbesondere der Fokus auf zuchtaktiven Tieren ist für das verbesserte Populationsmanagement grundlegend. Das Thema unterstützt die Zuchtarbeit für das RDK im Zuchtgebiet Sachsen.

### **Wirtschaftliche Erfolgsaussichten und Tierwohl**

Der Genotyp, welcher mit den tiergesundheitslichen Beeinträchtigungen assoziiert wird, kann durch gezielte Anpaarungen vermieden werden. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen jedoch keine Notwendigkeit dieses Ziel konsequent zu verfolgen. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Genotyp und PSSM1- Symptomen nachgewiesen werden. Aufgrund dessen konnte mithilfe dieser Studie zum Erhalt der Rasse beigetragen werden, da die genotypisch positiven Pferde weiter für die Zucht eingesetzt werden können und genetische Diversität so erhalten bleibt.

### **Erhaltung tiergenetischer Ressourcen**

Der Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V. führt deutschlandweit die größte Zuchtpopulation der Rasse RDK, wobei der Hauptanteil im Zuchtbereich Sachsen registriert ist. Die Rasse ist ein lebendes Kulturgut im Freistaat Sachsen, wird aber aufgrund der nur noch geringen Populationszahl als gefährdet eingestuft. Ein Ausschluss von Trägertieren aus der Zucht würde einen bedeutenden Einschnitt in die genetische Diversität darstellen, worin sich die Dringlichkeit dieser Untersuchung begründet war.

## **4.2. Maßnahmen zur Verbreitung der Ergebnisse**

### **Informationsveranstaltungen, Schulungen**

Der Wissenstransfer insbesondere an Pferdehalter und –züchter aus Sachsen und Thüringen ist eine wesentliche Komponente dieses Projektes. Ergebnisse und Erfahrungen werden regelmäßig in Informationsveranstaltungen präsentiert und diskutiert.

Ein Transfer der Ergebnisse erfolgte im Rahmen folgender Veranstaltungen:

- Sächsisch-Thüringischer Pferdetag am 11. März 2023 (siehe Anhang 1)

### **Publikationen**

Im Rahmen der Publizitätspflicht werden die Ergebnisse des Projektes entsprechend der Förderrichtlinie sowie in der Fachpresse veröffentlicht.

### **Beratung**

Die im Projekt zu entwickelnden Empfehlungen zum Populationsmanagement werden unter anderem in die regelmäßige Beratungstätigkeit des PGD und PZV integriert und Pferdehaltern, Tierärzten und Beratungsdiensten kostenfrei zur Verfügung gestellt. Die Empfehlungen zur Spermaeinlagerung in die nationale Genbank werden an den Fachbeirat Tiergenetische Ressourcen der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde (DGfZ) e.V. und die zuständigen Landesstellen kommuniziert.

### **Anpaarungsplaner**

Durch die Erarbeitung und Bereitstellung eines (Online-) Anpaarungsplaners werden die Erkenntnisse des Projektes dauerhaft für sächsische Züchter nutzbar gemacht und tragen dauerhaft zum Erhalt der Rasse und der Verbesserung der Tiergesundheit bei.

## 5. Wirkung des Projektes

### 5.1. Beitrag zu den Prioritäten der EU für die Entwicklung des ländlichen Raums

Priorität der EU für die Entwicklung des Ländlichen Raums	Nein	Ja	Begründung
1. Förderung von Wissenstransfer und Innovation in der Land- und Forstwirtschaft und den ländlichen Gebieten	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Gewinnung Evidenz basierter Daten zu Allel- und Genotypfrequenzen, Leistung und Tiergesundheit einer alter, einheimischer Pferderasse für die Beratung potenzieller Halter und Züchter
2. Verbesserung der Lebensfähigkeit der landwirtschaftlichen Betriebe und der Wettbewerbsfähigkeit aller Arten von Landwirtschaft in allen Regionen und Förderung innovativer landwirtschaftlicher Techniken und der nachhaltigen Waldbewirtschaftung	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Aufzeigen der Möglichkeiten eines optimierten Zuchtmanagements unter Einbeziehung molekulargenetischer Daten zur Verbesserung der Tiergesundheit und Leistung
3. Förderung einer Organisation der Nahrungsmittelkette, einschließlich der Verarbeitung und Vermarktung von Agrarerzeugnissen, des Tierschutzes und des Risikomanagements in der Landwirtschaft	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Die Mechanisierung der Landwirtschaft führte dazu, so dass man die Rasse heute nur noch vereinzelt in der Land- und Forstwirtschaft und zu Repräsentationszwecken in Brauereien findet. Im Hobby- und Freizeitsektor hat sich das Rh.-Dt. Kaltblut heute ein völlig neues Terrain erobert und wird zunehmend auch für touristische Zwecke genutzt. Die Haltung dieser Pferde für Freizeit/Tourismus kann Teil des betrieblichen Risikomanagements sein.
4. Wiederherstellung, Erhaltung und Verbesserung der mit der Land- und Forstwirtschaft verbundenen Ökosysteme	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Eine Nutzung der Rasse als Zug- und Arbeitspferd in Landwirtschaft und Forst ist insbesondere in ökologisch sensiblen Gebieten weiterhin denkbar.
5. Förderung der Ressourceneffizienz und Unterstützung des Agrar-, Nahrungsmittel- und Forstsektors beim Übergang zu einer kohlenstoffarmen und klimaresistenten Wirtschaft	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
6. Förderung der sozialen Inklusion, der Armutsbekämpfung und der wirtschaftlichen Entwicklung in ländlichen Gebieten	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Pferdehaltung und –zucht ist ein wesentlicher Wirtschaftsfaktor in ländlichen Gebieten, heute insbesondere für Tourismus, Fahrsport und Freizeitgestaltung. In-situ-Erhaltung alter, einheimischer Rassen ist eine Voraussetzung für Steigerung der gesellschaftlichen Akzeptanz der Landwirtschaft und Tierzucht.

## 5.2. Beitrag zu den Zielen der EIP-AGRI

Ziel der EIP „Landwirtschaftliche Produktivität und Nachhaltigkeit	Nein	Ja	Begründung
1. Förderung eines ressourceneffizienten, wirtschaftlich lebensfähigen, produktiven, wettbewerbsfähigen, emissionsarmen, klimafreundlichen und -resistenten Agrar- und Forstsektors mit einem Hinarbeiten auf agrarökologische Produktionssysteme, die in Harmonie mit den wesentlichen natürlichen Ressourcen funktioniert, von denen die Land- und Forstwirtschaft abhängt	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Pferdehaltung und -zucht ist in der Regel mit einer extensiven Weidehaltung und Grünlandbewirtschaftung assoziiert. Damit werden im Sinne der Landschaftspflege wertvolle Ökosysteme erhalten. Das RDK wird vereinzelt noch im Forst zur Holzernte eingesetzt. Der Einsatz von Rückepferden mit einer bodenschonenden und waldfreundlichen Bearbeitung verbunden und stellt insbesondere in unwegsamem Gelände und Hanglagen eine wertvolle Ergänzung zur motorisierten Holzernte dar.
2. Beitrag zu einer sicheren, stetigen und nachhaltigen Versorgung mit Lebensmitteln, Futtermitteln und Biomaterialien, was sowohl bestehende als auch neue Produkte betrifft	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
3. Verbesserung der Prozesse zur Bewahrung der Umwelt, zur Eindämmung des Klimawandels und zur Anpassung an seine Auswirkungen	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
4. Brückenschlag zwischen Spitzenforschung und -technologie sowie den Landwirten, Waldbewirtschaftern, ländlichen Gemeinden, Unternehmen, NRO und Beratungsdiensten	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

### 5.3. Beitrag zu den in der SWOT-Analyse festgestellten Bedarfen

In der SWOT-Analyse festgestellter Bedarf	Nein	Ja	Begründung
1. Verbesserung des ökologischen oder chemischen Zustandes von Grund- oder Oberflächenwasserkörpern	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
2. Verbesserung des Erhaltungszustandes gefährdeter Tier- und Pflanzenarten	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Erhaltung tiergenetischer Ressourcen durch Haltung und Zucht einer alten, einheimischen Pferderasse
3. Senkung der Treibhausgasemissionen der Landwirtschaft	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
4. Steigerung der Nutzungsdauer von Milchrindern	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
5. Verbesserung des Risikomanagements in landwirtschaftlichen Betrieben	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Haltung und Zucht alter, einheimischer Pferderassen & Vermarktung ihrer Produkte (Tourismus, Fahrsport, Freizeit) als zusätzliche Einkommensquelle in landw. Betrieben.
6. Steigerung der Arbeitsproduktivität in der Landwirtschaft	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
7. Verbesserung des Wassermanagements	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
8. Erhöhung des Anteils ökologisch bewirtschafteter Flächen	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Insbesondere für ökologisch wirtschaftende Landwirtschaftsbetriebe sowie im Forst können alte, einheimische Pferderassen von besonderem Interesse sein.
9. Erhöhung der Anzahl von Lebensmitteln mit geographischen und geschützten Ursprungsbezeichnungen	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
10. Verbesserung der Uferbepflanzung an kleinen Gewässern	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
11. Minderung der Bodenerosion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
12. Erhöhung des Artenreichtums auf landwirtschaftlich genutzten Flächen	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Extensiven Weidehaltung und Grünlandbewirtschaftung in der Pferdezucht/-haltung und Grünlandbewirtschaftung (Erhalt von Ökosystemen)
13. Verringerung des Energieverbrauchs in Gartenbau, Masttierhaltung und Milchkühlung	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
14. Sonstiges	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

## **6. Zusammenarbeit in der operationellen Gruppe**

### **6.1. Ausgestaltung der Zusammenarbeit**

Die operationelle Gruppe (OG) wurde zur Bearbeitung der innovativen Ansätze des Projektes gegründet. Im Rahmen der Zusammenarbeit wurde zur Bearbeitung der Fragestellungen des Projektes die aktive Zuchtpopulation des RDK umfassend genotypisiert (Gentest, SNP-Chip) und deren Ergebnisse im Wissenstransfer an die Züchter und dem vor-/nachgelagerten Bereich vermittelt. Ein Anpaarungsplaner wurde erprobt und optimiert. Die Zusammenarbeit zwischen den Mitgliedern der OG gestaltete sich sehr konstruktiv und zielorientiert und war dabei sehr gut organisiert. Ein Treffen der OG fand am 25.01.2022 statt. Zudem wurden in regelmäßigen Abständen Online-Meetings abgehalten. Zur Klärung ad hoc auftretender Fragestellungen fanden zudem bedarfsorientiert Abstimmungen via Mail und Telefon statt.

### **6.2. Mehrwert der operationellen Gruppe**

Vorhandene fachliche Kompetenzen der beteiligten Institutionen, Verbände und Betriebe wurden durch eine Intensivierung der Zusammenarbeit und Kommunikation als OG vernetzt und gebündelt. Diese Synergieeffekte ermöglichten die umfangreichen neuen Erkenntnisse zur Trägerfrequenz des Gendefektes PSSM1 beim RDK in Sachsen, die Analyse der Effekte auf Leistungsparameter (Leistungsprüfungsdaten) und Klinik dieser Pferde, sowie in der Entwicklung eines Anpaarungsplaners.

## **7. Verwendung der Zuwendung**

Die Auflistung der wichtigsten Ausgabenpositionen und der zahlenmäßige Nachweis der Ausgaben erfolgt anhand der Belegliste.

## **8. Schlussfolgerungen und Ausblick**

### **8.1. Rückblick**

Die Zusammenarbeit zwischen den beteiligten Partnern im Projekt zeigte eine sehr gute Funktionsfähigkeit und induzierte wertvolle Ergebnisse sowie einen gezielten Wissenstransfer. Die geplanten Studien wurden fachgerecht konzipiert, durchgeführt und ausgewertet.

Der Projektansatz lieferte durch die enge Zusammenarbeit zwischen der sächsischen Gestütsverwaltung (Kooperationsbetrieb), dem Pferdezuchtverband Sachsen-Thüringen e.V., sowie die Sächsische Tierseuchenkasse, Pferdegesundheitsdienst und der HTW Dresden als wissenschaftliche Einrichtung des Freistaates Sachsen wesentliche Grundlagen, um evidenzbasierte Daten zur Trägerfrequenz und zum Einfluss der *GYS1* Genvariante auf die Leistung beim RDK zu generieren.

### **8.2. Ausblick**

Der Verdacht, dass das mutierte *GYS1* Gen beim Rheinisch-Deutschen-Kaltblut zu Krankheitssymptomen und Leistungseinbrüchen führt, konnte in dieser Studie nicht belegt werden. Neben der Tatsache, dass mehr als die Hälfte der Population vom Ausschluss des Zuchtgeschehen betroffen wäre und damit die genetische Diversität der Rasse arg eingeschränkt werden würde, konnte in dieser Studie keinerlei Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen dem Genotyp und dem gesteigerten Auftreten von klinischen Krankheitssymptomen, insbesondere Rhabdomyolyse und Myoglobinurie oder einer verminderten Leistung nachgewiesen werden.

Als Schlussfolgerung für die Praxis der Züchtung kann festgehalten werden, dass ein genotypisch positives Pferd, selbst wenn es homozygot positiv ist, nicht direkt von der Zucht ausgeschlossen werden sollte. Bei der Betrachtung der Leistungsprüfungsergebnisse wird deutlich, dass Anlageträger teilweise bessere Noten als Wildtypen erhielten, weshalb man diese züchterisch wertvolle Genetik nicht aufgrund eines einzelnen Gens aufgeben sollte. Wenn der Ausbreitung der Genmutation in der Zuchtpopulation vorgebeugt werden soll, empfiehlt sich eine Anpaarung von Doppelträgern mit Wildtypen anstatt von Anlageträgern.

## 9. Studentische Abschlussarbeiten aus Daten des Projektes

Schnorr, Tobias (2023): Analyse der Umweltfaktoren die zum Ausbruch der Polysaccharidspeichermiopathie beitragen und Bewertung des Einflusses der GYS 1 Genvariante auf die Leistung beim RDK. Bachelorarbeit (B. Sc. Agrarwirtschaft)

Hake, Tina (2023): In Bearbeitung. Masterarbeit (M. Sc. Produktionsmanagement Agrarwirtschaft)

## 10. Literaturverzeichnis

Baird, J. D.; Valberg, S. J.; Anderson, S. M.; McCue, M. E.; Mickelson, J. R. (2010): Presence of the glycogen synthase 1 (GYS1) mutation causing type 1 polysaccharide storage myopathy in continental European draught horse breeds. In: *The Veterinary record* 167 (20), S. 781–784. DOI: 10.1136/vr.c3447.

Biedermann G, Clar U, Finke A, Bickel M (2002). Analyse der Population des Rheinisch-Deutschen Kaltblutes. *Züchtungskunde* 74 (4), S. 237-249.

Druml, T.; Grilz-Seger, G.; Neuditschko, M.; Brem, G. (2017): Association between population structure and allele frequencies of the glycogen synthase 1 mutation in the Austrian Noriker draft horse. In: *Animal Genetics* 48 (1), S. 108–112. DOI: 10.1111/age.12481.

Forutan M, Ansari Mahyari S, Baes C *et al.* (2018) Inbreeding and runs of homozygosity before and after genomic selection in North American Holstein cattle. *BMC Genomics* 19 (98), doi: 10.1186/s12864-018-4453-z.

Grilz-Seger G, Druml T, Neuditschko M *et al.* (2019a). Analysis of ROH patterns in the Noriker horse breed reveals signatures of selection for coat color and body size. *Animal Genetics*, 50 (4), S. 334-46, doi: 10.1111/age.12797.

Grilz-Seger G, Druml T, Neuditschko M *et al.* (2019b). High-resolution population structure and runs of homozygosity reveal the genetic architecture of complex traits in the Lipizzan horse. *BMC Genomics*, 20 (1), doi: 10.1186/s12864-019-5564-x.

Groeneveld E, Westhuizen Bv, Maiwashe A *et al.* (2009). POPREP: a generic report for population management. *Genetics and Molecular Research* 8 (3), Seiten 1158-78., doi: 10.4238/vol8-3gmr648.



Gurgul A, Jasielczuk I, Semik-Gurgul E et al (2019). A genome-wide scan for diversifying selection signatures in selected horse breeds. *PLoS One*, **14** (1), e0210751, doi: 10.1371/journal.pone.0210751.

Gutiérrez J P, Cervantes I, Goyache F (2009). Improving the estimation of realized effective population size in farm animals. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, **126** (4), S. 327-32. doi: 10.1111/j.1439-0388.2009.00810.x.

Nolte W, Thaller G, Kuehn C (2019). Selection signatures in four German warmblood horse breeds: Tracing breeding history in the modern sport horse. *PLoS One*, **14** (4), e0215913, doi: 10.1371/journal.pone.0215913.

Nolte W (2022). Population structure and interbreed connectivity of the German Sport Horse (DSP), Vortrag, *Generalversammlung der World Breeding Federation for Sporthorses*, Dresden, 10.-12.10.2022.

Nörenberg, Ingo (2020): PSSM - Was nun? In: *Starke Pferde* 24, 2020 (Nr. 93, 1), S. 58–59.

Schwarz, Bianca (2012): Polysaccharide Storage Myopathy beim Haflinger und Noriker. In: *Pferdespiegel* 15 (02), S. 42–47. DOI: 10.1055/s-0031-1298480.

University of Minnesota Equine Center (2011): Polysaccharide Storage Myopathy. Online verfügbar unter <https://cvm.msu.edu/research/faculty-research/comparative-medical-genetics/valberg-laboratory/type-1-polysaccharide-storage-myopathy>, zuletzt geprüft am 02.03.2020.

Vosgerau S, Krattenmacher N, Falker-Gieske C et al. (2022). Genetic and genomic characterization followed by single-step genomic evaluation of withers height in German Warmblood horses. *Journal of Applied Genetics*, **63** (2), S. 369-78. doi: 10.1007/s13353-021-00681-w.

## 11. Anhang



**Anhang 1: Präsentation der Ergebnisse zum Sächsisch-Thüringischen Pferdetag am 11.03.2023 im Hauptgestüt Graditz. © Dr. Wietje Nolte/SLFULG**

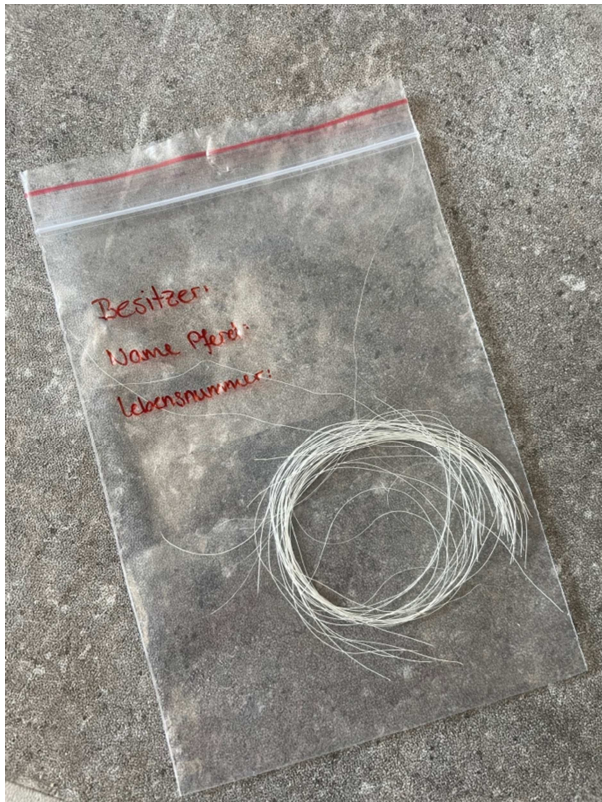


**Anhang 2: Entnahme des Probenmaterials aus der Mähne der Studientiere.  
© Tina Hake/HTWD**





**Anhang 3: Untersuchungsprobe mit Haarwurzeln © Tina Hake/HTWD**



**Anhang 4: Verpackung des Probenmaterials, sowie Beschriftung der Proben zur Ein-  
sendung ins Labor © Tina Hake/HTWD**