

## **Pedigreebasierte und genomische Verwandtschaftsanalysen zur deutschen Reitpferdepopulation**

*M. Wobbe<sup>1,2</sup>, H. Alkhoder<sup>1</sup>, C. Schmidtmann<sup>1</sup>, W. Nolte<sup>3</sup>, N. Krattenmacher<sup>4</sup>,  
E. Kalm<sup>4</sup>, R. Reents<sup>1</sup>, J. Tetens<sup>5</sup>, G. Thaller<sup>4</sup>, K. F. Stock<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V. (vit), 27283 Verden (Aller)

<sup>2</sup>Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 30559 Hannover

<sup>3</sup>Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, 01468 Moritzburg

<sup>4</sup>Institut für Tierzucht und Tierhaltung, Christian-Albrechts-Universität Kiel, 24098 Kiel

<sup>5</sup>Department für Nutztierwissenschaften, Georg-August-Universität Göttingen, 37077 Göttingen

### **1 Einleitung**

Bisherige Verwandtschaftsanalysen beim deutschen Reitpferd fokussierten sich zumeist auf eine Herangehensweise und nutzten verfügbare Pedigreedaten (z.B. Teegen et al. 2009) oder repräsentative genomische Daten (Nolte et al. 2019). Die oft weit zurückreichenden Abstammungsdaten der deutschen Reitpferdepopulation, welche in elektronischer Form in einer zentralen Datenbank vorliegen, bieten für pedigreebasierte Analysen eine gute Grundlage. Gleichzeitig wurden durch die mittlerweile bei den meisten deutschen Warmblutzuchtverbänden erfolgte Umstellung auf die routinemäßige Genotypisierung von genomweiten Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) als Ausgangspunkt für die Abstammungsüberprüfung (Nolte et al. 2022) neue Möglichkeiten für genomische Verwandtschaftsanalysen geschaffen. Im Rahmen dieser Studie erfolgte ein Methodenvergleich zwischen pedigreebasierter und genomischer Inzuchtermittlung für deutsche Reitpferde.

Diese aktuelle Bestandsaufnahme zur mittleren Inzucht in der deutschen Warmblutpopulation ermöglichte so die Einordnung gegenüber analogen Studien an anderen Warmblutpopulationen sowie die Illustration des Mehrwertes, den die breite Verfügbarkeit genomischer Daten auch für Analysen zur Populationsstruktur und Inzucht vermittelt.

### **2 Material und Methoden**

Für die Untersuchungen stand Datenmaterial von deutschen Warmblutpferden aus sieben Zuchtverbänden zur Verfügung: Holsteiner Verband e.V., Hannoveraner Verband e.V., Verband

der Züchter des Oldenburger Pferdes e.V., Springpferdezuchtverband Oldenburg International e.V., Westfälisches Pferdestammbuch e.V., Trakehner Verband e.V. und Deutsches Sportpferd GmbH. Dieses umfasste Pedigreedaten der 2021 - 2023 geborenen und bei den vorgenannten Verbänden registrierten Pferde sowie 80k SNP-Genotypdaten dieser Pferde (Equine80select Genotyping Array, Illumina). Als Ahnen wurden ab 1950 geborene Pferde berücksichtigt. Die SNP-Genotypisierung im Zuge der routinemäßigen Abstammungsüberprüfung gewährleistete einen insgesamt hohen Abdeckungsgrad der ausgewählten Geburtsjahrgänge (75%) mit genomweiten Markerdaten, wobei dessen Entwicklung die zeitversetzte Umstellung der Abstammungsüberprüfung reflektierte: 2021 45%, 2022 88%, 2023 91%. Die Ermittlung der pedigreebasierten Inzucht (Inzuchtkoeffizient  $F_{Ped}$ ) erfolgte mit der Software PEDIG (Boichard et al. 2002) unter Berücksichtigung von fünf Ahnengenerationen und unter Verwendung der Methode nach Meuwissen et al. (1992). Die genomische Inzucht wurde gemäß der Methode nach McQuillan et al. (2008) auf Grundlage von Runs of Homozygosity (ROH) ermittelt:

$$F_{ROH} = \frac{\text{Gesamtlänge aller ROH}}{\text{durch SNPs abgedeckte autosomale Genomlänge}}$$

Hierfür kam die Software PLINK (Version 1.9, Purcell et al. 2007) über die Funktion `-homzyg` und unter Bezugnahme auf  $N=57.286$  qualitätskontrollierte autosomale SNPs mit folgenden Parametern zum Einsatz: Minimale Anzahl an SNPs innerhalb eines ROH von 25, keine heterozygoten SNPs innerhalb eines ROH und variierende Längen von 500-10.000 kb als DNA-Abschnitt, welcher als ROH berücksichtigt wird (9 Szenarien). Im Anschluss wurden Mittelwerte, Streuung und Spannweiten der jeweiligen Inzuchtkoeffizienten ( $F_{Ped}$ ,  $F_{ROH}$  mit unterschiedlichen ROH-Längen) für die gesamte Stichprobe sowie innerhalb der einzelnen Geburtsjahre ermittelt.

### 3 Ergebnisse und Diskussion

Die Stichprobe umfasste insgesamt 86.033 Pferde, für die sich pedigreebasiert ein mittlerer Inzuchtkoeffizient von 1,53% (Std 1,50) ergab. Dabei war  $F_{Ped}$  bei den 75.744 Pferden mit vollständiger fünfter Ahnengeneration mit 1,58% (Std. 1,50) im Mittel höher als bei den verbleibenden 10.289 Pferden mit weniger tiefen bzw. lückenhaften Pedigrees (1,11%, Std. 1,45). Für die Teilmenge der 63.169 Pferde mit SNP-Genotypdaten ergaben sich ähnliche mittlere  $F_{Ped}$ -Werte von 1,57% (Std 1,50) insgesamt sowie 1,62% (Std 1,51) und 1,17% (Std 1,39) mit Differenzierung nach Pedigreevollständigkeit. Pedigree-Mindestanforderungen sind maßgeblich für die Vergleichbarkeit pedigreebasiert ermittelter Kennzahlen (Lutaaya et al. 1999).

Die genomische Inzuchtanalyse lieferte je nach Szenario mittlere  $F_{ROH}$ -Werte zwischen 0,9 und 7,8% mit höheren Werten in Szenarien mit kürzeren ROH-Längen. Auch die Maximalwerte des  $F_{ROH}$  nahmen mit steigender ROH-Länge ab (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Mittlere genomische Inzucht ( $F_{ROH}$ , in %) mit Standardabweichung (Std.), Minimum und Maximum sowie 10%- (P10) und 90%-Perzentil (P90) für 63.169 deutsche Warmblutpferde der Geburtsjahrgänge 2021-2023, ermittelt mit unterschiedlichen Längen (in kb) von DNA-Abschnitten, die als homozygoten Segment (ROH) berücksichtigt wurden.

ROH-Länge	Mittelwert	Std.	Minimum	P10	P90	Maximum
$\geq 500$	7,83	2,29	0,05	5,31	10,76	54,24
$\geq 1.000$	7,77	2,28	0,05	5,26	10,69	52,56
$\geq 1.500$	7,48	2,24	0,00	5,01	10,35	44,78
$\geq 2.000$	6,79	2,19	0,00	4,40	9,59	35,55
$\geq 3.000$	5,11	2,03	0,00	2,92	7,70	31,40
$\geq 4.000$	3,88	1,85	0,00	1,90	6,24	28,99
$\geq 5.000$	2,98	1,69	0,00	1,21	5,14	27,22
$\geq 6.000$	2,29	1,53	0,00	0,69	4,24	26,28
$\geq 10.000$	0,90	1,01	0,00	0,00	2,15	23,06

Unter Berücksichtigung der Dichte autosomaler SNPs auf dem verwendeten SNP-Array sollten die Ergebnisse, die mit der ROH-Länge  $\geq 2.000$  kb erzielt wurden und einen mittleren  $F_{ROH}$  von 6,9% ergaben, die genomische Inzucht am besten widerspiegeln. Dass längere ROH ( $\geq 10.000$  kb) nur bei 69,2% (N=43.702) der Pferde nachgewiesen wurden (mittlere  $F_{ROH}$  0,9%), deutet auf eine geringere Rolle der jüngeren als der historischen Inzucht hin.

Insgesamt lagen für 63.169 Pferde pedigreebasierte und genomische Inzuchtkoeffizienten vor, die zu 0,61 korrelierten (Pearson-Korrelationskoeffizient). Die je Geburtsjahrgang ermittelten mittleren Inzuchtkoeffizienten gaben mit Werten von 1,5-1,8% ( $F_{Ped}$ ) bzw. 6,7-7,1% ( $F_{ROH}$ ) keine Hinweise auf einen steten Inzuchtzuwachs in der aktuellen deutschen Warmblutzucht (Tabelle 2).

**Tabelle 2:** Mittlere genomische ( $F_{ROH}$ ) und pedigreebasierte ( $F_{Ped}$ ) Inzuchtkoeffizienten (Mw., in %) mit Standardabweichung (Std.), Minimum (Min.) und Maximum (Max.) von 63.169 deutschen Warmblutpferden der Geburtsjahrgänge 2021-2023 im Vergleich.

Geburtsjahr	$F_{ROH}$ (ROH-Länge $\geq 2.000$ kb)				$F_{Ped}$			
	Mw.	Std.	Min.	Max.	Mw.	Std.	Min.	Max.
2021	7,08	2,35	0,00	33,22	1,79	1,67	0,00	25,27
2022	6,74	2,18	0,00	35,56	1,51	1,49	0,00	26,81
2023	6,71	2,10	0,00	33,60	1,52	1,41	0,00	27,03

Erwartungsgemäß ergaben sich genomisch höhere Inzuchtkoeffizienten als pedigreebasiert, doch sind die ermittelten Werte insgesamt unter Berücksichtigung des jeweiligen methodischen Vorgehens im Vergleich zu Ergebnissen, die zu anderen Pferderassen veröffentlicht wurden (z.B. McGivney et al. 2020, Steensma et al. 2024, VanMol et al. 2023), als moderat einzuordnen. Ein großer Vorteil der genomisch ermittelten Inzuchtkoeffizienten liegt in der Unabhängigkeit von Pedigreetiefe und -qualität, wodurch auch Aussagen zu Pferden ohne oder mit nur lückenhaft verfügbaren Abstammungsdaten getroffen werden können. Gleichzeitig ermöglichen ROH-basierte Auswertungen, Aussagen zum Zeitpunkt relevanter Inzuchtereignisse zu treffen.

Neue Anwendungen, die genomische Parameter zur Populationsstruktur einbinden, können in Zukunft die Züchter bei ausgewogenen Selektions- und Anpaarungsentscheidungen unterstützen. Ein Monitoring der genetischen Diversität kann als Bestandteil genomisch unterstützter Zuchtprogramme die deutsche Reitpferdezucht weiter stärken.

## 4 Danksagung

Die Autoren danken der H. Wilhelm Schaumann Stiftung für die finanzielle Förderung. Die verwendeten Genotypdaten wurden freundlicherweise von der International Association of Future Horse Breeding GmbH & Co. KG (IAFH), Vechta, zur Verfügung gestellt.

## 5 Literatur

- Boichard D. (2002): Pedig: a fortran package for pedigree analysis suited for large populations. Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 32, 525-528.
- McGivney B. A., Han H., Corduff L. R., Katz L. M., Tozaki T., MacHugh D. E., Hill E. W. (2020): Genomic inbreeding trends, influential sire lines and selection in the global Thoroughbred horse population. *Sci. Rep.* 10, 466.
- Lututaya E., Misztal I., Bertrand J. K., Mabry J. W. (1999): Inbreeding in populations with incomplete pedigrees. *J. Anim. Breed. Genet.* 166, 475-480.
- McQuillan, R., Leutenegger A.-L., Abdel-Rahman R., Franklin C. S., Pericic M., Barac-Lauc L., Smolej-Narancic N., Janicijevic B., Polasek O., Tenesa A., Macleod A. K., Farrington S. M., Rudan P., Hayward C., Vitart V., Rudan I., Wild S. H., Dunlop M. G., Wright A. F., Campbell H., Wilson J. F. (2008): Runs of homozygosity in European populations. *Am. J. Hum. Genet.* 83, 359-372.
- Meuwissen T. H. E., Luo Z. (1992): Computing inbreeding coefficients in large populations. *Genet. Sel. Evol.* 24, 305-313.
- Nolte W., Alkhoder H., Wobbe M., Stock K. F., Kalm E., Vosgerau S., Krattenmacher N., Thaller G., Tetens J. Kühn C. (2022): Replacement of microsatellite markers by imputed medium-density SNP arrays for parentage control in German warmblood horses. *J. Appl. Genet.* 64(4), 783-792.
- Nolte W., Thaller G., Kühn C. (2019): Selection signatures in four German warmblood horse breeds: Tracing breeding history in the modern sport horse. *PLoS One* 14(4): e0215913.
- Purcell, S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M. A. R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P. I. W., Daly M. J., Sham P. C. (2007): PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Am. J. Hum. Genet.* 81, 559-575.
- Steensma M. J., Doekes H.P., Pook T., Derks M. F. L., Bakker N., Ducro B. J. (2024): Evaluation of breeding strategies to reduce the inbreeding rate in the Friesian horse population: Looking back and moving forward. *J. Anim. Breed. Genet.* <https://doi.org/10.1111/jbg.12872>.
- Teegen R., Edel C., Thaller G. (2009): Population structure of the Trakehner Horse breed. *Anim.* 3(1), 6-15.
- Van Mol B., Hubrechts H., Meyermans R., Chapard L., Gorssens W., Oosterlinck M., Buys N., Pille F., Janssens S. (2023): Inbreeding in the Belgian equine warmblood population: current degree and evolution. In: 74. Jahrestagung der Europäischen Vereinigung für Tierproduktion (EAAP), 26. August - 1. September 2023, Lyon, Frankreich. EAAP Book of abstracts, Wageningen Academic Publishers, Niederlande, 29, 981.