

# PEDIGREE- UND FARBGENETISCHE UNTERSUCHUNGEN BEIM ÖSTERREICHISCH-UNGARISCHEN WEIßEN BAROCKESEL



**BERICHT** der im Rahmen des BMNT FORSCHUNGSPROJEKTES  
„FARBGEN 101332“ durchgeführten Studien zur Farbgenetik  
beim Österreichisch-Ungarischen Weißem Barockesel



#### IMPRESSUM

Mag.vet.med.Mag.phil.Gertrud Grilz-Seger  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Department für Biomedizinische Wissenschaften  
Institut für Tierzucht und Genetik  
Tel. : +43 0664 602575634  
E-Mail: [gertrud.grilz@vetmeduni.ac.at](mailto:gertrud.grilz@vetmeduni.ac.at)

## Inhaltsverzeichnis

BERICHT der im Rahmen des BMNT FORSCHUNGSPROJKTES „FARBGEN 101332“ durchgeführten Studien zur Farbgenetik beim Österreichisch-Ungarischen Weißen Barockesel .....	1
Pedigree- und Inzuchtanalyse beim Österreichisch-Ungarischen Weißen Barockesel .....	4
Einleitung.....	4
Material und Methode .....	5
Ergebnisse.....	5
Diskussion.....	7
PCA Analyse anhand von SNP Daten .....	8
Farbgenetische Untersuchungen beim Weißen Barockesel .....	9
Einleitung.....	9
Material und Methoden .....	11
Ergebnisse.....	12
Diskussion.....	13
Schlussfolgerungen .....	14
Literatur.....	14

# Pedigree- und Inzuchtanalyse beim Österreichisch-Ungarischen Weißen Barockesel

## 1. Einleitung

Mit geschätzten 44 Millionen Tieren zählt der Esel auch heute noch weltweit zu den wichtigsten Arbeitstieren (Starkey and Starkey, 2000). Trotz seiner enormen wirtschaftlichen Bedeutung ist das Interesse der Wissenschaft an dieser Equidenart im Vergleich zum Pferd gering. Während beim Pferd zahlreiche Studien zu Domestikationsprozessen und deren Auswirkungen auf das Genom am aktuellen Stand der Technik vorliegen, fehlen vergleichbare Arbeiten für den Esel, der hauptsächlich als sogenannte „outgroup“ zum Zwecke der Eichung der genetischen Pferdephylogenien verwendet wurde. Vom Esel, der sich vor ca. 4.5 Mio. Jahren vom gemeinsamen Entwicklungszweig mit dem Pferd abspaltete, nimmt man an, dass er vor ca. 5.000 Jahren in Ägypten domestiziert worden ist (Kimura et al., 2011). In zwei älteren Studien, die auf der Analyse mitochondrialer DNA basierten, wurden zwei Domestikationsereignisse jeweils in Somalia und Nubien angenommen (Rossel, 2008; Beja-Pereira et al., 2004). Bis zur vollständigen Mechanisierung der Landwirtschaft war der Esel in den südeuropäischen Ländern das wichtigste landwirtschaftliche Arbeitstier. Auch wenn seitdem viele Populationen bis zum Rande des Aussterbens gedrängt wurden, gibt es dennoch bis zu 55 Eselrassen bzw. Varianten in Europa. Als Vorarbeiten für Erhaltungszuchtprogramme wurden bislang eine Reihe von Mikrosatellitenmarker basierenden Diversitätsstudien einzelner Populationen vor allem in Italien, Spanien und Frankreich durchgeführt. So wurde beispielsweise die französische Eselrasse Baudet du Poitou von Bellone et al. (1998), der Katalonische Esel von Jordana et al. (1999, 2001) und mehrere spanische Eselrassen von Aranguren-Mendez et al. (2001, 2002) untersucht. Italienische Forschergruppen beschäftigten sich besonders intensiv mit dem Esel, und veröffentlichten zwischen 2001 bis 2014 sieben Studien zur genetischen Diversität, die sich acht der insgesamt 15 in Italien gezüchteten Eselrassen widmeten (Cossedu et al., 2001; Guastella et al., 2007; Ciampollini et al., 2007; Bordonaro et al., 2012; Colli et al., 2012; Matassino et al., 2014).

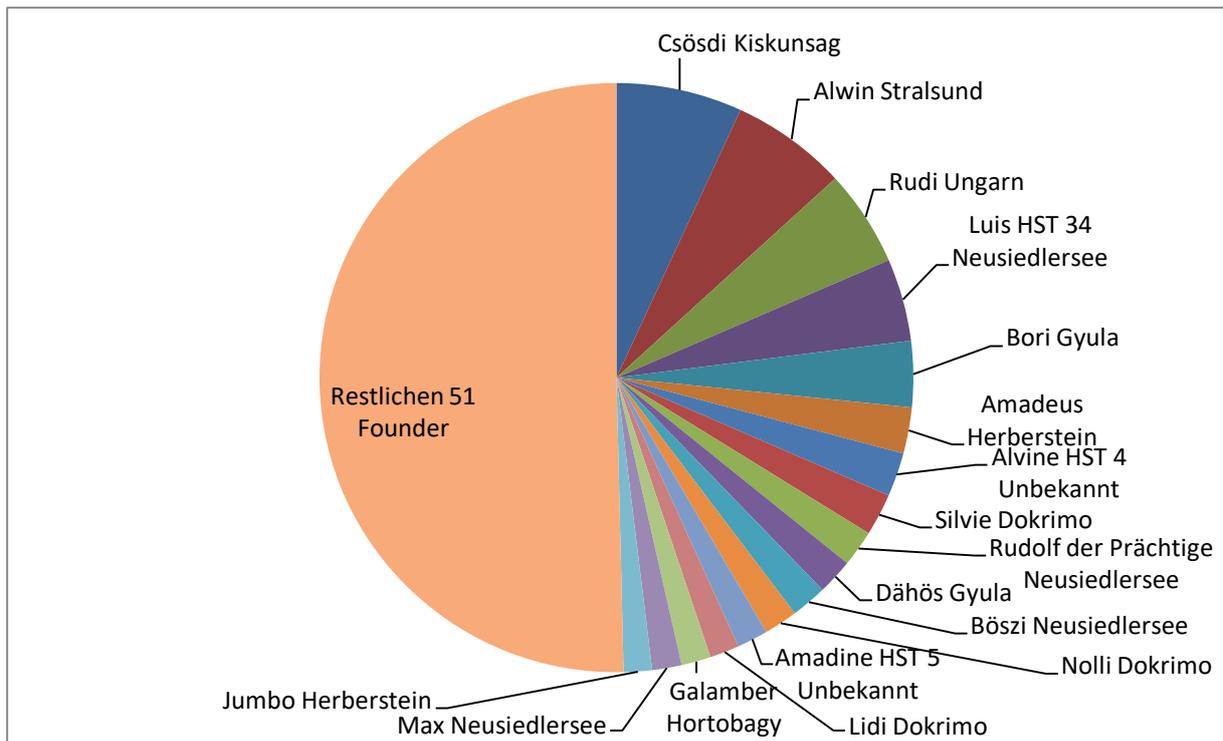
Die vollständige Sequenzierung des Pferdegenoms im Jahre 2006 stellte einen Meilenstein dar, insofern als erstmals ein Referenzgenom vorlag (Chowdhary and Raudsepp, 2006), auf dessen Basis genomweite hochdichte SNP Genotypisierungs-Arrays entwickelt wurden (McCue et al., 2012). Mit diesen SNP Chips eröffneten sich neue Möglichkeiten um Genomweite Assoziationsanalysen (GWAS) und Selektionssignatur-Studien in den einzelnen Rassen und Populationen durchzuführen. Beim Esel ist das Genom bis dato noch nicht vollständig entschlüsselt, es liegt noch kein Eselreferenzgenom vor, sondern lediglich sogenannte scaffolds – einzelne kürzere Sequenzstücke ohne genaue Struktur der chromosomalen Abfolge. Renaud et al. (2018) erarbeiteten das bislang vollständigste Arbeits-Assembly, basierend auf dem Esel „Willy“, welches 9021 scaffolds beinhaltet, wobei das längste gelesene Stück lediglich 84.Mb betrug (2.4 Gb bei Twilight/Pferdegenom). Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, erstmals die Populationsstruktur des weißen österreichisch-ungarischen Barockesels anhand von Pedigreedaten zu untersuchen. Zusätzlich wurde eine zehn Tiere umfassende Stichprobe versuchsweise mittels des Equinen 670k Affymetrix Genotypisierungs-Array genotypisiert.

## 2. Material und Methode

Der Datenbankauszug der österreichischen Eselpopulation umfasste 390 tierindividuelle Datensätze. Jeder dieser Datensätze beinhaltet neben Namen, die Lebensnummern vom Tiere, Vater und Mutter, das Geschlecht, das Geburtsjahr und die Fellfarbe. Dieser Pedigree wurde verwendet, um folgende Kennzahlen für die genetische Diversität zu berechnen: Inzuchtkoeffizienten, effektive Anzahl von Gründertieren  $f_e$ , Anzahl Ahnen/Gründer die 50% des Genpools erklären ( $n_{A50}$ ). Als Gründertiere sind jene Tiere definiert, deren Vorfahren (ein oder beide Elternteile) nicht ermittelt werden können. Die effektive Anzahl von Gründern ( $f_e$ ) bezeichnet jene Zahl von Gründern, die bei ausgeglichenen genetischen Beiträgen zur aktuellen Population dieselbe genetische Diversität erwarten lassen, wie sie in den Referenzpopulationen gemessen wird (Boichard et al., 1997). Die Pedigree-Analysen wurden mit dem Computerprogramm ENDOG 4.6 (Gutierrez und Goyache, 2005), die deskriptive Statistik und das Prozessieren der Pedigree-Daten wurden mit dem Software Paket SAS (2009) durchgeführt, wobei die Prozeduren proc sql und die einzelnen Datenstep-Funktionen für die Rohdatenbearbeitung und proc means und proc freq für die Berechnung von Mittelwerten und Häufigkeiten verwendet wurden.

## 3. Ergebnisse

Der Pedigree Auszug der Zuchtdatenbank beinhaltete 390 Tierdatensätze. Davon waren 146 Hengste 217 Stuten und 26 Wallache. Die Pedigreeelänge betrug durchschnittlich 1.51 Generationen (Min. 0, Max. 6) mit einem Generationsäquivalent von 1.13 vollen Generationen. Von 116 Tieren war keine Abstammung bekannt. Ohne Abstammungslose Tiere ergab sich eine durchschnittliche Pedigreeelänge von 2.15 Generationen und ein Generationsäquivalent von 1.61 vollen Generationen. Von den insgesamt 390 Tieren waren 133 Tiere Gründer, wobei lediglich 68 Gründertiere genetische Beiträge zur aktuellen lebenden Population von 257 Eseln lieferten. Die effektive Anzahl an Gründertieren ergab 25 Tiere, wobei 17 Gründer bzw. 10 Ahnen 50% des Genpools erklärten. Die Inzucht der insgesamt 43 ingezüchteten Tiere lag durchschnittlich bei 21.3% und variierte von 10.9% bis 37.5%. Von 204 Tieren konnte aufgrund fehlender Pedigrees (< 1 Generation Abstammungsaufzeichnung) kein Inzuchtkoeffizient geschätzt werden.



**Abbildung 1:** Die wichtigsten Gründertiere des Barockesels die 50% des Genpools bestimmen

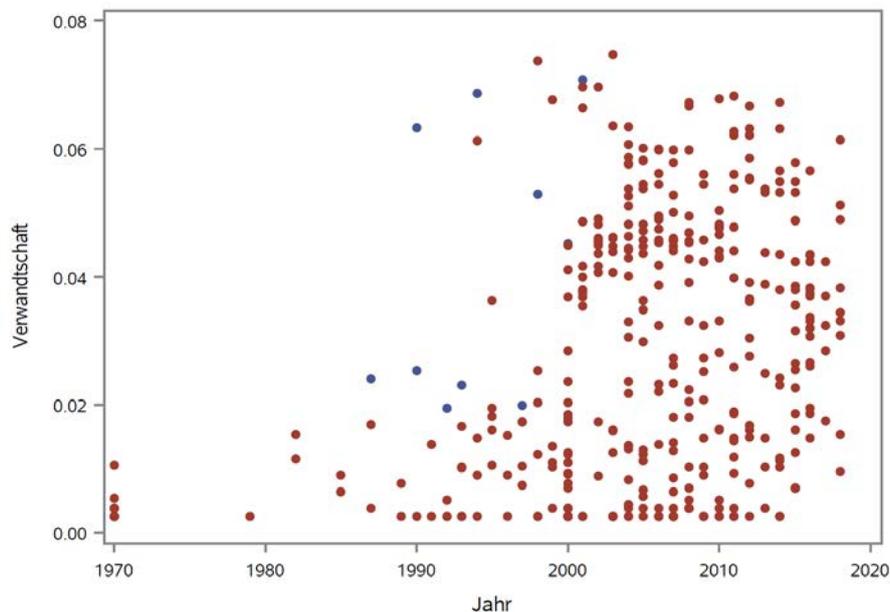
In Abbildung 1 sind die Genanteile der 17 wichtigsten Gründertiere, die 50 Prozent des Genpools des österreichisch-ungarischen Barockesels bestimmen, dargestellt. Viele dieser Gründer sind gleichzeitig auch die wichtigsten Zuchttiere (Ahnen), wobei in beiden Fällen folgende fünf Eselhengste die bedeutendsten sind: Csöszi Kiskunsag mit 9.8% Genanteil, Alwin Stralsund mit 8.9%, Didi Neusiedlersee mit 8.0 %, Luis HST 34 Neusiedlersee mit 6.5% und Rudi Ungarn mit 3.7% (Abb.1 und Tab.1).

**Tabelle 1.** Die wichtigsten Zuchttiere beim Barockesel, die zusammen 50% des Genpools bestimmen.

Name	Geschlecht	Geburtsjahr	Genanteil
Csöszi Kiskunsag	H	1994	9,82%
Alwin Stralsund	H	1990	8,89%
Didi Neusiedlersee	H	2001	7,98%
Luis HST 34 Neusiedlersee	H	2000	6,47%
Rudi Ungarn	H	1998	3,65%
Amadeus Herberstein	H	1990	3,45%
Alvine HST 4 Unbekannt	S	1987	3,18%
Silvie Dokrimo	S	1993	2,92%
Rudolf der Prächtige Neusiedlersee	H	1997	2,63%
Dähös Gyula	S	1992	2,58%

In Abbildung 2 wird die durchschnittliche Verwandtschaft aller Esel mit der Gesamtpopulation geordnet nach Geburtsjahren dargestellt. Aus diesen Berechnungen ergeben sich innerhalb der wichtigsten Zuchttiere (blau markiert) zwei Gruppen: 1) eine Gruppe bestehend aus fünf Zuchttieren, die eine niedrige Verwandtschaft (bis zu 0.025) aufweisen (Tiere: Amadeus Herberstein, Alvine HST 4

Unbekannt, Silvie Dokrimo, Rudolf der Prächtige Neusiedlersee, Dähös Gyula) und 2) und ein Cluster aus 5 Tieren mit einem hohen Verwandtschaftsgrad zur Population (0.045 bis 0.070).



**Abbildung 2:** Durchschnittliche Verwandtschaft einzelner Zuchttiere mit der gesamten Population entlang der Zeitachse definiert durch das Geburtsjahr (blaue Markierung heben die wichtigsten Zuchttiere hervor).

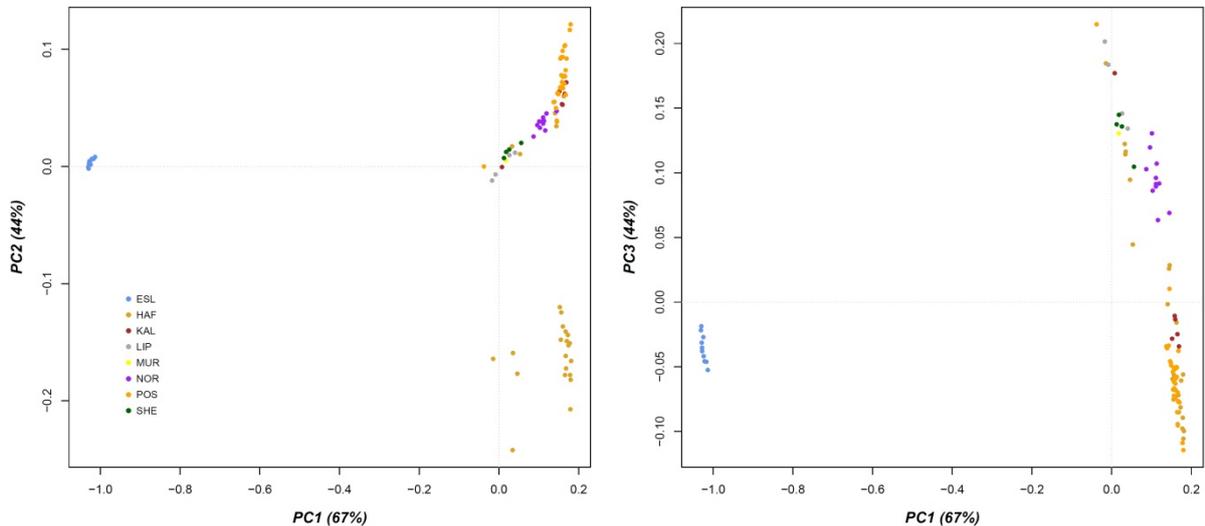
Die effektiven Populationsgrößen in der österreichisch-ungarischen Barockeselpopulation variierten zwischen 25 (effektive Anzahl an Gründertieren/Ahnen), bzw. zwischen 18.07 und 19.18 (effektive Populationsgröße abgeleitet von der Inzuchtsteigerung pro Generation). Das Generationsintervall lag bei 8.31 Jahren mit einem Standardfehler von  $\pm 0.47$ .

#### 4. Diskussion

Für den Großteil der in dem elektronischen Zuchtbuch erfassten Esel liegen bis dato nur kurze Pedigrees vor. Für jene Tiere, die über einen höheren Vollständigkeitsgrad der Aufzeichnungen verfügen, wurden hohe bis sehr hohe Inzuchtcoeffizienten, die von 10.9% bis 37.5% reichten, ermittelt. Um einer weiteren Inzuchtsteigerung entgegenzuwirken, wäre die Etablierung von Eselhengst-Genealogien empfehlenswert. Damit diese Systematik für die einzelnen Züchter leicht nachvollziehbar ist, und die Hengstauswahl dadurch erleichtert ist, empfiehlt sich die Etablierung einer Nomenklatur, wie sie bei den traditionellen österreichischen Pferderassen angewandt wird. Entweder können alle Hengste innerhalb einer Linie mit demselben Anfangsbuchstaben gekennzeichnet werden, oder in Analogie zum Noriker, kann eine Doppelnamennomenklatur eingeführt werden, die sich aus der Linienbezeichnung und einem individuell gegebenen Namen zusammensetzt. Unter Berücksichtigung der einzelnen Stämme bzw. Zweige, kann eine zu enge Anpaarung zukünftig vermieden werden, was den Inzuchtgrad langfristig in einen üblichen Bereich von 5 bis 12% pendeln lassen soll. Gerade bei der Aufstellung der Vätertiere sollte in Zukunft in der Verbandsarbeit mehr Augenmerk auf die Verwandtschaft gelegt werden.

## PCA Analyse anhand von SNP Daten

Auf Basis der genomweit von den 670k SNP Genotyp Daten abgeleiteten Verwandtschaftsmatrix, konnte mit der Hauptkomponentenanalyse der gravierende genetische Unterschied zwischen Eselgenom und Pferdegenom gezeigt werden.



**Abbildung 3:** Hauptkomponentenanalyse anhand von genomweiten SNP Daten

Die aus sehr divergenten Pferderassen zusammengesetzte Stichprobe bildete einen vergleichsweise kompakten Cluster, der sehr weit vom Esel Cluster entlang der ersten Hauptkomponente entfernt war (Abbildung 3). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Pedigreeanalyse gruppierten sich die einzelnen Esel eng aneinander.

# Farbgenetische Untersuchungen beim Weißen Barockesel

## 1. Einleitung

Der weiße Österreichisch-Ungarische Barockesel ist eine Rarität, bei dem wie beim italienischen Asinara Esel, die weiße Fellfarbe ein wichtiges Rassemmerkmal ist. Die Rassengeschichte des Barockesels ist noch nicht gänzlich geklärt. Es ist bekannt, dass weiße Esel bis ins 19. Jahrhundert in privaten Adelsgestüten gezüchtet wurden. Im Habsburger Hofgestüt Kladrub wurde eine kleine Eselherde zum Zwecke der Maultierzucht gehalten (Grilz-Seger und Druml, 2011), wobei ein Hinweis auf eine explizite Zucht auf weiße Fellfarben bislang fehlt. Während bei den österreichischen Pferderassen das Interesse an deren Zucht und Erhaltung im Laufe des 20. Jahrhundert ungebrochen war, setzte eine intensivere Auseinandersetzung mit den Barockeseln erst in den 1980ern ein. Die Wiederentdeckung einer weißen und morphologisch einheitlichen Eselpopulation im Zoo Herberstein und eines Esels in Ungarn war der Ausgangspunkt für die Revitalisierung dieser Rasse. Dabei wurden zwei Pärchen aus der Nukleus Herde von Herberstein in den Erfurter Zoo transferiert, diese Esel gelangten mit ihrer Nachzucht in weiterer Folge in den Stralsunder Zoo, wo bis heute eine Herde besteht (Altmann, 2002). In Österreich wurde in den 1990er Jahren eine bis heute bestehende Zuchtherde im Nationalpark Neusiedlersee/Illmitz etabliert. Gegenwärtig gibt es in Österreich drei Nukleus Herden (Zoo Herberstein, Schlosshof, National Park Neusiedler See und mehrere private Zuchtstätten). Rund 257 Tiere sind im Verein zur Erhaltung der Weißen Barockesel registriert.

Der italienische Asinara Esel, eine halbwild auf der gleichnamigen sardonischen Insel gehaltene Eselrasse, weist einen dem österreich-ungarischen Barockesel ähnlichen Farbphänotyp auf, der durch unpigmentierte Haut und Haare, weiße Hufe und blaue Augen charakterisiert ist (Utzeri, 2015). Während als genetische Ursache für die weiße Farbe des Asinara Esels eine rezessiv vererbte Mutation (c.604C>G) im Tyrosinase (*TYR*) Gen identifiziert wurde (Utzeri et al., 2015), ist der genetische Hintergrund der weißen Fellfarbe beim österreichisch-ungarischen Barockesel noch ungeklärt.

Generell spielte die Gattung *Equus* nicht nur eine modellhafte Rolle bei der Erforschung des Domestikationsprozesses (Levine, 1999; Rossel et al., 2008; Librado et al. 2016), sondern insbesondere das Pferd stellte mit seinen vollständigen Pedigrees eine wichtige Quelle für die Erforschung der Vererbung der Fellfarbe dar. Auf Basis von Pedigreestudien wurden seit Anfang des 20. Jahrhunderts die meisten Erbregeln für die einzelnen Farbvarianten ermittelt. Mit den neuesten genetischen Methoden konnten die Hypothesen nicht nur bestätigt und einzelne Gentests etabliert werden, sondern es wurde auch der den unterschiedlichen Fellfarben zugrundeliegende biochemische Mechanismus weitgehend aufgeklärt (Abb.4). Einen Überblick zu den bekannten Farbloci beim Pferd publizierte Rieder (2009). Der Esel weist eine dem Pferd vergleichbare Variabilität in der Fellfarbe auf, jedoch sind die Vererbungsmuster und die molekulargenetischen Ursachen wenig erforscht. Einen Grund dafür stellen auch die teilweise fehlenden oder inkomplett dokumentierten Pedigrees dar (vgl. Pedigreelänge Lipizzaner - max. 33 Generationen, im Schnitt 19 volle Generationen; Noriker – max. 32 Generationen (Grilz-Seger und Druml, 2017)).



**Abbildung 4:** Links ein Kinsky Pferd mit depigmentierter Haut, blauen Augen und cremeweißem Fell verursacht durch den homozygoten Status des Cream Allels, rechts ein Österreich-Ungarischer Barockesel (Fotos Tschechischer Kinsky Zuchtverband, Schardax)

Beim Esel ist die wissenschaftliche Erforschung der genetischen Grundlagen der Fellfarben noch in ihren Anfängen. Abitbol et al. (2014) gelang die Identifizierung einer rezessiv vererbten Variante (c.629T>C) im *MC1R* Gen, die für die rote (Fuchs) Fellfarbe beim Esel verantwortlich ist. Dieselbe Forschergruppe (Abitbol et al., 2015) assoziierte eine rezessiv vererbte Variante (c.349 T > C) im *ASIP* (agouti signaling protein) Gen, mit dem Fehlen der beim Esel typischen Aufhellungen des Haares um das Maul, die Augen, Bauchunterseite und Schenkelinnenseiten erklärt werden kann. Beide Varianten können mittlerweile auch mit einem Gentest getestet werden.

Der amerikanische Wissenschaftler Phillip Sponenberg lieferte eine Klassifizierung der Fellfarben beim Esel, indem er die Systematik und Nomenklatur beim Pferd als Referenz verwendete. Bei den Farb-Phänotypen wie sie beim österreich-ungarischen Barockesel vorliegen, differenzierte Sponenberg (2009) zwischen ivory/cameo und weißgeborenen Varianten. Sponenberg (2009) zählt den ivory/cameo Phänotyp beim Esel in Analogie zu den Cream/Champagne und Perlino Phänotypen beim Pferd (Abb.4) zu den Verdünnungen, und er beschrieb die Sichtbarkeit eines eventuell vorhandenen Aalstriches bzw. Schulterkreuzes als typisches Kennzeichen von ivory/cameo. Bei den weiß geborenen Eseln differenzierte Sponenberg (2009) zwei Varianten: zwischen Tieren mit weißem Fell und pigmentierten Augen und solchen mit weißem Fellkleid und blauen Augen (Sponenberg, 2009).

Gegenwärtig sind drei genetische Mutationen bekannt, die kausal für die Depigmentierung des Eselhaarkleids sind. Neben der zuvor genannten missense Mutation im *TYR* Gen (Utzeri et al., 2015), identifizierten Haase et al. (2015) zwei weitere Mutationen im *KIT* Gen, welche weiße Fellfarbe und Scheckung hervorrufen. Die missense Mutation (c.662A>C) im Exon 4 des *KIT* Gens zeichnet sich verantwortlich für die Dominant White Färbung (weißes Fellkleid mit pigmentierten Augen, entdeckt bei einem weißen ungarischen Esel), und eine Variante, welche die splice donor site im *KIT* Gen beeinflusst (c.1978+2T>A) resultiert in einer beim Esel üblichen Scheckungsform (Abb.5).



**Abbildung 5:** Verschiedene beim Esel vorkommende depigmentierte Phänotypen: oben links ein österr.-ungar. Barockesel, oben rechts ein Asinara Esel, unten links zwei Schimmel, unten rechts ein gescheckter Esel (Fotos Grilz-Seger, Schardax)

Das Ziel dieser Studie war es, die genetischen Hintergründe der spezifischen Fellfarbe des österreichisch-ungarischen Weißen Barockesels zu untersuchen. Nachdem der Esel im Vergleich zum Pferd eine wenig untersuchte Nutztier rasse darstellt, und die Fellfarbe des Barockesels in Österreich noch nicht Gegenstand der Forschung war, musste zuerst ein Überblick zu den fragmentarisch vorliegenden Informationen gewonnen werden. Diese Arbeit vermittelt somit erstmals einen Überblick zum aktuellen Forschungsstand beim Esel im Allgemeinen und gibt Hinweise, welche weiterführenden Untersuchungen notwendig wären.

## 2. Material und Methoden

Mithilfe des Verbandes konnten neben bestehenden Proben aus der Abstammungskontrolle zusätzlich weiße ungarische Esel und farbige Esel in die Studie miteinbezogen werden. Insgesamt lagen von 39 weißen Österreichisch-Ungarischen Barockeseln Proben vor. Zusätzlich standen Proben von zwei italienischen Asinara Eseln, zwei weißen ungarischen Eseln ohne Abstammung, und drei farbigen ungarischen Eseln, die weiß gefärbte Nachkommen hatten, zur Verfügung. Als Vergleichsgruppe dienten die Haarproben von fünf farbigen Eseln (zwei Falben, ein Brauner und zwei Rappen), zwei Schimmel und zwei Schecken. Durch die Kooperation mit den italienischen Forschungspartnern von der Universität Bologna konnten weitere Asinara Esel in die Analyse miteinbezogen werden.

In einem ersten Schritt wurde eine Stichprobe der weißen österreichisch-ungarischen Barockesel (n=14), zwei italienische, drei ungarische Esel, zwei Schecken, ein Schimmel und ein brauner auf die Loci Dominant White (c.662A>C) und den Scheckungs Locus (c.1978\*2T>A) nach Haase et al. (2015) genetisch getestet.

In einem zweiten Schritt wurde in Zusammenarbeit mit den italienischen Kooperationspartnern die mit dem albinotischen Phänotyp beim Asinara Esel assoziierte rezessive Mutation (c.604C>G) im Tyrosinase (TYR) Gen in einer Stichprobe, die sich aus 41 Eseln zusammensetzte, genotypisiert. Diese Stichprobe umfasste 27 österreichisch-ungarische Barockesel, zwei weiße Esel aus Ungarn, drei farbige ungarische Eseln mit weißen Nachkommen, einen Asinara und sieben Tieren ohne Abstammungen.

### 3. Ergebnisse

Die Mutation auf dem Scheckungs Locus (c.1978\*2T>A) war bei den zwei getesteten gescheckten Eseln in heterozygoter Form vorhanden, alle anderen Tiere wiesen diese Mutation nicht auf (Tab. 3).

**Tabelle 3.** Genotypen der getesteten Esel auf dem Scheckungs Locus (c.1978\*2T>A) und dem Dominant White Locus (c.662A>C)

Rasse	Farbe	Genotyp Scheckung	Genotyp Dominant White
ohne Abst.	Schimmel	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel, HUN	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel, HUN	Weiß	T/T	A/A
Österr.-ung. Barockesel, HUN	Weiß	T/T	A/A
Esel HUN	Grau / mit weißen Nachkommen	T/T	A/A
Esel, HUN	Grau / mit weißen Nachkommen	T/T	A/A
Esel, HUN	Schwarz mit weißen Nachkommen	T/T	A/A
Asinara	Weiß	T/T	A/A
Asinara	Weiß	T/T	<b>A/C</b>
ohne Abst.	Grauschecke (Dun)	<b>T/A</b>	A/A
ohne Abst.	Grauschecke (Dun)	<b>T/A</b>	A/A

Die Mutation im Dominant White Locus (c.662A>C) konnte als Ursache für die weiße Fellfarbe des österreichisch-ungarischen Barockesel ausgeschlossen werden, keines der getesteten Tiere wies diese Mutation auf. (Tab.3). Bei einem einzigen Tier in der Stichprobe, einem Asinara Esel, lag die Mutation in heterozygoter Form vor.

Durch die Genotypisierung des beim Asinara Esel mit dem depigmentierten Phänotyp assoziierten Locus (c.604C>G) im *TYR* Gen konnte diese Mutation als Verursacher der weißen Fellfarbe beim österreichisch-ungarischen Barockesel ausgeschlossen werden. Alle Barockesel waren homozygot C/C (Wildallel), ebenso alle anderen 12 Tiere mit unterschiedlichem Phänotyp. Lediglich beim Asinara Esel konnte das assoziierte G Allel nachgewiesen werden, das in homozygoter Form vorlag (G/G).

Zusammenfassend kann damit konstatiert werden, dass die drei bislang bekannten Loci im *TYR* und *KIT* Gen, die mit einer Depigmentierung der Haut und der Haare beim Esel einhergehen, als Ursache für den charakteristischen Phänotyp des weißen österreich-ungarischen Barockesels ausgeschlossen werden können.

#### 4. Diskussion

Durch die Genotypisierung bekannter Loci im *KIT* und im *TYR* Gen beim Weißen österreichisch-ungarischen Barockesel war es möglich, diese Mutationen als Ursache für die weiße Fellfärbung in der untersuchten Stichprobe auszuschließen. Obwohl der Farbphänotyp des Asinara und des Barockesels sehr ähnlich ist und durch depigmentierte Haut und Haare, weiße Hufe und blaue Augen charakterisiert ist, konnte die von Utzeri et al. (2015) beim Asinara identifizierte Mutation im *TYR* Gen bei keinem der österreichischen Barockesel nachgewiesen werden.



Abbildung 6: Österreich-ungarischer Barockesel mit Restpigment im Fohlenfell (Fotos Scoufal)

Nachdem die beiden weiteren bekannten Loci, Dominant White (c.662A>C) und der Scheckungs Locus (c.1978\*2T>A) (Haase et al., 2015), ebenfalls als Ursache für den Phänotyp der österreichisch-ungarischen Barockesels ausgeschlossen werden können, ergeben sich mehrere Hypothesen, die Ausgangspunkt weiterführender Analysen sein können. Eine mögliche Interpretation ist, dass beim Barockesel ein pseudoalbinotischer Phänotyp (ivoy/camoe laut Sponenberg und Bellone (2017)) vorliegt, der durch bislang nicht identifizierte Verdüner in Analogie zu den Cream/Champagne und Perlino Fellfarben des Pferdes verursacht wird. Für diese Hypothese spricht das bei vielen Fohlen und Jungtieren des Barockesels vorhandene Restpigment im Fellkleid (Abb. 6).

Eine weitere mögliche Interpretation der Ergebnisse wäre die mögliche Existenz einer bislang noch nicht identifizierten Mutation im Tyrosinase Gen. Diese Hypothese ist derzeit Gegenstand weiterführender Untersuchungen der italienischen Kooperationspartner und dürfte im Laufe des nächsten Jahres abgeschlossen sein. Im Falle eines negativen Resultats müssten weiterführende Untersuchungen durchgeführt werden. Laut den Ergebnissen dieses Forschungsprojektes könnten mögliche Kandidaten Gene, unter anderen die Gene OCA2 und SLC45A2, die phänotypische Ähnlichkeiten in anderen Spezies hervorrufen, in Betracht gezogen werden (Holl et al., 2019; Chaduff et al., 2017; Winkler et al., 2014).

## 5. Schlussfolgerungen

Die Resultate der Studie haben eine Bedeutung für die Interpretation der Zuchtgeschichte und für das Zuchtprogramm beim österreichisch-ungarischen Barockesel, da wir daraus schließen können, dass keine direkte genealogische Verbindung zwischen dem phänotypisch ähnlichen italienischen Asinara Esel und dem Weißen Österreichisch-Ungarischen Barockesel besteht. Die Aufnahme von Asinara Esel in das Zuchtbuch des öster.-ung. Barockesels kann im Sinne der Generhaltung nicht empfohlen werden. Bei der Integration von weißen Eseln ohne Abstammung, insbesondere aus Ungarn, empfiehlt sich eine sorgfältige Exterieur Beurteilung, welche die Augenfarbe miteinschließt. Weiße Eseln mit pigmentierten Augen können Träger der Dominant White Mutation sein, die bislang nicht in der Barockeselpopulation segregiert. Bei fraglichen Tieren empfiehlt es sich mittels Gentest das Vorhandensein dieser Mutation zu verifizieren bzw. auszuschließen.

*Danksagung: Die Projektmitarbeiter/innen möchten sich sehr herzlich für die Unterstützung bei Herrn Dr. Eduard Fellinger und Karl Schardax vom Verein zur Erhaltung der weißen Barockesel, bei den Mitarbeitern des Nationalparks Neusiedlersee/Illmitz und Gerti Fuchsberger bedanken.*

## 6. Literatur

Abitbol M., Legrand R., Turet L. (2015): A missense mutation in the agouti signaling protein gene (ASIP) is associated with the no light points coat phenotype in donkeys. *Genetics Selections Evolution* 47:28 doi:10.1186/s12711-015-0112-x.

Abitbol M, Legrand R, and Turet L. (2014) A missense mutation in melanocortin 1 receptor (MC1R) is associated with the red coat colour in donkeys. *Animal Genetics* 45:878-880 doi:10.1111/age.12207.

Aranguren-Méndez J.A., Jordana J., Gomez M. (2001). Genetic diversity in Spanish donkey breeds using microsatellite DNA markers. *Genet. Sel. Evol* 33, 433–442.

Bellone R.R., Cothran E.G., Ketchum M.S. (1998). Genetic variation in the rare donkey breed, Baudet du Poitou. *Anim. Genet.* 29:(Suppl. 1), 17.

Beja-Pereira A., England P. R., Ferrand N., Jordan S., Bakhiet A. O. et al. (2004): African Origins of the Domestic Donkey. *Science* 304. doi: 10.1126/science.1096008

Bordonaro S., Guastella A. M., Zuccaro A., Criscione A., Tidona F., Marletta D (2009): Genetic diversity and inbreeding in the pantesco donkey. *Italian Journal of Animal Science* 8, doi:10.1100/2012/648427

- Ciampolini R., Cecchi F., Mazzanti E., Ciani E., Tancredi M, De Sanctis B. (2007): The genetic variability analysis of the Amiata donkey breed by molecular data. *Italian Journal of Animal Science* 6, 78–80.
- Caduff M, Bauer A, Jagannathan V, Leeb, T. (2017): OCA2 splice site variant in German Spitz dogs with oculocutaneous albinism. *PLoS ONE* 12, e0185944.
- Chowdhary B., Raudsepp T. (2006): The horse genome. *Genome Dyn.* 2, 97-110.
- Colli L., Perrotta G., Negrini R., Bomba L., Bigi D., Zambonelli P., Supplizi A., Luigi L., Ajmone-Marsan P. (2012): Detecting population structure and recent demographic history in endangered livestock breeds. The case of the Italian autochthonous donkeys. *Animal genetics* 44. Doi: 10.1111/j.1365-2052.2012.02356.x.
- Cosseddu G. M., Fraghi A., Mura L., Carta A., Cherchi R., Pau S. (2001). Genetic relationships among donkey populations living in Sardinia. An analysis using molecular markers. *12.* 25-33.
- Guastella A. M., Zuccaro A., Bordonaro S., Criscione A., Marletta D., D'Urso G. (2007): Genetic diversity and relationship among the three autochthonous Sicilian donkey populations assessed by microsatellite markers. *Italian Journal of Animal Science* 6, supplement 1, 143.
- Gutierrez, J. P. and Goyache F (2005): A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information, *J. Anim. Breed. Genet.* 122, 172–176.
- Grilz-Seger G. und Druml T. (2017): Stammbaumanalysen mit besonderer Berücksichtigung des österreichischen Noriker Pferdes in: Brem, G [Hrsg.]: *Kaltblutpferde im Spiegel der Wissenschaft.* Wien, Verlag der Österreichischen Akademie der Wissenschaften, 439-470.
- Grilz-Seger G. und Druml T. (2011): *Lipizzaner Hengststämme.* Vehling Verlag, Graz.
- Holl H. M., Pflug K. M., Yates K. M., Hoefs-Martin K., Shepard C. et al. (2019): A candidate gene approach identifies variants in *SLC45A2* that explain dilute phenotypes, pearl and sunshine, in compound heterozygote horses. *Animal genetics*, doi.org/10.1111/age.12790
- Jordana J., Folch P., Sanchez A. (1999). Genetic variation (protein markers and microsatellites) in endangered Catalanian donkeys. *Bioch. Syst. Ecol.* 27, 791–798.
- Jordana J., Folch P., Aranguren J.A. (2001). Microsatellite analysis of genetic diversity in the Catalanian donkey breed. *J Anim. Breed. Genet.* 118, 57–63.
- Kimura B., Marshall F., Beja-Pereira A. et al. (2013) *Afr Archaeol Rev.*, 30, doi.org/10.1007/s10437-012-9126-8.
- Levine M. (1999): Investigating the origins of horse domestication. *Equine Veterinary Journal.* 28, 6-14.
- Librado P., Fages A., Gaunitz Ch., Leonardi M., Wagner S., Khan N. et al. (2016): The Evolutionary Origin and Genetic Make-up of Domestic Horses. *Genetics* 204, 423-434.
- Matassino D., Cecchi F., Ciani F., Incoronato C., Occidente M., Santoro L., Ciampolini R. (2014): Genetic Diversity and Variability in two Italian Autochthonous Donkey Genetic Types Assessed by Microsatellite Markers, *Italian Journal of Animal Science* 13, doi: 10.4081/ijas.2014.3028

Rieder, St. (2009): Molecular tests for coat colours in horses. *Journal of animal breeding and genetics* = *Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie* 126, 415-24. 10.1111/j.1439-0388.2009.00832.x.

Sponenberg DP (2009): *Equine color genetics*. 3rd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell.

Sponenberg DP and Bellone R. (2017): *Equine color genetics*. 4rd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell.

Starkey P. and Starkey M. (2000): Regional and world trends in donkey populations, in: Starkey P. and Fielding D. (eds), *Donkeys, people and development. A resource book of the Animal Traction Network for Eastern and Southern Africa (ATNESA)*. ACP-EU Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation (CTA), Wageningen, The Netherlands. 244p. ISBN 92-9081-219-2.

Rosel S., Marshall F., Peters J., Pilgram T., Adams M. D., O'Connor D. (2008): Domestication of the donkey: Timing, processes, and indicators, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 3715-3720.

Renaud G., Petersen B., Seguin-Orlando A., Bertelsen M.F., Waller A., Newton R., Paillot R., Bryant N., Vaudin M., Librado P., Orlando L. (2018): Improved de novo genomic assembly for the domestic donkey, *Science advanced*, doi: 10.1126/sciadv.aag0392.

SAS Institute: SAS version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2009.

Utzeri V. J., Bertolini F., Ribani A., Schiavo G., Dall'Olio S., Fontanesi L. (2016): The albinism of the feral Asinara white donkeys (*Equus asinus*) is determined by a missense mutation in a highly conserved position of the tyrosinase (*TYR*) gene deduced protein. *Anim. Genet.* 47, 120-124, doi:10.1111/age.12386

Winkler PA, Gornik KR, Ramsey DT, et al. (2014): A partial gene deletion of *SLC45A2* causes oculocutaneous albinism in Doberman pinscher dogs. *PLoS One* 9, e92127

## Anhang: Liste der beprobten und untersuchten Tiere inklusive Lokalisation und Fellfarbe

Name	Lab ID	coat color	Breed/population	Location
Potoui	AE180016	Bay	Poitou	Fuchsberger Austria
Ashanti	AE180001	Bay	unknown	Schloßhof Austria
Luna	AE180013	Black/dark Brown	unknown	Fuchsberger Austria
Pedro	AE180018	Black/white belly	unknown	Fuchsberger Austria
Bözsi/Stute HUN	Donk_34	black/having white offspring	Hungarian Landrace	Hungary
Iirmi	AE180017	Dun	unknown	Fuchsberger Austria
Sunny	AE180020	Dun	unknown	Fuchsberger Austria
Zsofi/Stute HUN	Donk_32	dun/having white offspring	Hungarian Landrace	Hungary
Helga/Stute HUN	Donk_33	dun/having white offspring	Hungarian Landrace	Hungary
Wymyk	AE180007	Gray	unknown	Fuchsberger Austria
100168430	Donk_19	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
0001D0D11FEC	Donk_20	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
100168615	Donk_22	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
0001C868EC	Donk_25	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
0001D0FF8E	Donk_27	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
0001BC8683	Donk_28	white	k.u.k. Barockesel	Nationalpark Ilmitz Austria
Reza/Stute HUN	Donk_29	white	Hungarian Landrace	Hungary
Ledi/Stute HUN	Donk_31	white	Hungarian Landrace	Hungary
Piumina	Donk_37	white	Asinara	Italy
Camilla	AE180022	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Daisy	AE180006	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Klara	AE180023	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Mika	AP170132	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Mulan	AP170133	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Monique_Manon	AP170135	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Iirmi	AP170136	white	k.u.k. Barockesel	Austria
König Drosselbart_Felix	AP170137	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Mimi	AP170138	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Pepi	AP170139	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Annelies	AE180005	white	k.u.k. Barockesel	Schloßhof Austria
Antonia	AE180021	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Bertl	AE180010	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria
Cocos	AE180004	white	k.u.k. Barockesel	Schloßhof Austria
Franz Josef	AE180015	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria
Karli	AE180012	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria
Kira	AE180024	white	k.u.k. Barockesel	Austria
Lilli-Fee jun	AE180014	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria
Lilli-Fee sen (mother from Lilli_Fee jun)	AE180011	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria
Lotte	AE180002	white	k.u.k. Barockesel	Schloßhof Austria
Mortadella	AE180003	white	k.u.k. Barockesel	Schloßhof Austria
Poldi	AE180019	white	k.u.k. Barockesel	Fuchsberger Austria