

Aus dem Department für Biomedizinische Wissenschaften  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Tierzucht und Genetik  
(LeiterIn: O. Univ.-Prof. Dr. med. vet. Mathias Müller)



---

Die Y-chromosomale Haplogruppe Tb des Pferdes – über  
deren turkmenischen Ursprung und die Verbreitung durch  
Englische Vollbluthengste

---



Diplomarbeit  
Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von  
Jennifer Zahn  
Wien, im Juli 2021

Betreuerin

Dr. med. vet. Barbara Wallner

Gutachterin

Priv.-Doz. Dr. Pamela Burger

## **Inhalt**

<b>1. Einleitung</b> .....	1
<b>1.1. Pferdezucht im Laufe der Zeit</b> .....	1
<b>1.2. Das Englische Vollblut – Die Könige der Rennbahn</b> .....	4
<b>1.3. Bisheriger Stand der Forschung</b> .....	6
<b>1.3.1. Das Y-Chromosom und seine Vererbung</b> .....	6
<b>1.3.2. Die phylogenetische Systematik</b> .....	6
<b>1.3.3. Der Y-chromosomale Stammbaum des Pferdes - Bisheriger Forschungsstand</b> ....	9
<b>1.3.4. Der phylogenetische Hengststammbaum - Die Haplogruppe Tb</b> .....	12
<b>1.4. Ziel dieser Diplomarbeit</b> .....	15
<b>2. Material und Methoden</b> .....	16
<b>2.1. Material</b> .....	16
<b>2.1.1. Materialien</b> .....	16
<b>2.1.2. Chemikalien und Reagenzien</b> .....	16
<b>2.1.3. Geräte</b> .....	17
<b>2.1.4. Software</b> .....	17
<b>2.2. Methoden</b> .....	17
<b>2.2.1. Probenauswahl</b> .....	17
<b>2.2.2. Die Real-Time PCR und KASP® Technologie</b> .....	20
<b>2.2.3. Das Prinzip der KASP® Technologie</b> .....	21
<b>2.2.4. Y-chromosomale Marker</b> .....	23
<b>2.2.5. Eigene Durchführung</b> .....	25
<b>2.2.5.1. Vorbereitung eines Real-Time PCR Durchlaufs</b> .....	25

2.2.5.2. Herstellung des Mastermixes und Befüllung der Platte .....	26
2.2.5.3. Vorbereitung und Ablauf der Real-Time PCR.....	27
2.2.5.4. Durchführung der Recycle .....	29
2.2.5.5. Datenauswertung.....	29
2.2.5.6. Einteilung der Proben anhand der Haplogruppe Tb und seiner Assays .....	33
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Die Auswertung der Assay-Ergebnisse.....</b>	<b>36</b>
<b>3.2. Erste Einteilung der Gesamtheit der untersuchten Proben .....</b>	<b>38</b>
<b>3.3. Die Aufteilung in die Haplogruppen Tb-d* und Tb-o* .....</b>	<b>41</b>
<b>3.3.1. Aufspaltungen der Haplogruppe Tb-d* .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3.1.1. Haplotypverteilung Tb-dW* und Tb-dM* .....</b>	<b>46</b>
<b>3.3.1.2. Haplotypverteilung Tb-dW1*, Tb-dW2* und Tb-dW3* .....</b>	<b>50</b>
<b>3.3.2. Aufspaltung der Haplogruppe Tb-o* .....</b>	<b>53</b>
<b>3.3.2.1. Haplotypverteilung Tb-oL* und Tb-oB* .....</b>	<b>54</b>
<b>3.3.2.2. Haplotypverteilung Tb-oB1*, Tb-oB2*, Tb-oB3* und Tb-oB4*.....</b>	<b>56</b>
<b>3.3.2.3 Haplotypverteilung Tb-oB1a, Tb-oB1b und Tb-oB1c .....</b>	<b>60</b>
<b>3.3.2.4. Haplotypverteilung Tb-oB3a* und Tb-oB3b* .....</b>	<b>61</b>
<b>3.4. Endergebnis.....</b>	<b>66</b>
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>69</b>
<b>4.1. Bisheriger Stand der Wissenschaft .....</b>	<b>69</b>
<b>4.2. Grundkonzept und Interpretation meiner Ergebnisse .....</b>	<b>69</b>
<b>4.2.1. Der Knotenpunkt Tb .....</b>	<b>71</b>
<b>4.2.2. Neue Erkenntnisse in der Haplogruppe Tb-d* .....</b>	<b>71</b>

<b>4.2.3. Die Rassen Araber und Trakehner</b> .....	72
<b>4.2.4. Die Rasse Achal Tekkiner und der neue Knotenpunkt</b> .....	74
<b>4.3. Schlussfolgerung und Ausblick</b> .....	75
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	77
<b>6. Summary</b> .....	78
<b>7. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	79
<b>8. Literaturverzeichnis</b> .....	80
<b>9. Tabellenverzeichnis</b> .....	85
<b>10. Abbildungsverzeichnis</b> .....	87
<b>11. Danksagung</b> .....	89
<b>12. Anhang</b> .....	90
<b>12.1. Sequenzen der Y-chromosomalen Marker</b> .....	90
<b>12.2. Haplotypverteilung der ausgeschlossenen Proben</b> .....	92
<b>12.3. Haplotypverteilung aller Proben</b> .....	93

## **1. Einleitung**

„Himmelpferde“ werden sie genannt. Ihr Äußeres schmal, langbeinig, sportlich und mit einer unverkennbaren Ausstrahlung. Das Fell fein, meist mit goldigem Schimmer. So werden die edlen turkmenischen Pferde beschrieben. Aufgrund der Herkunft aus Wüstengebieten sind im Laufe der Evolution zähe und ausdauernde Tiere entstanden, perfekt an das Leben in der kargen Region angepasst.

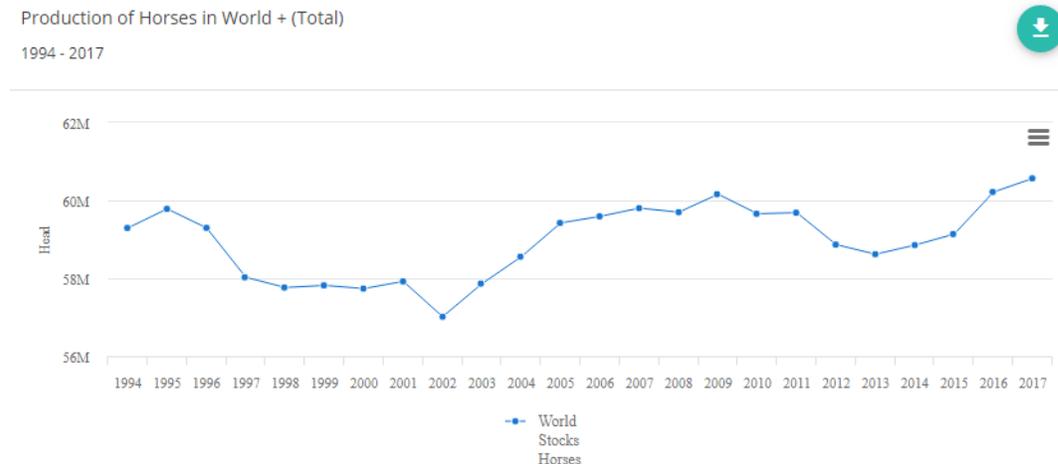
Die Gründerväter des Englischen Vollbluts sollen im direkten Zusammenhang mit den turkmenischen Pferden stehen (Wallner et al. 2013). Darley Arabian (1702) stammt von den Muniquei-Arabern ab, welche stark unter turkmenischem Einfluss standen. Byerley Turks (1679) Herkunft ist weitgehend unbekannt, jedoch lassen Aufzeichnungen auch bei ihm mutmaßen, dass es sich um einen turkmenischen Hengst handelt. Auch bei vielen weiteren Rassen gibt es historische Belege, dass mittelasiatische Pferde zur Veredelung des Genmaterials eingesetzt wurden. Später, also im 19. und 20. Jahrhundert, wurden zur Veredelung heute bekannter Rassen zunehmend Englische Vollblüter eingesetzt (Hendricks et al. 2007).

Bisher wurde der tatsächliche Einfluss turkmenischer Hengste und die Auswirkung auf die Verwandtschaftsbeziehungen moderner Rassen noch nicht genauer untersucht. Diese Aspekte sollen im Rahmen meiner Diplomarbeit weiter erforscht werden.

### **1.1. Pferdezucht im Laufe der Zeit**

Im Jahre 2017 lebten weltweit 60.566.601 Pferde unter menschlicher Obhut (FAOSTAT 2017), unterteilt in circa 500 verschiedene Rassen/Züchtungen, aber nur rund 10 % des gesamten Pferdebestandes ist in Zuchtbüchern eingetragen. In den letzten Jahrhunderten wandte sich die Menschheit mehr und mehr vom Arbeitstier Pferd ab, Maschinen übernahmen zunehmend deren Aufgaben. Ihren größten Tiefpunkt erreichte die Pferdepopulation einige Jahrzehnte nach dem zweiten Weltkrieg, seitdem erholen sich die Zahlen stetig. Bis 1950 wurden in Deutschland knapp 1,6 Millionen Pferde gehalten, in den folgenden zwei Jahrzehnten sank diese Anzahl auf nur mehr rund 250.000 Tiere ab. Bis zum Jahre 2000 stieg diese Zahl auf rund 1,1 Millionen Pferde (Brade,

2013). Doch betrachtet man die genetische Vielfalt der Pferde, stellt man eine über Jahrhunderte stetig sinkende Diversität fest (Fages et al. 2019). Wie kam es dazu?



**Abbildung 1** Faostat-Studie: Pferdepopulation der Welt (Faostat: 29.01.2020)

Bisherigen Forschungen zufolge, begannen Menschen in Zentralasien bereits vor rund 5500 Jahren mit der Domestikation der Pferde. Die sogenannten Botai-Pferde galten bisher als die Vorfahren unserer heute modernen Pferderassen. Doch diese These wurde von einem Forschungsteam im Jahre 2018 widerlegt (Gaunitz et al. 2018). Demnach sind die Botai-Pferde zwar die bis dato frühesten bekannten von Menschen gezähmten Pferde, jedoch wurde anhand ihrer DNA eine sehr schmale Verwandtschaftsbeziehung zu unseren heutigen Pferden entdeckt. Die einzigen heute noch lebenden Nachkommen der Botai-Pferde sind den Forschern zufolge die Przewalski-Pferde. Das Przewalski-Pferd gilt heute als das einzige in Europa noch überlebende Wildpferd, auch wenn es nur in Gefangenschaft überleben konnte (Herre und Röhrs 1990).

Anfangs dienten Pferde in erster Linie der Ernährung des Menschen. Erst im Laufe unserer Entwicklung kristallisierten sich weitere Nutzungsarten des Pferdes heraus. Pferde wurden nicht mehr nur zur Nahrungsbeschaffung vermehrt, sondern dienten auch als Transportmittel und Arbeitstier. Ausgrabungen und genetische Untersuchungen aus den verschiedenen Epochen zeigten auf, dass sich die Pferde im Laufe der Zeit auch phänotypisch sehr stark unterschieden (Wutke et al. 2016). Somit wurde der Grundstein für die heutige Rassenvielfalt lange vor unserer

Zeit gelegt. Das Pferd wurde zum steten Begleiter und Unterstützer der Menschheit und man begann immer gezielter auf bestimmte Eigenschaften zu züchten, um möglichst gut angepassten und leistungsstarken Nachwuchs zu erhalten (Aberle et al. 2003).

Seine Aufgabe als Nutztier verlor das Pferd zum Ende des 19. Jahrhunderts immer mehr, doch die Begeisterung der Menschheit für diese edlen Tiere blieb erhalten. Der Pferdesport entwickelte sich zunehmend.

Mit der stetigen Entwicklung der verschiedenen Reitarten am Anfang des 20. Jahrhunderts begann sich auch die Pferdezucht stark zu verändern, und mit den unterschiedlichen Nutzungsarten der Pferde kristallisierten sich unter den Pferden immer unterschiedlichere Typen und Rassen heraus (Aberle 2003). Es wurden immer mehr Zuchtgemeinschaften und –bücher gegründet, um verschiedene Rassen anhand genau definierter Richtlinien und Standards zu bewerten. Die unterschiedlichen Pferderassen wurden auf bestimmte Verwendungszwecke ausgerichtet, um sie in diesen Bereichen besonders erfolgreich zu machen.

Die starke Selektion über viele Jahrhunderte hinweg, im Speziellen in den letzten 200 Jahren, hat die genetische Vielfalt der Pferde negativ beeinflusst (Fages et al. 2019). Schaut man in die Zuchtbücher verschiedener Rassen, so gibt es sehr häufig Überschneidungen durch Veredelung (Hendricks et al. 2007). Viele Rassen beruhen auf nur sehr wenigen Stammvätern/-müttern. Ein gutes Beispiel hierfür bieten die in der väterlichen Linie auf nur drei Gründerhengsten zurückzuführenden Englischen Vollblüter. Die Englischen Vollblüter wurden vielfältig auch zur Veredelung von Warmblütern eingesetzt (Hendricks et al. 2007).

Die geringe genetische Variabilität stellt für die Züchter in der heutigen Zeit mehr und mehr eine Herausforderung dar (Hendricks et al. 2007). Seit rund 20 Jahren steigt der Einsatz der Molekulargenetik im Bereich der Pferdezucht stetig an. Die Erforschung der 32 Chromosomenpaare des Pferdes bringt viele neue Erkenntnisse mit sich. Mittels Abstammungsnachweisen und verschiedener Tests auf Merkmalsausprägungen und deren Vererbung ist die Geschichte der Pferdezucht auf ein neues Level gestiegen. Die genetische Untersuchung des Einzeltieres erhält mehr und mehr Einzug in den Züchteralltag. Doch die Frage

ist, ob die stetig sinkende genetische Variabilität mit moderner Genforschung aufgehalten werden kann.

## 1.2. Das Englische Vollblut – Die Könige der Rennbahn



**Abbildung 2** Bearbeiter Ausschnitt: Original Eclipse gezeichnet von George Stubbs in London im Jahre 1823 (Wikipedia: 20.01.2020)

Ein edler trockener Kopf, große Nüstern, mandelförmige Augen und ein schlanker langer Hals runden den eleganten harmonischen Körperbau dieser einzigartigen Hochleistungssportler ab. Dank der kräftigen, gut bemuskelten Hinterhand, dem kurzen Rücken, der gestreckten schrägen Schulter sowie den langen klaren Beinen ist das Englische Vollblut perfekt für den Spitzenrennsport geeignet.

Der Grundstein in der Zucht dieser ausdauernden, temperamentvollen Pferde wurde im 17. Jahrhundert gelegt. Heimische Stuten Englands sowie königliche Zuchtstuten wurden mit importierten edlen Hengsten aus orientalischen Ländern verpaart, um ein ausdauerndes leistungsstarkes Pferd für den Rennsport zu erhalten. Im Jahre 1793 wurde das General Stud Book, das erste Zuchtbuch der beliebten Englischen Vollblüter, eröffnet.

Alle heute in Zuchtbüchern eingetragenen Englischen Vollblüter sind genetisch auf drei Stammhengste zurückzuführen. Byerley Turk (1679), Darley Arabian (1702) und Godolphin Barb (1724) sind väterlicherseits bis heute in jeder Zuchtlinie nachzuweisen (Wallner et al. 2013 und 2017). Mütterlicherseits hatten in den Zuchtanfängen besonders orientalische Hengste einen großen Einfluss auf die Entwicklung der bis heute weltweit schnellsten Pferderasse (Hendricks et al. 2007).

Einer der bekanntesten Vollblüter ist der legendäre Eclipse (1764-1779). Eclipse stammt wie ein Großteil der heutigen Englischen Vollblüter vom Importhengst Darley Arabian ab. Besonders zwei seiner erfolgreichen Söhne prägten die heutige Eclipse-Vaterlinie der Englischen Vollblüter: Pot8os (1773-1800) und King Fergus (1775-1801). (Thoroughbred Bloodlines <https://www.bloodlines.net/TB/Bios/Eclipse.htm> (Zugriff 10.12.2020))

Die beiden anderen Stammväter prägen die heutigen Linien weniger. Godolphin Barb prägte die Zucht mit nur wenigen Nachkommen. Einer der bekanntest war der Hengst Man O'War, der in der heutigen Zeit vermehrt in amerikanischen Zuchtlinien nachzuweisen ist. In Frankreich leben hingegen häufiger Nachkommen des turkmenischen Hengstes Byerley Turk.

Beim Englischen Vollblut werden nur Pferde zur Zucht anerkannt, welche in ihrem Leben bereits Erfolge im Rennsport abgeleistet haben und den hohen Rassestandards entsprechen. Ständige Selektion machte die Vollblüter zu jenen Hochleistungssportlern, die wir heutzutage kennen. Mit einer Geschwindigkeit von bis zu 60 km/h gelten sie als die schnellste Pferderasse weltweit. Sie halten bis heute die meisten Rekorde in den verschiedenen Rennsportdisziplinen.

Im Laufe der Zeit wurden die ursprünglich ausschließlich als Rennpferd gezüchteten Vollblüter vielseitig eingesetzt. Die leistungsbereiten, intelligenten Tiere werden auch im Freizeit- und

Turniersport immer beliebter. Aufgrund ihres menschenbezogenen Wesens finden viele Reiter Freude an dieser einzigartigen Rasse und dank ihrer Vielseitigkeit können sie in nahezu jeder Sparte der Reiterei eingesetzt werden. Des Weiteren erfreuen sie sich aufgrund ihres Ex- und Interieurs immer größerer Beliebtheit zur Veredelung anderer Rassen. Der starke Einfluss des Vollblutes in der Zucht anderer Rassen hat im 19. und 20. Jahrhundert besonders an Bedeutung gewonnen (Hendricks 2007).

### **1.3. Bisheriger Stand der Forschung**

#### **1.3.1. Das Y-Chromosom und seine Vererbung**

Grundlegend setzt sich die DNA der Pferde aus 31 Chromosomenpaaren, sowie 2 Geschlechtschromosomen (X und Y) zusammen. Das Y-Chromosom kann man nur bei männlichen Individuen nachweisen (Binns et al. 2000). Es ist im Genom das kleinste Chromosom mit einer Länge von 45-50 Megabasen und besteht fast ausschließlich aus kondensiertem Heterochromatin. Die euchromatische Region, welche rund 15 Megabasen umfasst, liegt im distalen Drittel des Y-Chromosoms (Janecka et al. 2018). Der einzige Abschnitt des Chromosoms, welcher während der Meiose mit dem X-Chromosom rekombiniert, wird als pseudoautosomale Region bezeichnet und schließt direkt an die euchromatische Region an (Janecka et al. 2018).

Die Abschnitte, welche während der Meiose nicht rekombinieren, werden als ‚non recombining region of the Y-chromosome‘ (NRY) bezeichnet. Spontane Mutationen führen zu Veränderungen, welche sich als Single-Nukleotidpolymorphismen (SNP), Deletionen (Indels), Insertionen oder strukturelle Neuordnung darstellen können. Da die NRY vom Vater zum Sohn vererbt wird, kann man anhand der beobachteten Sequenzvariation der NRY paternale Abstammungslinien verfolgen. Somit können über molekulare Untersuchungen dieser Region die männlichen Vorfahren eines männlichen Individuums exakt bestimmt werden (Jobling und Tyler-Smith 1995).

#### **1.3.2. Die phylogenetische Systematik**

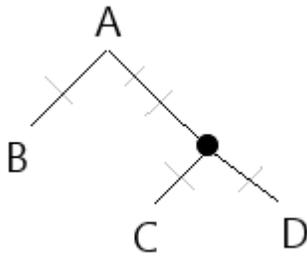
„Descended from apes! My dear, let us hope it is not so; but if it is, let us hope that it does not become generally known“ (Knopp und Müller 2009) so ein überlieferter Kommentar im 19.

Jahrhundert von der Gattin des Bischofs von Worcester zu der Veröffentlichung der Evolutionstheorie von Charles Darwin (1809-1882). Mit seinem Werk ‚On the Origin of Species‘ aus dem Jahr 1859 (Beer, Hrsg. 2008) widersprach er dem damaligen noch vorherrschenden Glauben an die Schöpfungstheorie. Seine Arbeit gilt als Grundlage der heute bekannten Evolutionstheorie und der Vererbungstheorien. Darwin beschrieb in seinen Theorien die Grundlagen der Reproduktion und die spontane Entstehung neuer Merkmale in einer Population.

Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte der Evolution wurde durch Ernst H. P. A. Haeckel (1834-1919) gelegt. Haeckel war ein Verfechter des sogenannten Darwinismus. Er forschte an der Individualentwicklung und Stammesgeschichte (Haeckel et al. 1866) und entwickelte einen Stammbaum, welcher alle Lebewesen anhand ihrer Genetik in Verwandtschaft stellt. Diese Theorie veröffentlichte er in seinem letzten Werk, die ‚Systematische Phylogenie. Entwurf eines natürlichen Systems der Organismen auf Grund ihrer Stammesgeschichte‘ (1894-1896). Sein Werk legte den Grundstein der heute so bekannten Stammbäume. Die in dieser Arbeit verwendete phylogenetische Systematik wurde im 20. Jahrhundert von Willi Hennig (1913-1976) begründet (Hennig et al. 1982).

Phylogenie (altgriechisch: ‚Stammesgeschichte‘) beschreibt die Gesamtheit der Entwicklung und Verwandtschaft aller Lebewesen. Anhand eines grafisch dargestellten Stammbaumes kann man die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Individuen herauslesen. Ein Stammbaum, welcher die phylogenetischen Beziehungen einzelner Merkmale am Y-Chromosom darstellt, dient als Grundlage meiner Diplomarbeit. Dieser Y-chromosomale Baum wurde unter Annahme des Parsimonieprinzips (Sparsamkeitsprinzip) erstellt, das bedeutet, dass durch eine möglichst geringe Anzahl an Merkmalen/Mutationen (Sequenzübereinstimmungen) die Abstammungs- und Verwandtschaftsverhältnisse der männlichen Pferde geklärt werden soll.

In der Abbildung 3 ist ein sehr vereinfachter Stammbaum dargestellt, anhand dessen ich auf die verwendete Nomenklatur in meiner Diplomarbeit eingehen möchte.



**Abbildung 3** Vereinfachte Darstellung eines phylogenetischen Stammbaumes. Aus der Grafik kann man entnehmen, dass die Individuen ‚B‘, ‚C‘ und ‚D‘ einen gemeinsamen Vorfahren ‚A‘ besitzen und ‚C‘ und ‚D‘ näher miteinander verwandt sind, als sie es mit dem Individuum ‚B‘ sind. Die schwarzen Verbindungslinien kennzeichnen die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den Individuen. Die dünnen grauen Linien symbolisieren die Merkmale in denen sich Individuen voneinander unterscheiden. Daraus ergeben sich auch interne Knotenpunkte. Ein solcher Knotenpunkt ist am rechten Ast, welcher von A wegführt, mit einem schwarzen Punkt gekennzeichnet. Ein Knotenpunkt kennzeichnet den Punkt, an dem das letzte gemeinsame Merkmal zweier Individuen detektiert werden kann, in diesem Fall das letzte gemeinsame Merkmal von ‚C‘ und ‚D‘. Die Buchstaben ‚B‘, ‚C‘ und ‚D‘ stellen ebenfalls die Endpunkte der jeweiligen Äste dar.

Eine Individuumsgruppe, ausgehend von einem Vorfahren, kann anhand von Merkmalen charakterisiert werden. Im Falle meiner Diplomarbeit handelt es sich bei den Merkmalen um Y-chromosomale Nukleotid-Polymorphismen (SNPs), welche in eine hierarchische Baumstruktur resultieren.

Die durch Mutationen der NRY entstandenen SNPs können als genetische Marker verwendet werden. Aufgrund der fehlenden Rekombinationen der NRY werden die Marker gekoppelt als Haplotyp (HT) vererbt. Für die Untersuchung der Verwandtschaftsbeziehungen wird ein phylogenetischer Stammbaum der HT erstellt (Jobling et al. 1996).

In einer Haplogruppe (HG) gruppieren sich, ausgehend von einem Vorfahren beziehungsweise Knotenpunkt, alle aus ihm hervorgegangenen Subhaplogruppen (SG) und HTs, also alle

stammesgeschichtlich verwandten HTs, welche sich genetisch auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückführen lassen.

Ein Knotenpunkt stellt einen Punkt im Stammbaum dar, wo das letzte gemeinsame Merkmal zweier HTs detektiert werden kann, das heißt, sie noch einen gemeinsamen Vorfahren bzw. ein gemeinsames Merkmal hatten.

### **1.3.3. Der Y-chromosomale Stammbaum des Pferdes - Bisheriger Forschungsstand**

Die genetische Charakterisierung von Abstammungslinien beschäftigt Forscher seit langer Zeit. Anhand von Y-chromosomalen Markern gelang es, die paternalen Abstammungslinien beim Menschen sowie bei verschiedenen Haussäugetieren zu rekonstruieren (Underhill und Kivisild 2007). Doch beim Pferd stießen die Forscher auf Probleme. Die Y-Chromosomen der Hengste weisen vergleichend betrachtet eine sehr geringe Sequenzdiversität auf, was die Suche nach geeigneten Markern erschwert. Erste Studien, die diese geringe Sequenzdiversität belegen, wurden Anfang des 21. Jahrhunderts veröffentlicht (Wallner et al. 2003/2004, Lindgren et al. 2004). In den folgenden Jahren wurde nach informativen Markern gesucht, anhand derer man die Y-Chromosomen der Hengste genauer untersuchen kann.

Erste Erfolge in der Erforschung von geeigneten Markern wurden in der Publikation von Wallner et al. 2013 veröffentlicht. Sie entdeckten, dass bei modernen Pferderassen nur wenig Variation in den Nukleotidsequenzen existiert. Mit ihrer Forschungsarbeit konnten sie moderne Hengste genetisch in sechs HTs einteilen. Ebenfalls entdeckten sie zwei HTs, welche nur im Przewalski-Pferd detektiert wurden.

Eine genauere Aufschlüsselung der geringen Diversität des Y-Chromosoms wurde in einer Studie im Jahr 2017 veröffentlicht (Wallner et al. 2017). In dieser Studie wurde der bis dahin bekannte paternale Hengststammbaum genauer aufgeschlüsselt. Es wurden 52 Hengste aus 21 unterschiedlichen Rassen untersucht. Gemeinsam mit den bereits erforschten HTs (Wallner et al. 2013) konnten nun 24 HTs genauer charakterisiert werden.

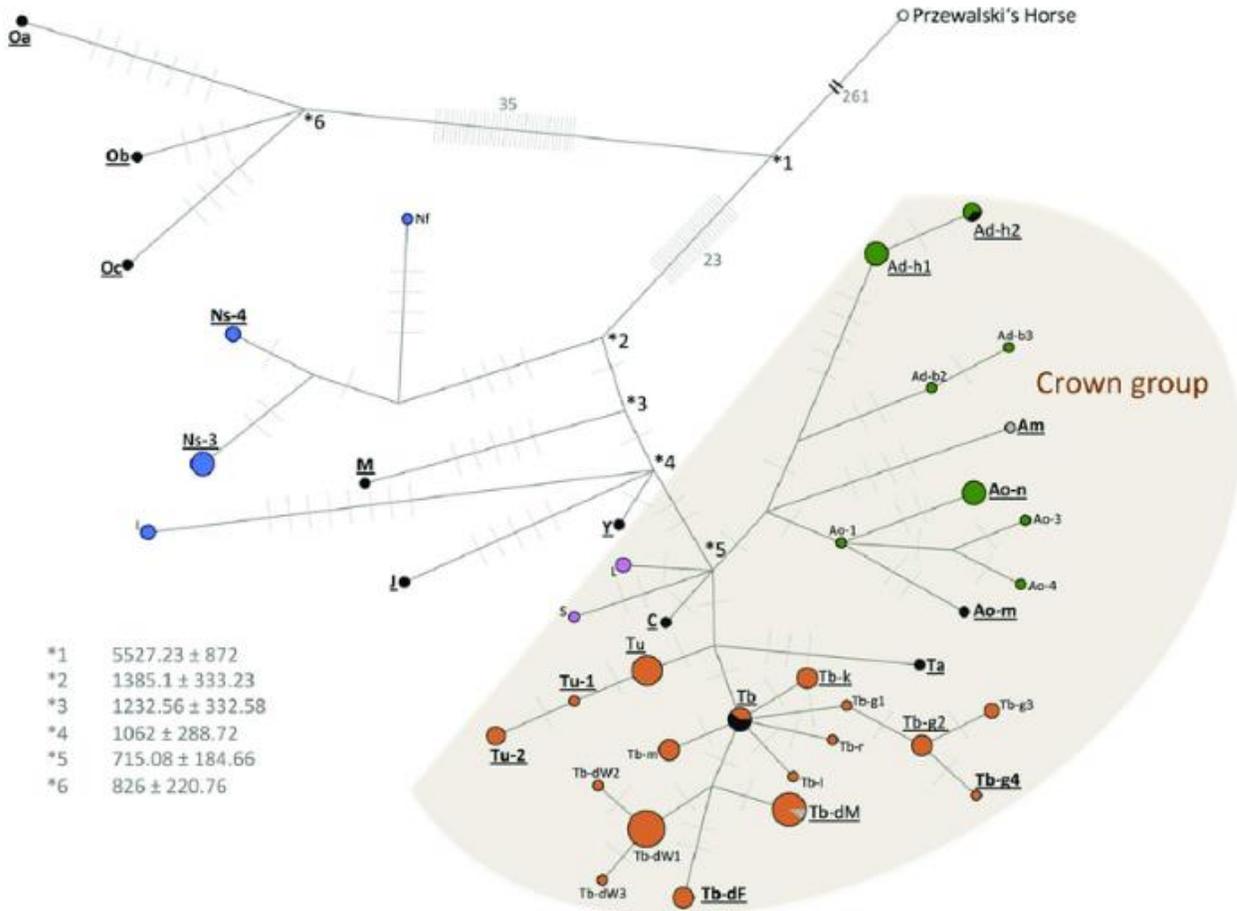
In der Veröffentlichung von Wallner (Wallner et al. 2013) wurde entdeckt, dass bei rund 48 % der modernen Pferde HTs von ursprünglich aus dem orientalischen Raum stammenden Hengsten nachgewiesen werden konnten. Ebenso stammen die drei Gründerväter der Englischen Vollblüter von jenen Hengsten ab. Bei den Veredlerpferden mit orientalischem Ursprung unterscheidet man unter anderem zwei wichtige Einflüsse: die arabischen Pferde sowie die turkmenischen Pferde (Hendricks 2007). Es wurde postuliert, dass die genetischen Wurzeln der drei Gründerhengste des Englischen Vollbluts in turkmenischen Pferden zu suchen sind. (Wallner et al. 2017)

In Wallner et al. 2017 wird des Weiteren beschrieben, dass bis auf wenige nordeuropäische Rassen alle moderneren Pferderassen in eine rund 700 Jahre alte HG einzuordnen sind, die sogenannte Krongruppe. In Felkel et al. 2019 wurde die Vernetzung der HTs in der Krongruppe noch genauer erforscht. Die Krongruppe wurde grundlegend in drei HG unterteilt: ‚A‘, ‚T‘ und ‚H‘ (Felkel et al. 2019). In der HG ‚A‘ gruppierten sich Tiere, welche den Rassen Araber, Connemara pony, Trakehner sowie Kaltblütern angehören. Der Großteil der modernen Pferderassen gruppierte sich in der HG ‚T‘ (auf diese HG wird weiter unten eingegangen). Die letzte HG ‚H‘ wurde früher als drei einzelne HG beschrieben: ‚S‘, ‚L‘ und ‚C‘ (Wallner et al. 2017). Hier gruppierten sich die Pferde spanischen Ursprungs, die Sorraia Pferde sowie Tiere mit iberischem Ursprung wie zum Beispiel ‚Lipizzaner‘.

Die HG ‚T‘ unterteilt sich in drei Hauptäste auf: ‚Ta‘, ‚Tu‘ und ‚Tb‘. In der HG Ta gruppieren sich Pferde mit arabischer Herkunft. In der kleinen Gruppe Tu sind viele Pferde mit schweizerischer Herkunft anzutreffen: die Freiburger. Die letzte und bedeutendste Abzweigung ‚Tb‘ ist laut Wallner et al. 2013/2017 und Felkel et al. 2019 auf Pferde mit turkmenischer Abstammung zurückzuführen. Auf diesen hochfrequenten Ast gruppieren sich viele der heute modernen Warmblüter. Besonders hervorzuheben ist auch, dass sich in der HG Tb die drei Gründerhengste der Englischen Vollblüter gruppieren. Im Laufe meiner Arbeit werde ich genauer auf den für mich entscheidenden Stammbaumast Tb eingehen.

Aus den Forschungsarbeiten von Wallner et al. 2013/2017 und Felkel et al. 2019 entstand über die Jahre ein phylogenetischer Stammbaum, welcher alle bereits erforschten HTs basierend auf SNPs

zusammenfasst. In der folgenden Abbildung 4 ist der phylogenetische Stammbaum des Y-Chromosoms des Pferdes, auf dem meine Diplomarbeit aufbaut, dargestellt.



**Abbildung 4** Phylogenetischer Stammbaum entnommen aus Felkel et al. 2018: Dargestellt sind die damals bekannten HTs als Kreise. Die Querstriche auf den einzelnen Ästen markieren die Anzahl der auf diesem Zweig bekannten Marker. Grau hinterlegt ist die Krongruppe, welche erstmals in Wallner et al. 2017 beschrieben wurde, sie unterteilt sich in drei Haplogruppen, welche in der Abbildung farblich voneinander unterteilt werden: Grüne HTs gehören zu der HG A, violette HTs repräsentieren die HG H und die orangenen HTs gehören zu der HG T. Anhand der Abbildung kann man auch die Aufteilung der HG T in die drei Hauptäste entnehmen: Die HG Tu, Ta und Tb. Die orangenen HTs, welche mit ‚Tb‘ beginnen gehören zu der in meiner Arbeit betrachteten HG Tb.

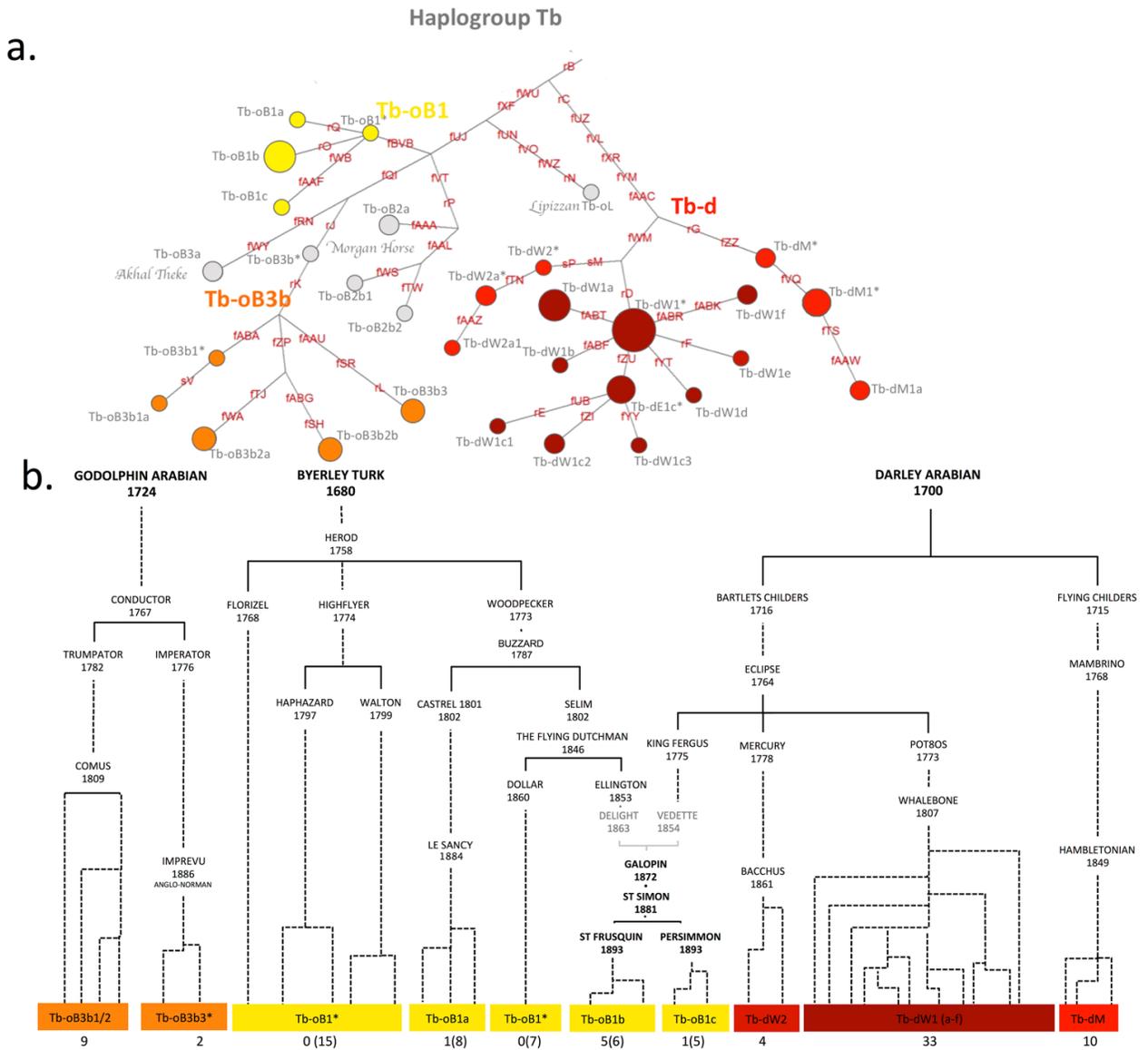
### 1.3.4. Der phylogenetische Hengststammbaum - Die Haplogruppe Tb

Der Tb Ast, ein Teil der Krongruppe, beinhaltet einen genetisch relativ jungen Abschnitt der Pferdezucht. Laut den Vorstudien von Wallner et al. 2017 und Felkel et al. 2019 spiegeln besonders heute moderne Rassen die zur Krongruppe gehörige HG Tb wider. In ihm versammeln sich unter anderem viele moderne Pferderassen, welche durch Englische Vollblüter und Orientalische Hengste beeinflusst wurden. Bisheriger Stand der Wissenschaft ist, dass sich diese HG in zwei Gruppen aufteilt, welche durch die HG Tb-o und Tb-d widergespiegelt werden (Abbildung 5). Betrachtet man die HG Tb-d, erkennt man, dass sich in dieser HG Tiere der Rasse Englisches Vollblut, Warmblüter und Traber gruppieren, welche alle den Gründerhengst Darley Arabian in ihrer väterlichen Abstammungslinie tragen. Betrachten wir die HG Tb-d genauer, so erkennt man, dass sie sich in zwei Zweige aufteilt: den HG Tb-dM\* und Tb-dW\*. In der HG Tb-dM gruppieren sich ausschließlich Traber. Auf dem zweiten Ast Tb-dW\* gruppieren sich Warmblüter, Quarter Horse sowie Pferde, welchen den bekannten Englischen Vollbluthengst Whalebone (1807) in ihrem Pedigree aufwies. Pferde mit dieser Abstammung signalisierten laut Wallner et al. 2017 im weiteren Stammbaumverlauf meist die SG Tb-dW1\*. Es gibt noch zwei weitere beschriebene Aufzweigungen in der HG Tb-dW: Tb-dW2 und Tb-dW 3. Die SG Tb-dW3 wird von Markern determiniert, welche zum derzeitigen Zeitpunkt noch nicht veröffentlicht wurden (Remer et al. in Vorbereitung).

Betrachtet man den zweiten Ast der HG Tb, also der HG Tb-o, welcher durch die Marker fWU und fXF symbolisiert wird, so teilt sich dieser in die HG Tb-oL und Tb-oB. Tb-oL wird durch den Marker rN gekennzeichnet. In den Studien von Felkel et al. 2019 wurde veröffentlicht, dass dieser Ast vorwiegend bei Tieren der Rasse Lipizzaner detektiert wurde.

Die HG Tb-oB wird wiederum in bisher drei Untergruppen klassifiziert: Tb-oB1, Tb-oB2 und Tb-oB3. Die SG Tb-oB1, welche durch den Mikrosatelliten fBVB determiniert wird, charakterisiert einen weiteren Gründerhengst der Englischen Vollblüter: Byerley Turk. Laut Felkel et al. 2019 gruppieren alle Pferde, die auf Byerley Turk zurückzuführen sind, in der SG Tb-oB1. Der zweite Zweig, die SG Tb-oB2, wird durch den Assay rP gekennzeichnet und wurde bei den Morgan Pferden nachgewiesen. Der letzte Zweig und der bisher am detailliertesten untersuchte, ist

gekennzeichnet durch Marker fQI, welcher die SG Tb-oB3\* detektiert. Dieser Zweig unterteilt sich noch einmal in zwei Untergruppen. Tb-oB3a wird anhand von zwei Markern untersucht. In den bisherigen Studien gruppierten sich in dieser SG die Achal Tekkiner. Der zweite Zweig wird durch den Marker rJ untersucht, welcher die SG Tb-oB3b kennzeichnet. Diese Aufzweigung wird gekennzeichnet durch den dritten und somit letzten der Gründerhengste der Englischen Vollblüter: Godolphin Barb und wird wiederum in drei weiteren Zweigen unterteilt: Tb-oB3b1, Tb-oB3b2 und Tb-oB3b3. In der Abbildung 5, entnommen aus der Veröffentlichung von Felkel et al. 2019, ist der Ausschnitt der HG Tb grafisch dargestellt.



**Abbildung 5** Detailansicht der HG Tb, entnommen aus Felkel et al. 2019: Teil ‚a.‘ der Abbildung beschreibt die einzelnen HT als Kreise (grau beschriftet) die dazugehörigen Marker (rote Schrift auf den Ästen). Die Größe der Kreise gibt Auskunft darüber, wie viele Proben sich auf dem jeweiligen Punkt gruppieren. Die Farbe gibt an, ob es genetische Zusammenhänge zwischen den HT und einen der Gründerhengste der Englischen Vollblüter gibt. Die farblichen Zuordnungen zu den einzelnen Gründerhengsten inkl. deren Stammbaumrekonstruktion wurde im Teil ‚b.‘ dieser Grafik dargestellt.

#### **1.4. Ziel dieser Diplomarbeit**

Die HG Tb ist ein kürzlich etablierter Abschnitt am phylogenetischen Hengststammbaum. Besonders die modernen Pferderassen gruppieren sich in dieser HG. Bisherige Studien weisen darauf hin, dass die Vorfahren der in dieser Krongruppe gruppierten Tiere turkmenischen Ursprungs sind. Ebenso herauszuheben ist, dass die drei Gründerväter der Englischen Vollblüter sich in diesem Abschnitt des Stammbaumes gruppieren. Der Einfluss der Englischen Vollblüter auf heute moderne Pferderassen kann somit über die Verbreitung deren HTs gut studiert werden.

Mit dieser Arbeit soll aufgezeigt werden, wie sich die Verwandtschaftsbeziehungen zwischen den heutigen modernen Rassen, die sich am Tb-Abschnitt des phylogenetischen Hengststammbaumes (Felkel et al. 2019) gruppieren, darstellen. Ziel ist es, Ursprung und Verbreitung der Tb-HTs genauer zu rekonstruieren.

Mittels fluoreszierender KASP®-Technologie werden 121 DNA-Proben von männlichen Tieren verschiedenster Rassen, gewonnen aus Haaren oder Blut, mit 26 polymorphen Markern am Y-Chromosom untersucht. Anhand der ermittelten Allele werden die HTs der einzelnen Proben rekonstruiert, im phylogenetischen Stammbaum der HG Tb eingeordnet und mit Daten aus früheren Arbeiten verglichen.

Die zuständige Ethikkommission der Veterinärmedizinischen Universität Wien hat die Studie genehmigt. Die genutzten Proben der Tiere werden anonymisiert verwendet.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Materialien

**Tabelle 1** Verwendete Materialien

<b>Material</b>	<b>Hersteller</b>
Pipettenspitzen Filter Tips (10 $\mu$ l, 100 $\mu$ l, 200 $\mu$ l)	Greiner Bio One (Österreich)
Pipettenspitzen gelb (20 $\mu$ l)	Sarstedt (Deutschland)
Pipettenspitzen 1 $\mu$ l	Eppendorf (Österreich)
Eppendorf Tubes	Eppendorf (Österreich)
Weißer 96-well Platte	Bio-Rad (USA)
Optische Folie	Biozyme (Deutschland)

#### 2.1.2. Chemikalien und Reagenzien

**Tabelle 2** Verwendete Chemikalien und Reagenzien

<b>Chemikalie/Reagenz</b>	<b>Hersteller</b>
2xKASP® Master mix	LGC genomics (Großbritannien)
KASP® Assay mix	LGC genomics (Großbritannien)
Isolierte DNA aus Haarwurzeln/Blut	

### 2.1.3. Geräte

**Tabelle 3** Verwendete Geräte

<b>Gerät</b>	<b>Hersteller</b>
Pipetten	Gilson® (USA)
Elektronische Pipette	Eppendorf (Österreich)
Tischzentrifuge	Eppendorf (Österreich)
Vortexer (MS 2 Minishaker®)	IKA® (Deutschland)
Plattentischzentrifuge (Labnet MPS 1000 Mini plate spinner®)	Sigma-Aldrich® (Österreich)
CFX Real-Time System C1000 Touch®	Bio-Rad (USA)

### 2.1.4. Software

**Tabelle 4** Verwendete Software

<b>Software</b>	<b>Hersteller</b>
Excel®	Microsoft Office® (USA)
Bio-Rad CFX Manager 3.1®	Bio-Rad (USA)

## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Probenauswahl

Um die Haplotypverteilung am phylogenetischen Stammbaum der HG Tb im Rahmen dieser Diplomarbeit genauer zu rekonstruieren, wurde in Vorbereitung auf diese Diplomarbeit in Zusammenarbeit mit Barbara Wallner eine Stichprobe von Tieren, die die HG Tb genauer widerspiegeln soll, zusammengestellt. Von ursprünglich 786 infrage kommenden DNA-Proben wurden 121 ausgewählt. Die Proben stammen aus Rückstellproben (Proben, welche aus

vorhergehenden genetischen Untersuchungen zur Absicherung archiviert wurden) aus der Routineabstammungskontrolle der Firma Agrobiogen, oder sie wurden von Zuchtverbänden oder Privatpersonen zur Verfügung gestellt. Wenn möglich, wurden bei der Probenauswahl Pedigreeangaben berücksichtigt. Es wurde darauf geachtet, dass möglichst wenig Proben mit paternaler Verwandtschaft verwendet wurden, um eine Überrepräsentation einzelner HT oder HG zu vermeiden. Ebenso wurde bedacht, dass möglichst viele verschiedene Rassen, welche in der HG Tb zu liegen kommen, untersucht werden.

Von den 121 gewählten Hengsten existierte bereits die isolierte DNA aus Haarwurzel- bzw. Blutproben. Die Probenisolierung war mittels “nexttec™ 1-Step DNA Isolation Kit for Tissue & Cells” von der Firma nexttec™ Biotechnologie GmbH von Doris Rigler durchgeführt worden. Einige DNA-Proben waren schon länger eingelagert, weshalb die Möglichkeit bestand, dass die DNA qualitative Einbußen hat. Sollten DNA-Proben aus verschiedenen Gründen nicht mehr für das gewählte Testverfahren geeignet sein, wurden sie aus der Betrachtung und Auswertung ausgeschlossen. Gründe hierfür waren zum Beispiel, dass das Volumen der DNA-Proben aufgrund längerer Lagerung zu gering für die geplanten Untersuchungen war. Diese Proben wurden für die Untersuchung verdünnt, was zur Folge haben kann, dass mengenmäßig zu wenig DNA vorhanden war, um aussagekräftige Ergebnisse in den PCR-Durchläufen zu detektieren. Wenn eine Probe bei einem oder mehreren Assays keine oder unklare Ergebnisse lieferte, so wurde diese noch mindestens ein weiteres Mal auf den jeweiligen Assay oder mindestens einem phylogenetisch folgenden Assay getestet. Nur wenn diese Durchläufe ebenfalls ergebnislos waren, wurde die Probe von den Untersuchungen ausgeschlossen. Da es meist keine Rückstellproben zur Neuisolierung gab, war ein Ausschluss der Proben die einzige Möglichkeit. Für die meisten Proben wurden in Vorarbeiten (Doris Rigler und Barbara Wallner, persönliche Mitteilung) mittels KASP®-Typisierung von Marker rB ermittelt, dass sie in die HG Tb clustern.

In der Tabelle 5 kann man die Rasseverteilung innerhalb der Proben entnehmen.

**Tabelle 5** Rasseverteilung der zu untersuchenden DNA-Proben

<b>Rasse</b>	<b>Anzahl der Tiere</b>
Achal Tekkiner	15
American Bashkir Curly Horse	2
Anglo Normanne	1
Appaloosa	2
Araber	2
Araber (Russischer Araber)	6
Araber (Vollblutaraber)	4
Araber (Partbred Araber)	1
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	9
Kalmückisches Pferd	1
Karabagh	1
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	5
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1
Lokale Züchtung Kasachstan	15
Lokale Züchtung Myanmar	2
Lokale Züchtung Vietnam	1
Miniatur Horse (Amerikanisches)	1
Mongolisches Pferd	3
Neues Kirgisches Pferd	5
Quarter Horse	13

Saddlebred	3
Shetlandpony	3
Süddeutsches Kaltblut	1
Terceira Pony	4
Traber	6
Trakehner (Russische Zucht)	5
Transbaikal Pferd	2
Warmblut Alt-Württemberger	1
Warmblut KWPN	1
Warmblut Trakehner	4
Welsh-A	1
<b>Summe</b>	<b>121</b>

### 2.2.2. Die Real-Time PCR und KASP® Technologie

Die Allelbestimmung der Marker (SNPs oder kurze Indels) erfolgte mittels kompetitiver Allel-spezifischer PCR (KASP®-Technologie), welche auf Real-Time-PCR beruht. Die KASP®-Technologie hat heutzutage in genetischen Untersuchungen eine tragende Rolle bekommen. Mit Hilfe der kompetitiven Allel-spezifischen PCR können Proben auf Einzelbasenaustausche (SNPs), sowie kleine Insertionen/Deletionen (Indels) untersucht werden.

Für die durchgeführte Genotypisierung wurden KASP® Assays von der Firma LGC Genomics aus Großbritannien und Deutschland verwendet. Ebenso wurde der benötigte KASP® Master-Mix von dieser Firma bezogen. Mit dem Real-Time PCR Gerät (CFX Real-Time System C1000 Touch®) von der Firma BioRad wurden die Untersuchungen anhand der KASP® Technologie durchgeführt. Das im Rahmen der Arbeit verwendete PCR-Protokoll wurde von Doris Rigler zur Verfügung gestellt. Die Auswertung der Daten erfolgt mittels Excel (Version 2010) von der Firma Microsoft.

### **2.2.3. Das Prinzip der KASP® Technologie**

Für die KASP® Technologie wird ein Reaktionsgemisch aus zwei Komponenten (KASP® Mastermix, KASP® Assay Mix) sowie der zu untersuchenden DNA hergestellt. Die Proben durchlaufen eine genau definierte thermische Zyklusreaktion und werden im letzten Schritt mittels Endpunkt-Fluoreszenz-Messungen photographisch untersucht. Diese Messungen werden mit Hilfe einer Software erfasst und dargestellt. Der KASP® Assay Mix besteht aus drei Bestandteilen, zwei unterschiedlichen Vorwärts-Primern und einem gemeinsamen Rückwärts-Primer. Die beiden Vorwärts-Primer sind jeweils spezifisch für ein Allel und können nur an der komplementären DNA-Sequenz binden. Die Vorwärts-Primer sind mit je einer spezifischen Schwanzsequenz markiert, an welche eine fluoreszenzmarkierte Sonde binden kann. In den vorliegenden KASP® Assays ist eine Sonde mit dem Farbstoff HEX- (Phosphoramidite, Hexachloro-Fluorescein), die andere mit dem Farbstoff FAM- (6-Carboxy-Fluorescein) markiert. Die Fluoreszenzmoleküle, auch Fluorophore genannt, werden nur freigesetzt, wenn der jeweilige Vorwärtsprimer mit der Schwanzsequenz komplett in das Produkt der PCR eingebaut wird. Im KASP® Mastermix sind die für die PCR notwendigen Reagenzien in einer optimierten Pufferlösung enthalten, bestehend aus Taq-Polymerase, freien Nukleotiden, MgCl<sub>2</sub> und einem passiven Referenzfarbstoff.

Die emittierten Fluorophore werden anschließend im Anschluss an die PCR mit einer speziellen Software (Bio-Rad CFX Manager 3.1®) ermittelt. In der Abbildung 6 wird der beschriebene Prozess graphisch dargestellt.

### 1) Assay components:

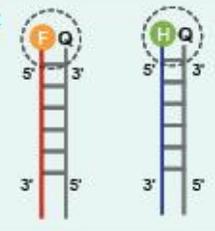
KASP uses three components: test DNA with the SNP of interest; KASP Assay mix containing two different, allele-specific, competing forward primers with unique tail sequences and one reverse primer; the KASP Master mix containing FRET cassette plus Taq polymerase in an optimised buffer solution.

#### A) KASP Assay mix

Allele-specific forward primers:



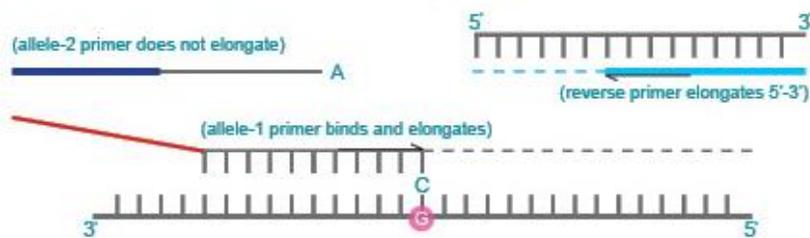
#### B) KASP Master mix



#### C) DNA template (sample)



### 2) Denatured template and annealing components – PCR round 1:

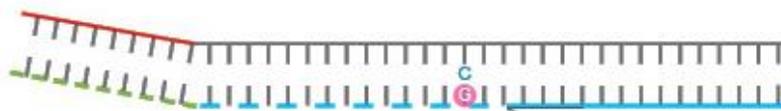


In the first round of PCR, one of the allele-specific primers matches the target SNP and, with the common reverse primer, amplifies the target region.

#### Legend

- Allele-1 tail FAM-labelled oligo sequence
- Allele-2 tail HEX-labelled oligo sequence
- Common reverse primer
- F FAM dye
- H HEX dye
- Target SNP
- Q Quencher

### 3) Complement of allele-specific tail sequence generated – PCR round 2:

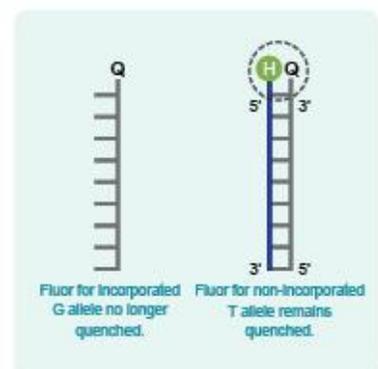


(Reverse primer binds, elongates and makes a complementary copy of the allele-1 tail.)

### 4) Signal generation – PCR round 3:



In further rounds of PCR, levels of allele-specific tail increase. The fluor labelled part of the FRET cassette is complementary to new tail sequences and binds, releasing the fluor from the quencher to generate a fluorescent signal.



**Abbildung 6** Ablauf der KASP® Technologie nach LGC Genomics. Es werden die grundlegenden Reaktionsschritte während einer Polymerasekettenreaktion (PCR) dargestellt. Die 3 Schritte: Denaturierung (Auftrennung der DNA in Einzelstränge), Primer-Annealing (Anlagerung der Primer an die in Schritt 1 entstandenen Einzelstränge) und Primer-Extension (DNA-Polymerase verlängert die Primer mit freien Desoxynukleotidtriphosphaten). Eine Abfolge dieser Schritte dauert nur wenig Minuten und die DNA-Menge der Ausgangsprobe wird dabei verdoppelt. Abbildung im Original übernommen von: <https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/how-does-kasp-work.jpg> (Zugang: 19.05.2019)

#### **2.2.4. Y-chromosomale Marker**

Anhand des phylogenetischen Stammbaums von Felkel et al. (2019) wurden die DNA-Proben mittels KASP® anhand von 26 Y-chromosomalen Markern untersucht. Für jeden Marker kann man zwei Allelvarianten bestimmen. Informationen bezüglich der beiden Allelvarianten der jeweiligen Marker findet man in Tabelle 6. Weitere Informationen zu den Markern finden sich in Felkel et al. 2019 sowie im Anhang. Beide Allelvarianten sind für die KASP® Analyse mit zwei unterschiedlichen Farbmarkern gekennzeichnet: FAM und HEX, genaue Aufschlüsselungen, welche Allelvariante mit welchem Farbstoff markiert wurde, befinden sich in den letzten beiden Spalten der Tabelle 6. In diesen beiden Spalten kann man die für die Auswertung der Proben relevanten Signale entnehmen: Marker\_Allelvariante\_Ziffer. Es wird zwischen den Ziffern eins und null unterschieden. Die Ziffer eins bedeutet, dass die Allelvariante das jüngere abgeleitete Allel darstellt. Steht eine null am Signalende, so bedeutete es, dass es sich hierbei um die ancestrale Allelvariante handelt.

In der Tabelle 6 sind Informationen über die einzelnen im Rahmen der Diplomarbeit verwendeten Marker aufgelistet.

Tabelle 6 Verwendete Y-chromosomale Marker

Marker	Art	Typisierung	Allel-variante	SNP_Allele FAM-Signal	SNP_Allele HEX-Signal
fAAF	SNP	KASP®	G/T	fAAF_G_0	fAAF_T_1
fQI	SNP	KASP®	G/C	fQI_G_0	fQI_C_1
fWB	SNP	KASP®	C/T	fWB_C_0	fWB_T_1
fWM	SNP	KASP®	T/C	fWM_T_0	fWM_C_1
fRN	SNP	KASP®	G/C	fRN_G_0	fRN_C_1
fUJ	SNP	KASP®	T/C	fUJ_T_0	fUJ_C_1
fwU	SNP	KASP®	T/A	fwU_T_0	fwU_A_1
fwY	SNP	KASP®	G/A	fwYG_0	fwY_A_1
fXF	SNP	KASP®	G/A	fXF_G_0	fXF_A_1
qBL	SNP	KASP®	G/C	qBL_G_0	qBL_C_1
qBX	SNP	KASP®	A/T	qBX_A_0	qBX_T_1
qCK	SNP	KASP®	T/A	qCK_T_0	qCK_A_1
qCM	SNP	KASP®	CA/C	qCM_CA_0	qCM_C_1
fBVB	Mikrosatellit	Kapillarelektrophorese		fBVB_204_0	fBVB_208_1
qFM	SNP	KASP®	C/T	qFM_C_0	qFM_T_1
qJ	SNP	KASP®	G/C	qJ_G_0	qJ_C_1
rB	SNP	KASP®	C/G	rB_C_0	rB_G_1
rC	SNP	KASP®	T/C	rC_T_0	rC_C_1
rD	SNP	KASP®	TT/T	rD_TT_0	rD_T_1
rG	SNP	KASP®	A/G	rG_A_0	rG_G_1
rJ	SNP	KASP®	G/C	rJ_G_0	rJ_C_1
rO	SNP	KASP®	C/T	rO_C_0	rO_T_1
rP	SNP	KASP®	T/G	rP_T_0	rP_G_1
rQ	SNP	KASP®	T/C	rQ_T_0	rQ_C_1
sM	SNP	KASP®	A/G	sM_A_1	sM_G_0
sP	SNP	KASP®	A/C	sP_A_0	sP_C_1

## **2.2.5. Eigene Durchführung**

### **2.2.5.1. Vorbereitung eines Real-Time PCR Durchlaufs**

Bevor mit der eigentlichen Laborarbeit begonnen wurde, mussten theoretische Überlegungen erfolgen, um zu eruieren, welche Proben mit welchen KASP® Assays untersucht werden sollten. Hierfür habe ich die Daten im Vorhinein auf eventuelle Verwandtschaftsbeziehungen seitens des Pedigrees sowie auf literarische Abstammungszusammenhänge zwischen den einzelnen Rassen sortiert. Hierzu wurden die jeweiligen Pedigrees angesehen und auf väterliche Vorfahren geachtet. Einige meiner Proben hatten über Generationen identische Stammbäume, diese Proben wurden gruppiert, da ich davon ausgehe, dass sie sich am Stammbaum ähnlich gruppieren.

Vor jedem PCR-Durchlauf musste erneut geprüft werden, auf welche Assays man die Proben untersuchen soll, um möglichst kosten- und zeitorientiert zu arbeiten. Um zusätzlich auch ressourcensparend zu arbeiten, wurde versucht so zu planen, dass möglichst viele Proben in einem Durchlauf auf den gleichen Assay getestet werden konnten.

Zur Kontrolle wurden in jedem Versuchsdurchlauf jeweils zwei weibliche DNA-Proben als Negativkontrollen verwendet, da ich davon ausgehe, dass weibliche Proben immer weder das abgeleitete noch das ancestrale Signal am Y-chromosomale Marker senden, da sich ihre DNA aus zwei X-Chromosomen zusammensetzt. Als Ergebnis wurde immer ein ‚NO\_CALL‘ erwartet. Als Positivkontrollen dienten Proben mit bekanntem Allelstatus aus Vorarbeiten oder Proben, welche im Rahmen dieser Diplomarbeit auf den jeweiligen untersuchten Marker bereits getestet wurden. Es wurden jeweils zwei Positiv-Kontrollen, welche ein „Fam“-Signal und zwei, die ein „Hex“-Signal erzeugen, verwendet. Ich ging davon aus, dass die bereits erzielten Ergebnisse immer reproduzierbar sind und die Proben bei erneuten Testungen erneut dasselbe Signal sendeten.

Mit Hilfe einer Excel-Vorlage, welche von Doris Rigler dankenswerterweise zur Verfügung gestellt wurde, konnte man die benötigten Reagenzienvolumina (KASP® Assay, 2x KASP® Mastermix, DNA) für die Genotypisierung berechnen, sowie die Anordnung der Proben und Kontrollen auf der 96-well Platte festlegen. In der Abbildung 7 ist ein Beispiel für eine vorbereitete Laboranweisung dargestellt.

**Kasp\_03**

Stock	Final	Component	x 1	x n
				60
		DNA	3,00	180,00
		2xKASP	3,00	180,00
fWY		KASPassaymix	0,084	5,04
		EV	6,08	
		aliquot		3,08

**06.08.2018**

neuer Name	alter Name	fam	hex
fWY	kgL	fWY_G_0	fWY_A_1

PCR conditions:

34°C	34°C	61°C -0,6/cycle	34°C	55°C	read step 37°C 1 min
15 min	20 sec	1 min	20 sec	1 min	
		10x			
				27x	

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BW-17	Y_PR_03_061	Y_PR_33_026	Y_PR_33_033	Y_PR_33_033	Y_PR_33_101	Y_PR_33_110	ntc				
B	Y_PR_03_035	Y_PR_03_062	Y_PR_33_032	Y_PR_33_086	Y_PR_33_034	Y_PR_33_102	Y_PR_33_112					
C	Y_PR_03_036	Y_PR_33_016	Y_PR_33_033	Y_PR_33_087	Y_PR_33_095	Y_PR_33_103						
D	Y_PR_03_037	Y_PR_33_017	Y_PR_33_034	Y_PR_33_088	Y_PR_33_096	Y_PR_33_105	fam_KO					
E	Y_PR_03_038	Y_PR_33_013	Y_PR_33_035	Y_PR_33_089	Y_PR_33_097	Y_PR_33_106	hex_KO					
F	Y_PR_03_058	Y_PR_33_020	Y_PR_33_036	Y_PR_33_090	Y_PR_33_098	Y_PR_33_107	hex_KO					
G	Y_PR_03_059	Y_PR_33_021	Y_PR_33_037	Y_PR_33_091	Y_PR_33_099	Y_PR_33_108	female					
H	Y_PR_03_060	Y_PR_33_024	Y_PR_33_038	Y_PR_33_092	Y_PR_33_100	Y_PR_33_109	ntc					

<b>fWY_G_0</b>	<b>fam_KO</b>	<b>hex_KO</b>
	Y_PR_04_034	AKHAL_004
	Y_PR_04_038	AKHAL_008
		Y_PR_33_003
		Y_PR_33_004

**Abbildung 7** Beispiel einer Laboranweisung zur Berechnung der Mengen der Volumina der Mastermix-Komponenten für den geplanten Assay (fWY) und der Probenanordnung auf der 96-well Platte

### 2.2.5.2. Herstellung des Mastermixes und Befüllung der Platte

Die laut der Laboranweisung berechneten Gesamtvolumina des KASP® Assay-Mixes und des 2x KASP® Mastermixes werden gemeinsam in ein Eppendorf-Tube pipettiert und mittels Vortexer zu einer homogenen Lösung gemischt. Anschließend wurde das Gemisch kurz abzentrifugiert, damit keine Rückstände im Deckel verbleiben. Der hergestellte Mastermix wurde, wie in der Laboranweisung geplant, in die für die KASP®-Technologie verwendeten weißen 96-well Platten der Firma Bio-Rad pipettiert. In jede zur Verwendung geplante Vertiefung wurden mit der elektronischen Pipette von Eppendorf 3,08 µl des Mastermixes gefüllt. Des Weiteren wurde in die jeweils vorhergesehene Kavität 3 µl der DNA-Probe pipettiert. Mit den Kontrollproben (je zwei Positiv-Kontrollen für die FAM- und HEX-Fluoreszenz, zwei Negativ-Kontrollen von weiblichen Testtieren und zwei NTC-Leerkontrollen) wurde gleich verfahren. Alle verwendeten Reagenzien

wurden vor dem Pipettieren gevortext und zentrifugiert. In der folgenden Tabelle 7 sind die einzelnen Komponenten, welche in eine Kavität pipettiert werden, aufgelistet.

**Tabelle 7** Bestandteile einer Kavität der 96-well Platte

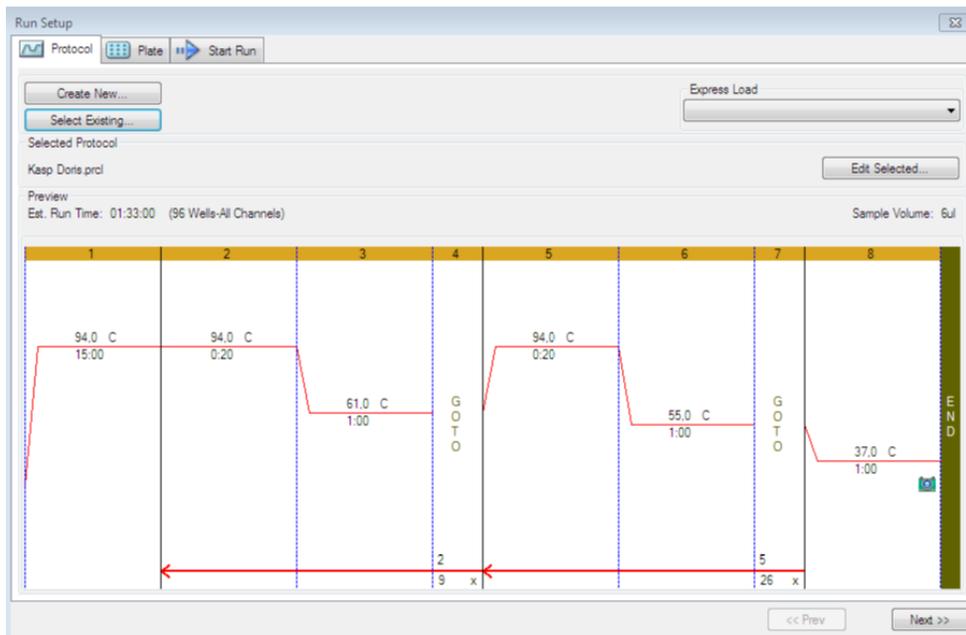
<b>Bestandteil</b>	<b>Volumen/Kavität der 96-well Platte</b>
2xKASP®Mastermix	3 µl
KASP® Assay Mix	0,84 µl
DNA	3 µl
<b>Gesamtvolumina</b>	<b>6,084 µl</b>

### **2.2.5.3. Vorbereitung und Ablauf der Real-Time PCR**

Die befüllte Mikrotiterplatte wurde mit einer durchsichtigen optischen Folie (hergestellt von der Firma Biozym) verschlossen und mit Hilfe der Plattentischzentrifuge (Labnet MPS 1000 Mini plate spinner®) der Firma Sigma-Aldrich zentrifugiert. Anschließend wurde die Platte für das SNP-Screening in den CFX Real-Time System C1000 Touch® der Firma BioRad eingelegt. Mit der dazugehörigen Software wurden die Daten vom vorbereiteten Mastermix-Datenblatt eingetragen und der PCR-Lauf wurde programmiert und gestartet. In folgender Tabelle 8 ist die Abfolge der einzelnen Schritte bei der Real-Time-PCR dargestellt. Dieses Protokoll wurde dankenswerterweise von Doris Rigler zur Verfügung gestellt. Im Bio-Rad CFX Manager 3.1® sind die einzelnen Schritte graphisch dargestellt, dies wird in der Abbildung 8 gezeigt.

**Tabelle 8** Protokoll für die Temperatur/Zeitabläufe der Real Time PCR mit KASP® Technologie

	<b>Ablauf</b>	<b>Zeit/Temperatur</b>	<b>Wiederholungen</b>
1. Schritt	Aktivierung	15 min bei 94°C	1 Zyklus
2. Schritt	Denaturierung	20 s bei 94°C	10 Zyklen
3. Schritt	Primerhybridisierung, Elongation	60 s bei 61-55 °C  (Senkung um 0,6°C/Zyklus)	
5. Schritt	Denaturierung	20 s bei 94°C	26 Zyklen
6. Schritt	Primerhybridisierung, Elongation	60 s bei 55°C	
8. Schritt	Kühlung zur Messung	1 min auf 37°C	1 Zyklus

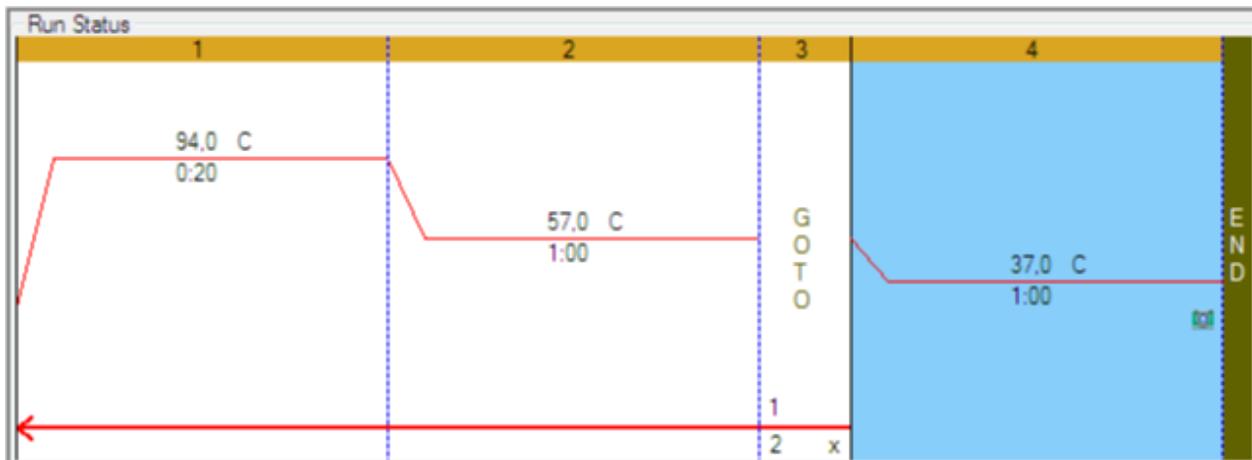
**Abbildung 8** Veranschaulichung der acht Teilschritte der Real Time PCR aus Tabelle 8

#### 2.2.5.4. Durchführung der Recycle

Sollten einige Proben nach Ende des PCR-Laufes nicht eindeutig einem Allel zuzuordnen sein, kann man weitere Zyklen anschließen. Hierfür stand ebenfalls ein Protokoll von Doris Rigler zur Verfügung. Teilweise ist es notwendig mehrere Recycle anzuschließen, um ein aussagekräftiges Ergebnis zu bekommen. In der folgenden Tabelle 9 sind die Schritte eines Recycle aufgelistet. Diese Schritte sind in der Abbildung 9 graphisch dargestellt.

**Tabelle 9** Protokoll für die Temperatur/Zeitabläufe eines Recycles mit KASP® Technologie

Ablauf	Zeit/Temperatur	Wiederholungen
Denaturierung	20 s bei 94°C	3 Zyklen
Primerhybridisierung, Elongation	60 s bei 57°C	

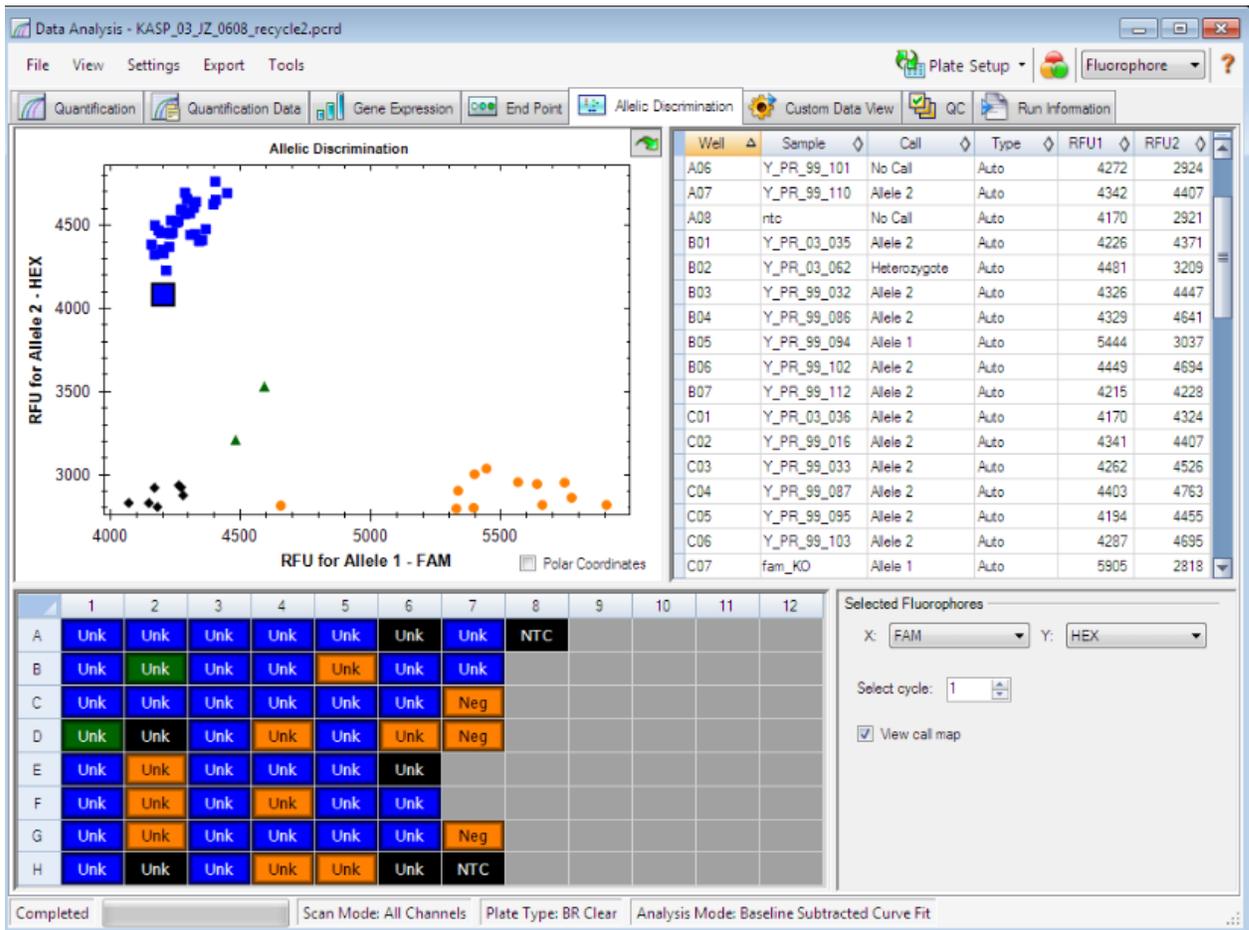


**Abbildung 9** Veranschaulichung des Protokolls eines Recycles im Bio-Rad CFX Manager 3.1®

#### 2.2.5.5. Datenauswertung

Nach Beendigung des PCR-Durchlaufes wurde das Ergebnis von der Software Bio-Rad CFX Manager 3.1® ausgegeben und als Cluster Plots dargestellt. Die Daten konnte man zur weiteren

Verarbeitung in eine Excel-Tabelle exportieren und der Genotyp wurde ermittelt. In der Abbildung 10 ist dargestellt, wie die Auswertung der Daten vom Bio-Rad CFX Manager 3.1® ausgegeben wurde.



**Abbildung 10** Auswertung des PCR-Laufes inklusive zwei durchgeführter Recycle des fWY-Assays. Das Diagramm stellt grafisch die Fluoreszenz-Signale der einzelnen Proben dar. In der Tabelle links unten kann man die Anordnung der Proben auf der für den PCR Durchlauf vorbereiteten Mikrotiterplatte entnehmen. Anhand der Hintergrundfarbe kann man die Signalzuordnung erkennen. Die Tabelle rechts im Bild wird im folgenden Kapitel genauer beschrieben. Die Erläuterung der Farbsignale des durch den Bio-Rad CFX Manager 3.1® ausgegebenen Datensatzes:

Farbe	Allelvariante
● Orange	FAM-Signal (fWY_G_0).
■ Blau	HEX-Signal (fWY_A_1)
◆ Schwarz	Negativ-Probe, NTC-Kontrolle
▲ Grün	Heterozygotes Signal

Die emittierten Fluoreszenzsignale einer DNA-Probe werden im Diagramm graphisch als farbiges Symbol dargestellt, die X-Achse beschreibt die Signalstärke der FAM-Fluorophore und die y-Achse die Hex-Signalstärke. Es wurde erwartet, dass je Probe nur eine Allel-Variante vorherrscht, da das Y-Chromosom in der DNA in hemizygoter Form vorliegt. Im Beispiel des fWY-Assays bedeutet der Ausschlag eines HEX-Signals (blau), dass in der DNA dieser Probe die Variante A (Allel 2) gefunden wurde (siehe Tabelle 10). Der Genotyp dieses Tieres wurde für diesen Marker als ‚fWY\_A\_1‘ eingetragen. Ergibt die Messung ein FAM-Signal (orange), enthält die vorliegende DNA-Probe das alternative Allel und wurde in diesem Fall als ‚fWY\_G\_0‘ in die Datentabelle eingetragen. Aus den phylogenetischen Analysen von Felkel et al. 2019 ergibt sich, dass die Allelvariante ‚G‘ am Marker fWY die ancestrale ist (deshalb\_0). Wurde die Probe im Diagramm grün dargestellt, da sie ein Signal sowohl von Hex- als auch Fam-Fluophore sendete, wurde sie von der Auswertung dieses PCR-Durchlaufs ausgeschlossen. Dies kann zum Beispiel auf eine Verunreinigung der Probe beim Pipettieren zurückzuführen sein. Sendet eine Probe kein messbares Fluoreszenz-Signal, wird diese in schwarz dargestellt, dies kann bedeuten, dass in der Kavität keine DNA vorhanden ist, es sich um ein „No Template Control“ (NTC) handelt (Negativprobe frei von DNA) oder die vorliegende DNA mangelnder Qualität entspricht. In der Tabelle 10 ist die exportierte Excel-Tabelle für das vorhergehende Beispiel dargestellt.

**Tabelle 10** Ausgabe der KASP®-Daten in einer Excel-Tabelle mit der von mir hinzugefügten Allel-Zuordnung (Spalte: Type). Die Spalte Well gibt an, auf welchen Ort der Mikrotiterplatte die Probe pipettiert wurde und unter Sample ist der Probenname gelistet. RFU1 und RFU2 beschreiben die absoluten Werte der Fluoreszenzmessung, anhand derer kann das Fam- beziehungsweise Hex-Allel zugewiesen werden. Diese Zuordnung wird automatisch von der Bio-Rad CFX Manager 3.1® Software ausgeführt. In der tabellarischen Datenauswertung wurde in diesem Fall das Hex-Signal (Allel 2) als fWY\_A\_1\_jz\_180806 vermerkt und das Fam Signal (Allel 1) mit fWY\_G\_0\_jz\_180806. Proben mit negativem oder heterozygotem Signal wurden mit fWY\_NO\_CALL\_jz\_180806 bezeichnet.

<b>Well</b>	<b>Sample</b>	<b>Call</b>	<b>Type</b>	<b>RFU1</b>	<b>RFU2</b>
A01	BW-17	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4353,11	4410,80
B01	Y_PR_03_035	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4226,33	4370,60
C01	Y_PR_03_036	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4169,73	4324,32
D01	Y_PR_03_037	Heterozygote	fWY_NO_CALL_jz_180806	4591,36	3530,08
E01	Y_PR_03_038	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4202,86	4083,55
F01	Y_PR_03_058	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4307,78	4442,53
G01	Y_PR_03_059	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4239,10	4457,21
H01	Y_PR_03_060	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4158,63	4384,09
A02	Y_PR_03_061	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4185,18	4469,99
B02	Y_PR_03_062	Heterozygote	fWY_NO_CALL_jz_180806	4480,85	3208,50
F06	Y_PR_99_107	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4395,96	4627,32
G06	Y_PR_99_108	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4278,39	4597,18
H06	Y_PR_99_109	No Call	fWY_NO_CALL_jz_180806	4279,51	2875,99
A07	Y_PR_99_110	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4342,40	4406,61
B07	Y_PR_99_112	Allele 2	fWY_A_1_jz_180806	4215,10	4228,46

C07	fam_KO	Allele 1	fWY_G_0_jz_180806	5905,40	2817,95
D07	fam_KO	Allele 1	fWY_G_0_jz_180806	5565,24	2954,73
G07	female	Allele 1	fWY_G_0_jz_180806	4654,38	2813,79
A08	ntc	No Call	fWY_NO_CALL_jz_180806	4169,55	2920,92
H07	ntc	No Call	fWY_NO_CALL_jz_180806	4148,02	2829,22

<b>KASP@03_fWY</b>	<b>Signal</b>	<b>Allel</b>
	fam=allele1=	fWY_G_0_jz_180806
	hex=allele2=	fWY_A_1_jz_180806

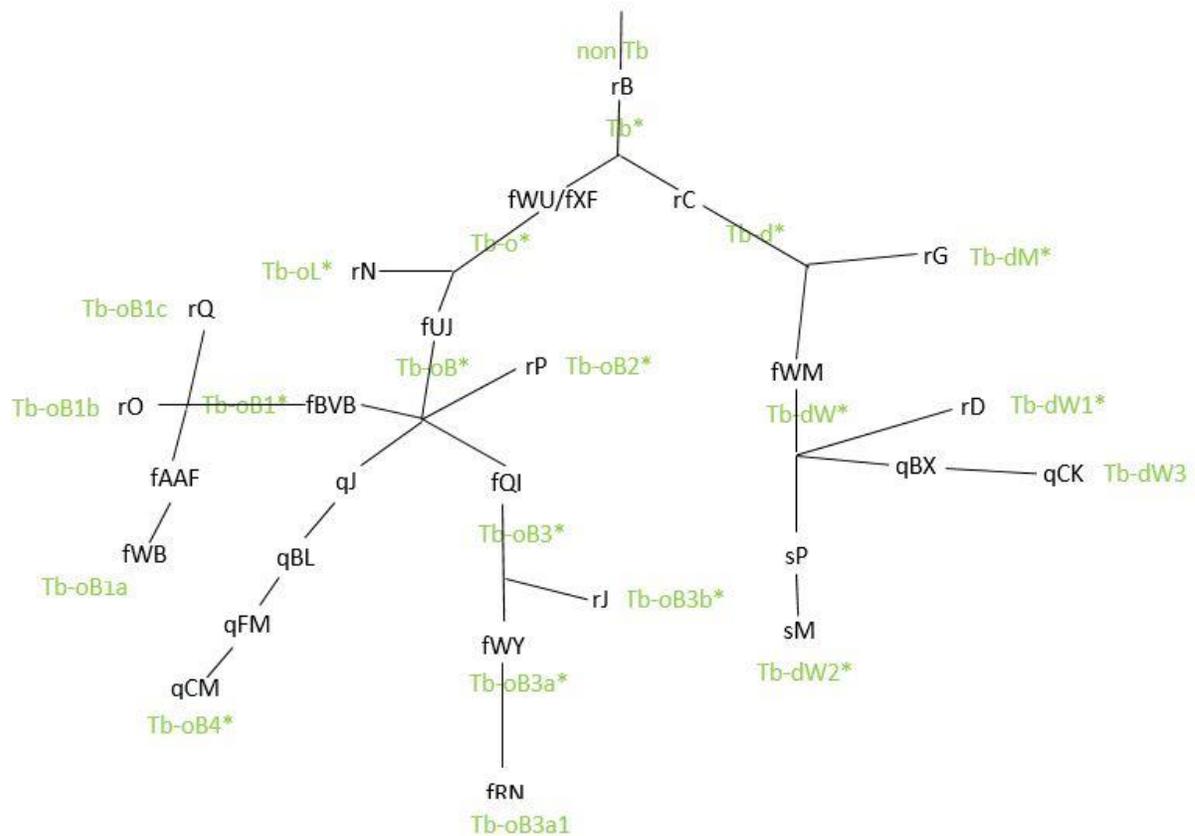
Die Allel-Zuordnungen der DNA-Proben werden in ein Excel-Dokument übertragen, in dem alle Proben mit ihren zugehörigen Informationen und alle bereits getesteten SNPs aufgelistet sind. Diese werden dann einzeln für die Proben ausgewertet, um folgende Assay-Durchläufe zu planen.

#### 2.2.5.6. Einteilung der Proben anhand der Haplogruppe Tb und seiner Assays

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die HG Tb anhand von 26 polymorphen Markern, die laut Vorarbeiten die HG Tb (Felkel et al. 2018/2019) weiter unterteilen, klassifiziert. Die genaue Auflistung der einzelnen SNPs dieser HG sind in der Tabelle 6 zusammengefasst. Details zu den ‚f/r/s‘-SNPs sind in Felkel et al. 2019, die ‚q‘-SNPs sind aus weiteren Arbeiten (Remer et al. in Vorbereitung) entnommen. Auf welche SNPs die jeweiligen DNA-Proben untersucht werden sollten, wurde aufbauend auf Ergebnissen aus den vorrangegangenen PCR-Läufen bestimmt. Wurde das anzestrale Allel detektiert, was bedeutet, dass die Probe nicht in die getestete HG clustert, so wurde die Probe nicht auf die weiteren Verzweigungen dieser HG untersucht. Wurde das abgeleitete Allel detektiert, wurden die Proben anhand der Assays, welche diese HG weiter unterteilen, untersucht.

In folgender Abbildung 11 ist die phylogenetische Struktur der Tb-HT, basierend auf den im Rahmen der Arbeit verwendeten Assays dargestellt. Die Abbildung 11 wurde anhand des phylogenetischen Stammbaumes aus Felkel et al. 2018 und 2019 gezeichnet. Die Nomenklatur der einzelnen Verzweigungen wurde ebenfalls übernommen. Wenn ein HT mit einem Stern am Namensende angegeben wird, bedeutet das, dass es evolutionär folgende HT gibt, die aufgrund einer weiteren Mutation entstanden sind, das Individuum diese jedoch nicht trägt.

Die Marker, welche mit „q“ im Namen beginnen, also Assays der SG Tb-oB4\* und Tb-dW3, sind noch nicht veröffentlicht, die Publikation dieser Assays befindet sich von Remer et al. in Vorbereitung, die flankierenden Sequenzen dieser Assays befinden sich im Anhang.



**Abbildung 11** Vereinfachter phylogenetischer Stammbaum gezeichnet nach Felkel et al. 2018/19 und Remer et al. (in Vorbereitung). Die schwarz geschriebenen Namen geben die jeweiligen

Marker am Stammbaum an, anhand welcher man die DNA-Proben auf die grün geschriebenen HT untersuchen und gruppieren kann.

Bevor mit der Untersuchung der 121 Hengst-DNA-Proben begonnen wurde, wurde eine Excel-Tabelle erstellt, in der sämtliche bekannte Daten zu den jeweiligen Proben zusammengefasst sind. Diese Tabelle beinhaltete auch die Informationen zu den bereits getesteten Assays, die im Zuge dieser Diplomarbeit von Bedeutung waren. Bei vielen DNA-Proben gab es bereits im Rahmen vorhergehender Untersuchungen Ergebnisse zu verschiedenen Assays, somit konnte eine gewisse Grundzuordnung in der HG Tb getroffen werden. Da von einigen extrahierten Hengst-DNA-Proben nur noch wenig Material vorhanden war oder viele Assay-Durchläufe von Nöten waren, mussten die Proben verdünnen werden.

Bei einigen der Proben war vorab nicht klar, ob sie in die HG Tb clustern, diese Proben (darunter z.B. Shetlandponys) wurden zu Beginn mit Assay rB auf die HG Tb getestet. Ich erwarte mir also, dass ein geringer Teil meiner Proben nicht in die HG Tb gruppieren.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Die Auswertung der Assay-Ergebnisse**

Im Rahmen meiner Diplomarbeit wurden insgesamt 121 männliche Pferde untersucht. Leider kam es vor, dass einige Proben zu wenig oder möglicherweise keine DNA mehr enthielten und aus diesem Grund in den PCR-Durchläufen keine auswertbaren Signale mehr ausgesendet haben. Somit kam es in meiner Arbeit zustande, dass von den 121 Hengsten nur für 96 ein „Endpunkt-Haplotyp“ in der HG Tb bestimmt werden konnte. Die verbleibenden 25 Proben, bei welchen es auf Grund von technischen Problemen zu keinem endgültigen Ergebnis kam, wurden in den Auswertungen nicht berücksichtigt. Da jedoch auch zu diesen Proben Teilergebnisse erzielt werden konnten, wurden diese im Anhang an diese Diplomarbeit noch beigelegt. Eine Ausnahme ist der erste Teil der Auswertung, in dem eine grundlegende Zuordnung der Proben zur HG Tb vorgenommen wurde. Hier wurden alle 121 Hengste in die Auswertung mit einbezogen.

In Tabelle 11 sind alle 121 DNA-Proben anhand ihrer Rasse gelistet. Unterteilt in zwei Gruppen, zum einen die 96 Proben, welche in meiner Auswertung betrachtet werden konnten. Und zum anderen die 25 Proben, welche aufgrund von technischen Problemen von der Auswertung ausgeschlossen wurden.

**Tabelle 11** Rasseliste der auswertungsrelevanten Proben und der nicht zur Auswertung herangezogenen Proben

<b>Rasse</b>	<b>Anzahl auswertbare Proben</b>	<b>Anzahl ausgeschlossene Proben</b>
Achal Tekkiner	15	0
American Bashkir Curly Horse	1	1
Anglo Normanne	1	0
Appaloosa	2	0
Araber	1	1
Araber (Vollblutaraber)	4	0
Araber (Partbred Araber)	0	1
Araber (Russischer Araber)	6	0
Süddeutsches Kaltblut	1	0
Kalmückisches Pferd	1	0
Karabagh	1	0
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	2	3
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1	0
Lokale Züchtung Kasachstan	15	0
Lokale Züchtung Vietnam	0	1
Lokale Züchtung Myanmar	2	0
Miniatur Horse (Amerikanisches)	1	0
Mongolisches Pferd	3	0
Neues Kirgisches Pferd	1	4
Quarter Horse	10	3

Saddlebred	2	1
Shetlandpony	2	1
Terceira Pony	3	1
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	6	3
Transbaikal Pferd	0	2
Trakehner (Russische Zucht)	5	0
Traber	5	1
Warmblut Alt-Württemberger	0	1
Warmblut KWPN	0	1
Warmblut Trakehner	4	0
Welsh-A	1	0
<b>Summe</b>	<b>96</b>	<b>25</b>

### 3.2. Erste Einteilung der Gesamtheit der untersuchten Proben

Für diese erste Auswertung wurden alle 121 Hengste betrachtet. Die Proben wurden anhand ihrer Rassen tabellarisch zusammengefasst und mittels positiv detektiertem Assay der jeweiligen HG zugeordnet. Da man, wie bereits in den Vorüberlegungen dargestellt, davon ausgehen konnte, dass nicht alle meiner Proben die HG Tb widerspiegeln, wurden in der ersten Auswertung die Proben auf den Marker rB getestet. Bei den meisten Proben wurde das Allel für den Marker rB (rB\_G\_1) detektiert und somit die Zugehörigkeit zur HG Tb bestätigt. In der folgenden Tabelle 12 ist dargestellt, welche der Tiere in der für diese Diplomarbeit relevante HG Tb clustern.

**Tabelle 12** Rasseverteilung anhand der HG Tb\*, Non\_Tb\* und rB\_No\_Call

<b>Rasse</b>	<b>Tb*</b>	<b>Non_Tb</b>	<b>rB_No_Call</b>
Achal Tekkiner	15	0	0
American Bashkir Curly Horse	2	0	0
Anglo Normanne	1	0	0
Appaloosa	2	0	0
Araber	2	0	0
Araber (Russischer Araber)	6	0	0
Araber (Vollblutaraber)	4	0	0
Araber (Partbred Araber)	1	0	0
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	9	0	0
Kalmückisches Pferd	1	0	0
Karabagh	1	0	0
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	4	0	1
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1	0	0
Lokale Züchtung Kasachstan	15	0	0
Lokale Züchtung Myanmar	2	0	0
Lokale Züchtung Vietnam	1	0	0
Miniatur Horse (Amerikanisches)	0	1	0
Mongolisches Pferd	3	0	0
Neues Kirgisches Pferd	5	0	0
Quarter Horse	13	0	0
Saddlebred	3	0	0
Shetlandpony	1	1	1

Süddeutsches Kaltblut	1	0	0
Terceira Pony	0	3	1
Traber	6	0	0
Trakehner (Russische Zucht)	5	0	0
Transbaikal Pferd	2	0	0
Warmblut Alt-Württemberger	1	0	0
Warmblut KWPN	1	0	0
Warmblut Trakehner	4	0	0
Welsh-A	0	1	0
<b>Summe</b>	<b>112</b>	<b>6</b>	<b>3</b>

Von den 121 untersuchten männlichen Tieren gruppierten sich 112 Proben (93 %) in der HG Tb\*. Meine Vermutung, dass die untersuchten Ponyrassen nicht in die HG Tb\* clustern, wurde in meinen Ergebnissen bestätigt. Insgesamt konnte bei sechs Proben (5 %) das ancestrale Allel des Markers rB (rB\_C\_0) detektiert werden. Es wurde ermittelt, dass sie nicht in die HG Tb fallen (Non\_Tb). All diese gehörten den in den Vorüberlegungen bereits vermuteten Ponyrassen an (Miniatur Horse (Amerikanisches), Shetlandpony, Terceira Pony und Welsh-A).

Drei der betrachteten Proben konnten nicht genauer auf ein Allel des HT Tb\* bestimmen werden, da diese Proben auch bei mehrmaligen Testläufen keine eindeutigen Ergebnisse für den Marker rB lieferten. Hierbei handelte es sich um ein Kirgisisches Pferd (Ursprungsrasse), ein Shetlandpony und ein Terceira Pony. Bei den beiden Erstgenannten konnte für die beiden evolutionär auf Tb folgenden HG (Tb-d und Tb-o) das ancestrale Allel des jeweiligen Markers bestimmt werden. Das Terceira Pony lieferte jedoch bei keinem der untersuchten Assays aussagekräftige Ergebnisse, daher kann für diese Probe keine Aussage getroffen werden.

Einzig eine Probe, welche in den theoretischen Überlegungen nicht zur HG Tb\* zugehörig vermutet wurde, widersprach den Vermutungen und spiegelte das abgeleitete Allel des Marker rB (rB\_G\_1) wider, es handelte sich hierbei um ein Shetlandpony.

Zur Veranschaulichung werden die sechs Proben, welche das ancestrale Allel des Markers rB (rB\_C\_0) (Tabelle 12, Spalte Non\_Tb) widerspiegeln, in dem folgenden Kapitel erneut erwähnt, um dort die Gesamtheit der bis zu einem Endpunkt bestimmten 96 Proben zusammenzufassen. Die 25 Tiere, welche keine endgültigen Ergebnisse erzielten, sind von den folgenden Betrachtungen ausgeschlossen (Tabelle 11).

### **3.3. Die Aufteilung in die Haplogruppen Tb-d\* und Tb-o\***

Die HG Tb teilt sich anfangs in zwei Äste auf: Zum einem in die HG Tb-o\*, diese wird durch das Allel „fWU\_A\_1“ determiniert, zum anderen Tb-d, diese wird durch das Allel „rC\_C\_1“ determiniert.

Die Rekonstruktion der Tb-HG erfolgt nur anhand der 96 Pferde, welche eindeutige Ergebnisse lieferten (Tabelle 11).

In der folgenden Tabelle 13 sind die Resultate der ersten Aufzweigung in die HG Tb-d und Tb-o dargestellt. Auch in den absoluten und prozentuellen Analysen in diesem und folgenden Kapiteln wird ausschließlich von den 96 betrachteten Pferden ausgegangen.

**Tabelle 13** Rasseverteilungen anhand der HG Tb-d\* und Tb-o\*. Unter Non-Tb\* sind Proben gelistet, welche nicht in der HG Tb zu liegen kamen. Unter Tb\* (Non Tb-o\*/d\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel des Markers rB (rB\_G\_1) detektieren, aber sich weder in der HG Tb-o noch Tb-d gruppieren.

<b>Rasse</b>	<b>Tb-d*</b>	<b>Tb-o*</b>	<b>Non-Tb*</b>	<b>Tb* (Non Tb-o*/-d*)</b>
Achal Tekkiner	0	15	0	0
American Bashkir Curly Horse	1	0	0	0
Anglo Normanne	0	1	0	0
Appaloosa	2	0	0	0
Araber	0	1	0	0
Araber (Russischer Araber)	0	0	0	6
Araber (Vollblutaraber)	0	4	0	0
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	0	6	0	0
Kalmückisches Pferd	0	1	0	0
Karabagh	0	0	0	1
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	0	2	0	0
Kirgisches Pferd (unbekannt)	0	1	0	0
Lokale Züchtung Kasachstan	2	4	0	9
Lokale Züchtung Myanmar	0	2	0	0
Miniatur Horse (Amerikanisches)	0	0	1	0
Mongolisches Pferd	0	0	0	3

Neues Kirgisisches Pferd	0	1	0	0
Quarter Horse	10	0	0	0
Saddlebred	0	2	0	0
Shetlandpony	0	0	1	0
Shetlandpony Mini	0	1	0	0
Süddeutsches Kaltblut	1	0	0	0
Terceira Pony	0	0	3	0
Traber	5	0	0	0
Trakehner (Russische Zucht)	5	0	0	0
Warmblut Trakehner	0	3	0	1
Welsh-A	0	0	1	0
<b>Summe</b>	<b>26</b>	<b>44</b>	<b>6</b>	<b>20</b>

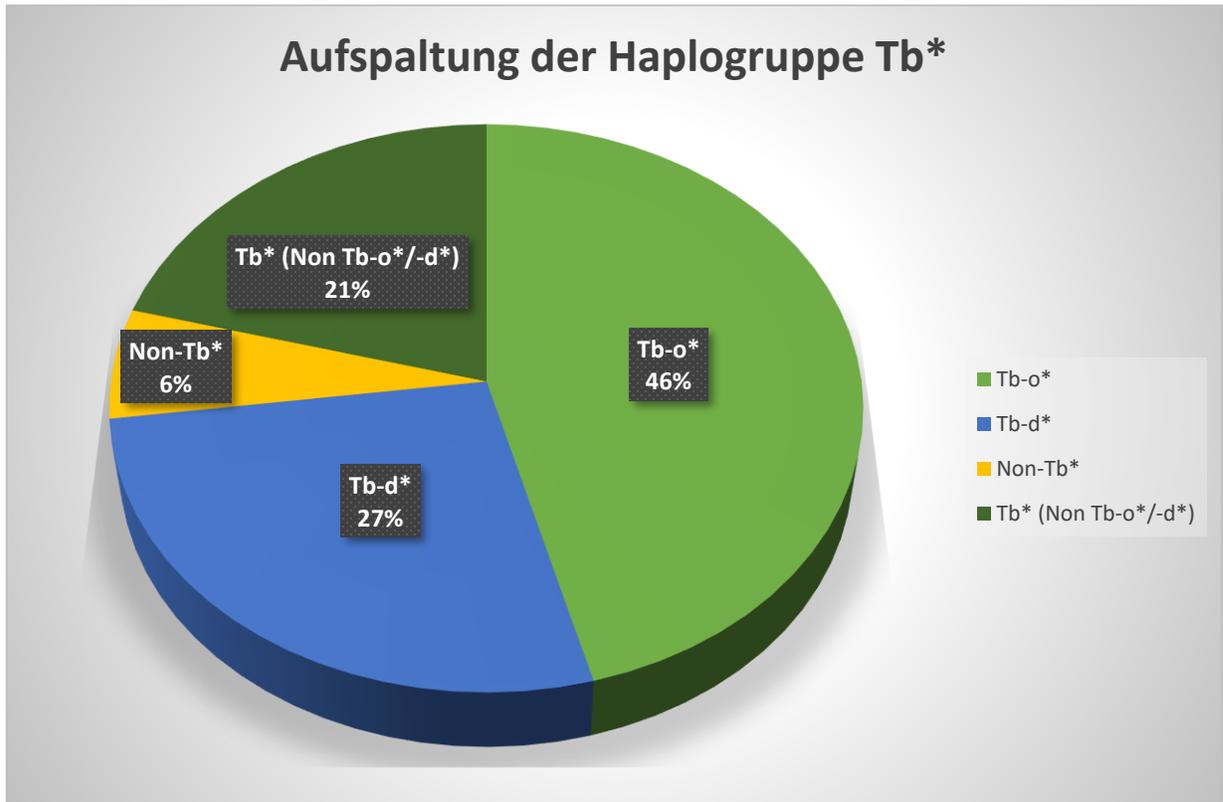
Ein Großteil der 96 weiter untersuchten Tiere (44 Proben, 46 %) signalisierten das abgeleitete Allel des Markers fWU (fWU\_A\_1) und konnten somit der HG Tb-o\* zugeordnet werden. Unter den 44 Proben, welche der HG Tb-o\* zugeordnet werden konnten, befanden sich alle im Versuch betrachteten Achal Tekkiner (15 Proben). Auch alle Araber, ausgenommen die russisch gezogenen Rasseangehörigen, und sechs von sechs der russisch gezogenen Englischen Vollblüter gruppierten sich in dieser HG. Ebenso konnten sämtliche Kirgisische Proben der HG Tb-o\* zugeordnet werden.

Etwas mehr als ein Viertel (26 Proben, 27 %) der 96 Proben spiegelten das anzestrale Allel des Markers fWU (fWU\_T\_0) wider, trugen jedoch das abgeleitete Allel für Marker rC (rC\_C\_1), welcher die HG Tb-d\* widerspiegelt. Zu diesen Proben gehörten alle Traber. Mit den Quarter Horse, Appaloosa und Curly Horse wird deutlich, dass ein Großteil der von mir getesteten

amerikanischen Rassen dieser HG zuzuordnen sind. Einzig die beiden amerikanischen Hengste der Rasse Saddlebred konnten dem anderen Ast der HG Tb, der HG Tb-o\* zugeordnet werden. Bei 26 Proben konnten keine der beiden in diesem Kapitel betrachteten HG detektiert werden. Wie bereits im vorhergehenden Kapitel dargestellt wurde, trugen sechs Pferde das ancestrale Allel für den Marker rB (rB\_C\_0) und gruppieren somit nicht in der in dieser Diplomarbeit betrachteten HG Tb. Einzig ein Minishetty, welches ebenfalls nicht in der HG Tb vermutet wurde, determinierte die HG Tb-o\* und widerspricht somit den Vorüberlegungen.

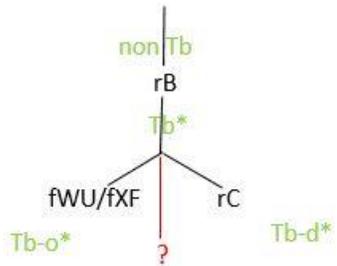
Die restlichen 20 dieser Proben wurden auf das abgeleitete Allel rB\_G\_1 getestet, jedoch wurde für sie sowohl für den Marker fWU, als auch für den Marker rC die ancestrale Allelvariante bestimmt. Somit stoppen sie nach aktuellen Untersuchungen auf dem internen Knotenpunkt Tb. Besondere Aufmerksamkeit bei diesen 20 Hengsten gilt den Russischen Arabern. Sämtliche Tiere dieser Rasse, welche in meiner Diplomarbeit untersucht wurden, stoppten an diesem Punkt des phylogenetischen Stammbaumes, wohingegen sich alle anderen Araber in der HG Tb-o\* gruppierten. Ebenso endeten neun von fünfzehn Pferden, welche in Kasachstan gezüchtet wurden und alle drei in meiner Arbeit getesteten mongolischen Pferde an diesem Knotenpunkt.

In dem folgenden Diagramm (Abbildung 12) ist die Verteilung der 96 untersuchten Proben in der HG Tb graphisch dargestellt.



**Abbildung 12** Prozentuelle Aufteilung der 96 Proben in die HG Tb-d\* und Tb-o\*. Die Aufteilung der Proben, welche nicht positiv auf die HG Tb-d\* und Tb-o\* getestet wurden: Non-Tb\* sind Proben, welche sich nicht in der HG Tb gruppierten. Unter Tb\* (Non Tb-o\*/-d\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel (rB\_G\_1) widerspiegeln, aber die ancestralen Allelvarianten der Marker fWU und rC determinieren.

Die Abbildung 13 soll die Rekonstruktion der HG Tb\* veranschaulichen. Mit jedem Abschnitt des Kapitels ‚Ergebnis‘ meiner Diplomarbeit soll ein Teil des Tb-Stammbaumes rekonstruiert werden und damit den phylogenetischen Stammbaum und die Verteilung der Proben übersichtlich dargestellt werden.



**Abbildung 13** Stand der rekonstruierten HG Tb. In schwarzer Schrift dargestellt sind die zu dem Zeitpunkt der Diplomarbeit bereits untersuchten Marker. Grün angegeben sind die bis zu diesem Zeitpunkt ausgewerteten HT und mit dem roten Fragezeichen wird angegeben, dass Proben an von dem roten Ast ausgehenden Knotenpunkt gruppierten, aber keinen der evolutionär folgenden Marker detektierten.

### 3.3.1. Aufspaltungen der Haplogruppe Tb-d\*

Von den 96 betrachteten Proben signalisierten 26 Tiere (27 %) das abgeleitete Allel für den Marker rC (rC\_C\_1). Diese Proben wurden auf die weiterführenden Äste der HG Tb-d\* getestet. Die 44 Hengste, für die die HG Tb-o\* bestimmt wurde, sowie die 26 Tiere, welche nicht in die beiden HG Tb-d\* und Tb-o\* fallen, würden bei den evolutionär später entstandenen Mutationen der HG Tb-d\* immer das ancestrale Allel der untersuchten Marker widerspiegeln. Diese wurden somit für diesen Abschnitt des phylogenetischen Stammbaumes nicht weiter untersucht.

In den folgenden Kapiteln wird Schritt für Schritt die Aufteilung der Rassen anhand der untersuchten Proben in der HG Tb-d\* dargestellt.

#### 3.3.1.1. Haplotypverteilung Tb-dW\* und Tb-dM\*

Laut Felkel et al. 2019 spaltet sich die HG Tb-d\* in die beiden Untergruppen Tb-dW\* und Tb-dM\* auf (siehe Abbildung 11 dieser Arbeit). Die HG Tb-dW\* wird durch das abgeleitete Allel des

Markers fWM (fWM\_C\_1) determiniert. Sendete eine Probe das ancestrales Allel des Markers fWM (fWM\_T\_0), wurde sie des Weiteren auf den Marker rG untersucht. Sollte sie auf diesen das abgeleitete Allel (rG\_G\_1) determinieren, so kann diese Probe der HG Tb-dM\* zugeordnet werden.

In der folgenden Tabelle 14 sind die Resultate der Aufzweigung in die HG Tb-dW\* und Tb-dM\* dargestellt.

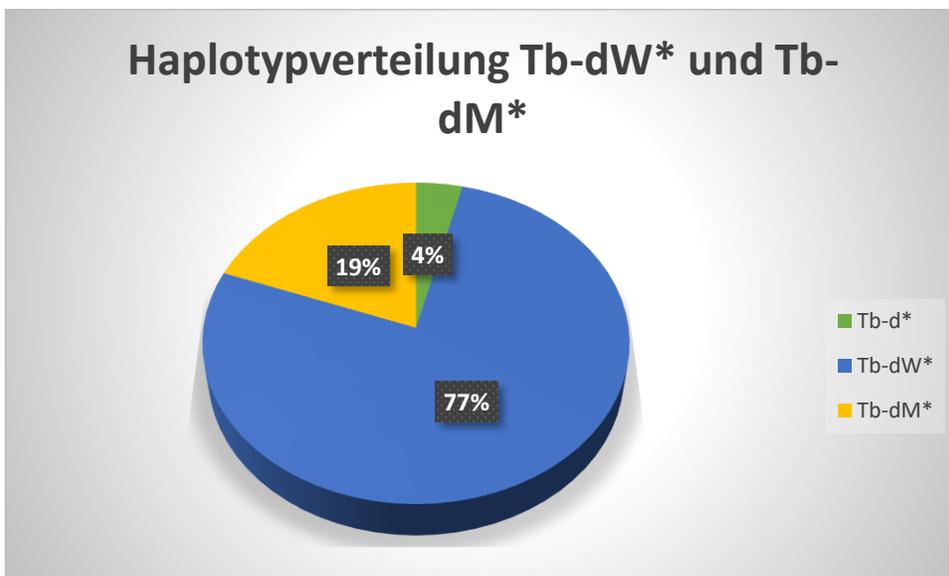
**Tabelle 14** Rasseverteilungen anhand der HG Tb-dW\* und Tb-dM\*. Unter Tb-d\* (Non Tb-dW\*/dM\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel des Markers rC (rC\_C\_1) besitzen, aber sich weder in die HG Tb-dW\*, noch Tb-dM\* gruppieren.

<b>Rasse</b>	<b>Tb-dW*</b>	<b>Tb-dM*</b>	<b>Tb-d*(Non_Tb-dW*/dM*)</b>
American Bashkir Curly Horse	1	0	0
Appaloosa	2	0	0
Lokale Züchtung Kasachstan	1	0	1
Quarter Horse	10	0	0
Süddeutsches Kaltblut	1	0	0
Traber	0	5	0
Trakehner (Russische Zucht)	5	0	0
<b>Summe</b>	<b>20</b>	<b>5</b>	<b>1</b>

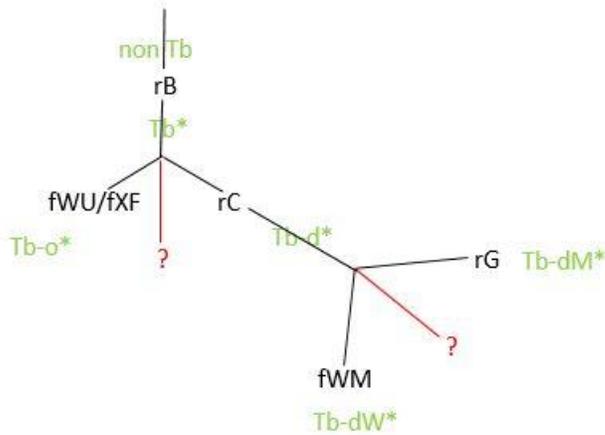
Ein Großteil, nämlich 20 (77 %) der in der HG Tb-d\* untersuchten Versuchstiere tragen das abgeleitete Allel des Markers fWM (fWM\_C\_1), was die Tiere auf Tb-dW gruppiert. Unter den Tieren, die in diese HG fallen, finden sich viele heutzutage als Westernpferde bezeichnete Rassen. Besonders hervorzuheben ist, dass ein Großteil der von mir getesteten Pferde mit amerikanischer Rasseherkunft sich in dieser HG gruppieren. Darunter die zwei in meiner Arbeit untersuchten Appaloosa, sowie alle Quarter Horses (zehn). Unter den restlichen acht Tieren befinden sich jeweils ein kasachstanischer Hengst, ein American Bashkir Curly Horse sowie ein Süddeutsches Kaltblut. Es gruppierten alle fünf von mir untersuchten Trakehner russischer Herkunft in die HG Tb-dW\* auf. Im folgenden Kapitel meiner Diplomarbeit wird die HG Tb-dW\* genauer untersucht, um Unterschiede zwischen den sechs Rassen (vertreten durch insgesamt 26 Tiere) deutlicher zu rekonstruieren.

Eine Zugehörigkeit zur HG Tb-dM\* konnte in fünf Proben ausschließlich bei Tieren der Rasse Traber festgestellt werden. Alle anderen der in diesem Kapitel untersuchten Proben trugen das ancestrale Allel des Markers rG (rG\_A\_0) und detektieren somit nicht die HG Tb-dM. Da in die HG Tb-dM nur eine Rasse gruppiert, wird auf die weitere Aufzweigung dieser HG in meiner Diplomarbeit nicht eingegangen, da sich keine weitere Aussagekraft in Bezug auf das Verteilungsmuster der untersuchten Rassen ergeben würde.

Nur eine der 26 untersuchten Proben gruppierte weder in Tb-dW\*, noch in Tb-dM. Folglich gruppiert sich diese Probe auf Tb-d\*, folgt jedoch keinem der bisher sequenzierten weiterführenden Äste. Bei der Probe handelt es sich um einen Hengst einer lokalen Züchtung aus Kasachstan. In der folgenden Abbildung 14 ist die Verteilung der 26 Hengste in der HG Tb-d\* graphisch dargestellt.



**Abbildung 14** Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die HG Tb-dW\* und Tb-dM\*. Tb-d\* (Non Tb-dW\*/dM\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel des Markers (rC\_C\_1) besitzen, aber sich weder in der HG Tb-dW noch in Tb-dM gruppieren.



**Abbildung 15** Stand der rekonstruierten HG Tb

### 3.3.1.2. Haplotypverteilung Tb-dW1\*, Tb-dW2\* und Tb-dW3\*

Von den 20 DNA-Proben, welche dem Tb-dW\* Zweig zugeordnet werden konnten, wurden noch genauere Untersuchungen anhand der bereits beschriebenen Verzweigungen (Tb-dW1/2/3) durchgeführt. Der Tb-dW\* Zweig ist genetisch, wie bereits in der Einleitung beschrieben, auf den Englischen Vollbluthengst Eclipse (Abbildung 5) zurückzuführen. Die 20 Tiere gehörten, wie der Tabelle 14 zu entnehmen ist, acht teilweise sehr unterschiedlichen Rassen an. In der folgenden Tabelle 15 ist die genaue Rasseverteilung meiner Untersuchungen an diesem Abschnitt des Baumes zu entnehmen.

**Tabelle 15** Rasseverteilungen anhand der SG Tb-dW1\* und Tb-dW2\*. Unter Tb-dW\* (Non Tb-dW1\*/2\*/3\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel des Marker fWM (fWM\_C\_1) widerspiegeln, aber nicht in die SG Tb-dW1\*, Tb-dW2\* und Tb-dW3\* gruppierten.

<b>Rasse</b>	<b>Tb-dW1*</b>	<b>Tb-dW2*</b>	<b>Tb-dW*(non_Tb-dW1*2*/3*)</b>
American Bashkir Curly Horse	0	0	1
Appaloosa	2	0	0
Lokale Züchtung Kasachstan	1	0	0
Quarter Horse	0	0	10
Süddeutsches Kaltblut	0	0	1
Trakehner (Russische Zucht)	0	5	0
<b>Summe</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>12</b>

Bei den 20 untersuchten Hengsten ergab sich ein sehr interessantes Verteilungsmuster in der HG Tb-dW\*, weil, wie auch in den bisherigen Untersuchungen, eine gewisse Rassedisposition zu den einzelnen HT dieser HG erkennbar ist. Keine der untersuchten Proben fiel auf den Tb-dW3\* Ast.

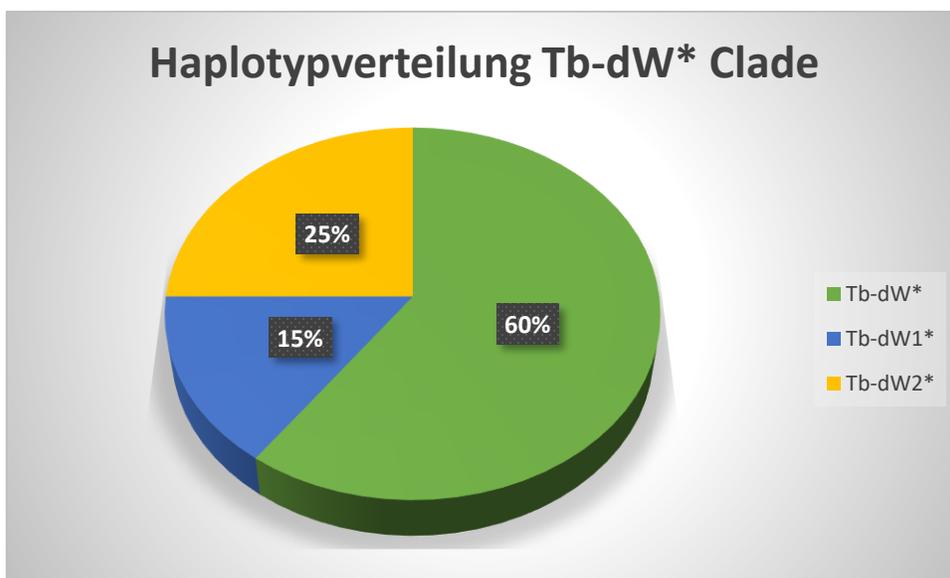
Drei Proben (15 %) der in der HG Tb-dW\* untersuchten Versuchstiere gruppierten auf der SG Tb-dW1\*. Zwei von ihnen waren Appaloosas, die dritte Probe war eine von fünfzehn der untersuchten ‚Lokalen Züchtungen aus Kasachstan‘. Da nur drei der untersuchten Tiere diese SG aufwiesen, wurde davon abgesehen, die in Felkel et al. 2019 in weitere sechs Äste unterteilte SG Tb-dW1\* genauer zu betrachten.

Ein weiterer Zweig der HG Tb-dW\*: Tb-dW2\* wird durch die Assays sM und sP determiniert. Von den DNA-Proben gruppierten sich fünf russisch gezogene Trakehner in dieser SG. Eine Besonderheit an diesen Proben ist, dass alle nur das abgeleitete Allel von dem Marker sP (sP\_C\_1) trugen, keine dieser Proben jedoch das abgeleitete Allel von sM (sM\_A\_1) trug. In den bisherigen

Forschungen (Felkel et al. 2019 und Wallner et al. 2017) wurde davon ausgegangen, dass die beiden Assays denselben HT determinieren und dasselbe Ergebnis liefern. Nach meinen Ergebnissen kann der Stammbaum nun unterteilt werden und ein neuer Knotenpunkt zwischen den Assays sP und sM eingefügt werden.

Zwölf der untersuchten Tiere gruppierten auf den internen Knotenpunkt Tb-dW\*. Unter diesen Proben befanden sich zehn und damit alle untersuchten Quarter Horses. Es besteht also die Möglichkeit, dass diese Tiere eine eigene SG der HG Tb-dW\* darstellen.

In der Abbildung 16 ist die Verteilung der 20 Hengste in der HG Tb-dW\* graphisch dargestellt, sowie abschließend der rekonstruierte Stammbaum, des von mir betrachteten Ausschnitts des Tb-d\* Astes. In den folgenden Kapiteln dieser Arbeit wird auf die Aufteilung der HG Tb-o\* eingegangen.



**Abbildung 16** Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-dW1\* und Tb-dW2\*. Die SG Tb-dW3\* fehlt in diesem Diagramm, da dieser sich in keiner der betrachteten Proben nachweisen ließ. Tb-dW\* spiegelt die Proben wider, welche das abgeleitete Allel fMW (fWM\_C\_1), aber jeweils das ancestrale Allel der Marker für die SG Tb-dW1\*, Tb-dW2\* und Tb-dW3\* detektierten.

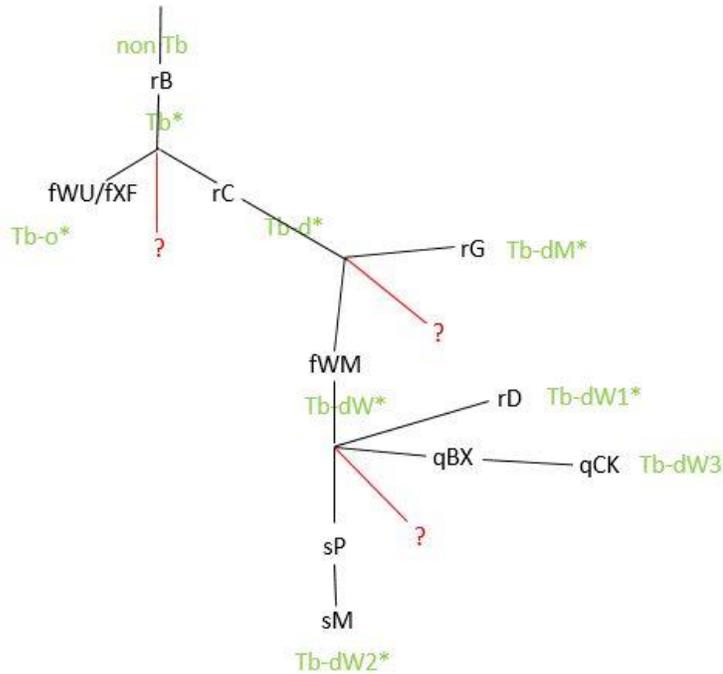


Abbildung 17 Stand der rekonstruierten HG Tb

### 3.3.2. Aufspaltung der Haplogruppe Tb-o\*

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die Verteilungsmuster der 26 Proben, welche das abgeleitete Allel des Markers rC (rC\_C\_1) trugen, rekonstruiert. Die HG Tb-o ist ebenso wie die HG Tb-d eine Aufspaltung von der in meiner Arbeit betrachteten HG Tb.

In den ersten Untersuchungen meiner Diplomarbeit (siehe 3.3. Die Aufteilung in die Haplogruppen Tb-d\* und Tb-o\*) gruppierten 44 der 96 Proben auf den Tb-o\* Zweig (fWU\_A\_1). Dieser Abschnitt des Baumes verzweigt sich nach Felkel et al. 2019 in die HG Tb-oL\* und Tb-oB\*. Laut den Forschungen von Felkel et al. 2019. gibt es die Erkenntnis, dass der Tb-oL\* Zweig ausschließlich beim Lipizzaner detektiert wurde. Da in meinen 96 DNA-Proben keine Lipizzaner

oder verwandte Rassen untersucht wurden, wurde davon ausgegangen, dass es eher unwahrscheinlich ist, diesen Ast in meinem Datensatz zu detektieren.

Die 44 Proben wurden auf die restlichen beschriebenen HT der HG Tb-o getestet.

In den folgenden Kapiteln meiner Diplomarbeit werden die Abschnitte des Tb-o\* Stammes in einzelnen Schritten genauer rekonstruiert, um die Verwandtschaftsbeziehungen der einzelnen Rassen genauer aufzuzeigen.

### **3.3.2.1. Haplotypverteilung Tb-oL\* und Tb-oB\***

Meine bereits durchgeführten theoretischen Überlegungen zur HG Tb-oL\* fanden in der Auswertung meiner Ergebnisse der 44 Tiere Bestätigung. Alle DNA-Proben trugen das abgeleitete Allel am Assay fUJ (fUJ\_C\_1) und sind somit der HG Tb-oB\* zuzuordnen. Keine Probe kann in Tb-oL\* gruppieren, weil alle Proben auf fUJ das abgeleitete Allel zeigen und somit nicht in der HG Tb-oL gruppieren. Die zugehörigen Rassen sind in Tabelle 16 notiert. In der Abbildung 18 ist, wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln, der stetige Aufbau des phylogenetischen Tb\* Stammbaumes dargestellt.

**Tabelle 16** Rasseverteilung der HG Tb-oB\*

<b>Rasse</b>	<b>Tb-oB*</b>
Achal Tekkiner	15
Anglo Normanne	1
Araber	1
Araber (Vollblutaraber)	4
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	6
Kalmückisches Pferd	1
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	2
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1
Lokale Züchtung Kasachstan	4
Lokale Züchtung Myanmar	2
Neues Kirgisches Pferd	1
Saddlebred	2
Shetlandpony Mini	1
Warmblut Trakehner	3
<b>Summe</b>	<b>44</b>

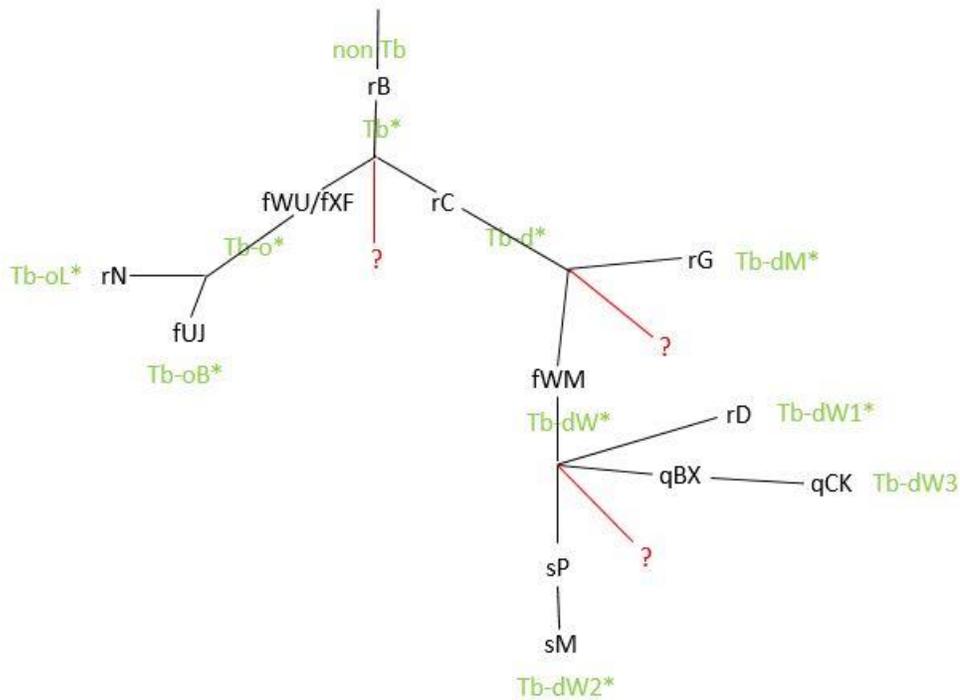


Abbildung 18 Stand der rekonstruierten HG Tb

### 3.3.2.2. Haplotypverteilung Tb-oB1\*, Tb-oB2\*, Tb-oB3\* und Tb-oB4\*

Die HG Tb-o ist jene, in die prozentual die meisten Proben meines Datensatzes fielen. Insgesamt waren das 44 (46 %) von den 96 auswertbaren Tieren.

Nach bisherigen Studien teilt sich die HG Tb-oB\* in vier SG auf: Tb-oB1\*, Tb-oB2\*, Tb-oB3\* und Tb-oB4\*, diese unterteilen sich wiederum in verschiedene Untergruppen und werden in den nachfolgenden Kapiteln betrachtet. In der folgenden Tabelle 17 ist die Rasseverteilung der untersuchten männlichen Pferde auf die verschiedenen Unterteilungen des Tb-oB\* Stammbaumes dargestellt.

**Tabelle 17** Rasseverteilungen anhand der SG Tb-oB1 und Tb-oB3\*

<b>Rasse</b>	<b>Tb-oB1*</b>	<b>Tb-oB3*</b>
Achal Tekkiner	0	15
Anglo Normanne	1	0
Araber	1	0
Araber (Vollblutaraber)	4	0
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	6	0
Kalmückisches Pferd	1	0
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	2	0
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1	0
Lokale Züchtung Kasachstan	0	4
Lokale Züchtung Myanmar	2	0
Neues Kirgisches Pferd	0	1
Saddlebred	2	0
Shetlandpony Mini	0	1
Warmblut Trakehner	3	0
<b>Summe</b>	<b>23</b>	<b>21</b>

Bei den 44 untersuchten Hengstproben, welche auf die Assays der HG Tb-oB\* angesprochen haben, konnte man in den Untersuchungen feststellen, dass sie sich ausschließlich auf zwei der vier weiterführenden Äste beschränkten. Mit den Assays rP, qJ, qBL, qFM und qCM wurden nur die ancestralen Allelvarianten detektiert, somit konnten die SG Tb-oB2\* und Tb-oB4\* in meinen

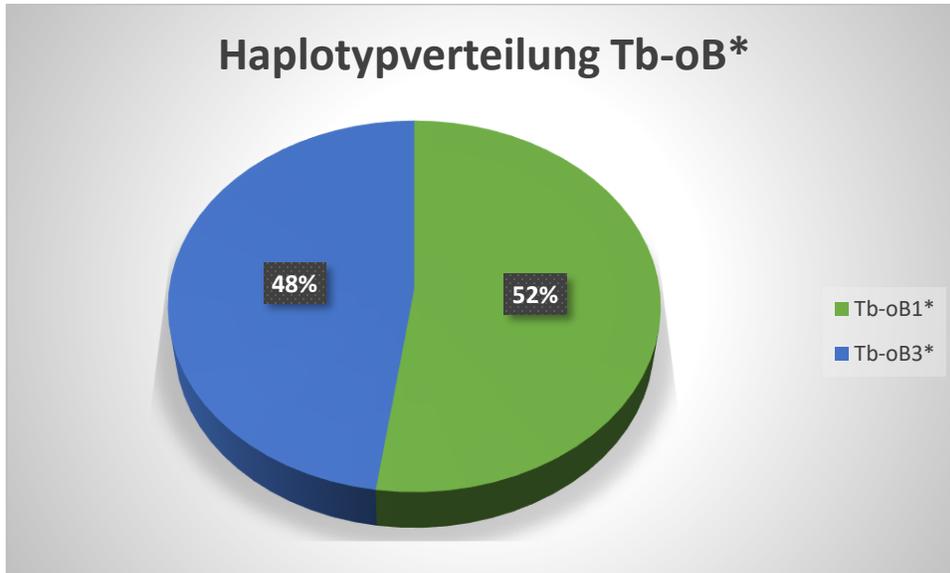
Proben nicht nachgewiesen werden. Diese beiden Äste werden in den folgenden Ausführungen und Abbildungen nicht weiter betrachtet.

Insgesamt konnten 23 (52 %) der Tb-oB Tiere der SG Tb-oB1\* zugeordnet werden. Es lässt sich eine rassespezifische Verteilung erkennen. Alle getesteten Araber, ausgenommen der russischen Araber (HG Tb\*), sowie drei der vier getesteten Trakehner gruppierten in der SG Tb-oB1\*. Auch hier sind die fünf russisch gezogenen Trakehner ausgenommen, diese ließen sich der SG Tb-dW2 zuordnen (siehe 3.3.1.2. Haplotypverteilung Tb-dW1\*, Tb-dW2\* und Tb-dW3\*). Ebenso konnte bei allen (insgesamt sechs) untersuchten russisch gezogenen Englischen Vollblüter Tb-oB1 nachgewiesen werden. Aber auch Pferderassen aus dem Mittleren Osten repräsentierten diese SG (Tabelle 17). Da gut 24 % meiner in Summe ausgewerteten Proben auf Tb-oB1\* fielen, wurden diese in einer folgenden Untersuchungsreihe auf die drei von Felkel et al. beschriebenen nachfolgenden Stammbaumäste getestet. Die Ergebnisse werden im nächstfolgenden Kapitel näher beschrieben.

Eine große Anzahl an Proben signalisierte in meiner Arbeit die SG Tb-oB3\*, insgesamt 21 (48 %) der in der HG Tb-o gruppierenden 44 Tiere. Besonders herausstechend ist, dass alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten fünfzehn Achal Tekkiner, diese HG repräsentieren. Die anderen sechs Pferde in Tb-oB3 sind vorwiegend aus Rassen des Mittleren Ostens. Es handelt sich hierbei um das einzige ‚Neue Kirgisische Pferd‘ und vier der fünfzehn getesteten lokalen Züchtungen aus Kasachstan. Ein außergewöhnliches Ergebnis lieferte ein Mini-Shetlandpony. Laut meinen Vorüberlegungen wurde davon ausgegangen, dass es nicht in die HG Tb gruppiert. Dieses Tier trug jedoch das abgeleitete Allel am Assay fQI und kommt somit in der SG Tb-oB3\* zum Liegen.

Auch in der SG Tb-oB3\* konnten zwei HT diskriminieren werden. Da alle Achal Tekkiner in diese SG fielen, wird im Zuge meiner Diplomarbeit noch deutlicher auf die Aufspaltung von Tb-oB3\* eingegangen. Damit soll eine möglichst genaue Verteilung der Proben am Stammbaum dargestellt und rassenspezifische genetische Unterschiede klarer definiert werden. In der folgenden Abbildung 19 ist die prozentuale Verteilung der 44 DNA-Proben in der HG Tb-oB\* grafisch dargestellt und

im Anschluss daran befindet sich zur Veranschaulichung der bisher in dieser Arbeit rekonstruierte phylogenetische Stammbaum der HG Tb\*.



**Abbildung 19** Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-oB1\* und Tb-oB3\*. Die SG Tb-oB2\* und Tb-oB4\* fehlen in diesem Diagramm, da diese sich in keiner der betrachteten Proben nachweisen ließen.

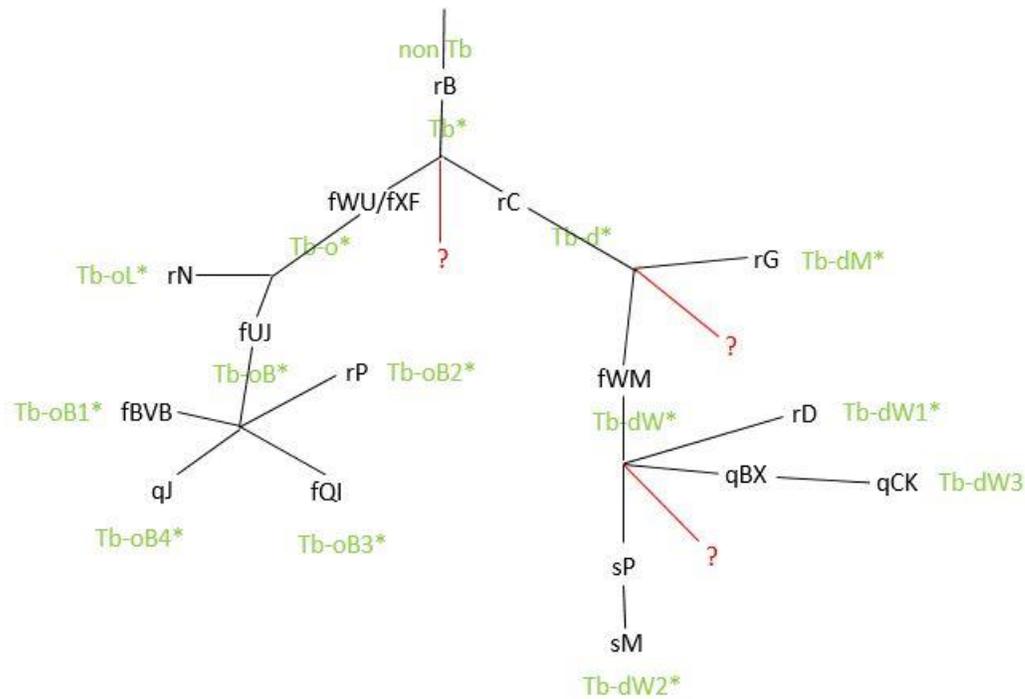


Abbildung 20 Stand der rekonstruierten HG Tb

### 3.3.2.3 Haplotypverteilung Tb-oB1a, Tb-oB1b und Tb-oB1c

Die 23 DNA-Proben von Tieren, welche das abgeleitete Allel am Assay fBVB trugen und somit in die SG Tb-oB1\* clustern (Tabelle 17, Spalte Tb-oB1\*), wurden in den folgenden Untersuchungen an den drei abzweigenden Ästen der SG Tb-oB1\* getestet. Erstaunlicherweise konnten keine meiner untersuchten Proben auf einem dieser Äste wiedergefunden werden. Alle 23 der getesteten Pferde ergaben bei den vier getesteten Assays das ancestrale Allel und gruppieren sich somit am Knotenpunkt Tb-oB1\*.

Im Folgenden dieses Unterkapitels ist der Stand des phylogenetischen Stammbaumes dargestellt.

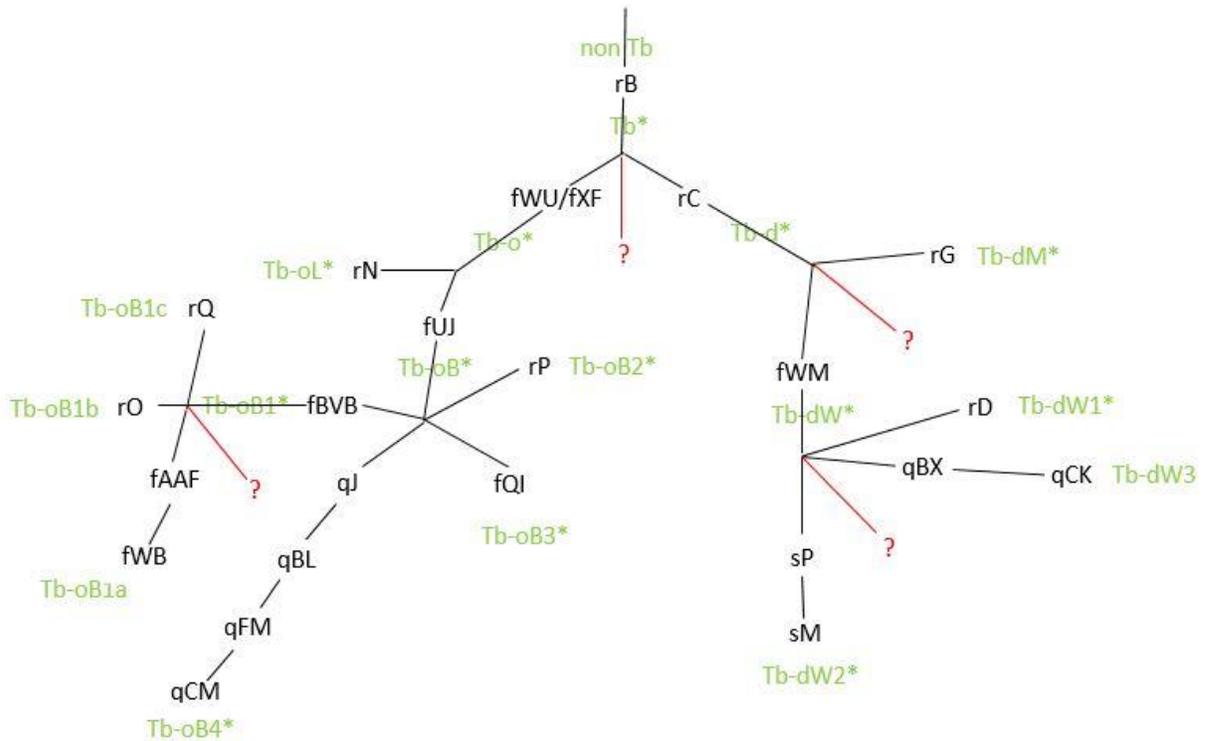


Abbildung 21 Stand der rekonstruierten HG Tb

#### 3.3.2.4. Haplotypverteilung Tb-oB3a\* und Tb-oB3b\*

Eines der aussagekräftigsten Ergebnisse in meiner Diplomarbeit wurde bei den Untersuchungen der Aufzweigungen des Tb-oB3\* Astes erlangt. Rund 21 (22 %) aller untersuchten Proben fielen in diese SG. Eine weitere Besonderheit ist, dass von diesen 21 Tieren 15 (circa 71 %) Rasseanhänger der Achal Tekkiner sind. Bis auf eine Mini-Shetlandpony-Probe entstammen alle Tiere dem zentralasiatischen Raum. Alle DNA-Proben, welche am Assay fQI das abgeleitete Allel zeigten, also in Tb-oB3 clustern, wurden in den folgenden Untersuchungen auf die Assays fWY, fRN (beide Tb-oB3a) und auf rJ (Tb-oB3b) getestet. Hierbei wurde genau Wert daraufgelegt, dass alle Proben auf beiden Assays der SG Tb-oB3a\* (fRN/fWY) getestet wurden, um die evolutionäre Reihung dieser beiden genetischen Varianten zu eruieren. Tiere, welche nur am Assay

fWY das abgeleitete Allel (fWY\_A\_1) trugen, wurden mit Tb-oB3a\* benannt und solche, welche zusätzlich das abgeleitete Allel am Marker fRN (fRN\_C\_1) trugen, wurden unter dem Namen Tb-oB3a1 gekennzeichnet.

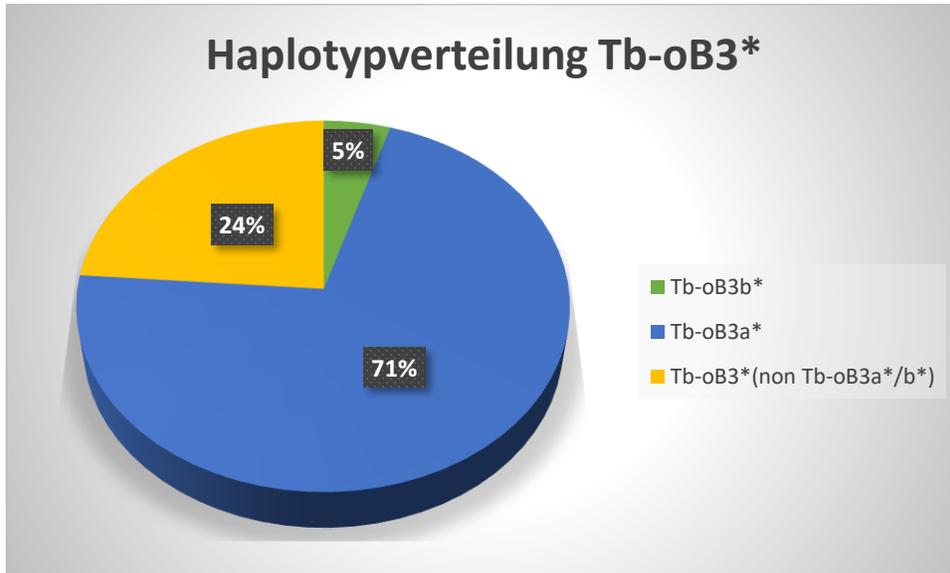
In der folgenden Tabelle 18 ist die Verteilung der Rassen auf die beiden SG Tb-oB3a\* und Tb-oB3b\* sowie dem Endpunkt Tb-oB3a1 dargestellt.

**Tabelle 18** Rasseverteilungen anhand der HT Tb-oB3a\*, Tb-oB3a1 und Tb-oB3b\*. Unter Tb-oB3\* (Non Tb-oB3a\*/b\*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel (fQI\_C\_1) besitzen, aber für die die SG Tb-oB3a\* und Tb-oB3b\* nicht detektiert werden konnten.

<b>Rasse</b>	<b>Tb-oB3a*</b>	<b>Tb-oB3a1</b>	<b>Tb-oB3b*</b>	<b>Tb-oB3*(non Tb-oB3a*/b*)</b>
Achal Tekkiner	13	2	0	0
Lokale Züchtung Kasachstan	0	0	0	4
Neues Kirgisches Pferd	0	0	0	1
Shetlandpony Mini	0	0	1	0
<b>Summe</b>	<b>13</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>5</b>

Ein Großteil der an diesem Stammbaum-Zweig untersuchten Proben, nämlich 15 (circa 71 %), fielen in die SG Tb-oB3a\*, darunter befanden sich ausschließlich die Achal Tekkiner. Diese fünfzehn Proben werden zu einem späteren Zeitpunkt dieses Kapitels noch genauer betrachtet. Das Shetlandpony, welches auch der SG Tb-oB3\* zuordnet werden konnte und welches als einziges Tier dieses Stammbaumabschnittes nicht einen Rasseursprung im zentralasiatischen Raum hatte, konnte als alleinige Probe in meinen gesamten Untersuchungen dem abgeleiteten Allel des Assay rJ der SG Tb-oB3 zugeordnet werden. Fünf (rund 24 %) der in diesem Kapitel betrachteten Proben

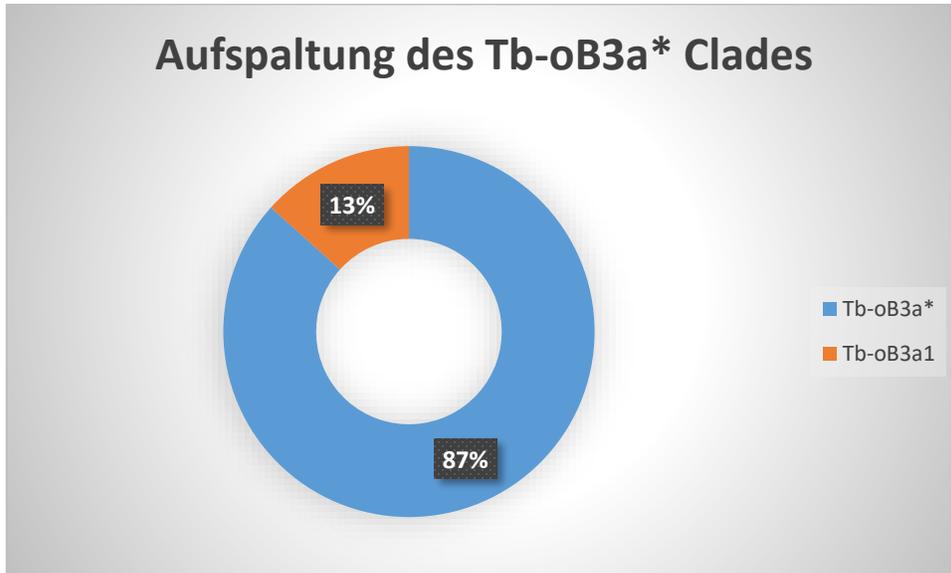
konnten weder der SG Tb-oB3a\* noch Tb-oB3b\* zugesprochen werden. In der Abbildung 22 ist die prozentuale Verteilung der Proben auf die beiden HT der SG Tb-oB3\* dargestellt.



**Abbildung 22** Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-oB3a\* und Tb-oB3b\*. Unter dem Punkt Tb-oB3\*(non Tb-ob3a\*/b\*) \*) sind Proben angeführt, welche das abgeleitete Allel (fQI\_C\_1) besitzen, aber weder zu der SG Tb-oB3a\* noch Tb-oB3b\* zuzuordnen sind.

Die 15 Proben, welche der SG Tb-oB3a\* zugeordnet werden konnten, wurden nun genauer anhand der beiden Assays dieser SG untersucht: fWY und fRN. In den bisherigen Forschungsarbeiten wurde immer entweder an beiden der sich auf diesem Ast befindlichen Assays das abgeleitete Allel detektiert oder bei keinem von beiden. Anhand meiner Untersuchungen konnte jedoch ein evolutionärer Unterschied deutlich gemacht werden. Bei dreizehn Tieren konnte das abgeleitete Allel ausschließlich beim Assay fWY eruiert werden. Keine dieser Proben ergab das abgeleitete Allel bei dem Assay fRN. Nur für zwei Tiere konnte sowohl für den Assay fWY als auch für den Assay fRN das abgeleitete Allel ermittelt werden. Diese Tiere wurden in den Aufzeichnungen mit dem Haplotypnamen Tb-oB3a1 gekennzeichnet, da in den bisherigen Forschungen nur ein HT, nämlich Tb-oB3a\* beschrieben war. Somit kam es zu dem Schluss, dass es einen weiteren Knotenpunkt innerhalb des Stammbaumen geben muss. Diese Besonderheit der Untersuchungen

und die prozentuale Aufteilung sind in der Abbildung 23 dargestellt. Im Abschluss an dieses Diagramm kann man den endgültigen Stammbaum meiner Arbeit entnehmen.



**Abbildung 23** Aufteilung der Proben der SG Tb-oB3a. Tiere, welche nur am Assay fWY das abgeleitete Allel tragen, wurden mit Tb-oB3a\* benannt und solche, welche zusätzlich das abgeleitete Allel am Marker fRN tragen, wurden unter dem Namen Tb-oB3a1 gekennzeichnet.

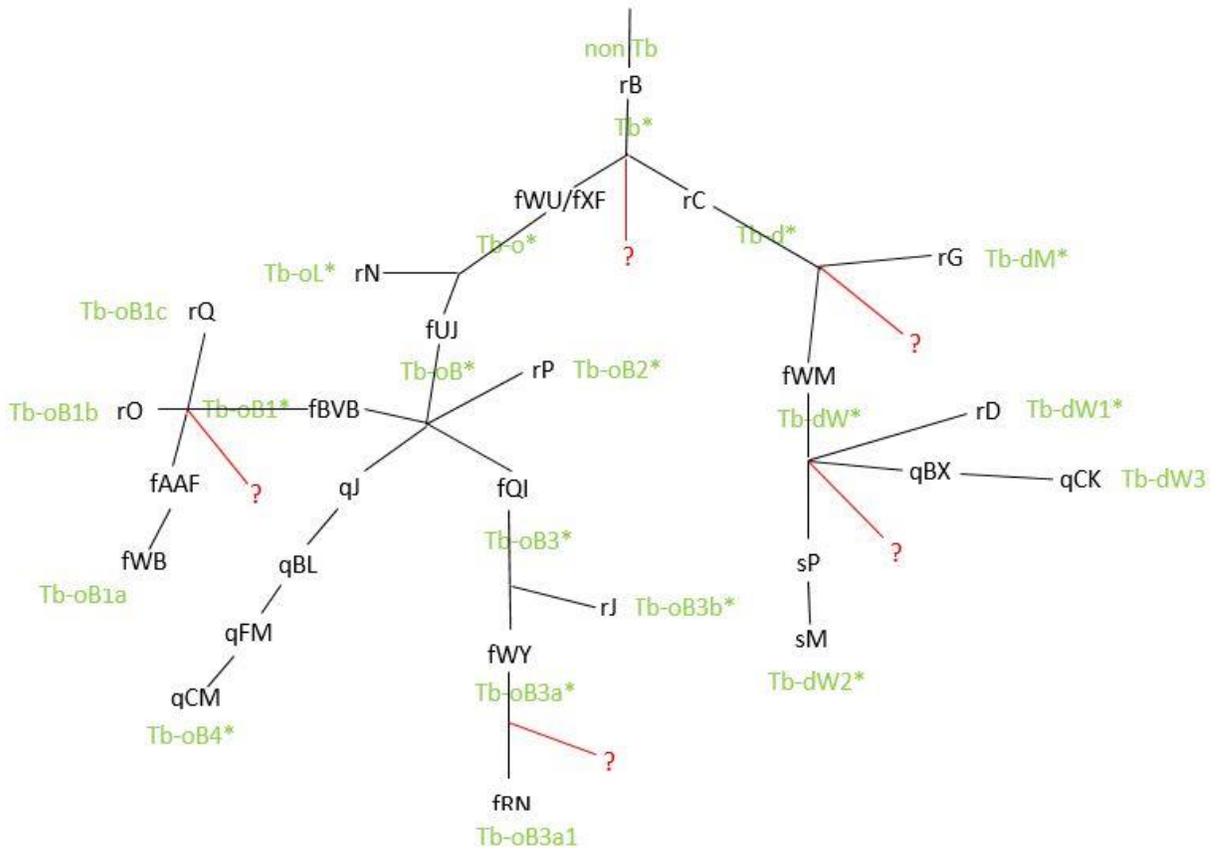


Abbildung 24 Finale rekonstruierte HG Tb

### **3.4. Endergebnis**

In der folgenden Tabelle 19 sind alle von mir erfassten Endergebnisse anhand ihrer Rassenzugehörigkeit zusammengefasst. In den beiden mittleren Spalten ist die Anzahl der jeweils von mir untersuchten Rasseangehörigen sowie die Aufteilung der Proben anhand ihren von mir endgültig bestimmten HT dargestellt. In der letzten Spalte dieser Tabelle ist das jeweilige Hauptherkunftsland der einzelnen Rassen angegeben, dies ist jedoch keine Angabe zum Einzeltier und lässt daraus nicht schließen, in welchem Land mit den von mir untersuchten Hengsten gezüchtet bzw. gearbeitet wurde. Es soll ausschließlich zur Veranschaulichung dienen, wie räumlich verstreut die Ursprünge der einzelnen Rassen, welche im Rahmen dieser Arbeit zu der Rekonstruktion der HG Tb untersucht wurden, gezüchtet wurden.

**Tabelle 19** Zusammenfassung der Rassenverteilung anhand der jeweiligen HT

Rasse	Anzahl	Haplotyp (Häufigkeit)		Herkunftsland
		Anzahl	Positiv auf	
Achal Tekkiner	15	2	Tb-oB3a1	Turkmenistan
		13	Tb-oB3a*	
American Bashkir Curly Horse	1	1	Tb-dW*	Nevada (USA)
Anglo Normanne	1	1	Tb-oB1*	Normandie (Frankreich)
Appaloosa	2	2	Tb-dW1*	Nordamerika
Araber	1	1	Tb-oB1*	Arabische Halbinsel
Araber (Russischer Araber)	6	6	Tb*	Russland
Araber (Vollblutaraber)	4	4	Tb-oB1*	Arabische Halbinsel
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	6	6	TB-oB1*	Russland
Kalmückisches Pferd	1	1	Tb-oB1*	Republik Kalmückien (Russland)
Karabagh	1	1	Tb*	Aserbaidshan
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	2	2	Tb-oB1*	Kirgistan
Kirgisches Pferd (unbekannt)	1	1	Tb-oB1*	Kirgistan
Lokale Züchtung Kasachstan	15	9	Tb*	Kasachstan
		4	Tb-oB3*	
		1	Tb-d*	
		1	Tb-dW1*	
Lokale Züchtung Myanmar	2	2	Tb-oB1*	Myanmar

Miniatur Horse (Amerikanisches)	1	1	T*	USA
Mongolisches Pferd	3	3	Tb*	Mongolei
Neues Kirgisches Pferd	1	1	Tb-oB3*	Kirgistan
Quarter Horse	10	10	Tb-dW*	Amerika
Saddlebred	2	2	Tb-oB1*	Amerika
Shetlandpony	2	1 1	T* Tb-oB3b*	Großbritannien
Süddeutsches Kaltblut	1	1	Tb-dW*	Deutschland
Terceira Pony	3	3	T*	Portugal
Traber	5	5	Tb-dM*	Amerika/Europa
Trakehner (Russische Zucht)	5	5	Tb-dW2*	Russland
Warmblut Trakehner	4	3 1	Tb-oB1* Tb*	Deutschland
Welsh-A	1	1	T*	Großbritannien
<b>Summe</b>	<b>96</b>	<b>96</b>		

## **4. Diskussion**

### **4.1. Bisheriger Stand der Wissenschaft**

Schon seit langer Zeit beschäftigten sich Forscher mit der Vererbung und Sequenzierung des Y-Chromosoms. Die geringe Sequenzdiversität der Y-Chromosomen der Hengste bereitete den Forschern lange Zeit Probleme, geeignete Marker zur Erforschung der paternalen Abstammungslinien zu entdecken. Im Jahr 2013 gelang es Wallner et al. erstmals das Y-Chromosom der Pferde genauer zu entschlüsseln. Sie erforschten erste informative Marker anhand derer man genetische Unterschiede am Y-Haplotypen beim Pferd untersuchen konnte.

Im Laufe der Jahre konnten immer mehr Marker erforscht werden und somit die spezielle, aber doch eng beieinanderliegende genetische Vielfalt des Y-Chromosoms genauer ermittelt werden. Was anfangs mit sechs zu unterscheidenden HT begann, wuchs bis heute zu einem großen phylogenetischen Stammbaum heran. Der derzeitige Stand dieses Baumes ist in meiner Arbeit in der Abbildung 4 dargestellt.

Schon in Ihren Forschungen im Jahre 2017 stellten Wallner et al. einen Zusammenhang zwischen den heute modernen Rassen sowie den Pferden turkmenischen Ursprungs dar. Diese Rassen gruppierten sich in der HG Tb. In der hochfrequentierten HG Tb gruppieren sich ebenfalls die drei Gründerhengste der Rasse Englisches Vollblut. Diese und weitere Zusammenhänge der Rassen, welche die HG Tb widerspiegeln, sollten noch genauer untersucht werden, dies ist im Rahmen dieser Arbeit geschehen.

### **4.2. Grundkonzept und Interpretation meiner Ergebnisse**

„Himmelpferde“, so werden die turkmenischen Pferde anhand ihres Aussehens bis heute in der Literatur beschrieben. Historische Untersuchungen belegen einen enormen Einfluss dieser eleganten, ausdauernden und anhänglichen Pferde auf die Zuchtgeschichte unserer heutigen modernen Rassen. So soll beispielsweise ein großer Teil der Geschichte der Englischen Vollblüter auf damals aus dem Nahen Osten importierten Pferden basieren (Hendricks et al. 2007, Wallner et

al. 2013 und 2017). Die Englischen Vollblüter wurden wiederum zur Veredlung vieler moderner Pferderassen eingesetzt (Hendricks et al. 2007).

Tiefgründige Untersuchungen zu den Zusammenhängen der Rassen, welche sich in der HG gruppieren, sollten mit dieser Diplomarbeit abgeklärt werden. Existieren regionale Zusammenhänge der HT in Bezug auf die Herkunftsländer der untersuchten Rassen? Gibt es bisher unentdeckte Erkenntnisse in der HG Tb, welche noch nicht wissenschaftlich belegt sind? Diese und viele weitere Fragen beschäftigten mich vor Beginn meiner Arbeit und so begann ich, unter besonderer Hilfe von Barbara Wallner und Doris Rigler, diese Thesen zu untersuchen.

Anhand von 121 Hengst-DNA-Proben wurde im Laufe meiner Forschungsarbeit Schritt für Schritt die HG Tb auf Basis des phylogenetischen Stammbaums des Y-Chromosoms der Hengste (Felkel et al. 2019, Abbildung 5) rekonstruiert, um die Verwandtschaftsbeziehungen der einzelnen Tiere genauer darzustellen. Im Rahmen dieser Arbeit entwickelte sich ein weit gefächerter Stammbaum, mit teilweise sehr unerwartetem Ausgang.

Insgesamt konnte für 96 der untersuchten Proben einen Endpunkt am Stammbaum bestimmt werden. Die untersuchten Tiere gehörten 26 Rassen an, welche ursprünglich aus unterschiedlichen Ländern stammen. Die ersten wichtigen Erkenntnisse wurden bereits an der ersten Aufzweigung des untersuchten Stammbaumabschnittes erlangt. Tiere mit eurasischer Rasseherkunft gruppieren sich Großteils in der HG Tb-o, wohingegen die amerikamischen Rassen eher in die HG Tb-d clusterten und die getesteten Ponyrassen gruppieren sich bis auf ein Shetlandpony nicht in der HG Tb. Somit wurde ein regionaler Zusammenhang der einzelnen HTs nachgewiesen. Da nur sehr begrenzte Pedigreedaten von den Proben vorhanden waren, konnte auf mögliche zuchtgeschichtliche Ursprünge dieser Zusammenhänge nicht genauer eingegangen werden.

An fünf Knotenpunkten am phylogenetischen Stammbaum gruppieren sich Proben, welche den an diesen Punkten bisher erforschten abgehenden Ästen nicht folgten. Es wurde vermutet, dass es eventuell weitere unentdeckte HT an diesen Stellen des Stammbaumes gibt und sich somit weitere Abzweigungen von diesen Knotenpunkten ergeben würden. Meist gehören die Tiere, welche sich an einem Knotenpunkt gruppieren, einer Rasse an. Daraus wurde geschlussfolgert, dass diese Tiere

durch Mutation der NRY genetisch von den bisher erforschten HT abweichen und durch die züchterische Selektion einen eigenen Abschnitt auf dem Stammbaum gegründet haben. Mittels zukünftiger Sequenzierarbeit könnten diese Vermutungen erforscht werden, um mögliche neue HT zu entdecken. In den folgenden Unterkapiteln wird auf einzelne Aspekte meiner Ergebnisse noch genauer eingegangen.

#### **4.2.1. Der Knotenpunkt Tb**

Von den 96 ausgewerteten DNA-Proben gruppierten sich 20 in der HG Tb, konnten aber keiner der beiden erwähnten evolutionär folgenden HG zugeordnet werden. Unter diesen Proben befanden sich sämtliche von mir untersuchten Russischen Araber. Auf die Verbreitung der restlichen von mir untersuchten Araber wird im späteren Verlauf der Diskussion noch genauer eingegangen. Des Weiteren endeten alle drei von mir beprobten Mongolischen Pferden sowie neun von 15 der untersuchten Pferde aus Kasachstan an diesem Knotenpunkt des Stammbaumes. Dieser genetische Zusammenhang lässt sich unter anderem durch die regional benachbarten Ursprungsländer Kasachstan und Mongolei erklären. Aufgrund der Tatsache, dass sich gut 20 Prozent meiner Proben an diesem Knotenpunkt Tb gruppieren, wird vermutet, dass hier zukünftige Forschungsarbeiten neue Erkenntnisse über mögliche weitere Abzweigungen von diesem Knotenpunkt aus ergeben könnten. Die lokale Verbindung der Ursprungsländer dieser Hengste zeigt, dass sie einen gemeinsamen Vorfahren hatten. Durch Mutation der NRY scheinen sich bisher nicht erforschte SNPs entwickelt zu haben. Ob sich die an diesem Knotenpunkt gruppierten Rassen in einer gemeinsamen neuen SG clustern, wäre ein Ansatz für mögliche weiterführende Forschungen in der HG Tb.

#### **4.2.2. Neue Erkenntnisse in der Haplogruppe Tb-d\***

Gut ein Viertel (26 Proben) der untersuchten Tiere gruppierte sich in der HG Tb-d\* (Tabelle 14). Schaut man sich diese Proben genauer an, wird deutlich, dass ein Großteil der von mir untersuchten Tiere mit amerikanischem Rassenursprung in diese HG clustern. Einzig die beide Pferde der Rasse

Saddlebred gruppierten in die HG Tb-oB1\*. Betrachtet man die Zuchtgeschichte der Saddlebreds, so lässt sich ein großer Einfluss von Englischen Vollblütern durch Importe Anfang des 18. Jahrhunderts eruieren (ASHA: American Saddlebred Horse Association). Es ist bereits bekannt, dass die Linie einer der Stammväter der Saddlebreds, Denmark (1839), von dem Englischen Vollblut Hengst Byerly Turk gegründet wurde. Pferde, welche aus Linien stammen, die von Byerly Turk geprägt wurden, gruppieren sich am Stammbaum in der HG Tb-oB1\* (Felkel et al 2019). Daher entspricht das Ergebnis meiner beiden Saddlebredproben den Erwartungen.

Betrachtet man die Pferde welche in die HG Tb-d\* gruppieren genauer (Tabelle 15), so stellt man fest, dass bis auf die Traber, welche sich alle fünf in die HG Tb-dM\* clustern, alle Tiere die HG Tb-dW\* widerspiegeln. Hambletonian 10 (1849) gilt als der Stammvater der amerikanischen Traberzucht. In seinen Ahnentafeln findet man den Gründervater der Englischen Vollblüter Darley Arabian. Der Linie des Hambletonian 10 spiegelt laut bisherigen Forschungsarbeiten (Felkel et al. 2019) die HG Tb-dM\* wider (Abbildung 5).

Auffällig ist, dass zwölf der 20 Tiere, welche der HG Tb-dW\* zugeordnet werden konnten, nicht in die weiterführenden SG eingeordnet werden konnten. Somit gruppieren sich diese zwölf Proben am Knotenpunkt Tb-dW\*. Zehn dieser Tiere gehören zu den Quarter Horse. Da dies somit alle von mir untersuchten Quarter Horse betrifft, wird auch an diesem Knotenpunkt eine möglicherweise noch nicht erforschte Mutation des NRY vermutet, welche sich in der Zuchtgeschichte der Quarter Horse Linien verankerte.

#### **4.2.3. Die Rassen Araber und Trakehner**

Auf zwei Rassen möchte ich ein besonderes Augenmerk legen: Die Araber und die Trakehner. In meiner Arbeit habe ich neun Trakehner sowie elf Araber ausgewertet, welche sich alle in der Haplogruppe Tb gruppieren ließen. Vorstudien ergaben, dass sich diese Rassen eher auf evolutionär früher abgespaltenen Ästen des phylogenetischen Stammbaumes gruppieren: in der HG A sowie der zeitlich der Tb-Gruppe vorläufigen HG Ta\* (Cosgrove et al. 2020). Betrachtet man die in meiner Arbeit untersuchten Araber genauer, so stellt man fest, dass ich die Tiere in drei

Gruppen unterteilt habe: Araber, Russische Araber und Vollblutaraber. Zu den Vollblutarabern zählen nur Rassevertreter, welche ohne Einfluss von Fremdblut gezüchtet sind, also Reinzucht sind. Zu den Arabern zählen Tiere, welche zwar einen gewissen Anteil Fremdblut anderer Rassen in sich tragen, jedoch phänotypisch dem Vollblutaraber entsprechen. Zu den Russischen Arabern zählen arabische Pferde, welche sowohl in der mütterlichen, als auch der väterlichen Linie Vorfahren aus dem ehemaligen russischen Staatsgestüt Tersk aufweisen. Die sechs Russischen Araber gruppierten sich wie bereits erwähnt am Knotenpunkt Tb\*, spiegeln jedoch weder die HG Tb-o\* noch Tb-d\* wider. Die vier Vollblutaraber sowie der eine von mir untersuchte Araber clustern in die SG Tb-oB1\*. Der HT Tb-oB1\* kann dem Gründerhengst Byerley Turk zugeordnet werden. Von diesem Knotenpunkt entspringen laut bisherigen Forschungen (Felkel et al. 2019) drei Äste, jedoch spiegelte keine meiner Proben Marker dieser Äste wider. Den genetischen Zusammenhang zwischen den Arabern sowie dem Gründerhengst der Englischen Vollblüter Byerley Turk haben Cosgrove et al. 2020 bereits nachgewiesen. Es handelte sich hierbei um Araber, welche vorwiegend im Rennsport eingesetzt werden. Ebenso entdeckten sie einen Einfluss der Whalebone-Linie auf die Zuchtgeschichte der Rennaraber. Whalebone-Nachkommen, welche die SG Tb-dW1 detektiert, konnte ich bei meinen untersuchten Arabern nicht ausfindig machen.

Ebenfalls in die SG Tb-oB1\* gruppierten sich drei meiner Trakehner, auch sie verfolgen keinen der abgehenden Äste. Eine Probe aus der Gruppe der Trakehner stagnierte im Knotenpunkt Tb\* und alle von mir untersuchten Russischen Trakehner gruppierten sich in der SG Tb-dW2. Die HG Tb-d wird genetisch von dem Gründerhengst der Englischen Vollblüter Darley Arabian geprägt. Aufgrund der geringen Stichprobengröße sowie fehlender Pedigreedaten für die untersuchten Trakehner kann ich den Einfluss der Gründerhengste des Englischen Vollbluts oder möglicher anderer Rassen auf die getesteten Trakehner nicht genauer ergründen. Besonders in den Anfängen der Trakehnerzucht wurden englische und arabische Hengste in die Zucht eingebracht, um die Trakehner größer und widerstandsfähiger zu machen (Tautorat 1987). Neben dem Hauptzuchtgebiet in Deutschland gab es auch einige Subpopulationen in den östlichen Ländern. Solche Populationen entstanden meist aufgrund vorherrschender Kriege, von denen Trakehnerpferde als Kriegsbeute mitgebracht wurden. Eine bedeutende Rolle spielen hierbei die

russischen Trakehner, welche im russischen Gestüt Kirow in Reinzucht weitergezüchtet wurden. Ebenso befanden sich viele reingezogene Trakehner in Polen. In den östlichen Ländern gab es über die Jahre regen Zuchtaustausch. Allerdings gab es kaum Austausch mit deutschen Zuchtpferden, wodurch die russischen Linien wenig von den deutschen Linien beeinflusst wurden (Gerling 2018). Dies erklärt somit auch die unterschiedlichen Richtungen, welche die Trakehnerproben am Stammbaum eingeschlagen haben und ist mitunter auch der Grund, warum die russischen Rasseangehörigen sich in der SG Tb-dW2 gruppieren, wohingegen die nicht russisch gezogenen Tiere sich an der entgegengesetzten Aufzweigung der HG Tb gruppieren: Tb-oB1\*. Weitere Forschungsarbeiten wären in diesem Bereich möglich. Des Weiteren wäre eine tiefgreifende Untersuchung der Trakehner anzudenken, um den Ursprung der Aufspaltung der Zuchtlinien auf die verschiedenen Abschnitte der Krongruppe genauer zu ergründen.

#### **4.2.4. Die Rasse Achal Tekkiner und der neue Knotenpunkt**

Ein letzter sehr interessanter Punkt in meinen Untersuchungen, der angesprochen wird, ist die Verteilung der Achal Tekkiner Proben. Von bisherigen Forschungsarbeiten weiß man, dass sich die Achal Tekkiner in der SG Tb-oB3a\*, welche durch zwei Marker untersucht wird, gruppieren (Felkel et al. 2019). Bisher haben Proben, welche in diese SG clustern, immer beide Marker detektiert. Diese Tatsache konnte mit den fünfzehn von mir untersuchten Rassevertretern widerlegt werden. Nur zwei dieser Tiere zeigten die abgeleiteten Allele an beiden Markern, die restlichen dreizehn Achal Tekkiner spiegelten ausschließlich das abgeleitete Allel des Markers fWY wider, am Marker fRN wurde bei diesen Proben das anzestrale Allel (Tabelle 18) detektiert. Daher kommt man zu dem Schluss, dass sich im Stammbaum zwischen diesen beiden Markern ein Knotenpunkt befinden muss. Somit wurde für die Proben, welche die abgeleiteten Allele an beiden Markern gezeigt haben, ein neuer HT im Stammbaum angegeben: Tb-oB3a1. Gründe für die evolutionäre Entstehung eines neuen Knotenpunkts können vielfältig sein. Vermutet wird, dass in diesem Fall eine Aufspaltung der Achal Tekkiner in verschiedene Zuchtlinien ausschlaggebend war. Die Achal Tekkiner werden grundlegend in drei Typen unterteilt, welche deutliche Exterieurunterschiede aufweisen. Genetisch kann man diese drei Typen ebenso auf

unterschiedliche Hengstlinien zurückführen. Es wird davon ausgegangen, dass die verschiedenen Hengstlinien ursprünglich für die Aufspaltung meiner Proben sind. Jedoch kann dies aufgrund der fehlenden Pedigreeangaben nicht genauer belegt werden. Auch hier wäre zukünftige Forschungsarbeit möglich, um noch genauere Erkenntnisse über diesen Abschnitt des Stammbaumes zu erlangen.

### **4.3. Schlussfolgerung und Ausblick**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ein Großteil meiner Proben, mit den Ergebnissen aus bisherigen Forschungsarbeit identisch ist (Felkel et al. 2017/2019, Wallner et al. 2017). Nur wenige Proben entsprachen nicht den bisherigen Erkenntnissen, ein Beispiel hierfür wäre das Shetlandpony, welches in Tb-oB3b\* gruppierte. Dieser Abschnitt wird von dem Englischen Vollbluthengst Godolphin Barb geprägt (Felkel et al. 2019). Ebenso unerwartet war die Probe des Süddeutschen Kaltblutes, sie gruppierte auf Tb-dW\*. Dieser Abschnitt des Stammbaumes ist geprägt durch Rassen, welche durch den Einfluss des Englischen Vollbluthengstes Eclipse (1764), welcher von Darley Arabian abstammt, geprägt sind. Betrachtet man die Zuchtgeschichte dieser Kaltblutrassen, so stellt man fest, dass sie auch von modernen Warmblütern beeinflusst wurde, welche laut Wallner et al. 2017 auch auf die Englischen Vollblüter zurückzuführen sind.

An einigen Abschnitten des Stammbaumes wurden neue Erkenntnisse gewonnen, welche zukünftig noch genauer untersucht werden müssten. Das Verteilungsmuster der einzelnen Rassen am Stammbaum lässt regionale Verwandtschaftsbeziehungen vermuten. Hierbei ist besonders anzumerken, dass der Großteil der Pferde mit amerikanischer Rasseherkunft in die HG Tb-d\* clustern, wohingegen die asiatischen Tiere sich eher in der HG Tb-o\* gruppieren (Tabelle 13). Es wird vermutet, dass hier die Einflüsse der verschiedenen Linien der Englischen Vollblüter und der turkmenischen Pferde ausschlaggebend ist. Darley Arabian, der den Großteil der Englischen Vollblüter prägte, repräsentiert den Tb-d\* Zweig, wohingegen die anderen beiden Gründerhengste und ein Großteil der Achal Tekkiner Teile der zweiten Abzweigung der HG Tb repräsentieren: Tb-o\*. Es wird davon ausgegangen, dass die Amerikanischen Pferderassen durch Veredelung mit

Englischen Vollblütern geprägt wurden und da Darley Arabian den Großteil der Englischen Vollblüter prägte, zeigte sich eine repräsentative Verteilung dieser Rassen in der HG Tb-d. Durch die regionale Verbindung der Rassen, welche in die HG Tb-o\* clustern, wird vermutet, dass diese sich gegenseitig in der Zuchtgeschichte beeinflusst haben. Ebenso ist dieser Stammbaumabschnitt durch die Rennaraber geprägt, welche auch einen Einfluss von Byerly Turk erhielten (Cosgrove et al. 2020) und gern zur Veredelung anderer Rassen herangezogen wurden.

Die Untersuchungen an der HG Tb\* sind noch lang nicht abgeschlossen. Im Rahmen meiner Arbeit wurde nur ein Bruchteil der Y-chromosomalen Diversität der Pferde betrachtet, welche diesen Abschnitt der sogenannten Krongruppe angehören. Es konnten regionale Zusammenhänge zwischen Ursprungsländern der Rassen und der Lage am phylogenetischen Stammbaum dargestellt werden. Aufgrund der doch geringen Stichprobengröße und der fehlenden Pedigrees konnte keine tiefgreifende Aussage über die Verwandtschaftsbeziehungen einzelner Tiere innerhalb einer Rasse sowie rasseübergreifend getroffen werden.

An einigen Knotenpunkten wurde festgestellt, dass sich dort Pferde gruppieren, welche die weiteren bekannten evolutionär folgenden Haplotypen nicht widerspiegeln. Weitere Sequenzierarbeit an Tieren, welche an diesen Knotenpunkten stagnieren, könnten neue Erkenntnisse über mögliche, noch nicht entdeckte Haplotypen liefern und somit das Wissen über die HG Tb\* erweitern. Diese Aspekte könnten zukünftige Forschungsarbeiten aufgreifen, um die HG Tb sowie die Zusammenhänge in den Zuchtgeschichten einzelner Rassen genauer zu rekonstruieren.

Ein weiterer sehr interessanter Punkt, welcher meiner Meinung nach einen guten Ansatz für tiefgründige Untersuchung bietet, sind die Verteilungsmuster der Trakehner am phylogenetischen Stammbaum. In den Untersuchungen gruppierten sich diese Tiere an ganz unterschiedlichen Abschnitten der Krongruppe. Inwieweit dies auf die Zuchtgeschichten zurückführen ist, welchen Einfluss sie von anderen Rassen widerfahren haben und ob spezielle Linien auf unterschiedliche Stammbaumabschnitte clustern, wäre ein interessanter Faktor.

## 5. Zusammenfassung

Die Geschichte der Pferdezucht begann lange vor unserer heutigen Zeit. Die Vielfalt unserer modernen Rassen basiert auf gerichteter Selektion über mehrere hundert Jahre. So begannen sich die Pferdetypen regional zu entwickeln und mit der Zeit prägten sich phäno- sowie, wie wir heute auch wissen, genotypische Merkmale besonders aus. Erst in evolutionär kurzer Zeit wurde begonnen, Pferde aus verschiedenen Herkunftsregionen miteinander zu verpaaren, um bestimmte Eigenschaften der Rassen zu verbessern. Lange Zeit war unklar, inwiefern die Hengstlinien verschiedener Rassen miteinander verwandt sind. Seit 2013 kann das Y-Chromosom der Pferde, welches nur bei männlichen Tieren nachgewiesen werden kann und sich von dem Vater auf den Sohn vererbt, trotz seiner geringen Sequenzdiversität mittels polymorphen Markern untersucht werden. Diese Informationen sind zu einem phylogenetischen Stammbaum zusammengefasst.

Die Beziehungen zwischen modernen Pferderassen habe ich im Rahmen meiner Diplomarbeit genauer untersucht, indem ich die Y-chromosomale Haplogruppe Tb anhand von 121 männlichen DNA-Proben verschiedenster Pferderassen rekonstruiert habe. Hierzu habe ich die Proben anhand von 26 polymorphen Markern genauer untersucht und im phylogenetischen Stammbaum eingegliedert. Die Untersuchungen habe ich mittels fluoreszierenden KASP®-Technologie mit der Real-Time-PCR durchgeführt.

Im Laufe der Untersuchungen kristallisierte sich ein interessantes Verteilungsmuster der Proben auf. Es wurde deutlich, dass sich der Großteil der Pferde mit amerikanischer Rassenherkunft in meinem Datensatz in der Haplogruppe Tb-d\* gruppieren, wohingegen die Tiere asiatischer Rassen eher in die Haplogruppe Tb-o\* clusterten. Viele Hengste derselben Rassen gruppieren sich auf gleichen Teilen des Stammbaumes. Ebenso ließen sich bei global näher gelegenen Herkunftsländern der einzelnen Rassen Rückschlüsse auf gemeinsame Vorfahren ziehen, da diese meist gemeinsam gruppieren.

Fest steht, dass sowohl die modernen Pferderassen als auch die alten Züchtungen aus dem Mittleren Osten einen gemeinsamen Ursprung haben und sich in den verschiedenen Aufzweigungen der Haplogruppe Tb widerspiegeln. Dies zeigte sich auch in Rahmen meiner Untersuchungen.

## 6. Summary

The history of horse breeding began long before our time. The diversity of our modern breeds is based on targeted selection over several hundred years. Thus, the horse types began to develop regionally and over time, phenotypic and, as we know today, genotypic characteristics became particularly pronounced. It was only in a more recent evolutionary period of time that horses from different regions of origin were started to be bred with one another in order to improve certain breeds' characteristics. For a long time it was unclear to what extent the stallion bloodlines of different breeds are related to one another. Since 2013, the Y chromosome of horses, which can only be detected in male animals and is passed on from father to son, can be examined using polymorphic markers despite its low sequence diversity. This information is summarized in a phylogenetic genealogical tree.

As part of my diploma thesis, I examined the relationships between modern horse breeds in more detail by reconstructing the Y-chromosomal haplogroup Tb using 121 male DNA samples from various horse breeds. For this purpose, I examined the samples more closely using 26 polymorphic markers and incorporated them in the phylogenetic genealogical tree. I carried out the examinations using fluorescent KASP® technology with real-time PCR.

In the course of the examinations, an interesting distribution pattern of the samples began to show. It became clear that the majority of the horses of breeds of American origin in my data set group in the haplogroup Tb-d \*, whereas the animals of Asian breeds were more likely to cluster in the haplogroup Tb-o \*. Many stallions of the same breeds came to rest on equal parts of the genealogical tree. Furthermore, in the case of countries of origin of the individual breeds that are globally closer to one another, conclusions can be drawn about common ancestors, since these mostly grouped together.

It is certain that both the modern horse breeds and the ancient breeds from the Middle East have a common origin and are reflected in the various branches of the haplogroup Tb. This was also evident in my examinations.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

A	-	Adenin
Bzw.	-	beziehungsweise
C	-	Cytosin
DNA	-	deoxyribonucleic acid
FAM	-	6-Carboxy-Fluorescein
G	-	Guanin
HEX	-	Phosphoramidite, Hexachloro-Fluorescein
HG	-	Haplogruppe
HT	-	Haplotyp
Indels	-	Insertion und Deletions
KASP	-	kompetitive Allel-spezifische PCR
NR1	-	non recombining region of the Y-chromosome
NTC	-	NoTemplate Control
PCR	-	Polymerase Chain Region
SG	-	Subhaplogruppe
SNP	-	Single-Nucleotidpolymorphismus
T	-	Thymin
z.B.	-	zum Beispiel

## 8. Literaturverzeichnis

**Aberle K.** 2003. Untersuchung der Verwandtschaftsverhältnisse, Inzucht und genetischen Distanzen bei den deutschen Kaltblutpferderassen [Dissertation]. Hannover: Tierärztliche Hochschule Hannover

**Achal Tekkiner Züchter und Freunde e. V. Deutschland.** [http://achal-tekkiner.ch/files/Achal\\_Teke\\_Toepfer\\_Gebert.pdf](http://achal-tekkiner.ch/files/Achal_Teke_Toepfer_Gebert.pdf) (Zugriff 1.12.2019)

**American Saddlebred Horse Association.**

<https://www.asha.net/aboutus/theamericansaddlebred/breedhistory/> (Zugriff: 20.12.2020)

**Biosearch Technologies.** <https://www.biosearchtech.com/> (Zugriff: 19.05.2019)

**Binns M,** Swinburne JE, Breen M. 2000. Molecular genetics of the horse. In: Bowling AT und Ruvinsky A. The Genetics of the Horse. New York: CABI Publishing.

**Brade W.** 2013. Die deutsche Reitpferdezucht – aktueller Stand und wirtschaftliche Bedeutung. Berichte über Landwirtschaft 91/1. Hannover/Dummerstorf DOI: 10.12767/buel.v91i1.7

**Chilla C.** 2020. Genetische Untersuchungen zu paternalen Linien in Pferdepopulationen Südostasiens. [Diplomarbeit] Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien

**Cosgrove EJ,** Sadeghi R, Schlamp F, Holl HM, Moradi-Shahrbabak M, Miraei-Ashtiani SR, Abdalla S, Shykind B, Troedsson M, Stefaniuk-Szmukier M, Prabhu A, Bucca S, Bugno-Poniewierska M, Wallner B, Malek J, Miller DC, Clark AG, Antczak DF, Brooks SA. 2020. Genome Diversity and the Origin of the Arabian Horse. Scientific Reports 10: 9702 DOI: 10.1038/s41598-020-66232-1.

**Beer G,** Hrsg. 2008. Charles Darwin On the Origin of Species. Oxford: Oxford University Press

**Fages A,** Hanhoj K, Khan N, Outram AK, Librado P, Orlando L, Leonardi M, McCorry Constantz C, Gamba C, Al-Rasheid K, Albizuri S, Alfarhan AH, Allentoft M, Alquraishi S, Anthony D, Baimukhanov N, Barrett JH, Bayarsaikhan J, Benecke N, Bernáldez-Sánchez E, Berrocal-Rangel L, Biglari F, Boessenkool S, Boldgiv B, Brem G, Brown D, Burger J, Crubézy E, Daugnora L,

Davoudi H, Barros Damgaard P, Ángeles de Chorro y de Villa-Ceballos M, Deschler-Erb S, Detry C, Dill N, Mar Oom M, Dohr A, Ellingvag S, Erdenebaatar D, Fathi H, Felkel S, Fernández-Rodríguez C, García-Viñas E, Germonpré M, Granado JD, Hallsson JH, Hemmer H, Hofreiter M, Kasparov A, Khasanov M, Khazaeli R, Kosintsev P, Kristiansen K, Kubatbek T, Kuderna L, Kuznetsov P, Laleh H, Leonard JA, Lhuillier J, Liesau von Lettow-Vorbeck C, Logvin A, Lõugas L, Ludwig A, Luis C, Arruda AM, Marques-Bonet T, Matoso Silva R, Merz V, Mijiddorj E, Miller BK, Monchalov O, Mohaseb FA, Morales A, Nieto-Espinet A, Nistelberger H, Onar V, Pálsdóttir AH, Pitulko V, Pitskhelauri K, Pruvost M, Rajic Sikanjic P, Rapan Papeša A, Roslyakova N, Sardari A, Sauer E, Schafberg R, Scheu A, Schibler J, Schlumbaum A, Serrand N, Serres-Armero A, Shapiro B, Sheikhi Seno S, Shevnina I, Shidrang S, Southon J, Star B, Sykes N, Taheri K, Taylor W, Teegen WR, Trbojević Vukičević T, Trixl S, Tumen D, Undrakhbold S, Usmanova E, Vahdati A, Valenzuela-Lamas S, Viegas C, Wallner B, Weinstock J, Zaibert V, Clavel B, Lepetz S, Mashkour M, Helgason A, Stefánsson K, Barrey E, Willerslev E, Outram AK, Librado P, Orlando L. 2019. Tracking Five Millennia of Horse Management with Extensive Ancient Genome Time Series. *Cell*, 177 (6):1419-1435. DOI: 10.1016/j.cell.2019.03.049

**Felkel S**, Vogl C, Rigler D, Dobretsberger V, Chowdhary BP, Distl O, Fries R, Jagannathan V, Janečka JE, Leeb T, Lindgren G, McCue M, Metzger J, Neuditschko M, Rattei T, Raudsepp T, Rieder S, Rubin CJ, Schaefer R, Schlötterer C, Thaller G, Tetens J, Velie B, Brem G, Wallner B. 2019. The horse Y chromosome as an informative marker for tracing sire lines. *Scientific Reports*, 9: 6095 DOI: 10.1038/s41598-019-42640-w.

**Felkel S**, Vogl C, Rigler D, Jagannathan V, Leeb T, Fries R, Neuditschko M, Rieder S, Velie B, Lindgren G, Rubin CJ, Schlötterer C, Rattei T, Brem G und Wallner B. 2018. Asian horses deepen the MSY phylogeny. *Animal Genetics*, 49 (1): 90-93. DOI 10.1111/age.12635.

**Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO/STAT).**

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> (Zugriff: 29.01.2020)

**Gaunitz C**, Fages A, Hanghøj K, Albrechtsen A, Khan N, Schubert M, Seguin-Orlando A, Owens IJ, Felkel S, Bignon-Lau O, de Barros Damgaard P, Mittnik A, Mohaseb AF, Davoudi H, Alquraishi S, Alfarhan AH, Al-Rasheid KAS, Crubézy E, Benecke N, Olsen S, Brown D, Anthony D, Massy K, Pitulko V, KASP@arov A, Brem G, Hofreiter M, Mukhtarova G, Baimukhanov N, Lõugas L, Onar V, Stockhammer PW, Krause J, Boldgiv B, Undrakhbold S, Erdenebaatar D, Lepetz S, Mashkour M, Ludwig A, Wallner B, Merz V, Merz I, Zaibert V, Willerslev E, Librado P, Outram AK, Orlando L. 2018. Ancient genomes revisit the ancestry of domestic and Przewalski's horses. *Science*, 360: 111-114. DOI 10.1126/science.aao3297

**Gerling C**. 2018. Anteil und Einfluss von Spezialblut auf die aktive Trakehner Zuchtstutenpopulation aus dem Jahr 2014 und deren Nachkommen. [Dissertation]. Berlin: Freie Universität Berlin.

**Haeckel EHPA**. 1866. Generelle Morphologie der Organismen. Allgemeine Grundzüge der organischen Formen - wissenschaftlich, mechanisch begründet durch die von Charles Darwin reformierte Deszendenztheorie. 2.Band: Allgemeine Entwicklungsgeschichte. Berlin: Georg Reimer

**Hendricks BL**, Dent AA. 2007. International Encyclopedia of Horse Breeds. Norman, Oklahoma: United States: University of Oklahoma Press.

**Hennig W.**, Hennig, W. 1982. Phylogenetische Systematik. Pareys Studentexte Nr. 34. Berlin, Hamburg: Paul Parey.

**Herre W**, Röhrs M. 1990. Haustiere-zoologisch gesehen. 2.Auflage. Heidelberg/Berlin: Springer Spektrum

**James J**. 2007. The Byerley Turk: The True Story of the First Thoroughbred. Ludlow: Merlin Unwin Books

**Janečka JE**, Davis BW, Ghosh S, Paria N, Das PJ, Orlando L, Schubert M, Nielsen MK, Stout TAE, Brashear W, Li G, Johnson CD, Metz RP, Al Muatasim Al Zadjali, Love CC, Varner DD, Bellott DW, Murphy WJ, Chowdhary BP und Raudsepp T. 2018. Horse Y chromosome assembly

displays unique evolutionary features and putative stallion fertility genes. *Nature Communications*, 9: 2945. DOI: 10.1038/s41467-018-05290-6.

**Jobling MA**, Samara V, Pandya A, Fretwell N, Bernasconi B, Mitchell RJ, Gerelsaikhan T, Dashnyam B, Sajantila A, Salo PJ, Nakahori Y, Disteche CM, Thangaraj K, Singh L, Crawford MH, Tyler-Smith C. 1996. Recurrent duplication and deletion polymorphisms on the long arm of the Y chromosome in normal males. *Human molecular genetics*, 5 (11): 1767–1775.

**Jobling MA, Tyler-Smith C.** 1995. Fathers and sons: the y chromosome and human evolution. *Trends in Genetics*, 11 (11): 449-456. DOI 10.2016/S0168-9525(00)89144-1.

**Knopp V, Müller K.** 2009. *Gene und Stammbäume – Ein Handbuch zur molekularen Phylogenetik*. Zweite Auflage. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

**Moser, H.** 1886. *Das Turkmenische Pferd und die Alamane*. Aus: *L'Asie Centrale, Impressions de voyage*. Quelle: <http://www.lexikus.de/bibliothek/Das-Turkmenische-Pferd-und-die-Alamane> (Zugriff 15.12.2019)

**Mühlberger ML.** 2019. *Genetische Untersuchung zu paternalen Linien in Kaltblutpferden und Kleinpferden Europas*. [Diplomarbeit] Wien: Veterinärmedizinische Universität Wien.

**Neisser, E.** 2007. *Das englische Vollblutpferd*. 2.Auflage. Magdeburg: VerlagsKG Wolf.

**Pferde der Erde e.V.** <http://pferde-der-erde.com/achal-tekkiner-3/> (Zugriff: 24.11.2019)

**Remer V.** *Equine Y-chromosomal DNA markers - a tool for paternal phylogenetic analyses and exploring genetic genealogies in horses*. [Dissertation in Vorbereitung]

**Schwarz Barbara.** <https://info.baschwa.net/blutlinien/> (Zugriff 18.05.2021)

**Tautorat HG.** 1987. *Trakehnen*. Zweite Auflage. Rautenberg, Glückstadt: Leer Landmannschaft Ostpreußen e.V..

**Thoroughbred Bloodlines.** <https://www.bloodlines.net/TB/> (Zugriff 10.12.2020)

**Underhill PA, Kivisild T.** 2007. Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annual review of genetics*, 41: 539–564. DOI 10.1146/annurev.genet.41.110306.130407.

**Wallner B, Brem G, Müller M und Achmann R.** 2003. Fixed nucleotide differences on the Y chromosome indicate clear divergence between *Equus przewalskii* and *Equus caballus*. *Animal Genetics*, 34(6): 453-456. DOI: 10.1046/j.0268-9146.2003.01044.x.

**Wallner B, Palmieri N, Vogl C, Rigler D, Bozlak E, Druml T, Jagannathan V, Leeb T, Fries R, Tetens J, Thaller G, Metzger J, Distl O, Lindgren G, Rubin C-J, Andersson L, Schaefer R, McCue M, Neuditschko M, Rieder S, Schlotterer C, Brem G.** 2017. Y Chromosome Uncovers the Recent Oriental Origin of Modern Stallions. *Current biology: CB*, 27 (13): 2029-2035.e5. DOI 10.1016/j.cub.2017.05.086.

**Wallner B, Piumi F, Brem G, Müller M und Achmann R.** 2004. Isolation of Y chromosomespecific microsatellites in the horse and cross-species amplification in the genus *Equus*. *The Journal of heredity*, 95(2):158-64. DOI 10.1093/jhered/esh020.

**Wallner B, Vogl C, Shukla P, Burgstaller JP, Druml T, Brem G.** 2013. Identification of genetic variation on the horse y chromosome and the tracing of male founder lineages in modern breeds. *PloS one*, 8 (4): e60015. DOI 10.1371/journal.pone.0060015.

**Wutke, S, Benecke N, Sandoval-Castellanos E, Döhle HJ, Friederich S, Gonzalez J, Hallsteinn Hallsson J, Hofreiter M, Lõugas L, Magnell O, Morales-Muniz A, Orlando L, Pálsdóttir H, Reissmann M, Ruttkay M, Trinks A, Ludwig A.** 2016. Spotted phenotypes in horses lost attractiveness in the Middle Ages. *Scientific Reports* 10: 6469. DOI 10.1038/srep38548

## 9. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b> Verwendete Materialien.....	16
<b>Tabelle 2</b> Verwendete Chemikalien und Reagenzien .....	16
<b>Tabelle 3</b> Verwendete Geräte.....	17
<b>Tabelle 4</b> Verwendete Software.....	17
<b>Tabelle 5</b> Rasseverteilung der zu untersuchenden DNA-Proben.....	19
<b>Tabelle 6</b> Verwendete Y-chromosomale Marker.....	24
<b>Tabelle 7</b> Bestandteile einer Kavität der 96-well Platte.....	27
<b>Tabelle 8</b> Protokoll für die Temperatur/Zeitabläufe der Real Time PCR mit KASP® Technologie .....	28
<b>Tabelle 9</b> Protokoll für die Temperatur/Zeitabläufe eines Recycles mit KASP® Technologie...	29
<b>Tabelle 10</b> Ausgabe der KASP®-Daten in einer Excel-Tabelle mit der von mir hinzugefügten Allel-Zuordnung (Spalte: Type).....	32
<b>Tabelle 11</b> Rasseliste der auswertungsrelevanten Proben und der nicht zur Auswertung herangezogenen Proben.....	37
<b>Tabelle 12</b> Rasseverteilung anhand der HG Tb*, Non_Tb* und rB_No_Call .....	39
<b>Tabelle 13</b> Rasseverteilungen anhand der HG Tb-d* und Tb-o* .....	42
<b>Tabelle 14</b> Rasseverteilungen anhand der HG Tb-dW* und Tb-dM*.....	48
<b>Tabelle 15</b> Rasseverteilungen anhand der SG Tb-dW1* und Tb-dW2* .....	51
<b>Tabelle 16</b> Rasseverteilung der HG Tb-oB*.....	55
<b>Tabelle 17</b> Rasseverteilungen anhand der SG Tb-oB1 und Tb-oB3* .....	57
<b>Tabelle 18</b> Rasseverteilungen anhand der HT Tb-oB3a*, Tb-oB3a1 und Tb-oB3b* .....	62
<b>Tabelle 19</b> Zusammenfassung der Rassenverteilung anhand der jeweiligen HT .....	67
<b>Tabelle 20</b> Auflistung der Proben, für die aufgrund von technischen Problemen kein Endpunkt am phylogenetischen Stammbaum detektiert werden konnte .....	92
<b>Tabelle 21</b> Auflistung der Proben welche anhand der Marker rA, rB, fWU, fXF, fUJ, fQI, rP, fWY und fRN untersucht wurden.....	93
<b>Tabelle 22</b> Auflistung der Proben welche anhand der Marker fBVB, rO, rQ, fWB, fAAF, rJ, qBL, qJ, qCM und qFM untersucht wurden. ....	98

<b>Tabelle 23</b> Auflistung der Proben welche anhand der Marker rC, fWM, rD, sM, sP, qBX, qCK und rG untersucht wurden. ....	101
---	-----

## 10. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b> Faostat-Studie: Pferdepopulation der Welt (Faostat: 29.01.2020).....	2
<b>Abbildung 2</b> Bearbeiter Ausschnitt: Original Eclipse gezeichnet von George Stubbs in London im Jahre 1823 .....	4
<b>Abbildung 3</b> Vereinfachte Darstellung eines phylogenetischen Stammbaumes.....	8
<b>Abbildung 4</b> Phylogenetischer Stammbaum entnommen aus Felkel et al. 2018 .....	11
<b>Abbildung 5</b> Detailansicht der HG Tb, entnommen aus Felkel et al. 2019 .....	14
<b>Abbildung 6</b> Ablauf der KASP® Technologie nach LGC Genomics.....	23
<b>Abbildung 7</b> Beispiel einer Laboranweisung zur Berechnung der Mengen der Volumina der Mastermix-Komponenten für den geplanten Assay (fWY) und der Probenanordnung auf der 96-well Platte.....	26
<b>Abbildung 8</b> Veranschaulichung der acht Teilschritte der Real Time PCR aus Tabelle 8 .....	28
<b>Abbildung 9</b> Veranschaulichung des Protokolls eines Recycles im Bio-Rad CFX Manager 3.1® .....	29
<b>Abbildung 10</b> Auswertung des PCR-Laufes inklusive zwei durchgeführter Recycle des fWY-Assays .....	30
<b>Abbildung 11</b> Vereinfachter phylogenetischer Stammbaum gezeichnet nach Felkel et al. 2018/19 und Remer et al. (in Vorbereitung).....	34
<b>Abbildung 12</b> Prozentuelle Aufteilung der 96 Proben in die HG Tb-d* und Tb-o* .....	45
<b>Abbildung 13</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	46
<b>Abbildung 14</b> Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die HG Tb-dW* und Tb-dM*.....	49
<b>Abbildung 15</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	50
<b>Abbildung 16</b> Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-dW1* und Tb-dW2*.....	52
<b>Abbildung 17</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	53
<b>Abbildung 18</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	56
<b>Abbildung 19</b> Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-oB1* und Tb-oB3* .....	59
<b>Abbildung 20</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	60
<b>Abbildung 21</b> Stand der rekonstruierten HG Tb .....	61
<b>Abbildung 22</b> Prozentuelle Aufteilung der Proben auf die SG Tb-oB3a* und Tb-oB3b* .....	63

<b>Abbildung 23</b> Aufteilung der Proben der SG Tb-oB3a.....	64
<b>Abbildung 24</b> Finale rekonstruierte HG Tb .....	65

## 11. Danksagung

Zum Schluss dieser Diplomarbeit möchte ich mich bei allen Menschen bedanken, die mich auf die verschiedenste Art und Weise bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben und mir damit das Verfassen überhaupt erst ermöglicht haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Betreuerin, Dr. med. vet. Barbara Wallner, bedanken. Dank ihr habe ich erst Zugang zum interessanten Thema der Genforschung erhalten. Sie stand mir stets zur Seite und hat mir bei Fragen Rede und Antwort gestanden. Ich bedanke mich für ihre stete Unterstützung bei der Erstellung dieser Diplomarbeit und für ihre Geduld und ihr Verständnis in der langen Phase des Verfassens. Danke für die Unterstützung und Hilfe!

Des Weiteren möchte ich mich bei Mag. med. vet. Doris Rigler bedanken. Dank ihrer hervorragenden Einschulung im Labor lief der praktische Teil dieser Arbeit nahezu reibungslos ab. Sie stand mir bei Fragen stets zur Seite und hat sich meiner Probleme rasch angenommen. Danke für die spannende und lehrreiche Laborzeit!

Ein riesiges Dankeschön gilt natürlich auch meiner Mutter Yvonne Zahn. Ohne Fachkenntnisse hat sie sich durch den Irrgarten der Pferdezucht und der Genetik gekämpft und meine Arbeit unzählige Male Korrektur gelesen. Ohne deine Unterstützung wären sicher so manch kleine Fehler in dieser Arbeit verblieben und ich oft verzweifelt.

Katharina Tataruch möchte ich besonders hervorheben. Deine Englischkenntnisse haben mir mein Leben gerettet. Danke, dass du dir die Zeit genommen hast mir zu helfen!

Auch bei Cesar Knjzek möchte ich mich besonders bedanken für seine Unterstützung bei dieser Arbeit und dem Studium. Du hast sicher oft zu Unrecht meine schlechte Laune abbekommen und hast die ein oder andere Nacht wach verbracht durch meine Prüfungsangst. Danke!

Nicht zuletzt möchte ich einen großen Dank all Jenen aussprechen, welche mich in der harten aber unglaublich schönen Zeit des Studiums unterstützt haben. Ich danke meiner Familie, die zu jeder Zeit immer hinter mir stand und meinen beiden Mädels Freja und Louisa, die so oft als ‚Versuchsobjekte‘ herhalten mussten, ihr seid die Besten!

## 12. Anhang

### 12.1. Sequenzen der Y-chromosomalen Marker

Alle hier nicht angegebenen flankierenden Sequenzen der einzelnen Assays sind in Felkel et al. 2019 publiziert

**qBL** LipY764\_contig42:24874

CCCCCTTTATTTGAGAAAATGGGACAATGGTGACCTGGGACTGAGCAGAAGCAGAG  
 CATAAAGATGGTGCCTGTTGGCCTCCTAGTAGCTAGAGAAAATTGCAGTTGGCCCCCT  
 AGATGTGTGTTTAATTAGAAGTCTCCCCCTAAGGCT[G/C]CAGCTGTGAATATAAGCT  
 GATAGGCCCTGTCACAGAGAGACTTGACTCTTGAGTCAGTTATTAGTCTGCTGTGTT  
 CTGCAGTGTTTAAAGTATTAAAGAATTGAAGTATTCTTTCTCCATTTGCTATAGCGCT  
 GTGGGACCTGCTGATAT

**qBX** LipY764\_contig68:9050

GGTTCTCCTGCTCTCCTTTAACCATAGGAGAAGGTCATGACTCAGAGGATCCCTCTT  
 TGCACTGAGCTGTACCAGACTAGAAATGTAGTGAGCAGCTAATTCCTTCCTGTGCTT  
 TTTCTATGTGGCCAATCTTGGTTTTTGTACTCC[A/T]CTGGGTTGCTACAGCTTCTTCA  
 TTGCATCCCAGAGCTCTCTTGGAGCTATTTATATTCGTGGGTTAGTTTTTAAATCTTTTT  
 TGGAGGGCTGAGAATTGTCCTTTTAGCTGGTTATCTTGTAGACCTCAGCCCTTTCAGT  
 AATTACTTTTAA

**qCK** LipY764\_contig112:2516

GAGATGGGGGGGTGGTAATGGCACCTGTCTAAGCAATGCTTTGAGCATTAGATTCTA  
 CTGGCTAGGTCCCCTGTGTGGCCTTGGTCAAGATGAACAATTAGTATGGTAGGTTCA  
 GCATGGGAGCTCCTTAGCACTGCAAGAAAGAAATT[T/A]GGTGACTAAGGTATATTT  
 CTCTTTGTCTGGAACTAGCTTCTTAATCCTTCAGGAATTTGTTCTTCATGTCCCTTCT  
 TTCATTCATCACTTTTATTGAGTAGGTACATACTATATGCCAGTTATTTACCTGGAAG  
 TATAGTTAGTCTAGTG

**qCM** LipY764\_contig114:21662

GCATAATGAAGATTTAAATAAAAATTCTGCTGACAATCATCAGTTTTATAATGTTTTTA  
 ACTAAACCCTCAATACTTTCTGCTATAAAAATTAGTTTTTTGTCCTGCATTAAGGCAC  
 TAGGAAGGATTGAATGGAAGACCTCAATTGCATC[A/-  
 ]AACTTACCCTACATGAGTGGTATCTTATCCTTCCTTCCTGATAAAAATGGCCTCATTCT  
 CTCAGTCCAAGTCCTTGCTAGCTTTTTCTCAGAGAACAGACTGAATTTATCCCCAGTT  
 TGTTAGACACCTTTATGGCATTTCATGGTGATCAG

**qFM** LipY764\_contig539:1417

AAATGCTCCTTGACAAAAATGTATAAACAAATTCATTTTGCATAGACTCAATGACTC  
 ACTAAAAATAGTACTTTCAAACCTGTAGATTCCTGACAAAGGCACATTTCTGGTAGC  
 TCACACATTCAGTCAAAGGAGACATTCTTAAATAAT[TAATGGAGC/-  
 ]AAACGATATCTTGAATCATCATTATTTAGAATGCACTAAGATAGTGTGCCTTGCAAT  
 GAAAACACACTGATGAAGAAAATTTATTTCCCTGCCTTTATGTGGTTTAAAATAGA  
 TTGGAGGCATGTTGTTAATTCAAGTAGA

**qJ** LipY764\_contig6:47998

ATAGAGTGGAAAGAACAAGTCAGATATCTTGAATACTTCAAAGTCCAAGCTCTG  
 GAAGTCCTAGCAATGTGACCATGTCAGTTGTGATAAGGTCAATTGATTTGAGATGGC  
 ACCCAAGGTTTATATTCTCATATTGAAAATTCCAGA[G/C]GTGACCAGTCCGGACTGC  
 TGTGGTGGCTTAGCAAAGTCACTGGGTAATCAGAATCCTTTCCACTTCAGCATTCTTA  
 TATTGACATGACTTTCATCTTCACCATTGCAAAAATGGTTGCTCAAGGTGCAGCTATCA  
 CATCGACCTTCCAGAGG

## 12.2. Haplotypverteilung der ausgeschlossenen Proben

**Tabelle 20** Auflistung der Proben, für die aufgrund von technischen Problemen kein Endpunkt am phylogenetischen Stammbaum detektiert werden konnte. In der letzten Spalte sind die letztmöglich bestimmten HG in die die jeweiligen Proben clusterten aufgelistet. In den Unterkapiteln 12.3 und folgende kann man die Haplotypverteilung aller von mir untersuchten Proben entnehmen, die 25 hier erwähnten Proben sind dort rot hinterlegt.

<b>Rasse</b>	<b>Anzahl ausgeschlossene Proben</b>	<b>Letztmöglich bestimmter Haplotyp</b>
American Bashkir Curly Horse	1	Tb-d*
Araber	1	Tb-oB1*
Araber (Partbred Araber)	1	Tb-oB1*
Kirgisches Pferd (Ursprungsrasse)	3	1: T* 2: Tb-d*
Lokale Züchtung Vietnam	1	Tb-dW*
Neues Kirgisches Pferd	4	1: Tb-oB* 1: Tb-oB* 1: Tb-dW* 1: Tb-d*
Quarter Horse	3	Tb-d*
Saddlebred	1	Tb*
Shetlandpony	1	T*
Terceira Pony	1	T*
Englisches Vollblut (Russische Zucht)	3	1: Tb-o* 1: Tb-oB*

		1: Tb-oB1*
Transbaikal Pferd	2	Tb-oB*
Traber	1	Tb-d*
Warmblut Alt-Württemberger	1	Tb*
Warmblut KWPN	1	Tb-d*
<b>Summe</b>	<b>25</b>	

### 12.3. Haplotypverteilung aller Proben

In Tabelle 21, Tabelle 22 und Tabelle 23 sind die alle Ergebnisse der einzelnen Proben aufgelistet. Jeweils grün markiert sind die Mutation, welche zum jeweiligen Haplotyp der einzelnen Proben geführt haben. Blau markiert sind jene Proben, für welche keine Typisierung des Endpunktes aufgrund von technischen Problemen durchgeführt werden konnte. In den Tabellen kann man den Namen der Proben, deren jeweilige Rasse sowie Informationen zu den untersuchten Mutationen entnehmen

**Tabelle 21** Auflistung der Proben welche anhand der Marker rA, rB, fWU, fXF, fUJ, fQI, rP, fWY und fRN untersucht wurden.

Probe	Rasse	rA	rB	fWU	fXF	fUJ	fQI	rP	fWY	fRN
BW-17	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0	fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_99_107	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0	fWY_A_1	fRN_C_1
Y_PR_99_108	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0	fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_99_109	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1	rP_T_0	fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_99_112	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0	fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_99_110	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0	fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_035	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_C_1
Y_PR_03_036	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_037	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_A_1	fRN_G_0

Y_PR_03_038	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_058	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_059	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_060	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_061	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1						fWY_A_1	fRN_G_0
Y_PR_03_062	Akhal Theke	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_A_1	fRN_G_0
BW-400	American Bashkir Curly Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
BW-403	American Bashkir Curly Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
BW-391	Anglo Norman	rA_A_1	rB_G_1				fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_08_004	Appaloosa	rA_A_1								
Y_PR_08_005	Appaloosa	rA_A_1								
Y_PR_03_045	Arabian	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_041	Arabian	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_05_013	Arabian ox	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_05_015	Arabian ox	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_05_018	Arabian ox	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_05_116	Arabian ox	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_NO_CALL	fWY_NO_CALL	fRN_G_0
Y_PR_99_120	Arabian Partbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-218	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-219	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-227	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-228	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-230	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-232	Arabian Russian	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_09_005	Coldblood Southgerman	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_T_0				
Y_PR_03_072	Kalmyk	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0		fWY_G_0	
BW-402	Karabagh	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0						

Y_PR_04_011	Kirgisian horse (Aborigen)	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_04_013	Kirgisian horse (Aborigen)	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_NO_CALL	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_04_016	Kirgisian horse (Aborigen)	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_04_023	Kirgisian horse (Aborigen)	rA_A_1	rB_G_1	fWU_NO_CALL	fXF_G_0	fUJ_No_Call				
Y_PR_04_005	Kirgisian horse (Aborigen)	rA_A_1	rB_NO_CALL	fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_04_052	Kirgisian horse (unknown)	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_15_018	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_019	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_020	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_021	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_022	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_15_023	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_15_024	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_025	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_026	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_027	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_028	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0			
Y_PR_15_029	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_15_031	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_15_035	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_15_036	local breed Kazakhstan	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_15_002	local breed Myanmar	rA_NO_CALL	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_15_014	local breed Myanmar	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_15_057	local breed Vietnam	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_13_003	Miniature Horse	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0	fXF_G_0					
BW-146	Mongolian horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		
BW-147	Mongolian horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_T_0	fQI_G_0	rP_T_0		

BW-29	Mongolian horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_04_038	New Kyrgyz Horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_C_1	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_04_034	New Kyrgyz Horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1	fXF_A_1	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_04_035	New Kyrgyz Horse	rA_NO_CALL	rB_G_1							
Y_PR_04_037	New Kyrgyz Horse	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_04_040	New Kyrgyz Horse	rA_A_1	rB_G_1	fWU_NO_CALL	fXF_G_0	fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_NO_CALL	fWY_G_0	fRN_NO_CALL
AV-32	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-33	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-34	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-35	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-44	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-46	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-54	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-66	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-68	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
Y_PR_99_111	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-52	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
BW-239wh	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
AV-57	Quarter Horse	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
Y_PR_01_005	Saddlebred	rA_A_1	rB_G_1				fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_01_008	Saddlebred	rA_A_1	rB_G_1				fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_01_007	Saddlebred	rA_A_1	rB_G_1				fQI_G_0	rP_T_0	fWY_G_0	fRN_G_0
BW-20	Shetland Pony	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0						
Y_PR_99_116	Shetland Pony Mini	rA_A_1		fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_C_1		fWY_G_0	fRN_G_0
Y_PR_99_118	Shetland Pony Tiger	rA_A_1	rB_NO_CALL	fWU_T_0						
Y_PR_13_005	Terzeira Pony	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_13_007	Terzeira Pony	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_13_011	Terzeira Pony	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0						
Y_PR_13_015	Terzeira Pony	rA_A_1	rB_NO_CALL	fWU_NO_CALL	fXF_NO_CALL					

Y_PR_03_001	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_008	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_013	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_016	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_NO_CALL	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_018	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_020	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_006	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_NO_CALL	fQI_G_0	rP_NO_CALL		
Y_PR_03_012	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0	fWY_NO_CALL	fRN_G_0
Y_PR_03_019	Thoroughbred	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_022	Trakehner	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_03_023	Trakehner	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_03_024	Trakehner	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_03_025	Trakehner	rA_A_1	rB_G_1							
Y_PR_03_030	Trakehner	rA_A_1	rB_G_1							
BW-396	Transbaikal	rA_A_1	rB_G_1	fWU_NO_CALL		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_064	Transbaikal	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_NO_CALL	fQI_C_1		fWY_NO_CALL	fRN_G_0
Y_PR_99_113	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_99_115	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_99_114	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_99_119	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
Y_PR_99_121	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
BW-63	Trotter	rA_A_1		fWU_T_0	fXF_G_0					
BW-390	Warmblood Alt-Wuerttemberger	rA_A_1	rB_G_1				fQI_NO_CALL	rP_T_0	fWY_NO_CALL	fRN_NO_CALL
Y_PR_99_046	Warmblood KWPN	rA_A_1	rB_G_1					rP_T_0		
Y_PR_03_034	Warmblood Trakehner	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		
Y_PR_03_052	Warmblood Trakehner	rA_A_1	rB_G_1	fWU_A_1		fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_NO_CALL		
Y_PR_03_054	Warmblood Trakehner	rA_A_1	rB_G_1			fUJ_C_1	fQI_G_0	rP_T_0		

Y_PR_03_056	Warmblood Trakehner	rA_A_1	rB_G_1	fWU_T_0	fXF_G_0	fUJ_NO_CALL	fQI_G_0		fWY_G_0	
Y_PR_99_117	Welsh-A	rA_A_1	rB_C_0	fWU_T_0	fXF_NO_CALL					

**Tabelle 22** Auflistung der Proben welche anhand der Marker fBVB, rO, rQ, fWB, fAAF, rJ, qBL, qJ, qCM und qFM untersucht wurden.

Probe	Rasse	fBVB	rQ	rO	fWB	fAAF	rJ	qBL	qJ	qCM	qFM
BW-17	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_107	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_108	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_109	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_112	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_110	Akhal Theke		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_03_035	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_036	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_037	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_038	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_058	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_059	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_060	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_061	Akhal Theke						rJ_G_0				
Y_PR_03_062	Akhal Theke						rJ_G_0				
BW-400	American Bashkir Curly Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-403	American Bashkir Curly Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-391	Anglo Norman	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_045	Arabian	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0

Y_PR_03_041	Arabian	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_N O_CAL L	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_05_013	Arabian ox	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0		qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_05_015	Arabian ox	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0		qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_05_018	Arabian ox	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0		qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_05_116	Arabian ox	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_NO CALL	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_99_120	Arabian Partbred	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_N O_CAL L	fAAF_N O_CALL	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
BW-218	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-219	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-227	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-228	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-230	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-232	Arabian Russian		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_09_005	Coldblood Southgerman	fBVB_20_4_0									
Y_PR_03_072	Kalmyk	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_04_011	Kirgisian horse (Aborigen)	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_04_013	Kirgisian horse (Aborigen)	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_04_052	Kirgisian horse (unknown)	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_15_022	local breed Kazakhstan						rJ_G_0				
Y_PR_15_023	local breed Kazakhstan						rJ_G_0				
Y_PR_15_035	local breed Kazakhstan						rJ_G_0				
Y_PR_15_036	local breed Kazakhstan						rJ_G_0				
Y_PR_15_002	local breed Myanmar	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0		qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0

Y_PR_15_014	local breed Myanmar	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0		qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
BW-146	Mongolian horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-147	Mongolian horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-29	Mongolian horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_04_038	New Kyrgyz Horse	fBVB_20_4_0			fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0				
Y_PR_04_034	New Kyrgyz Horse	fBVB_NO_CALL	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_04_040	New Kyrgyz Horse	fBVB_NO_CALL	rQ_NO_CALL	rO_C_0	fWB_NO_CALL	fAAF_G_0	rJ_NO_CALL	qBL_G_0	qJ_NO_CALL	qCM_C_A_0	qFM_T_0
AV-32	Quarter Horse	fBVB_20_4_0	rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-33	Quarter Horse	fBVB_20_4_0	rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-34	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-35	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-44	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-46	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-54	Quarter Horse	fBVB_20_4_0	rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-66	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-68	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_99_111	Quarter Horse	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-52	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
BW-239wh	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
AV-57	Quarter Horse		rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_01_005	Saddlebred	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_01_008	Saddlebred	fBVB_20_8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_01_007	Saddlebred	fBVB_NO_CALL	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_99_116	Shetland Pony Mini						rJ_C_1				

Y_PR_03_001	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_008	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_013	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_016	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_018	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_020	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_006	Thoroughbred	fBVB_N O_CALL	rQ_NO CALL	rO_NO CALL	fWB_N O_CALL	fAAF_N O_CALL	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_NO CALL	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_012	Thoroughbred		rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0				
Y_PR_03_019	Thoroughbred	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_N O_CALL	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
BW-396	Transbaikal	fBVB_N O_CALL	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_N O_CALL	fAAF_N O_CALL	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_NO CALL	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_064	Transbaikal						rJ_G_0				
BW-390	Warmblood Alt- Wuerttemberger	fBVB_N O_CALL	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_N O_CALL	fAAF_N O_CALL	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_NO CALL	qCM_N O_CALL	qFM_T_0
Y_PR_99_046	Warmblood KWPN	fBVB_20 4_0	rQ_T_0	rO_C_0			rJ_G_0				
Y_PR_03_034	Warmblood Trakehner	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_052	Warmblood Trakehner	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_054	Warmblood Trakehner	fBVB_20 8_1	rQ_T_0	rO_C_0	fWB_C_0	fAAF_G_0	rJ_G_0	qBL_G_0	qJ_G_0	qCM_C_A_0	qFM_T_0
Y_PR_03_056	Warmblood Trakehner						rJ_G_0				

**Tabelle 23** Auflistung der Proben welche anhand der Marker rC, fWM, rD, sM, sP, qBX, qCK und rG untersucht wurden.

Probe	Rasse	rC	fWM	rD	sM	sP	qBX	qCK	rG
-------	-------	----	-----	----	----	----	-----	-----	----

BW-17	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_99_107	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_99_108	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_99_109	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_99_112	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_99_110	Akhal Theke	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_03_035	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_036	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_037	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_038	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_058	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_059	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_060	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_061	Akhal Theke	rC_T_0							
Y_PR_03_062	Akhal Theke	rC_T_0							
BW-400	American Bashkir Curly Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
BW-403	American Bashkir Curly Horse	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-391	Anglo Norman	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_08_004	Appaloosa		fWM_C_1	rD_DEL_1	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	
Y_PR_08_005	Appaloosa		fWM_C_1	rD_DEL_1	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	
Y_PR_03_045	Arabian	rC_T_0							
Y_PR_03_041	Arabian	rC_T_0							
Y_PR_05_013	Arabian ox	rC_T_0		rD_TT_0					rG_A_0
Y_PR_05_015	Arabian ox	rC_T_0		rD_TT_0					rG_A_0
Y_PR_05_018	Arabian ox	rC_T_0		rD_TT_0					rG_A_0
Y_PR_05_116	Arabian ox	rC_T_0		rD_TT_0					
Y_PR_99_120	Arabian Partbred	rC_T_0		rD_TT_0					

BW-218	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-219	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-227	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-228	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-230	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-232	Arabian Russian	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_09_005	Coldblood Southgerman	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_03_072	Kalmyk	rC_T_0							
BW-402	Karabagh	rC_T_0	fWM_T_0		sM_G_0	sP_A_0			
Y_PR_04_011	Kirgisian horse (Aborigin)	rC_T_0							
Y_PR_04_013	Kirgisian horse (Aborigin)	rC_T_0							
Y_PR_04_016	Kirgisian horse (Aborigin)	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_04_023	Kirgisian horse (Aborigin)	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_NO_C_ALL	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_04_005	Kirgisian horse (Aborigin)	rC_T_0	fWM_NO_CALL						
Y_PR_04_052	Kirgisian horse (unknown)	rC_T_0							
Y_PR_15_018	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_019	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_020	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_021	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_022	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_023	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_024	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_025	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_026	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_027	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_028	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_029	local breed Kazakhstan	rC_C_1	fWM_T_0						rG_A_0

Y_PR_15_031	local breed Kazakhstan	rC_C_1	fWM_C_1	rD_DEL_1	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	
Y_PR_15_035	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_036	local breed Kazakhstan	rC_T_0							
Y_PR_15_002	local breed Myanmar	rC_T_0		rD_TT_0					
Y_PR_15_014	local breed Myanmar	rC_T_0		rD_TT_0					
Y_PR_15_057	local breed Vietnam	rC_C_1	fWM_C_1	rD_NO_C_ALL	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	
Y_PR_13_003	Miniature Horse	rC_T_0							
BW-146	Mongolian horse	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-147	Mongolian horse	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-29	Mongolian horse	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_04_038	New Kyrgyz Horse	rC_T_0							
Y_PR_04_034	New Kyrgyz Horse	rC_T_0							
Y_PR_04_035	New Kyrgyz Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_NO_CALL	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_04_037	New Kyrgyz Horse	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_NO_C_ALL	sM_NO_CALL	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_04_040	New Kyrgyz Horse	rC_NO_C_ALL							
AV-32	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-33	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-34	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-35	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-44	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-46	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-54	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-66	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-68	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_99_111	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
AV-52	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-239wh	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0

AV-57	Quarter Horse	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0		?			rG_A_0
Y_PR_01_005	Saddlebred	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_01_008	Saddlebred	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_01_007	Saddlebred	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
BW-20	Shetland Pony	rC_T_0	fWM_T_0	rD_TT_0					
Y_PR_99_116	Shetland Pony Mini			rD_TT_0					
Y_PR_99_118	Shetland Pony Tiger	rC_T_0	fWM_NO_CALL	rD_TT_0					
Y_PR_13_005	Terzeira Pony	rC_T_0							
Y_PR_13_007	Terzeira Pony	rC_T_0							
Y_PR_13_011	Terzeira Pony	rC_T_0	fWM_T_0						
Y_PR_13_015	Terzeira Pony	rC_NO_C_ALL	fWM_NO_CALL						
Y_PR_03_001	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_008	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_013	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_016	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_018	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_020	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_006	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_012	Thoroughbred	rC_T_0							
Y_PR_03_019	Thoroughbred	rC_T_0		rD_TT_0					rG_A_0
Y_PR_03_022	Trakehner	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_C_1	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_03_023	Trakehner	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_C_1	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_03_024	Trakehner	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_C_1	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_03_025	Trakehner	rC_C_1	fWM_C_1	rD_TT_0	sM_G_0	sP_C_1	qBX_A_0	qCK_T_0	rG_A_0
Y_PR_03_030	Trakehner	rC_C_1	fWM_NO_CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_C_1			rG_A_0
BW-396	Transbaikal	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A_0			rG_A_0
Y_PR_03_064	Transbaikal	rC_T_0							
Y_PR_99_113	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_G_1

Y_PR_99 115	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_G_1
Y_PR_99 114	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_G_1
Y_PR_99 119	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_G_1
Y_PR_99 121	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_G_1
BW-63	Trotter	rC_C_1	fWM_T_0	rD_TT_0					rG_NO_C ALL
BW-390	Warmblood Alt- Wuerttemberger	rC_T_0		rD_TT_0	sM_G_0	sP_A 0			rG_A_0
Y_PR_99 046	Warmblood KWPN	rC_C_1	fWM_NO_ CALL	rD_TT_0	sM_G_0	sP_A 0			rG_A_0
Y_PR_03 034	Warmblood Trakehner	rC_T_0							
Y_PR_03 052	Warmblood Trakehner	rC_T_0							
Y_PR_03 054	Warmblood Trakehner	rC_T_0							
Y_PR_03 056	Warmblood Trakehner	rC_T_0							
Y_PR_99 117	Welsh-A	rC_T_0	fWM_NO_ CALL	rD_TT_0					