



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2017 60 stp
Fakultet for Biovitenskap
Institutt for Husdyr- og Akvakulturvitenskap

Genetisk variasjon og fargegenetikk hos fjordhest

Genetic variation and color genetics of the
Norwegian Fjord Horse

Mia Høiseth
Husdyrvitenskap

Sammendrag

Hensikten med denne oppgaven var å beregne innavl for dagens fjordhestpopulasjon.

Populasjonen i Norge er ikke stor, og det har vært en trend i lave bedekningstall og lavt antall fødte føll de siste årene. Datasettet brukt er mottatt fra Norsk Hestesenter i 2016, og er basert på 23 866 individer.

Effektiv populasjonsstørrelse (N_e) ble beregnet gjennom to ulike metoder. Metode 1 er basert på slektskapsinformasjon i en referansepopulasjon med hester født 2010-2015 ($N=823$) og gir et bilde av genetisk variasjon i populasjonen basert på informasjon om de siste års seleksjonsavgjørelser. Metode 2 beregner N_e basert på log-regresjon av fødselsår av referansepopulasjonen inkludert aner ($N=4389$), og gir en oversikt over populasjonen over tid. Effektiv populasjonsstørrelse beregnet med de to metodene ga ulike resultat med $N_e=121$ for metode 1 og $N_e=85$ for metode 2.

Metode 1 påvirkes i større grad av de seinere års import av utenlandske fjordhester, som tilfører populasjonen genetisk variasjon. Metode 2, som beregner ΔF ved hjelp av et gjennomsnitt over tid, viser et noe lavere effektivt antall. Beregningene viser at fjordhesten mest sannsynlig har genetisk variasjon tilsvarende effektiv populasjonsstørrelse under 100, som er det anbefalte nivået, men at de siste års import har tilført populasjonen genetisk variasjon som gir muligheter for videre forvaltning av populasjonen. Dette krever imidlertid god oversikt over slektskapsstrukturen når framtidige seleksjonsavgjørelser skal tas, og at det legges til rette for et langsiktig avlsarbeid.

Ut fra DNA-analyser på fjordhest gjort i forbindelse med et prosjekt ved NMBU, har det i denne oppgave blitt gjort en GWAS-analyse (Genome-wide association studies) for å se om det er noe sammenheng mellom genotyper og fenotyper. Fenotypene i utvalget har vært de 5 godkjente fargene hos fjordhesten; brunblakk, gråblakk, ulsblakk, rødblakk og gulblakk, samt en analyse av avtegn. Det vises klare assosiasjoner for SNP-markører for gråblakke, rødblakke og ulsblakke hester. Det er ikke tydelige treff for gulblakke hester, noe som kan skyldes at det var et lite utvalg av hester som ble analysert ($N=2$). Analysene for avtegn gir utslag for SNP-markører, men dette krever grundigere studier. Kunnskap om fargegenetikk kan være viktig i framtidens forvaltning av rasene, da dette er av høy forbrukerinteresse. I en rase med utfordringer knyttet til genetisk variasjon, er kunnskap viktig for å ivareta en sunn og bærekraftig avl ettersom etterspørselen etter enkelte farger i perioder øker kraftig.

Summary

The purpose of this thesis was to calculate inbreeding parameters for the Fjord Horse population. The Norwegian population is small and there has been a trend in low cover numbers and low numbers of foals born per year recently. The data set used was received from the Norwegian Horse Centre in 2016 and is based on 23 866 individuals.

Effective population size (N_e) was calculated through two different methods. Method 1 is based on family information in a reference population with horses born 2010-2015 ($N=823$) and provides a picture of genetic variation in the population based on information about the last year's selection decisions. Method 2 calculates N_e based on log regression of birth year of the reference population including ancestors ($N=4389$), and gives an overview of the population over time. Effective population size calculated using the two methods gave different results with $N_e=121$ for Method 1 and $N_e=85$ for Method 2.

Method 1 is affected to a greater extent by recent years of imports of foreign Fjord Horses, which adds genetic variation to the population. Method 2, which calculates ΔF using an average over time, shows a lower effective population size. The calculations show that the Fjord Horse is most likely to have genetic variation equivalent to an effective population size below 100, which is the recommended size, but that recent year's imports have added the population genetic variation that provides opportunities for further management of the population. However, this requires a good overview of the family structure when future selection decisions are to be taken and that long-term breeding is facilitated.

Based on DNA analysis on the Fjord Horse conducted in connection with a project at NMBU, a GWAS (Genome wide association studies) analysis has been conducted to see if there is any association between genotypes and phenotypes. The phenotypes in the selection have been the 5 different colours approved by the fjord horse; brown dun, grey dun, uls dun, red dun and yellow dun, as well as an analysis of the white markings. Clear associations of SNP markers are shown for grey duns, red duns and uls dun horses. There are no obvious hits for yellow dun horses, which may be due to the fact that there was a small selection of horses that were analysed ($N=2$). The analysis for markings give association to SNP markers, but this requires further studies. Knowledge of colour genetics can be important in future management of the race, as this is of high consumer interest. In a breed of challenges related to genetic variation, knowledge is important for maintaining a healthy and sustainable breed, as the demand for certain colours can increase in periods.

Forord

Dette er den avsluttende oppgaven i masterstudiet for avl og genetikk ved Institutt for husdyr og akvakultur, IHA ved Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, NMBU.

Fjordhesten har alltid hatt en stor plass i hjertet mitt, og etter å ha jobbet med denne oppgaven i lang tid har jeg blitt enda mer glad i denne fantastiske hesterasen.

Jeg vil takke hovedveileder Hanne Fjerdingby Olsen for sitt engasjement, tålmodighet og stå-på-vilje helt til siste slutt! Retter også en stor takk til veileder Gunnar Klemetsdal for innspill, og Dag Inge Våge for sitt engasjement og all god hjelp i forbindelse med fargegenetikk hos fjordhesten!

En takk Norsk Hestesenter for datasett både over alle registrerte fjordhester og svar på alle spørsmål. En stor takk til alle hesteeiere som har svart på mine spørsmål på Facebook og via personlig kontakt i forbindelse med fargedelen.

Takk til Marita for gode stunder på lesesalen, diskusjoner og påfyll av motivasjon når det trengtes som mest. Ikke minst en stor takk til korrekturleserne Stine og Katrine for sine gode innspill og rettelser på veien mot en ferdigstilt oppgave!

Fakultet for biovitenskap

Institutt for husdyr- og akvakulturvitenskap

NMBU

Ås, 15.05.2017

.....

Mia Høiseth

*Kva er det med fjordhest som gjer oss så glad,
som gjer at me denne hesten vil ha?*

Han er vakker å sjå på, robust og trygg.

*Ber så gjerne eit barn på sin rygg,
drar trilla i bryllaup og festlege lag,
drar tømmer frå skogen med lunnerdrag.*

*Han ber kløven til fjells med klede og mat,
var i vår fortid ein trufast soldat.*

*No tevlar han ivrig i sprang og dressur,
og i køyring har han kreftar på lur.*

*Men òg i voltige, felt og distanse,
har vår fjordhest den rette balanse.*

*Før var han trekkraft på kvar ein gard,
no er ikkje kvardagen lenger så hard.*

*Han blir pussa og stelt, lærer folk å ri,
og blir til og med nytta som terapi.*

*Som turvenn er fjordhesten absolutt topp,
kjem seg fram overalt med sin smidige kropp.*

*Kjekkare hest kan du ikkje finne,
så prøv ein sjarmør som vil hjarta ditt vinne!*

Hentet fra Fjordhesten – en brukshåndbok

Innholdsfortegnelse

Sammendrag	2
Summary	3
Forord	4
1. Innledning.....	7
1.1 Fjordhesten internasjonalt	8
1.2 Innavl.....	9
1.3 Fargegenetikk	12
2. Material og metode.....	17
2.1 Datasett.....	17
2.2 Metode 1 – Beregninger av individuell innavlsøkning i referansepopulasjonen	21
2.3 Metode 2 - Innavlsberegninger med regresjon på fødselsår.....	22
2.4 Assosiasjonsanalyser av fenotyper	23
3. Resultat.....	24
3.1 Innavlsberegninger	24
3.2 Fargegenetikk	27
3.2.1 Gråblakk	27
3.2.2 Rødblakk	29
3.2.3 Ulsblakk	31
3.2.4 Gulblakk	32
3.2.5 Avtegn	33
4. Diskusjon.....	34
4.2 Fargegenetikk	42
7. Konklusjon	46
8. Referanseliste	47

1. Innledning

Tradisjonelt har hesten vært brukt innen jordbruk, skogbruk og transport, og ble først i etterkrigstiden tatt i bruk som et hobbydyr. Antall hester blomstret, og i 1949 var det anslått å være rett under 300 000 hester i Norge (Vangen 2007). Da traktoren inntok jordbruket på 60-tallet, ble det en drastisk nedgang i antall hester, og på slutten av 1960-tallet ble antall hester anslått å være ca. 41 000 (Vangen 2007). Hesten er ikke lenger kun et arbeidsdyr og i dag brukes den hovedsakelig til sport, fritid, turisme og i helsesammenheng. Bygdeforskning anslo i sin rapport fra 2012 at det var anslagsvis 125 000 hester i Norge (Vik & Farstad 2012). Mangel på enhetlig registreringssystem som omfatter alle hester, samt manglende innrapportering av slakt og avlivning fra hesteeierne, gjør det vanskelig å anslå dagens hestetall. Selv om både fjordhesten, dølahesten og nordlandshest-/lyngshesten har vist en dramatisk reduksjon i antall bedekninger de siste årene, gjelder dette også for andre hesteraser i Europa, noe som kan skyldes finanskrisen på slutten av 2000-tallet (Furre 2016). Et lavere bedekningstall hos de nasjonale rasene kan derfor være en av følgene av denne, og ikke bare en fallende interesse for rasene i seg selv (Furre 2016).

Fjordhestens bruksområder har endret seg fra å være arbeidshest til ulike retninger innen ridning og kjøring. Et økt antall hester som deltar i konkurranse viser at fjordhesten er en allsidig, smidig og utholdende rase. I Norges Rytterforbund er det i 2016 registrert 379 fjordhester som går i konkurranse. Samme år er det registrert 3506 ulike starter i forskjellige klasser (Norges Rytterforbund 2017). Fjordhesten har hevdet seg godt i ponniklasser for kjøring, og kan også vise til gode resultater innen både sprang og dressur. Selv om fjordhesten ikke kan måle seg mot de mer spesialiserte rasene på elitenivå, er det en god allroundhest i lave til middels konkurranseklasser. En økt interesse for å bruke fjordhesten i konkurranse har også gjort at Norges mesterskapet for fjordhest trekker mange deltakere. Norges mesterskapet for fjordhest har et konsept der fjordhestens allsidighet er nøkkelen. Mesterskapet ble arrangert for første gang i 1986, og har siden blitt avholdt hvert år i forskjellige deler av landet (Norges Fjordhestlag 2017c). Naboland har fulgt etter, og det blir arrangert både Nordisk mesterskap og Europamesterskap for fjordhest.

Systematisk avl av fjordhest har pågått siden 1860-årene. Fjordhesten skulle brukes som både arbeidskraft og skyss, og det var på de små brukene på Vestlandet fjordhesten utviklet seg med det rasepreget vi ser i dag. Små kronglete stier gjorde en liten og smidig hest nyttig. Den utviklet seg til å bli en god og sikker kjørehest. Der det ikke fantes veier var fjordhesten godt

egnet som kløv- og ridehest. På begynnelsen av 1900-tallet ønsket statsagronomene større framgang på vestlandsjordbruket. De mente jordbruket var underutviklet sammenlignet med andre steder og krysset derfor dølahester med de vestlandske fjordhestene for å få en større og mer egnet hest til jordbruket. Første generasjon hester var gode dyr som ga framgang i jordbruket, men etter hvert som avlen gikk sin gang, ble det misnøye. De nye krysningene ga dårligere beinstillinger, nye farger og et annet lynne enn det som var ønskelig. Etter mange strider ble det tilslutt bestemt at fjordhesten skulle renavles, og det ble tilsatt statskonsulenter som skulle stå for utviklingen av fjordhesten (Dahle et al. 2004). De første utstillingene ble holdt på midten av 1800-tallet, men fra og med 1946 ble det holdt årlig hingsteutstilling på Nordfjordeid. Hoppe- og unghest-utstillinger ble derimot holdt på forskjellige steder i landet.

I 1941 ble det innført en lov om kåring av avlshingster som sa at alle hingster som skulle brukes måtte være kåra, men egen hingst på egen hoppe var tillatt. Før denne loven ble innført var det lov å bruke alle hingster i avlen. I 1949 ble Norges Fjordhestlag (NFL) stiftet, og de sto for fremming og utvikling av fjordhesten fram til 1993 da ansvaret ble overlatt til Norsk Hestesenter på Starum (Norges Fjordhestlag 2017b). I 1995 ble om Forskrift om godkjente, reinavlede og registrerte dyr av hestefamilien til (Lovdata 1999). Avlsplan for fjordhest kom også ut i 1995 og denne danner grunnlaget for alt avlsarbeid med rasen. Avlsplanen er opp til revidering hvert 4. år, og målet i fjordhestavlen er å ta vare på særpreget og mangfoldet, og avle en sunn og funksjonsdyktig hest (Norsk Hestesenter 2015). De overordnede avlsmålene har et mål om at hesten skal være en sterkbygd, hardfør og atletisk hest med sjarm og utstråling. Den skal være pålitelig, samarbeidsvillig og arbeidsvillig, med en avbalansert og rolig framtoning i tillegg til å ha gode bevegelser og framdrift. I avlsplanen for 2015 vektlegges eksteriør 50 %, bruksegenskaper 30 %, lynne 10 % og holdbarhet 10 % (Norsk Hestesenter 2015). I 2015 ble ansvaret for fremming og utvikling igjen lagt tilbake på Norges Fjordhestlag da det offentlige kravet om bruk av kåra hingster falt bort (LMD 2016).

1.1 Fjordhesten internasjonalt

På verdensutstillingen i Hamburg i 1883 ble Rosendalsborken presentert som «den mest suverene hingst». Han viste seg godt fram og gjorde inntrykk blant tilskuerne og interessen for rasen økte i utlandet. Allerede under første verdenskrig hadde den danske Husmandsforeningen startet importen av fjordhester til Danmark. Det ble nødvendig å skaffe hester til landbruket etter 2. verdenskrig og fjordhester ble sendt som trekkhester til Polen og Tyskland (Dahle et al. 2004). Eksporten økte, og det ble eksportert hester til Sverige, Sveits, Frankrike, Belgia og England og det ble raskt flere fjordhester ute i verden enn det var i

Norge. I Europa anslås det å være en populasjon på nærmere 70 000 hester, og det regnes med et antall på 6-8000 fjordhester i Sør-Amerika, Canada og USA (Dahle 2009). Det gir en populasjon på godt over 80 000 fjordhester på verdensbasis, hvor Danmark, Nederland og Tyskland har de største populasjonene (Johnsen & Seilen 2009). Eksport av fjordhest skjer særlig etter hingstekåringen, og det selges en del føll og voksne hester til både hobby, konkurranse og avl. I tillegg til at fjordhester eksporteres ut av landet, så er det også en viss import av fjordhest fra utlandet til Norge. Dette er både hingster som skal forsøkes kåret, hopper ment for avl eller hester for konkurranse og hobby.

Fjordhorse International (**FHI**) er en internasjonal organisasjon der fjordhestlag og organisasjoner fra hele verden er medlemmer (FHI 2017). FHI har styremedlemmer fra medlemslandene, men styreleder er per dags dato norsk. Helt siden FHI ble grunnlagt i 1997 har de hatt et overordnet mål om å spre kunnskap om og bevare fjordhesten (FHI 2017). Fjordhesten har ingen overordnet internasjonal avlsplan, og medlemslandene i FHI har egne avlsplaner hvor avlsmål og egenskaper defineres av det enkelte land. Selv om fjordhestpopulasjonen er spredt verden over, har det ikke vært noe samarbeid om en felles stambok. Behovet for en felles stambok for alle medlemsland i FHI er stort, og det er et nødvendig tiltak for videre forvaltning av rasen (Norsk Hestesenter 2012; Norsk Hestesenter 2015). Ved å ha en felles database for alle fjordhestpopulasjonene i verden vil en kunne utarbeide en oversikt over stamtavler, og etter hvert over slektskapet mellom individer på tvers av land. Det vil også være enklere å lage en internasjonal overordnet avlsplan.

1.2 Innavl

Innavl er sammenparing av individer som er i slekt (Falconer & Mackay 1996).

Innavlskoeffisienten (**F**) er sannsynligheten for at to alleler i et seleksjonsfritt locus stammer fra samme opphav, og benyttes for å si noe om slektskapet mellom individer (Falconer & Mackay 1996). For at innavlskoeffisienten skal kunne være målbar, sammenlignes den med basepopulasjonen der $F=0$, og alle individer regnes som ubeslektet (Falconer & Mackay 1996).

Effektiv populasjonsstørrelse (**N_e**) beskriver antall effektive avlsdyr i en populasjon (Falconer & Mackay 1996), og er antall individer i en ideell situasjon med tilfeldig paring som ville bidratt genetisk til neste generasjon (Boichard et al. 1997). Dette karakteriserer status på populasjonen hos husdyrraser grunnet sammenhengen mellom effektiv populasjonsstørrelse, innavlsrate og genetisk variasjon tapt grunnet genetisk drift (Cervantes et al. 2008; FAO

1998). Seleksjon vil kunne redusere effektiv populasjonsstørrelse fordi det reduserer antall dyr brukt i avlen (Olsen et al. 2010), men N_e vil kunne øke ved at dyr får gå flere sesonger i avl, fordi det da vil være flere potensielle foreldre (Pérez-Enciso 1995). Maksimum- og minimumsverdiene for effektiv populasjonsstørrelse er gitt som utslagsintervall i beste og verste tilfelle.

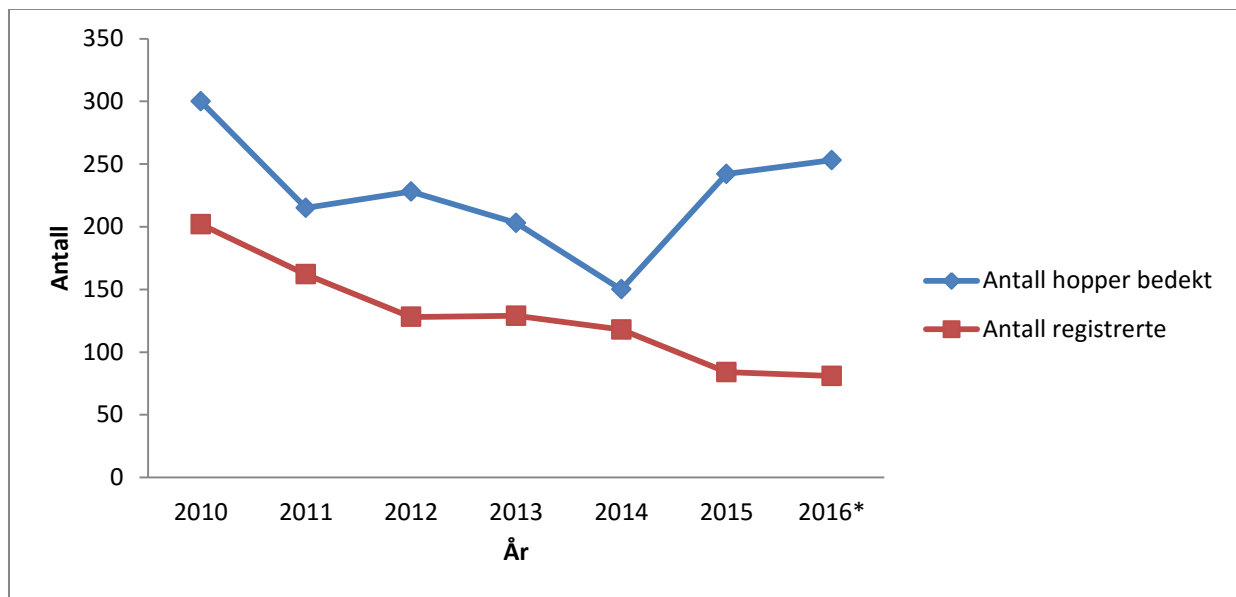
En av følgene til innavl vil være en økning i andel homozygote alleler og dermed en nedgang i antall heterozygote alleler, noe som fører til stor fare for tap av genetisk variasjon gjennom streng seleksjon (Falconer & Mackay 1996). Slike forandringer i genfrekvenser er ikke-reversible, og jo mindre en populasjon er, jo større fare for genetisk drift. Tap av genetisk variasjon kan øke frekvensen av uønskede egenskaper i en populasjon, noe som kan føre til innavlsdepresjon (Falconer & Mackay 1996). Dette kan ses som nedgang i reproduktivitet og fysiologiske egenskaper, slik som nedsatt kullstørrelse og nedgang i laktasjon. Hos hest kan følgene av innavlsdepresjon føre til lavere føllprosent (Klemetsdal & Johnson 1989; Sairanen et al. 2009) og nedsatte prestasjonsegenskaper (Samsonstuen 2015).

Fjordhesten er av norsk opprinnelse og er i likhet med dølahesten og nordlandshest-/lyngshesten en av våre tre nasjonale hesteraser (LMD 2016). Norge er forpliktet til å ta vare på disse tre rasene gjennom Rio-konvensjonen for biologisk mangfold via utøvende organisasjon, som for fjordhestens del betyr Norges Fjordhestlag. Fjordhesten har blitt definert som en bevaringsverdig, nasjonal og truet rase (Skog og landskap 2014) og det bør fødes og registreres minst 200 føll pr år for å kunne få en bærekraftig effektiv populasjonsstørrelse på rundt 100 (Olsen & Klemetsdal 2010). FAOs rapport fra 1998 anbefaler en minimum effektiv populasjonsstørrelse på 50 for å kunne holde en populasjon bærekraftig. Dette gir en innavlsrate på 1 % pr generasjon. Dersom N_e blir lavere enn disse anbefalingene bør det settes i gang tiltak for å kunne bevare det genetiske mangfoldet. I en rapport utviklet av Landbruksdepartementet i samarbeid med de forskjellige raselagene, Norges Miljø- og Biovitenskapelige universitet (NMBU) og genressurscenteret (NIBIO) ble det satt et mål for bevaringsarbeidet for de norske rasene og hvordan de skal klare å snu nedgangen i antall bedekninger og øke hestetallet (LMD 2016). Rapporten er utviklet som et innavlsregulerende tiltak.

I 2016 er det hos Norsk Hestesenter registrert 253 bedekte hopper fordelt på 37 hingster, og i 2015 var det 234 bedekninger fordelt på 34 hingster (Norsk Hestesenter 2017a). Figur 1 viser antall bedekte hopper og fødte føll for årene 2010-2016. Hittil laveste bedekningsår var i 2014

med kun 150 bedekte hopper, noe som resulterte i bare 84 registrerte føll året etter.

Bedekningstallene fra Norsk Hestesenter har tidligere vist et synkende antall registrerte hester per år, men de siste par årene ser det ut til at bedekningstallene kan være på tur opp igjen (Norsk Hestesenter 2017a). Frist for innlevering av fødselsmelding var 1.oktober 2016 (Norsk Hestesenter 2017c), som gjør at fødte føll for 2015 er ukomplett da beregningene ble gjort før året var omme. Oppgaven beregner ikke resultat for antall fødte føll i 2017.



Figur 1: Antall bedekninger og antall registrerte hester for årene 2010-2016. *Antall registrerte hester etter bedekningssesongen 2015 er ikke komplett. Antall registrerte hester etter bedekningssesongen 2016 er ikke med.

For å kunne holde en liten rase levedyktig med en stabil populasjonsstørrelse trengs det systematisk avlsplanlegging. Analyse av stamtavler er en god metode for å se på hvordan den genetiske variasjonen i en populasjon utvikler seg (Boichard et al. 1997), gitt at kvaliteten på stamtavleinformasjonen er god. Populasjonen må overvåkes for å holde øye med utviklingen og respondere på uønskede trender, og dette kan gjøres gjennom beregning av effektiv populasjonsstørrelse basert på innavlsrate.

Johnsen og Seilen beregnet innavl og effektiv populasjonsstørrelse hos fjordhesten i sin masteroppgave i 2009. I disse beregningene ble det brukt en referansepopulasjon med fjordhester født 2003-2007. De fant en effektiv populasjonsstørrelse på 107, og en innavlsrate på 0,47 %. Norsk Hestesenter publiserte en artikkel i 2016 med status for de nasjonale hesterasene basert på beregninger fra Olsen et. al (2010) som ga en effektiv populasjonsstørrelse på 118 i dagens aktive avlsdyr og en effektiv populasjonsstørrelse på 107 for dyr født 1990-1998. For hester født 1994-2015 er det en effektiv populasjonsstørrelse på 67 (Furre 2016).

I tillegg til å analysere genetisk variasjon ved hjelp av stamtavleinformasjon og slektskap har det blitt gjort beregninger av de samme parameterne på genotypenivå. Ved bruk av mottatte DNA-analyser for beregninger av innavlskoeffisienter og effektiv populasjonsstørrelse ble det testet for om modellene passer til parameterne beregnet for slektskap av stamtavleinformasjonen.

DNA-analyser kan også brukes på beregninger av fenotyper. Ved å benytte disse analysene kan man koble genotyper med fenotyper, og hente informasjon om genotypene som ligger bak de forskjellige fenotypene på individnivå. I denne oppgaven ble det derfor gjort en kobling mellom genotyper og fenotyper ved bruk av assosiasjonsanalyser av de forskjellige fargene på fjordhesten.

1.3 Fargegenetikk

Helt siden domestiseringen av hesten har det blitt observert at farger er nedarvet via enkle mendelske lover (Rieder 2009). Fargeavl vekket tidlig menneskets interesse og i takt med domestiseringen økte fargevariasjonen blant hestene (Ludwig et al. 2009). For å kunne forutsi hvilke farger et føll vil kunne få, må man vite noe om slektingenes fenotyper (Reissmann et al. 2016). Gjennom kartlegging av genotyper vil man få en mer nøyaktig oversikt over potensielle fenotyper hos et avkom (Bourdon 1997; Reissmann et al. 2016). Farge er en av de første egenskapene som systematisk har blitt analysert på molekylærnivå (Rieder 2009).

Pigmentering av pelsen er bestemt av melaninsyntese i hud, hårsekker og øyne, og deles inn i rød/ gul og svart/brun, avhengig av mengde melanin som produseres i melanocytene, de fargestoffdannende cellene (Cone et al. 1995). På melanocytene sitter det en melanocortin reseptor (**MC1-R**) som tar imot enten melanocytt-stimulerende hormon (**MSH**) eller agouti signaling protein (**ASIP**), og nivået av enzymet tyrosinase reguleres etter hva som kobler seg til reseptoren. Når MSH fester seg til reseptoren blir det dannet svart eller brunt pigment (phaeomelanin) gjennom produksjon av tyrosinase. Dersom ASIP bindes til reseptoren, eller en mutasjon forhindrer MSH å binde seg til reseptoren, vil det bli dannet rødt eller gult pigment (eumelanin) (Hearing & Tsukamoto 1991; Cone et al. 1995; Klungland & Våge 1997). Reguleringen av pigmenteringen kontrolleres på mange nivå, og genene påvirker pigmenteringen enten ved å virke inn på melanocytene direkte, eller ved å virke inn på melaninsyntesen. Hos mus er det kartlagt over 150 forskjellige mutasjoner som påvirker pigmenteringen (Hearing & Tsukamoto 1991).

Hester har tre grunnfarger; svart, rød og brun, med tilhørende modifierende gener som gir det fargespekteret som sees (Rieder et al. 2001; Mariat et al. 2003; Reismann et al. 2016). ASIP koder for det svarte allelet agouti(**A**) og antagonist MC1-R er koblet til allel for rødt, extension (**E**) (Cone et al. 1995; Rieder et al. 2001; Andersson 2003; Mariat et al. 2003). Som dominant (**E**) gir extension svart pigmentering, men ved recessiv (**e**) gir det gule eller røde pelsfarger fordi det ikke kan produsere svart pigment i melanocytene. Ved dominant (**A**) vil agouti begrense pigmenteringen av svart farge begrense til ytterpunktene, og ved recessiv (**a**) vil ikke det ikke være noe begrensning i svart pigment, og hele hesten blir svart (Rieder et al. 2001).

Hos fjordhesten er de modifierende genene creme (**Cr**) som bleker grunnfargen, og dun (**D**), eller blakk-genet, som gir den karakteristiske blakk-fargen (Dahle et al. 2004; Vangen 2007; Imsland et al. 2016; Reismann et al. 2016). Gener for bleking har blitt sett helt tilbake til 2800 år f.Kr., mens det første dokumenterte tilfellet av MC1R- genet er fra tilbake til 6000 f.Kr. og ble gjort i Romania (Ludwig et al. 2009). Blakk-genet sees tydelig hos przewalskihester og andre ville hestetypen i form av gråaktig pels (Castle 1954; Imsland et al. 2016), der den bleke pigmenteringen kan ha fungert som en form for kamuflasje (Imsland et al. 2016). Fjordhesten er renavlet for den blakke fargen, og det blakke allelet er trolig fiksert i populasjonen. Det gjør at populasjonen har blitt homozygot DD, som i tillegg til å bleke grunnfargen også gir de velkjente primitive avtegnene (Imsland et al. 2016). De primitive avtegnene beskrives som halefjør, midtstol i manen, ål, grep og sebrastriper på beina (Dahle et al. 2004). Blakk-genet bleker eumelanin og phaenomelanin likt, og det overstyrer pigmenteringen, som gjør at «svarte» hester blir grå, «brune» hester blir brunblakke, «røde» hester blir rødblakke, «gule» hester blir gulblakke og «borkede» hester blir ulsblakke (Castle 1954). Denne fargetypen blir beregnet som primitiv- eller viltfarge på bakgrunn av at man mener det er denne fargen hesten hadde opprinnelig (Ludwig et al. 2009; Imsland et al. 2016) .

Grunnfargen (C) må være tilstede for å gi fargepigment, og en mutasjon i dette genet, har gitt allelene for creme (C^{cr}), og gjort at grunnfargen blekes (Castle 1954; Mariat et al. 2003).

Cremegenet er delvis dominant, og gir ulik effekt i heterozygot og homozygot tilstand.

Heterozygoten (CC^{cr}) bleker rødt pigment til gul og brunt pigment til borket (ulsblakk).

Heterozygoten har liten til ingen effekt på svart pigment, og vises derfor ikke hos de svarte (gråblakke), som dermed kan bære det blekende allelet skjult (Mariat et al. 2003).

Homozygoten for det blekende allelet ($C^{cr} C^{cr}$) gir fargen blåøyd-hvit, også på svart pigment, og er en uønsket farge hos fjordhesten.

Hos fjordhesten er det i denne oppgaven sett på fire forskjellige gener som spiller inn på farge (Tabell 1). Fargebeskrivelsene i Tabell 1 kommer fra Dahle et al. (2004) som har hentet fargenedarvingen fra statskonsulent Johs. Loen gjennom hans grunnleggende forskning på fargenedarvingen hos fjordhesten i 1929-1938. Figuren viser de 18 forskjellige genotypene fjordhesten kan ha; 4 for brunblakk, 4 for gråblakk, 3 for rødblakk, 4 for ulsblakk og 3 for gulblakk.

Tabell 1: Oversikt over hvilke genotyper som kan forekomme hos de ulike godkjente fenotypene hos fjordhesten (Dahle et al. 2004).

	Agouti	Extension	Creme	Dun
Brunblakk	AA	EE	CC	DD
	AA	Ee	CC	DD
	Aa	EE	CC	DD
	Aa	Ee	CC	DD
Gråblakk	aa	EE	CC	DD
	aa	Ee	CC	DD
	aa	EE	CCr	DD
	aa	Ee	CCr	DD
Rødblakk	AA	ee	CC	DD
	Aa	ee	CC	DD
	aa	ee	CC	DD
Ulsblakk	AA	EE	CCr	DD
	AA	Ee	CCr	DD
	Aa	EE	CCr	DD
	Aa	Ee	CCr	DD
Gulblakk	AA	ee	CCr	DD
	Aa	ee	CCr	DD
	aa	ee	CCr	DD

Brunblakk er den dominerende fargen i dagens fjordhestpopulasjon, med nesten 7000 registrerte brunblakke fjordhester fra 1985-2016 (Tabell 2), som tilsvarer nesten 80 % av populasjonen. I stamboka deles den brunblakke fargen inn i to; lys brunblakk og brunblakk. Den lysbrunblakke fargen benevnes med lyse hår på sidene av manen, mens brunblakk har mørke hår. Forskjellige fargenyanser blant individene forekommer der kroppsfargen er

avbleket gulbrun, men varierer fra lys kremgul til nærmere lysebrun. Halefjør, ål og midtstol i manen er svart eller mørk brun. Den brunblakke fargen kommer av grunnfargen brun som blir bleket med blakkgenet, og er dominant for eumelanin og dominant homozygot for grunnfargen. Alle brunblakke fjordhester er dominant for A, E og C.

Gråblakke fjordhester har kroppsfarge varierende fra mørk skifergrå til lys sølvgrå. Midtstol, halefjør og ål er svart, og de er ofte svært mørke på neseryggen. Denne fargen kommer av grunnfarge svart som blir bleket til gråblakk av blakk-allelet. Disse hestene er homozygot recessive for agouti, som gjør at de ikke får rød pigmentering i pelsen, og dermed gjør hesten svart og ikke brun. Gråblakke hester kan være bærer av cremegenet, men det kommer ikke til syne i pigmenteringen av pelsen.

Hos rødblakke fjordhester sees kroppsfargen som rødlig i forskjellige nyanser opp mot lys brun. Disse har ikke cremegenet, men er homozygot recessiv for extension (e), som gjør at svart pigment ikke produseres hos disse individene, og gjør at halefjør, ål og midtstol blir rødaktige. De har også lyse høver ved fødsel. I perioden 1985-2016 er det registrert 346 rødblakke hester hos Norsk Hestesenter, noe som tilsvarer nesten 4 % av populasjonen.

Ulsblakk er en variant av den brunblakke fargen, der heterozygot (C Cr) av cremegenet bleker kroppsfargen til lysgul eller nesten helt hvit. Midtstol, halefjør og ål er mørkebrun til grå mot svart. Alle ulsblakke hester er dominante for A og E, og alle er bærer for Cr. Det er fra 1985 registrert 375 ulsblakke hester hos Norsk Hestesenter, og de ulsblakke hestene utgjør litt over 4 % av populasjonen.

Gulblakk kan karakteriseres som sjeldneste forekomne fargen i populasjonen, og siden 1985 har det bare blitt registrert 39 gulblakke fjordhester, det vil si en andel på under 0,5 %. Denne typen er en variant av rødblakk, men cremegenet bleker det røde pigmentet til gult.

Kroppsfargen er lysgul til gyllen hvit, og de kan ha lyse høver. Fargenyansen er homozygot (ee), som ikke vil gi svart pigment i pelsen, og halefjør, man og ål blir mørkere gul eller nærmest helt lyse.

Blåøyd- hvite hester er helt hvite hester med lyseblå øyne og rosa hud, og helt lyse i man og hale, og disse er ikke ønsket inn i avlen hos fjordhest. Alle disse hestene er homozygot CrCr, og er dermed dobbelt bleket. Selv om blåøyd- hvite hester er helt lyse, er det ikke det samme som albinisme, som er forårsaket av en feil i pigmenteringen eller mangel på enzymet tyrosinase (King & Summers 1988). Det er ikke kjent at albinisme finnes hos hest (Rieder

2009). Hos hester uten blakk-genet vil homozygoten av cremegenet gi forskjellige fenotyper, alt etter hvilken grunnfarge den har bleket. Perlino og cremello er fargebetegnelser som brukes på pigmenteringen som kommer til syne etter at cremegenet har bleket henholdsvis brune og røde hester.

I Tabell 2 med oversikt over alle registrerte fjordhester mellom 1985-2016 ser man fordelingen av de ulike fargene hos fjordhesten. Det er flest brunblakke hester (79,5 %) og færrest gulblakke hester (0,44 %). Det er registrert åtte hester med betegnelse «hvit», men det er uvisst om de faktisk er blåøyd- hvite, eller om de kan være ukjent eller ha en annen farge. 638 fjordhester står som ukjent siden disse står uten registrering på farge i stamboka.

Tabell 2: Oversikt over alle registrerte farger på fjordhester født 1985-2016 i Norge (Furre 2017).

Farge	Antall	Prosentandel
Brunblakk*	6930	79,5 %
Gråblakk	380	4,3 %
Rødblakk	346	3,9 %
Ulsblakk	375	4,3 %
Gulblakk	39	0,44 %
Hvit	8	0,09 %
Ukjent	638	7,3 %
Total	8716	

*Inkluderer også fargekategorien lys brunblakk

Avtegn er hvite avtegninger på hestens hode i form av stjerne eller bles, lyse striper i hoven, eller i form av helt hvite sokker nederst på beina. Hos fjordhesten er avtegn uønsket, men en stjerne i panna kan godkjennes på hopper. Hos rødblakke og gulblakke hester godkjennes lyse hover, og også lyse spalter i hoven om de er symmetriske på alle fire bein (Norsk Hestesenter 2015). Hos de rød- og gulblakke hestene er lysere partier på beina og ned mot hovene en egen karakteristikk som hører med i fargebeskrivelsen.

Selv om avtegn hos fjordhesten ikke er ønsket, forekommer de likevel. De hvite markeringene kommer av ikke-eksisterende melanocytter eller at melanocytene ikke greier å produsere pigment (Hauswirth et al. 2012; Rieder et al. 2008). I takt med domestiseringen så man også i forhold til nye fargevarianter på hester en økt andel av hvite avtegn (Ludwig et al. 2009). En teori for dette kan være at hester med hvite markeringer var lett gjenkjennelige, og også skilte seg ut fra sine ville artsfrender som gjorde det lett å holde hestene sine atskilt (Rieder et al.

2008). Analyser av przewalskihester har ikke funnet alleler som gir fortyningseffekt eller avtegn hos de hestene (Reissmann et al. 2016), og det er sett at alleler for avtegn hos domestiserte hester forekommer i høyere frekvens hos raser som er avlet spesielt for hvite markeringer som hos tinkere og kinsky-hester (Reissmann et al. 2016).

På den tiden fjordhesten ble krysset inn med dølahester, var ikke blakk- allelet fiksert, og det fantes både svarte, brune og flekkete (brokete) hester. Flekkene og de ublekede fargene ble vasket vekk etter hvert som avlen gikk over til bare å avle på blakke hester, og dermed til en populasjon homozygot blakk (DD). Det vil nok fremdeles være spor av disse allelene, og avtegnene som dukker opp av og til i dagens populasjon kan være i forbindelse med alleler fra de flekkene som fantes i forrige århundre.

Et gen som har sammenheng med avtegn hos hest er KIT (tyrosinase kinase reseptor), der forskjellige mutasjoner i genet årsaker til forskjellige typer hvite områder på hesten, slik som de flekkete typene tobiano og sabino, men det kan også gi helt hvite hester (Haase et al. 2009; Rieder et al. 2008). KIT er koblet til MC1-R, men også MITF (microphthalmia-associated transcription factorer), TYR (tyrosinase) og MLANA (melan-a) er koblet til hvite markeringer og pigmentering av pelsen (Rieder et al. 2001; Rieder et al. 2008; Cieslak et al. 2011; Imsland et al. 2016).

2. Material og metode

2.1 Datasett

Datasettet ble mottatt fra Norsk Hestesenter høsten 2016, og inneholdt alle registrerte fjordhester per 26.9.2016. Datasettet bestod totalt av 23 866 hester født fra 1857-2016 med informasjon om navn, individnummer, hestenummer, fødselsår, kjønn, individnummer på far, fars hestenummer, rase på far, individnummer på mor, mors hestenummer og rase på mor. Hestenummer er et identitetsnummer brukt på registrering av hester i Norge basert på fødselsår og rase, mens individnummer er et registreringsnummer brukt internt for Norsk Rikstoto sin database. I denne oppgaven er det identitetsnummeret som er brukt i beregningene.

Tabell 3 gir en oversikt over antall registrerte hester fordelt på kjønn. Hankjønn omfatter vallaker, hingster, urhingster og klapphingster. Den raske økningen i antall registrerte hanndyr fra starten på 1990-tallet skyldes trolig en overgang i 1989 hvor man gikk over fra bruk av

elitestambok som omfattet kun kåra og premierte dyr, til å registrere alle hester i populasjonen (Johnsen & Seilen 2009; Norsk Hestesenter 2015). Antall registrerte dyr fra 2010-2016 har veldig lite totalt antall dyr, som både skyldes et kortere tidsintervall (6 år) samt en trend i lave bedekningstall.

Tabell 3: Oversikt over antall registrerte individer fordelt på kjønn per tiår fra 1850-2016

Tiår	Hannkjønn	Hunnkjønn	Totalt
Ukjent	1	3	4
1857-1859	3	0	3
1860-1869	12	12	24
1870-1879	83	53	136
1880-1889	86	123	209
1890-1899	107	242	349
1900-1909	154	445	599
1910-1919	231	755	986
1920-1929	101	946	1047
1930-1939	254	3273	3527
1940-1949	336	3989	4325
1950-1959	146	753	899
1960-1961	115	846	961
1970-1971	171	1128	1299
1980-1989	226	1588	1814
1990-1999	1850	2258	4108
2000-2009	1270	1402	2672
2010-2016	457	447	904
Totalt	5603	18263	23866

Hester som hadde foreldre med registreringsnummer som tydelig var feil, «ikke kåra fjordhestfar», eller andre feilregistreringer på foreldre ble kartlagt manuelt og rettet. De 4 hestene som sto som med ukjent fødselsår ble funnet i den svenske stamboka på nett (Blå Basen), eller ved hjelp fra Norsk Hestesenter.

Foundere er dyr som har begge foreldrene ukjent, og halvfoundere er dyr som har én forelder ukjent (Boichard et al. 1997). Foundere har innavlskoeffisienter lik 0, og regnes som en del av

basepopulasjonen og er ulike i opphav (Falconer & Mackay 1996). Tabell 4 viser oversikt over registrerte fjordhester og antall foundere. Fra og med 2010 er det ikke registrert fjordhester med ukjente foreldre.

Tabell 4: Antall hester som er registrert med begge eller en ukjent forelder fra 1850-2016

År	Founder	Mor ukjent	Far ukjent	Totalt halvfounder
1850-1859	3	0	0	0
1860-1869	15	8	1	9
1870-1879	70	53	8	61
1880-1889	35	118	16	134
1890-1899	35	143	24	167
1900-1909	19	191	9	200
1910-1919	4	222	3	225
1920-1929	0	50	0	50
1930-1939	0	60	4	64
1940-1949	0	21	1	22
1950-1959	1	3	0	3
1960-1969	1	3	0	3
1970-1979	0	7	2	9
1980-1989	0	3	2	5
1990-1999	0	1	4	5
2000-2009	0	0	2	2
2010-2016*	0	0	0	0
Totalt	183	883	76	959

*Årene 2010-2016 er beregnet over 6 år og ikke per tiår som de andre.

Individer med ukjent eller feil fødselsår ble funnet manuelt, og fikk tildelt et fiktivt fødselsår på bakgrunn av informasjon om avkommenes fødselsår. Det fiktive fødselsåret ble satt til 1 år eldre enn eldste avkom. Hester som kun opptrådte som mor eller far ble lagt til som individer og ble tildelt et fiktivt fødselsår. Det ble ikke slettet noen individer fra datasettet. Etter redigeringen inneholdt datasettet 25 364 hester, en økning på 1498 individer fra det originale datasettet. Klargjøring av datasettet og beregninger er gjort via det statistiske programmet SAS (SAS 2016).

Innavlskoeffisientene er beregnet via Quaas- Hendersons algoritme for hvert registrerte dyr i hele stamtavlen (Quaas 1976; Henderson 1976). Innavlskoeffisientene (F) til hvert individ alene gir ikke noe godt estimat av innavlssituasjonen, men innavlsrate (ΔF) vil beskrive hvordan innavlskoeffisientene forandrer seg per generasjon (Falconer & Mackay 1996). I beregningene for innavlsrate og innavlskoeffisienter ble det estimert en standardfeil (SE) på innavlsberegningens sensitivitet overfor ufullkomne data, og indikerer hvor gode dataene faktisk er (Boichard et al. 1997). Metode 1 beregner standardfeilen på individuell innavlssøkning til N_e og Metode 2 beregner standardfeilene til regresjonsanalysen av β (fødselsåret).

I denne oppgaven ble det benyttet en referansepopulasjon på alle fjordhester registrert 2010-2015 der $N= 823$ til innavlsberegningene. I log-regresjonen er referansepopulasjonen beregnet med antall hester født i 2010-2015 inkludert deres kjente aner $N= 4389$. Individ for individ ble nøstet bakover flere generasjoner i programmet SAS til det ikke var flere kjente aner. Denne typen analyse av stamtavle sier noe om kvaliteten på stamtavlen og det kommer fram hvor fullstendig datasettet er. Antall kjente aner og totalt kjente generasjoner i stamtavla, G_{\max} , ble kalkulert.

Generasjonsintervall (L) er alder på foreldre når selektert avkom blir født (Falconer & Mackay 1996). Ved beregning av generasjonsintervall ble ikke hester yngre enn 4 år og eldre enn 25 år tatt med. Avgrensningen ekskluderer effektivt hester med fiktive fødselsår som har blitt satt til ett år før eldste avkom, noe som ellers vil bidra til underestimering av generasjonsintervallet. Formelen for generasjonsintervallet er:

$$L = \frac{L_{far} + L_{mor}}{2}$$

Der L er gjennomsnittlig generasjonsintervall, og er beregnet på gjennomsnittlig generasjonsintervall til far og mor. Generasjonsintervall på far (L_{far}) er:

$$L_{far} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n far_{alder_i}$$

Der n er antall fedre og far_{alder_i} er alder på far når selektert avkom blir født.

Generasjonsintervall på mor (L_{mor}) er:

$$L_{mor} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n mor_{alder_i}$$

Der n er antall mødre og mor_{alder_i} er alder på mor når selektert avkom blir født.

2.2 Metode 1 – Beregninger av individuell innavlsøkning i referansepopulasjonen

Metode 1 for beregning av innavlsparametere baseres på Olsen et al. (2010) sitt arbeid. Denne metoden beregner individuell innavlsøkning ved hjelp av innavlskoeffisientene til hestene i referansepopulasjonen født 2010-2015 ($N=823$), og tilsvarende informasjon om deres foreldre. Gjennomsnittlig ΔF for dyr i referansepopulasjonen ble beregnet ut fra formelen:

$$\overline{\Delta F} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \left(\frac{F_i - \frac{1}{2}(F_{far_i} + F_{mor_i})}{1 - \frac{1}{2}(F_{far_i} + F_{mor_i})} \right)$$

Der N er antall individer i referansepopulasjonen, F_i er den individuelle innavlskoeffisienten for hest i i referansepopulasjonen og F_{far_i} og F_{mor_i} er de individuelle innavlskoeffisientene til foreldrene til hest i .

Effektiv populasjonsstørrelse basert på gjennomsnittlig ΔF for siste generasjon ble beregnet ved bruk av formelen:

$$\overline{N_e} = \frac{1}{2\overline{\Delta F}}$$

Der ΔF er innavlsrate for siste generasjon basert på opplysninger om referansepopulasjonen.

Beregninger av standardfeil til effektiv populasjonsstørrelse er gjort via Cervantes et. al (2008) sin modifiserte formel etter Gutiérrez et al. (2008):

$$SE(\overline{N_e}) = 2\overline{N_e}^2 \sigma_{\Delta F} \frac{1}{\sqrt{\overline{N_e}}}$$

Der $SE(\overline{N_e})$ er standardfeilen for $\overline{N_e}$, og $\sigma_{\Delta F}$ er standardavviket til ΔF .

2.3 Metode 2 - Innavlsberegninger med regresjon på fødselsår

Metode 2 bruker regresjon på fødselsår av $\ln(1-F)$ på den nøstede filen. Antall dyr som er brukt er født fra 2010-2015 inkludert alle deres aner, $N=4389$. Log-regresjonen benytter informasjon om generasjoner og generasjonsintervall (Pérez- Enciso 1995; Cervantes et al. 2008). Modellen som ble brukt er:

$$\ln(1 - F_i) = y = \beta_0 + \beta_1 * X_1 + e_i$$

Der $\ln(1-F_i)$ er den naturlige logaritmen til $(1 -$ individuell innavlskoeffisient til dyr $i)$, β_0 er konstant og β_1 er regresjonsvariabelen av fødselsår Y , X_1 er fødselsår og e_i er tilfeldig feil tilknyttet regresjonen.

Beregninger av ΔF med regresjon brukes for å lage et snitt for alle dyr i referansepopulasjonen, og ble beregnet ved formelen:

$$\Delta F = 1 - e^{\beta_1}$$

Der β er regresjonskoeffisienten til fødselsåret.

Minimums- og maksimumsverdien til ΔF ble beregnet ved hjelp av formlene:

$$\Delta F_{min} = 1 - e^{\beta_1 - SE_{\beta_1}}$$

$$\Delta F_{max} = 1 - e^{\beta_1 + SE_{\beta_1}}$$

Der SE er standardfeilen til regresjonskoeffisienten β_1 .

Effektiv populasjonsstørrelse (N_e) beregnes ved bruk av formelen:

$$N_e = \frac{1}{2\Delta F * L}$$

Der L er gjennomsnittlig generasjonsintervall hos foreldrene, og ΔF er innavlsrate.

I beregning av minimums- og maksimumsverdi for effektiv populasjonsstørrelse ble følgende formler brukt:

$$N_{e min} = \frac{1}{2\Delta F_{max} * L}$$

$$N_{e max} = \frac{1}{2\Delta F_{min} * L}$$

2.4 Assosiasjonsanalyser av fenotyper

Fargeinformasjon på norskregistrerte fjordhester født 1985-2016 ble mottatt fra Norsk Hestesenter, og koblet opp mot genotypeinformasjon fra DNA- analyser gjort i forbindelse med et prosjekt på NMBU (Olsen et al. 2017). Etter bearbeiding av filen over de analyserte individene og filen med fargekodene, ble det til sammen 328 fjordhester med farge og DNA-analyse. Dette inkluderer også 103 individer fra Sverige. Fenotype på de svenske fjordhestene ble hentet ut fra den svenske stamboka på nett, Blå Basen (Svenska Hästavelserbundet 2017). Utvalget av hester som ble brukt i beregningene kommer fram i Tabell 5. Det var ingen blåøyd- hvite hester med i DNA-analysene, så de er ikke med i beregninger for assosiasjoner. Det var tre ukjente individer med i DNA-analysene, men de er ikke registrert i stamboka på nett og ble derfor satt til å være ukjent i analysene (Norsk Hestesenter 2017b).

Tabell 5: Antall hester for hver farge brukt i SNP-beregninger basert på N=328 dyr.

Farge	Antall
Brunblakk	269
Gråblakk	27
Rødblakk	9
Ulsblakk	18
Gulblakk	2
Ukjent*	3
Totalt	328

*Tre uregistrerte hester ble satt til ukjent.

Assosiasjonsanalysene ble gjort via en GWAS- analyse (Genome- wide association studies) for å finne genetiske markører (SNP) ved å sammenligne ulike fenotyper med genotyper gjennom en case-control studie (Begum et al. 2012). En slik analyse finner genetisk variasjon mellom de forskjellige case-control-gruppene, og kartlegger området på kromosomet som inneholder gener med stor betydning for egenskapen (QTLer). Analysene ble gjort via GEMMA (Genome- Wide Efficient Mixed Model Association algorithm) som inkluderer de nærmeste slektningene (Zhou & Stephens 2012). For å lage manhattan-plottene og QQ-plottene ble R-studio brukt (RStudio Team 2017).

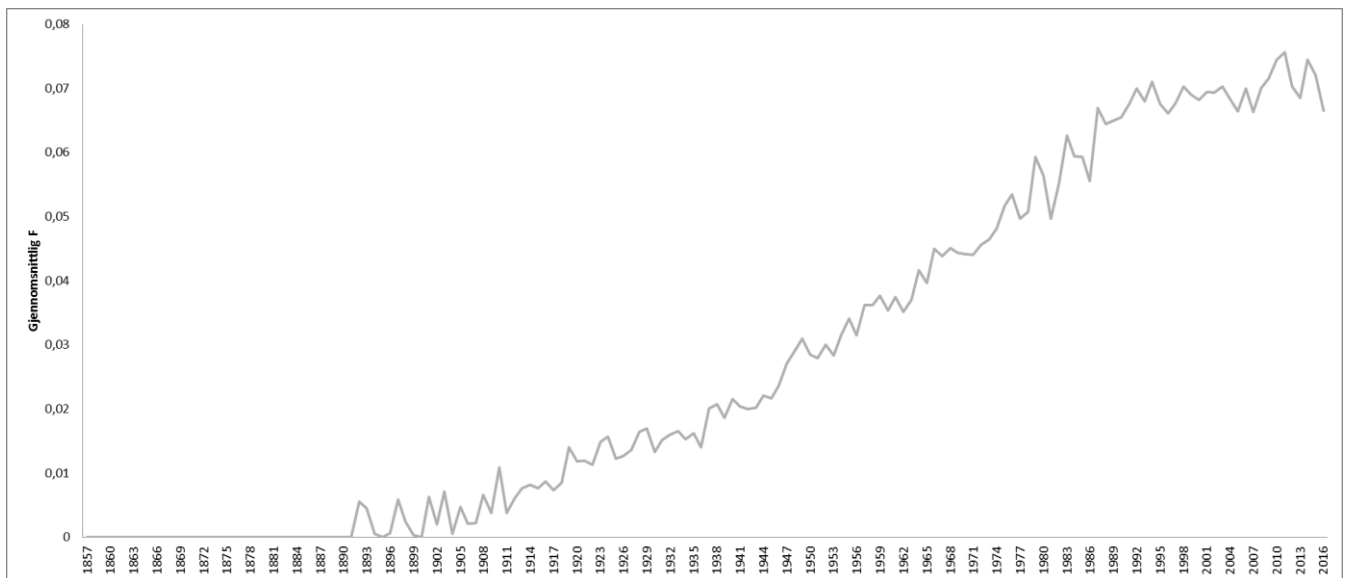
Brunblakke hester ble valgt som kontrollgruppe fordi de hadde flest observasjoner (N=269), og det ble ikke gjort forskjell i lysbrunblakk og brunblakk. Gråblakke, ulsblakke, rødblakke

og gulblakke hester ble testet opp mot brunblakk gruppevis. I tillegg ble det kjørt en assosiasjonsstudie for avtegn, der hester uten avtegn ble brukt som kontrollgruppe, mens hester med avtegn var testgruppe. Fenotyper på avtegn ble funnet via stamboka på nett eller personlig kontakt med hesteeierne (Norsk Hestesenter 2017b). I Blå Basen er både farge og eventuelle avtegn beskrevet (Svenska Hästavelsförbundet 2017). Datasettet brukt i assosiasjonsanalysene inneholdt 20 registrerte hester med avtegn.

3. Resultat

3.1 Innavlsberegninger

Gjennomsnittlig innavlskoeffisienter per år for perioden 1857-2016 (N= 23 866) er vist i Figur 2. De siste årene har F ligget rundt 8 %.



Figur 2: Gjennomsnittlig innavlskoeffisient (F) per fødselsår for alle registrerte år i hele populasjonen (N=23 866) fra 1857-2016.

Hvor komplett stamtavle de registrerte hestene i referansepopulasjonen på hester født 2010-2015 har er vist i Tabell 6. De seks første generasjonene er stamtavlen tilnærmet komplett. Etter generasjon seks begynner andel ukjente aner å avta, og prosentandelen synker. Etter 10 generasjoner er det lite slektskapsinformasjon på hestene. Høyest antall genererte generasjoner, G_{max} , var på 28 generasjoner.

Tabell 6: Oversikt over hvor komplett stamtavlen er for individer i referansepopulasjonen født 2010-2015

Antall hester i referansepopulasjonen (N)	823
Gjennomsnittlig antall aner per hest	122 215
% kjente aner i generasjon	
1	100
2	100
3	100
4	99,92
5	99,64
6	99,25
8	95,65
10	88,87
15	37,56
20	1,03
Maksimalt antall generasjoner (G_{max})	28

Beregnet generasjonsintervall for referansepopulasjonen inkludert aner (N= 4389) brukt i Metode 2 for log-regresjon vises i Tabell 7. Hopper har en høyere gjennomsnittsalder enn hingster.

Tabell 7: Generasjonsintervall på foreldredyrene beregnet fra slektskapsfila til referansepopulasjonen N= 4389.

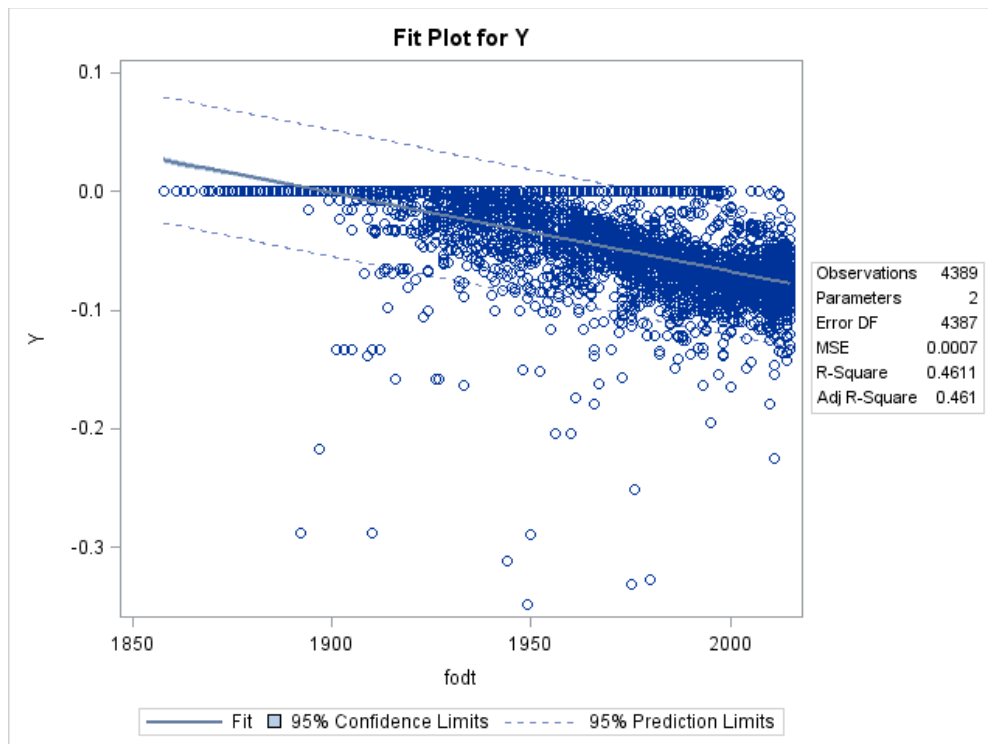
	Alder
L_{far}	7,89
L_{mor}	9,89
Gjennomsnittlig L	8,89

Regresjonsanalysen på fødselsår i metode 2 gir lave p-verdier, og gir uttrykk for at estimatet av regresjonskoeffisienten er signifikant (Tabell 8). 46,11 % av variasjonen forklares av modellen (R^2).

Tabell 8: Resultat fra regresjonsanalysen $\ln(1-F)$ på fødselsår av $N=4389$ dyr.

N	R^2	$\beta_1 \pm s.e$	p- verdi
4389	0,4611	-0,00066181 \pm 0,00001080	<0,0001

Regresjonsplot for beregningene i metode 2 er vist i Figur 3, og viser en noe jevn fordeling langs regresjonslinjen, men med noen avvik som legger seg utenfor konfidenslinjen. Den horisontale tykke linjen på nullpunktet der $Y=0$ er individer uten slektskapsinformasjon.



Figur 3: Regresjonsplot på fødselsår for 4389 fjordhester i referansepopulasjonen inkludert aner.

Resultatene for beregningene av effektiv populasjonsstørrelse er vist i Tabell 9. Metode 1 beregner parameterne for referansepopulasjonen på $N=823$ dyr og gir en innavlsrate på 0,41 %, en høyere standardfeil enn i metode 2, og derav større avstand mellom beregnet minimums- og maksimums effektiv populasjonsstørrelse. Metode 2 gir en innavlsrate på 0,58 %, og har en lavere standardfeil enn metode 1 og dermed mindre avstand mellom minimums- og maksimums effektiv populasjonsstørrelse.

Tabell 9: Genetisk variasjon med innavlsparametere for referansepopulasjonen basert på metode 1 og metode 2

Parameter	Metode 1	Metode 2
N	823	4389
ΔF	0,00414	0,00588
SE	45,5 ¹	0,00001080 ²
N_e	121	85
N_e (max)	166	87
N_e (min)	75	84

1) Standardfeil for metode 1 beregnes via Gutierrez (2008) metode av effektiv populasjonsstørrelse (N_e).

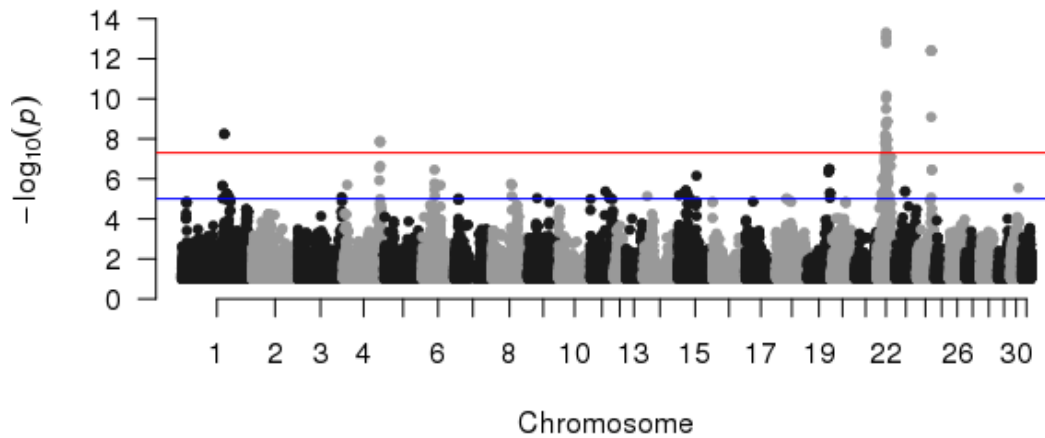
2) Standardfeil for metode 2 tilhører fødselsåret (β) i log-regresjon

3.2 Fargegenetikk

I manhattan-plottene vises langs y-aksen den negative logaritmen til p-verdiene på SNPene i assosiasjonsanalysen, og langs x-aksen fordeler kromosomene 1 til 32 seg. Den horisontale røde linjen er en Bonferroni- linje som brukes som en sterk korreksjon for signifikansen på p-verdiene grunnet det store antallet SNPer som blir analysert for. Kun SNPer med mest signifikans vil legge seg over. Den blå linjen er litt mindre selektiv, og viser dermed p-verdier som er litt mindre signifikante enn hva som blir korrigert for i Bonferronilinja. Quantile-quantile (QQ)- plottene viser forskjellen mellom forventet og observerte verdier for SNPene. Nullhypotesen for at det ikke finnes assosiasjoner blir sett når $X=Y$.

3.2.1 Gråblakk

Assosiasjonsanalysen av 447 436 SNPer vist i Figur 4 viser en klar topp på kromosom 22 for de gråblakke individene.



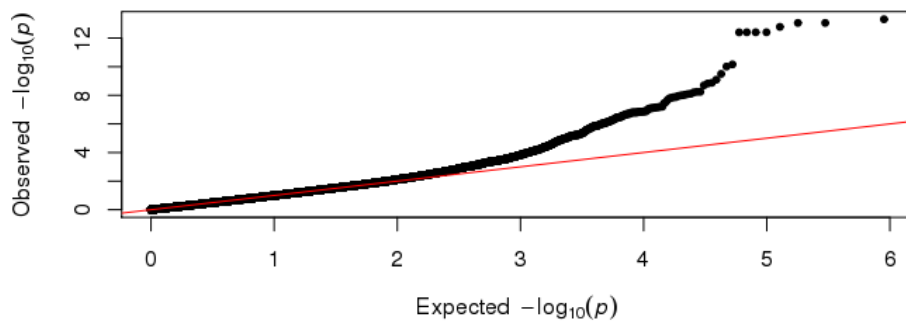
Figur 4: Assosiasjonsanalyse for SNP på gråblakke hester med p-verdi på y-aksen og kromosom 1-32 på x-aksen.

Tabell 10 viser de de mest signifikante p-verdiene for kromosom 22. SNPene ligger på en genposisjon rundt 25 millioner.

Tabell 10: De 5 mest signifikante p-verdiene for kromosom 22 og SNPenes posisjon på det aktuelle genet i analysene for de gråblakke hestene.

Kromosom	SNP	Posisjon	p-verdi
22	AX-103011858	25062585	4.848598e-14
22	AX-103573897	25372437	8.736027e-14
22	AX-104925639	25442232	8.736027e-14
22	AX-104423716	25458467	1.647814e-13
22	AX-104624231	25939461	6.947335e-11

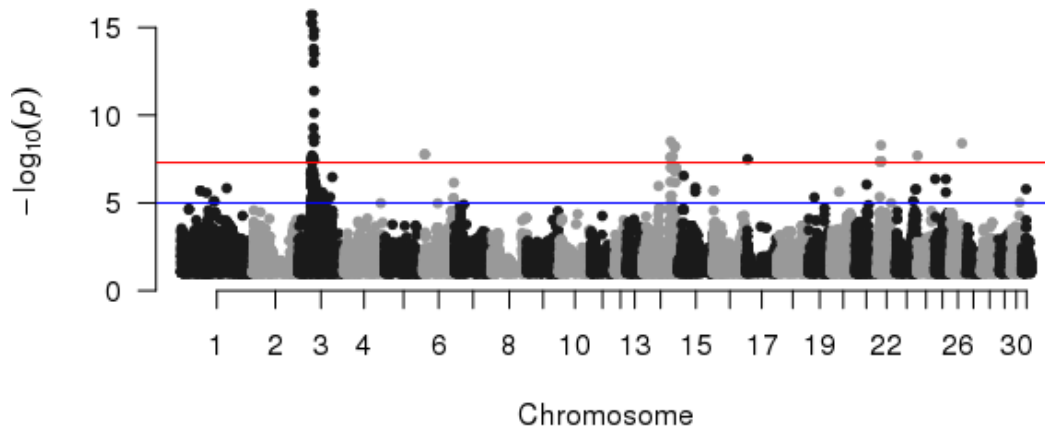
Figur 5 viser QQ-plot for analysene av gråblakke hester, med forventede SNPer sammenlignet med observerte SNPer langs den diagonale linjen.



Figur 5: Analyser av gråblakke fenotyper med forventa verdier på SNPene opp mot de observerte verdiene

3.2.2 Rødblakk

Assosiasjonsanalysen av 444 994 SNPer i Figur 6 viser tydeligst signifikans på kromosom 3.



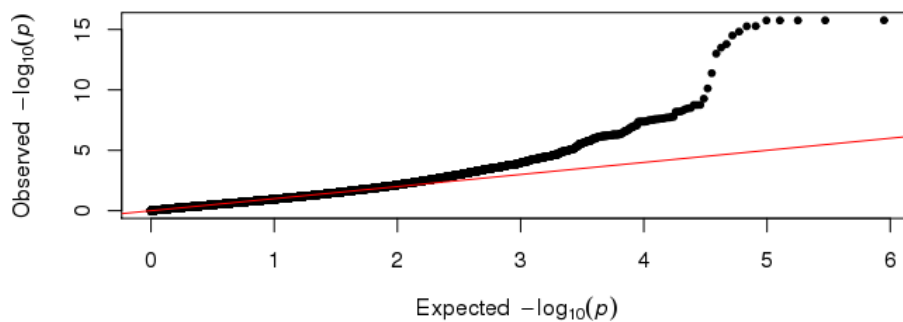
Figur 6: Assosiasjonsanalyse for SNP på rødblakke hester med p-verdi på y-aksen og kromosom 1 til 32 på x-aksen.

Tabell 11 viser de mest signifikante p-verdiene for kromosom 3, og SNPene ligger på en genposisjon rundt 35-36 millioner.

Tabell 11: De 5 mest signifikante p-verdiene for kromosom 3 og SNPenes posisjon på det aktuelle genet i analyse for de rødblakke hestene.

Kromosom	SNP	Posisjon	p-verdi
3	AX-104528810	35595446	1.754610e-16
3	AX-104805525	36259552	1.780337e-16
3	AX-103423260	36461592	1.780337e-16
3	AX-102950885	36041958	5.272217e-16
3	AX-104199007	35681325	5.483925e-16

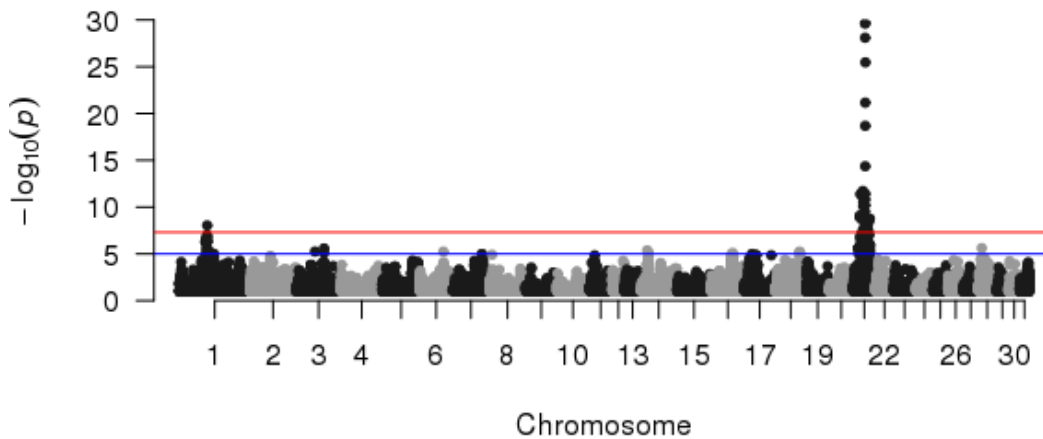
Figur 7 viser QQ-plot for analysene av rødblakke hester, med forventede SNP'er sammenlignet med observerte SNP'er langs den diagonale linjen.



Figur 7: Analysene for de rødblakke fenotypene viser forventet SNP-verdi og observert SNP-verdi.

3.2.3 Ulsblakk

I Figur 6 sees en tydelig topp i analysen av 445 607 SNPer på kromosom 21.



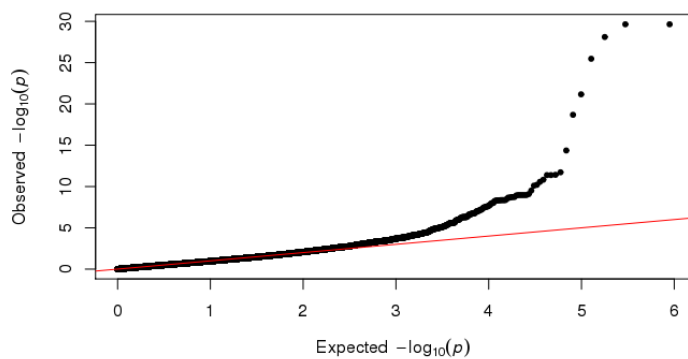
Figur 8: Assosiasjonsanalyse for SNP på ulsblakke hester med p-verdi på y-akse og kromosom 1-32 på x-akse.

Tabell 12 viser de mest signifikante p-verdiene for kromosom 21. SNPene ligger på en genposisjon rundt 30-31 millioner.

Tabell 12: De 5 mest signifikante p-verdiene for kromosom 21 og SNPenes posisjon på det aktuelle genet i analysene for de ulsblakke hestene.

Kromosom	SNP	Posisjon	p-verdi
21	AX-104028533	30606841	2.269882e-30
21	AX-104286605	30621701	2.269882e-30
21	AX-104268591	30599274	7.872023e-29
21	AX-103431912	31278423	3.400418e-26
21	AX-104031677	31042499	6.867180e-22

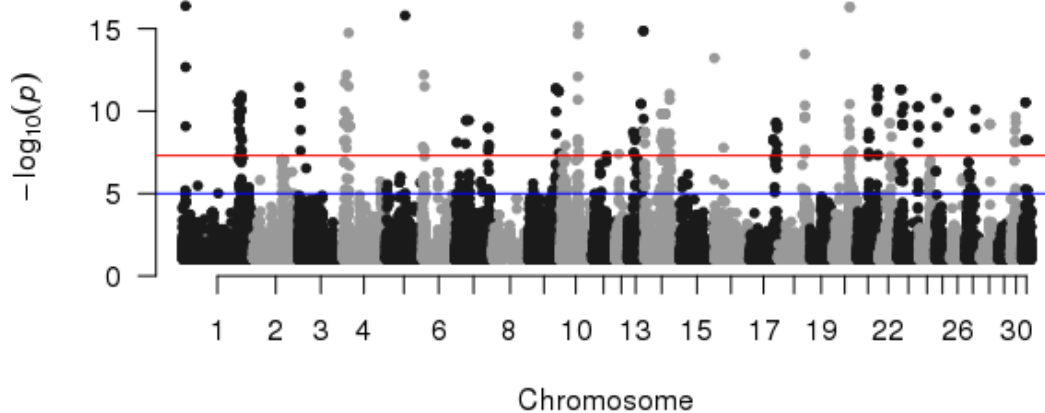
Figur 9 viser QQ-plot for analysene av ulsblakke hester, med forventede SNPer sammenlignet med observerte SNPer langs den diagonale linjen.



Figur 9: Viser forventede SNPer opp mot de observerte i assosiasjonsanalysene for de ulsblakke hestene.

3.2.4 Gulblakk

Figur 10 viser signifikante SNPer etter analyse av 444 202 SNPer.

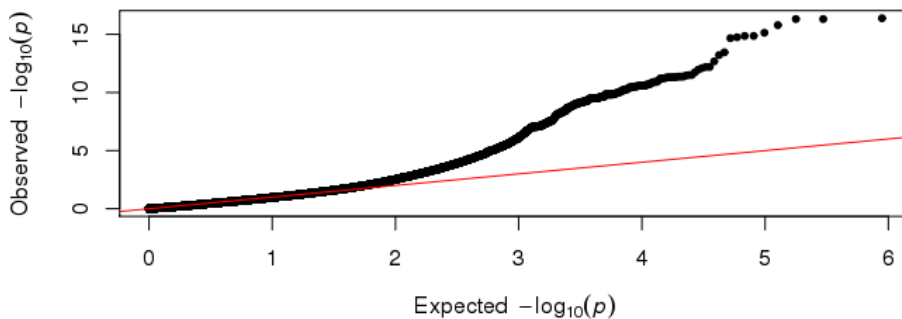


Figur 10: Assosiasjonsanalyse for SNP på gulblakke hester med p-verdi på y-aksen og kromosom på x-aksen.

Tabell 13 viser signifikans på flere av kromosomene, men ingen er tydelige nok, så dette ble beregnet som støy og krever dermed grundigere undersøkelse.

Tabell 13: De 5 mest signifikante p-verdiene for kromosomene og SNPenes posisjon på det aktuelle genet i analysene for de ulsblakke hestene.

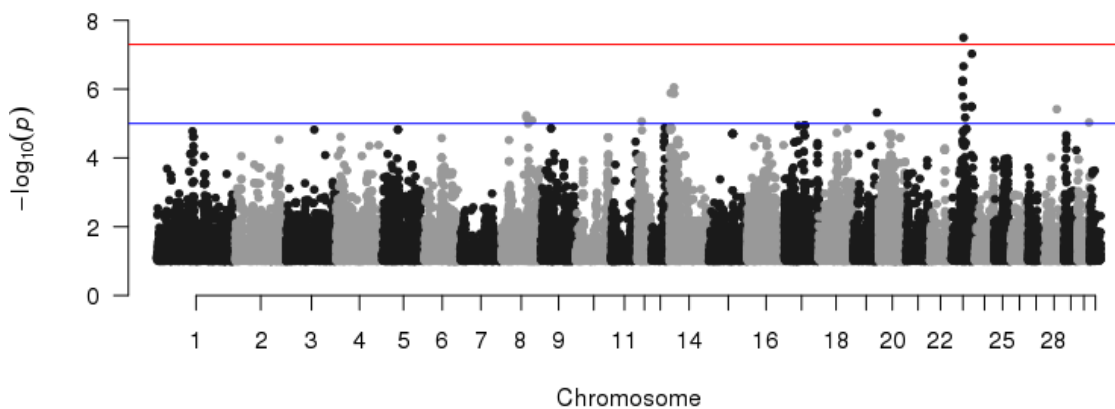
Kromosom	SNP	Posisjon	p-verdi
1	AX-104168658	10676978	4.133912e-17
20	AX-104794868	45334617	4.826476e-17
20	AX-104012498	45308882	4.828686e-17
5	AX-103318402	53843049	1.606206e-16
10	AX-103440329	48390133	7.275268e-16



Figur 11: Viser forventede SNPer opp mot de observerte i assosiasjonsanalysene for de gulblakke hestene

3.2.5 Avtegn

Analyse for 445 050 SNPer i Figur 11 viser en tydelig assosiasjon mot avtegn på kromosom 23.



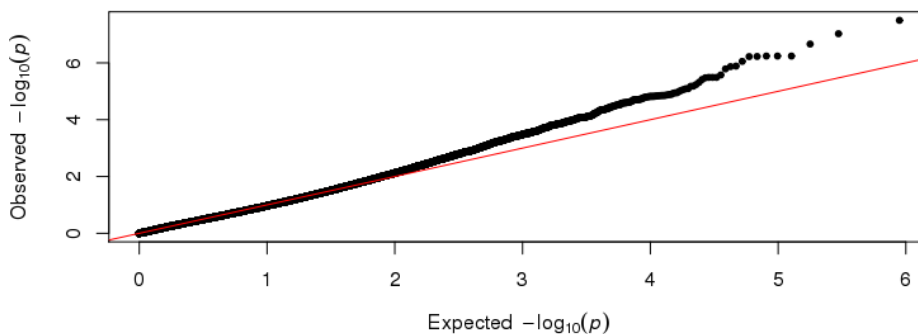
Figur 12 Assosiasjonsanalyse for SNP på hester med avtegn med p-verdi på y-aksen og kromosom på x-aksen.

Tabell 14 over de mest signifikante p-verdiene for kromosom 23 viser at SNPene ligger på genposisjon 27-29 millioner.

Tabell 14: De 5 mest signifikante p-verdiene for kromosom 23 og SNPenes posisjon på det aktuelle genet i analysene for hester med avtegn.

Kromosom	SNP	Posisjon	p-verdi
23	AX-104337441	29746436	3.171964e-08
23	AX-104551157	49678502	9.380164e-08
23	AX-103993814	29755166	2.167480e-07
23	AX-104949106	27661913	5.737919e-07
23	AX-103654341	27760289	5.737919e-07

Figur 13 viser QQ-plot for analysene på hester med avtegn, med forventede SNP'er sammenlignet med observerte SNP'er langs linjen.



Figur 13: Analyser av observerte verdier for SNP opp mot forventa verdier hos hester med avtegn.

4. Diskusjon

Datamaterialet brukt i oppgaven inneholder alle registrerte fjordhester fra de første registreringene tok til fram til september 2016. Det inneholder en del feilkilder og disse har blitt rettet opp i for å kunne gjøre beregningene. Ingen dyr har blitt slettet fra datasettet, men det er gjort noen endringer på fødselsår og noen har fått lagt til fiktive fødselsår.

I Figur 1 ser man at det ikke har vært født over 200 føll per år siden 2010, og fødselstallene har gått drastisk nedover de siste årene. Dette viser at det er en stor risiko i dagens populasjon for å kunne utvikle noen av de negative følgene som kan følge en innavlsdepresjon. Det skal

være relativt stor økning i antall bedekninger for at det skal fødes over 200 fødte føll hvert år. Selv om det har blitt bedekt over 200 hopper, har det ikke blitt født og registrert like mange føll. I 2010 ble det bedekt 300 hopper, og født 162 føll påfølgende år. I 2011 ble det kun bedekt 215 hopper, med 128 fødte føll påfølgende år. Det laveste antallet var i 2014 da det kun ble bedekt 150 hopper, noe som resulterte i bare 84 registrerte føll i 2015. De lave føllprosentene kan komme av nedsatt fruktbarhet hos de sammenparede dyrene, men også av dårlige innmeldinger fra hoppeiere om resultat fra bedekningen eller drectigheten.

Innmelding av resultat fra bedekning er en viktig del av avlsarbeidet, og store hull i innmeldinger kan gi underestimer av fertilitet hos den enkelte hingst og hoppe. Særlig hos hingster vil det kunne bli underestimert fertilitet på grunn av at alle deres bedekninger meldes inn av hingstens eier, mens det er hver hoppeier selv sitt ansvar å melde inn om resultat fra bedekningen. Ved mistanke om dårlig fertilitet kan man ta sædprøver av hver enkelt hingst. Føllprosent er avhengig av å bli beregnet over flere år på bakgrunn av resultater for dårlig fertilitet hos hingst eller hoppe. Den største grunnen til at det ikke meldes inn etter bedekning fra hoppeiere kan være at det er frivillig, men også at det koster penger. For å få oversikt over og stimulere til økt innsending av resultater kreves det et godt system for registreringer etter bedekninger, særlig i små populasjoner som hos fjordhesten.

Frist for innlevering av fødselsmelding var 1.oktober 2016 (Norsk Hestesenter 2017c), som gjør at fødte føll for 2015 er ukomplett. Det gjør tabeller og beregninger for årgang 2016 ukomplette, og i Figur 1 vil ikke antall registrerte hester i 2015 være komplett på grunn av registreringsfristen ikke hadde gått ut før etter beregningene var gjort.

I Tabell 3 med oversikt over antall registrerte hester per år er det stor variasjon. Etter krigen var det en topp i antall med over 4000 registrerte, men på 1950-tallet ble det et kraftig dropp med kun 899 registrerte hester. På 1990-tallet var det igjen over 4000 registrerte hester, og tallene begynner å synke på 2000-tallet. I 2015 var det en nedgang på hele 58 % sammenlignet med 2010. Dette kan skyldes at den siste raden kun viser antallet over 6 år, men kan også skyldes lave bedekningstall. Tabellen viser også en skjevfordeling fordelt på kjønn, særlig i årene 1930-1950 med et samlet antall hingster på 590 og 7852 hopper, men dette kan også sees på det totale antallet hester registrert. Det var trolig sterkere seleksjon på hanndyrsiden enn på hunndyrsiden grunnet registreringer kun på premierte dyr. Hesteeiere kan ha unngått å stille og registrere hestene sine dersom de antok at hesten ikke ble premiert. Fra og med 1990 har kjønnsfordelingen jevnet seg ut. i 1989 ble det tatt i bruk registrering av både hopper, vallaker og hingster, og ikke kun bruk av elitestamboka.

En del hel- og halvfoundere gjør at datamaterialet er følsomt for beregninger av innavlskoeffisienter siden de per definisjon har $F=0$. Dette gjør at innavlskoeffisientene kan bli underestimert i en populasjon med mange individer med ukjent opphav. Tabell 4 viser at det er en del hester med ukjent mor fra 1920 til 1960. Fra og med 1950 er det få individer med ukjent far. Etter 2010 er det ingen hel- eller halvfoundere. Et lite antall foundere tyder på at basepopulasjonen kan beregnes som liten, noe som skulle gi grunn til å tro at innavlsnivået i dagens populasjon er høyt. En god del halvfoundere vil likevel dra ned innavlsnivået siden de drar inn nytt genetisk materiale.

I 2010 var det brukt 35 hingster, mens i 2014 var det brukt 33 (Norsk Hestesenter 2017a). Med få hingster i avl er det lett at det blir et økt slektskap mellom dyr i populasjonen, i 2017 er det 46 hingster registrert i hingstekatalogen (Norges Fjordhestlag 2017a). Olsen & Klemetsdal (2010) beregnet at ved å øke antall selekterte 3 års-hingster fra 30 % til 60 % så økte effektiv populasjonsstørrelse på grunn av andel hingster i avl økte. Med flere hingster i avl vil avkomsgrupper per hingst kunne reduseres (Falconer & Mackay 1996; Olsen & Klemetsdal 2010). Avkomsgruppene er avhengig av å være like i størrelse for hver hingst for å kunne unngå økning i innavl. De hingstene som gjør det godt på kåring får som regel flest hopper, og de gode hingstene kan også avle gode sønner som igjen gjør det godt på kåring. Dette kan føre til at slektskapet mellom hingstene ikke blir mindre, selv om flere hingster går i avl. Ved å begrense antall kårede hingster per far, i tillegg til å kåre hingster med sjelden stamme, vil en kunne øke effektiv populasjonsstørrelse per generasjon (Klemetsdal 1999; Olsen & Klemetsdal 2010). I tillegg til å øke antall hingster brukt i avl, bør også utvalget av hopper økes. På hoppesiden vil det til enhver tid være flere potensielle avlshundyr i populasjonen enn faktisk antall, da hoppene som ikke får føll ikke bidrar til neste generasjon. Kunnskap om hvilken hingst som passer til sin hoppe basert på slektskap er viktig, men det er også mange hensyn å ta i forhold til bruksegenskaper, eksteriør, farge, temperament og ikke minst geografisk avstand til hver enkelt hingst.

Årsakene til de synkende bedekningstallene kan være en økt konkurranse fra hester som er mer spesialiserte i sitt felt, slik som sportssponnier og varmblods ridehester. Kanskje har ikke avlsmålene stått til det markedet etterspør med tanke på for eksempel hester egnet for konkurranse. Nedgangen kan også være en følge av økonomien i det å produsere føll. For en hoppeeier kreves det tid og penger i å produsere et føll, og det å ikke vite om man får solgt avkommet kan gjøre at man velger å ikke bedekke. Føllavtaler og bestillingsbedekninger der potensielle føllkjøpere får produsere sitt eget avkom ved bruk av ønsket hingst på en

lånehoppe kan være populært. En nedgang i økonomi kan også føre til at folk ikke kjøper hester.

Det som har vært fokus hos de norske hesterasene har vært særlig å se på deres allsidighet. Mange og fornøyde brukere er de beste ambassadørene for rasen. Avlsmålene må tilfredsstillende egenskaper markedet etterspør, og ønsket bruk for hver enkelt hesteeier. Brede avlsmål som tar hensyn til allsidighet og rasetype på fjordhest er viktig. Kvalitetssikring av hester fra oppdrettere, men også eiere og trenere gjør at nye kjøpere vet hva de får. Det må være tilgang til gode kvalitetshester på markedet. Et tiltak for dette har vært et samarbeid mellom landslagene for de tre nasjonale hesterasene. Fokus Unghest har siden 2008 hatt et mål om å bidra med å kvalitetssikre de hestene som har deltatt og dermed kunne øke etterspørselen og interessen for særnorske hesteraser, og slik opprettholde en jevn tilgang av hester. Lokallagene kan søke om økonomisk støtte til hold av kurs, og de forskjellige kursmodulene omfatter blant annet fyllkurs, innkjøring, forberedelse til kjøreprøve og utstilling. Målsettingen til Fokus Unghest er å øke kompetansen til unghesteeiere ved å gjøre faginformatjon lett tilgjengelig. Prosjektets styringsgruppe og ledelse ligger hos Norsk Fjordhestsenter på Nordfjordeid, og det er her innkomne søknader og støtte blir behandlet. I 2016 er det gjennomført 89 moduler totalt for de 3 norske hesterasene (Flyum 2017).

En av kursmodulene under Fokus Unghest omfatter Skeid, en konkurranseform forbeholdt de nasjonale hesterasene. Ideen bak denne konkurranseformen ligger i utviklingen av rasenes bruksområder i overgangen fra arbeidshesten til sports- og hobbyhesten. Resultater og registreringer fra Skeid vil også kunne være nyttig i bruk av informasjon på bruksegenskaper og lynne. Egenskaper som er lagt vekt på i Skeid er bruk i terrenget, konsentrasjon, skift fra høy til lav intensitet i aktivitet og å bevare ro og arbeidsvilje (Fokus Unghest 2017). I 2016 har det vært 12 søknader for Skeid totalt for alle de 3 rasene, og 6 av disse var fra lokallag for fjordhest (Flyum 2017).

Fjordhestens lynne gjør at den egner seg godt til grønn omsorg og inn på tunet- aktivitet. Bruk av hest innen helse og rehabilitering, læring og mestring, men også innen turisme har fjordhesten et potensielt marked. Turisme er en av verdens største industrier, og den vokser raskt.

Figur 2 viser en flat linje for innavlskoeffisientene de første årene fra 1857-1890 grunnet manglende data for slektskap hos disse individene. I tiden etter 1890 beveger grafen seg mye opp og ned, noe som kan skyldes en del manglende data. Slektskapsinformasjon øker på

begynnelsen av 1900-tallet, og gjennomsnittlig innavlskoeffisient begynner å stige. Fra 1947 sees en rask innavlsøkning før den flater ut litt på 1950-tallet, noe som kan skyldes økt etterspørsel av hester etter krigen. Populasjonen var liten, og en økt etterspørsel i dyr kan ha gitt en økt avl uten hensyn på slektskap. Rundt 1980 får grafen igjen en utflating, som kan skyldes import av hingster fra Danmark og Sverige. Disse to populasjonene har vært adskilt i flere generasjoner, men har samme opphav, så slektskapet mellom disse er fortsatt høy (Johnsen & Seilen 2009). Gjennom hele 1980-tallet svinger grafen en del, noe som kan skyldes de nye innkryssningene og dårlig slektskapsinformasjon på dem. Fram til sent på 2000-tallet er grafen flatere, men den stiger raskt opp mot en topp i 2011 og 2014.

Tabell 6 viser hvor komplett stamtavle de registrerte hestene i referansepopulasjonen (N=823) på dyr født 2010-2015 har. I de seks første generasjonene var stamtavlen nærmest komplett, med 100 % fram til generasjon tre. Etter generasjon seks begynner stamtavlen å mangle data, og prosent aner synker. Særlig etter 15 generasjoner er det lite slektskapsinformasjon på hestene. Høyest antall genererte generasjoner, G_{max} , var på 28 generasjoner. De høye prosentene i de første generasjonene tyder på gode registreringer med få foundere, noe som gir grunnlag for å tro at innavlsberegningene er pålitelige.

Den genetiske variasjonen i en populasjon avhenger av seleksjonsintensitet, sikkerheten i utvalget og generasjonsintervallet (Bourdon 1997). For å få en økning i genetisk variasjon trengs det høye sikkerheter på utvalget, stor genetisk variasjon, høy seleksjonsintensitet og et kort generasjonsintervall. Det er en stor sammenheng mellom faktorene som påvirker den genetiske framgangen, og ved et kort generasjonsintervall er det ikke mye informasjon om avkom, noe som kan føre til lavere sikkerheter (Bourdon 1997). Derimot vil et kort generasjonsintervall kunne gi en rask økning i genetisk framgang. Et lenger generasjonsintervall skal kunne gi en lavere innavlsrate, men ved bruk av få hingster og særlig hingster i slekt, vil det kunne øke innavlsraten i stedet.

Tabell 7 viser et gjennomsnittlig generasjonsintervall for hestene i referansepopulasjonen inkludert aner (N=4389) på 9,89 hos hopper og 7,89 hos hingster. Dette gir et gjennomsnittlig generasjonsintervall på 8,89. Generasjonsintervallene er relativt lange, noe som vil føre til en lavere genetisk framgang i populasjonen. Det lange generasjonsintervallet kan skyldes at hoppene settes i avl senere enn hingstene. Det er sett et generasjonsintervall 2 år lengere hos hopper enn hos hingster, som kan tyde på at det er god bruk av unge hingster.

En redusert seleksjonsintensitet hos unge hingster vil være positivt for den genetiske variasjonen innen fjordhestpopulasjonen. Seleksjonsintensiteten er høy på grunn av at relativt få hingster møter til kåring, og mange hesteeiere kastrerer tidlig eller kvier seg kanskje for å dra til kåring. Dersom mange av hingstene som blir kåret i hver årgang er etter samme far vil ikke de kunne bidra til økt genetisk framgang. Å oppfordre til å bruke hingster med sjelden og lite brukte stammer kan føre til å øke genetisk variasjon ved å få fram ubrukt genetisk materiale.

Tabell 8 viser resultatene fra regresjonsanalysen på fødselsår av N=4389 hester brukt i metode 2. Det er lave p-verdier som gir grunn til å tro at metoden som er brukt er signifikant, og 46,11 % av variasjonen i punktene i modellen beskrives av R^2 .

Figur 3 viser regresjonsplottet for metode 2, og det viser en jevn fordeling av punktene langs regresjonslinjen, men med noen avvik utenfor konfidenslinjen. En horisontal linje på nullpunktet viser de individene uten slektskapsinformasjon, og den er tykkest på midten som viser 1950 tallet, og blir mindre helt til høyre som er slektskapsinformasjonen for hestene født etter 2000.

Resultatene fra beregninger av innavlsrate og effektiv populasjonsstørrelse via de to metodene vist i Tabell 9 er varierende. ΔF beregnes ut fra gjennomsnittlig innavlskoeffisient på mor og far, delt på antall heterozygoter (1-F) i metode 1, og gir $\Delta F = 0,41$ %. Denne metoden har stor tilhørende standardfeil på 45,5 på grunn av et lavere antall dyr (N=823) som vil ha innvirkning grunnet usikkerheter. Denne metoden gir et prospektivt syn på beregningene da den beregner med de siste 5 generasjonene i populasjonen, og dermed viser hvordan situasjonen er i dagens populasjon

Regresjonsanalysen gjort i metode 2 gir innavlsrate på 0,58 % med tilhørende standardfeil til β (fødselsåret) i regresjonen og gir $SE = 0,00001080$. Det er derimot ikke like høy usikkerhet knyttet til beregningene, som gir minimums- og maksimumsverdier for N_e med mindre variasjon. Log- regresjon benytter seg av referansepopulasjon inkludert aner og gir et gjennomsnitt over flere år basert på flere observasjoner. I og med at denne metoden benytter seg av slektskapet til dyrene i referansepopulasjonen, og dermed kun dyr som har gått i avl, vil det være store huller i populasjonen bakover som burde vært med i beregningene. Dette kan gi en overestimering av den effektive populasjonsstørrelsen på grunn av at regresjonslinjen dras opp som kan gi lavere ΔF enn hva som faktisk er reelt. På denne måten vil den ikke fange opp plutselige observasjoner i de prospektive seleksjonsavgjørelsene da

den beregner parametere kun for dyr i en gitt referansepopulasjon. Log-regresjon basert på fødselsår er likevel en god metode å bruke fordi usikkerhetene er betydelig redusert (Storhaug 2017). Disse beregningene gir grunn til å tro at dagens fjordhestpopulasjon ligger akkurat på grensen til å overskride anbefalingene på 0,5-1 % per generasjon (FAO 1998).

Beregning av N_e via regresjon på fødselsår i metode 2 gir lavere effektiv populasjonsstørrelse enn metode 1. Metode 1 gir en effektiv populasjonsstørrelse på 121, med maksimums- og minimumsverdier på henholdsvis 166 og 75. Det gir et stort spenn grunnet høy standardfeil på 45,5, og en N_e som legger seg lavere enn log-regresjonen som ga $N_e=85$. Effektiv populasjonsstørrelse beregnet ut fra metode 2 har ikke så stor variasjon mellom $N_{e \text{ min}}$ og $N_{e \text{ max}}$, og ligger på henholdsvis 84 og 87. Kombinasjonen av de to metodene brukt i denne oppgaven gir en pekepinn på hvilken vei effektiv populasjonsstørrelse svinger.

I denne oppgaven viser det at beregninger på innavl ved hjelp av stamtavleinformasjon er pålitelig så lenge kvaliteten på stamtavlen er god. Beregninger gjort ved et prosjekt ved NMBU (Olsen et. al 2017) viser at beregnede innavlskoeffisienter ved DNA (F_{hom}) legger seg rundt effektiv populasjonsstørrelse basert på bruk av log-regresjon av fødselsår (Olsen et al. 2017). Effektiv populasjonsstørrelse beregnet med DNA-analyse av de norske fjordhestene gir $N_e = 82$, med standardfeilen ($SE=0,000293$) som gir minimum- og maksimumsverdi for N_e på 57 og 143. N_e basert på F_{hom} gir derfor verdier som passer til både Metode 1 og Metode 2. På bakgrunn av disse resultatene vil beregninger av effektiv populasjonsstørrelse via begge metodene i kombinasjon være mest pålitelige. De retrospektive seleksjonsavgjørelsene over gjennomsnittlig F over tid vises i metode 2, og dagens seleksjonsavgjørelser gjenspeiler seg i metode 1.

Johnsen og Seilen (2009) foreslår at grunnen til at innavlsrate har vært relativt stabil de siste årene er på grunn av migrasjon og bruk av unge hingster siden det er et effektivt tiltak mot innavl (Falconer & Mackay 1996). De beregnet en effektiv populasjonsstørrelse (N_e) på 107, noe som er litt lavere enn beregningene i denne oppgaven, som ga effektiv populasjonsstørrelse på 121 i metode 1, og 85 på metode 2. De to metodene holder seg over en ønsket effektiv populasjonsstørrelse på 50 fra FAO (1998), men ved bruk av regresjon på fødselsår legger den seg lavere enn ønsket på 100 som Olsen et. al (2010) anbefalte. Innavlraten beregnet i denne oppgaven på 0,41 % er litt lavere enn den Johnsen og Seilen fant i 2009 som var på 0,46 %. Innavlsparemetere ligger i dag i grenseland, men det kan se

ut som de er på tur opp siden 2009. Antall fødte føll pr år er mest kritisk, men den gode bedekningssesongen i 2016 kan gi grunn til å tro at det fødes flere føll i 2017 enn i 2016.

Forvaltning av rasen krever kunnskap om slektskap mellom hester, og hvordan dette skal brukes særlig med tanke på de langsiktige avlsstrategiene og avlsplanene. For å få en overordnet plan for rasens fremtid trengs det gode verktøy for å beregne slektskap, og gode seleksjonsverktøy for å bevare det genetiske mangfoldet i fjordhestpopulasjonen. Avlsmål krever at det tas hensyn til hvordan fjordhesten blir brukt i fremtiden.

Det er i dag et sterkt behov for en internasjonal stambok. Registreringssystemet i dag krever kun 5 godkjente reinavlede generasjoner for å få en hest inn i A-registeret. Skal stambøkene slås sammen er en avhengig av å finne et felles registreringssystem, og et felles system for stamboknummer. Dette er en ressurskrevende jobb. Registreringssystemet i dag tar ikke hensyn til stamtavlens dybde, derfor vil beregninger av slektskap ved bruk av F_{hom} kunne si noe om slektskapet mellom populasjonene som vil kunne bli slått sammen. For at det skal kunne legges til rette for et langsiktig avlsarbeid må informasjon om slektskapsstrukturen være god.

Det internasjonale Islandshestforbundet har gjennom den islandske regjeringen opprettet en internasjonal database med opplysninger om avstamming, avlsverdier, bedømmelser og eierforhold med mer for over 400 000 islandshester. Dette var opprinnelig ment for en registrering av hestemengden på Island, men etter hvert fikk alle FEIF's (International Federation of Icelandic Horse Associations) medlemmer tilgang til å registrere hester der (WorldFengur 2017). Felles for alle registrerte hester i WorldFengur er at de alle er registrert med hvert sitt unike ID-nummer. Ved å skape en slik internasjonal database for alle fjordhester ville de små populasjonene kunne blitt samlet som en stor populasjon, med overordnede avlsplaner, avlsmål og felles identitetsnummer på alle hestene. DNA-profiler for hver hest ville gitt nyttig informasjon om slektskap i fjordhestpopulasjonene mellom de ulike landene. Med den nedgangen som har vært sett i bedekningstall og den gradvis økende innavlen er det ønskelig å kunne bringe inn nytt genetisk materiale i avlen. Import av hester vil kunne bidra til å redusere innavlsøkningen, men om importen skal ha effekt må det vektlegges å importere dyr som er minst mulig i slekt med den norske populasjonen. Med en internasjonal database over fjordhester vil slektskapet lettere kunne beregnes og dermed vektlegges ved innhenting av nytt genetisk materiale. Avkom av importerte hester kan avvike fra avlsmålet om framgang på bakgrunn av at egenskaper blir vektlagt forskjellig i ulike land.

Positive bidrag til genetisk variasjon i populasjonen samt slektskap bør uansett vektlegges ved vurdering av avlsgodkjenning av utenlandske dyr til norsk avl. Begrensninger med kvoter for antall hopper per hingst kan bidra til å hente inn nytt genetisk materiale uten at hingsten skal kunne få for stor innflytelse i avlen. Import av sæddoser fra utlandet er også en mulighet for å importere nytt genetisk materiale, og så lenge hingsten er kåret i hjemlandet sitt vil avkommet bli registrert i A-registeret (Norsk Hestesenter 2015).

Etter hingstekåringen i 2016 ble tre av de nykårede hingstene eksportert til utlandet (pers. Med). Dette kan potensielt være et tap av genetisk materiale som kunne vært brukt i den norske avlen. Om hingstene er nært beslektet flere av de andre avlsdyrene i Norge kan det å eksportere norske gener til utlandet være hensiktsmessig for å spre den norske avlen ut av Norges grenser.

4.2 Fargegenetikk

Fjordhesten kjennetegnes av sine særegne farger, og en økt interesse for fargene kan potensielt være til nytte. Avlsplanen skal bidra til å bevare de opprinnelige og godkjente fargene på fjordhesten i tillegg til de primitive avtegna avhengig av nyansene i pigmenteringen i pelsen (Norsk Hestesenter 2015).

Ved hjelp av de 18 genotypene for fjordhest sett i Tabell 1 kan man regne seg til hvilke fargekombinasjoner som vil gi de forskjellige fargene på et avkom basert på fenotype. For å vite hva slags genotype en hest har for farge så kan man studere hesten selv, eller se på stamtavla og slektingenes fenotyper. Ved å se på avkom kan man få sett hva slags gener hesten kan være bærer av. Det er noen enkle «grunnregler» i fargeavl. Røde hester som pares med hverandre gir alltid røde avkom. Om en rød-blakk fjording pares med en gul-blakk fjording, vil avkommet enten bli rød-blakk eller gul-blakk. Uls-blakke, gul-blakke eller grå-blakke med bærer av creme (**Cr**) har alltid en risiko for å gi homozygot CrCr, og gi blåøyd- hvite avkom. Ved genotypetesting vil man kunne med sikkerhet vite hvilke genotyper den enkelte hest har.

En genotypetest på fargegenetikk basert på analyse av ulike gener kunne vært interessant å kunne tilby her i Norge. Markedet virker å være interessert i ulike pigmenteringer på hestene, og det tilbys slike tester både i USA og Storbritannia (Animal Genetics 2017; UC Davis 2017). En test for ASIP A/a, MC1-R E/e og SLC45A/ MATP – C/Cr gir informasjon om grunnfargene i tillegg til uttynningsfaktorene.

Det er den brunblakke fargen som de fleste forbinder med rasen, men en liten andel av populasjonen har også andre, mer sjeldne blakk-farger, slik som for eksempel gulblakk med en andel av 0,44 % i populasjonen (Tabell 2). Ved å se på tabellen med oversikt over de ulike fargeandelene kan en si noe om fordelingen av de ulike fenotypene i populasjonen. Selv om man avler for å bevare farger med lav frekvens, må man unngå at favorisering av farger kan føre til paring av dyr som er nært beslektet. Avl for å bevare farger kan føre til subpopulasjoner med nært beslektede dyr, som vil bidra til å redusere effektiv populasjonsstørrelse. En kartlegging av genotyper vil gi store muligheter til å velge avlsdyr som er mindre beslektet i arbeidet med å bevare fargevariantene med lav frekvens.

Det er ikke utarbeidet noe register på avtegn hos fjordhesten i Norge. Avtegn registreres kun under utstilling og hester som ikke har vært på utstilling har derfor ikke informasjon dette i stamboka på nett. Hester i datamaterialet uten fargeinformasjon ble hentet ut ved hjelp fra Norsk Hestesenter sine registreringer som gjøres i forbindelse ved utstedelse av pass. Avtegn og farge kan være vanskelig å registrere på føll. Det kan være en del feilregistreringer som følge av at det er vanskelig å se forskjell på farger ved fødsel, samt uvitenhet om farger hos registrerende eier og veterinær. Det har også vært vanlig tidligere å avlive eller ikke registrere hester med uønskede farger som blåøyd- hvit eller med avtegn. Avtegn på hodet og hvite markeringer på beina krever mer forskning (Bellone 2010), særlig på grunn av at det er mange gener og underliggende effekter som styrer forekomsten av disse markeringene.

I beregningene gjort i denne oppgaven ble det funnet en hest som var registrert som rødblakk, men analysene påviste at den skulle vært registrert som brunblakk. Både Reissmann et al. (2016) og Mariat et al. (2013) konkluderer med at det lett kan oppstå problemer ved registrering av hester med spesielt fortynnende og hvite eller grå fenotyper når det kun er fenotype som er kjent, og det ikke ligger til grunn for noe genotypetest. Derfor kan det være vanskelig å fastslå fenotype uten en genotyping (Mariat et al. 2003; Reissmann et al. 2016). Hos hester er det såpass mange gener som lager forskjellige nyanser og alleler som virker inn og maskerer effekten av andre alleler, som for eksempel cremegenet. Forskning gjøres og det kartlegges fler og fler molekylære verktøy for å beskrive pigmenteringen hos hester (Mariat et al. 2003). Selv om fjordhestpopulasjonen ikke er stor, vil det være interessant å se på de ulike frekvensene av ulike fargealleler da dette ikke kommer fram av fenotypene.

Gjennom analysene av farger har noen av genene som gir de ulike fargene hos fjordhesten blitt kartlagt, men det er mange underliggende gener som påvirker fenotypen hos et individ.

Tabell 5 gir oversikt over hvilke fenotyper som ble analysert for. Under analysene av de forskjellige fenotypene kommer det fram noen QTLer som er mer tydelige enn andre, og høyden på manhattan-plottet korresponderer med styrken på assosiasjonen til fenotypen. Det er et høyt antall SNPer som analyseres, og sannsynligheten for at det dukker opp SNPer som ikke har betydning er stor. Disse kan være støy som krever dypere undersøkelse, og det er derfor valgt å gå etter markører med tydeligst funn. En GWAS-analyse krever gode data, og for å finne små effekter i en populasjon kreves det et stort antall prøver. Analysene gjort for fargene på fjordhest ga klare resultater, som stemmer med godt dokumenterte resultater fra lignende analyser hos andre hesteraser. Slike tydelige resultater kommer lett til syne i enkle analyser som det har blitt gjort her, men for å undersøke de ulike allelfrekvensene mer nøye kreves nok et større datasett av god kvalitet med flere individer av de ulike fenotypene. Analysene gjort via GEMMA tar hensyn til slektskap mellom hestene i analysene, noe som kan gi utslag på plottene. Det er brukt QQ-plott for å sammenligne forventningen av SNPene med de aktuelle funnene, men også om det er noen utfordringer i populasjonen. Resultatene i manhattanplottene viser klare assosiasjoner med fenotypeverdiene, men QQ-plottene viser at resultatene er påvirket av populasjonens substruktur på grunn av at de observerte verdiene for SNPene avviker fra de forventede verdiene langs $X=Y$ linjen. Alle avvik fra denne linjen indikerer at det er treff mellom kontrollgruppen og case-gruppen. Et skarpt avvik som en slags hale på slutten av hvert plot representerer de sanne assosiasjonene blant tusenvis av uassosierte SNPer. Datamaterialet brukt i analysene viser en del falske positive, som betyr at individene deler allel på grunn av at de er nært beslektet. Basert ut på resultatene i QQ-plottene kan slektskapet mellom hester med de ulike fargene være interessant å undersøke videre, særlig med tanke på videre forvaltning av rasen. Analyser av hingstelinjer basert på farger kunne vært et nyttig verktøy for å se hvordan slektskapet innenfor de ulike fenotypene er.

Hos de gråblakke fjordhestene var det tydeligst funn på kromosom 22, med en tydelig ansamling av QTL i en klar topp (Figur 4). De andre ansamlingene av QTLer er ikke like tydelig, og har ikke like mange enkelt-SNPer, så de ble derfor ikke tatt med videre i diskusjonen. QTLene som er mindre tydelige trenger å undersøkes mer for å kunne si noe om de er av betydning for den aktuelle fenotypen. På kromosom 22 med genplassering rundt 25M funnet i Tabell 10, ligger ASIP-genet, som er sterkt koblet til agouti (A) (NCBI 2017). Agouti jobber sammen med extension, og gråblakke eller svarte hester er alltid recessiv (a) for agouti, noe som ikke gir begrensning, og det blir produsert svart pigment. Figur 5 over

observerte og forventede SNPer viser en stabil linje fram til observasjonene på p-verdiene nærmer seg 5, da vil halen spre seg utover og de ulike SNPene legger seg tydelig på en egen linje.

De mest signifikante p-verdiene for rødblakk viser en sterk assosiasjon for kromosom 3 (Figur 6), og på dette kromosomet på 36M (Tabell 11), ligger MC1-R som koder for extension. De rødblakke fjordhestene er recessive for extension, som gjør at det ikke produseres svart pigment, og de dermed blir røde med røde primitive avtegn. Figur 7 viser en linje som ligger på diagonalen før den gjør en stigning ved 3 og gjør et raskt hopp på signifikansene mellom 4 og 5 og SNPene legger seg som en egen hale oppover på slutten.

I analysene for de ulsblakke fenotypene ses det er veldig tydelig ansamling av SNPer på kromosom 21 (Figur 8). På genplassering rundt 30M funnet i Tabell 12 ligger MATP/SLC45A, som er genet for creme. Alle de ulsblakke hestene har cremegenet, så derfor vil det synes en såpass sterk topp her. Figur 9 gir en stabil linje opp mot 3, før linjen drar av og skaper et hopp rett opp rett før 5 og det lages en hale med de mest tydelige SNPene.

Beregningene for de gulblakke fenotypene ga flere signifikante topper på manhattan-plottet, noe som kan ses på som mistenkelig (Figur 10). Dette skyldes nok et veldig lite utvalg antall gule individer (N=2) i fenotypeanalysene. SNPene som viser signifikans kan være feilkilder, men også eventuelle funn som må undersøkes nærmere, men da trengs det et større utvalg av individer med riktig fenotype. Det skulle være riktig å tro at ved å analysere flere gulblakke hester så kunne det samle seg en topp av SNP på kromosom 21, som i likhet med de ulsblakke fenotypene gir cremefarge, men det må kjøres en analyse på fenotypen for å fastslå det sikkert. QQ plottet for de gulblakke analysene viser i Figur 11 en stabil linje fram til 2 før den stiger raskt og utvikler seg i en hale med signifikante SNPer på slutten. Dette plottet viser som manhattan-plottet mange SNPer med signifikans og er heller ikke til å stole på når det gjelder signifikante assosiasjoner for gulblakke hester.

I analysene for avtegn kommer det fram en topp med SNP på kromosom 23 (Figur 12), og i Tabell 14 sees det at de mest signifikante p-verdiene ligger på en genposisjon rundt 27-29 millioner. På kromosom 23 ligger ikke de mest kjente genene for avtegn, KIT eller MITF. Det ligger derimot et annet gen, TYRP1 (tyrosinase- protein 1) som er knyttet til hvit pigmentering (Kobayashi et al. 1998). Et annet gen som kan være av interesse å undersøke mer er MLANA (melan-a), et gen som knyttes til MITF, som tidligere er koblet til hvite markeringer hos hest (Du et al. 2003). Funnet gjort på avtegn må undersøkes mer siden det

ikke er like klare sammenhenger mellom resultat og gener som det er i de andre fenotypeanalysene. Figur 13 viser en jevn stigning langs diagonalen før den gir en hale med sterk signifikans på slutten. Avviket fra $X=Y$ linjen er ikke like tydelig hos hester med avtegn som i de andre QQ-plottene. Dette kan nok skyldes at kvaliteten på datamaterialet ikke er like godt. Fenotyper for avtegn ble hentet inn manuelt ved å spørre hver enkelt hesteeier, men det er en del utfordringer knyttet til å skaffe informasjon om egenskaper som ikke er godkjent i avlsplanen.

Ved å se på nedarving av farge kan man også prøve å holde seg vekke fra en rekke sykdommer som kan følge med enkelte farger og mutasjoner (Reissmann et al. 2016; Rieder 2009). Pigmentering styres av mutasjoner, og noen av disse kan i tillegg påvirke celler i andre funksjoner i kroppen. Slike mutasjoner påvirker neurologiske defekter (lethal white syndrome og lavender foal syndrome), hørselsfeil, øyesykdommer (nattblindhet og andre øyelidelser) og horse-specific melanoma (Bellone 2010). Det er ikke kjent at det har oppstått slike lidelser i forbindelse med farger hos fjordhesten.

I en felles database for fjordhest kunne DNA-profiler legges inn i stamboka med informasjon om hvilke genfrekvenser de har for de forskjellige fargene. Slik kunne avlere og brukere få en oversikt over hvilke genotyper de kan forvente å få i et potensielt avkom. Ved også å ha informasjon om individenes slektskap, eksteriør og bruksegenskaper i tillegg til farge kunne en potensielt avlet gode avlsdyr med sjeldne farger. De sjeldne fargene har vist seg å være populære hos kjøpere, og interessen for de unike fargene hos fjordhesten kan potensielt være med å øke bedekningstallene. I dag er brunblakk den vanligste fargen, og det er relativt få hester med gulblakk farge, så en må passe på også bevare det genetiske fargespekteret hos rasen, på bakgrunn av at slektskapet ikke er stort mellom hester som pares.

7. Konklusjon

Resultatene i denne oppgaven viser at beregninger for innavl bør gjøres med en kombinasjon av de to metodene som ble brukt. Fjordhesten har et genetisk grunnlag for å holde innavlsnivået stabilt på bakgrunn av beregninger av effektiv populasjonsstørrelse og endring i innavl per år, men at det er utfordringer knyttet til det lave antallet fødte føll per år. Den effektive populasjonsstørrelsen må økes for å opprettholde en bærekraftig populasjon gjennom å øke antall bedekninger og antall fødte føll. Dette krever sterk markedsføring, kvalitetssikring av hester, gode priser på hestene, variasjon i fargespekteret, aktive

avlsrekrutterende avlslag, og avlsmål som imøtekommer markedet. Gode verktøy for beregning av slektskap mellom hester som skal pares er viktig, samt opplysninger og kunnskap om hvilke hopper som passer til hvilke hingster. For å øke effektiv populasjonsstørrelse kreves det også en jevn fordeling av hopper per hingst. Sterk seleksjon på hanndyrsiden og store avkomsgrupper fordelt på få hingster vil kunne redusere effektiv populasjonsstørrelse i en populasjon på grunn av at dyrene er for mye i slekt. Gjennom import av hester til bruk i avl kan den genetiske variasjonen økes og dermed redusere innavlsraten, sett at slektskapet mellom importene og den norske populasjonen er liten.

For å få en bedre oversikt over slektskap mellom fjordhestpopulasjonene bør en internasjonal stambok etableres med registrering av alle individer. Slektskapet mellom individer bør beregnes basert på DNA, og ikke bare ved å se på stamtavle som krever at slektskapsinformasjonen er av god dybde og kvalitet.

Fargespekteret hos fjordhesten må bevares, og det bør avles på alle de godkjente fargene. Det må passes på at det avles fra forskjellige hingste- og hoppelinjer, da faren for å pare individer som er nært beslektet er stor om det kun sees på fargene i en liten populasjon som hos fjordhesten.

8. Referanseliste

- Andersson, L. (2003). Melanocortin receptor variants with phenotypic effects in horse, pig, and chicken. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 994 (1): 313-318.
- Animal Genetics. (2017). *Animal Genetics, equine testing*. <http://www.animalgenetics.us/>.
- Begum, F., Ghosh, D., Tseng, G. C. & Feingold, E. (2012). Comprehensive literature review and statistical considerations for GWAS meta-analysis. *Nucleic acids research*: gkr1255.
- Bellone, R. (2010). Pleiotropic effects of pigmentation genes in horses. *Animal genetics*, 41 (s2): 100-110.
- Boichard, D., Maignel, L. & Verrier, E. (1997). The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genetics Selection Evolution*, 29 (1): 5-23.
- Bourdon, R. M. (1997). *Understanding Animal Breeding*, b. 2: Pearson
- Castle, W. (1954). Coat color inheritance in horses and in other mammals. *Genetics*, 39 (1): 35.
- Cervantes, I., Goyache, F., Molina, A., Valera, M. & Gutiérrez, J. (2008). Application of individual increase in inbreeding to estimate realized effective sizes from real pedigrees. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 125 (5): 301-310.
- Cone, R. D., Lu, D., Koppula, S., Vage, D. I., Klungland, H., Boston, B., Chen, W., Orth, D. N., Pouton, C. & Kesterson, R. A. (1995). The melanocortin receptors: agonists, antagonists, and the hormonal control of pigmentation. *Recent progress in hormone research*, 51: 287-317; discussion 318.

- Dahle, H. K., Nybråten, H., Gramstad, A. & Sårheim, I. (2004). *Fjordhest - en brukshåndbok*: Landbruksforlaget.
- Dahle, H. K. (2009). *Hesten i vår tid*: Tun Forlag.
- Du, J., Miller, A. J., Widlund, H. R., Horstmann, M. A., Ramaswamy, S. & Fisher, D. E. (2003). MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 Are Transcriptionally Regulated by MITF in Melanocytes and Melanoma. *The American Journal of Pathology*, 163 (1): 333-343.
- Falconer, D. S. & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*, b. 4: Pearson
- FAO. (1998). Management of small populations at risk. *Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans*.
- FHI. (2017). *Fjordhorse International*. <http://www.fjordhorseinternational.org/FjHI/> (lest 1.5.2017).
- Flyum, M. H. (2017). Årsmelding Fokus Unghest. *Fjordhesten nr. 1, 2017*.
- Fokus Unghest. (2017). <http://unghest.no/> (lest 9.4.2017).
- Furre, S. (2016). Status for de nasjonale hestrasene høsten 2016. *Norsk Hestesenter*.
- Furre, S. (2017). *Informasjon om hester i stamboka, pers med*. Norsk Hestesenter.
- Gutiérrez, J. P., Cervantes, I., Molina, A., Valera, M. & Goyache, F. (2008). Individual increase in inbreeding allows estimating effective sizes from pedigrees. *Genet. Sel. Evol*, 40: 359-378.
- Haase, B., Brooks, S., Tozaki, T., Burger, D., Poncet, P. A., Rieder, S., Hasegawa, T., Penedo, C. & Leeb, T. (2009). Seven novel KIT mutations in horses with white coat colour phenotypes. *Animal genetics*, 40 (5): 623-629.
- Hauswirth, R., Haase, B., Blatter, M., Brooks, S. A., Burger, D., Drögemüller, C., Gerber, V., Henke, D., Janda, J. & Jude, R. (2012). Mutations in MITF and PAX3 cause “splashed white” and other white spotting phenotypes in horses. *PLoS Genet*, 8 (4): e1002653.
- Hearing, V. J. & Tsukamoto, K. (1991). Enzymatic control of pigmentation in mammals. *The FASEB Journal*, 5 (14): 2902-2909.
- Henderson, C. R. (1976). A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values. *Biometrics*: 69-83.
- Imsland, F., McGowan, K., Rubin, C.-J., Henegar, C., Sundström, E., Berglund, J., Schwochow, D., Gustafson, U., Imsland, P. & Lindblad-Toh, K. (2016). Regulatory mutations in TBX3 disrupt asymmetric hair pigmentation that underlies Dun camouflage color in horses. *Nature genetics*, 48 (2): 152-158.
- Johnsen, J. & Seilen, J. (2009). Genetisk variasjon hjå fjordhest. *Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for Husdyr- og akvakultur*.
- King, R. A. & Summers, C. (1988). Albinism. *Dermatologic clinics*, 6 (2): 217-228.
- Klemetsdal, G. & Johnson, M. (1989). Effect of inbreeding on fertility in Norwegian trotter. *Livestock Production Science*, 21 (3): 263-272.
- Klemetsdal, G. (1999). Stochastic simulation of sire selection strategies in North-Swedish and Norwegian cold-blooded trotters. *Livestock Production Science*, 57 (3): 219-229.
- Klungland, H. & Våge, D. I. (1997). Extension og agouti. Sentrale gener for pigmentering hos pattedyr. *NSB- nytt*, 2.
- Kobayashi, T., Imokawa, G., Bennett, D. C. & Hearing, V. J. (1998). Tyrosinase stabilization by Tyrp1 (the brown locus protein). *Journal of Biological Chemistry*, 273 (48): 31801-31805.
- LMD. (2016). Evaluering av dagens bevaringsarbeid for de tre nasjonale hesterasene dølahest, fjordhest og nordlandshest/lyngshest og forslag til tiltak. *Landbruksdepartementet*.
- Lovdata. (1999). *Forskrift om godkjente (reinavla/ registrerte) dyr av hestefamilien*. <https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/1999-01-13-67> (lest 27.03.2017).

- Ludwig, A., Pruvost, M., Reissmann, M., Benecke, N., Brockmann, G. A., Castaños, P., Cieslak, M., Lippold, S., Llorente, L. & Malaspinas, A.-S. (2009). Coat color variation at the beginning of horse domestication. *Science*, 324 (5926): 485-485.
- Mariat, D., Taourit, S. & Guérin, G. (2003). A mutation in the MATP gene causes the cream coat colour in the horse. *Genetics Selection Evolution*, 35 (1): 119.
- NCBI. (2017). *Gene*. I: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/> (red.).
- Norges Fjordhestlag. (2017a). *Hingstekatalogen*. <http://fjordhest.net/blogg/hingster/>.
- Norges Fjordhestlag. (2017b). <http://fjordhest.net/blogg/norges-fjordhestlag/> (lest 23.03.2017).
- Norges Fjordhestlag. (2017c). *NM historien*. <http://fjordhest.net/blogg/nm-og-nordisk/> (lest 1.5.2017).
- Norges Rytterforbund. (2017). *HorsePro Statistikk*: Marianne Brangstrup.
- Norsk Hestesenter. (2012). Handlingsplan for nasjonale hesteraser 2011-2020.
- Norsk Hestesenter. (2015). Avlsplan for fjordhest.
- Norsk Hestesenter. (2017a). Bedekningslister
- Norsk Hestesenter. (2017b). <http://www.nhest.no/Andre-elementer/Sok-etter-hestkusklop/?modus=2>.
- Norsk Hestesenter. (2017c). *Nettside for innmelding av bedekning*
- Olsen, H. & Klemetsdal, G. (2010). Management to ensure effective population size in a breeding programme for the small Norwegian horse breeds—a simulation study. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 60 (1): 60-63.
- Olsen, H., Klemetsdal, G., Ruane, J. & Helfjord, T. (2010). Pedigree structure and genetic variation in the two endangered Norwegian horse breeds: DØ le and Nordland/Lynge. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 60 (1): 13-22.
- Olsen, H. F., Dolvik, N. I. & Klemetsdal, G. (2017). Genetic variation determined from SNP markers in the Norwegian and the Swedish Fjordhorse. In manuscript.
- Pérez-Enciso, M. (1995). Use of the uncertain relationship matrix to compute effective population size. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 112 (1-6): 327-332.
- Quaas, R. (1976). Computing the diagonal elements and inverse of a large numerator relationship matrix. *Biometrics*: 949-953.
- Reissmann, M., Musa, L., Zakizadeh, S. & Ludwig, A. (2016). Distribution of coat-color-associated alleles in the domestic horse population and Przewalski's horse. *Journal of applied genetics*, 57 (4): 519-525.
- Rieder, S., Taourit, S., Mariat, D., Langlois, B. & Guérin, G. (2001). Mutations in the agouti (ASIP), the extension (MC1R), and the brown (TYRP1) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). *Mammalian genome*, 12 (6): 450-455.
- Rieder, S., Hagger, C., Obexer-Ruff, G., Leeb, T. & Poncet, P.-A. (2008). Genetic analysis of white facial and leg markings in the Swiss Franches-Montagnes Horse Breed. *Journal of heredity*, 99 (2): 130-136.
- Rieder, S. (2009). Molecular tests for coat colours in horses. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126 (6): 415-424.
- RStudio Team. (2017). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Sairanen, J., Nivola, K., Katila, T., Virtala, A.-M. & Ojala, M. (2009). Effects of inbreeding and other genetic components on equine fertility. *Animal*, 3 (12): 1662-1672.
- Samsonstuen, S. (2015). Effekt av innavl på prestasjonsegenskaper hos varmblodstraver i Norge. *Norges Miljø- og Biovitenskapelige Universitet, Institutt for Husdyr- og akvakultur*.
- SAS. (2016). *SAS/ CONNECTION 9.4 User guide* 4utg.

- Skog og landskap. (2014).
http://www.skogoglandskap.no/filearchive/tabell_september_2014_de_nasjonale_husdyrrasene_i_norge_inndelt_etter_grad_av_truethet.pdf (lest 23.03.2017).
- Storhaug, C. S. (2017). Metoder for beregning av innavl og effektiv populasjonsstørrelse basert på slektskapsinformasjon fra Norske varmlodstravere. *Norges Miljø- og Biotenskapelige Universitet, Institutt for Husdyr- og akvakultur*.
- Svenska Hästavelsförbundet. (2017). I: Blå Basen (red.). <http://www.blabasen.se/sh/SokHast>.
- UC Davis. (2017). *UC Davis Veterinary Medicine, Equine tests*.
<https://www.vgl.ucdavis.edu/services/horse.php>.
- Vangen, O. (2007). *Hesteboka*, b. 2. utgave: Tun Forlag. 224 s.
- Vik, J. & Farstad, M. (2012). Hest, hestehold och foring: status for hesteholdet i norge. *Norsk senter for bygdeforskning, Trondheim, Norway*.
- WorldFengur. (2017). <https://www.feif.org/Breeding/WorldFengur.aspx> (lest 09.05.2017).
- Zhou, X. & Stephens, M. (2012). *Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies*. *Nature Genetics*. 44: 821-824.



Norges miljø- og biovitenskapelig universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway