

FUGATO-plus Projekt GENOTRACK

*Hochdurchsatz-SNP-Typisierung für die genomische Selektion beim Rind,
Assoziationsstudien und populationsgenetische Analysen des Rindergenoms – Teilprojekt
Uni Kiel.*

*Genome tracking by utilizing high density SNP array technology for studies related to
genomic selection, genomic dynamics, population genomics, and whole genome association.*

**Schlussbericht des Institutes für Tierzucht und Tierhaltung
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel**

Förderkennzeichen 0315134A

Prof. Dr. Georg Thaller

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Institut für Tierzucht und Tierhaltung
Herrmann-Rodewald-Str. 6, D-24118 Kiel
Email: gthaller@tierzucht.uni-kiel.de
Tel.: +49 (0)431 880-7329
Fax: +49 (0)431 880-2588

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung, und Forschung unter dem Förderkennzeichen.0315134A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.



Inhaltsverzeichnis

1.	Kurzdarstellung.....	3
1.1.	Aufgabenstellung.....	3
1.2.	Voraussetzungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde	4
1.3.	Planung und Ablauf	4
1.4.	Wissenschaftlicher Kenntnisstand zu Beginn des Vorhabens.....	5
1.5.	Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	5
2.	Eingehende Darstellung	6
2.1.	Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse	6
2.1.1.	Akquirierung von Probenmaterial und Probenaufbereitung	6
2.1.2.	Genotypisierung	6
2.1.3.	Aufbau eines Datenbanksystems	7
2.1.4.	Weiterentwicklung von Verfahren der genomischen Selektion.....	7
2.1.4.1.	Methodische Aspekte der genomischen Zuchtwertschätzung	7
2.1.4.2.	Vergleichende Untersuchungen der Charakterisierung verwandtschaftlicher Beziehungen auf Basis von Pedigree- oder genomischen Informationen	10
2.1.4.3.	Schätzung genomischer Zuchtwerte auf Basis genotypisierter Bullenmütter	11
2.1.5.	Charakterisierung von SNP-Schätzwerten der Referenzstichprobe bei Deutschen Holsteins.....	14
2.1.6.	Assoziationsstudien und Kandidatengenanalysen.....	16
2.1.6.1.	Assoziationsstudien bei Bullen.....	17
2.1.6.2.	Assoziationsstudien bei Bullenmüttern	19
2.1.6.3.	Assoziationsstudien zur Detektion von Dominanzeffekten	20
2.1.6.4.	Analyse von Kandidatengen für verschiedene Merkmale	21
2.1.6.4.1.	Melkbarkeit.....	21
2.1.6.4.2.	Somatische Zellzahl.....	21
2.1.7.	QTL-Analysen an ausgewählten Chromosomen	22
2.1.8.	Weitere Arbeiten	23
2.2.	Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.....	23
2.3.	Darstellung des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans.....	23
2.4.	Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen.....	24
2.5.	Veröffentlichungen.....	25

1. Kurzdarstellung

1.1. Aufgabenstellung

Die Mehrzahl der züchterisch relevanten Merkmale in der Milchrinderzucht sind komplexe Merkmale, deren Ausprägung von einer Vielzahl an Genen beeinflusst wird. Quantitativ-genetische Methoden erlauben die Schätzung von Zuchtwerten auf der Grundlage von Leistungsprüfungsergebnissen und Abstammungsinformationen ohne Kenntnis der spezifischen Genwirkungen. Diese Zuchtwerte stellen klassischerweise die Grundlage der Selektion in der Rinderzucht dar. Erste Bestrebungen, merkmalsbeeinflussende Genwirkungen mit Hilfe von genetischen Markern zu beschreiben und diese Kenntnisse bei der Selektion zu berücksichtigen, führten zur so genannten markergestützten Selektion. Aufgrund der hohen Komplexität und der weitgehend quantitativ-genetischen Determination der anvisierten Merkmale sowie wegen des hohen Aufwands bezüglich der strukturellen Voraussetzungen konnte sich dieses Verfahren nicht stärker in der Praxis durchsetzen.

Im Jahre 2001 haben Meuwissen et al. in Erweiterung der Idee einen statistischen Ansatz vorgeschlagen, der durch die Verwendung genomweiter dichter Markersätze die Schätzung von Zuchtwerten für Selektionskandidaten ausschließlich auf der Basis genomischer Information erlaubt. Dafür wurde von der Arbeitsgruppe die jetzt landläufig genutzte Bezeichnung „Genomische Selektion“ geprägt. Beim Rind wurden entsprechende Markersätze mit der Entwicklung der ersten SNP-Chips, insbesondere des Illumina Bovine SNP50K BeadChip mit 54.001 SNPs verfügbar. Die ersten Studien waren erfolgsversprechend und basierten auf simulierten Daten, die kaum die gesamte Komplexität abbilden konnten. Es zeigte sich aber sehr schnell, dass mit dieser neuen Technologie ein neues Zeitalter in der Tierzucht begann. Ebenso wurde sehr schnell erkannt, dass sich eine Reihe grundlegender Fragestellungen zur ‚Genomischen Selektion‘ ergaben und die Grundlage für weitere innovative Ansätze zur Aufklärung der genetischen Architektur der Merkmalsausprägung sowie zur Beschreibung dynamischer Prozesse innerhalb Populationen auf der Ebene des Genoms geschaffen war.

Die Aufgabenstellung des hier dargestellten Teilprojektes beinhaltete die

- Koordination der in der Vorhabenbeschreibung skizzierten Arbeitsabläufe und Ressourcenplanung,
- die optimale Auswahl von Tieren und Kohorten für die Genotypisierungen, welche die Erfordernisse aller Projektpartner erfüllte,
- die Organisation, die Aufbereitung von Gewebematerial sowie die Extraktion der DNA mit definierten Qualitätskontrollen,

- die verantwortliche Koordination der Genotypisierungen einschließlich festgelegter Schnittstellen der Datenübergabe und Plausibilitätsprüfungen,
- die Etablierung einer geeigneten Datenbankstruktur für das Verbundprojekt,
- die methodische Entwicklung und Validierung von genomischen Zuchtwertschätzverfahren,
- Untersuchungen zur genetischen Architektur sowie zur Charakterisierung der genetischen Variation,
- die Durchführung von genomweiten Assoziationsstudien,
- Entwicklung von Konzepten zur Anwendung der genomischen Information in der Zuchtplanung.

1.2. Voraussetzungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde

Die Idee und das Konzept des Vorhabens entstanden in einer Zeit, in der das mögliche Potenzial sowie die notwendigen Voraussetzungen für eine erfolgreiche Genomische Selektion nur vage abgeschätzt werden konnten und bei der beteiligten Wirtschaft eine große Skepsis vorherrschte. Bis zu Projektbeginn wurden weltweit Untersuchungen zur Genomischen Selektion gestartet und es ergab sich binnen einer kurzen Zeitspanne eine in der Tierzucht nie dagewesene stürmische Entwicklung. Diese war gekennzeichnet durch eine Vielzahl innovativer methodischer Ansätze, eine stetig gestiegene Effizienz der SNP-Genotypisierung und der Erkenntnis, dass für eine erfolgreiche Umsetzung der Genomischen Selektion größere Referenzpopulationen erstellt werden müssen. Bereits in der ersten Projektphase zeichnete sich die unmittelbare Relevanz für die Zuchtpraxis ab und es wurden von den Verbänden weitere Typisierungen durchgeführt, die z.T. dem Projekt zur Verfügung gestellt wurden. Die aktuelle Bedeutung der Genomischen Selektion sowie die sich immer wieder neu abzeichnenden wissenschaftlichen Herausforderungen führten einerseits dazu, dass weit mehr wissenschaftliches Personal als in der Vorhabenbeschreibung eingeplant sich mit der Thematik beschäftigte und nationale sowie internationale Forschungskooperationen die Datengrundlage weiter verbesserten. Zudem war es möglich, die gewonnenen Erkenntnisse in assoziierten FUGATO-plus Projekten zu nutzen. Das Projekt hat die Dynamik im Bereich der Genomischen Selektion in Deutschland in Gang gesetzt und diese hat wiederum dazu geführt, dass die weit über den Arbeitsplan hinausgehenden Forschungstätigkeiten sowohl die Qualität als auch die Quantität betreffend in einer Übererfüllung der getroffenen Zielvereinbarung resultierten.

1.3. Planung und Ablauf

Das Vorhaben wurde im Rahmen des Gesamtverbunds FUGATO-plus GENOTRACK durchgeführt. Bei regelmäßigen Projekttreffen des Verbundes wurde jeweils der Stand aller Teilprojekte vorgestellt und diskutiert sowie das weitere Vorgehen abgestimmt. Es fand auch eine Vielzahl informativer Treffen einzelner Projektpartner bezüglich spezifischer Fragestellungen statt. Die Projektpartner

wurden vom Koordinator stets über den aktuellen Sachstand des Projekts, insbesondere über Gespräche mit dem Projektträger unterrichtet.

Die Arbeiten an der CAU Kiel wurden von folgenden Personen durchgeführt:

- Koordination des Verbundprojektes: Prof. Dr. Georg Thaller
- Tierausswahl und administrative Tätigkeiten: Dr. Sybille Gäde
- Koordination der Laborarbeiten und Probenakquise: Dr. Jens Tetens
- DNA-Aufbereitung: Anne Grigori (Technische Assistentin)
- Aufbau und Pflege eines Datenbanksystems: Dr. Susanne Karsten
- Methodenentwicklung, Statistik, Auswertung: Dr. David Habier, Dr. Dirk Hinrichs, Dr. Susanne Karsten, Dr. Jens Tetens, Prof. Dr. Georg Thaller

1.4. Wissenschaftlicher Kenntnisstand zu Beginn des Vorhabens

Die Untersuchungen knüpften an den im Antrag ausführlich dargelegten und in der wissenschaftlichen Fachliteratur frei zugänglichen Stand der Wissenschaft und Technik an. Es wurden keine bekannten Konstruktionen, Verfahren und Schutzrechte für die Durchführung des Vorhabens benutzt. Die verwendete Fachliteratur ist im beigefügten Literaturverzeichnis sowie in den beigefügten Publikationen angegeben. Es wurden die fachspezifisch ausgewiesenen Informations- und Dokumentationsdienste, z.B. PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>) verwendet.

1.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeiten erfolgten überwiegend in enger Zusammenarbeit mit den einzelnen Partnern innerhalb des Verbundprojektes. Im Weiteren wurde im Rahmen wissenschaftlicher Kooperationen mit folgenden Einrichtungen zusammengearbeitet:

- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierzucht: Dr. Kay-Uwe Götz, Dr. Reiner Emmerling, Dr. Christian Edel (Tierausswahl Fleckvieh, methodische Ansätze)
- Helmholtz Zentrum München, Dr. Peter Lichtner (Auswertung Genotypen)
- Iowa State University, Department of Animal Science: Prof. Dr. Jack Dekkers, Prof. Dr. Rohan Fernando (methodische Ansätze)

2. Eingehende Darstellung

2.1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

2.1.1. Akquirierung von Probenmaterial und Probenaufbereitung

Im Rahmen des gesamten Verbundprojektes wurde Probenmaterial informativer Tiergruppen aus verschiedenen Bereichen akquiriert. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der Zusammenstellung einer möglichst großen und informativen Kohorte der Rasse Holstein-Friesian (HF). Dies erfolgte unter Federführung der Arbeitsgruppe an der CAU Kiel. Neben ausgewählten Bullen wurden auch HF-Bullenmütter vom Versuchsbetrieb Karkendamm der CAU Kiel in die Stichprobe aufgenommen. Zu Beginn des Projektes wurde eine initiale Stichprobe von etwa 2500 Bullen und 500 Bullenmüttern akquiriert. Eine detaillierte Darstellung dazu findet sich im Zwischenbericht für das Jahr 2008. In späteren Projektphasen wurde diese Stichprobe jedoch noch deutlich erweitert. Zusätzlich zu den HF-Tieren wurden Proben von unterschiedlichen Rinderrassen unter der Federführung der GAU Göttingen und der HU Berlin beschafft. Eine weitere Tiergruppe innerhalb des Verbundprojektes stellte das Fleckvieh dar, das vollständig an der Technischen Universität München akquiriert wurde. Dort wurden auch die entsprechenden Proben aufbereitet. Die Aufbereitung der übrigen Proben erfolgte bis auf einige Ausnahmen an der CAU Kiel. Dabei kam ein modifiziertes Miller-Protokoll mit zusätzlicher dTTBehandlung für Spermaproben zum Einsatz, das speziell für das vorliegende Projekt adaptiert wurde. Die Ausbeute und Qualität der aufgereinigten DNA ist als sehr gut zu bezeichnen. Über alle Probenarten hinweg wurde eine durchschnittliche Gesamtausbeute von deutlich > 20µg erzielt, was bei den teilweise sehr kleinen Ausgangsmengen als stark überdurchschnittlich zu bezeichnen ist. Auch die Qualitätsparameter (OD-Quotient, Fragmentierungsgrad) entsprachen vollumfänglich den geforderten Qualitätsstandards, so dass nur ca. 3% der DNA-Präparationen als zur Genotypisierung mit dem bovinen 50k SNP Chip der Fa. Illumina ungeeignet einzustufen sind.

2.1.2. Genotypisierung

Die Genotypisierung der Proben mit Illumina Bead-Chips erfolgte am Helmholtz-Zentrum München (Prof. Meitinger). Von der Arbeitsgruppe in Kiel wurden insgesamt 2.065 Chip-Genotypisierungen durchgeführt, wobei die Aufbereitung der Proben bzw. die Koordination der Genotypisierung für die Partner Göttingen (783 Typisierungen) und Berlin (1232 Typisierungen) ebenfalls in Kiel durchgeführt wurde. Die Anzahl der tatsächlich verfügbaren Genotypen liegt auf Grund der Mitführung von Standards etwas darunter. Einzelheiten sind in den jeweiligen Zwischenberichten dargestellt.

2.1.3. Aufbau eines Datenbanksystems

Es wurde eine Genomdatenbank erstellt, in der alle für den Projektablauf relevanten Informationen (Tiere, Verfügbarkeit Material, Qualitäten) sowie für die Bearbeitung der Teilprojekte notwendigen Daten (Abstammungsangaben, Phänotypen und Genotypen) gespeichert werden. Es wurden Programme entwickelt, die ein effizientes Auslesen der Daten ermöglichen. Je nach Fragestellung werden die Daten individuell zusammengestellt und in verschiedenen Formaten exportiert. Somit entfällt das zeitaufwändige Kombinieren vieler verschiedener Dateien bei der Datenaufbereitung und die zu verarbeitende Datenmenge wird reduziert, da nur die aktuell benötigten Informationen ausgelesen werden. Hierdurch kann erhebliche Rechnerkapazität eingespart werden.

2.1.4. Weiterentwicklung von Verfahren der genomischen Selektion

2.1.4.1. Methodische Aspekte der genomischen Zuchtwertschätzung

Es wurden basierend auf dem Stand der Technik zu Projektbeginn verschiedene Aspekte der genomischen Selektion spezifisch untersucht, die wesentlich zur Weiterentwicklung des Verfahrens beitrugen. Dazu wurden anfangs sowohl Simulationsstudien als auch die im Laufe des Projekts generierten Genotypen verwendet. Zu Beginn wurde beruhend auf einer bereits laufenden Arbeit am Institut gezeigt (Habier et al., 2008), (1) dass sich die Methoden für die simulierte Datenstruktur und die angenommenen genetischen Hintergründe hinsichtlich der Genauigkeit der Zuchtwertschätzung unterscheiden und (2) die Genauigkeit der genomischen Zuchtwerte sich stetig verringert, wenn sich die zu schätzende Population gemessen in Generationen von der Lernstichprobe entfernt. Dieser Sachverhalt ist in der folgenden Abbildung festgehalten.

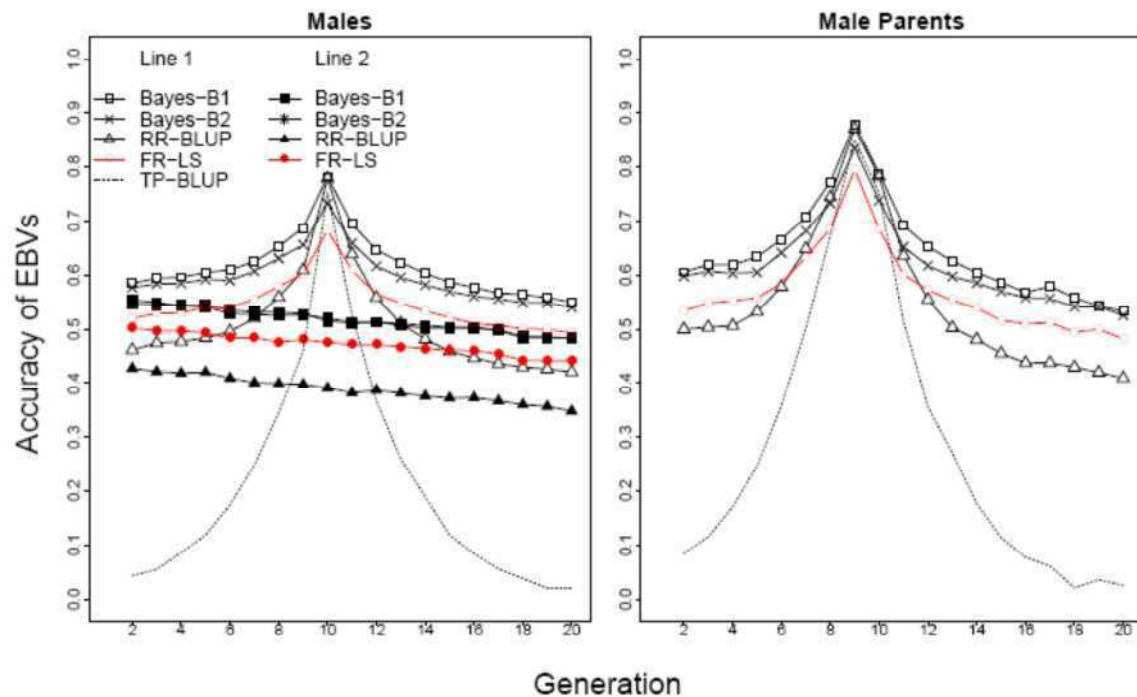


Abb. 1 Entwicklung der Genauigkeit der genomischen Zuchtwerte über Generationen in Abhängigkeit der verwendeten Verfahren (Bayesverfahren B1 und B2; RR-BLUP – BLUP mit genomischer Verwandtschaftsmatrix; FR-LS – Regressionsansatz Least Squares; TP-BLUP konventionelles BLUP-Modell. Die Schätzung der SNP-Effekte erfolgte mit Tieren aus der Generation 10 aus der Linie 1, die Linie 2 wurde ab der Generation 0 unabhängig von Linie 1 gezüchtet. In diesen Studien konnte auch gezeigt werden, dass die genomische Selektion sich nicht allein auf das Kopplungsungleichgewicht gründet sondern die SNP-Marker auch einen Teil der verwandtschaftlichen Beziehungen abbilden können.

Dieser Befund wurde im Rahmen des Projekts weiter intensiv untersucht und publiziert (Habier et al., 2010). Mit Hilfe eines komplexen Algorithmus wurden wiederholt aus allen genotypisierten Bullen Tiere als Validierungsgruppe extrahiert, die mit den übrigen Tieren, welche dann die jeweilige Lernstichprobe bildeten, nur mit einem maximal erlaubten Verwandtschaftsgrad verwandt waren. Die Schwierigkeit bestand darin, dass die Holsteinpopulation in sich bereits in einem hohen Maße verwandt ist und sich für eine maximal zulässige Verwandtschaft von 12,5% kaum noch Tiere fanden. Die durchschnittliche und maximale Verwandtschaft der Tiergruppen mit einem zulässigen Verwandtschaftsgrad ist im Folgenden dargestellt.

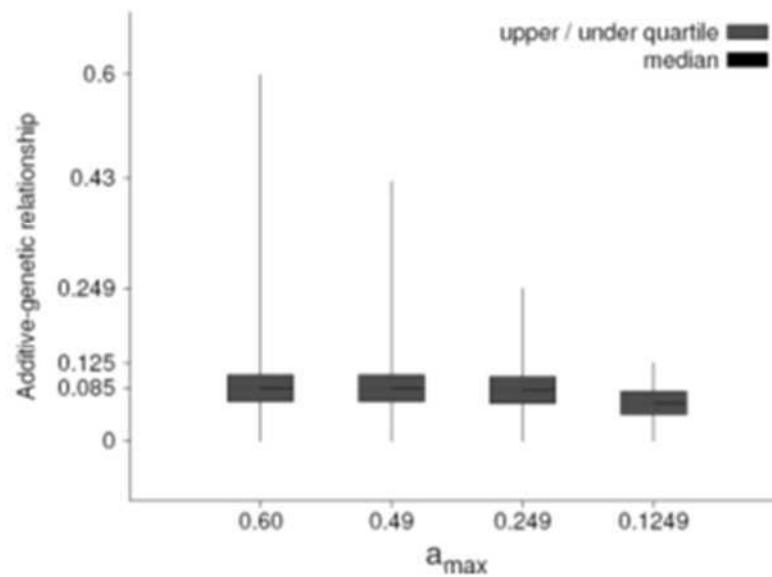


Abb. 2 Durchschnittliche Verwandtschaftskoeffizienten der Gruppen von Validierungstieren mit einer zulässigen maximalen Verwandtschaft $a_{\max}$.

Es zeigte sich, dass sich die Kohorten im Mittel nicht sehr stark unterscheiden, die individuellen Verwandtschaftsbeziehungen zueinander sind durch die gewählte Vorgehensweise jedoch beschränkt. So finden sich bei $a_{\max}$ von 0,49 keine Vollgeschwister und bei 0,249 keine Halbgeschwister zwischen der Lernstichprobe bzw. Validierungsgruppen. Dies hat zur Folge, dass die Genauigkeit der vorgeschätzten Zuchtwerte für Tiere, die weniger stark mit der jeweiligen Referenzpopulation verknüpft sind, je nach Enge der verwandtschaftlichen Beziehungen geringer wird (Abb. 3).

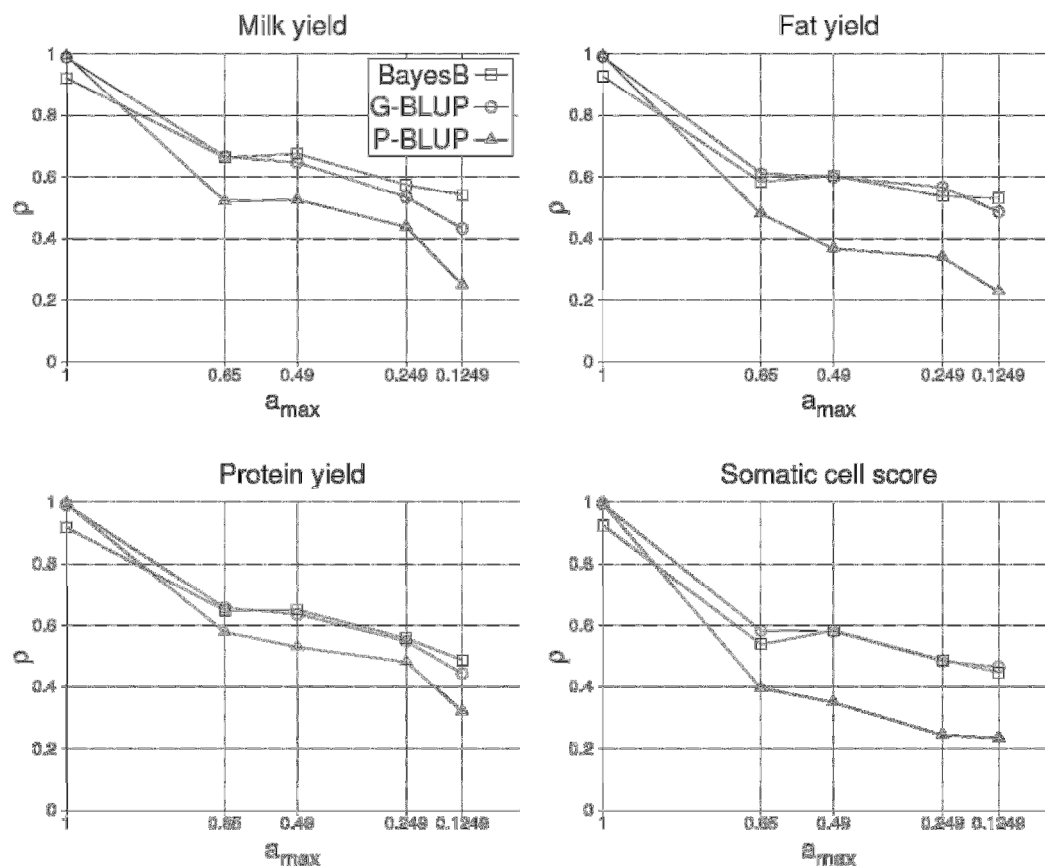


Abb. 3 Abhängigkeit der Genauigkeit der genomischen Zuchtwertschätzung vom maximalen Verwandtschaftskoeffizienten zwischen der Referenzstichprobe und den Validierungstieren.

Es zeigte sich zudem, dass in realen Datensätzen kaum nennenswerte Unterschiede zwischen den am meisten diskutierten Schätzmethoden Bayes B und G-BLUP bestehen. Dies wurde auch bei Untersuchungen vom Partner vit festgestellt und führte dazu, dass letztendlich eine rechentechnisch effiziente Lösung zur Schätzung genomischer Zuchtwerte gefunden werden konnte.

2.1.4.2. Vergleichende Untersuchungen der Charakterisierung verwandtschaftlicher Beziehungen auf Basis von Pedigree- oder genomischen Informationen

Mit dem Verfügbarwerden von massiver genomischer Information wurden auch neue Strategien und Verfahren entwickelt, mit denen die Verwandtschaft zwischen Individuen besser beschrieben werden kann. Das Ziel dieser Untersuchungen war der Vergleich ausgewählter Maßzahlen der Verwandtschaft. Am Beispiel von 474 Bullen wurde ein Pedigree von 4 oder 10 Generationen erstellt. Die auf diesen Pedigrees beruhenden Verwandtschaften wurden mit der auf genetischen Markern basierten Verwandtschaft verglichen. Der durchschnittliche Inzuchtkoeffizient und die durchschnittliche Verwandtschaft waren bei der markerbasierten Methode höher als bei pedigreebasierten Methoden. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass traditionelle Methoden zur Beschreibung der Verwandtschaft dazu neigen, die realisierte Verwandtschaft zu unterschätzen, da

in diesen traditionellen Methoden mit Erwartungswerten gearbeitet wird. Ein weiterer Vorteil von markerbasierten Verwandtschaften ist, dass hier auch die Verwandtschaft oder Ähnlichkeit von einzelnen Chromosomen verglichen werden kann. So zeigte sich zum Beispiel bei BTA 14, dass der mittlere chromosomale Inzuchtkoeffizient bei 0,31 lag, allerdings variierten die chromosomalen Inzuchtkoeffizienten zwischen den Tieren und die Schätzwerte lagen zwischen 0,11 und 0,80.

Tab. 1 Vergleich der mittleren, minimalen und maximalen Verwandtschaft von Tieren basierend auf unterschiedlichen Informationen

Methode	Mittelwert	Standardabweichung	Min.	Max.
4 Generationen Pedigree	0,02	0,03	0,0	0,32
10 Generationen Pedigree	0,04	0,03	0,0	0,33
markerbasiert	0,16	0,06	0,0	0,77

2.1.4.3. Schätzung genomischer Zuchtwerte auf Basis genotypisierter Bullenmütter

Während die genomische Zuchtwertschätzung basierend auf einer Bullenlernstichprobe etabliert ist, ist wenig über die Verwendung und den Nutzen einer Kuhlernstichprobe bekannt. Ziel dieser Untersuchungen war es SNP Effekte anhand einer Lernstichprobe basierend auf Zuchtwerten von Bullenmüttern aus dem Versuchsbetrieb Karkendamm zu schätzen und die gewonnenen Ergebnisse für die Merkmale Fett- und Eiweißprozent, somatischer Zellgehalt der Milch (SCS) sowie Mastitis anhand von verschiedenen Szenarien zu validieren.

Als Leistungsinformationen standen für die Merkmale Fett- und Eiweißprozent sowie SCS 911 Zuchtwerte und 910 Yield Deviation zur Verfügung. Für das Merkmal Mastitis gab es 926 Zuchtwerte. Für die Schätzung der SNP Effekte wurden 45.181 SNP Marker ausgewählt und ein BLUP SNP Modell verwendet.

Als Referenzszenario diente eine Schätzung mit 821 Tieren. Diese Tiere wiesen bei den Merkmalen Fett- und Eiweißprozent sowie SCS mehr als 20 Beobachtungen und beim Merkmal Mastitis mehr als 100 Beobachtungen auf. In den weiteren Szenarios wurde die Population unterschiedlich geteilt. Der größere Teil der Lernstichprobe wurde zum Schätzen der SNP Effekte verwendet. Anhand des kleineren wurde die Erwartungstreue der direkten genomischen Zuchtwerte überprüft. Als Kriterium für diese Validierungsstichprobe diente die Korrelation zwischen direktem genomischen Zuchtwert und dem Zuchtwert, beziehungsweise die Korrelation zwischen direktem genomischen Zuchtwert und den Yield Deviation. Insgesamt wurden die SNP Effekte und direkten genomischen Zuchtwerte für die fünf verschiedenen Validierungsszenarios geschätzt. Im ersten Szenario bestand die Validierungspopulation aus Tieren, die nach 2007 geboren wurden. Im zweiten Szenario beinhalteten die Validierungspopulationen Tiere, die zufällig ausgewählt wurden. Im darauf folgenden Szenario

besaßen die Tiere der Validierung einen Inzuchtkoeffizienten kleiner als 2,94. Im vierten Szenario waren die Tiere der Validierung ingezüchtet und wiesen einen Inzuchtkoeffizienten größer als 6,37 auf. Im letzten Szenario wurden die Töchter von drei Bullen als Validierung aufgefasst.

In den Ergebnissen zeigt sich, dass das BLUP SNP Modell, je nach Merkmal unterschiedlich große absolute standardisierte SNP Effekt Schätzwerte liefert. Bei den Merkmalen Fett- und Eiweißprozent zeigen sich einzelne Chromosomenregionen, die einen deutlichen Effekt auf das jeweilige Merkmal ausüben. Bei den Merkmalen SCS und Mastitis sind die absoluten standardisierten Schätzwerte deutlich geringer und es werden kaum einzelne Chromosomenregionen deutlich, die einen Einfluss auf das Merkmal aufweisen.

Die Korrelationen zwischen den Zuchtwerten und den direkten genomischen Zuchtwerten liegen bedingt durch die geringe Größe der Lernstichprobe in einem moderaten Bereich und variieren je nach Merkmal und gewähltem Validierungsszenario stark.

Die Regressionen der Zuchtwerte auf die direkten genomischen Zuchtwerte zeigen eine deutliche Unterschätzung der direkten genomischen Zuchtwerte.

Szenario 3 liefert im Vergleich zu Szenario 4 jeweils die schlechteren Ergebnisse. Bedingt durch die Inzucht liegt bei Tieren der Lernstichprobe aus Szenario 3 mehr Homozygotie vor, welches die geringeren Korrelationen in Vergleich zu Szenario 4 bewirkt. Die geringere genetische Variation zeigt sich auch in den Standardabweichungen der direkten genomischen Zuchtwerte für die Merkmale Fett- und Eiweißprozent sowie SCS. Beim Merkmal Mastitis besteht für die Standardabweichungen der direkten genomischen Zuchtwerte allerdings kaum ein Unterschied zwischen den Szenarios. Diese Ergebnisse demonstrieren, dass es sich bei dem Merkmal Mastitis um einen polygenen Erbgang handelt und viele Gene an der Merkmalsausprägung beteiligt sind.

Die Töchtergruppen der drei Bullen verdeutlichen, dass die Genauigkeiten stark von der familiären Zusammensetzung der Lernstichprobe und der der Validierungspopulation abhängen.

Es konnte gezeigt werden, dass eine Schätzung genomischer Zuchtwerte mittels einer Kuhlernstichprobe möglich ist. Um höhere Genauigkeiten zu erzielen wäre allerdings eine Vergrößerung der Lernstichprobe notwendig. Um optimale Ergebnisse erzielen zu können, sollte die Lernstichprobe keine ingezüchteten Tiere beinhalten und eine hohe genetische Variation der Population umfassen.

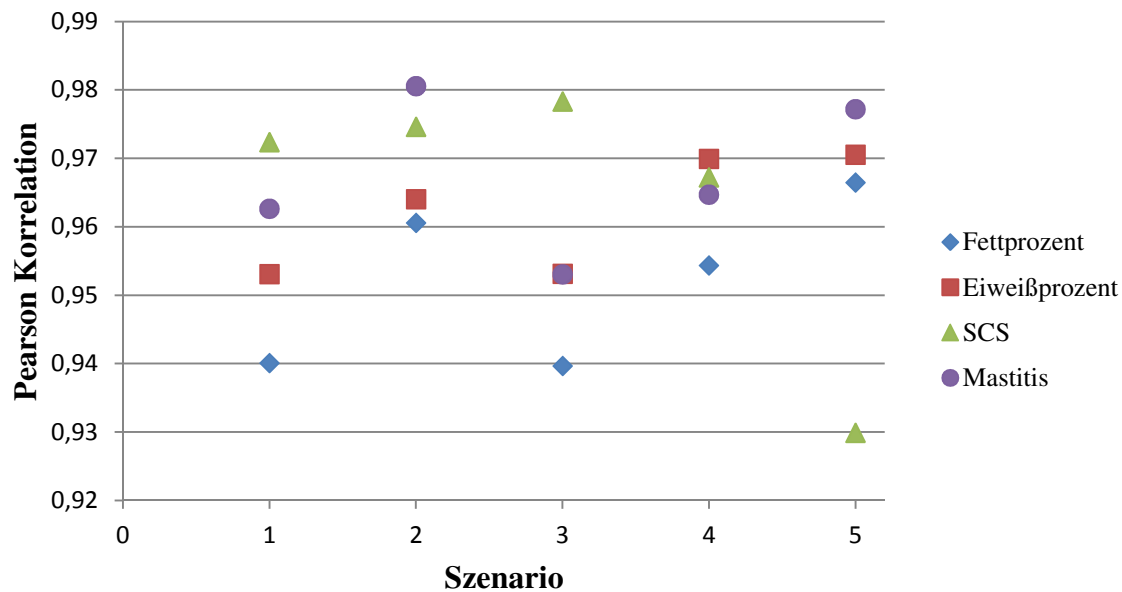


Abb. 4 Korrelationen zwischen genomischen und konventionellen Zuchtwerten für die jeweils in der Referenzstichprobe berücksichtigten Kühe für unterschiedliche Validierungsszenarien und Merkmale

Tab. 2 Pearson Korrelationen zwischen den direkten genomischen Zuchtwerten und den Zuchtwerten ($r_{ZW,DGV}$) für Referenzszenario und für die Validierungstiere mit mehr als 20 Beobachtungen bei den Merkmalen Fett- und Eiweißprozent sowie SCS und mehr als 100 Beobachtungen bei dem Merkmal Mastitis in den jeweiligen Szenarios

Merkmal	Szenario	Anzahl Tiere	$r_{ZW,DGV}$ für Tiere des Referenzszenarios	$r_{ZW,DGV}$ für Validierungstiere
Fett-%	1	91	0,993	0,552
	2	84	0,990	0,581
	3	91	0,994	0,419
	4	91	0,992	0,598
	5	87	0,985	0,567
Eiweiß-%	1	91	0,943	0,489
	2	84	0,936	0,537
	3	91	0,950	0,480
	4	91	0,940	0,655
	5	87	0,925	0,351
SCS	1	91	0,788	0,561
	2	84	0,738	0,491
	3	91	0,768	0,382
	4	91	0,843	0,706
	5	87	0,901	0,811
Mastitis	1	118	0,768	0,510
	2	88	0,833	0,699
	3	140	0,737	0,445
	4	140	0,735	0,494
	5	93	0,714	0,192

Tab. 3 Mit EDC gewichtete Regressionen und Standardfehler der direkten genomischen Zuchtwerte auf Yield Deviation ($b_{YD,DGV}$) beziehungsweise auf den Zuchtwert ($b_{ZW,DGV}$) für Validierungstiere mit mehr als 20 Beobachtungen bei den Merkmalen Fettprozent, Eiweißprozent und SCS, und mehr als 100 Beobachtungen beim Merkmal Mastitis

Merkmal	Szenario	$b_{YD,DGV} \pm SE$	$b_{ZW,DGV} \pm SE$	N
Fett-%	1	1,272 $\pm$ 0,201	1,247 $\pm$ 0,200	91
	2	1,034 $\pm$ 0,163	1,024 $\pm$ 0,158	84
	3	1,102 $\pm$ 0,256	1,081 $\pm$ 0,249	91
	4	1,258 $\pm$ 0,144	1,238 $\pm$ 0,176	91
	5	0,993 $\pm$ 0,159	0,977 $\pm$ 0,154	87
Eiweiß-%	1	1,533 $\pm$ 0,294	1,531 $\pm$ 0,289	91
	2	1,387 $\pm$ 0,242	1,350 $\pm$ 0,234	84
	3	1,496 $\pm$ 0,295	1,483 $\pm$ 0,287	91
	4	1,458 $\pm$ 0,173	1,456 $\pm$ 0,165	91
	5	0,986 $\pm$ 0,292	0,978 $\pm$ 0,283	87
SCS	1	2,291 $\pm$ 0,419	2,341 $\pm$ 0,366	91
	2	2,078 $\pm$ 0,442	1,997 $\pm$ 0,392	84
	3	2,470 $\pm$ 0,672	2,327 $\pm$ 0,596	91
	4	2,684 $\pm$ 0,318	2,626 $\pm$ 0,279	91
	5	5,219 $\pm$ 0,437	5,094 $\pm$ 0,397	87
Mastitis	1	-	3,381 $\pm$ 0,529	118
	2	-	4,354 $\pm$ 0,479	88
	3	-	2,993 $\pm$ 0,513	140
	4	-	3,215 $\pm$ 0,481	140
	5	-	1,569 $\pm$ 0,838	93

2.1.5. Charakterisierung von SNP-Schätzwerten der Referenzstichprobe bei Deutschen Holsteins

Die vom Partner vit in Verden anhand der Referenzstichprobe geschätzten SNP-Effekte für alle Merkmale wurden bezüglich ihrer Verteilung der Effektgrößen innerhalb von Chromosomen und über das Genom hinweg untersucht. Dazu wurde eine Maximum-Likelihood-Methode für die Berechnung der Verteilungsparameter verwendet. Es zeigte sich, dass die empirischen Verteilungen der SNP-Effekte damit gut beschrieben werden konnten (Abb. 5). Im Weiteren wurde deutlich, dass sich für nahezu alle Merkmale gleichmäßige Verteilungen über die Chromosomen ergaben mit in der Regel nur wenigen SNP mit größeren Effekten und vielen SNP mit vergleichsweise geringen Effekten. Diese Kenntnisse stützen die Vermutung, dass ein Großteil der genetischen Variation auf viele Gene verteilt sein dürfte und die bisher gemachten Annahmen der quantitativen Genetik insbesondere für Leistungsmerkmale beim Rind zutreffen.

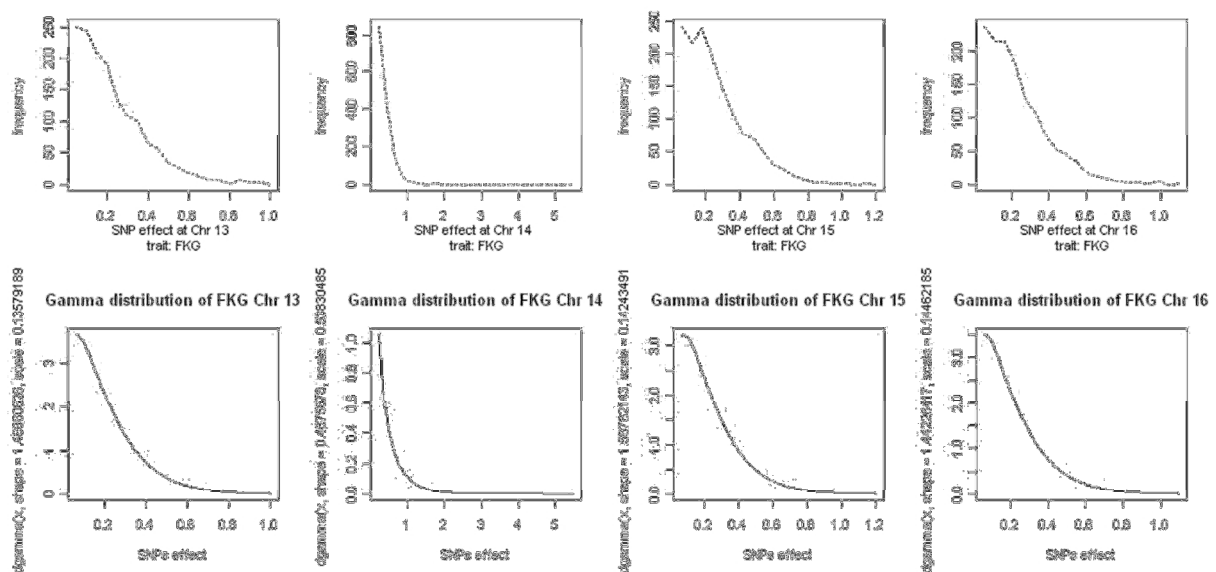


Abb. 5 Empirische Verteilung der SNP-Effekte (oben) und der abgeleiteten Verteilungsfunktion (unten) für das Merkmal Fettmenge (kg) auf den ausgewählten Chromosomen 13,14,15 und 16 des Rindes.

Interessante Befunde ergaben sich auch bei der Untersuchung der Korrelationen von chromosomalen Zuchtwerten und SNP-Effekten für verschiedene Merkmale. Es zeigte sich, dass die aus der quantitativen Genetik bekannten Beziehungen sich summarisch entsprechend über das Genom verteilt wiederfinden. Bei Betrachtung der Zusammenhänge über die einzelnen Chromosomen konnten aber deutliche Unterschiede in den jeweiligen Beiträgen zu den genetischen Korrelationen gefunden werden. Besonders eindrücklich erwiesen sich wiederum Befunde auf dem Chromosom 14, auf welchem das Gen *DGAT1* mit dem stärksten beim Rind bekannten Einzeleinfluss vorwiegend auf den Fett- und Proteingehalt der Milch liegt. In Abb. 6 sind die genetischen Korrelationen zwischen der Fettmenge und der Milchmenge für die einzelnen Chromosomen dargestellt. Die bekannte positive genetische Korrelation findet sich auf allen Chromosomen wieder mit Ausnahme von BTA 14, auf dem eine negative Korrelation im Bereich von -0,8 berechnet wurde.

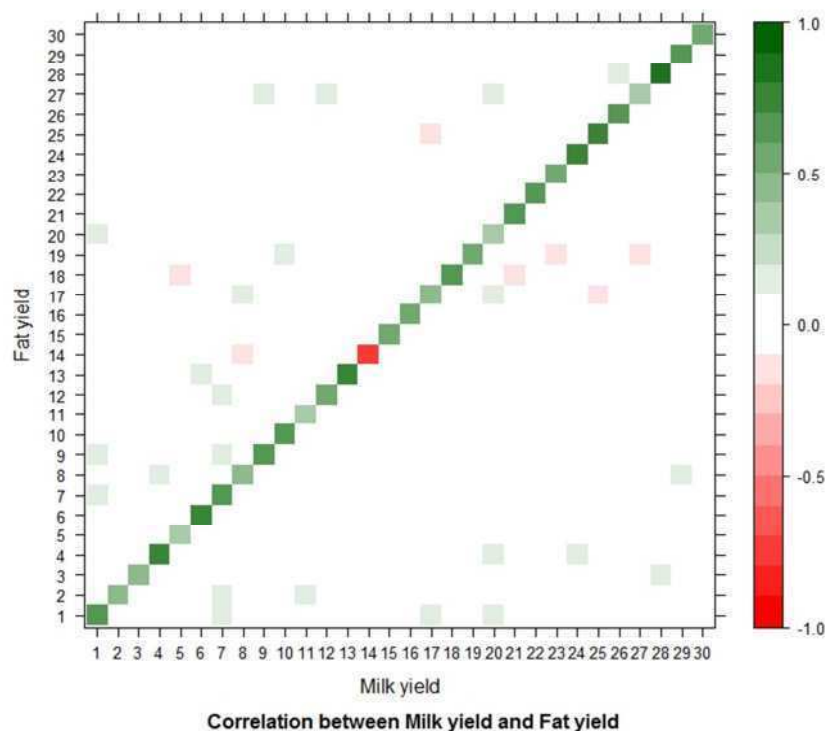


Abb. 6 Korrelationen zwischen den chromosomalen Zuchtwerten für die Merkmale Fettmenge und Milchmenge berechnet anhand von 2300 Bullen der Rasse Deutsche Holstein.

Die paarweise Gegenüberstellung der Chromosomenzuchtwerte wichtiger Merkmale ermöglichte einen ersten Einblick in die Natur der genetischen Korrelation. Das vielfach differenzierte Bild, wie sich die genetische Korrelation im Einzelnen zusammensetzt, liefert einen bedeutenden Ansatz für weitere Studien und könnte perspektivisch dazu beitragen, züchterisch unerwünschte Korrelationen besser bewerten und in Zuchtprogrammen berücksichtigen zu können.

2.1.6. Assoziationsstudien und Kandidatengenenanalysen

Ein weiteres Betätigungsfeld innerhalb des Verbundprojektes war die Verwendung der genomweiten Markerdaten zur Durchführung genomweiter Assoziationsstudien. Diese Arbeiten wurden mit dem Ziel durchgeführt, Genorte zu kartieren, welche die Ausprägung der relevanten Leistungsmerkmale in hohem Maße beeinflussen. Die Ergebnisse dieser Arbeiten dienen dann dazu, Kandidatengene zu identifizieren und soweit möglich kausale Genvarianten zu identifizieren. Derartige Erkenntnisse tragen erheblich zur Aufklärung grundlegender funktioneller Zusammenhänge bei. An der Arbeitsgruppe in Kiel wurden sowohl Assoziationsstudien in einer großen Kohorte von HF-Bullen als auch in einer kleineren Kohorte von Bullenmüttern durchgeführt. Letztere stammen vom universitätseigenen Versuchsbetrieb Karkendamm und es existieren eine Reihe phänotypischer Informationen (z.B. Energiebilanzen), die ansonsten nicht verfügbar sind. Diese Phänotypen wurden

teilweise in anderen FUGATO-plus Projekten (MeGA-M) erarbeitet. Ausgehend von den Ergebnissen wurden in mehreren Masterarbeiten auch bereits verschiedene QTL-Regionen bzw. Kandidatengene näher analysiert.

2.1.6.1. Assoziationsstudien bei Bullen

Basierend auf den in GENOTRACK erzeugten Genotypdaten wurden genomweite Assoziationsstudien mit insgesamt 2.322 HF-Bullen durchgeführt. Als phänotypische Information dienten deregressierte Zuchtwerte für 44 Merkmale, die vom Projektpartner VIT Verden zur Verfügung gestellt wurden. Die Assoziationsstudien wurden mit dem R-Paket GenABEL unter Verwendung eines hauptkomponentenbasierten Ansatzes zur Korrektur auf mögliche Stratifikationseffekte durchgeführt. Die Ergebnisse dieser umfassenden Arbeiten dienten und dienen als Grundlage für die molekulare Analyse und genomische Charakterisierung funktionaler und Leistungsmerkmale. Daraus resultierende Folgearbeiten waren u.a. die weiter unten dargestellten Analysen von Kandidatengenen. In der Abb. 7 sind exemplarisch die Ergebnisse für die wichtigsten Milchleistungsmerkmale aufgeführt.

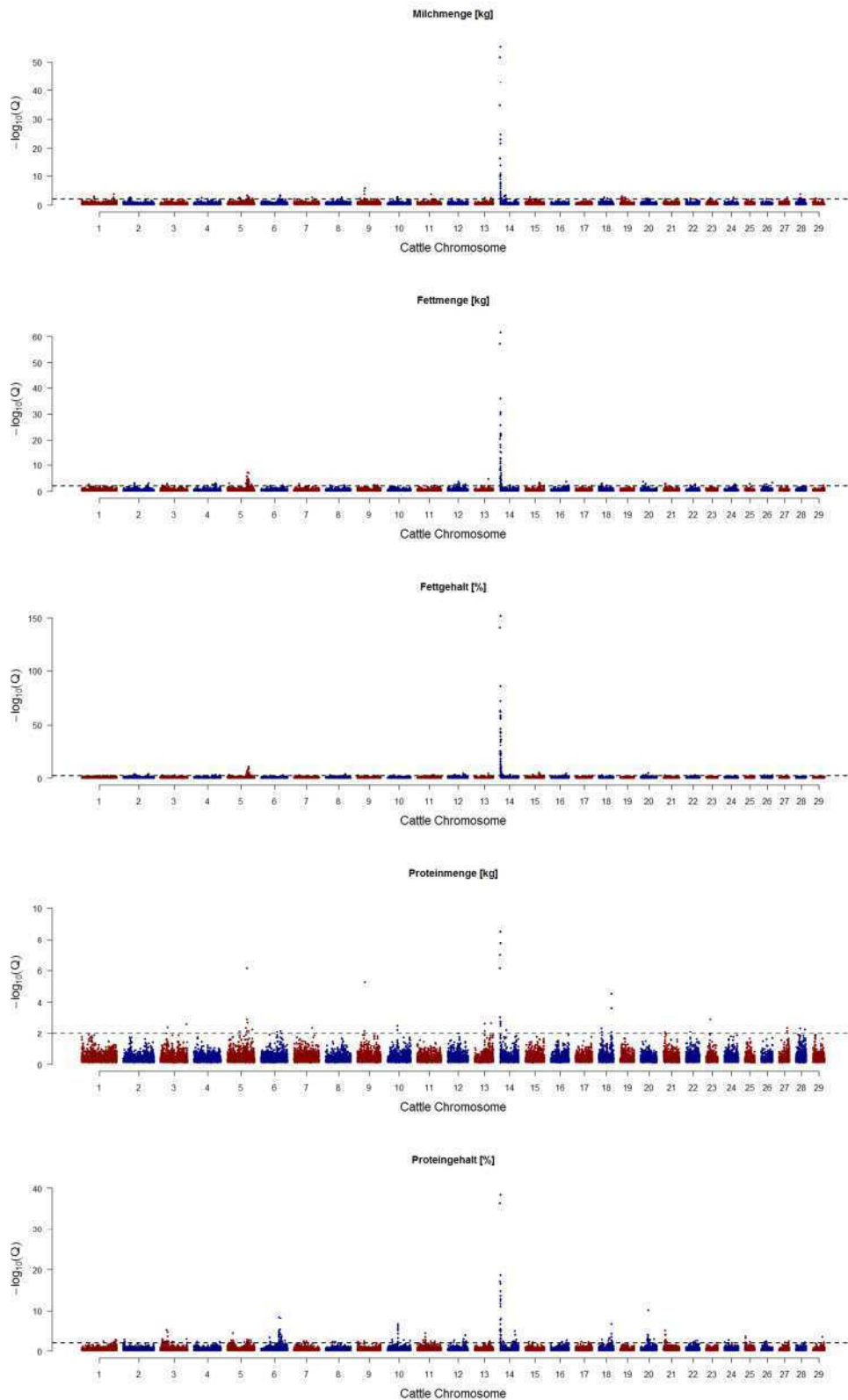


Abb. 7 Ergebnisse der genomweiten Assoziationsstudie an 2.322 HF-Bullen für die wichtigsten Milchleistungsmerkmale. Dargestellt sind die negativen dekadischen Logarithmen der q -Werte. Die gestrichelte Linie gibt den Schwellenwert für genomweite Signifikanz von $q=0.01$ an.

2.1.6.2. Assoziationsstudien bei Bullenmüttern

Zusätzlich zu den oben erwähnten Arbeiten wurden im Rahmen einer Kooperation mit dem Kompetenzzentrum Milch Schleswig-Holstein (KMSH) Assoziationsstudien mit einem erweiterten Datensatz von Bullenmüttern durchgeführt. Dies erfolgte maßgeblich im Hinblick auf funktionelle Merkmale. Die Verbesserung der funktionalen Merkmale spielt eine entscheidende Rolle für die Steigerung der Leistungseffizienz in der Milcherzeugung. Für alle untersuchten Merkmale konnten signifikant assoziierte SNPs detektiert werden. Trotz der in der Literatur beschriebenen positiven Korrelation zwischen Mastitis und Zellzahl, gab es zwischen diesen Merkmalen nur eine geringe Übereinstimmung im Hinblick auf die identifizierten Genomregionen. Abb. 8 gibt genauere Auskünfte über die Ergebnisse der Assoziationsstudie.

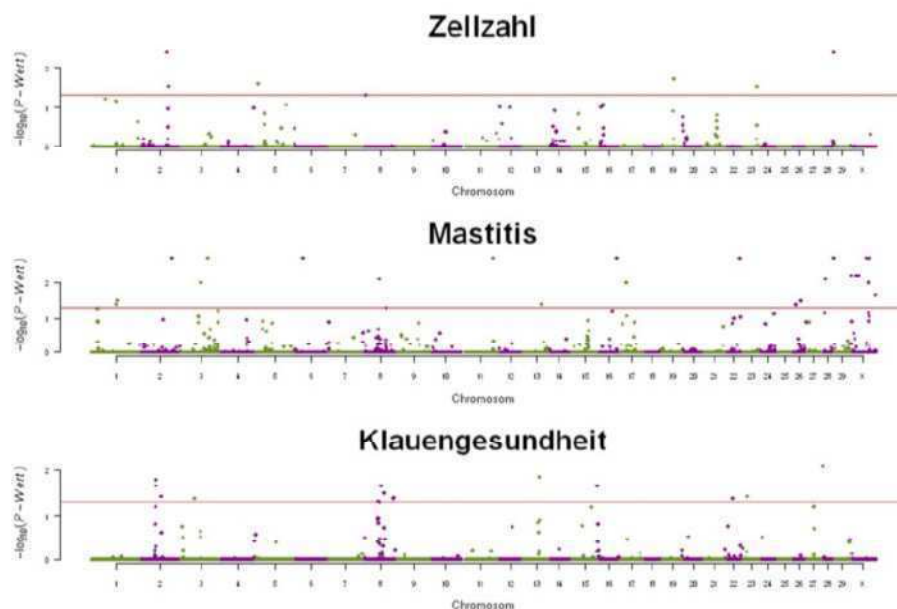


Abb. 8 Ergebnisse der Assoziationsstudien für funktionale Merkmale bei Bullenmüttern, SNPs über der roten Linie sind genomweit signifikant ($P \leq 0,05$) mit dem jeweiligen Merkmal assoziiert.

Im Rahmen einer Kooperation mit dem FUGATOplus Projekt MeGA-M sowie dem Kompetenzzentrum Milch Schleswig-Holstein (KMSH) wurden darüber hinaus Assoziationsstudien für die Energiebilanz und das Fett-Eiweiß-Verhältnis durchgeführt. Diese Merkmale können als geeignete Indikatoren für Stoffwechselstörungen angesehen werden. Als phänotypische Grundlage dienten Zuchtwerte, welche für verschiedene Laktationstage (Tag 11, 20, 30 und 42) geschätzt wurden. Es wurden signifikant mit dem Fett-Eiweiß-Verhältnis assoziierte SNP- für alle betrachteten Laktationstage gefunden. Die meisten davon liegen im Bereich von DGAT1 auf dem bovinen Chromosom 14. Signifikante Assoziationen für die Energiebilanz fanden sich auf den Chromosomen 5 und 18. Eine Übersicht über die Ergebnisse gibt Abb. 9.

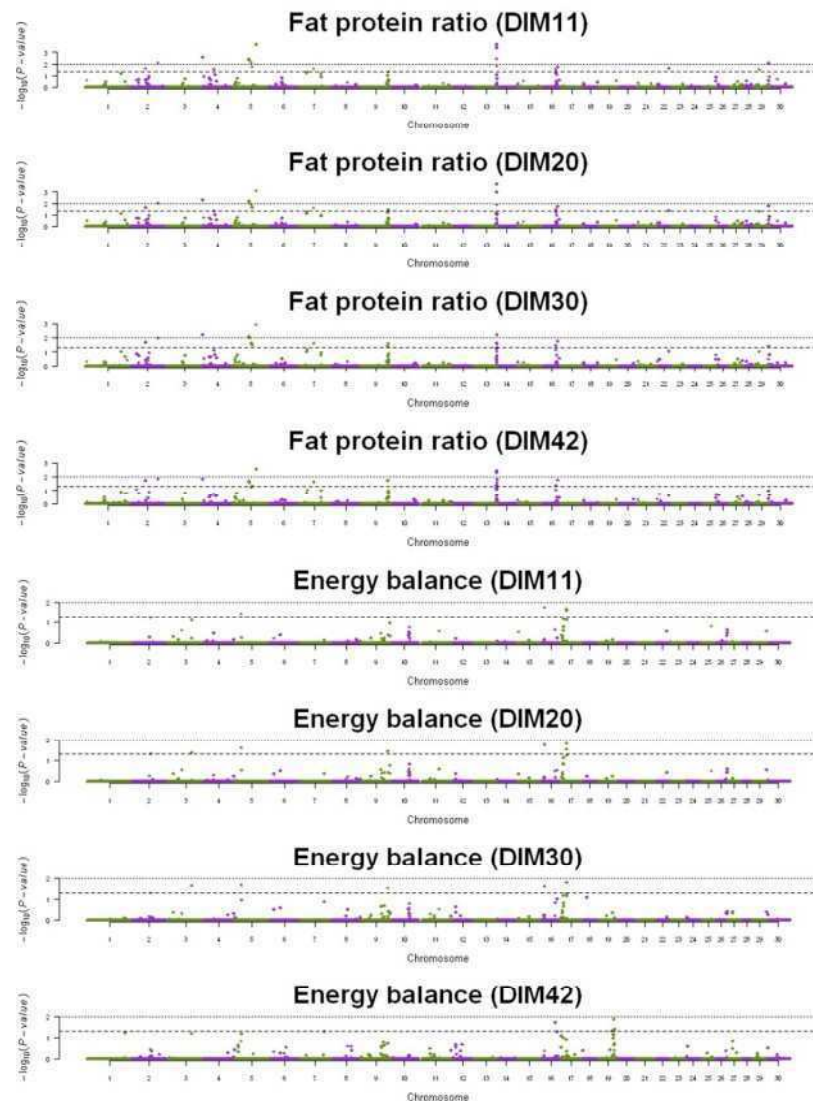


Abb. 9 Ergebnisse der Assoziationsstudien für Fett-Eiweiß-Verhältnis (fat protein ratio) und Energiebilanz (energy balance) für die Laktationstage (days in milk = DIM) 11, 20, 30 und 42.

2.1.6.3. Assoziationsstudien zur Detektion von Dominanzeffekten

Mit den Genotypisierungsergebnissen von 794 Bullenmüttern wurden Assoziationsstudien bezüglich Dominanzeffekten durchgeführt. Hierbei wurde ein besonderes Augenmerk auf die Gesundheitsmerkmale Mastitisanfälligkeit und Klauen- und Gliedmaßengesundheit gelegt, da davon ausgegangen wird, dass bei funktionalen Merkmalen Dominanz eine größere Rolle spielt als bei Leistungsmerkmalen. Als Phänotypen standen Yield Deviations und Zuchtwerte zur Verfügung, die im Rahmen der Bullenmutterprüfung auf dem Versuchsbetrieb Karkendamm ermittelt wurden. Nach einer Qualitätskontrolle der Genotypen und der Phänotypen standen noch 725 Bullenmütter für die Auswertungen zur Verfügung. Es wurde eine genomweite Assoziationsstudie mit dem Programmpaket PLINK (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>) durchgeführt, das die gleichzeitige Berücksichtigung additiver und Dominanzeffekte im Modell anbietet. Es wurden mit hoher statistischer Sicherheit mehrere SNPs auf Chromosom 1 gefunden, bei denen Dominanzeffekte

auf das Merkmal Klauen- und Gliedmaßengesundheit wirken (siehe Abb. 8). Solche Ergebnisse können unter anderem dazu genutzt werden genombasierte Anpaarungsstrategien auf die Nutzung nicht-additiver Geneffekte auszurichten, was durch reproduktionsbedingte Beschränkungen beim Rind in konventionellen Zuchtprogrammen nur begrenzt möglich war.

2.1.6.4. Analyse von Kandidatengen für verschiedene Merkmale

2.1.6.4.1. Melkbarkeit

Es wurden potentielle QTL-Regionen auf den bovinen Chromosomen (BTA) 9 und 10 identifiziert. Im Rahmen der Masterarbeit von Frau Sophie Oesau mit dem Titel „Molekulare Charakterisierung von Kandidatengen für die Melkbarkeit beim Rind“ wurde in den beiden Regionen je ein Kandidatengen analysiert. Die Gene wurden in Tieren mit extremen Phänotypen (Yield Deviations) vergleichend sequenziert und dabei identifizierte Polymorphismen auf Merkmalsassoziation untersucht. Auf BTA9 wurde eine Bindegewebswachstumsfaktor (Connective Tissue Growth Factor, CTGF) analysiert. Eine Reihe von Studien deutet darauf hin, dass CTGF eine Rolle bei der Entwicklung und Physiologie der bovinen Milchdrüse spielen und die Weite des Strichkanals beeinflussen könnte. Auf BTA10 wurde das Alpha Actinin (α -ACTN) untersucht. Dabei handelt es sich um ein Protein, das an der Regelung der Interaktionen zwischen Aktinfilamenten und Myosin II bei Kontraktionen der glatten Muskulatur beteiligt ist. Insofern könnte es eine entscheidende Rolle bei der Kontraktion der Myoepithelzellen (Korbzellen) im Euter spielen und somit die Entleerung des Euters beschleunigen. Signifikante Merkmalsassoziationen wurden nur für das α -ACTN gefunden. Ein funktioneller Vergleich der beiden Gene macht deutlich, dass eine Beschleunigung des Melkvorganges durch α -ACTN vorteilhafter ist als durch CTGF. Letzteres Gen könnte eine bessere Melkbarkeit nur durch einen erweiterten Strichkanal bedingen, was die Mastitisanfälligkeit steigern würde. Das α -ACTN jedoch würde mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit das Residualgemelk verringern und somit die Mastitisanfälligkeit eher noch senken. Weitere Analysen sind notwendig. Eine eingehende Darstellung findet sich in der Masterarbeit im Anhang.

2.1.6.4.2. Somatische Zellzahl

Das Merkmal „Somatische Zellzahl“ wurde in zwei Masterarbeiten im Rahmen von GENOTRACK bearbeitet. Zum einen handelt es sich um die Arbeit von Herrn Faraz Ansari mit dem Titel „Kallikrein B1 als Kandidatengen für Somatische Zellzahl beim Deutschen Holstein“ und zum anderen um die Arbeit von Herrn Prakash Yadav mit dem Titel „Identification and analysis of positional and functional genes for somatic cell score in Holstein Friesian cows“. Beide Arbeiten beschäftigen sich mit der näheren Charakterisierung von QTL-Regionen und der Analyse von Kandidatengen. Das von Herrn Ansari bearbeitete Gen Kallikrein B1 (KLKB1) liegt in einer QTL-Region auf dem bovinen Chromosom 27, die bereits im vorangegangenen FUGATO-Projekt MAS-Net Gegenstand von Untersuchungen war.

Das von Herrn Yadav analysierte Gen Leukotrien-A4 Hydrolase (LTA4H) liegt in einer QTL-Region auf BTA5. Beide Gene weisen eine essenzielle Funktion in der Immunabwehr auf. Beide Arbeiten sind grundlegend nach demselben Analyseschema abgelaufen: ausgehend von Assoziationsstudien wurden Kandidatengene vergleichend sequenziert und identifizierte Polymorphismen wiederum auf Merkmalsassoziation untersucht. Es konnte jedoch für keines der Gene eine signifikante Assoziation gefunden werden. Detailangaben finden sich in den Masterarbeiten im Anhang.

2.1.7. QTL-Analysen an ausgewählten Chromosomen

In den letzten 20 Jahren sind immense Anstrengungen unternommen worden, um mit Hilfe von Mikrosatellitenmarkern Genorte zu kartieren, welche die Ausprägung quantitativer Merkmale bei Nutztieren beeinflussen. In groß angelegten Studien (z.B. die ADR-Studien in Deutschland) wurde dabei eine große Anzahl an QTL (= quantitative trait locus) kartiert und für die wichtigsten Leistungsmerkmale bei Milchrindern spielten immer wieder die Rinderchromosomen BTA5, BTA6, BTA14, BTA18 und BTA20 eine herausragende Rolle. Die im Rahmen von GENOTRACK generierten Daten sind dazu geeignet, die Ergebnisse dieser Studien mit einer deutlich erhöhten Markerdichte zu überprüfen. Geht man davon aus, dass ein Mikrosatellitenmarker den gleichen Informationsgehalt hat wie 4 SNP-Marker und dass gleichzeitig etwa 40.000 SNP-Marker des in GENOTRACK verwendeten Illumina 50k SNP-Chips in der Holsteinspopulation informativ sind, dann käme die Verwendung dieser Daten für eine QTL-Kartierung der Verwendung von 10.000 Mikrosatelliten gleich. Die Anzahl der Marker in einem Genomscan liegt jedoch in der Größenordnung von etwa 200, so dass man von einer 50fach höheren Markerabdeckung ausgehen kann. Eine solche Bestätigungsstudie wurde im Rahmen der Masterarbeit von Herrn Andreas Brandt exemplarisch für die oben genannten Chromosomen und die Merkmalskomplexe „Milchleistungsmerkmale“ und „Fruchtbarkeitsmerkmale“ durchgeführt. Dabei wurden einerseits herkömmliche Kopplungsanalysen durchgeführt (LA-Analysen) und andererseits Analysen, bei denen das LD berücksichtigt wird (LDLA-Analysen). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Mehrzahl der aus der Literatur bekannten QTL auch in unserer Studie identifiziert werden konnten. Dabei sind die Konfidenzintervalle meist deutlich kleiner, d.h. die Positionierung der QTL ist deutlich exakter (s. Abb. 10). Eine detaillierte Beschreibung befindet sich in der Masterarbeit im Anhang.

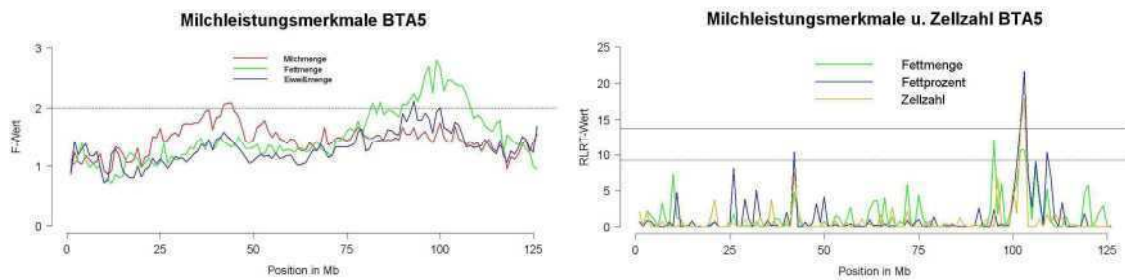


Abb. 10 Ergebnisse der QTL-Kartierungen (links: LA, rechts: LDLA) am Beispiel der Milchleistungsmerkmale auf dem Rinderchromosom BTA5.

2.1.8. Weitere Arbeiten

Im Rahmen der Zusammenarbeit innerhalb des Verbundprojektes wurden insbesondere zusammen mit dem Projektpartner Göttingen viele Fragestellungen gemeinsam bearbeitet. Daraus ist eine Reihe von Publikationen erwachsen, deren Inhalt im Abschlussbericht der Göttinger Arbeitsgruppe dargestellt ist. Die entsprechenden Veröffentlichungen finden sich im Literaturverzeichnis dieses Berichtes.

2.2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die im Projekt durchgeführten Arbeiten hatten weitgehend einen Grundlagencharakter und beschäftigten sich mit weitergehenden Fragestellungen auf genomischer Ebene. Sie bildeten eine notwendige Grundlage für weiterführende Arbeiten, die eine praxistaugliche Implementierung der Genomischen Selektion zum Ziel hatte. Zudem wurden Tierpopulationen beforscht, die ohne größere wirtschaftliche Relevanz in der Milchrinderzucht sind. Die von den im Projekt angestellten Mitarbeitern geleistete Arbeit und der entsprechende Aufwand in Bezug auf den Arbeitsplan und die Projektziele waren angemessen. Durch den gesetzten Impuls wurden von der Wirtschaft zusätzliche Genotypisierungen durchgeführt, die dem Verbundvorhaben für die weiteren wissenschaftlichen Auswertungen zur Verfügung gestellt wurden. Die während des Projekts sich abzeichnende Dynamik und Entwicklung auf dem Gebiet der Genomischen Selektion hatte zur Folge, dass institutseigenes Personal in nicht unerheblichem Ausmaß in die Arbeiten eingebunden wurde.

2.3. Darstellung des voraussichtlichen Nutzens, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die oben bereits beschriebene Dynamik auf dem innovativen Forschungsgebiet hat dazu geführt, dass Ergebnisse des vorliegenden Teilprojekts als Grundlage für die Weiterentwicklungen beim Partner vit verwendet wurden und die Genomische Selektion in der Holsteinzucht erfolgreich implementiert werden konnte. Durch die gemeinsame Zusammenarbeit des Forschungsverbunds

mit den Rinderzuchtorganisationen war es möglich, die Wettbewerbsfähigkeit im internationalen Kontext herzustellen. Insbesondere nimmt die deutsche Holsteinzucht eine führende Rolle im EuroGenomics-Verbund ein und ist dadurch strategisch für die nächsten Entwicklungsschritte sehr gut aufgestellt.

Mit dem Projekt wurden auch die logistischen Strukturen geschaffen, die eine reibungslose Verwertbarkeit der gewonnenen Ergebnisse sicherstellen. Die wirtschaftliche Verwertbarkeit erfolgt vorwiegend durch den Partner vit und den Rinderzuchtorganisationen als Wirtschaftspartner. Nach der Implementierung der genomischen Zuchtwertschätzung ist der gesamte Sektor der Milchrinderzucht gefordert, die neue Qualität der verfügbaren Information in innovativen Zuchtprogrammen umzusetzen. Eine Reihe von Zuchtplanungsrechnungen und Kalkulationen gehen von einer Steigerung des genetischen Fortschritts von bis zu 50% aus. Die Genomische Selektion wird hinsichtlich der Bedeutung und strukturellen Konsequenzen mit der Einführung der künstlichen Besamung in den 50er Jahren im letzten Jahrhundert auf eine Stufe gestellt. Bislang werden die neuen Kenntnisse vorwiegend in Form von genomischen Zuchtwerten in die Zuchtpraxis überführt, es zeigt sich aber bereits zum gegenwärtigen Zeitpunkt, dass in absehbarer Zeit große Kohorten von Kühen genotypisiert werden und ein erheblicher Mehrwert auf der Betriebsebene erzielt werden kann.

Die im Teilprojekt bearbeiteten Fragestellungen bieten kaum Ansatzpunkte für Schutzrechtsanmeldungen, die auch nicht geplant und durchgeführt wurden.

Die im Projekt gewonnen Erkenntnisse und Ergebnisse ermöglichten eine sofortige wissenschaftliche Anschlussfähigkeit durch Beteiligung an neuen Forschungsverbünden, z.B. an den AgroCluster ‚Synbreed‘, ‚Phänomics‘ und ‚FoCus‘ (BMBF) sowie weiteren Projekten, die sich mit der Weiterentwicklung genomischer Verfahren beim Rind Projekt ‚Bull_Opt‘ (FBF e.V.) beim Schwein ‚Frogs‘ (Tierzuchtforschung Bayern e.V.) beschäftigen.

2.4. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Der Forschungsgegenstand des Vorhabens griff eine Fragestellung auf, die weltweit mit verschiedensten Projekten bearbeitet wurde. Das Vorhaben selbst gewährleistete, dass die deutsche Wissenschaft und Wirtschaft jederzeit auf Augenhöhe im Vergleich zu internationalen Forschungen lag. Das Forschungsgebiet wurde schon bald wegen der durchaus dramatischen Auswirkungen auf die Zuchtstrukturen als ‚genomische Revolution‘ bezeichnet, an der nahezu alle renommierten Tierzuchtinstitute und Forschungseinrichtungen im Bereich der Rinderzucht beteiligt waren. Dies

führte zu stetigen Fortschritten im internationalen Maßstab, die ihren Niederschlag in vielen Publikationen fand. Die einschlägigen nationalen und internationalen Tagungen, einschließlich des in Deutschland ausgerichteten Weltkongresses für Genetik (Leipzig, 2010), wurden von der Thematik dominiert. Die Entwicklungen wurden fortwährend aufmerksam beobachtet und neue Erkenntnisse anderer Stellen am eigenen Datenmaterial überprüft. Es ist aber festzustellen, dass die mit dem gesamten Vorhaben generierten Kenntnisse auf internationaler Ebene hohe Anerkennung erlangten und die wissenschaftliche Wettbewerbsfähigkeit zu jedem Zeitpunkt gegeben war. Vielmehr konnte auf einigen Gebieten eine Führerschaft erzielt werden, die das Ansehen der deutschen Tierzuchtwissenschaft eindeutig und merklich erhöhte.

2.5. Veröffentlichungen

Originalarbeiten

Habier D., Tetens J., Seefried F.-R., Lichtner P., Thaller G. (2010) The impact of genetic relationship information on genomic breeding values in German Holstein cattle. *Genetics Selection Evolution* 42:5.

Liu Z., Seefried F., Reinhardt F., Rensing S., Thaller G. and Reents R. (2011) Impacts of both reference populations size and inclusion of a residual polygenic effect on the accuracy of genomic prediction. *Genetics Selection Evolution* 43:19.

Pimentel E.C.G., Bauersachs S., Tietze M., Simianer H., Tetens J., Thaller G., Reinhardt F., Wolf E. and König S. (2011) Exploration of relationships between production and fertility traits in dairy cattle via association studies of SNPs within candidate genes derived by expression profiling. *Animal Genetics* [Article first published online 2010: 30 DEC 2010, doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02148.x]. 42:251-262.

Qanbari S., Pimentel E.C.G., Tetens J., Thaller G., Lichtner P., Sharifi A.R. and Simianer H. (2010a) The pattern of linkage disequilibrium in German Holstein cattle. *Animal Genetics* 41:346-356.

Qanbari S., Pimentel E.C.G., Tetens J., Thaller G., Lichtner P., Sharifi A.R. and Simianer H. (2010b) A genome-wide scan for signatures of recent selection in Holstein cattle. *Animal Genetics* 41:377-389.

Qanbari, S., Gianola, D., Hayes, B., Schenkel, F., Miller, S., Moore, S., Thaller, G. and Simianer, H. (2011) Application of Site and Haplotype-Frequency Based Approaches for Detecting Selection Signatures in Cattle. *BMC Genomics*, 12:318.

Seidenspinner T., Buttchereit, N., Tetens, J. and Thaller, G. Whole genome association study for energy balance and fat protein ratio in German Holstein bull dams. Submitted for publication.

Seefried F., Liu Z. and Thaller G. (2010) Die Genomische Zuchtwertschätzung bei der Rasse Deutsche Holstein. Züchtungskunde 82:14-21.

Thaller G. (2009) Genomische Selektion – Stand der Wissenschaft. Züchtungskunde 81:14-22.

Masterarbeiten

Addo, S. (2010) Comparison of different measurements of relationship. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Amiri E. (2010) Investigations of genetic correlation among traits using massive SNP genotype in German Holstein population. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Ansari F. (2011) Kallikrein B1 als Kandidatengen für Somatische Zellzahl beim Deutschen Holstein. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Brandt A. (2011) QTL-Analyse an ausgewählten Chromosomen in der Rasse Deutsche Holstein mittels SNP-Markern. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Dinesh M.T. (2009) Genetic contribution of important ancestors in a cattle population. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Mudaliana S. (2010) Investigation on the distribution of SNP effects across chromosomes in the German Holstein population. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Oesau S. (2010) Molekulare Charakterisierung von Kandidatengen für die Melkbarkeit beim Rind. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Segelke D. (2011) Schätzung genomischer Effekte am Beispiel der Bullenmütterherde Karkendamm. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Yadav P. (2010) Identification and analysis of positional and functional genes for somatic cell score in Holstein Friesian cows. Agrar- und Ernährungswissenschaftliche Fakultät der CAU Kiel.

Wissenstransfer

Habier D., Tetens J., Seefried F., Thaller G. (2009) Einfluss von Verwandtschaft auf die Genauigkeit genomischer Zuchtwerte. Workshop Methodenentwicklung und gegenwärtiger Stand von GenoTrack, Verden, 25.06.09, Germany.

Hinrichs D. and Thaller G. (2010) Mittel- bis langfristige Entwicklungsmöglichkeiten von Zuchtprogrammen mit genomischer Selektion (inkl. der Chancen und Risiken). 5. Fortbildungs- und Informationsveranstaltung der RSHeG, Hohwacht, March 25.–26., Germany.

Hinrichs D. and Thaller G. (2010) Die genomische Zuchtwertschätzung und die Folgen für die Rinderzucht. Beraterseminar der Landwirtschaftskammer Schleswig Holstein am 25.05.10, Futterkamp, Germany.

Hinrichs D. and Thaller G. (2010) So funktioniert genomische Selektion. Höhere Landbauschule, Rendsburg, 21.12.10, Germany.

Thaller G. (2009) Methodenentwicklung und gegenwärtiger Stand von GenoTrack – Genomische Zuchtwertschätzung bei der Rasse Deutsche Holstein. Workshop Methodenentwicklung und gegenwärtiger Stand von GenoTrack, Verden, 24.06.09, Germany.

Thaller G. (2009) Genomische Selektion – Konsequenzen für die Zuchtpraxis. 5. Rinder-Workshop. DGfZ-Schriftenreihe 53:151-162.

Thaller, G. (2009) Utilization of genomic information in cattle breeding. Scottish Agricultural College, Edinburgh, 23.04.09, Scotland.

Thaller G. (2009) Genomische Zuchtwertschätzung in Deutschland gestartet. Milchrind 3:26-30.

Thaller G. (2009) Konsequenzen für die Zuchtpraxis. Fleckvieh Austria, Heft 1:9-11.

Thaller G. (2010) Die genomische Selektion. Bauernblatt Schl.-Holst. 24. Aug. 64./160. Jg.:34-35.

Thaller G. (2010) Aktuelles Thema in der Rinderzucht: Die Genomische Selektion. Trendreport Spitzenbetriebe 2010:81-88.

Thaller G. (2010) Rinderzucht im Zeitraffer. Die genomische Selektion etabliert sich als Zuchtmethode. Agrarzeitung 12.11.

Thaller G. (2010) Mittel- bis langfristige Entwicklung der genomischen Selektion inklusive Chancen und Risiken. Rinderzucht Schl.-Holst., Neumünster, 12.02.10, Germany.

Thaller G. (2010) Genomic selection in dairy cattle: Methods, current status and consequences. 10. GPZ Haupttagung "Innovations in Breeding Methodology", Freising-Weihenstephan, March 15.-17., Germany.

Thaller G. (2010) Genomische Selektion in der Milchrinderzucht: Stand und Ausblick auf die Pflanzenzüchtung. GFP-Futterpflanzentagung, Hohenlieth, 26.04.10, Germany.

Thaller, G. (2010) Geno-Track – Stand der Forschung. Fachbereichsversammlung Genomanalyse, October, 5.-6., Germany.

Thaller G. (2010) Genomische Selektion – Revolution in der Tierzucht? Einsatzmöglichkeiten in der Zuchtpraxis. VLF Wasserburg-Jungzüchter, Eisingen, 25.11., Germany.

Thaller G. (2010) Genomic selection in dairy cattle: Methods, current status and consequences. Institut für Biometrische Statistik, Lübeck, 17.12., Germany.

Thaller G. (2011) Wohin führt uns die Gentechnologie in der Rinderzucht? 28. Hatzendorfer Rinderfachtag, Hatzendorf, 11.01., Austria.

Thaller G. (2011) Stand und Konsequenzen der genomischen Selektion beim Milchrind. Tierwissenschaftliches Seminar, Hohenheim, 14.02., Germany.

Thaller G. (2011) Genomische Selektion – was geht mich das an? Mitgliederversammlung des RZV Oberfranken Bayreuth, 18.02., Germany.

Thaller G. (2011) Genomische Selektion – Fluch oder Segen für die bäuerliche Herdbuchzucht? Mitgliederversammlung des RZV Oberpfalz, Schwandorf, 4.03., Germany.

Thaller G. (2011) Neue Entwicklungen in der genomischen Zuchtwertschätzung und Selektion. Mitgliederversammlung der Arbeitsgemeinschaft der Besamungsstationen in Bayern e.V., Bad Windsheim 1.06, Germany.

Thaller G. (2011) Neue Entwicklungen in der genomischen Zuchtwertschätzung und Selektion. Mitgliederversammlung der Arbeitsgemeinschaft der Besamungsstationen in Bayern e.V., Bad Windsheim 1.06, Germany.

Tagungsbeiträge

Habier D. and Thaller G. (2009) Accuracy of genome-assisted breeding values for German Holstein Friesian bulls. 60th Annual Meeting of the EAAP, Barcelona, August 24-27, 2009, Spain.

Hinrichs D., Bennewitz J., Tetens J., Reinsch N. and Thaller G. (2010) A two step approach to detect interaction between QTL and a known major gene in dairy cattle. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, August 01-06, 2010, Germany; <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/index.html>.

Liu Z., Seefried F., Reinhardt F., Thaller G. and Reents R. (2010) Dairy cattle genetic evaluation enhanced with genomic information. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, August 01-06, 2010, Germany; <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/index.html>.

Pausch H., Fliskowski K., Jung S., Tetens J., Emmerling R., Edel C., Götz K.-U., Thaller G. and Fries R. (2010) Genomweite Assoziationsstudie identifiziert zwei QTL für den paternalen Kalbeverlauf beim Fleckvieh. Vortragstagung der DGfZ und GfT, Kiel, 2010, Germany.

Pimentel E.C.G., König S., Qanbari S., Reinhardt F., Tetens J., Thaller G. and Simianer H. (2009) Genomic footprints of influential sires in the Holstein population. 60th Annual Meeting of the EAAP, Barcelona, August 24-27, 2009, Spain.

Pimentel E.C.G., König S., Qanbari S., Reinhardt F., Tetens J., Thaller G. and Simianer H. (2009) Imputation of allele probabilities using information on relatives. Vortragstagung der DGfZ und GfT, Gießen, September 16-17, 2009, Germany.

Pimentel E.C.G., König S., Qanbari S., Reinhardt F., Tetens J., Thaller G. and Simianer H. (2009) Imputation of allele probabilities using information on relatives.: FUGATO Statusseminar, Kassel, October 14-15, 2009, Germany.

Pimentel E.C.G., Tietze M., Simianer H., Reinhardt F., Tetens J., Thaller G., Bauersachs S., Wolf E. and König S. (2010) Production and Fertility Traits in Dairy Cattle Using Genomic Data. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, August 01-06, 2010, Germany; <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/index.html>.

Qanbari S., Pimentel E.C.G., Tetens J., Thaller G. and Simianer H. (2009) LD pattern and signatures of recent selection in Holstein cattle. 60th Annual Meeting of the EAAP, Barcelona, August 24-27, 2009, Spain.

Qanbari S., Pimentel E.C.G., Tetens J., Thaller G., Sharifi A.R. and Simianer H. (2009) Footprints of Recent Positive Selection in Holstein Cattle. 13th QTL-MAS Workshop, Wageningen, April 20-21, 2009, The Netherlands.

Qanbari S., Gianola D., Thaller G., Schenkel F.S., Miller S., Moore S. and Simianer H. (2010) Assessing Selection Footprints Based On Breed Differentiation – An Application To Whole Genome Cattle Data. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, August 01-06, 2010, Germany; <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/index.html>.

Thaller G. (2010) Investigation of genetic correlation among traits using massive SNP genotype in German Holstein Population. Genetisch-Statistische Methoden der DGfZ, Fulda, September 28. -30., Germany.

Wang X., Flisikowski K., Pausch H., Jung S., Tetens J., Thaller G. and Fries R. (2010) Polymorphism analysis of genes in a 3.2-Mb region on bovine chromosome 5 associated with milk fat percentage. ISAG, Edinburgh, July 26-30, 2010, Scotland.

Zielke L.G., Bortfeldt R.H., Thaller G. and Brockmann G.A. (2010) Differences between haplotype and single SNP effects for a candidate gene affecting fat yield. 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, August 01-06, 2010, Germany; <http://www.kongressband.de/wcgalp2010/index.html>.

Zielke L.G., Bortfeldt R.H., Thaller G. and Brockmann G.A. (2010) BDNF – a candidate gene effecting milk fat yield in a Holstein-Friesian population. Vortragstagung der DGfZ und GfT, Kiel, 2010, Germany.

Seidenspinner T., Buttchereit, N., Tetens, J. and Thaller, G. Whole genome association study for energy balance and fat protein ratio in German Holstein bull dams. 62th Annual Meeting of the EAAP, Stavanger, August 29 –September 2, Norway.

Strucken, E.M., Bortfeldt R.H., Tetens, J., Thaller G. and Brockmann G.A. (2010) Genomweite Effekte auf Zuchtwerte abhängig vom Laktationsabschnitt in Holstein Friesians. Vortragstagung der DGfZ und GfT, Weihenstephan, 2011, Germany.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) <u>Schlussbericht</u>	
3. Titel GenoTrack: Hochdurchsatz SNP-Typisierung für die genomische Selektion beim Rind, Assoziationsstudien und populationsgenetische Analysen des Rindergenoms. Teilprojekt Kiel:		
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] <u>Thaller, Georg</u> <u>Tetens, Jens</u>	5. Abschlussdatum des Vorhabens <u>Februar 2011</u>	
	6. Veröffentlichungsdatum	
	7. Form der Publikation <u>Schlussbericht</u>	
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) <u>Institut für Tierzucht und Tierhaltung</u> <u>Christian-Albrechts-Universität</u> <u>Olshausenstraße 40</u> <u>D-24098 Kiel</u>	9. Ber. Nr. Durchführende Institution	
	10. Förderkennzeichen <u>FKZ: 0315134A</u>	
	11. Seitenzahl <u>30</u>	
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) <u>Bundesministerium für</u> <u>Bildung und Forschung (BMBF)</u> <u>53170 Bonn</u>	13. Literaturangaben <u>59</u>	
	14. Tabellen <u>3</u>	
	15. Abbildungen <u>10</u>	
16. Zusätzliche Angaben		
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)		
18. Kurzfassung Im Projekt wurden für unterschiedliche Milchrinderrassen und Kohorten von weiblichen und männlichen Rindern mit Hilfe der Chiptechnologie umfassende SNP-Genotypen generiert und den Projektpartnern für die Bearbeitung deren Teilprojekte zur Verfügung gestellt. Als erster Schritt wurden die Verwandtschaftsbeziehungen der Tiere zueinander untersucht und nach einem intensiven Studium der Literatur optimierte Stichproben an Tieren für die jeweiligen Aufgabenstellungen identifiziert. In Zusammenarbeit mit den Wirtschaftspartnern wurden Gewebeproben im Labor aufbereitet und die DNA extrahiert. Die DNA wurde nach einem mit dem Genotypisierungslabor abgestimmten Protokoll vorbereitet und verschickt. Die von dort überstellten Genotypen wurden umfassenden Plausibilitätskontrollen unterzogen und in eine projektbezogene Datenbank eingepflegt. Fragliche Genotypisierungen wurden beanstandet und vom zuständigen Labor wiederholt. Die Datenbank erlaubte den Projektpartnern den unmittelbaren Zugang zu allen Informationen bezüglich der Genotypen und deren Qualitätskriterien. Hinsichtlich der Auswertung der Genotypendaten wurden folgende Fragestellungen bearbeitet: (1) Entwicklung einer Methode zur genomischen Zuchtwertschätzung und Untersuchung möglicher Einflussfaktoren auf die Genauigkeit der Schätzwerte. Es wurden verschiedene methodische Ansätze (LS, Bayes Verfahren, genomisches BLUP) hinsichtlich ihrer Eignung getestet und die jeweiligen Eigenschaften und spezifischen Vorteile herausgearbeitet. Von besonderer Bedeutung war die Erkenntnis, dass die Verwandtschaftsbeziehungen in der Lernstichprobe sich nicht unerheblich auf die Schätzgüte der Kandidaten auswirken. (2) Genomweite Assoziations- und QTL-Studien der Rasse Holstein. Es wurden mit Methoden, die dem Stand der Technik entsprachen, genomweite Untersuchungen sowohl bei Bullen als auch bei Kühen durchgeführt. Es konnten eine Reihe interessanter Genomregionen identifiziert werden, die einen erheblichen Einfluss auf die Merkmalsausprägungen ausüben. Besonders interessant waren Ergebnisse von neuen Merkmalen, die in assoziierten FUGATO-plus Projekten (z.B. Energiebilanz MeGA-M) bearbeitet wurden. (3) Untersuchungen zur Struktur der genomischen Variation. Es wurde geprüft, wie die geschätzten SNP-Effekte der verschiedenen Merkmale über das Genom verteilt sind. Dazu wurden Parameter für eine flexible Verteilungsfunktion ermittelt und über die Chromosomen miteinander verglichen. Detaillierte Untersuchungen mit Hilfe von Haplotypen ermöglichten die Charakterisierung der genetischen Zusammenhänge auf der Ebene der Chromosomen. Insbesondere zeigte sich ein differenziertes Bild bezüglich der genetischen Korrelationen verschiedener Merkmale zueinander. (4) Nutzung genomischer Information. Es konnte gezeigt werden, dass die genomische Information neben der Verfügbarkeit genomischer Zuchtwerte zusätzliche Möglichkeiten der züchterischen Verbesserung für Milchrinderpopulationen eröffnet. Zum einen konnte gezeigt werden, dass die Streuung der elterlichen Beiträge zu den Nachkommen bestimmt und für die Erzeugung von Elitetieren genutzt werden kann. Zum anderen können genomisierte Anpaarungsstrategien auf die Nutzung nicht-additiver Geneffekte ausgerichtet werden, was durch reproduktionsbedingte Beschränkungen beim Rind in konventionellen Zuchtprogrammen nur begrenzt möglich war.		
19. Schlagwörter <u>Genotypisierung, Lernstichproben, Validierung, Genomdatenbank, genomische Zuchtwertschätzung, genomweite Assoziationsstudien, genomische Verwandtschaft, genomische Selektion, Zuchtplanung</u>		
20. Verlag	21. Preis	