

**FRUCHTBARKEITSOPTIMIERUNG DURCH
GENOMISCHE SELEKTION**

(A/11/20); KAPITEL 08 03 TG 53

FrOGS

*Endbericht des
Forschungsvorhabens*

Antragssteller und Projektpartner

1. Kurzdarstellung

Aufgabenstellung

Motivation

Planung und Ablauf des Vorhabens

2. Eingehende Darstellung der Ergebnisse

Probenbeschaffung, DNA-Aufbereitung (TZF/ Modul 1)

Genotypisierung 60k Chip (TZF/ Modul 1)

Erweiterung Datenbank, Anpassungen Schnittstelle, Datenübernahme und Archivierung (LKV/ Modul 2)

Implementierung der publizierten Methoden (LfL-ITZ/ Modul 3)

Erweiterte Untersuchungen (LfL-ITZ/ Modul 3)

Untersuchungen zur Kalibrierung/Validierung (LfL-ITZ/ Modul 3)

Implementierung der Routineanwendung (LfL-ITZ/ Modul 3)

Projektbegleitende Analysen zur Optimierung des Zuchtprogramms (LfL-ITZ/ Modul 3)

3. Arbeitsprogramm

4. Veröffentlichungen und Vorträge

FrOGS

Projektpartner

Organisationen und Ansprechpartner

LfL-ITZ	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft Institut für Tierzucht Prof. Dürrwaechter-Platz 1, 85586 Grub Dr. Jörg Dodenhoff Prof. Dr. Kay-Uwe Götz	Wissenschaftlicher Koordinator Dr. Jörg Dodenhoff Tel.: 089/99141-140 Fax: 089/99141-199 Joerg.Dodenhoff@lfl.bayern.de Kay-Uwe.Goetz@lfl.bayern.de
TZF	Tierzuchtforschung e.V. München Senator-Gerauer-Str. 23, 85586 Grub Dr. Ingolf Ruß	Dr. Ingolf Ruß Tel.: 089/9441969-0 Fax: 089/9441969-501 Ingolf.Russ@tzfgen-bayern.de
LKV	Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. Haydnstr. 11, 80336 München Dr. Jürgen Duda Dr. Josef Bergermeier	Dr. Jürgen Duda Tel.: 089/544348-47 Fax: 089/544348-40 Juergen.Duda@lkv.bayern.de Dr. Josef Bergermeier Tel.: 089/544348-33 Fax: 089/544348-30 flp.edv@lkv.bayern.de
CAU	Christian-Albrechts Universität Kiel Institut für Tierzucht und Tierhaltung Prof. Dr. Georg Thaller Marvin Gertz	Prof. Dr. Georg Thaller Tel.: 0431/880-7329 Fax: 0431/880-2588 gthaller@tierzucht.uni-kiel.de

FrOGS

1. Kurzdarstellung

Aufgabenstellung

Im Rahmen dieses Forschungsvorhabens sollte die Methodik der Genomischen Selektion (GS) beim Schwein erforscht werden. Insbesondere sollte untersucht werden, ob in der Anwendung der GS beim Schwein andere Ansätze gewählt werden müssen als beim Rind. Im Fokus der Arbeiten, die am Ende eine Implementierung der Routineanwendung vorsahen, sollte die Verbesserung der Fruchtbarkeit bei der Deutschen Landrasse (DL) durch die GS stehen. Zudem sollten projektbegleitende Analysen zur Optimierung des Zuchtprogramms durchgeführt werden.

Motivation

Europaweit wurden zum Zeitpunkt der Antragstellung von allen Zuchtunternehmen, auch von der EGZH Bayern, enorme Anstrengungen unternommen, um die Fruchtbarkeit zu verbessern. Ein breiter Einsatz der GS, auf deren Potential aus dem Bereich der Rinderzucht bereits eindeutige Hinweise vorlagen, wurde wegen der relativ hohen Kosten jedoch nur bei den größten Zuchtunternehmen erwartet. Aus diesem Grund sollte der bäuerlichen Herdbuchzucht über das Projekt FrOGS die Möglichkeit gegeben werden, mit Hilfe der GS auch langfristig konkurrenzfähig zu bleiben.

Aus der besonderen Struktur der Schweinezucht ergab sich zusätzlich eine Reihe von wissenschaftlichen Arbeitszielen, die in Projekten zur GS beim Rind nicht bearbeitet wurden. Dazu gehörten u.a. die Deregession von Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten sowie die Validierung eines genomischen Kalibrierungsverfahrens mit unsicheren Phänotypen. Um die Validierung über Rassen hinweg untersuchen zu können, sollten auch Eber der Rasse Deutsches Edelschwein (DE) typisiert werden.

Ein wichtiges übergeordnetes Ziel des Projekts war es, die bayerische Schweinezucht insgesamt, aber auch die einzelnen beteiligten Organisationen zu begehrten Partnern in möglichen überregionalen Kooperationen zu machen.

Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Forschungsvorhaben FrOGS wurde als Gemeinschaftsprojekt von LfL-ITZ, TZF, LKV und CAU konzipiert. Für die Bearbeitung der wissenschaftlichen Arbeitsziele war ein wissenschaftlicher Mitarbeiter (halbtags – befristet auf drei Jahre) vorgesehen, der von Prof. Thaller (CAU) betreut werden sollte. Die Projektpartner LfL-ITZ, TZF und LKV verfügten durch ihre Mitarbeit in ähnlichen Projekten über langjährige Erfahrungen.

FrOGS

Für eine effiziente Bearbeitung des Vorhabens wurde ein detaillierter Arbeitsplan erstellt (s. 3.). Abgestimmt auf die Kompetenzen der Projektpartner wurden die geplanten Arbeiten drei Modulen zugeordnet. Auf der Basis der spezifischen Arbeitsziele wurden die Module genauer eingeteilt. Für die einzelnen Aufgaben wurde ein Zeitplan erstellt. Um die Arbeiten jederzeit bewerten zu können, wurden Meilensteine mit einem entsprechenden Ergebnis definiert.

Die beantragte Stelle eines Wissenschaftlichen Mitarbeiters als Doktorand von Prof. Thaller (CAU Kiel) wurde mit M.Sc. agr. Marvin Gertz besetzt. Er kam regelmäßig für Arbeitsaufenthalte zum ITZ nach Grub, wo er von Dr. Edel, Dr. Dodenhoff und Dr. Neuner betreut wurde. Zusätzlich fanden in regelmäßigen Abständen Treffen statt, in denen die Projektpartner über den Stand der Arbeiten berichteten und in denen Zeitpläne und ähnliche Aspekte diskutiert wurden.

Fast alle Aufgaben der Arbeitsmodule konnten von den Projektpartnern erfolgreich und fristgerecht erledigt werden. Die Untersuchungen erbrachten eine Vielzahl von interessanten und wertvollen Erkenntnissen. Alle Ergebnisse wurden zeitnah kommuniziert. Auch die EGZH und die Besamungsstationen wurden regelmäßig über den Stand der Arbeiten unterrichtet. Eine Liste aller Veröffentlichungen und Vorträge findet sich im Anhang. Leider erforderten die bereits im Antrag als kritisch für die Anwendung einer Routine-GS beim Schwein identifizierten Arbeitsziele ‚Deregression bei Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten‘ und ‚Validierung mit unsicheren Phänotypen‘ einen deutlich höheren Zeitaufwand als ursprünglich angenommen. Da es gleichzeitig schneller als erwartet methodische Weiterentwicklungen im Bereich der GS gab (Two-Step – Single-Step), musste die Aufgabe ‚Implementierung der Routineanwendung‘ zurückgestellt werden. Eine detaillierte Übersicht der Ergebnisse des Arbeitsprogramms findet sich unten.

Insgesamt ist das Forschungsvorhaben FrOGS als sehr erfolgreich zu betrachten. Es hat die Grundlagen geliefert, damit die bayerische Schweinezucht weiterhin konkurrenzfähig sein kann, insbesondere wenn auch die Ergebnisse aus dem Anschlussprojekt InGeniS vorliegen. Die Projektpartner LKV und TZF konnten sich so profilieren, dass sie zukünftig wichtige Aufgaben in der vom Förderverein Biotechnologieforschung e. V. (FBF) koordinierten überregionalen Typisierung und SNP-Datenspeicherung übernehmen. Die Verfügbarkeit umfangreicher genomischer Daten hat auch dazu geführt, dass inzwischen konkrete Gespräche über eine Zusammenarbeit der verbleibenden deutschen Herdbuchorganisationen in der (genomischen) Zuchtwertschätzung ergeben haben.

FrOGS

2. Eingehende Darstellung der Ergebnisse

Probenbeschaffung, DNA-Aufbereitung (TZF/ Modul 1)

Basierend auf der Sicherheit des Gesamtzuchtwerts wurden vom ITZ aus den in den letzten 15 Jahren geprüften Ebern 450 bzw. 181 Eber der Rassen DL und DE für die Typisierung ausgewählt. Material dieser Eber (Blut, Gewebe) war bereits bei der Fa. GeneControl GmbH als Rückstellprobe eingelagert, da es für die Abstammungsüberprüfung bzw. für die Untersuchung des MHS-Status gesammelt worden war. Die Rückstellproben aus der Routinediagnostik stehen dem Mutterunternehmen Tierzuchtforschung e.V. München zu Forschungszwecken zur Verfügung. Bei der DNA-Aufbereitung der Proben dieser Besamungseber gab es einige Ausfälle; davon waren vor allem sehr alte Eber betroffen. Ein Teil der Ausfälle konnte dadurch kompensiert werden, dass die Besamungsstationen aus ihren Beständen neue Proben zur Verfügung stellten.

Um den Nachteil der geringen Anzahl an geprüften DL-Ebern wettzumachen, sollte die Kalibrierungsstichprobe in großem Umfang auch Sauen beinhalten. Dies erschien aus wissenschaftlicher Sicht vertretbar, da bei Schweinen die Unterschiede in der Sicherheit der geschätzten Zuchtwerte bei Sauen und Ebern deutlich geringer sind als beim Rind. Hinzu kam, dass mit der angedachten Vorgehensweise die „Kalibrierungslücke“ sowohl im ersten Ansatz, als auch langfristig deutlich verkürzt werden kann. In Bayern sind die Voraussetzungen für diesen Ansatz günstig, denn die EGZH unterhält für ihr wichtigstes Zuchtprodukt, die als Bayernhybriden bezeichneten Kreuzungs-Jungsauen, ein Basiszuchtprogramm. In diesem Programm wird die Sauenbasis intensiv züchterisch bearbeitet. Die Vermehrungsbetriebe der Bayernhybriden beziehen ihre Remontesauen ausschließlich aus dem Basiszuchtbetrieb. Die Abbildung 1 gibt einen Überblick der ausgewählten Eber und Sauen.

FrOGS

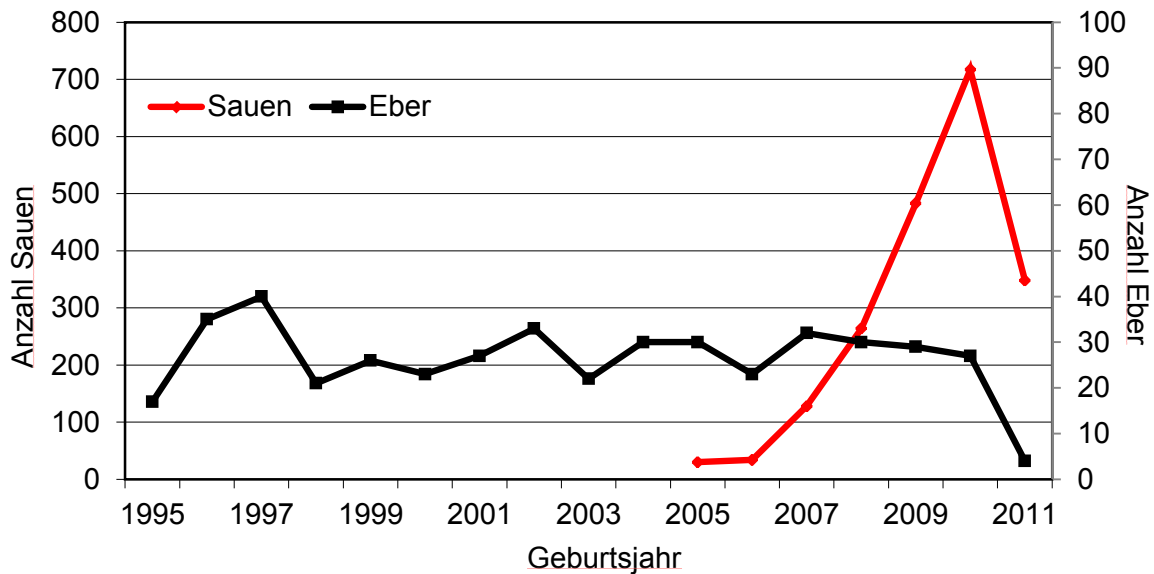


Abbildung 1: Anzahl der für die Typisierung ausgewählten Tiere nach Geschlecht und Geburtsjahr

Unmittelbar nach dem Start des Projekts wurde daher mit der Beschaffung der Proben von lebenden Sauen begonnen. Diese wurde von Günther Dahinten, Zuchtleiter Mutterrassen, koordiniert und von den Fachberatern Schweinezucht (Steinacker, Walther, Schmid), teilweise mit Unterstützung durch Ringassistenten des LKV, durchgeführt. Die 14 ausgewählten Betriebe haben die Probensammlung hervorragend unterstützt. Die Betriebe wurden bis November 2012 wiederholt besucht, um auch Proben von den in der Zwischenzeit nachgestellten Jungsauen zu beschaffen. Insgesamt standen 2.020 Proben zur Verfügung, darunter auch Proben von etwa 250 bereits abgegangenen Sauen des Basiszuchtbetriebs, die ebenfalls bei der GeneControl eingelagert waren. Leider war ein großer Teil der Proben eines großen Betriebs für die DNA-Aufbereitung unbrauchbar, vermutlich durch eine unsachgemäße Behandlung bei der Zwischenlagerung oder beim Versand.

Die Aufgaben dieses Arbeitsmoduls wurden konsequent und erfolgreich bearbeitet, so dass Meilenstein A des Arbeitsprogramms fristgerecht erreicht wurde.

Genotypisierung 60k Chip (TZF/ Modul 1)

Parallel zur Probenbeschaffung erfolgte bei TZF die Genotypisierung (Aufarbeitung der isolierten DNA, Hybridisierung an die PorcineSNP60 Genotyping BeadChips, Validierung der erhaltenen Genotypen), die Ende des Jahres 2012 abgeschlossen werden konnte. Die letzten SNP-Daten wurden im Januar 2013 an den Partner LKV für die Aufnahme in die Genomdatenbank überstellt.

In dieser Phase des Projekts brachte der Hersteller Illumina eine neue Version (v2) des PorcineSNP60 BeadChip auf den Markt. Es war jedoch davon auszugehen, dass der Einsatz

FrOGS

zweier verschiedener Versionen des Chips keine negativen Auswirkungen haben würde, denn nach Herstellerangaben betrug die Überlappung der enthaltenen Chips 98,4 %.

Im Rahmen des Projekts FrOGS wurden insgesamt 2.278 Tiere typisiert (516 Eber, 1.762 Sauen), also deutlich mehr als die angestrebten 2.000 Tiere. Das war möglich, da aufgrund einer Rabattaktion des Herstellers zusätzliche Chips zur Verfügung standen. Die Aufteilung dieser Chips auf die Projekte FrOGS und GOGS erfolgte in enger Absprache zwischen Tierzuchtforschung e.V. und ITZ.

Auch die Aufgabe dieses Arbeitsmoduls, und damit Meilenstein D, konnte im angestrebten Zeitrahmen erledigt werden.

Erweiterung Datenbank, Anpassungen Schnittstelle, Datenübernahme und Archivierung (LKV/ Modul 2)

Beim LKV existierte bereits eine Genotypendatenbank für Rindergentypen. Diese war so programmiert, dass Daten von beliebigen Chiptypen gespeichert werden konnten. Die Datenbank wurde bereits damals bundesweit für die Routineabwicklung der genomischen Selektion der ASR-Rassen in der Rinderzucht genutzt. Im Hinblick auf die angestrebte bundesweite Kompetenz bot die Datenbank bereits im Rahmen der überregionalen ASR-Tätigkeit die technischen Voraussetzungen, Daten unabhängig vom DB-System LuZ2006 zu speichern und auszutauschen.

Das LKV konnte die bestehende Genom-Datenbank problemlos erweitern, um Daten des in diesem Projekt verwendeten porcinen SNP-Chips speichern zu können. Die Schnittstelle zur Labordatenausgabe wurde angepasst. Meilenstein C des Arbeitsprogramms wurde fristgerecht erreicht. Mit der Übernahme der SNP-Daten von TZF wurde auch Meilenstein G erreicht.

Implementierung der publizierten Methoden (LfL-ITZ/ Modul 3)

Herr Gertz konzentrierte sich zunächst auf die wissenschaftlichen Arbeitsziele ‚Deregression bei Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten‘ und ‚Validierung mit unsicheren Phänotypen‘. Dazu hat er u.a. mittels einer sehr aufwendigen Simulation die Eignung verschiedener Responsevariablen für die Kalibrierung untersucht. Dabei hat Herr Gertz auch mit Frau Dr. Wensch-Dorendorf (Martin-Luther-Universität Halle) zusammengearbeitet. Für die GS werden geeignete abhängige Variablen (Responsevariablen) benötigt. Hierfür kommen unter anderem BLUP-Zuchtwerte oder beispielsweise deregressierte Zuchtwerte in Frage. Das

FrOGS

Problem bei der GS für Fruchtbarkeitsmerkmale ist, dass die Genauigkeiten der zugehörigen Zuchtwerte generell ein niedriges Niveau haben, welches aufgrund der Strukturen in der Schweinezucht nochmals nachteilig beeinflusst wird. Abbildung 2 zeigt, dass die Sicherheit des Gesamtzuchtwerts (GZW) der Eber bei etwa 80 % liegt, die der Sauen bei 60 bis 70 %. In den jüngeren Geburtsjahren sind die Sicherheiten erwartungsgemäß deutlich niedriger, weil noch keine oder sehr wenige Eigen- bzw. Nachkommenleistungen vorliegen.

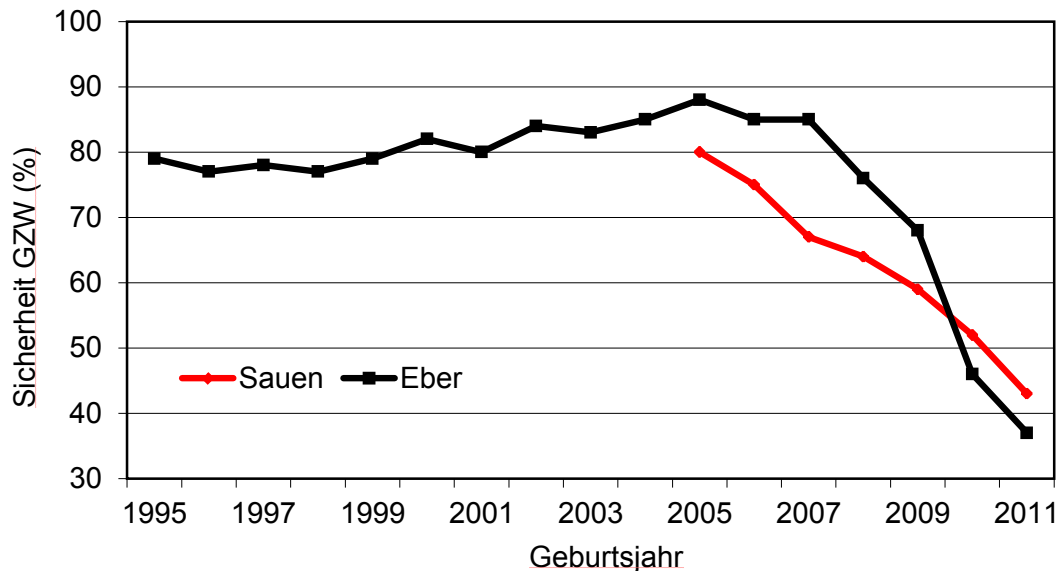


Abbildung 2: Sicherheit des Gesamtzuchtwerts nach Geschlecht und Geburtsjahr

Ein Zuchtwert mit geringer Sicherheit wird aufgrund der Eigenschaften von BLUP verstärkt zum Elternmittel regressiert. Dieser Effekt ist allerdings bei genomischen Verfahren unerwünscht und muss durch Verfahren der Deregression aufgehoben werden. Herr Gertz hat analysiert, wie sich die so deregressierten Responsevariablen im Vergleich mit dem reinen Phänotyp und dem konventionellen BLUP-Zuchtwert bezüglich der Korrelation zwischen gBLUP-Zuchtwerten und wahren Zuchtwerten verhalten und ob die deregressierte Responsevariable bei Fruchtbarkeitsmerkmalen uneingeschränkt vorzuziehen ist. Er konnte zeigen, dass die deregressierten Responsevariablen in allen Szenarien die höchste Korrelation liefern. Die Ergebnisse hat Herr Gertz auf der Vortragsstagung der DGfZ und GfT am 12./13. September 2012 in Halle/Saale vorgestellt.

Im Anschluss an die Simulationsstudie sollten verschiedene publizierte Methoden zur GS im Hinblick auf ihre Eignung für die Routine untersucht werden. Als phänotypische Merkmale wurden mit den Merkmalen Lebend geborene Ferkel (LGF; $h^2 = 0.24$) und Fleischanteil (FLAN; $h^2 = 0.6$) sowohl ein mittel-, als auch ein hoch erbliches Merkmal ausgewählt. Herr Gertz rief die Typisierungsdaten aus der Genomdatenbank des LKV ab und nahm mit den

FrOGS

SNP-Daten umfangreiche Untersuchungen vor. Dabei konnte er sich zum Teil an den Arbeitsabläufen in der GS für Fleckvieh und Braunvieh orientieren. Die erste Überprüfung der Daten erfolgte auf der Marker-Ebene. Dabei wurde nach Hardy-Weinberg Gleichgewicht, Minor-Allele-Frequency, Callrate und Heterozygotierate, sowie anschließend auf Ebene des Tieres die tierspezifische Callrate gefiltert. In diesem Schritt wurden 86 Tiere ausgeschlossen. In weiteren Analyseschritten wurde versucht, vertauschte Proben, falsche Abstammungen oder Folgefehler zurückliegender Verwechslungen aufzudecken und zu eliminieren. Dazu wurden aus Markerinformationen berechnete Verwandtschaftskoeffizienten mit den theoretischen Erwartungen nach dem Pedigree abgeglichen. In diesem Schritt wurden 13 Tiere aus der weiteren Auswertung ausgeschlossen. Von den zum Zeitpunkt des Datenabrufs (16.11.2012) 1.982 typisierten DL-Tieren verblieben nach der Aufbereitung somit noch 1.883 Tiere. Für 15 Tiere konnte kein deregressierter Zuchtwert berechnet werden, so dass für die Aufteilung in Kalibrierung und Validierung 1.868 Tiere (314 Eber und 1.554 Sauen) verfügbar waren.

Im nächsten Schritt wurden die Zuchtwerte der gefilterten Tiere deregressiert. Anschließend wurde die Tierstichprobe in Validierungs- und Kalibrierungstiere unterteilt, um die Güte der Schätzung beurteilen zu können. Dazu wurden über eine sog. ‚forward-prediction‘ realisierte Sicherheiten berechnet. Unter ‚forward-prediction‘ versteht man ein Verfahren, bei dem die genomisch-optimierten Zuchtwerte von jungen Tieren berechnet werden, ohne hierbei die bereits vorliegenden Informationen aus Eigen- und Nachkommenleistungen zu berücksichtigen. In einem zweiten Schritt werden diese genomischen Zuchtwerte mit den ‚endgültigen‘ Zuchtwerten unter Einbeziehung der zunächst nicht berücksichtigten Informationen verglichen. Auf diesem Weg kann eine ungefähre Abschätzung der Qualität der Schätzung vorgenommen werden. Die Gruppe der Tiere, an denen dieser Vergleich vorgenommen wird, wird allgemein als Validierungsgruppe bezeichnet. Der Datenschnitt für die ‚forward-prediction‘ wurde dabei so gewählt, dass die Sauen des Geburtsjahrgangs 2011 keine Nachkommenleistungen (FLAN) bzw. keine Eigenleistung (LGF) hatten. Für die Validierungsgruppe wurden im Merkmal LGF nur Tiere mit mindestens zwei Würfen berücksichtigt. Für das Merkmal LGF wurden somit 1.529 Tiere für die Kalibrierung und 158 Tiere für die Validierung ausgewählt. Für das Merkmal FLAN wurden 947 Tiere für die Kalibrierung und 322 Tiere für die Validierung ausgewählt.

Die eigentliche Schätzung der genomischen Zuchtwerte erfolgte mit der Methode gBLUP. Die berechneten direkten genomischen Zuchtwerte (gdZW) wurden im letzten Schritt noch über ein Blending-Verfahren mit den Pedigree-Zuchtwerten zum genomisch optimierten Zuchtwert (goZW) kombiniert. Die realisierten Sicherheiten der genomischen Zuchtwerte lagen insbesondere im Merkmal LGF mit 0,58 deutlich über der Sicherheit des reinen Pedigreezuchtwerts (0,38). Im Merkmal FLAN war der Zugewinn an realisierter Sicherheit mit

FrOGS

0,44 (goZW) gegenüber 0,41 weniger deutlich ausgeprägt. Die Ergebnisse bestätigten die theoretischen Erwartungen. Im Bereich der Fruchtbarkeit lässt die GS durchaus größere Fortschritte erwarten. Die Auswertung wurde nach Abschluss der Typisierungen mit ähnlichen Ergebnissen wiederholt. Diese wurden auf mehreren wissenschaftlichen Tagungen vorgestellt (Schweine-Workshop Uelzen, EAAP Meeting).

Die für diese Untersuchungen benötigten Zuchtwerte wurden vom ITZ bereitgestellt. In enger Absprache mit Gertz wurden dabei verschiedene Varianten, in erster Linie im Hinblick auf die Einteilung der Tiere in Kalibrierung und Validierung, getestet. Sukzessive wurden alle Merkmale in die Untersuchungen einbezogen, bis im Spätsommer 2013 ein Überblick der realisierten Sicherheiten aller genomischen Zuchtwerte vorlag. Im letzten Schätzlauf konnten die SNP-Daten von 2.016 DL-Tieren (338 Eber, 1.678 Sauen) berücksichtigt werden. 99 Tiere mussten wegen Konflikten ausgeschlossen werden. In Tabelle 1 sind für einige ausgewählte Merkmale die Sicherheit des Pedigree-Zuchtwerts und die theoretische Sicherheit des genomisch-optimierten Zuchtwerts aufgeführt. Sowohl für die Fruchtbarkeitsmerkmale als auch für die Merkmale der Stationsprüfung ergibt sich ein Zugewinn an Sicherheit.

Tabelle 1: Theoretische Sicherheiten der genomischen Zuchtwerte

Merkmal	Pedigree-Zuchtwert	Genomisch-optimierter Zuchtwert
Lebend geborene Ferkel	0,38	0,57
Abgesetzte Ferkel	0,32	0,50
Tägl. Zunahme	0,37	0,49
Muskelfleischanteil	0,43	0,57
Intramuskuläres Fett	0,43	0,57
Tropfsaftverlust	0,35	0,46

In diesem Modul des Arbeitsprogramms kam es zu Verzögerungen; der Meilenstein C konnte erst mit mehr als einjähriger Verspätung erreicht werden. Die Simulationsstudie nahm deutlich mehr Zeit in Anspruch als vorgesehen. Zudem erwies sich die Deregression von Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten als sehr schwierig. Leider konnte dabei auch nicht auf Erfahrungen aus dem Rinderbereich zurückgegriffen werden.

Erweiterte Untersuchungen (LfL-ITZ/ Modul 3)

Mit der bereits aufbereiteten Stichprobe aus dem Modulpunkt ‚Implementierung der publizierten Methoden‘ wurde auch eine genomweite Assoziationsanalyse (GWAS) durchgeführt. Das Ziel einer GWAS besteht darin, SNP-Marker zu identifizieren, die sich im Kopplungsgleichgewicht mit kausalen Genomregionen befinden (assoziiert sind). Lässt sich eine solche Genomregion oder sogar ein spezifisches Gen identifizieren, kann diese Information direkt

FrOGS

für die Zucht nutzbar gemacht werden und ermöglicht oftmals tiefgreifende Erkenntnisse über physiologische Prozesse. Für GWAS sind generell große Stichproben mit sicher geschätzten Zuchtwerten notwendig, was bei dem vorliegenden Datensatz allerdings nur teilweise zutraf. Aus diesem Grund wurde das sehr robuste GWAS-Verfahren EIGENSTRAT verwendet, bei dem die statistischen Störsignale mit Hilfe der Eigenwerte und Vektoren der genomischen Verwandtschaftsmatrix korrigiert werden. Um eine Aussage über die statistische Signifikanz der assoziierten SNP-Marker treffen zu können, wurde ein Permutations-Ansatz mit 2.000 Wiederholungen gewählt. Ziel einer solchen Permutation ist es, eine Verteilung der F-Statistik unter der Nullhypothese zu ermitteln. Ist dies geschehen, können die ursprünglichen Assoziationen mit dieser Verteilung verglichen werden und es kann eine Aussage darüber getroffen werden, ob ein Marker rein zufällig assoziiert ist oder nicht. Die maximal zulässige Rate falsch-positiver Ergebnisse wurde dabei auf 0,1 % begrenzt. Um den positiven Effekt der Deregression auch in der GWAS voll berücksichtigen zu können, wurden die für die GWAS genutzten Phänotypen im Vorfeld deregressiert. Weiterhin wurde die Tierstichprobe anhand eines während des Prozesses der Degression berechneten Gewichtsmaßes gefiltert. Ein solches Gewicht kann als ein Maß für die Bedeutsamkeit des einzelnen Phänotyps im Kontext der statistischen Analyse interpretiert werden. In diesem Filterschritt wurden somit nur die Tiere für GWAS ausgewählt, welche mindestens das Äquivalent einer Eigenleistung zur Analyse beitragen konnten. Ein Filteransatz in dieser Form wurde bisher noch nicht beschrieben und stellt daher eine methodische Erweiterung für GWAS-Untersuchungen dar. Es wurden alle verfügbaren Merkmale für die Auswertung berücksichtigt, und es konnten signifikante Marker für die Merkmale Lebend geborene Ferkel, Aufgezogene Ferkel, Muskelfleischanteil, Fleischanteil im Bauch, Rückenmuskelfläche, Fleisch:Fett-Verhältnis, Schlachtkörperlänge und Tropfsaftverlust gefunden werden. Um mögliche Kandidaten-Gene zu identifizieren, wurden jeweils die flankierenden Regionen um diese Marker herum mit Hilfe von verschiedenen Datenbanken analysiert. Das dabei zugrundeliegende Suchfenster umfasste jeweils 1 Million Basenpaare (Mb) vor und hinter den signifikanten Markern. In diesem letzten Analyseschritt konnten mehrere Gene mit passender physiologischer Funktion identifiziert sowie bereits bekannte Assoziationen mit vergleichbaren Merkmalen repliziert werden. Die gefundenen Ergebnisse stellen damit eine sehr gute Basis für eine mögliche spätere Feinkartierung dar. Des Weiteren wurde jedoch vor allem für die wissenschaftlich und züchterisch interessanten Fruchtbarkeitsmerkmale auch eine Vielzahl potentieller Assoziationen beobachtet, die allerdings keine hinreichende Signifikanz erreichen konnten. Dieses Ergebnis deutet an, dass besonders für die Fruchtbarkeitsmerkmale weiterhin ein enormes Potential für GWAS-Untersuchungen besteht, es allerdings auch notwendig ist, eine Vergrößerung der Stichprobe in Betracht zu ziehen. Die berichteten Ergebnisse befinden sich zurzeit in Vorbereitung für eine wissenschaftliche Veröffentlichung. Somit konnten

FrOGS

einige der in diesem Modul angestrebten Untersuchungen abgeschlossen werden; Meilenstein E wurde also in Teilen erreicht.

Untersuchungen zur Kalibrierung/Validierung (LfL-ITZ/ Modul 3)

Genomische Zuchtwerte (gBV), die auf Basis von deregressierten Zuchtwerten (dEBV) geschätzt wurden (gBVdEBV), erzielen höhere Sicherheiten als gBV, die auf konventionellen BLUP-Zuchtwerten (EBV) basieren. Erste Ergebnisse mit realen Daten aus der DL-Mutterlinie der Bayerischen Herdbuchpopulation bestätigten die Vorzüglichkeit dieser Vorgehensweise. Ungeachtet dessen stellte sich die Frage einer optimalen Validierung des gBV, die für ein entsprechendes Zuchtsystem sehr wichtig ist. Ein zielgerichteter Ansatz aus der Rinderzucht ist die ‚forward-prediction‘ (s.o.). Das Verfahren ermöglicht eine valide Aussage über die in den gBV erreichte Genauigkeit und Erwartungstreue. In einer Simulationsstudie mit einem an die Schweinezucht angelehnten GS-Szenario sollte die Güte der gBVs untersucht werden, wobei als abhängige Variablen für die ‚forward-prediction‘ konventionelle BLUP Zuchtwerte und nach der Garrick-Methode deregressierte Zuchtwerte verwendet wurden. Für die stochastische Simulation wurde das Programmpaket QMSim verwendet. Damit wurde eine Datenstruktur erzeugt, welche einer realen Schweinepopulation möglichst nahe kommt. Der genetische Hintergrund für das zu untersuchende Merkmal wurde variiert und neun unterschiedliche Szenarien, die sich aus der Kombination von drei unterschiedlichen Heritabilitäten (0,6, 0,25, 0,06) mit drei Varianten bzgl. der Anzahl von QTL (500, 50, 10) ergaben, betrachtet. Für die Validierungsmethode der ‚forward-prediction‘ wurden zwei Datensätze mit Zuchtwertinformationen zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Zuchtgeschehens erstellt.

Mit den resultierenden Datensätzen wurde die ‚forward-prediction‘ durchgeführt, wobei neben den in der Simulation verfügbaren ‚wahren‘ Zuchtwerten jeweils der EBV sowie der dEBV aus dem kompletten Datensatz als abhängige Variable der Regression auf den gBVdEBV des verkleinerten Datensatzes genutzt wurde. Die Evaluationskriterien waren dabei die Genauigkeit (R^2) und die Erwartungstreue, die sich aus dem Regressionskoeffizienten (b) ergab. Für jedes Szenario wurden 30 Wiederholungen durchgeführt und die entsprechenden Kennzahlen ermittelt. Zusammenfassend zeigte sich, dass die Genauigkeit des gBVdEBV durch keine der in dieser Arbeit untersuchten Variablen hinreichend genau beschrieben werden konnte. Relativ gesehen konnte der EBV allerdings eine leicht bessere Übereinstimmung mit der ‚wahren‘ Genauigkeit erreichen. Die Erwartungstreue des gBV konnte mit dem dEBV deutlich besser abgebildet werden. In dieser Konsequenz ist der dEBV die geeignetere Variable, da, bei geringer Einbuße in der Genauigkeit, die Erwartungstreue deutlich bessere war. Da beide Variablen die Genauigkeit, gerade bei geringer Erblichkeit,

FrOGS

nur sehr ungenau abbilden, können diese Angaben in der Zuchtpraxis allerdings nur mit Vorsicht genutzt werden. Kritisch anzumerken ist, dass nur eine kleine Validierungsstichprobe genutzt wurde, wodurch der Einfluss des einzelnen Tieres als relativ groß anzunehmen ist (Stichprobeneffekt) und die Ergebnisse somit eher einen Spezialfall darstellen. Die Ergebnisse hat Herr Gertz auf der Vortragstagung der DGfZ und GfT am 4./5. September 2013 in Göttingen vorgestellt. Auch auf der Tagung der Projektgruppe 'Genetisch-Statistische Methoden' der DGfZ vom 24.09.-26.09. 2013 in Schwarzenau wurden die Ergebnisse präsentiert. Eine Publikation ist in Vorbereitung.

Das Thema der Validierung hat sich dann bei den weiteren Arbeiten mit dem FrOGS-Material als so kritisch erwiesen, dass es noch einmal aufgegriffen wurde. Bei einer erneuten Simulation wurde insbesondere der Einfluss der Zusammensetzung der Validierungsstichprobe auf die Sicherheit der genomischen Zuchtwerte untersucht. Die Ergebnisse wurden auf der Vortragstagung der DGfZ und GfT am 17./18. September 2014 in Dummerstorf präsentiert. Damit wurde der Meilenstein F des Arbeitsprogramms zum geplanten Zeitpunkt erreicht. Allerdings steht eine Bestätigung der Ergebnisse mit realen Daten noch aus.

Implementierung der Routineanwendung (Lfl-ITZ/ Modul 3)

Wie oben erwähnt, erforderten einige der spezifischen Arbeitsziele des LFL-ITZ-Moduls 3, insbesondere Untersuchungen zur Deregression bei Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten, einen deutlich höheren Zeitaufwand als ursprünglich angenommen. Zudem wurde im Rahmen dieses Projekts zwar ein Modell entwickelt, mit dem man Zuchtwerte schätzen könnte, es hat sich jedoch in der genomischen Zuchtwertschätzung beim Rind gezeigt, dass das ab-sätzliche Verfahren (Two-Step-Verfahren) arbeitswirtschaftlich nicht zu bewältigen ist. Dafür zeigte sich, dass das sog. Single-Step-Verfahren inzwischen realisierbar erschien. Dieses Verfahren hat den Vorteil, dass alle Zuchtwerte (konventionell und genomisch) im selben Modell geschätzt werden und es somit in die Routine eingebunden werden kann. Dies stellt arbeitswirtschaftlich einen erheblichen Vorteil dar. Diese Erkenntnisse führten zu einem Strategiewechsel: Im Rahmen des im Herbst 2013 konzipierten Projekts InGeniS soll eine routinefähige Zuchtwertschätzung mit Hilfe der Single-Step-Methode implementiert werden. Meilenstein I war damit nicht mehr Ziel des Projekts FrOGS. Als Folge wurden auch Datenabfrage und Ergebnisdarstellung (LKV-Modul 2, Meilenstein H) zurückgestellt.

Projektbegleitende Analysen zur Optimierung des Zuchtprogramms (Lfl-ITZ/ Modul 3)

Ungeachtet der Verzögerung bei der Einführung der Routineanwendung wurden intensive Überlegungen zur Umsetzung der GS in der bayerischen Schweinezucht angestellt. Neben

FrOGS

der Möglichkeit der Vorselektion von Kandidaten für den Besamungseinsatz wurden weitere Nutzungsmöglichkeiten für genomische Zuchtwerte beleuchtet, u.a. Anomalien, Ebergeruch, Erleichterung von Importen und Erleichterung von Expansion.

Für den Übergang zu einem Routinesystem wurden verschiedene Varianten ausgearbeitet, die sich in folgenden Punkten unterscheiden:

- Im organisatorischen Aufwand
- In den entstehenden Typisierungskosten
- In den Kosten für zusätzliche bzw. wegfallende Leistungsprüfungen
- In den Konsequenzen für die Züchter

Insbesondere von den Zuchtleitern wurden konkrete Konzepte hinsichtlich Auswahl der zu typisierenden Tiere, zum Zeitpunkt der Typisierung, etc. erstellt. Alle Überlegungen wurden regelmäßig im Lenkungsgremium für die Schweinebesamung in Bayern, in dem die EGZH und die Besamungsstationen vertreten sind, vorgestellt und diskutiert.

Die Aufgaben dieses Arbeitsmoduls konnten wegen der fehlenden Routineanwendung nicht in vollem Umfang erfüllt werden. Daher wurde der Meilenstein J nur teilweise erreicht.

Zusammenarbeit mit anderen Projekten

Fast zeitgleich mit dem Projekt FrOGS startete das Projekt "pigGS – Neue Beiträge zur Optimierung der Schweinefleischproduktion" mit dem Ziel, eine genomische Selektion für die Mutterassen in der Deutschen Schweinezucht zu entwickeln. Es wurde durch den FBF Bonn (Dr. Bianca Lind), die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn (Dr. Ernst Tholen) und die Georg-August-Universität Göttingen (Prof. Dr. Henner Simianer) bearbeitet. Über die Mitgliedschaft der bayerischen Besamungsstationen BVN und Bayern-Genetik waren auch bayerische Eber für eine Typisierung vorgesehen. Um die damit verbundene Doppeltypisierung von Ebern zu vermeiden, wurde zwischen den beiden Projekten ein Probenaustausch vereinbart. Gemäß unserer Empfehlung wurden aus dem Projekt pigGS die Kosten für die Genotypisierung von 260 Ebern aus Bayern bei Tierzuchtforschung übernommen. Die Informationen der insgesamt etwa 520 bayerischen Eber standen dann beiden Projekten zur Verfügung.

Die Zusammenarbeit mit dem Projekt pigGS war insbesondere deshalb von Bedeutung, weil wir insofern unmittelbar Einblick erhielten in die Möglichkeiten einer Kooperation zwischen verschiedenen unabhängig agierenden Zuchtorganisationen auf dem Gebiet der GS. Die wesentliche Erkenntnis hierbei war, dass eine Zusammenfassung der Kalibrierungstichproben verschiedener Organisationen keinen erkennbaren Nutzen brachte. Die Gründe hierfür

FrOGS

waren die Stratifikation der Populationen, die nicht vergleichbaren Zuchtwerte und die mangelnden Verknüpfungen zwischen den Zuchtpopulationen.

Ausblick

Die Etablierung eines sinnvollen genomischen Selektionsverfahrens in der bayerischen Schweinezucht erweist sich als wesentlich schwieriger als ursprünglich geplant. Dass dies keine Besonderheit darstellt, zeigen die Ergebnisse des pigGS-Projekts, bei dem ebenfalls keine unmittelbar in der Praxis verwertbaren Ergebnisse erzeugt werden konnten. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann man mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen, dass Mitbewerber, die bereits mit der Anwendung der genomischen Selektion werben, wirklich substantielle Zugewinne an Sicherheit in der Selektion erzielen. Bayern verfügt im Rahmen der Projekte FrOGS und InGeniS über die größten europäischen Kalibrierungstichproben und über eine sehr hohe Sicherheit der Zuchtwerte der Kalibrierungstiere. Unsere Methodenkompetenz dürfte auf Grund der Erfolge in der GS beim Rind ebenfalls außer Frage stehen. Die in Tab. 1 dargestellten Sicherheiten sehen zwar sehr positiv aus, es handelt sich dabei aber um theoretische Sicherheiten, die sowohl den Pedigree-ZW, als auch den genomischen Zuchtwert etwas optimistisch darstellen. Wir müssen damit rechnen, dass wir im Projekt InGeniS weitere intensive Forschungsarbeiten betreiben müssen, um tatsächlich einen signifikanten Nutzen aus der GS zu erzielen. Dies gilt umso mehr für die Rasse Piétrain, da bei dieser der Vorteil einer Verkürzung des Generationsintervalls im Gegensatz zu Mutterrassen nicht zum Tragen kommt.

FrOGS

3. Arbeitsprogramm

Arbeitsmodule Aufgabe	Partner	Quartal nach Projektbeginn											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Probenbeschaffung, DNA-Aufbereitung	TZF-Modul 1		A										
Erweiterung Datenbank, Anpassungen Schnittstelle	LKV-Modul 2		B										
Implementierung der publizierten Methoden	LfL-ITZ-Modul 3			C									
Genotypisierung 60k Chip	TZF-Modul 1		D										
erweiterte Untersuchungen (Haplotypen, Polygene Effekte, Stratifizierung)	LfL-ITZ-Modul 3										E		
Untersuchungen zur Kalibrierung/ Validierung	LfL-ITZ-Modul 3								F				
Datenübernahme und Archivierung	LKV-Modul 2			G									
Datenabfrage und Ergebnisdarstellung	LKV-Modul 2					H							
Implementierung der Routineanwendung	LfL-ITZ-Modul 3												I
Projektbegleitende Analysen zur Optimierung des Zuchtprogramms	LfL-ITZ-Modul 3												J

Meilensteine	Ergebnis
A	DNA von etwa 2.000 Ebern und Sauen ist verfügbar und aufbereitet
B	Erweiterung Datenbank durchgeführt
C	Verschiedene Standardmethoden für weitere Untersuchungen implementiert
D	Genotypisierung der Proben ist abgeschlossen
E	Entscheidung zu den merkmalspezifisch besten Vorgehensweisen getroffen
F	Analysen zur Einteilung Kalibrierungs- und Validierungsstichprobe abgeschlossen
G	Datenbankprogrammierung zur Datenübernahme und Archivierung abgeschlossen
H	Datenabfrage und Ergebnisdarstellung abgeschlossen
I	Routineanwendung implementiert, offizielle Testläufe durchgeführt und kommuniziert
J	Projektbegleitende Analysen durchgeführt, Vorschläge zur Effizienzsteigerung erarbeitet und kommuniziert

4. Veröffentlichungen und Vorträge

Veröffentlichungen

- Dodenhoff, J. (2011): Schweinezucht in Bayern - Große Sprünge in der Fruchtbarkeit durch Genomische Selektion, 11, Der Schweineprofi, 10
- Dodenhoff, J. (2014): Schub für die Schweinezucht. Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt (BLW), 37, 34 - 35
- Gertz, M., Edel, C., Dodenhoff, J., Götz, K.-U., Thaller, G. (2013): Genomische Selektion bei Mutterlinien - Projekt FrOGS. DGfZ-Schriftenreihe, Heft 62, 2013, 9. Schweine-Workshop, Uelzen 2013, Hrsg.: DGfZ, 137 - 144
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G. (2013): Genomic selection in German Landrace. Book of Abstracts of the 64th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, 19, Hrsg.: EAAP, 389 - 389
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G. (2013): Simulationsstudie zur Validierung genomischer Zuchtwerte bei Mutterlinien. Tagungsband DGfZ-/GfT- Vortragstagung
- Gertz, M., Edel, C., Wensch-Dorendorf, M., Dodenhoff, J., Götz, K.-U., Thaller, G. (2012): Deregression bei Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten in Verfahren zur genomischen Zuchtwertschätzung. Tagungsband DGfZ-/GfT- Vortragstagung
- Gertz, M., Heuer, C., Krattenmacher, N., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Ruß, I., Thaller, G. (2014): Genomic Selection in Pigs: How to Validate. Tagungsband DGfZ-/GfT- Vortragstagung
- Gertz, M., Edel, C., Dodenhoff, J., Wensch-Dorendorf, M., Ruß I., Götz, K.-U., Thaller, G. (2015): Validation of Genomic Breeding Values with Low Reliabilities for Genomic Selection. Journal of Animal Breeding and Genetics (accepted)
- Gertz, M., Edel, C., Dodenhoff, J., Ruß I., Götz, K.-U., Thaller, G. (2015): Implementation of Genomic Selection into the Bavarian German Landrace. (In Vorbereitung)
- Gertz, M., Edel, C., Dodenhoff, J., Ruß I., Götz, K.-U., Thaller, G. (2015): A whole-genome association study for fertility-, carcass- and performance-traits in the Bavarian German Landrace. (In Vorbereitung)
- Götz, K.-U. (2014): Was sind genetische Marker? Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt (BLW), 35
- Götz, K.-U. (2014): Was versteht man unter genomischer Selektion? Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt (BLW), 37/2014, 34

Vorträge

- Dahinten, G.: 'Umsetzung von FrOGS in die Praxis, Grub, 08.07.2013, Sitzung Lenkungsgremium, LfL
- Dahinten, G.: 'Neue Wege der Datenerhebung ', Himmelkron, 21.01.2014, Regionalversammlung EGZH, EGZH
- Dahinten, G.: 'Aktuelles aus der Schweinezucht', Himmelkron, 04.02.2014, Mitgliederversammlung VOS, EGZH
- Dahinten, G.: 'Zuchtstrategien', Neustadt/A, 09.10.2014, Züchterratsitzung, EGZH
- Dodenhoff, J.: 'Genomische Selektion beim Schwein', Grub, 04.07.2011, LfL-ITZ
- Dodenhoff, J.: 'Das Projekt FrOGS', Kassel, 08.12.2011, Förderverein Biotechnologieforschung
- Dodenhoff, J.: 'Stand der Genomischen Selektion beim Schwein in Bayern', Denkendorf, 22.03.2012, Züchtertagung, LfL/EGZH

FrOGS

- Dodenhoff, J., Götz, K.-U.: 'Research Project FrOGS – Approach, First Results', Mariensee, 19.09.2012, Tagung Projektgruppe 'Genetisch-Statistische Methoden' der DGfZ, DGfZ
- Gertz, M., Edel, C., Wensch-Dorendorf, M., Dodenhoff, J., Götz, K.-U., Thaller, G.: 'Deregression bei Zuchtwerten mit niedrigen Sicherheiten in Verfahren zur genomischen Zuchtwertschätzung', Halle/Saale, 13.09.2012, DGfZ-/GfT- Vortragstagung, DGfZ
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G.: 'Genomische Selektion bei Mutterlinien - Projekt FrOGS', Uelzen, 20.02.2013, 9. Schweine-Workshop, CAU Kiel
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G.: 'Genomic selection in German Landrace', Nantes, 28.08.2013, 64th EAAP Meeting, EAAP
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G.: 'Simulationsstudie zur Validierung genomischer Zuchtwerte bei Mutterlinien', Göttingen, 04.09.2013, DGfZ-/GfT- Vortragstagung, DGfZ
- Gertz, M., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Thaller, G.: 'Simulationsstudie zur Validierung genomischer Zuchtwerte bei Mutterlinien', Schwarzenau, 25.09.2013, Tagung Projektgruppe 'Genetisch-Statistische Methoden' der DGfZ, DGfZ
- Gertz, M., Heuer, C., Krattenmacher, N., Dodenhoff, J., Edel, C., Götz, K.-U., Ruß, I., Thaller, G.: 'Genomic Selection in Pigs: How to Validate', Dummerstorf, 17.09.2014, DGfZ-/GfT- Vortragstagung, DGfZ