

Markergestützte Selektion - sind Kandidatengene für die Fruchtbarkeit in der Züchtungspraxis anwendbar?

Simone Müller, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL) Jena;
Uwe Bergfeld, Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) Köllitsch

Einleitung und Problemstellung

Die Molekulargenetik hat in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht. Für mehrere Kandidatengene, z.B. Östrogenrezeptorgen (ESR), Prolaktinrezeptorgen (PRLR), die Beta-Subunit des Follikelstimulierenden Hormons (FSHB) oder das Retinolbindende Protein (RBP4) konnten signifikante Einflüsse der polymorphen Formen auf die Fruchtbarkeit (Wurfgröße) in unterschiedlichen Populationen nachgewiesen werden. Einige Zuchtunternehmen haben bereits Wurfgrößenmarker in die praktische Zuchtarbeit integriert. So nutzt die PIC bereits seit 1994 den Östrogenrezeptor (ESR) und seit 1998 den Prolaktinrezeptor (PRLR) innerhalb des PICmarqTM-Programmes (PIC, 2004) zur Verbesserung der Wurfgröße der von ihnen bearbeiteten Zuchtlinien.

Das Ziel einer markergestützten Zuchtwertschätzung besteht darin, die Genauigkeit der Zuchtwertschätzung zu verbessern und damit auch den Zuchtfortschritt je Zeiteinheit. REENTS und REINHARDT (2007) wiesen für die Rinderzucht nach, dass der MA-BLUP-Pedigreezuchtwert gegenüber dem konventionellen Pedigreezuchtwert die Korrelation zum Zuchtwert nach Testeinsatz von ursprünglich 0,45 auf 0,60 verbessert. Das entspricht einem Genauigkeitsgewinn von ca. 16%. ROTHSCILD und PLASTOW (1999) quantifizierten den Gewinn einer markergestützten Zuchtwertschätzung unter Einbeziehung des ESR-Genotyps mit einem um bis zu 30% höheren Zuchtfortschritt in der Wurfgröße von Mutterlinien.

Voraussetzung für die markergestützte Selektion ist, dass nur Genorte zu nutzen sind,

- ⇒ von denen mindestens zwei verschiedene Allelformen in der Population vorkommen
- ⇒ deren Allelwirkung signifikant verschieden und wirtschaftlich interessant sind und
- ⇒ bei denen die Häufigkeit der günstigen Allelform noch Spielraum für eine züchterische Verbesserung zulässt.

Die populationsspezifischen Wirkungen interessierender Markergene belegen zahlreiche Publikationen. Am Beispiel des Östrogenrezeptorgens kann dargestellt werden, dass es durchaus möglich ist, einen Genotypeneffekt bezüglich interessierender Merkmale abzubilden, während sich in anderen Linien oder Populationen keine signifikanten Beziehungen finden lassen.

So belegen ROTHSCILD et al. (1996) in einer Large White Population eine signifikante Überlegenheit von Sauen mit dem Genotyp BB gegenüber AA-Sauen von +1,2 LGF je Wurf. WANG et al. (2006) berichten aus einer Untersuchung einer chinesischen Landrassepopulation, dass heterozygote Anlagenträger (AB) eine um 1,1, bis 1,6 höhere Wurfgröße realisierten. Der Genotyp BB war in dieser Population nicht nachweisbar. Über einen in der Richtung ähnlichen Effekt berichten OMELKA et al. (2006) aus einer slowakischen Landrassepopulation, obwohl die Wirkung mit +0,65 LGF zugunsten der heterozygoten Sauen gegenüber AA-Sauen niedriger lag.

Demgegenüber fanden SOUTHWOOD et al. (1995) und STEINHEUER (2003) keine signifikanten Effekte des Östrogenrezeptorgenotyps auf die Wurfgröße. Auch LINVILLE et al. (2001) ermittelten keinerlei Effekt für diesen Genort nach einer Selektion auf die Ovulationsrate über 16 Generationen.

Damit wird deutlich, dass vor der Integration von Markergeninformationen in die praktische Zuchtarbeit populationsspezifische Untersuchungen notwendig sind, um die nachfolgenden Fragen beantworten zu können:

1. Können die aus anderen Populationen bekannten Markergeneffekte in der eigenen Landrassepopulation bestätigt werden?
2. Wie und wie lange wären die spezifischen Markerinformationen nutzbar?
3. Welche Auswirkungen hat die Einbeziehung der Markerinformation auf das System der Leistungsprüfung und Zuchtwertschätzung?
4. Wie ist die Beprobung, der Datenfluss und -verarbeitung zu organisieren, um mit vertretbarem Aufwand die gewünschten Informationen zu erhalten?

Ausgangspunkt für die eigenen Untersuchungen waren unterschiedliche Ergebnisse für Kandidatengeneffekte in Thüringer und Sächsischen Teilpopulationen der Deutschen Landrasse. Während in der sächsischen Untersuchung für die Marker des LIF, RBP4, PRLR und MAP3K3, untersucht an 1.141 Sauen, insgesamt sehr geringe Effekte der Genotypen auf die Wurfgröße im 1. bzw. 2. und höheren Würfen ermittelt wurden (BERGFELD et al., 2006), fanden MÜLLER et al. (2008) bei 850 Thüringer DL-Sauen insbesondere für das RBP4 signifikante additive Genwirkungen zugunsten des A-Allels und forderten eine Einbeziehung dieser Markerinformationen in das Zuchtwertschätzverfahren.

Eine einfache Empfehlung für die Integration des RBP4-Genotypes in die praktische Zuchtarbeit war aufgrund der bestehenden Variation der Naturalzuchtwerte in Abhängigkeit vom Genotyp des Sau oder des Ebers nicht abzuleiten (Abb. 1).

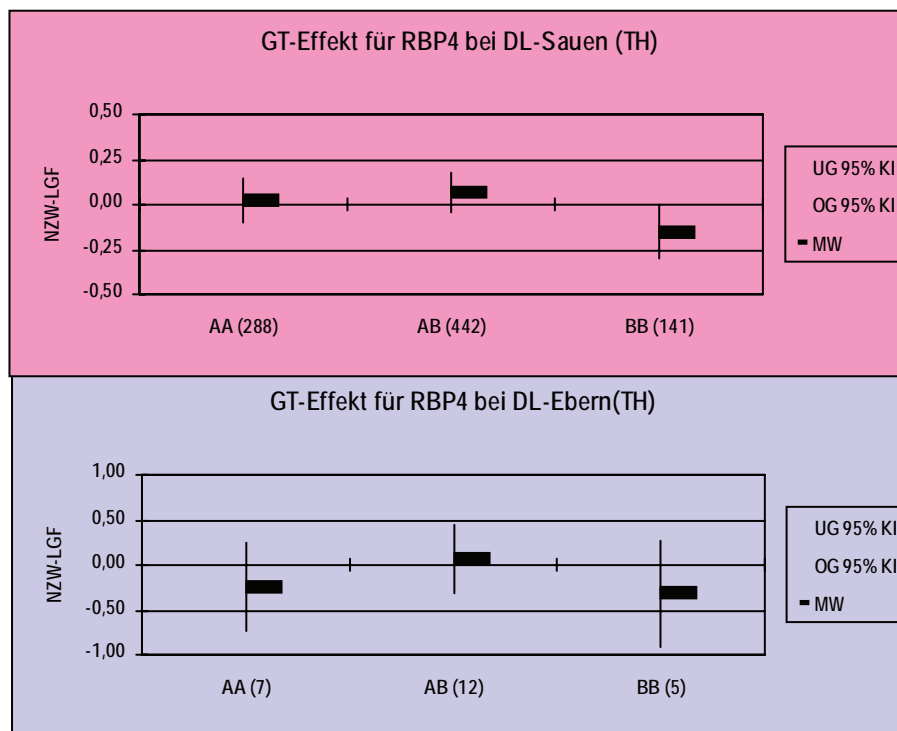


Abbildung 1: Variation des Naturalzuchtwertes für die Wurfgröße in Abhängigkeit vom RBP4-Genotyp

Das Ziel der Untersuchungen bestand deshalb darin, an einem zusammengeführten Datenmaterial die Markereffekte für die typisierten Kandidatengene zu ermitteln und den zu erwartenden Genauigkeitszuwachs durch eine potenzielle Berücksichtigung in der Zuchtwertschätzung zu quantifizieren.

Material und Methode

Innerhalb der Landrassepopulation wurden folgende Markergene von im Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung, Tierärztliche Hochschule Hannover¹ typisiert:

- Leukemia Inhibitory Factor (LIF)
- Retinol-Binding Protein 4 (RBP4)
- Mitogen activated protein kinase kinase kinase 3 (MAP3K3)
- Östrogenrezeptor (ESR)
- Prolaktinrezeptor (PRLR)

¹ : Herzlichen Dank Herrn Prof. Ottmar Distl und Kollegen für die Unterstützung und Zusammenarbeit.

Die Datenbasis der typisierten Tiere für die Untersuchungen beschreibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Übersicht über die Anzahl typisierter Tiere und die Allelfrequenz für die Kandidatengene

Marker	N	Herkunft Land(Betriebe)	Allel-% A	Allel-% B
LIF	2.003	SN(2), TH(7)	56,7	43,3
RBP4	1.946	SN(2), TH(7)	56,9	43,1
MAP3K3	1.127	SN(2)	73,9	26,1
ESR1	1.113	SN(2)	94,9	5,1
PRLR	1.128	SN(2)	32,9	67,1

Für die Schätzung der Markereffekte erfolgte eine Zuchtwertschätzung mittels BLUP-Zweimerkmalsmodell für das Merkmal „Lebend geborene Ferkel“ im ersten und 2. sowie höheren Würfen nach dem in Mitteldeutschland gültigen Verfahren (Richtlinie ZWS, 2007) mit folgendem Modell innerhalb der Landrasse:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_1 & 0 \\ 0 & X_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} Z_1 & 0 \\ 0 & Z_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & P_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} m_1 \\ m_2 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \end{bmatrix}$$

- y = Vektor der Beobachtungswerte
- y1 = Erstlingswurf (IgF1)
- y2 = Folgewürfe (IgF2_E)
- X1,2 = Designmatrizen
- b = Vektor der fixen Effekte
- b1 = Betrieb * Jahr * Quartal
- b2 = Betrieb * Jahr * Quartal
Zwischenwurfzeit (in Gruppen), Wurfnummer
- Z1, 2 = Designmatrizen
- a1,2 = Vektor der additiv genetischen Effekte
- P2 = Designmatrizen
- m1,2 = Vektor der permanenten Umwelteffekte
- e1,2 = zufällige Resteffekte

Zusätzlich zu den hier berücksichtigten fixen Saisonwirkungen in der Standardvariante gingen in den geprüften Zusatzvarianten die untersuchten Marker einzeln bzw. im Abschlussmodell gemeinsam als fixer Effekt ein.

Die Datengrundlage für die Varianzkomponentenschätzung und die Schätzung der Markereffekte bildete ein Auswahlmaterial mit Leistungen aller Sauen in den neun Betrieben im Zeitraum 2001 bis 2007, die sich an der Typisierung beteiligt hatten. Es wurden nur die Tiere innerhalb der Saisonklassen für die Zuchtwertschätzung verwendet, in den denen Sauen auch tatsächlich typisiert wurden.

Das verwendete Datenmaterial beschreibt Tabelle 2.

Tabelle 2: Umfang und Wurfleistungen der Sauen zur populationsgenetischen Analyse

2001-2007, 395 BJO-Sais.kl.	N	LGF	s
1. Wurf	22.467	10,7	2,7
≥ 2. Wurf	62.692	11,2	2,8

Für die Quantifizierung der veränderten Genauigkeit der Zuchtwertschätzung diente ein Datenmaterial, in denen sowohl das Vorhandensein von Wurfleistungen als auch die Verfügbarkeit der Markerinformationen auf der Basis von 289 Mutter-Töchter-Paaren modifiziert wurde. Damit wurden verschiedene 26 Zuchtwertschätzvarianten (Tabelle 3) gerechnet, um aus den naturalen Zuchtwerten der einzelnen Varianten mit und ohne Markerinformation und den mittleren Markereffekten die Genauigkeit zwischen Pedigree-Zuchtwert und verschiedenen Leistungs- und Markergeninformation als Korrelation darzustellen.

Tabelle 3: Leistungs- und Markerinformationen der Mutter-Töchter-Paare innerhalb der einzelnen Varianten
(Mu = Mutter, To = Tochter; X = Leistung bzw. Markergenotyp berücksichtigt)

	Leistung		LIF		RBP4		MAP3K3		ESR		PRLR		Alle Marker	
	MU	TO.	MU	TO.	MU	TO.	MU	TO.	MU	TO.	MU	TO.	MU	TO.
Pedigree-ZW	X													
+LIF	X		X											
+ RBP4	X				X									
+MAP3K3	X						X							
+ESR	X								X					
+PRLR	X										X			
+ alle Marker	X												X	
+LIF	X		X	X										
+ RBP4	X				X	X								
+MAP3K3	X						X	X						
+ESR	X								X	X				
+PRLR	X										X	X		
+ alle Marker	X												X	X
Alle EL	X	X												
+LIF	X	X	X											
+ RBP4	X	X			X									
+MAP3K3	X	X					X							
+ESR	X	X							X					
+PRLR	X	X									X			
+ alle Marker	X	X											X	
+LIF	X	X	X	X										
+ RBP4	X	X			X	X								
+MAP3K3	X	X					X	X						
+ESR	X	X							X	X				
+PRLR	X	X									X	X		
+ alle Marker	X	X											X	X

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Zuchtwertschätzung mit Berücksichtigung der Genotypen der Kandidatengene für die typisierten Sauen ergaben mit Ausnahme des ESR im 1. Wurf sehr schwache Markereffekte (Abb. 2).

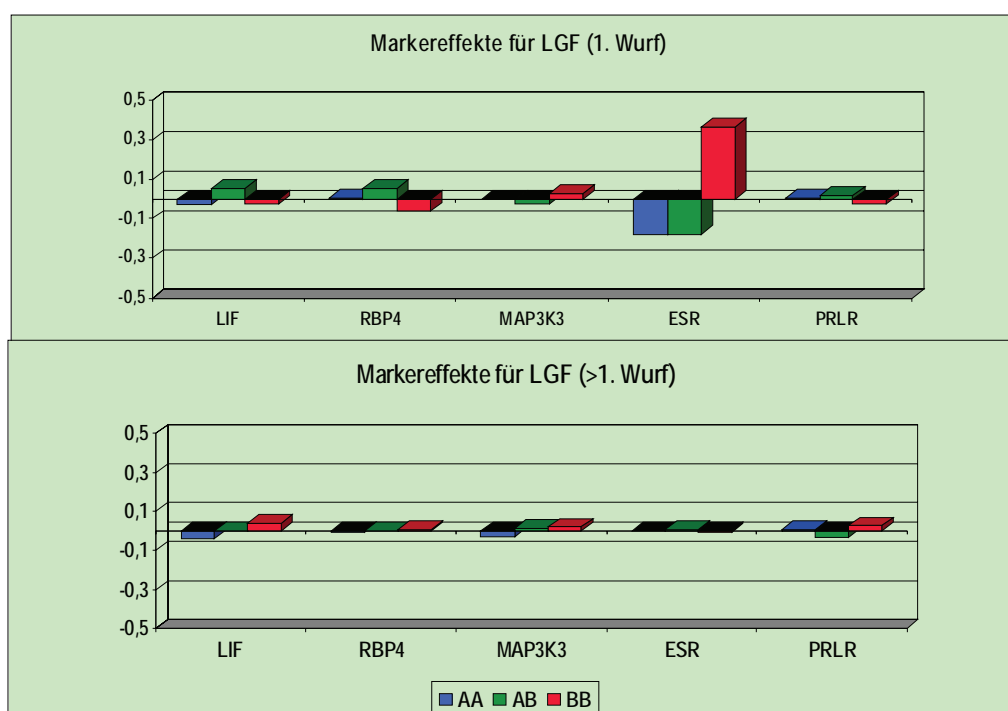


Abbildung 2: Markereffekte für die untersuchten Kandidatengene für die Wurfgröße im 1. und Folgewürfen

Der sich abzeichnende deutlich positive Genotypeneffekt für den Genotyp BB beim ESR ist mit Vorbehalt zu bewerten, da lediglich 1 Tier vom Gesamtmaterial diese Allelkombination aufwies. In den 2. und höheren Würfen konnte für die homozygoten B-Allelträger kein Effekt mehr berechnet werden.

Die Ergebnisse der Varianzkomponentenschätzung zeigen in erwarteter Weise, dass sich die erklärable genetische Varianz mit Berücksichtigung der Marker leicht reduziert, da ein Teil der bisher als genetisch bedingte geschätzte Varianz durch diese Marker erklärt wird (Abb. 3).

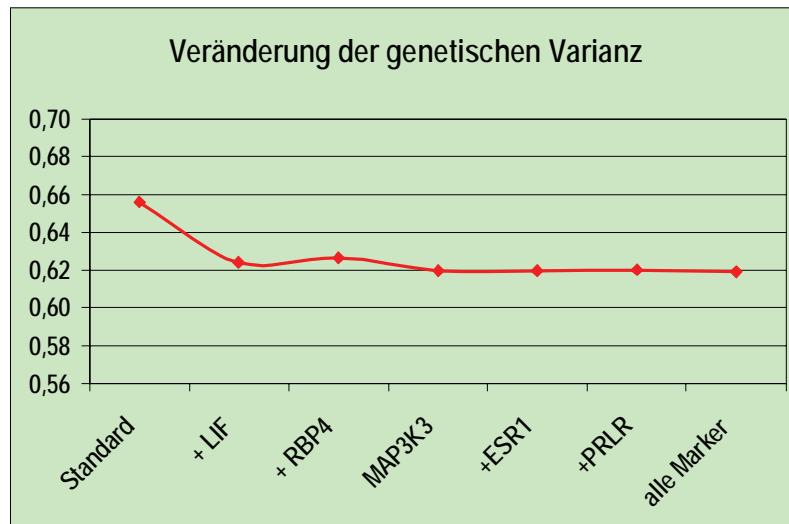


Abbildung 3: Darstellung der Veränderung der erklärten genetischen Varianz ohne (Standard) bzw. mit Berücksichtigung der einzelnen bzw. aller Marker

Die Korrelationen zwischen den einzelnen Varinaten der Zuchtwertschätzung aus der Simulation mit 289 Mutter-Töchter-Paaren sind in der Abbildung 4 grafisch dargestellt.

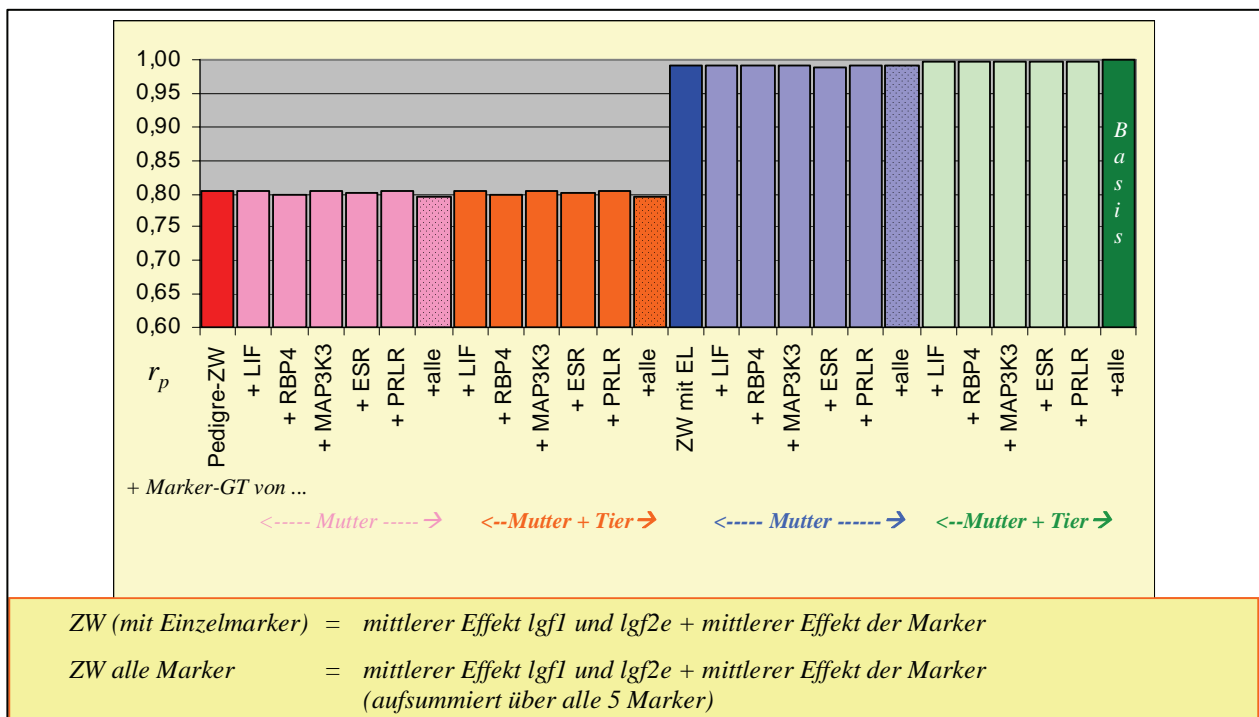


Abbildung 4: Veränderung der Genauigkeit der Zuchtwertschätzung durch die Einbeziehung verschiedener Leistungsinformationen und von Markerinformationen

Es wird deutlich, dass zwischen dem reinen Pedigreezuchtwert der Töchter und dem aus Pedigree und Eigenleistung sowie vollständiger Markerinformation ermittelten Zuchtwert eine Korrelation von 0,8 besteht.

Die alleinige Hinzunahme der Markerinformationen (Einzelmarker und alle Markerinformationen) entweder von den Müttern oder von Mütter und Töchtern bringt nur eine unwesentliche Veränderung in der Höhe der Korrelationen mit sich.

Eine neue Qualität erreicht der Zuchtwert mit Berücksichtigung der Eigenleistung zum Zuchtwert mit Berücksichtigung aller Markerinformationen ($r = 0,99$).

Bei einer weiteren Integration der Markerinformationen stieg die Korrelation als Grad der Genauigkeit in dem Simulationsmaterial nur marginal.

Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen zur den züchterischen Auswirkungen einer möglichen Integration der untersuchten Kandidatengene LIF, PBP4, MAP3K3, ESR und PRLR in die Zuchtwertschätzung auf Wurfgröße für die Mitteldeutsche Landrassepopulation lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

1. Die geprüften Genmarker erbrachten in der mitteldeutschen Landrassepopulation einen relativ geringen Informationsgewinn.
2. Der Aufwand für eine routinemäßige Genotypisierung der geprüften Marker amortisiert sich nicht, da der Genauigkeitszuwachs für die Zuchtwertschätzung nur marginal ist.
3. Die Ergebnisse sind populationsspezifisch zu bewerten, es ist keine 1:1-Übertragung auf andere Populationen möglich.
4. Auf die klassische Merkmalerfassung ist derzeit nicht zu verzichten!
Mit dem bisherigen Verfahren der phänotypischen Leistungserfassung können deutlich positive genetische Trends für die Wurfgröße realisiert werden, wenn die Fruchtbarkeit im Gesamtzuchtwert ausreichend stark berücksichtigt wird.
5. Zur Sicherung der Wettbewerbsfähigkeit sind neue wissenschaftliche Erkenntnisse zur Molekulargenetik ständig auf Relevanz für die eigene Population zu überprüfen. Nur damit wird gewährleistet, mögliche Effekte für Genauigkeit der Zuchtwertschätzung ausnutzen zu können.
Damit ließe sich die Zuchtarbeit optimieren und der Zuchtfortschritt je Zeiteinheit erhöhen.

Literatur

BERGFELD, U.; Müller, U., DISTL, O.:

Analyse bekannter Fruchtbarkeitskandidatengene an Zuchtsauen der sächsischen Population.

SLL Köllitsch, Vortrag anlässlich „Köllitscher Fachgespräch am 13.12.2006“

LINVILLE, R.C., D. POMP, R.K. JOHNSON, M.F. ROTHSCHILD (2001):

Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine.

J. Anim. Sci. 79, 60 - 67

MÜLLER, S.; GERNAND, E.; BRAUN, U.; DISTL, O.; HAMANN, H.:
Möglichkeiten zur markergestützten Selektion auf Fruchtbarkeit
TLL Jena, Abschlußbericht, 2008; www.tll.de/ainfo

OMELKA, R.; PESKOVICOVA, D.; MARTINIAKOVA, M.; BAUER, M.; BAUEROVA, M.:
Effect of the estrogen receptor (ESR) and ryanodin receptor (RYR1) genes
on the reproductive traits of Slovak Large White, White Meaty and Land-
race pigs.
Arch. Tierzucht, Dummerstorf 49(2006)4:357-363

PIC (2004):
Neue Technologien - heute schon wissen was morgen gefragt ist.
16.01.2004
http://www.picdeutschland.de/download.php/49/neue_technologien.pdf

REENTS, R.; REINHARDT, F.:
Molekulargenetische Information als Ergänzung zur Populationsgenetik.
Züchtungskunde 79(2007)1:41-45

ROTHSCHILD, M.F., C. JACOBSON, D. VASKE, C. TUGGLE, L. WANG, T.
SHORT, G. ECKARDT, S. SASAKI, A. VINCENT, D. MCLAREN, O.
SOUTHWOOD, A. VAN DER STEEN, A. MILEHAM, G. PLASTOW
The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing lit-
ter size in pigs.
Proc. Natl. Acad. Sci., USA, Vol. 93, (1996) S. 201 - 205

ROTHSCHILD, M. F., PLASTOW, G.S.:
Advances in pig genomics and industry applications.
Ag. Biotech. Net. 10(1999)1-8

GEMEINSAME RICHTLINIE

der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft, der Thüringer Landes-
anstalt für Landwirtschaft, der Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten
und Gartenbau Sachsen-Anhalt mit dem Mitteldeutschen Schweinezucht-
verband e.V. für die Durchführung der Zuchtwertfeststellung beim Schwein
in Sachsen, Thüringen und Sachsen-Anhalt, gültig ab 1.1.2007
([http://www.landwirtschaft.sachsen.de/de/wu/Landwirtschaft/lfl/inhalt/downl
oad/RL_ZWS_Schwein.pdf](http://www.landwirtschaft.sachsen.de/de/wu/Landwirtschaft/lfl/inhalt/download/RL_ZWS_Schwein.pdf) bzw. <http://www.tll.de/ainfo/pdf/rllzw0707.pdf>).

SOUTHWOOD, O.I., H.A.M. VAN DER STEEN, A.J. MILEHAM, D. CUTHBERTHEAV-
ENS:
Evaluation of the oestrogen receptor (ESR) gene in Meishan synthetic and
Large White pigs.
Proc. 46th Annual Meeting of the European Association of Animal Produc-
tion, Prag, 1995, G5.3

STEINHEUER, R.: Schätzung von Varianzkomponenten und Kandidatengeneffekten
für die paternale und maternale Komponente von Fruchtbarkeitsmerkma-
len beim Schwein.
Diss., Tierärztliche Hochschule Hannover, (2001), 267 Seiten