

Abschlussbericht

Auftragnehmer

Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w. V. (vit)
Heinrich-Schröder-Weg 1 , 27283 Verden

Thema

„Genetische Charakterisierungen und Distanzschätzungen der drei Populationen Braunes, Schwarzes und Weißes Bergschaf“

Projektnummer

AKZ: 123–02.05–20.0324/16-II-K

Berichtszeitraum

März 2017 bis Dezember 2017

Projektleitung

Dr. Jens Wilkens

Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Bayerische Herdbuchgesellschaft für Schafzucht e.V.
(Dr. Christian Mendel)
Senator-Gerauer-Str. 23a
85586 Grub

GeneControl GmbH,
Senator-Gerauer-Str.23 a
85586 Grub

Inhaltsverzeichnis

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts	3
2. Planung und Ablauf des Projekts.....	3
3. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	4
3.1 Entwicklungsgeschichte der Bergschafzassen	4
3.2 Genetische Marker für Farbvererbung beim Schaf	5
3.3 Auswertungsmethoden	5
4. Material und Methoden	6
4.1 Genotypisierung	6
4.2 Datenprüfung	6
4.3 Hauptkomponentenanalyse	6
4.4 Analysen mit POPREP	7
5. Darstellung der Ergebnisse.....	8
5.1 Überprüfung und Plausibilisierung der SNP-Daten	8
5.2 Hauptkomponentenanalyse (Principal Components Analysis, PCA).....	9
5.3 Fixation Index	12
5.4 Linkage Disequilibrium (LD).....	15
5.5 Populationsanalysen mit POPREP	19
6. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	20
7. Zusammenfassung.....	22
Einleitung.....	22
Methoden.....	22
Schlussfolgerungen	22
8. Literaturverzeichnis.....	23

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Die Schafrassen Weißes, Braunes und Schwarzes Bergschaf werden züchterisch in getrennten Herdbüchern in Reinzucht bearbeitet. Alle drei Rassen haben eine ähnliche Zuchtgeschichte und unterscheiden sich primär in der Farbgebung. Ziel dieser Analyse ist es, auf der Basis von genetischen Untersuchungen, Erkenntnisse zur Eigenständigkeit der genannten Rassen zu ermitteln. Auf dieser Grundlage sollen Entscheidungen über die zukünftige züchterische Bearbeitung und Entwicklung der Bergschafassen getroffen werden

Die Untersuchungen sollten auf Basis von SNP-Marker-Daten von ausgewählten Stichproben der drei Populationen durchgeführt werden. Die daraus abgeleiteten Ergebnisse sollten dann zusätzlich mit Ergebnissen der klassischen Analyse von Abstammungsdaten abgeglichen werden.

2. Planung und Ablauf des Projekts

Das Projekt konnte wie ursprünglich geplant und im Projektantrag beschrieben bearbeitet werden.

Das Projekt wurde von **vit** in enger Zusammenarbeit mit den Zuchtverbänden durchgeführt, wobei die Koordination der Probenziehung durch die Bayerische Herdbuch Gesellschaft erfolgte und die Genotypisierung durch das Labor GeneControl.

Anhand der Abstammungsdaten aktiver Herdbuchtiere aus dem Herdbuchsystem serv.it OVICAP, das im Auftrag der Vereinigung deutscher Landesschafzuchtverbände (VDL) von **vit** entwickelt und betrieben wird, wurden Tiere so ausgewählt, dass sie eine möglichst geringe Verwandtschaft zu anderen Tieren innerhalb der eigenen Rasse bzw. Subpopulation „Weißes Bergschaf“, „Braunes Bergschaf“ und „Schwarzes Bergschaf“ aufwiesen. Tiere ohne Elterninformationen wurden von der Vorauswahl ausgeschlossen.

Je Population wurden 50 Tiere mit möglichst niedrigem Verwandtschaftsgrad untereinander ausgewählt. Aufgrund der begrenzten Populationsgrößen sind kaum Tiere zu finden, die nicht miteinander verwandt sind. Bei gleich hohen Verwandtschaftsgraden wurden die zu typisierenden Tiere zufällig gezogen.

Diese 150 Tiere wurden den Zuchtverbänden zur Probenziehung genannt. Je Betrieb wurde eine Arbeitsliste mit den Viehverkehrsnummern (auch als Barcode) der Tiere den Zuchtverbänden mitgeteilt. Für die Ohrstanzproben wurden Ohrmarken mit einer laufenden Nummerierung verwendet. Über die Begleitlisten konnte das Labor dann die SNP-Marker-Ergebnisse mit den Viehverkehrsnummern verknüpfen und auch in serv.it OVICAP konnten die Ergebnisse entsprechend den Tieren zugeordnet werden. Damit war über den gesamten Typisierungsprozess eine eindeutige Zuordnung der Gewebeproben zu den Tieridentifikationen garantiert.

Da bei Abgang die Abmeldung von Tieren aus der Zucht bzw. auch aus den Zuchtherden in der Schafzucht nicht immer zeitnah erfolgt, wurden einige der vorgeschlagenen Tiere zur Probenziehung (Ohrstanzprobe) nicht mehr in den Beständen aufgefunden. Die mit der Probenziehung beauftragten Personen wählten dann unter Berücksichtigung der Abstammungsinformationen Alternativtiere aus, die eine ähnliche Abstammung wie die ursprünglich ausgewählten Tiere hatten.

Somit konnten, wie geplant, für 150 Tiere Ohrstanzproben gewonnen werden und zur Genotypisierung an das Labor GeneControl gesendet werden. Die DNA aus den Gewebeproben wurde im Labor extrahiert und genotypisiert. Die Laborergebnisse wurden mittels definierter Schnittstellen in serv.it OVICAP übernommen und archiviert. Sie können bei Bedarf auch für zukünftige Fragestellungen und Untersuchungen genutzt werden.

Die so gewonnenen SNP-Marker-Daten wurden dann in Verbindung mit den in serv.it OVICAP verfügbaren Abstammungsdaten im **vit** ausgewertet.

3. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

3.1 Entwicklungsgeschichte der Bergschafassen

Anfang des 17. Jahrhunderts war das Zaupel- oder Steinschaf im bayerischen Teil der Alpen vorherrschend. Bis Ende der 30er Jahre des vorigen Jahrhunderts waren in Bayern vier verschiedene Bergschafassen, nämlich das Stein-, Goggel-, Kärntner- und Bergamaskerschaf bekannt. Als Goggelschaf wurden alle Tiere bezeichnet, die nicht eindeutig einer der drei anderen Rassen zuzuordnen waren. Sämtliche vier Rassen tragen Schlichthaarwolle im C-CD-Charakter von großer Länge und meist seidigem Glanz. Bei allen Rassen sind melierte, braune und tiefschwarze Vliese zu finden.

Diese Rassenvielfalt widersprach der damaligen Bestrebung nach Rassenbereinigung. Aus diesem Grund entschloss man sich im Jahre 1939 auf Anregung Bayerns (Dr. H. O. Diener, München), für das gesamte Bergschafzuchtgebiet einheitliche Zuchtziele und Zuchtverfahren aufzustellen. Über die bisherigen Lokaltypen und Lokalschläge hinweg hat man sich dahin geeinigt, das größte und wirtschaftlichste Bergschaf im Typ des früheren Bergamasker-/Kärntnerschafes als anzustrebende Rasse zu züchten und dieses als „Deutsches Bergschaf“ zu bezeichnen.

Die beiden Rassen „Steinschaf“ und „Bergamaskerschaf“ bildeten die Ausgangsrassen für alle heutigen Bergschafassen. Im geringen Umfang hat auch noch das Paduanerschaf die Bergschafassen, vor allem das Kärntnerschaf, beeinflusst.

Im Jahr 1938 ergab eine Zählung über 22.000 Bergschafe. Die größte Anzahl Tiere auf Prämierungen wurde mit 1.370 aufgetriebenen Bergschafen im Jahr 1940 erreicht. Nach dem Krieg im Jahr 1948 nahm der Landesverband Bayerischer Schafzüchter die züchterische Arbeit wieder neu auf. Am 31.12.1951 verteilten sich die Zuchtstätten des Deutschen Bergschafes auf zwei Gutsbetriebe: Gutsverwaltung Wallenburg und Strafgefängenenanstalt Bernau und sechs bäuerliche Kleinschäfereien: Michael Bernauer, Haslach (TS), Josef Gehmacher, Hausen (TS), Blasius Glatz, Garmisch, Paul Grasegger, Garmisch, Clement Mangold, Wengen (GAP) mit einem eingetragenen Herdbuchbestand von 268 Bergschafen.

Die Zuchtarbeit konzentrierte sich nach dem 2. Weltkrieg ausschließlich auf das nun "Weiße Deutsche Bergschaf". In den 1970er Jahren wurde die Zucht des "Braunen Bergschafes" wieder belebt und 1977 als Rasse anerkannt. Das „Braune Bergschaf“ ist ein ganzfarbig braunes Schaf im Typ des Weißen Bergschafes. Braune Schafe wurden vor allem für die Herstellung des naturfarbenen Lodens gehalten. Das Braune Bergschaf war in Bayern fast ausgerottet.

1989 wurden mit unterschiedlichem Erfolg Braune Bergschafböcke aus Südtirol importiert. Die Braunen Bergschafzüchter schlossen sich 1992 zu einer Arbeitsgemeinschaft Braune Bergschafe (seit 2006 Schwarze und Braune Bergschafe) zusammen. Dem langjährigen Vorsitzenden Josef Grasegger, Partenkirchen, ist es zu verdanken, dass diese Rasse heute wieder einen festen Platz in der bayerischen Schafzucht einnimmt.

Engagierte Mitglieder der Arbeitsgemeinschaft Braunes Bergschaf nahmen sich ab dem Jahr 2000 verstärkt der letzten immer noch durchschlagenden "schwarzen Gene" an. 2003 wurde die Anerkennung als eigene Rasse im Bayerischen Herdbuch ausgesprochen. Seither kümmern sich einige Züchter und mehrere Schafhalter mit Freude und Fleiß um die züchterische Weiterentwicklung dieser urbayrischen Hochgebirgsschaf rasse.

In Österreich galten früher Schwarze Bergschafe als Farbschlag des Braunen Bergschafes, sind jedoch seit dem Jahr 2000 von der Herdbuchzucht ausgeschlossen. In Italien bilden im Vinschgau und im benachbarten Ultental Schwarze und Braune Bergschafe eine gemeinsame Herdbuchrasse. In der Schweiz gelten Schwarze Bergschafe als Variante des Engadiner Schafes im Herdbuch.

3.2 Genetische Marker für Farbvererbung beim Schaf

Die Farbvarianten von Schafen stellen in der Zucht von Schafen seit langer Zeit einen wichtigen biologischen, ökonomischen und sozialen Faktor dar. Insbesondere die Zucht auf weiße Wolle ist aus den folgenden Verarbeitungsprozessen heraus ein bedeutendes Selektionskriterium. Dies führte z.T. zur Verdrängung anderer Farbvarianten aus einer Rasse. Li et al. (2013) untersuchten die Farbvererbung beim Finn-Schaf auf der Basis von SNP-Informationen des Ovine SNP50K Illumina 54K-Chip. 35 SNP-Marker konnten mit den Farbausprägungen genomweit signifikant assoziiert werden. Insbesondere die genetische Disposition für weiß und nicht-weiß konnte erklärt werden.

3.3 Auswertungsmethoden

Genetisches Monitoring mittels Analyse von Abstammungsinformationen

Die Auswertungen auf Basis von Abstammungsinformationen wurden im Wesentlichen im Rahmen von BLE-Projekten zum „Genetischen Monitoring“ von Nutztierpopulationen (Rind, Schwein, Schaf) weiterentwickelt und standardisiert (u.a. BLE-Projekt „Monitoring tiergenetischer Ressourcen in Deutschland: Tierarten Schaf/Ziege, 2012, P.-Nr. 2808BE001)). Dabei wurde auf bereits bekannte Auswertungsverfahren, die in der Literatur beschrieben sind, zurückgegriffen. Mit dem Programmpaket POPREP von Groeneveld et al. (<http://poprep.tzv.fal.de>) können die entsprechenden Analysen automatisiert und standardisiert durchgeführt werden. Die Verwendung dieses Programmtools wurde vom Auftraggeber gefordert.

Genetisches Monitoring mittels Analyse von SNP-Marker-Daten

Für die Prüfung, Beschreibung und Auswertung von SNP-Marker-Daten sind Standardprogramme wie PLINK (Purcell et al., 2007) und spezielle Tools im mathematisch/statistischen Programmpaket R verfügbar. Zur Beschreibung von genetischen Unterschieden zwischen Subpopulationen werden in der Literatur hauptsächlich die Kenngrößen mittlere Allelfrequenzen, Kopplungsungleichgewicht, Fixation Index und genomische Inzucht verwendet. Zur visuellen Darstellung genetischer Unterschiede zwischen Subgruppen wird häufig die Hauptkomponentenanalyse verwendet.

4. Material und Methoden

4.1 Genotypisierung

Die DNA aus den 150 Gewebeproben der 3 Subpopulationen wurden im Labor extrahiert und mit dem vom Auftraggeber des Projekts (BLE) geforderten Illumina OvineSNP50 Bead Chip (Illumina, Inc. San Diego, CA 92122 USA) genotypisiert. Dieser speziell für die Schafzucht zusammengestellte SNP-Chip enthält 54,241 SNPs. Die Typisierungsergebnisse wurden im chiptypischen Format vom Labor an **vit** übergeben.

4.2 Datenprüfung

Das Illumina Standard-Datenformat kann von PLINK (Purcell et al., 2007), einem allgemein zugänglichen und verwendbaren Programmpaket zur Analyse und Auswertung von SNP-Marker-Daten, direkt eingelesen werden. PLINK wurde hauptsächlich zur Überprüfung und Plausibilisierung der SNP-Marker-Daten verwendet. PLINK kann auch für weitere genetische Charakterisierungen der vorliegenden SNP-Marker-Daten verwendet werden, wie Allelfrequenzen, Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium (LD)).

4.3 Hauptkomponentenanalyse

Die **Hauptkomponentenanalyse** oder **Principal Component Analysis (PCA)** ist ein Verfahren der multivariaten Statistik. Im Folgenden wird immer der dt. Fachterminus Hauptkomponentenanalyse verwendet. Sie dient dazu, umfangreiche Datensätze zu strukturieren, zu vereinfachen und zu veranschaulichen, indem eine Vielzahl statistischer Variablen durch eine geringere Zahl möglichst aussagekräftiger Linearkombinationen („Hauptkomponenten“, (HK)) genähert wird. Die 1. HK erklärt den größten Anteil der Varianz in den Daten, die 2. HK den nächstgrößten Anteil, usw. Die entsprechenden HK sind so abgeleitet, dass sie zueinander senkrecht stehen. Die beiden ersten HK projizieren damit die maximal darstellbare Variabilität in den Daten im zweidimensionalen Raum.

Im vorliegenden Fall werden N Tiere (aus verschiedenen Subpopulationen) mit sehr vielen Variablen (= SNP-Marker) beschrieben. Von diesen Tieren kann auf Basis ihrer SNP-Marker-Information ihre genomische Verwandtschaftsmatrix (G) aufgestellt werden (VanRaden, 2008). Diese genomische Verwandtschaftsmatrix wird auch IBS-Matrix (Identity By State) genannt - im Vergleich zur normalen Verwandtschaftsmatrix (IBD = Identity By Descent-Matrix) - und beschreibt praktisch die genomische Ähnlichkeit der Tiere (Genotypen) bezogen auf die mittleren Allelfrequenzen in der untersuchten Gesamtpopulation (alle 3 Subpopulationen).

Die resultierende IBS-Matrix über die 3 Subpopulationen kann auch als Varianz-Kovarianz-Matrix der genomischen Information verstanden werden. Diese und die Markerausprägungen (AA=0, AB=1, BB=2) über alle SNP der einzelnen Individuen in den Subpopulationen bilden die Informationsgrundlage zur Transformation der Daten auf die HK und Schätzung der HK als multiple lineare Regressionsformeln. Der mathematische Hintergrund ist u. a. beschrieben bei Abraham (2014), dessen effizientes Programm zur Hauptkomponentenanalyse in diesem Projekt auch verwendet wurde. Daneben sind im mathematisch/statistischen Programm R entsprechende Tools zur Durchführung und Darstellung der Ergebnisse der Hauptkomponentenanalyse.

Der entsprechende Wert der 1. und der 2. HK kann für jedes typisierte Tiere berechnet und in einer zweidimensionalen Darstellung, geschichtet nach Subpopulationen, geplottet werden. Sind Differenzierungen aufgrund der SNP-Marker-Information vorhanden, sind diese durch voneinander getrennte „Punktwolken“ sichtbar. Welche Marker hauptsächlich für eine Differenzierung verantwortlich sind und in welchem Ausmaß, ist durch eine Hauptkomponentenanalyse allerdings nicht eindeutig zu klären.

Zur weiteren Analyse von auffälligen Genomabschnitten, die zur möglichen Differenzierung zwischen Subpopulationen beitragen, wurde die Berechnung des **Fixation Index** (Weir und Cockerham, 1984) gewählt.

4.4 Analysen mit POPREP

Für die „klassischen bzw. konventionellen“ Populationsanalysen mit dem Programmsystem ‚POPREP‘ (Groeneveld et al. (2010), <http://poprep.tzv.fal.de>) wurden alle in serv.it OVICAP aktuell als lebend bzw. aktiv registrierten Tiere der drei Herdbuchpopulationen identifiziert. Von diesen aktiven Tieren wurden dann die Ahnen bis zu 6 Generation zurück ermittelt. Es resultierte folgende Datenbasis für die drei Populationen (Tabelle 1):

Tabelle 1: Verfügbare geprüfte Tierzahlen in den Rassen (Subpopulationen) für POPREP-Auswertungen

Rasse	Aktive Herdbuchtiere	Aktive Herdbuchtiere mit Elterninformation	Tiere gesamt POPREP-Analyse (Aktive + Ahnen)
Braunes Bergschaf	1255	1085	2093
Schwarzes Bergschaf	198	162	293
Weißes Bergschaf	1802	1490	3099

Im klassischen genetischen Monitoring wird quasi die normale Verwandtschaftsmatrix (IBD-Matrix) analysiert, z.B. die individuelle Inzucht von Individuen, der relative Anstieg der Inzucht über die Zeit und daraus abgeleitet die effektive Populationsgröße als standardisiertes Maß für die noch verfügbare genetische Variabilität für die Zucht.

Schafzucht wird in Deutschland i.d.R. als Reinzucht betrieben, weshalb in der Herdbuchführung primär die Rassenangabe zur Differenzierung der Herdbücher der einzelnen Rassen verwendet wird. Dies führte insbesondere in der Phase mit dezentralen Herdbuchführungssystemen (bis ca. 2010) zu einer phänotyp-basierter (z.B. Farbe) Rassezuordnung von Tieren mit unvollständiger oder unbekannter Abstammung. Fremdrassige Ahnen wurden bei der Ersteintragung eines Tieres ins Herdbuch in der Regel nicht registriert. Auch wurden z.T. identische Tiere (Ahnen) mit unterschiedlichen Identifikationen in unterschiedlichen Verbänden und Rassen geführt. Im gemeinsamen Herdbuchführungsprogramm serv.it OVICAP wurde diese Situation bezüglich eindeutiger Identifikation von Tieren/Ahnen verbessert. Sollten rassefremde Tiere eingesetzt werden, so bleibt bei einmal erfassten Elterntieren die Rasse der Eltern erhalten. Damit können nun

in neueren Daten rassefremde Elternteile erkannt werden. Die Bergschaf-Herdbücher in serv.it OVICAP sind aber nach wie vor so gut wie nicht über gemeinsame Ahnen verbunden.

POPREP-Analysen machen daher nur innerhalb Rassen/Subpopulationen Sinn, da in den HB-Daten keine (oder nur sehr wenige) Tiere identifizierbar sind, die in zwei oder allen drei Subpopulationen als Ahnen erscheinen und verwandtschaftliche Verbindungen zwischen Subpopulationen aufzeigen könnten. Konventionelle Verwandtschaftsanalysen über Subpopulationen hinweg sind aufgrund der unvollständigen und nicht eindeutigen Tieridentifikationen vor allem in den historischen Herdbuchdaten nicht aussagefähig.

5. Darstellung der Ergebnisse

5.1 Überprüfung und Plausibilisierung der SNP-Daten

Qualitätsüberprüfungen der SNPs der genotypisierten Tiere wurden mit dem Programmpaket PLINK durchgeführt. Zunächst wurden nur SNPs ausgewählt, die nicht auf dem Chromosom „O“ und Chromosom „M“ lokalisiert sind. Dadurch verringerten sich die auswertbaren Marker (SNP) um 722. Typisierungen von Tieren mit einer Call-Rate < 90 % (n=1; Weißes Bergschaf) sowie einzelne SNPs mit einer Call-Rate < 95 % (n=3046) und einer Minor-Allel-Frequenz MAF < 5 % (n=3973) wurden aus den nachfolgenden Analysen ebenfalls ausgeschlossen. Somit verblieben noch 149 Tiere mit Genotyp-Informationen an ca. 46.500 SNPs. Die Call-Raten der verbleibenden Typisierungsdaten waren insgesamt auf einem sehr hohen Level (0,944). Eine zusammenfassende Übersicht der SNP-Qualitätskriterien, getrennt nach Rassen, ist in Tabelle 2 gegeben.

Tabelle 2: Qualitätskriterien der Genotypisierungsdaten der Stichproben der drei Rassen

Qualitätskriterium	Weißes Bergschaf	Braunes Bergschaf	Schwarzes Bergschaf
SNP-Call-Rate < 95%	39 SNPs	19 SNPs	15 SNPs
MAF < 5 %	2845 SNPs	994 SNPs	1573 SNPs
∅ Sample Call-Rate	0,999	0,999	0,999
Polymorphe SNPs	<u>43.616</u>	<u>45.487</u>	<u>44.912</u>
HWE* (p< 0.001)	50	40	53
Verbleibende SNPs	<u>43.566</u>	<u>45.447</u>	<u>44.859</u>

*) HWE = Hardy Weinberg Equilibrium

Nach dem SNP-basierten Qualitäts-Check wurden diese Überprüfungen noch je Rasse durchgeführt. Von den 54.241 im Labor analysierten SNP wurden 19,68 % der SNPs für das Weiße Bergschaf, 16,21 % für das Braune Bergschaf und 17,30 % für das Schwarze Bergschafe schließlich aufgrund dieser Qualitätsparameter ausgeschlossen. Zwischen den Sub-Populationen sind somit starke Unterschiede in den Marker-Signaturen zu erkennen. Die meisten SNPs wurden aufgrund der MAF ausgeschlossen, insbesondere beim Weißen Bergschaf.

Bezüglich polymorpher SNPs ist beim Braunen Bergschaf die höchste Frequenz und beim Weißen Bergschaf die niedrigste Frequenz zu beobachten. Beim Weißen Bergschaf ist die aus der mittleren MAF abgeleitete erwartete Heterozygotie und die beobachtete Heterozygotie etwas niedriger,

insgesamt sind die Stichproben der 3 Subpopulationen aber sehr ähnlich, siehe Tabelle 3. Aus dem Verhältnis der beobachteten zur erwarteten Heterozygotie wird für das Weiße Bergschaf die höchste genomische Inzucht abgeleitet und für das Schwarze Bergschaf die niedrigste.

Tabelle 3: Mittlere Minor Allel Frequenz (MAF), erwartete und beobachteter Anteil heterozygoter Tiere und daraus abgeleiteter genomischer Inzuchtkoeffizient (F) in den Stichproben der 3 Rassen

	Weißes Bergschaf	Braunes Bergschaf	Schwarzes Bergschaf
\emptyset MAF	0,288	0,297	0,292
\emptyset HET _{erw}	0,410	0,417	0,413
\emptyset HET _{beob}	0,380	0,387	0,388
Inzucht-Koeffizient (F)*	7,3%	7,2%	6,1%

* $F = 1 - (\text{HET}_{\text{beob}} / \text{HET}_{\text{erw}})$

5.2 Hauptkomponentenanalyse (Principal Components Analysis, PCA)

Bei der Hauptkomponentenanalyse auf Basis der IBS-Matrix der SNP-Marker-Daten ist deutlich zu erkennen, dass sich die typisierten Tiere des Weißen Bergschafs (WBS) von denen des Braunen (BBS) und Schwarzen Bergschafs (SBS) bezuglich der 1. Hauptkomponente deutlich und eindeutig differenzieren, siehe Abbildung 1. Zwar sind auch klare Unterschiede – vor allem in der 2. Hauptkomponente - zwischen dem Braunen und Schwarzen Bergschaf zu erkennen, jedoch kommt es dabei auch zu Überschneidungen der Stichproben, so dass auf Basis der vorliegenden Genotypdaten einzelne Tieren nicht eindeutig zum Braunen bzw. Schwarzen Bergschaf zugeordnet werden können.

Die erste Hauptkomponente (HK 1) ist ausreichend, um Tiere der Population WBS von Tieren der Populationen BBS und SBS zu unterscheiden. Daraus ist abzuleiten, dass mit dieser Methodik Tiere ohne Abstammungs- und Rasseangaben anhand der Marker-SNP-Information mit hoher Wahrscheinlichkeit der Weißen bzw. der Farbigen (BBS & SBS) Subpopulation zugeordnet werden können.

Betrachtung spezieller Einzeltiere

In Abbildung 1 sind Tiere mit entsprechender Rasseangabe im Herdbuch festzustellen, die außerhalb ihrer jeweiligen „Rasse-Wolke“ mittels der ersten beiden Hauptkomponenten eingestuft werden. Exemplarisch wurden diese Tiere anhand ihrer Abstammungsinformationen gesondert betrachtet bzw. nochmal überprüft.

Fall 1: Weißes Bergschaf näher bei Braunen und Schwarzen Bergschafen

DE 0109 9002 0018: Im HB als Weißes Bergschaf eingetragen, lt. SNP-Information aber eher der Farbigen Subpopulation zuzurechnen.

Dieses Tier wurde als Alternativtier beprobt, da das ursprünglich ausgewählte Tier nicht mehr in der Herde war. Im Zuchtbuch wird es ohne Eltern im HB-Vorbuch geführt. Die Abstammung ist also über das HB nicht zu klären, das SNP-Muster weist aber Spuren der Farbigen Rassen hin.

Fall 2: Schwarze Bergschafe in der Wolke der Braunen Bergschafe

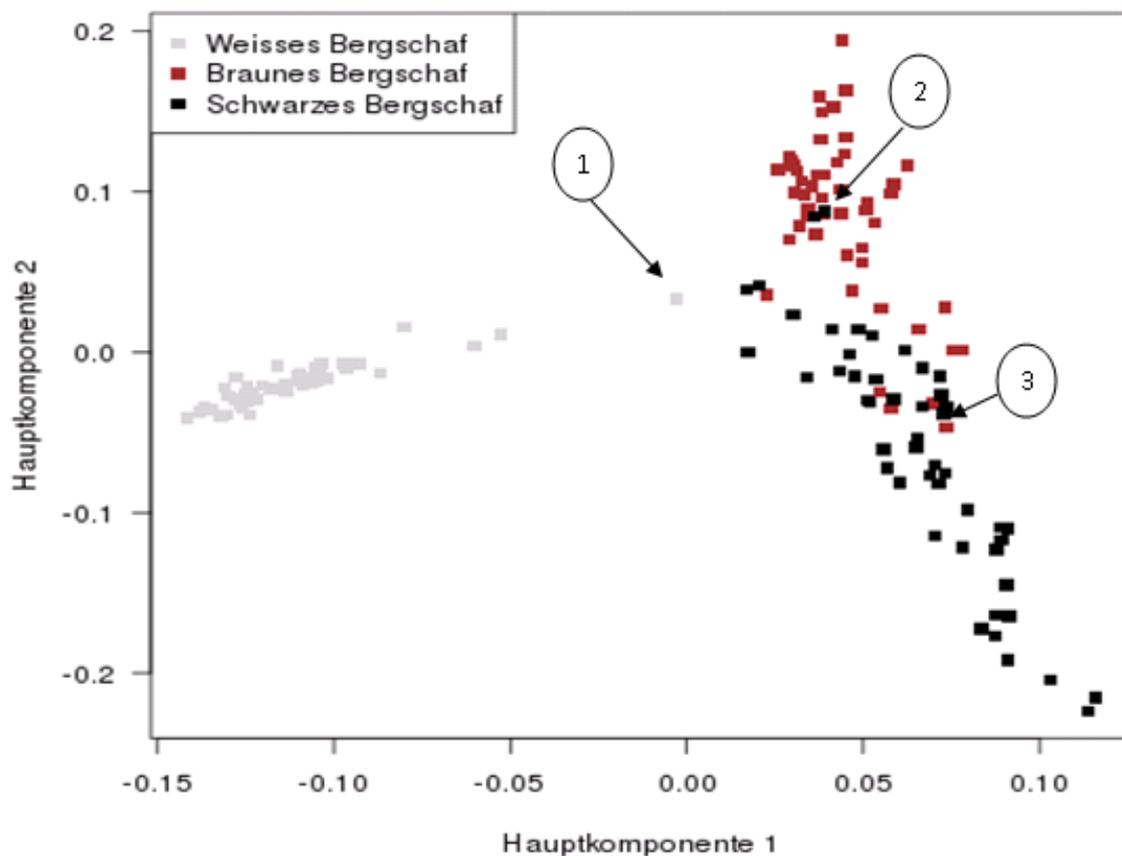
DE 01 07 102 35240: Dieses Tier hat einen Braunen Bergschaf Vater. Auf der mütterlichen Seite sind viele Braune Bergschafe zu finden. Die Rassezuordnung sollte auf Basis der vorliegenden Abstammungsdaten überprüft und geändert werden.

DE 0109 9058 0052: Dieses Tier ist im Herdbuch in der Kategorie D (Tiere ohne vollständige Abstammungsinformation) registriert. Der Vater ist nicht erfasst und als Mutter wird ein Braunes Bergschaf angegeben, dessen Abstammung aber auch nicht vollständig ist. Die Rassezuordnung sollte ebenfalls überprüft und angepasst werden.

Fall 3: Braune Bergschafe in der Wolke der Schwarzen Bergschafe

DE 0109 9096 0055 und DE 0109 9091 0191: Laut Abstammung sind beide reine Braune Bergschafe, erst in der Ururgroßeltern-Generation sind die ersten Lücken im Pedigree. Über die vorliegende Abstammungsinformation ist das Ergebnis der Hauptkomponentenanalyse nicht zu erklären.

Abbildung 1: Differenzierung der typisierten Stichproben der drei Subpopulationen Weißes, Schwarzes und Braunes Bergschaf mittels Hauptkomponentenanalyse auf Basis der IBS-Matrix aller 3 Stichproben.



Beteiligtes Farb-Gen zur Differenzierung

Zu den Hauptkomponenten werden die Beiträge von allen SNP-Markern zur Differenzierung im Protokoll des Auswertungsprogramms angegeben. Sie entsprechen den multiplen linearen Regressionskoeffizienten der Marker für die HK. In Tabelle 4 sind die wichtigsten SNP-Marker zur Differenzierung in den beiden HK, absteigend nach Einfluss sortiert aufgeführt. Lediglich in HK 1 wurde ein SNP-Marker (OAR19_33278780.1) für Farbvererbung, der auch von Li et al. (2013) berichtet wird, mit großem Effekt gefunden. Er ist für die Differenzierung zwischen „Weiß“ und „Farbig“ wichtig. Für HK 2 ist kein von Li et al. (2013) angegebener Farbvererbungsmarker mit entsprechend hohem Einfluss in den vorliegenden Stichproben der drei Populationen auffällig. Dies bedeutet, dass Marker für „Braun“ bzw. „Schwarz“ – sofern solche mit dem Chip analysiert werden bzw. mit Markern auf dem Chip gekoppelt sind – keine wichtige Rolle zur Differenzierung der farbigen Subpopulationen beitragen.

Tabelle 4: SNPs mit größtem Effekt zur Differenzierung ($-0,016 < \text{SNPload} < 0,016$) in HK 1 und HK 2. Der SNP-Marker OAR19_33278780.1 ist mit Farbe assoziiert.

Hauptkomponente 1	Hauptkomponente 2
Wichtigste SNPs zur Differenzierung (SNP-Name)	Wichtigste SNPs zur Differenzierung (SNP-Name)
OAR2_118309964.1	OAR1_136080786.1
OAR2_149604966.1	OAR2_59644738.1
OAR2_189228207.1	OAR3_12700795.1
OAR3_38123156.1	s06084.1
OAR3_39167394.1	OAR3_15534872.1
OAR3_41046441.1	s73716.1
OAR4_693681.1	OAR3_92189932.1
s09148.1	OAR4_105368238.1
OAR4_92821065_X.1	OAR4_108556248.1
s08562.1	OAR10_30205238.1
OAR12_76947086.1	OAR11_50459732.1
OAR18_5282385.1	s06826.1
OAR19_33278780.1	s17193.1
OAR19_33355170.1	s72479.1
s42617.1	s07581.1
	OAR19_28925600.1
	s63432.1
	OAR22_30337797.1

In Tabelle 5 sind die Anzahl Tiere in den Stichproben der 3 Subpopulationen mit ihren Genotypen am Farb-Marker „OAR19_33278780.1“ gelistet. Das Allel „G“ bedingt eindeutig „Nicht-weiß“ und ist somit dominant. Es ist jedoch nicht allein für die dunkle Farbe verantwortlich, da beim Braunen und Schwarzen Bergschaf auch AA-Tiere vertreten sind.

Tabelle 5: Verteilung der Genotypen am Farb-Marker „OAR19_33278780.1“ in den typisierten Stichproben der drei Subpopulationen

Genotyp (OAR19_33278780.1)	Weißes Bergschaf	Braunes Bergschaf	Schwarzes Bergschaf
A A	49	5	3
A G	0	21	22
G G	0	24	25

5.3 Fixation Index

Der Fixation Index (F_{ST}) ist ein Maß für die Differenzierung verschiedener (Sub)-Populationen in bestimmten Genomregionen. Anhand der Allelfrequenzen kann für jeden SNP ein F_{ST} -Wert berechnet werden, der quantifiziert wieviel Variation zwischen den verschiedenen Subpopulationen vorhanden ist. Bei unterschiedlichen Allelfrequenzen in den Subpopulationen, ist der Fixation Index F_{ST} hoch, bei ähnlichen Allelfrequenzen ist der F_{ST} niedrig. Der F_{ST} wird mit folgender Formel von Weir und Cockerham (1984) berechnet:

$$F_{ST} = \frac{\sigma_p^2}{\bar{p}(1 - \bar{p})}, \quad \text{mit} \quad \sigma_p^2 = (\overline{p^2}) - (\bar{p}^2)$$

Wobei p die Allelfrequenz innerhalb einer Subpopulation ist. Es wird also das Verhältnis der Variation zwischen Subpopulationen zur Gesamtvariation aus den Stichproben geschätzt.

Zur komprimierten Darstellung wurde aus benachbarten SNPs Gruppen von je 10 SNPs gebildet und für jede SNP-Gruppe dann der mittlere F_{ST} berechnet. Diese mittleren F_{ST} je Gruppe sind in Abbildung 2 exemplarisch für das Chromosom 3 dargestellt. Lediglich auf Chromosom 3 gibt es auffällige SNP-Gruppen (mit Kreis gekennzeichnet) mit etwas höheren mittleren F_{ST} -Werten ($> 0,07$), die Hinweise auf ursächliche Gene in diesen Regionen geben, die wesentlich zur Differenzierung zwischen den 3 Subpopulationen beitragen.

Grasso et al. (2014) berichten von mittleren F_{ST} über ca. 18.000 autosomale SNP von 0,15 zwischen den Schafrassen Merino und Creole, und von 0,08 zwischen Merino und Corriedale, also eher höheren Werten. Dies ist auch zu erwarten, da die von ihnen untersuchten Rassen weniger verwandt sind bzw. keine gemeinsame Zuchtgeschichte haben.

Abbildung 2: Fixation Index, Plot der mittleren F_{ST} -Werte pro SNP-Gruppe auf Chromosom 3.

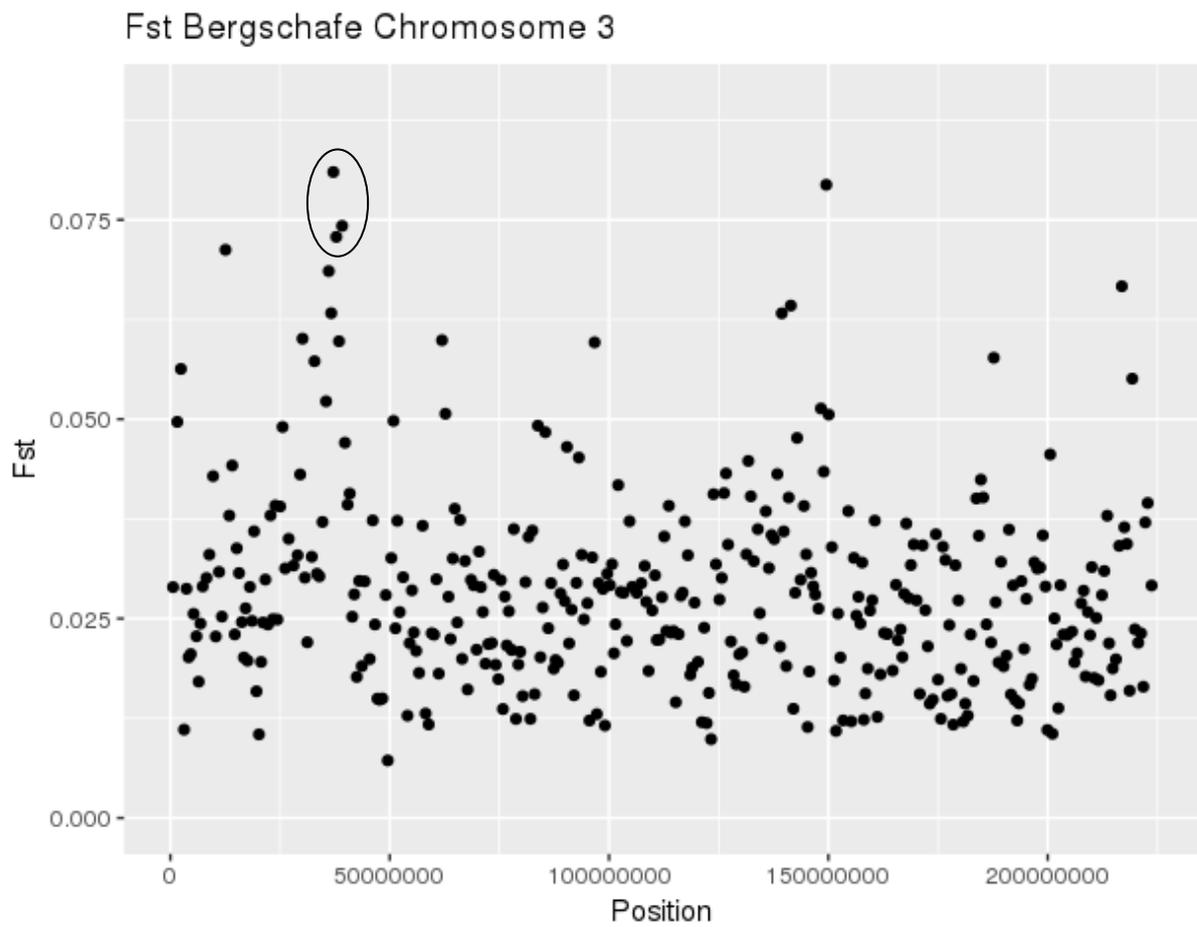


Tabelle 6a: Höchste drei SNP-Gruppen nach mittlerem F_{ST} -Wert aus dem Plot von Chromosom 3.

Gruppe (mit jeweils 10 SNP)	Mittlerer F_{ST} (N=10 SNP)
60	0.0810
61	0.0729
63	0.0742

Tabelle 6b: Einzelne SNPs in den drei SNP-Gruppen (Chr. 3) mit den höchsten mittleren F_{ST} -Werten.

Chromosom	SNPname	Position	Gruppe	F_{ST}
3	OAR3_39607928.1	36910941	60	0.1644
3	OAR3_39691141.1	36993936	60	0.0285
3	s03071.1	37040494	60	0.0554
3	s69310.1	37094034	60	0.0812
3	OAR3_39827235.1	37126291	60	0.0913
3	s18456.1	37167143	60	0.0984
3	OAR3_39887039.1	37185224	60	0.0598
3	OAR3_39894227.1	37191649	60	0.1051
3	OAR3_40071995.1	37356647	60	0.0627
3	s22319.1	37372391	60	0.0631
3	OAR3_40204068.1	37488816	61	0.0047
3	s36703.1	37655558	61	0.0595
3	s08178.1	37698595	61	0.0024
3	s67063.1	37734324	61	0.1327
3	s23284.1	37747759	61	0.0652
3	OAR3_40500126.1	37767247	61	0.1681
3	s17774.1	37843766	61	0.1310
3	OAR3_40747159.1	38025251	61	0.0294
3	OAR3_40767771.1	38048434	61	0.0386
3	s35612.1	38179542	61	0.0971
3	OAR3_41514642.1	38781110	63	0.0018
3	OAR3_41590104.1	38848381	63	0.0277
3	s58478.1	38910350	63	0.0434
3	s53061.1	39071610	63	0.0888
3	OAR3_41907288.1	39172431	63	0.0812
3	s30189.1	39249141	63	0.0928
3	OAR3_42020075_X.1	39267805	63	0.0689
3	s35856.1	39337304	63	0.0852
3	OAR3_42116065.1	39377244	63	0.1573
3	s19452.1	39454467	63	0.0953

5.4 Linkage Disequilibrium (LD)

Die Analyse des Kopplungsungleichgewichtes (LD) soll Hinweise liefern, wie stark und effektiv die drei Subpopulationen bisher züchterisch bearbeitet wurden. Visser et al (2016) zeigten mit der Abschätzung des LD unterschiedliche Selektionsstrategien in Angoraziegen-Populationen in verschiedenen Ländern auf. R^2 ist ein Maß für die Kopplung von Allelen zwischen SNP auf einem Chromosom. Ein hoher Wert für R^2 weist auf eine starke Kopplung von Allelen hin, was wiederum dahingehend interpretiert werden kann, dass die betrachtete Population in der Vergangenheit einem intensiven und/oder längeren Zuchtprozess unterzogen wurde.

Abbildung 3: Kopplungsungleichgewicht (LD) in den Stichproben der 3 Subpopulationen

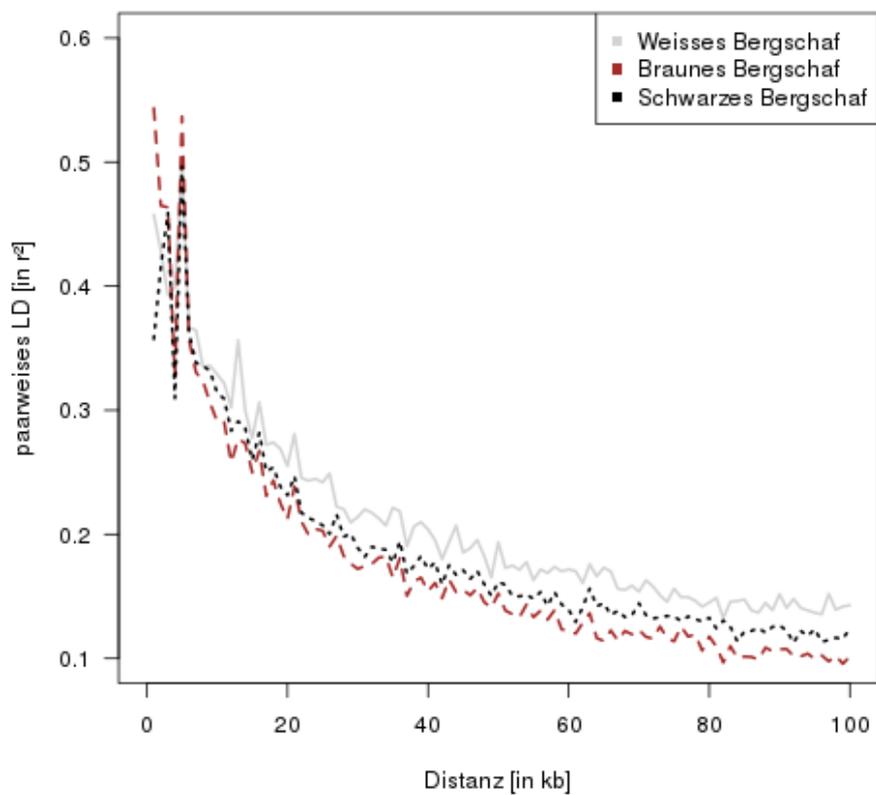


Tabelle 7a: Weißes Bergschaf ($\emptyset R^2$, Linkage Disequilibrium (LD) genomweit: 0,128)

Chr	Anzahl SNPs	R²	∅ Abstand (kb)	Min. Abstand (kb)	Max. Abstand (kb)
1	4815	0,124	556,979	1,757	2360,211
2	4476	0,136	540,613	1,780	2469,871
3	3977	0,133	547,557	0,136	2128,649
4	2168	0,142	534,343	2,886	2044,786
5	1945	0,122	534,240	0,065	2679,389
6	2088	0,131	540,133	2,024	2419,472
7	1787	0,127	542,079	2,109	1893,058
8	1711	0,122	515,128	2,615	1754,039
9	1724	0,141	531,026	3,658	3390,040
10	1456	0,140	564,207	1,623	2815,591
11	925	0,127	645,441	3,872	2127,232
12	1371	0,127	556,373	1,945	3044,566
13	1378	0,128	585,952	1,785	2264,013
14	934	0,115	652,243	0,036	2661,787
15	1394	0,127	558,116	1,955	2717,766
16	1244	0,131	555,481	2,462	1939,624
17	1199	0,120	574,116	2,903	1596,106
18	1166	0,118	558,068	4,448	1979,797
19	995	0,131	586,547	5,053	2237,302
20	888	0,128	543,819	3,209	2134,513
21	704	0,134	679,529	2,843	3904,443
22	908	0,122	536,875	2,029	2311,699
23	950	0,115	631,824	5,007	2300,562
24	589	0,117	683,550	2,766	2207,202
25	836	0,120	524,703	4,199	2798,738
26	749	0,121	570,205	0,922	1693,737
X	1189	0,114	1108,726	2,882	14292,923

Tabelle 7b: Braunes Bergschaf ($\emptyset R^2$, LD genomweit: 0,097)

Chr	Anzahl SNPs	R²	∅ Abstand (kb)	Min. Abstand (kb)	Max. Abstand (kb)
1	4976	0,096	538,883	1,757	2399,841
2	4647	0,105	520,612	1,780	2362,819
3	4212	0,098	516,831	0,136	2008,672
4	2288	0,094	506,195	2,064	2044,786
5	2006	0,094	518,288	0,065	2536,187
6	2185	0,099	516,793	2,024	2146,135
7	1882	0,095	514,135	2,109	1722,463
8	1774	0,093	496,734	2,615	1746,371
9	1812	0,096	505,524	3,658	3390,040
10	1545	0,104	532,008	1,623	2815,591
11	979	0,098	609,889	3,872	2066,263
12	1445	0,097	527,601	1,945	2898,883
13	1421	0,094	568,378	3,746	2211,884
14	971	0,096	627,843	0,036	2542,988
15	1422	0,099	547,024	1,955	2479,530
16	1315	0,090	526,699	2,462	1586,363
17	1227	0,091	570,876	2,906	1659,998
18	1203	0,099	541,358	4,448	1927,895
19	1055	0,104	553,078	5,053	1745,332
20	937	0,093	516,141	3,209	1907,723
21	753	0,091	634,862	2,843	3821,312
22	944	0,092	517,021	2,029	2311,699
23	964	0,088	622,429	5,007	2211,012
24	615	0,087	653,944	2,766	1933,578
25	860	0,095	509,527	4,199	2855,772
26	776	0,088	550,379	0,922	1707,100
X	1233	0,105	1069,495	2,882	14118,874

Tabelle 7c: Schwarzes Bergschaf ($\bar{\rho} R^2$, LD genomweit: 0,112)

Chr	Anzahl SNPs	R^2	$\bar{\rho}$ Abstand (kb)	Min. Abstand (kb)	Max. Abstand (kb)
1	4909	0,111	546,334	1,757	2360,211
2	4629	0,117	522,730	1,780	2362,819
3	4112	0,118	529,516	0,136	2008,672
4	2254	0,113	513,846	2,064	2286,295
5	1985	0,106	523,464	0,065	2603,512
6	2153	0,114	524,029	2,422	2164,909
7	1865	0,108	519,261	2,109	1907,770
8	1748	0,107	504,163	2,615	1745,347
9	1793	0,116	510,850	3,658	3489,184
10	1532	0,117	536,254	1,623	2753,748
11	962	0,106	620,464	3,872	2127,232
12	1448	0,109	526,505	1,945	2898,883
13	1393	0,116	579,785	1,785	2323,529
14	967	0,112	630,049	0,036	2542,988
15	1420	0,109	547,800	1,955	2616,176
16	1293	0,112	535,679	2,462	1626,533
17	1207	0,119	580,800	2,906	1688,662
18	1187	0,109	548,715	4,448	1927,895
19	1019	0,120	572,449	5,053	1879,357
20	927	0,105	521,768	3,209	1907,723
21	736	0,111	648,014	2,843	3865,712
22	937	0,098	520,891	2,029	2311,699
23	951	0,102	630,496	5,007	2211,012
24	614	0,099	656,560	2,766	1877,606
25	844	0,104	519,851	4,199	2869,032
26	775	0,103	549,716	0,922	1743,640
X	1199	0,129	1099,708	2,882	14854,518

Aus Abbildung 3 ist ersichtlich, dass beim Weißen Bergschaf im Mittel über alle Chromosomen die höchsten R^2 -Werte ermittelt wurden. In den Tabellen 7a – 7c sind die entsprechenden mittleren R^2 -Werte je Chromosom für alle 3 Subpopulationen aufgeführt. Demzufolge müsste das Weiße Bergschaf in der Vergangenheit stärker züchterisch bearbeitet worden sein im Vergleich zu den Farbigen Subpopulationen, die sich kaum unterscheiden. Die R^2 -Werte aller drei Subpopulationen sind allerdings generell niedrig. In einer intensiven Zuchtpopulation wie z.B. den Nordamerikanischen Holsteins wurden R^2 -Werte im Mittel über alle Chromosomen von 0,30 und mehr gefunden, Sargolzaei et al. (2008). Dies deutet darauf hin, dass in den hier untersuchten Schafpopulationen nicht sehr intensiv selektiert und gezüchtet wurde.

5.5 Populationsanalysen mit POPREP

Die ausführlichen Ergebnisse der klassischen Populationsanalysen sind im Anhang in den Standard-Berichten aus ‚POPREP‘ jeweils für die Populationen Weißes, Braunes und Schwarzes Bergschaf zu finden.

A: PopReport „A Pedigree Analysis Report“

B: PopReport „A Population Monitoring Report“

Wie in Punkt 4 bereits ausgeführt, sind aufgrund der Datenstruktur nur Populationsanalysen innerhalb der 3 Populationen möglich, da in den Herdbuchdaten so gut wie keine gemeinsamen Ahnen über die Populationen identifiziert werden können. Die Pedigreevollständigkeit (siehe Pedigree Completeness) in den Daten ist ebenfalls in allen 3 Populationen nicht sehr hoch. Dadurch resultieren generell niedrige Inzuchtkoeffizienten (F) und auch der Anstieg der Inzucht über Jahre und Generationen ist niedrig und/oder sehr schwankend. Dadurch ist eine Ableitung der Effektiven Populationsgröße (N_e) – als Maß bzw. Hinweis für noch die vorhandene/nutzbare genetische Variabilität in der Population – über den relativen Inzuchtanstieg (ΔF_g) sehr unsicher (letzte Spalte in Tabelle 8). POPREP empfiehlt daher die generell niedrigeren Werte aus der alternativen Schätzmethode (Ecg) unter zusätzlicher Berücksichtigung der Anzahl bekannter Ahnen (3. Spalte in Tabelle 8).

Tabelle 8: Effektive Populationsgrößen geschätzt mit POPREP-Analysen der 3 Bergschaf Sub-Populationen

Bergschaf-Population	Empfohlene Methode	Effektive Populationsgröße (empf. Methode)	Effektive Populationsgröße $N_e-\Delta F_g$
Weißes	N_e -Ecg	108	179
Braunes	N_e -ECg	86	112
Schwarzes	N_e -Ecg	61	175

Aufgrund der (allerdings unsicher) geschätzten effektiven Populationsgrößen ist in allen 3 Sub-Populationen noch genügend züchterisch nutzbare(s) Varianz/Potential um die Rassen in getrennten Zuchtprogrammen zu bearbeiten. Populationsübergreifend ist die effektive Populationsgröße zwar nicht ableitbar, dürfte aber – reale und vollständige Abstammungsdaten über alle 3 Subpopulationen unterstellt – auf jeden Fall bedeutend höher sein.

6. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse und Erkenntnisse

Aus der Zuchtgeschichte der Weißen, Braunen und Schwarzen Bergschafe wird deutlich, dass die Rassen eine relativ enge Verbindung innerhalb des Rassenspektrums der Schafe aufweisen.

In der vorliegenden Untersuchung sollten genetische Gemeinsamkeiten und Unterschiede anhand SNP-Marker-Daten an einer Stichprobe von je 50 typisierten Tieren je Rasse herausgearbeitet werden. Die hier verwendete Stichprobengröße war vom Projektgeber vorgegeben, ist aber etwas geringer wie in vergleichbaren Untersuchungen, die bereits im Bericht zitiert wurden.

Die Beziehung der drei Bergschafassen wurde mittels Hauptkomponentenanalyse der SNP-Marker-Informationen dargestellt. Die Weißen Bergschafe können ziemlich eindeutig von den Farbigen (Braun & Schwarz) Bergschafen differenziert werden. Die Abgrenzung der typisierten Stichproben der Braunen und Schwarzen Populationen war jedoch nicht so eindeutig. Die beiden Stichproben überlappen sich teilweise.

In der Hauptkomponentenanalyse konnte ein Farb-Gen identifiziert werden, das eindeutig zur Differenzierung zwischen „weiß“ und „nicht-weiß“ beiträgt. Weitere Farb-Gene, die in anderen Rassen gefunden wurden, hatten spielten keine Rolle in der Hauptkomponentenanalyse. Insbesondere waren keine Marker auffällig, die eine Differenzierung zwischen „Schwarz“ und „Braun“ ermöglichen.

Mittels Fixation Index konnten nur drei Genom-Abschnitte auf Chromosom 3 identifiziert, die etwas mehr zur Diversität zwischen den Subpopulationen beitragen.

Aufgrund der Abschätzung des Kopplungsungleichgewichtes (LD) wurde das Weiße Bergschaf züchterisch etwas stärker bearbeitet als die beiden farbigen Rassen. Im Vergleich zu intensiv selektierten Zuchtpopulationen, wie z.B. bei Milchrindern, sind die Werte jedoch wesentlich geringer, was auf geringen Selektionsdruck in allen drei Populationen hinweist.

Konventionelle Populationsanalysen auf Basis von Pedigree-Informationen sind stark abhängig von der Vollständigkeit der Abstammungsdaten. Nur mit vollständigen und eindeutigen Abstammungsinformationen können verwandtschaftliche Beziehungen innerhalb Rassen und über Rassen dargestellt und analysiert werden. Die vorliegenden Abstammungsinformationen der die hier untersuchten Bergschafschläge sind nicht ausreichend und aussagefähig um verwandtschaftliche Ähnlichkeiten und Differenzierungen herauszuarbeiten.

Nutzen und Verwertbarkeit

Bei der Erstaufnahme von Tieren ins Herdbuch ohne oder mit lückenhaften Abstammungsdaten ist die Zuordnung zu einer Rasse allein anhand der phänotypischen Ausprägungen (Farbe) ungenau. Kreuzungstiere mit unterschiedlichen Rasseanteilen können nicht erkannt und somit ungerechtfertigt in die Zucht integriert werden (siehe auch Schweizer Schafrassen Spiegelschaf, Burren (2014)). Eine Zuordnung zu einer Rasse könnte über eine SNP-Analyse abgesichert werden, insbesondere wenn die

Abstammungen unbekannt sind. Zukünftig könnten nicht eindeutig zuordenbare Tiere mittels Typisierung und anschließender Hauptkomponentenanalyse gezielter der jeweils genetisch ähnlichsten Subpopulation zugeteilt werden.

Darüber hinaus könnten mit dieser Methodik gezielt Tiere verwandter Rassen aufgrund ihres SNP-Musters für die Eignung zur Blutauffrischung in der jeweiligen Zuchtpopulation ausgewählt werden. Dies wird in Belgien bei einigen kleinen Lokalschlägen des Rotbunten Rindes bereits praktiziert (persönliche Mitteilung, N. Gengler (2017, GSA der DGfZ in Cuxhaven)).

Empfehlungen

Für die Ausrichtung der Zuchtprogramme für die Bergschaf-Rassen sind 2 Szenarien denkbar:

A: Ein Zuchtprogramm für eine gemeinsame Rasse mit Farblinien

- Die enge Verwandtschaft der Gruppen kann zu einer Erweiterung der Zuchtbasis insbesondere für die schwarzen und braunen Bergschafe genutzt werden.
- Die Zucht könnte trotzdem in unterschiedliche Farblinien strukturiert werden. Die Einbindung von SNP-Informationen kann die Abgrenzung der Linienzuordnung verbessern.

B: Eigene Zuchtprogramme für drei eigenständige Farbrassen

- Die im Ansatz vorhandenen Unterschiede der drei Subpopulationen innerhalb der Bergschafe werden genutzt, um die Gruppen konsequent hin zu eigenständigeren Rassen weiterzuentwickeln. Die Einbeziehung von SNP-Informationen kann diesen Prozess maßgeblich unterstützen.
- Getrennte Rassen und Zuchtprogramme nur aufgrund verschiedener Farbgebung sind jedoch nur gerechtfertigt, wenn zusätzlich unterschiedliche Zuchtziele, die durch spezielle Merkmale und deren rassespezifische Gewichtung definiert sind, verfolgt werden. Dazu sind verstärkte Merkmalerfassungen nötig, und darauf aufbauend könnten dann Assoziationsstudien mit SNP-Markern durchgeführt werden als Basis für eine genomische Selektion.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Untersuchungen, auch wenn sie auf kleinen Stichproben in den 3 Subpopulationen beruhen, tendieren die Verfasser dieses Berichts zu Szenario A.

Für beide Szenarien erscheint eine Einbeziehung von SNP-Informationen primär auf der Bockseite gerade für die Rassen- oder Linien-Abgrenzung, aber auch später für eine mögliche genomische Selektion, erforderlich. Kurzfristig sollte von allen eingesetzten Böcken Material für genetische Analysen eingelagert werden. Insbesondere Tiere mit unvollständigen Abstammungsinformationen lassen sich auf Grund von SNP-Informationen eindeutiger einer Gruppe zuordnen. Die Berücksichtigung der direkten genetischen Informationen können aber nicht nur zur Abgrenzung von Populationen genutzt werden. Es kann auch durch eine Einbeziehung von Tieren aus verwandten Rassen, die genetische Basis von Rassen erweitert werden.

7. Zusammenfassung

Einleitung

Die Schafrassen Weißes (WBS), Braunes (BBS) und Schwarzes (SBS) Bergschaf werden züchterisch in getrennten Herdbüchern in Reinzucht bearbeitet. Ziel dieser Analyse ist es auf der Basis von genetischen Untersuchungen, Erkenntnisse zur Eigenständigkeit der genannten Rassen zu ermitteln. Auf dieser Grundlage sollen Entscheidungen über die zukünftige züchterische Bearbeitung und Entwicklung der Bergschafrassen getroffen werden

Methoden

Je Rasse wurden von 50 stichprobenartig ausgewählten Tieren Gewebeproben gewonnen, die mit dem Illumina OvineSNP50 Bead Chip genotypisiert wurden. Die Plausibilisierung und Beschreibung der SNP-Informationen wurde mit dem Programmpaket PLINK durchgeführt. Die Darstellung der genomischen Differenzierung der drei Subpopulationen wurde über die Hauptkomponentenanalyse (HKA) und mittels Fixation Index vorgenommen. Des Weiteren wurde eine „klassische bzw. konventionelle“ Populationsanalyse mit dem Programmsystem ‚POPREP‘ für alle in serv.it OVICAP aktuell als lebend bzw. aktiv registrierten Tiere der drei Herdbuchpopulationen durchgeführt.

Ergebnisse

Die Tiere der Population WBS konnte an Hand der 1. Hauptkomponente von Tieren der Populationen BBS und SBS deutlich getrennt werden. Die Farbigen Population lässt nicht eindeutig trennen. Die SNP-Informationen erlauben Tiere ohne Abstammungs- und Rasseangaben bei hoher Wahrscheinlichkeit zur Weißen bzw. der Farbigen (BBS & SBS) Subpopulation zuzuordnen.

Schlussfolgerungen

Für die Ausrichtung der Zuchtprogramme für die Bergschaf-Rassen sind 2 Szenarien denkbar:

A: Ein Zuchtprogramm für eine gemeinsame Rasse mit Farblinien

- Die enge Verwandtschaft der Gruppen kann zu einer Erweiterung der Zuchtbasis insbesondere für die schwarzen und braunen Bergschafe genutzt werden.
- Die Zucht könnte trotzdem in unterschiedliche Farblinien strukturiert werden. Die Einbindung von SNP-Informationen kann die Abgrenzung der Linienzuordnung verbessern.

B: Eigene Zuchtprogramme für drei eigenständige Farbrassen

- Die im Ansatz vorhandenen Unterschiede der drei Subpopulationen innerhalb der Bergschafe werden genutzt, um die Gruppen konsequent hin zu eigenständigeren Rassen weiterzuentwickeln. Die Einbeziehung von SNP-Informationen kann diesen Prozess maßgeblich unterstützen.
- Getrennte Rassen und Zuchtprogramme nur aufgrund verschiedener Farbgebung sind jedoch nur gerechtfertigt, wenn zusätzlich unterschiedliche Zuchtziele, die durch spezielle Merkmale und deren rassespezifische Gewichtung definiert sind, verfolgt werden. Dazu sind verstärkte Merkmalerfassungen nötig, und darauf aufbauend könnten dann Assoziationsstudien mit SNP-Markern durchgeführt werden als Basis für eine genomische Selektion.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Untersuchungen, auch wenn sie auf kleinen Stichproben in den 3 Subpopulationen beruhen, tendieren die Verfasser dieses Berichts zu Szenario A.

8. Literaturverzeichnis

Abraham G., M. Inouye (2014): Fast Principal Component Analysis of Large-Scale Genome-Wide Data. *PLoS ONE* 9(4): e93766. doi: 10.1371/journal.pone.0093766

Burren, A., Signer-Hasler, H., Neuditschko, M., Tetens, J., Kijas, J. W., Drögemüller, C., et al. (2014). Fine-scale population structure analysis of seven local Swiss sheep breeds using genome-wide SNP data. *Anim. Genet. Resour.* 55, 67–76. doi: 10.1017/S2078633614000253

Grasso, A.N., V. Goldberg, E.A. Navajas, W. Iriarte, D. Gimeno, I. Aguilar, J.F. Medrano, G. Rincon, G. Ciappesoni (2014): Genomic variation and population structure detected by single nucleotide polymorphism arrays in Corriedale, Merino and Creole sheep. *Genetics and Molecular Biology* 37, 2, 389-395.

Li M-H., T. Tiirikka, J. Kantanen (2013): A genome-wide scan study identifies a single nucleotide substitution in ASIP associated with white versus non-white coat-colour variation in sheep (*Ovis aries*) . <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3907097/>

Purcell S., B. Neale, K. Todd-Brown, M.A. Ferreira (2007): PLINK, a tool set for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, Volume 81, issue 3, 559 – 575.

Rencher, A.C. (1998): *Multivariate Statistical Inference and Applications*. New York, John Wiley & Sons Inc, 1998.

Sargolzaei, M., F.S. Schenkel, G.B. Jansen, L.R. Schaeffer (2008): Extent of Linkage Disequilibrium in Holstein cattle in North America. *Journal of Dairy Science*, volume 91, issue 5, pages 2106-2117.

VanRaden P.M. (2008): Efficient Methods to Compute Genomics Predictions. *J. Dairy Sci.* 91: 4414-4423. doi: 10.3168/jds.2007-0980

Visser C., S.F. Lashmar, E. Van Marle-Köster, M.A. Poli, D. Allain (2016): Genetic Diversity and Population Structure in South African, French and Argentinian Angora Goats from Genome-Wide SNP Data. *PLoS ONE* 11(5): e154353. doi: 10.1371/journal.pone.0154353

Weir, B.S., C.C. Cockerham (1984): Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, volume 38, issue 6, pages 1358-1370.

Zheng, X., S. Gogarten, C. Laurie, B. Weir (2017): Package „SNPRelate“, November 2, 2017. <https://bioconductor.org/packages,SNPRelate,ReferenceManual,02-11-2017.>