

26. HÜLSENBERGER GESPRÄCHE 2016

Die postgenomische Ära: Die Renaissance des Phänotyps

H. WILHELM SCHAUMANN STIFTUNG

26. Hülsenberger Gespräche 2016
der H. Wilhelm Schaumann Stiftung

**Hülsenberger
Gespräche
2016**

Die postgenomische Ära: Die Renaissance des Phänotyps

Inhaltsverzeichnis

Begrüßung.....	W. WEISTHOFF	7
Potentiale und Herausforderungen der genomischen Selektion in der Tierzucht.....	J. BENNEWITZ	10
Diskussion		
Effektiver Einsatz neuer DNA-Sequenzierungsmethoden bei Erbfehlern	C. DRÖGEMÜLLER	20
Dikussion		
Größer, schneller, präziser: Die Versprechen der Genomischen Tierzucht – wie wir sie einlösen	R. FRIES	28
Diskussion		
Perspektiven der genomischen Selektion in der Pflanzenzüchtung	R. SNOWDEN	35
Diskussion		
Neue Phänotypen in der Pflanzenzüchtung	U. SCHURR	43
Neue Phänotypen in der Tierzüchtung	G. THALLER	49
Diskussion Schurr & Thaller		
Die Bedeutung der Epigenetik in der Pflanzen- und Tierzüchtung	K. WIMMERS	59
Diskussion		
Konzepte der genomweiten molekularen Analyse und Datenintegration in der Biologie	W. WECKWERTH	68
Diskussion		

Laktation: Milchbildung, Nährstoffflüsse und Regulation	G. BREVES	75
Diskussion		
Wachstum: Produkt – relevante Gewebe, Wachstumsverläufe und –regulation.	H. SAUERWEIN	86
Diskussion		
Ein Ei pro Tag: Regulation, Reifung und Nährstoffbedarf.	B. KASPERS	96
Diskussion		
Genetische Modulation der Ernährungsphysiologie	W. WINDISCH	103
Bedeutung des gastrointestinalen Mikrobioms	J. SEIFERT	114
Diskussion		
Angeborenes und erworbenes Immunsystem: Wichtige genetische Modulatoren der Tiergesundheit?	C. KÜHN	124
Diskussion		
Beiträge der funktionalen Genomanalyse zum Verständnis des komplexen Merkmals Fruchtbarkeit	S. BAUERSACHS	136
Diskussion		
Zusammenfassung	G. BREVES	145
Schlusswort	E. KALM	149
Teilnehmer der HÜLSENBERGER GESPRÄCHE 2016		151
Referenten der HÜLSENBERGER GESPRÄCHE 2016.		156
Hülsenberger Gespräche von 1965 bis 2016		159

Begrüßung zu den »26. Hülsenberger Gesprächen 2016«



Sehr geehrte Herren Seiller, sehr geehrte Damen und Herren,
im Namen des Kuratoriums und des Vorstandes der H. Wilhelm Schaumann Stiftung begrüße ich Sie recht herzlich zu den 26. Hülsenberger Gesprächen in Hamburg. Wir freuen uns, dass Sie unserer Einladung so zahlreich gefolgt sind.

Ich möchte auch alle Referenten und Diskussionsleiter begrüßen und mich für Ihre Zusage bedanken, uns mit Ihren Beiträgen nicht nur neue Erkenntnisse, sondern auch Anregungen für die weitere Diskussion zu geben. Gleichzeitig freuen wir uns bereits jetzt, wenn sich hierdurch auch Fragestellungen für die weitere Forschung zu der gewählten Thematik der diesjährigen Hülsenberger Gespräche ergeben.

Mit dem diesjährigen Generalthema „Die postgenomische Ära: Die Renaissance des Phänotyps“ werden wir einen Bogen von der aktuellen Zuchtwertschätzung in der Tierzucht über die derzeitigen Zuchtprogramme in der Pflanzenzucht bis zur Ausprägung von Merkmalen wie z.B. von Milch, Fleisch, Eiern und Interaktionen von Umwelt und Genom spannen. Mit der gewählten Thematik möchten wir mit Ihnen Ihre speziellen Erfahrungen sowie neue Erkenntnisse diskutieren. Hierbei soll die vom Stiftungsgründer Heinrich Wilhelm Schaumann geforderte Interdisziplinarität nicht vernachlässigt werden.

Das diesjährige Thema der Hülsenberger Gespräche kann und muss mit einem oder vielleicht dem Pionier der Genetik in Verbindung gebracht werden: 1866, also vor genau 150 Jahren, hat der Mönch Gregor Mendel in Brunn seine „Versuche über Pflanzenhybriden“ veröffentlicht.

Auch wenn Gregor Mendel damals keine Erkenntnisse über Gene und Chromosomen hatte, gelang es ihm doch, mit einfachen Mitteln – in einer kürzlich stattgefundenen Tagung wurden seine Arbeiten als „Erbenzahlen“ beschrieben – Merkmale zu beschreiben und Gesetzmäßigkeiten, von ihm als Regel benannt, zu manifestieren.

Die Uniformitäts-, Spaltungs- und Unabhängigkeitsregel sind heute noch die Ausgangsbasis für die klassische Genetik. Gleichzeitig sind diese Arbeiten aber auch die Grundlage für weitere Entwicklungen.

Die genomische Selektion und das Gen-Editieren finden ihre Grundlage in den Erkenntnissen von Gregor Mendel. Mit dem diesjährigen Programm werden wir gemeinsam die weitere Entwicklung von genetischen Methoden in Tier- und auch in der Pflanzenproduktion verfolgen. Ein gemeinsames Ziel ist dabei, Erträge und Leistungen zu optimieren und die Wirtschaftlichkeit der einzelnen Produktionsverfahren zu verbessern. Hierbei ist es unabdingbar, dass neben den klassischen Methoden zur Erfassung der Merkmale

auch Hintergrundwissen über die Ausprägung dieser komplexen Zusammenhänge erfasst wird.

Das Programm der diesjährigen Hülsenberger Gespräche haben wir folgendermaßen gestaltet: Im ersten Tagungsblock geben uns die Referenten einen Einblick in aktuelle Arbeitsmethoden der heutigen Haustiergenetik. Hierbei zeigen unsere beiden ersten Referenten auf, welche Mehrleistungen durch eine genomische Selektion, dem heutigen Standardverfahren in der Tierzucht, erreicht werden können. Weiterhin wird auch auf die Möglichkeit der Erkennung von Erbfehlern in der Tierzucht eingegangen – diese Erkenntnisse werden hoffentlich nicht nur in der Pflanzenzucht, sondern auch in der Humangenetik genutzt.

Im dritten Referat dieses Tagungsblockes wird dann bereits aufgezeigt, dass mit Kenntnissen über den Genotyp der Phänotyp, also Merkmalsausprägung eines Individuums, nicht vergessen werden darf.

Im zweiten Tagungsblock wird die Frage nach Synergien zwischen der Pflanzen- und Tierzüchtung gestellt. Welche Zuchtfortschritte bietet die genomische Selektion als alternative Methode der bisherigen Hybridzüchtung gegenüber der Pflanzenzucht?

Erfahrungen aus der Tierzucht werden zunehmend auch in der Pflanzenzucht eingesetzt. Mit diesen Verfahren kann der Zuchtfortschritt in kürzeren Zeitintervallen verbessert, die Aufwendungen für umfangreiche Prüfungen minimiert werden.

Nachfolgend gehen wir näher auf den Phänotyp, die Ausprägung funktionaler und struktureller Merkmale von Pflanze und Tier ein. Mit den gesellschaftlich nicht akzeptierten Methoden der Molekulargenetik kommt der Phänotypisierung in der Pflanzenzucht eine wiederkehrende Bedeutung zu. Komplexe Zuchtziele wie die Trockenresistenz, erhöhte Temperaturen oder auch verlängerte Vegetationsperioden sind Herausforderungen für die Pflanzenzucht. Die Bedeutung komplexer Merkmale in der Tierzucht und Maßnahmen für eine Verbesserung dieser Merkmale werden nach-

folgend dargestellt. Nutzungseffizienz, Gesundheits- und Resistenzmerkmale, die Anpassung an veränderte Umwelten oder auch eine spezifische Produktqualität sind wichtige Merkmale, die bearbeitet werden müssen. Der Epigenetik, also die unterschiedliche Entwicklung genetisch gleicher Zellen im Organismus, kommt bei der Anpassung an komplexe Umweltfaktoren, eine besondere Bedeutung zu.

Im dritten Tagungsblock wird gezeigt, welche physiologischen Programme bei Laktation, Wachstum und Legeleistung ablaufen. Wie wird die Milchbildung gesteuert und kann gezielt eine Beeinflussung erfolgen? Wie kann das Wachstum eines Individuums im Zeitablauf beschrieben werden und welche Stoffwechselforgänge sind z. B. an der Eibildung beteiligt? Auf diese Fragestellungen werden Antworten und auch eine detaillierte Beschreibung von möglichen Methoden zur weiteren Entwicklung derartiger Programme erwartet.

Im letzten Tagungsblock richten wir einen Blick in die Zukunft: Welche Wechselwirkung gibt es zwischen Umwelt und Genom in der Ernährungsphysiologie, der Entwicklung von Mikrobiota im Verdauungstrakt oder auch der Immunität und der Fruchtbarkeit bei unseren Nutztieren? Kann die Genetik die weitere Entwicklung dieser Merkmale beeinflussen? Die einzelnen Beiträge zeigen mögliche Ansatzpunkte für gemeinsame Fragestellungen zwischen Physiologen, Immunologen und Genetikern auf.

Sehr geehrte Damen und Herren, die Landwirtschaft des 21. Jahrhunderts wird durch stetige Veränderungen geprägt. Auch die diesjährige Inhalt der Hülsenberger Gespräche beschäftigt sich mit neuen Herausforderungen in der landwirtschaftlichen Forschung. Hierbei kommt der interdisziplinären Zusammenarbeit, wie das vorliegende Tagungsprogramm zeigt, eine wachsende, nicht mehr wegzudenkende Bedeutung zu. Daher möchte ich Sie bereits jetzt auffordern, den interdisziplinären Dialog zu pflegen.

Auch heute, fast 50 Jahre nach der Gründung, folgt die H. Wilhelm Schaumann Stiftung den Zielen ihres Stiftungsgründers.

Nicht nur die Ausrichtung der Hülsenberger Gespräche, sondern auch die Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses sind in Vergangenheit und Gegenwart eine wichtige Aufgabe der H. Wilhelm Schaumann Stiftung. Drei der diesjährigen Referenten haben in den vergangenen Jahren den großen Förderpreis unserer Stiftung erhalten und arbeiten jetzt erfolgreich als Lehrstuhlinhaber – Beispiele für eine erfolgreiche Stiftungsarbeit.

Ein besonderer Dank gilt an dieser Stelle den Herren Charles und Olivier Seiller, die es mit viel persönlichem und finanziellem Engagement ermöglichen, dass die vom Stiftungsgründer, Herrn H. Wilhelm Schaumann, im Jahr 1967 ins Leben gerufene Stiftung ihre in der Satzung festgelegten Ziele weiterführen kann.

Sehr geehrte Damen und Herren, auch die diesjährigen Hülsenberger Gespräche werden Ihnen neue Ideen und Denkanstöße für Ihre weitere Forschungsarbeit geben. Gleichzeitig wünschen wir uns, dass hierdurch interessante und auch interdisziplinäre Fragestellungen für unseren wissenschaftlichen Nachwuchs entstehen, der dann auch durch die H. Wilhelm Schaumann Stiftung gefördert werden kann.

Bevor ich nun Herrn Professor Dr. Schwerin für die Moderation des ersten Tagungsblockes das Wort erteile, möchte ich uns allen einen erfolgreichen und diskussionsreichen Verlauf der 26. Hülsenberger Gespräche wünschen.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit.

Potentiale und Herausforderungen der genomischen Selektion in der Tierzucht



Einleitung: Ein kurzer historischer Einblick

Die Schätzung der Werte von Tieren für die Zucht, die Zuchtwertschätzung (ZWS), ist ein zentrales Element in der Tierzucht. Traditionell wurden Beobachtungsdaten aus Leistungsprüfungen mit Abstammungsdaten kombiniert und sogenannte BLUP-Zuchtwerte geschätzt. Die Genauigkeit der BLUP-Zuchtwerte war umso größer, je mehr Beobachtungen von den Tieren oder von nahen Verwandten berücksichtigt werden konnten. In der Rinderzucht wurde daher auf die Leistung der Nachkommen gewartet (Nachkommenschaftsprüfung), bevor ein Bulle als Besamungsbulle unbegrenzt eingesetzt werden konnte. Der Nachteil dieses Verfahrens der ZWS ist, dass es oft recht lange dauert, bis Beobachtungen von vielen verwandten Tieren auflaufen, was ein langes Generationsintervall bedeutet. Letzteres wirkt sich negativ auf den jährlichen Zuchtfortschritt aus. Es besteht also ein Antagonismus zwischen dem Generationsintervall und der Genauigkeit der ZWS. Mit der markergestützten Selektion (Marker Assisted Selection, MAS) wurden vor ca. 15 Jahren erste Versuche unternommen, diesen Antagonismus zu durchbrechen. Die MAS wurde in einigen Holsteinzuchten implementiert, u. a. auch in Deutschland (Bennewitz et al. 2006). Sie ist ein zweistufiger Ansatz. Im ersten Schritt werden die Genomregionen mit einem Einfluss auf die Variation tierzüchterisch relevanter Merkmale (Quantitative Trait Loci, QTL) kartiert. Im zweiten Schritt werden dann in diesen Regionen genetische Marker bei den Zucht-

tieren genotypisiert und diese Information bei der ZWS berücksichtigt, in Ergänzung zu den Abstammungsdaten und den Beobachtungsdaten. Die Idee schien zunächst vielversprechend, da man zu dem damaligen Zeitpunkt von einer sehr begrenzten Anzahl von QTL (einige hundert, wenn überhaupt) ausging. Jedoch zeigte sich sehr bald, dass das MAS Verfahren sehr ineffizient war, da die durch die kartierten QTL erklärte Varianz sehr gering war. Dieses Phänomen wird in der heutigen Zeit in der Humangenetik als ‚Missing Heritability‘ bezeichnet.

Im Jahre 2001 (Meuwissen et al. 2001) wurde die Idee formuliert, den ersten Schritt bei der MAS wegzulassen und alle Marker bei der ZWS zu berücksichtigen. Diese Form der Selektion weitete die MAS auf das ganze Genom aus und ist daher als genomweite Selektion oder *genomic selection* (GS) bekannt geworden. Drei technische Entwicklungen waren notwendig, um die Idee der GS zur Praxisreife zu bringen (Goddard und Hayes 2009, Meuwissen et al. 2016): (i) Genomweite und dichte SNP-Markerkarten wurden als Nebenprodukt der Genomsequenzierungsprojekte unter Einsatz von Next-Generation-Sequenzierungstechniken bei landwirtschaftlich genutzten Spezies verfügbar. (ii) SNP-Chip-Technologien kamen auf den Markt und ermöglichten die kostengünstige Genotypisierung von zig-tausend SNPs im Hochdurchsatzverfahren. In der Tierzucht werden meist 50K SNP-Chips genutzt, jedoch werden auch Chips mit einer höhe-

ren Dichte (High Density Chips) und auch mit einer niedrigeren Dichte (Low Density Chips) eingesetzt. Eine Umrechnung von einem Chip zu einem anderen kann mit dem sogenannten Imputing erfolgen. (iii) Die statistische Modellierung zur Schätzung von Zuchtwerten aus diesen hochdimensionalen SNP-Daten wurde entwickelt (Meuwissen et al. 2001). Die drei Voraussetzungen waren für die meisten Nutztierkategorien Mitte des vorherigen Jahrzehnts erfüllt und die GS somit praxisreif.

Funktionsweise der GS

Die GS benötigt eine sogenannte Lernstichprobe, in der SNP-Chip-genotypisierte und merkmalsgeprüfte Tiere (EL- oder NK-geprüft) enthalten sind. Diese Stichprobe ist von zentraler Bedeutung, da sie für die Schätzung der SNP-Markereffekte benötigt wird. Junge Selektionskandidaten werden direkt nach der Geburt (oder auch schon vorher) SNP-Chip-genotypisiert und die geschätzten Markereffekte bei diesen Tieren zu einem direkten genomischen Wert aufsummiert. Letzteres wird i.d.R. mit dem konventionellen Pedigree-Index zum genomisch geschätzten Zuchtwert kombiniert. Es zeigte sich, dass bei einer ausreichend großen Lernstichprobe die Genauigkeit des genomisch geschätzten Zuchtwertes von jungen Tieren ohne weitere Erfassung von phänotypischen Leistungen hoch ist. Dadurch ist es möglich, die jungen Tiere als Zuchttiere mit hoher Genauigkeit zu selektieren und den eingangs beschriebenen Antagonismus zwischen der Genauigkeit der ZWS und dem Generationsintervall zu durchbrechen.

Die Herausforderung bei der Schätzung der Markereffekte in der Lernstichprobe ist, dass sehr viele Markereffekte aus einer begrenzten Anzahl Beobachtungen geschätzt werden müssen. Zudem liegen die meisten Marker nicht in unmittelbarer Nähe der QTL und ihre geschätzten Effekte reflektieren keine echten genetischen, sondern Zufallseffekte. Eine weitere Schwierigkeit bereitet die Verteilung der QTL-Effekte. Das Schätzsystem muss diese Verteilung adäquat modellieren können. Bis zum heutigen Zeitpunkt wurden Least-Squares-, SNP-

BLUP- und Bayesian-Modelle, nicht-parametrische Regressionen und noch einige andere Methoden vorgeschlagen (Daetwyler et al. 2013, de los Campos et al. 2013). Dabei zeigte sich vielfach (aber nicht immer), dass die Bayesian-Modelle, die die geschätzte Anzahl an QTL für ein Merkmal und Verteilung der QTL-Effekte als Prior modellieren, den anderen leicht überlegen sind. Jedoch ist die Gewinnung informativer Priors nicht trivial. Daher hat sich eine der SNP-BLUP äquivalente Methode, das G-BLUP, in der Praxis durchgesetzt. Zukünftig werden verstärkt sogenannte Single-Step-G-BLUP Methoden (Legarra et al. 2014) an Bedeutung gewinnen, die sowohl typisierte als auch nicht-typisierte Tiere simultan im Gleichungssystem berücksichtigen.

GS-basierte Milchrinderzucht

In der Milchrinderzucht wurde die genomische Selektion gegen Ende des vorherigen Jahrzehnts in die Praxis eingeführt. Die Voraussetzungen sind dort sehr gut. Einerseits ist der Antagonismus zwischen dem Generationsintervall und der Genauigkeit der ZWS besonders groß und andererseits ist es möglich, große Lernstichproben mit nachkommengeprüften Vererbern zusammenzustellen. In den großen Rinderpopulationen umfassen die Lernstichproben mehrere zigtausend solcher Bullen aus unterschiedlichen Ländern. Derzeit werden die Lernstichproben mit genotypisierten Kühen ergänzt, um die Struktur zu verbessern und um auch zusätzliche Merkmale der Funktionalität (Klauen, Euter, Reproduktion, Stoffwechselstabilität) bei der GS zu berücksichtigen.

Die Akzeptanz genomisch selektierter Vererber ohne Nachkommenschaftsleistungen ist bei den Züchtern im Holsteinbereich hoch (ca. 70 %, S. Rensing, VIT Verden, persönliche Mitteilung), mit regionalen Unterschieden. Modellrechnungen und empirische Auswertungen zeigen eine nahezu Verdoppelung des Zuchtfortschritts seit Einführung der genomischen Selektion bei den Deutschen Holsteins, in nahezu allen Merkmalskomplexen. Dies zeigt, dass die genomische Selektion in großen Populationen hält, was sie ursprünglich versprochen hat.

Die GS bedeutet eine Entkoppelung der Leistungsprüfung vom eigentlichen Zuchtgeschehen. Traditionell mussten von verwandten Tieren oder vom Zuchttier selbst Leistungsprüfungsinformationen verfügbar zu sein, um sichere Zuchtwerte zu schätzen. Die Verzahnung der Leistungsprüfung mit der Zucht wurde von den lokalen Leistungsprüfungsorganisationen (z. B. LKVs) und den lokalen Rinderzuchtorganisationen sichergestellt. Beides sind bäuerliche Organisationen. Letztere betreibt derzeit in Zusammenarbeit mit den Rechenstellen die GS in Deutschland. Durch die GS ist eine enge Verzahnung der Leistungsprüfung und der Zucht nicht mehr zwingend notwendig. Es muss lediglich sichergestellt werden, dass eine große Lernstichprobe zur Verfügung steht, die regelmäßig aktualisiert wird. Dadurch ist ein Handlungsraum für externe Akteure entstanden. So ist derzeit z. B. in den USA zu beobachten, dass Zoetis, ein Tochterunternehmen von Pfizer, Betriebe unter Vertrag genommen hat, um eine eigene Lernstichprobe aufzubauen und bereits einen Service zur Schätzung genomischer Zuchtwerte anbietet. Ob dies eine ernsthafte Konkurrenz für die heimische und bäuerlich organisierte Rinderzucht werden wird, ist derzeit noch nicht abzuschätzen, jedoch wohl im Bereich des Möglichen.

GS in kleinen Rinderpopulationen?

Die Potentiale der GS in den großen Rassen stellt derzeit eine Bedrohung für einige kleine Rassen (z. B. Angler oder Vorderwälder) dar, da diese mit den großen Rassen konkurrieren, jedoch in diesen die Technik der GS nicht ohne weiteres implementiert werden kann. Das Hauptproblem ist die Etablierung einer eigenen und ausreichend großen Referenzstichprobe. Derzeit wird die Etablierung einer kooperativen Referenzstichprobe favorisiert, die geprüfte Tiere von einer großen Population und einige Tiere der kleinen Population enthält, um die genomische Selektion auch in kleinen Populationen nutzen zu können (Lund et al. 2014). Ergebnisse von Simulationsstudien haben gezeigt, dass diese Strategie erfolgreich für die kleinen Populationen

sein kann, wenn (i) die Markerdichte hoch ist, (ii) die große Partnerrasse und die kleine Rasse phylogenetisch nicht zu weit auseinander liegen und (iii) die kleine Rasse auch einen Mindestanteil zur Referenzstichprobe beisteuert (de Roos et al. 2009). Die hohe Markerdichte ist notwendig, da ein rassenübergreifendes Kopplungsungleichgewicht genutzt werden muss. Eine enge phylogenetische Beziehung fördert zudem ein rassenübergreifendes stabiles Kopplungsungleichgewicht. Sollten die obigen drei Punkte erfüllt sein, so könnte die genomische Selektion auch in kleine Rassen für die klassischen Merkmale (nicht für die rassenspezifischen Nischenmerkmale) eine erfolgversprechende Strategie werden. Die ersten publizierten Ergebnisse von Experimenten mit realen Daten bestätigen dies (Lund et al. 2014). Eine Nutzungsperspektive der GS mit genomischen Sequenzdaten ist daher die Etablierung kooperativer und rassenübergreifender Lernstichproben.

Stand der GS in den anderen Nutztierkategorien

Die Perspektiven der genomischen Selektion sind in den anderen Nutztierkategorien weniger lukrativ, da es u. a. häufig schwierig ist, eine ausreichend große Lernstichprobe zu etablieren und das Einsparpotential beim Generationsintervall nicht so groß ist. Trotzdem wird die GS in der Schweinezucht sowohl bei Vaterrassen als auch bei den Mutterassen in Deutschland wie auch international praktiziert (siehe Übersichtsartikel von Knol et al. 2016). In der deutschen Schafzucht sind die Gewinnmargen aus dem Verkauf der tierischen Erzeugnisse sehr gering und ein Großteil des Einkommens der Schäfer wird aus der Honorierung der Landschaftspflege eingenommen. Daher spielt die GS derzeit noch keine Rolle. International jedoch wird sie in den Hochzuchtgebieten in Ozeanien, UK und auch in Frankreich in einigen Populationen praktiziert (Rupp et al. 2016). Zum Stand der GS in der Pferdezucht sei auf Stock et al. (2016) und in der Fleischrinderzucht auf Berry et al. (2016) verwiesen.

GS als Werkzeug zur Etablierung der Präzisionstierzüchtung

Flint und Woolliams (2008) formulierten das Konzept der Präzisionstierzüchtung (*Precision Animal Breeding*). Die Ziele der Präzisionszüchtung sind (A) genauere und umfassendere Vorhersage der Konsequenzen von Selektionsentscheidungen, (B) Vermeidung von unerwünschten Seiteneffekten, die das Wohl der Tiere oder der Population beeinflussen und (C) langfristige Erhaltung der genetischen Diversität, die innerhalb und zwischen Populationen zu finden ist. Dieses Züchtungskonzept begründet sich aus der Verantwortungsethik der Züchter gegenüber den Zuchtpopulationen und führt zu einer gesellschaftlich akzeptierten Tierzüchtung. Die GS kann einen Beitrag zur Präzisionszüchtung leisten. Ziel (A) kann über eine deutliche Ausweitung der zu erhebenden Merkmale und umfangreiche genomische Analysen der Merkmale erreicht werden. Das Ziel ist dabei, mögliche Fehlentwicklungen vorherzusagen und zu verhindern (und nicht auf beobachtete Fehlentwicklungen zu reagieren). Zur umfassenderen Vorhersage in (A) sind intensive Forschungen notwendig, um die molekulare Basis der Merkmals-synthese in variierenden Umwelten zu verstehen. Ziel (B) kann zum einen für Mendelsche Merkmale formuliert werden. Hier gilt es, Paarungen von Tieren mit vorhersagbaren schädlichen Genotypen zu vermeiden. Für quantitative Merkmale bedeutet dies, dass ein breites Zuchtziel notwendig ist, um möglichen Fehlentwicklungen in gewissen Merkmalskomplexen vorzubeugen. Auch hier ist eine Ausweitung der zu erhebenden Merkmale notwendig. Das Ziel (C) kann innerhalb von Populationen durch den Einsatz von Tierzuchtwerkzeugen erreicht werden, die den bekannten Zielkonflikt zwischen Inzuchtanstieg und Zuchtfortschritt ausbalancieren (Meuwissen 1997). Die genetische Diversität zwischen Populationen kann durch den Erhalt und die genetische Konsolidierung kleiner Populationen (Bennewitz et al. 2008) sichergestellt werden, beispielsweise durch kooperative GS-Programme oder gezielte Erhaltungsmaßnahmen.

Schlussfolgerungen

Es kann festgehalten werden, dass die GS (i) die Tierzucht in weiten Bereichen und in einer nicht vorhersehbaren Geschwindigkeit revolutioniert hat, (ii) in weiten Teilen hält was sie ursprünglich versprochen hat (deutliche Steigerung des Zuchtfortschritts), (iii) auch weiterhin interessante Forschungsfragen mit noch deutlichem Grenznutzen im Erkenntnisgewinn bietet und (iv) hilft, die (gesellschaftlich geforderte) Präzisionszüchtung voran zu bringen.

Literaturverzeichnis

- Bennewitz J., Reinsch. N., Reinhardt. F., Liu. Z., Kalm. E., 2004. Top down marker assisted selection in dairy cattle using marker assisted estimates of breeding values. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 121: 307-318.
- Bennewitz J., Simianer H., Meuwissen T.H.E. 2008. Investigations on merging breeds in genetic conservation schemes. *Journal of Dairy Science* 91: 2512-2519.
- Berry D.P., Garcia J.F., Garrick D.J. 2016. Development and implementation of genomic prediction in beef cattle. *Animal Frontiers*, doi: 10.2527/af.2016-0005.
- Daetwyler H.D., Calus M.P., Pong-Wong R., de los Campos G., Hickey J.M. 2013. Genomic prediction in animals and plants: simulation of data, validation, reporting and benchmarking. *Genetics* 193:347-356.
- Flint A.P.F., Woolliams J.A., 2008. Precision animal breeding. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 363:573-590.
- Goddard M.E., Hayes B.J. 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Review Genetics* 10: 381-391.
- de los Campos G, Hickey J.M, Pong-Wong R., Daetwyler H.D., Calus M.P., 2013. Whole-genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. *Genetics* 193:327-345.
- Knol E., Nielsen B., Knap P.W., 2016. Genomic selection in commercial pig breeding. *Animal Frontiers*, doi: 10.2527/af.2016-0003.
- Legarra A., Christensen O., Aguilar I., Misztal I., 2014. Single Step, a general approach for genomic selection. *Livestock Science* 166:54-65.
- Lund M.S., Su G., Janss L., Gulbrandsen B., Brøndum R.F. 2014. Genomic evaluation of cattle in a multi-breed context. *Livestock Science*, 166:101-111.
- Meuwissen T. H. E., Hayes B. J., Goddard, M. E. 2001. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157: 1819-1829.

Meuwissen T. H. E. 1997. Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding. *Journal of Animal Science* 75: 934-940

Meuwissen T. H. E., Hayes B. J., Goddard, M. E. 2016. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, doi: 10.2527/af.2016-0002.

De Roos A. P. W., Hayes B. J., Goddard M. E. 2009. Reliability of genomic predictions across multiple populations. *Genetics* 183:1545-1553.

Rupp R., Mucha S., Larroque H., McEwan J., Conington J., 2016. Genomic application in sheep and goat breeding. *Animal Frontiers*, doi: 10.2527/af.2016-0006.

Stock K.F., Jönsson L., Ricard A., Mark T., 2016. Genomic applications in horse breeding. *Animal Frontiers*, doi: 10.2527/af.2016-0007.

Diskussion



SWALVE, HALLE

Eine Anmerkung: Du hast das Beispiel von Zotis gebracht (privates Zuchtunternehmen), das mit Macht, mit Testherden und natürlich mit genomischer Arbeit an den Markt will. Dann hast du daneben gestellt: Die deutsche Rinderzucht in ihren kleinen genossenschaftlichen Strukturen, die hat sich natürlich auch aufgestellt. Die haben auf der Ebene des Deutschen Holsteinverbandes zusammen das Kuh-Projekt mit den ersten 20.000 Kühen in Testherden etabliert und jetzt das Kuh-Visions-projekt aus der Taufe gehoben und vom Umfang der Testherden, die in Mecklenburg – Vorpommern und Brandenburg von den dortigen Zuchtverbänden dem gesamten DHV zur Verfügung gestellt wurden für die genomischen Untersuchungen, das sind über 60.000 Kalbungen pro Jahr, die da jedes Jahr dazu kommen und es wurden schon teilweise 10 Jahre Daten gesammelt. Ich denke, insgesamt ist die Deutsche Holsteinzucht zumindest gegenüber solchen privaten Zuchtorganisationen sehr gut aufgestellt. Insofern würde ich das gerne ergänzt haben.

ANTWORT

Da hast du vollkommen Recht. Vielleicht hätte ich dies stärker betonen sollen. In mehreren Projekten beobachten wir eine massive Typisierung auch von weiblichen Tieren, um eben die Struktur zu verbessern und um die Infrastruktur zu erstellen, um weitere Merkmale an den Kühen zu erheben und mit zu nutzen.

KALM, KIEL

Eine Frage zu den kleinen Populationen, die ja vielen Tierzüchtern am Herzen liegen. Sie weisen darauf hin, dass die Hinterwälder evtl. auch einen Ansatz finden, um bei der genomischen Selektion mitzuarbeiten. Inwieweit können die Einkreuzungsphasen, die bei diesen Rassen häufig stattgefunden haben, berücksichtigt werden? Es wurde u.a. Airshire eingekreuzt und andere Rassen, wie die roten Dänen und auch Brown-Swiss. Wie kann man den Effekt der Einkreuzung berücksichtigen?

ANTWORT

Vielen Dank für den Punkt, wenn es um die kleinen Populationen geht. Bei den großen Populationen haben wir den Zielkonflikt zwischen dem Zuchtfortschritt auf der einen Seite und dem Inzuchtanstieg innerhalb einer Population. Und bei kleinen Populationen, bei den Anglern, bei den Vorderwäldern, wurden in der Vergangenheit massiv Fremdgene eingekreuzt, bei den Vorderwäldern bis zu 50 - 60 % Fremdgene Montebillard, Fleckvieh etc., und die genetische Eigenständigkeit geht so ein bisschen verloren. Das heißt, in diesem Zielkonflikt kommt bei denen noch was dazu. Diese Fremdgeneinkreuzung führte dazu, dass die einen gewaltigen Zuchtfortschritt gemacht haben. Das ist ja gut. Aber die genetische Eigenständigkeit geht verloren, und die sind auf dem Weg gewesen, jetzt nicht mehr, hin zu einer Verdrängungskreuzung. Wir haben dort den Konflikt Zuchtfortschritt, Inzuchtanstieg und genetische Ei-

genständigkeit. Das muss man irgendwie in den Griff bekommen. Und wenn man jetzt die genomische Selektion mit einer großen Partnerpopulation macht, dann ist die Gefahr, dass für die Gene der großen Partnerpopulation, Fleckvieh meinetwegen, bei den Vorderwäldern noch stärker anreichert, weil, die Gene stehen ja in der Regel für mehr Leistung und sie können auch genauer geschätzt werden. Das muss man dabei berücksichtigen, dass man hier nicht eine schleichende Verdrängungskreuzung bei diesen kleinen Populationen hat, wenn man so eine kooperative genomische Selektionsform wählt. Nichtsdestotrotz müssen die sich in die Richtung bewegen und auch was machen. Die kleinen Populationen machen das auch, die Populationen, die direkt in Konkurrenz stehen. Sie sprachen die Hinterwälder an. Die Hinterwälder sind im Schwarzwald zu Hause. Sie werden zur Landschaftspflege genutzt, zur Mutterkuhhaltung genutzt. Sie haben ihre ökologische Nische gefunden. Die konkurrieren nicht mehr mit den großen Populationen. Die bleiben und das ist o.k. so.

UNI WIEN

Ich möchte gerne noch mal diesen Begriff der Kausalität diskutieren. Sie stellen ja im Prinzip das probability-Modell her, so zwischen Polymorphismen und Phänotypen. Der ganze Bereich, der dazwischen liegt, ist mehr oder weniger Black-Box. Wir haben es mit Wahrscheinlichkeiten zu tun, die bestimmte Merkmale vorhersagen können. Letztlich, um es auf ein kausales Modell zu stellen, müsste man sehen, ob das ein kodierender Polymorphismus ist, der die Enzymstruktur verändert, den Stoffwechsel verändert. Letztlich die Stoffwechselprodukte etc. Man muss aufpassen, wenn man über Kausalität spricht. Das gibt einen falschen Eindruck von unserem Verständnis des Vorgangs. Da bin ich voll bei ihnen, dass sie diese Genotypisierungs-, Phänotypisierungsmaßnahmen brauchen, um besser zu verstehen.

ANTWORT

Wir beobachten natürlich schon in gewisser Weise Kodierungen, Mutationen, die direkt auch was be-

wirken. Wir können das statistisch nachweisen. Berühmtes Beispiel ist das DGat-Gen, das ist aber längst nicht das einzige. Wir beobachten auch viele weitere Mutationen, die direkt einen Einfluss haben und die wir als kausal postulieren. Es ist immer schwierig, den kausalen Beweis zu erbringen in der Tierzucht, weil wir eben nicht mit Knockout-Tieren usw arbeiten können. Ich würde das erst einmal so stehen lassen.

KALM, KIEL

Sie haben darauf hingewiesen, dass die Zuchtorganisationen sich anders aufstellen und in gewissem Maße auf die Konkurrenz von Zoetis hingewiesen. Ist Zoetis denn ein eigenständiges Zuchtunternehmen? Oder ist das nur ein Datensammelverein, der Auswertungen macht für Landwirte, die neuere Informationen haben wollen? Ist das eine echte Konkurrenz? Wie kann man das einschätzen?

ANTWORT

Dazu habe ich zu wenige Hintergründe und ich vermute, Hermann Swalve, du hast deutlich mehr Erfahrungen. Bitte korrigiere mich, wenn ich hier falsch liege. Soweit ich informiert bin, haben die in den Staaten schon mit massiven finanziellen Mitteln Herdbuchbetriebe unter Vertrag genommen und sammeln dort Daten, haben ordentliche Genetiker eingestellt, die mit den Daten umgehen können, haben ein ordentliches Marketing, und sie haben auch nicht nur die klassischen Merkmale, sondern eben auch viele Gesundheits- und Funktionale Merkmale, bei denen wir in Deutschland immer dachten, wir wären sehr gut und die Vereinigten Staaten z. B. nicht so gut. Sie haben eben diese Lücke im Gesundheitsbereich geschlossen und bieten jetzt Zuchtwertschätzung, basierend auf Ergebnissen aus Testherden an. Auch für solche erweiterten Merkmale. In der Größe steckt dort auch ganz schön Musik dahinter, an den Daten, die sie eingesammelt haben. Das heißt, die Lernstichproben ist nicht gerade klein! Es wächst Konkurrenz heran.

BRUCKMAIER, BERN

Sie haben eindrücklich gezeigt, dass der Zuchtfortschritt sich deutlich beschleunigt hat mit den neuen SNP-Methoden. Aus der Sicht der Physiologie, wo wir uns mit Stoffwechselstabilität oder auch mit Immunsystemen beschäftigen, frage ich mich, wenn das alles so schnell geht, wissen wir eigentlich, wo die Reise hingeht? Auch in unserem Bereich gibt es natürlich neue Methoden mit Sequenzdaten und wir sind eigentlich gerade dabei, zu verstehen, was z. B. ein funktionierendes Immunsystem ausmacht. Gleichzeitig haben sie einen sehr schnellen Zuchtfortschritt bei der Zellzahl. Wie passt das zusammen? Ich habe das Gefühl, man muss diese beiden Wege aufeinander abstimmen, damit wir eigentlich wissen, wo ist eigentlich der Fortschritt. Wissen sie das in jedem Fall?

ANTWORT

Das ist das, was ich zitiert habe als Präzisionstierzüchtung. Das wurde eben versucht, züchterische Entscheidungen und deren Auswirkungen vorherzusagen. Also nicht, dass man beispielsweise Selektionsentscheidungen trifft, lange auf einem Merkmal selektiert und sich unerwünschte Nebeneffekte einhandelt und dann erst reagiert auf Beobachtungen, die fehlgefallen sind, sondern versucht, von vornherein dagegen zu steuern. Das ist eben diese genaue Vorhersage, sondern das umfassende Argument, das sprechen sie eigentlich an. Es wird versucht, umfassend, also auf molekularer Ebene, Selektionsentscheidungen abzubilden und man versucht, hier gewisse Entwicklungen, Auswirkungen auf andere Merkmale, auch des Tierwohls, des Einzeltierwohls, zu quantifizieren. Das ist ein Konzept. Man ist noch lange nicht soweit, dass man das realisiert hat. Das haben Tierzüchter an einem Gedankengebäude entwickelt und die Genomic kann sehr wohl in die Richtung auch mit aktiv werden um das mit zu formulieren, um das Ziel zu erreichen, ohne dass man derzeit schon sagen kann, gerade ihr Beispiel Zellzahl, dass man dort alles vollständig erfasst hat.

KÜHN, DUMMERSTORF

Du hast die Optimum contribution Selection angesprochen, also ein Weg, zu erhalten, dass die Varietät da bleibt. Das geht sicherlich immer ein Stückchen weit zu Lasten von Zuchtfortschritt, wenn ich solche Unternehmen wie Zoetis anschau, die vielleicht ja stark vermarkten wollen, Sperma vermarkten wollen. Wie siehst du da die Entwicklung? Besteht da nicht die Gefahr, dass Zuchtunternehmen auf den Markt kommen könnten, die kurzfristigen großen Zuchtfortschritt erzielen, während sie die Varietät einschränken. Gerade, wenn ich mir anschau, was jetzt in den Top-Listen in Deutschland bei der Holsteinzucht an Vererbern da ist, wie die Abstammung aussieht, ist das doch relativ eng.

ANTWORT

Vielleicht kann ich die Frage etwas breiter beantworten du sagst, das Optimum contribution Selection Zuchtfortschritt kostet. Kommt darauf an, wenn man hier mal vergleicht. Wenn man es erst einmal einsetzt, zeigen viele Studien, solche Machbarkeitsstudien, dass man erst mal Zuchtfortschritt generiert. Warum? Weil man die Population an die gewünschte Inzuchtsteigerung erst mal heranbringt. Vorher war sie häufig darunter. Man optimiert das System. Eine zweite Antwort: Ist genomische Selektion eine viel gestellte Frage. Wie ist es eigentlich mit dem Inzuchtanstieg? Prinzipiell ist es eigentlich so, dass wir unter Vollgeschwistern besser differenzieren können, d. h., es kommt eigentlich weniger zu einer Co-Selektion von Vollgeschwistern, welches die Inzucht deutlich ansteigen lässt. Gleichwohl beobachten wir einen höheren Turnover. Für die genomische Selektion ist eigentlich zu erwarten, dass der Inzuchtanstieg pro Generation, mehr oder weniger nicht angefasst, jedoch pro Zeiteinheit. Weil es einfach alles schneller geht. Die Tiere, die jetzt Zoetis vermarktet, das weiß ich nicht. Keine Ahnung, welche Politik die verfolgen. Da habe ich keine Erfahrung.

BAHRS, HOHENHEIM

Sie haben beschrieben, dass der Vorteil der genomischer Selektion auch mit dem Anstieg der Stichprobe steigen kann. Jetzt können wir uns vorstellen, dass alle Holsteiner in einem Topf sind als Stichprobe. Damit können vielleicht viele Vorteile verbunden sein. Wo sehen sie die Gefahren? Sehen sie, dass diese Gefahr auch irgendwann einmal real werden könnte, falls es Gefahren geben sollte.

ANTWORT

Je größer die Referenzstichprobe, desto besser. Im Holstein-Bereich sehen wir derzeit, dass wir eine gewisse Größe haben – es sind jetzt 30.000 Nachkommen geprüfter Bullen drin. Wenn wir praktisch weitere Bullen aufnehmen, die Grenzkurve, es ist das Maximum erreicht. Wir sehen da keinen weiteren Zuwachs an Genauigkeit, wenn weitere Bullen dazu kommen. Das hat unterschiedliche Gründe. Als Reaktion, um das noch weiter voranzutreiben, werden Kühe genotypisiert, die näher an der aktuellen Population dran sind, und dort auch möglichst viele. Hier ist eben die Auswahl dieser Kühe, die man genotypisiert, von besonderer Bedeutung. Sie dürfen nicht vorbehandelt sein, sie müssen repräsentativ für die Stichprobe sein, für die Population sein. Hier sehe ich eine Gefahr, wenn man hier eine gewisse Vorauswahl von Kühen trifft, dass dies zu Nachteilen führen kann. Wenn wir jedoch die Kühe gut auswählen, möglichst flächendeckend, möglichst viele, dann spricht gegen eine große Kuhzahl in der Population eigentlich nichts.

LÜHKEN, GIESSEN

Eine Frage zu den kleinen Populationen. Sie haben aufgezeigt, wie wichtig das ist, dass die Schere nicht zu weit aufgeht. Was gibt es denn da für Strategien, wie man das bei denen lösen kann? Ich denke, diese Firmen, die sie auch angesprochen haben, sind nicht die Lösung. Ich habe ein Beispiel aus dem Schafbereich. Eine Firma bietet einen Gentest an für Moderkinke Empfindlichkeit beim Schaf, ist entwickelt worden in Australien, und ich hatte mit denen Kontrakt

aufgenommen, um ein Projekt zu machen, um das hier in Deutschland zu überprüfen und bekam dann die Antwort, Deutschland wäre nicht interessant, es gibt zu wenig Schafe. Die machen wohl was für große Populationen.

ANTWORT

Die lokalen Populationen müssen durch die lokalen Züchter erhalten werden. Das ist gar keine Frage. Die Strategie hier ist, zunächst erst einmal abzuklären, wenn man so eine gemeinsame Lernstichprobe aufstellen möchte mit einer großen Partnerrasse, erst einmal abklären, was könnte eine große Partnerrasse sein, Kontakte pflegen und herstellen, wer macht da mit. Dann auf genetischer Ebene anschauen, wie weit sind die beiden Rassen auseinander, die lokalen und die große Rasse usw. Da gibt es so einige Vorarbeiten, die gemacht werden müssen und die werden auch teilweise gemacht. Bei den Vorderwäldern wird es gemacht und bei den Anglern vermute ich auch. Das sind jetzt so meine beiden Paradebeispiele, die wir immer haben. Da ist es wichtig, dass man dort den Anschluss nicht verpasst und dass man hier versucht, gewisse Vorleistungen zu treffen, damit man dann wirklich das Potential auch ausloten kann und wenn es positiv ist, dass man dann auch umgehend einsteigen kann und nicht zu viel Zeit verliert. Derzeit sind Gespräche mit Züchtern und Milchviehhaltern zu solchen Themen. Dies gestaltet sich als etwas schwierig. Da müssen wir erst einmal die Welle abwarten oder das Tal abwarten, bevor so etwas wieder intensiviert werden kann. In der Hoffnung, dass es dann eine Zeit danach gibt.

GRANDKE, DLG

Ich würde gern auf ihre letzte Folie kommen und ein bisschen auf die Herausforderung an die genomische Selektion. Ich kann mir nicht vorstellen, dass der Begriff „Präzisionstierzüchtung“ in der Gesellschaft große Freude bereitet. Wenn wir mal den Pool sehen, den sie etwas beschrieben haben, dass wir bäuerliche Organisationen haben, die unter amerikanischen Großkonzernen leiden, wenn ich das mal kurz zu-

sammenfassen darf. Dann ist für mich die Frage: Gibt es denn Szenarien der zukünftigen gesellschaftlichen Akzeptanz für genomische Selektionsformen oder im Hinblick auf die Unternehmen: Gibt es Strategien in einem gesellschaftlichen Umfeld? Wir haben ja gestern bei der EU auch eine spannende Entscheidung getroffen, um überhaupt Zuchtverfahren mit solchen Methoden durchzuführen.

ANTWORT

Die sogenannte Präzisionstierzüchtung mit den drei exakten Zielen. Das ist genau das, was von der Gesellschaft gefordert wird. Der Name klingt nicht so gut. Da müsste man ein grünes Label anbacken, Tierwohlzüchter, so was. Das ist genau das, was von der Gesellschaft gefordert wird. Insofern hätte ich dort keine Bedenken, wenn man dieses Konzept zugrunde legt.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Du hast darauf hingewiesen, dass möglichst große Referenz-Populationen gefunden werden. Wie sieht es aus? Testherdenproblematik und diverse Nachkommenschaftsprüfung? Gibt es dort Referenzen, bestimmte Merkmale oder wird beides zukünftig parallel verwendet, um die entsprechenden Phänotypen zu generieren?

ANTWORT

Ich glaube, der Trend geht doch schon dahin, dass man zunehmend die Lernstichproben in der Rinderzucht mit Kühen ergänzt, und zwar ganz massiv ergänzt. Das ist jetzt der Anfang, der gemacht wurde, die Projekte, die Hermann Swalve auch leitet und somit initiiert hat. Das ist der Anfang, wenn Typisierungskosten vielleicht noch etwas weiter runter gehen. Derzeit werden sie ja stark subventioniert, auch von den Rinderzuchtverbänden, weil die Bauern sich das selber noch nicht leisten können. Wenn sie vielleicht noch etwas runter gehen, dann wird es wohl zu starkem massivem Auffüllen der Lernstichproben durch genotypisierte Kühe kommen. Das hat mehrere Vorteile. Wir sind einfach näher an der ak-

tuellen Generation dran. Die Nachkommen geprüfter Bullen sind immer weiter hinten in der Generationsfolge, werden immer älter. Wir können auch neue Merkmale an den Kühen selber direkt messen, wie es praktisch in diesem Testherdensystem gemacht wird, z.B: diese ganzen Gesundheitsmerkmale. Wenn wir diese aufwendige Messung an den einzelnen Kühen schon machen, dann können wir sie auch gleich genotypisieren. Mehr ist das dann auch nicht.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Neue Merkmale, schließe auch an die Frage von Herrn Bruckmaier an. Wie groß sind denn die Chancen, neue Merkmale in die Tierzucht einzubringen, z. B. Immunkompetenz etc?

ANTWORT

Vielleicht nicht so kompliziert. Wir sehen ja heute in diesen Testherden, dass die klassischen Gesundheitsmerkmale Klauen, Gliedmaßen, Euter, Stoffwechsel, dass dort die Merkmale notiert werden, mit genomischen Leistungsdaten verbunden werden, so dass wir hier in der Referenzpopulation für diese vier Merkmalskomplexe Gesundheitsmerkmale haben. Das wird auch kommen, und die werden auch in der Gesamtzucht irgendwann Einzug erhalten. Diese ganz klassischen Merkmale sind vermutlich die nächsten Kandidaten, die dort Einzug halten werden.

Effektiver Einsatz neuer DNA-Sequenzierungsmethoden bei Erbfehlern



Familiär gehäuft auftretende kongenitale Anomalien, Missbildungen sowie Krankheiten, die sich später im Leben manifestieren, werden als genetische Defekte oder Erbfehler bezeichnet. Bereits vor mehr als 100 Jahren hat Wilhelm Weinberg, der als Armenarzt in Stuttgart tätig war und bedeutende Beiträge zur Zwillingsforschung und Populationsgenetik leistete, erstmals den Begriff der Mutation als mögliche Erklärung für das Auftreten von angeborenen Krankheiten vorgestellt (Weinberg 1912). Bei Kindern mit Zwergwuchs (Achondroplasie), beobachtete Weinberg sporadische Fälle oftmals unter den letztgeborenen Kindern von kinderreichen Familien und vermutete einen genetischen Ursprung. Über 40 Jahre später hat Lionel Penrose, der in London seinerzeit Pionierarbeit auf dem Gebiet der Erbkrankheiten leistete, einen ersten Nachweis erbracht, dass das Alter der Eltern die Mutationsrate bestimmt (Penrose 1955). Später konnte gezeigt werden, dass tatsächlich das Alter des Vaters der entscheidende Parameter war und der sogenannte *male mutation bias*, eine höhere Mutationsrate infolge der deutlich höheren Teilungsrates bei der Keimzellbildung beim männlichen Geschlecht, als Erklärung dient (Hurst und Ellegren 1998). Mutationen treten immer wieder neu auf und begründen somit auch heute neu auftretende Phänotypen. Je nachdem welche Art von Mutation sich ereignet z.B. Punktmutation, Insertion oder Deletion von einzelnen Basen oder strukturelle Varianten (Duplikationen, Translokationen oder Inversionen) die mehrere Basen betreffen, sowie je nachdem wel-

ches Gen betroffen ist, kann sich die Konsequenz als Funktionsverlust oder Funktionsgewinn äussern. Dominant wirkende Spontanmutationen sind in der Regel schneller erkennbar als rezessiv vererbte Mutationen, die mehrere Generationen benötigen bis zufällig zwei Anlageträger als Eltern betroffene Nachkommen erzeugen. Die Struktur moderner Nutztierpopulationen offenbart immer wieder neue Ausbrüche von Erbfehlern. In der Regel kommen Träger unbekannter Mutationen insbesondere über die künstliche Besamung gehäuft zum Einsatz, und je nach Erbgang kommt es unmittelbar oder erst nach Generationen zu einem massiven Auftreten eines Erbfehlers mit den entsprechenden unerwünschten Konsequenzen für Tier und Tierhalter. Im Rahmen der genomischen Selektion werden heutzutage Bullen ohne umfangreichen Prüfeinsatz früh im Leben als Vererber eingesetzt. Diese stellt eine zusätzliche Gefahr für die Verbreitung von Defektallelen, egal ob von dominanter oder rezessiver Natur, dar. Zudem führt eine Inzuchtzunahme nicht nur in Rassen mit geringer effektiver Populationsgrösse zum Ausbruch von rezessiven Erbfehlern. Die Tatsache dass im Zuge der genomischen Selektion verstärkt wenige züchterisch hervorragende Bullenväter eingesetzt werden, kann auch in Rassen mit grosser Population zu einer Inzuchtsteigerung beitragen und somit den Ausbruch rezessiver Erbfehler fördern. Nicht zuletzt führen letztlich auch die deutlich verkürzten Generationsintervalle dazu, dass rezessive Erbfehler immer schneller zu Tage treten. Interessanterweise

sind die ersten Berichte zu rezessiven Letalfaktoren beim Rind von vor 90 Jahren auch heute noch hochaktuell, insbesondere was die Erfassung von genetischen Besonderheiten und die Vermeidung von Inzucht angeht (Wriedt und Mohr 1928).

Nach einem Ausbruch eines rezessiven Erbfehlers hat es bis vor 25 Jahren sehr lange gebraucht, bis insbesondere Zuchtausschlussstrategien das Auftreten begrenzt haben. Vereinzelt wie z. B. bei der Bekämpfung der Spinnengliedrigkeit beim Braunvieh wurden aufwändige Testanpaarungen mit detaillierter Nachkommenprüfung durchgeführt, um einen Defekt auszumerzen (König et al. 1987). Seit 1991 erlaubte die Verfügbarkeit direkter Gentests für bestimmte Erbfehler bei Nutztieren erstmals eine gezielte DNA-basierte Eliminierung. Für die Entwicklung solcher Gentests waren in der Regel zahlreiche Proben von betroffenen Tiere sowie gesunden Verwandten notwendig. Der Stand der Genomanalyse umfasste je nach Tierart in der Regel nur wenige Hundert laborintensive genetische Marker wie RFLPs und Mikrosatelliten. Die molekulare Analyse von Erbfehlern hat sich seitdem mit Analysen von Kandidatengen (erstmalig 1987), über Mikrosatelliten-Marker basierte Kopplungsstudien (ab 1990), zu genomweiten Assoziationsstudien mittels SNP-Genotypisierungen (ab 2005) bis hin zur Gesamtgenom- und Transkriptomsequenzierung (ab 2012) jeweils parallel zum Stand der technischen Möglichkeiten entwickelt. Dabei haben sich der Aufwand und die Zeitdauer vom Erkennen eines aktuellen Erbfehlerproblems bis zur erfolgreichen Entwicklung eines Gentests insbesondere in den letzten 5 Jahren erheblich reduziert. Ende 2012 waren fast 500 kausale Mutationen für Mendelsche Merkmale bei Haustieren identifiziert (Nicholas und Hobbs 2014). Noch Mitte der 1990er Jahre waren insgesamt weniger als 20 genetische Merkmale bzw. Krankheiten bei Nutztieren im Genom kartiert und nur in wenigen Fällen (z.B. BLAD und DUMPS beim Holsteinrind oder MHS beim Schwein) die ursächliche Mutation geklärt (Georges und Andersson 1996). Mit der

Möglichkeit des Einsatzes von DNA-Chips zur SNP Genotypierung konnten erstmals effizient monogene Defekte mit Hilfe von weniger als 10 betroffenen Tieren im Genom kartiert werden (Charlier et al. 2008). Allein mit dieser Information konnten die assoziierten Haplotypen für eine indirekte Selektion gegen die zum Teil nicht vollständig aufgeklärten Mutationen vorgenommen werden. Kürzlich konnte am Beispiel eines angeborenen letalen Hautdefekts (*Epidermolysis bullosa*) beim Charolais gezeigt werden, das bei gut charakterisierten Phänotypen und der Auswahl von geeigneten Kandidatengen ein einzelnes betroffenes Tier genügt, um einen rezessiven Defekt aufzuklären und somit einen Gentest für die praktische Zuchtarbeit zu etablieren (Peters et al. 2015). Insgesamt treten genetisch bedingte Erkrankungen nach wie vor selten und in der Regel nur innerhalb einer Rasse auf. Das Beispiel der rezessiv vererbten *COL7A1* Mutation die eine andere Form der *Epidermolysis bullosa* beim Roten Höhenvieh verursacht (Menoud et al. 2012) und aktuell bei ähnlich erkrankten Kälber der Rasse Vorderwälder nachgewiesen wurde (Pausch persönliche Mitteilung), zeigt eindrücklich das es offensichtlich ein einzelnes Trägartier war, welches vor vielen Generationen in beide vom Aussterben bedrohte Populationen eingeführt wurde und somit Jahrzehnte später die jeweiligen Ausbrüche der gleichen Erbkrankheit erklärt.

Die Genomsequenzierung ermöglicht zunehmend auch bei neuen Phänotypen ohne Hinweis auf ein potentiell Kandidatengene eine molekulare Analyse. Nach Abgleich mit der Referenzsequenz (Elsik et al. 2009) zeigt ein einzelnes Tier mehrere Millionen Unterschiede wovon ein Bruchteil von ca. 100 Tausend im Bereich bekannter Gene liegen. Die Einschränkung auf potentiell krankheitsassoziierte DNA-Varianten wird jedoch möglich, wenn man eine Abgleich mit den im Rahmen des 1000 Bullen Genomprojekts ermittelten natürlich vorkommenden DNA-Varianten durchführt (Daetwyler et al. 2014). Das Beispiel der streifenförmigen Haarlosigkeit beim Italienischen Pezzata Rossa Rind zeigte, das für diese X-chromosomal vererbte Entwicklungsstörung der

Haaranlage letztlich nur noch 2 DNA-Varianten in proteinkodierenden Genen als potentielle kausale Mutationen verblieben, nachdem alle Mutationen, die bei über 1200 sequenzierten Rindern ohne diesen Felldefekt vorkommen, ausgeschlossen wurden (Murgiano et al. 2015).

Die wachsende Ressource der Information über natürlich vorkommende DNA Variation ist von enormem Nutzen für die zukünftige Aufklärung jedes neu auftretenden Erbfehlers. Aktuelle Beispiele von dominant wirkenden Spontanmutationen stellen zwei unabhängige Fälle mit zahlreichen totgeborenen Bulldogkälbern unter den Nachkommen einzelner Holsteinbullen in Dänemark und Deutschland dar. Mit Hilfe der Genomsequenzierung jeweils eines betroffenen Nachkommens konnte gezeigt werden, das beide Bullen Keimbahnmosaik für verschiedene proteinverändernde *COL2A1* Mutationen waren (Agerholm et al. 2016a; Bourneuf et al. 2016). Somit liess sich der Anteil von rund 12 bzw. 25 % betroffener Kälber unter den Nachkommen beider Bullen erklären, was insgesamt in Anbetracht mehrerer Hunderter bzw. Tausender Erstbesamungen eine erhebliche Anzahl betroffener Tiere bedeutete. Beide Fälle wurden unabhängig voneinander erst jeweils nach dem Bekanntwerden mehrerer veränderter Kälber als neues Erbfehlerproblem erkannt. In Dänemark wurde dabei bereits nachdem drei ähnlich veränderte Kälber im Rahmen des dortigen *Danish Bovine Genetic Disease Programme* (Agerholm et al. 1993) aufgefallen sind, ein Forschungsprojekt zur Identifikation der genetischen Ursache veranlasst. Das dänische Erfassungsprogramm stellt somit ein erfolgreiches Modell für die oftmals suboptimale Erfassung und Meldung von genetischen Besonderheiten in anderen Ländern dar. Zum Beispiel wurde vor mehr als 10 Jahren auf diesem Weg auch das notwendige Untersuchungsmaterial zur Aufklärung des Erbfehlers *complex vertebral malformation* (CVM), welcher in der globalen Holsteinpopulation weit verbreitet vorkommt, erfasst (Thomsen et al. 2006). Ausserdem konnte jüngst ein neuer letaler rezessiver Erbfehler (*arthrogryposis multiplex congenita*, AMC)

beim skandinavischen Roten Milchrind anhand von nur 3 Fällen molekular aufgeklärt werden, womit den Züchtern ab sofort ein Gentest zur Verfügung steht (Agerholm et al. 2016b). Die im Jahr 2015 erstmals beschriebene Erbkrankheit der *Cholesterin-Defizienz* (CD) beim Holstein zeigte erneut, dass letztlich einzelne Tiere genügen, um innerhalb weniger Wochen einen direkten Gentest für die Zuchtanwendung zu etablieren (Menzi et al. 2016). Generell gilt zwar, dass für rezessive Erbfehlermutationen beim Rind die umfangreichen SNP-Genotypisierungsdaten aus der genomischen Selektion eine rasche Identifikation assoziierter Haplotypen für die indirekte Bestimmung von Trägern erlauben. Im Fall der CD-Erkrankung erschien es jedoch notwendig den zunächst publizierten indirekten Haplotypentest zu ersetzen, denn der assoziierte Haplotyp kommt sowohl mit als auch ohne krankheitsauslösende Mutation innerhalb der internationalen Holsteinpopulation vor, was die Bestimmung von Anlageträgern nur mit einer Genauigkeit von ca. 80% erlaubte (Kipp et al. 2015). Mit der Identifizierung der krankheitsverursachenden *APOB* Mutation konnte bei klinisch erkrankten Kälbern auch gezeigt werden, dass die Krankheit vermutlich nicht wie anfänglich vermutet rezessiv vererbt wird, sondern eher mit einem dominanten Erbgang mit unvollständiger Penetranz erklärt werden kann, da einzelne Kälber nur heterozygote Anlageträger für die ursächliche Mutation waren. Zudem weisen die bei zahlreichen heterozygoten Bullen gemessenen Blutparameter auf einen bedeutenden Effekt des *APOB* Genotyps auf den Fettstoffwechsel hin, was nicht im Einklang mit einem rezessiven Erbgang steht (Gross et al. 2016).

Zusammengefasst bleibt festzuhalten, dass das Aufspüren kausaler Mutationen unabdingbar bleibt, insbesondere um eine effiziente Selektion zur Ausmerzung schädlicher Mutationen die vor kurzem aufgetreten sind, zu ermöglichen. Häufig treten die damit assoziierten Haplotypen in zwei Versionen, sowohl mit als auch ohne Erbfehler verursachende Mutation, in der Population auf wie z. B. auch bei

der Spinnengliedrigkeit des Braunviehs (Drögemüller et al. 2010). Ausserdem bleibt anzuraten, dass eine systematische Erfassung von Erbfehlern sowie anderen genetischen Besonderheiten in Kombination mit einer detaillierten Phänotypbestimmung erfolgt. Dieses sollte mit einer Einzeltierdiagnostik verbunden werden, nicht zuletzt auch um dabei geeignetes Probenmaterial unmittelbar einlagern zu können, damit eine spätere DNA und RNA Analyse betroffener Organsysteme ermöglicht werden kann. Gerade eine gute Charakterisierung der Phänotypen ist unerlässlich, um das Potential der neuen Sequenzierungsmethoden bei Verfügbarkeit ausreichender Bioinformatikkapazität effizient für die praktische Zuchtarbeit nutzen. Denn zur Bestimmung kausaler Mutationen ist ein Verständnis des Phänotyps nicht nur hilfreich, sondern nach wie vor oftmals unerlässlich. Die Konsequenz der zunehmenden Anzahl bekannter Mutationen für die praktische Zuchtarbeit gilt es zu diskutieren. Die Fragen hierbei sind, ob ein pauschaler Ausschluss aller Anlageträger oder nur die Vermeidung von Risikoanpaarungen (noch) vertretbar sind oder ob andere Instrumente wie z.B. ein zusammenfassender Erbfehlerindex sinnvoll sind. Alternativ könnte eine obligatorische Genomsequenzierung zukünftiger Besamungsbullen vor einem Zuchteinsatz, sobald dies die Laborkosten erlauben, denkbar sein. Somit könnten die Tiere umfassend auf das Vorhandensein bekannter und potentieller neuer schädlicher Defektmutationen, ob dominant oder rezessiv wirkend, überprüft werden. Einschränkend bleibt jedoch festzuhalten, dass eine theoretische Vorhersage des Effekts einer DNA-Variante oftmals schwierig ist und der momentane Zustand der Referenzsequenzen sowie der derzeitigen *short read sequencing* Technologie noch viele Stellen im Genom unberücksichtigt lässt.

Literaturverzeichnis

- Agerholm JS, Basse A, Christensen K (1993) Investigations on the occurrence of hereditary diseases in the Danish cattle population 1989-1991. *Acta Vet Scand* 34: 245-53
- Agerholm JS, Menzi F, McEvoy FJ, Jagannathan V, Drögemüller C (2016) Lethal chondrodysplasia in a family of Holstein cattle is associated with a de novo splice site variant of COL2A1. *BMC Vet Res* (2016a) in press
- Agerholm JS, McEvoy FJ, Menzi F, Jagannathan V, Drögemüller C (2016) A CHRN1 frameshift mutation is associated with familial arthrogryposis multiplex congenita in Red dairy cattle. *BMC Genomics* (2016b) in press
- Bourneuf E, Otz P, Pausch H, Jagannathan V, et al. (2016) Rapid discovery of de novo deleterious mutations in cattle using whole genome sequence data: enhancing the value of livestock as model species. Manuscript submitted
- Charlier C, Coppiepers W, Rollin F, Desmecht D, et al. (2008) Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. *Nat Genet* 40: 449-54
- Crow JF (2000) The origins, patterns and implications of human spontaneous mutations. *Nature Genetics Review* 1: 40-7
- Daetwyler HD, Capitan A, Pausch H, Stothard P, et al. (2014) Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nat Genet* 46: 858-65
- Drögemüller C, Tetens J, Sigurdsson S, Gentile A, et al. (2010) Identification of the bovine Arachnomelia mutation by massively parallel sequencing implicates sulfite oxidase (SUOX) in bone development. *PLOS Genet* 6: e100107
- Elsik CG, Tellam RL, Worley KC, Gibbs RA et al. (2009) Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium: The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science* 324: 522-8
- Gross JJ, Schwinn AC, Schmitz-Hsu F, Menzi F, Drögemüller C, Albrecht C, Bruckmaier RM (2016) Rapid Communication: Cholesterol deficiency-associated APOB mutation impacts lipid metabolism in Holstein calves and breeding bulls. *J Anim Sci* 94: 1761-6
- Hurst LD, Ellegren H (1998) Sex biases in the mutation rate. *Trends in Genetics* 14: 446-52
- Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S. et al (2015) A new Holstein haplotype affecting calf survival. Proceedings of the 2015 Interbull Meeting, July 9-12, 2015, Orlando, Florida, USA. *Interbull Bulletin* 49, 49-53
- König H, Galliard C, Chavaz J, Hunziker F, Tontis A (1987) Prüfung von Schweizer Braunvieh-Bullen auf das vererbte Syndrom der Arachnomelie und Arthrogrypose (SAA) durch Untersuchung der Nachkommen im Fetalstadium. *Tierärztl Umsch* 42: 692-7.
- Georges M, Andersson L (1996) Livestock genomics comes of age. *Genome Res* 6: 907-21
- Menoud A, Welle M, Tetens J, Lichtner P, Drögemüller C (2012) A COL7A1 mutation causes dystrophic epidermolysis bullosa in Rotes Höhenvieh cattle. *PLOS ONE* 7:e38823

Menzi F, Besuchet-Schmutz N, Fragnière M, Hofstetter S, et al. (2016) A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle. *Anim Genet* 47: 253-7

Murgiano L, Shirokova V, Welle MM, Jagannathan V, et al. (2015) Hairless streaks in cattle implicate TSR2 in early hair follicle formation. *PLOS Genet* 11: e1005427

Nicholas F, Hobbs M (2014) Mutation discovery for Mendelian traits in non-laboratory animals: a review of achievements up to 2012. *Anim Genet* 45: 157-70

Penrose LS (1955) *Lancet* 269: 312-3

Peters M, Reber I, Jagannathan V, Raddatz B, Wohlsein P, Drögemüller C (2015) DNA-based diagnosis of rare diseases in veterinary medicine: a 4.4 kb deletion of ITGB4 is associated with epidermolysis bullosa in Charolais cattle. *BMC Vet Res* 11: 48.

Thomsen B, Horn P, Panitz F, Bendixen E, et al. (2006) A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome Res* 16: 97-105.

Weinberg W (1912) Zur Vererbung des Zwergwuchses. *Arch Rassen Gesellschaftsbiol* 9: 710-8

Wriedt C, Mohr OL (1928) Amputated, a recessive lethal in cattle. *J Genetics* 20: 187-215.

Diskussion



BREM, WIEN

Jedes durchschnittliche Vatertier hat etwa 100 rezessive Defektmutanten. Gibt es eine Schätzung darüber, wieviele von denen letal sind, wann sie auftreten? Ist diese Aussage noch richtig oder schon längst überholt?

ANTWORT

Das ist eine schwierige Frage. Das kann ich auch noch nicht abschließend beantworten. Ich weiß, dass die Arbeit von Michel George im Begutachtungsprozess ist. Der hat da eine ganz große Studie gemacht und wenn ich ihn recht verstanden habe, sind es so 10 %. Die Computerbasierte Vorhersage, die ist erst einmal niederschmetternd, aber dann kann man sich wieder entspannen. Es sind dann trotzdem 10 und jetzt haben wir in den Rassen manchmal mit einem operiert oder zeitweise mit zwei, drei und dann war das wieder erledigt.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Als quantitativer Genetiker bin ich immer ein bisschen neidisch auf die Mendel'schen Genetiker, weil man ganz tolle Sachen machen kann. Zwei Fragen: Im historischen Abriss bist du auch eingegangen auf diesen Zusammenhang zwischen Mutationshäufigkeit und dem Alter des Vatertieres. Ist das eigentlich was, worum sich eine Tierzucht kümmern muss? Gerade bei Rindern sind wir durch die genomische Selektion von den ganz alten Bullen weg. Wir setzen viel mehr junge Bullen ein. Ist da Hoffnung in diesem Bereich

oder war das ein Problem? Deine Prognose denke ich, es wird wahrscheinlich auch kommen, dass in Zukunft alle potentiellen Zuchtbullen sequenziert werden. Hilft uns das wirklich? Wenn ich so eine Sequenz sehe, erkenne ich dann die dominante Mutation, die Schaden anrichtet? Ich stelle mir das relativ ambitioniert vor, aus der Sequenz Phänotypen vorherzusagen, die es bisher nicht gibt.

ANTWORT

Zu erstens: Da stimme ich zu. Das ist eigentlich kein Thema. Ich habe das Beispiel ein bisschen strategisch gewählt, und das ist sicherlich ein Schwachpunkt im Vortrag, dass das eigentlich gar nicht ganz zutrifft, weil, die Stiere werden ja immer früher geschlachtet, wenn ich es richtig verstanden habe, man lagert Sperma ein. Das setzt man das über Jahre ein. Dann ist der Stier sehr jung gewesen zum Zeitpunkt der Spermaproduktion. Das trifft es nicht. Zu zweitens. Das ist das, was im Moment nicht richtig gelingt. Ich habe ein anderes Beispiel nicht aufgeführt. Da haben wir 0,5 % der Erstbesamung gesehen am Ende als missgebildete Kälber. Aber das waren am Ende auch, weil das ein hochfrequent eingesetzter Bulle war, waren das auch irgendwie, ich weiß doch nicht was, 20 - 30 Kälber, nicht die, die mitgeteilt worden sind. Es gibt im Moment keine Sequenzierungstechnologie, die das nachweisen würde. Wir haben bei den Bullen selber nichts gesehen, aber wir wissen ganz genau, da wir die Abstammung kontrolliert haben, dass diese Kälber

eine sogenannte De-novo-Mutation haben oder eine Spontanmutation und alle gemeinsam vom Vater, es wurde eine Kopplungsanalyse gemacht. Das ist eben der Status-quo. Wir nutzen jetzt diese Illumina-technology und die ist schön und gut. Aber da wir jetzt sicherlich in diesem Jahr ein Riesenschritt vollzogen, weil man versucht, für alle Nutztierarten die Referenzsequenzen auf bessere Beine zu stellen mit anderer Sequenzierungstechnologie von Bioscience, so heißt die Firma, die diese Geräte verkauft. Da kannst du Einzelsequenzen von bis zu 10.000 - 12.000 Basen erzeugen, und wenn du das dann zusammenbaust, dann überbrückst du manche Lücke, die wir jetzt noch haben. Insofern wird die Aussage später auch besser. Das ist jetzt angekündigt für die nächsten Monate. Aber das dann in der Routine einzusetzen, ist nicht bezahlbar, weil diese Technologie ist im Moment pro Genom noch ein Vielfaches von den 10.000 Dollar. Das ist eher eine Vision als eine Realität.

STEINHART, HAMBURG

Hier eine laienhafte Frage: Mir ist aufgefallen, dass sie nicht unterschieden haben zwischen Tierarten. Gibt es den beim Auftreten der Erbfehler Tierart spezifische Unterschiede?

ANTWORT

Nein. Das ist immer eine Frage der Wahrnehmung. Also. Wie werden diese genetischen Besonderheiten erfasst oder wie werden sie überhaupt wahrgenommen? Die Mutationsrate ist bei den Säugetieren die gleiche. Es schließt auch den Menschen mit ein. Nur die Zuchtpraxis ist je nach Tierart anders. Das provoziert natürlich eher im Bereich der Rinderzucht mit intensivem Einsatz einzelner Vatertiere, das die Defekte sich besser verteilen. Ich mache viel Arbeit auch im Bereich der Hundezucht, wo es manchmal ein bisschen drunter und drüber geht, aber, die kämpfen auch alle mit ihren Problemen.

KALM, KIEL

Eine Frage zu dem Komplex Risikoanalyse. Das ist ja eine ganz wichtige Aufgabe, da wir jetzt die ganzen SNPs haben. Inwieweit können wir heute mit Modellen eine Risikoanalyse durchführen, dass hier eine genetische Besonderheit auftritt oder auftreten kann? Oder geht es dann nur mit sequenzierten Daten?

ANTWORT

Das habe ich an den beiden Beispielen illustrieren wollen. Braunviehspinnengliedrigkeit, Cholesterindefizit beim Holstein, dass das andere gut ist, aber definitiv Grenzen hat, weil die jungen Mutationen, die vor kurzem auftraten, die sind dann klein, im sogenannten Kopplungsungleichgewichten mit diesen Haplotypen, aus welchen Chromosomen auch immer, aber, den gibt es dann auch in der Normalkonstellation. Deswegen braucht es die Aufklärung der kausalen Varianten, um da wirklich 100 % effizient zu selektieren und nicht zu viele unnötigerweise anhand der SMP-Daten auf die Seite zu tun. Das schafft Präzision, das passt dann zu diesem schönen präzisen Tierzuchtbegriff. Das andere, was ich auch gesagt habe, dieser Genotyp, der Ansatz, dieser Missing-Heterozygosity Ansatz, der ist auch gut, aber das ist es teilweise schwierig, die Mutation, wenn man sich bemüht, die aufzuklären, zu verstehen, weil man manchmal ja gar nicht weiß, wann in der Entwicklung der Tod des Individuums, ob es nun ein Embryo oder ein Fötus war, passiert. Da ist der Phänotyp eigentlich im Dunkeln des Mutterleibes und man klärt auf und postuliert irgendwas. Da ist manche Mutation kompliziert, wo ich nicht überzeugt davon bin, dass das wirklich die kausalen Varianten sind, weil man eigentlich die Verbindung gar nicht ziehen kann, weil man den Phänotyp gar nicht richtig erkannt hat.

KALM, KIEL

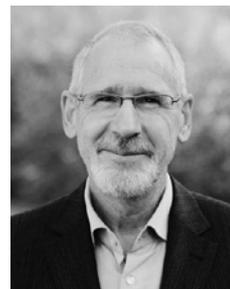
Irgendwie müssen wir uns hier mal entscheiden. Was will ich denn heute für eine Strategie empfehlen?

ANTWORT

Die Strategie, die heute gefahren wird, ist schon mal super. Das ist ja das Beispiel, was VIT-Verden umgesetzt hat, das zu erkennen und so weiter und sofort. Was ich sehe bei den über 40 Kälbern, die ich in der Schweiz jetzt in drei Monaten gesammelt habe, ist, da wird munter Inzucht betrieben. Wenn ich mir dann einfach mal anschau, wie die Abstammung ist,

dann wundert mich überhaupt nichts. Da kann man noch so viel dozieren, dass der Inzuchtlevel nicht steigt, aber diese Tiere – und das sind dann tierschutzrelevante Fälle, so ein Kalb krepirt an diesem Phänotyp – dann muss man schon auf den Punkt weisen, der relativ trivial ist. Das stand schon 1928 bei Morgan Freed geschrieben.

Größer, schneller, präziser: Die Versprechen der genomischen Tierzucht – und wie wir sie einlösen



Einleitung

Vor der Einleitung von Selektionsmaßnahmen und vor der Implementierung von Zuchtprogrammen werden Zuchtziele formuliert. Es handelt sich dabei um strategische Zielsetzungen ohne Zeitvorgabe. Es sollen z. B. „fitter, vitale und leistungsstarke“ Tiere gezüchtet werden. Die strategische Zielsetzung wird durch die Identifizierung von Ziel- und Hilfsmerkmalen konkretisiert. Unter Beachtung der Merkmalskorrelationen und der relativen wirtschaftlichen Bedeutung der Zielmerkmale wird eine Indexzahl (Selektionsindex, Gesamtzuchtwert; z. B. SÖLKNER ET AL., 2000) berechnet, so dass sich der Populationsdurchschnitt der einzelnen Zielmerkmale bei maximaler Selektionsintensität möglichst schnell in Richtung der strategischen Zuchtziele bewegt.

Das Formulieren von Zuchtzielen ist in erster Linie eine Angelegenheit der Tierzuchtorganisationen. Die Gesellschaft hat sich bis jetzt kaum inhaltlich mit Zuchtzielen befasst. Seit einigen Jahren zeichnet sich ein Gesinnungswechsel ab: die Gesellschaft interessiert sich immer mehr für die Belange Nutztiere. Das manifestiert sich in der breit geführten Diskussion zum Tierwohl. Es stellt sich nun die Frage, ob das methodische Arsenal der Tierzucht ausreicht, um den wachsenden gesellschaftlichen Ansprüchen zu genügen. Eine erste Reaktion der Tierzüchter bestand darin, als tierwohlrelevant deklarierte funktionale Merkmale im Index überproportional zu gewichten.

Parallel zur Tierwohldiskussion setzte auch die genomische Revolution der Tierzucht ein. Von der

sogenannten genomischen Selektion erwartete man eine massive Verbesserung der Selektionseffizienz auch für funktionale Merkmale. Zusammen mit der höheren Gewichtung im Selektionsindex sollen die gesellschaftlichen Vorgaben hinsichtlich Tierwohl innerhalb nützlicher Frist erreicht werden. Es stellt sich nun die Frage, ob die genomische Tierzucht, so wie sie jetzt implementiert ist, eine Trendwende in dem Sinne einleiten kann, dass sich spürbar weniger Tiere in einem „Unwohlzustand“ befinden, ohne dass dabei, gerade in einem wirtschaftlich schwierigen Umfeld, die Leistung beeinträchtigt wird. Meine These ist, dass die genomische Tierzucht das in der jetzigen Form nicht leisten kann. Im Folgenden möchte ich diese These belegen und einen neuen genomischen Ansatz zur tierzüchterischen Selektion aufzeigen.

Das Problem der niedrigen Heritabilität

Wie bei der konventionellen Selektion ist auch bei der genomischen oder (präziser ausgedrückt) genomisch unterstützten Selektion die Heritabilität der Hilfs- und Zielmerkmale für den Selektionserfolg ausschlaggebend. Oft können Hilfsmerkmale mit einer relativ hohen Heritabilität herangezogen werden, die das Zielmerkmal aber nur unzulänglich abbilden (Beispiel: Zellzahl – Mastitis beim Milchrind). Die genomisch unterstützte Selektion, wie sie zur Zeit implementiert ist, beruht auf der gleichen phänotypischen Information wie die konventionelle Selektion. Infolge einer filigraneren Erfassung der Ver-

wandtschaft durch die genomweite Genotypisierung von Markern kann der Zuchtwert z. B. beim Milchrind mit einer Sicherheit von über 50 % geschätzt werden und zwar sobald von einem Individuum eine DNA-Probe gewonnen werden kann (MEUWISSEN ET AL., 2001; VANRADEN, 2008). Bei konventioneller Zuchtwertschätzung allein auf der Basis von Ahnen liegt die Sicherheit unter 40 %. Der Vorteil der genomisch unterstützten Zuchtwertschätzung liegt also darin, dass durch die relativ sichere Zuchtwertschätzung früh im Leben der Kandidatentiere eine Verkürzung des Generationsintervalls erreicht werden kann. Beim Milchrind kann so der Zuchtfortschritt pro Jahr mehr als verdoppelt werden (SCHAEFFER, 2006). Trotz der überproportional hohen Gewichtung funktioneller Merkmale im Index und dem schnelleren Zuchtfortschritt durch eine genomisch unterstützte Evaluierung wird sich für funktionale Merkmale nur ein geringer oder gar kein Selektionserfolg einstellen und sich somit die Gesundheit der Tiere nicht maßgeblich verbessern (Abbildung 1). Weil Hilfsmerkmale das Zielmerkmal oft nur unzulänglich beschrei-

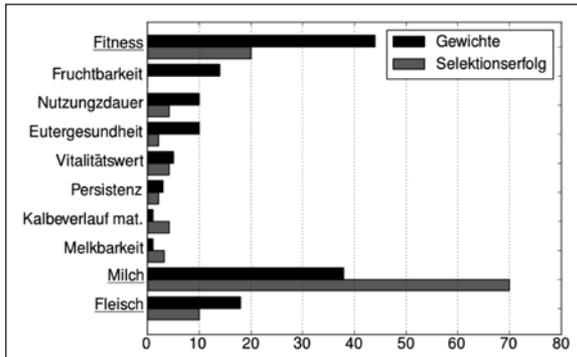


Abbildung 1: Welt-Jahresverbräuche auf Basis von Reserven Wirtschaftliche Gewichte und theoretischer Selektionserfolg pro Generation bei Selektion nach dem seit April 2016 gültigen Gesamtzuchtwert beim Fleckvieh. Die Hauptmerkmalskomplexe sind unterstrichen. „Fruchtbarkeit“, „Nutzungsdauer“, „Eutergesundheit“, „Vitalitätswert“, „Persistenz“, und „Kalbeverlauf mat.“ und „Melkbarkeit“ werden unter „Fitness“ zusammengefasst. (Quelle: FÜRST ET AL., 2016).

ben und wegen der generell niedrigen Heritabilität von gesundheitsbezogenen Merkmalen, ergeben sich durch die Genomik keine grundsätzlichen Vorteile. Damit die Tierzucht die Herausforderung annehmen kann, die Tiergesundheit tatsächlich zu verbessern, muss die Genomik ihr volles Potenzial durch die Erfassung von sogenannten „Selection Targets“ entfalten können.

Erfassung von genomischen Selection Targets zur Aushebelung niedriger Heritabilität

Selection Targets sind Loci, die durch genomweite Assoziationsstudien (GWAS) erfasst werden können und die als direkte Ansatzpunkte für eine genomische Selektion i.e.S. vor allem bei niedrig erblichen Merkmalen dienen können. Die Mächtigkeit von GWAS hängt auch von der Erblichkeit und der genetischen Architektur des Merkmals ab. Mächtigkeitsberechnungen zeigen aber, dass durch die Einbeziehung sehr vieler Individuen auch Loci mit einem kleinen Beitrag an der genetischen Variation zuverlässig identifiziert werden können, auch bei niedriger Erblichkeit des Merkmals (Abbildung 2). Diese theoretischen Betrachtungen werden durch konkrete Befunde beim Menschen bestätigt. Kunden, die ihr Genom bei der Firma 23andme an einer halben Million Positionen genotypisieren ließen, konnten auf die Frage antworten, ob sie Essgeräusche anderer Menschen in Rage bringen oder nicht. Etwa 17,6 Tausend Teilnehmer antworteten mit „ja“ und 63 Tausend mit „nein“. Teilnehmer, die mit „ich weiß nicht“ antworteten, wurden nicht einbezogen. Die unterschiedliche Reaktion auf Essgeräusche ist ein sehr niedrig erbliches Charakteristikum. Trotzdem konnte ein hochsignifikantes GWAS-Signal im Bereich eines Gens festgestellt werden, dessen Produkt bei der Verarbeitung von audiovisuellen Signalen im Gehirn eine wichtige Rolle spielt (FAYZULLINA ET AL., 2015).

Durch die Verwendung von Millionen durch Imputation auf der Basis von sequenzierten Tieren ermittelten Genotypen kann die Präzision der Kartierung von Selection Targets entscheidend verbes-

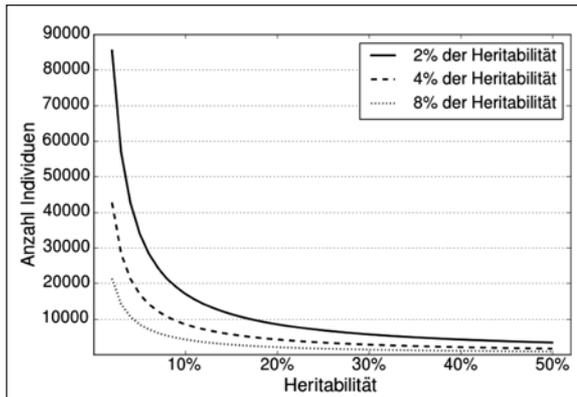


Abbildung 2: Mächtigkeit von genomweiten Assoziationsstudien in Abhängigkeit von der Heritabilität des Merkmals und dem relativen Beitrag eines Locus zur genetischen Variation (% der Heritabilität) (PAUSCH ET AL., 2011). Die Berechnung beruht auf der Annahme, dass das Kopplungsungleichgewicht von Marker und kausaler Variante = 1 ist. Es wird von 20 Millionen Markern ausgegangen. Um das multiple Testen zu berücksichtigen, wird eine nach Bonferroni korrigierte Signifikanzgrenze von $0.05/20000000 = 2.5e-09$ angenommen.

sert werden (DAETWYLER ET AL., 2014). In vielen Fällen ist das Top-Signal aus der GWAS die kausale Variante. Es stellt sich aber heraus, dass diese zum überwiegenden Teil in Genombereichen liegen, die nicht für Aminosäuren kodieren (EDWARDS ET AL., 2013). Die durch große GWAS ermöglichte präzise Lokalisierung und die zunehmend bessere Annotierung der nicht kodierenden Bereiche, auch bei Nutztieren (ANDERSSON ET AL., 2015), wird eine weitgehend routinemäßige Aufklärung der Funktionalität von Selection Targets in naher Zukunft erlauben. Neue Möglichkeiten zu punktgenaue Veränderungen im Genom (wie sie später in diesem Artikel angesprochen werden), werden die systematische Analyse des „Cause-Effect-Path“ von potenziellen Selection Targets zusätzlich erleichtern.

Im Rahmen des Projektes „Kuh Vision“ sollen in den nächsten Jahren pro Jahr 50 Tausend Kälber

der Rasse Deutsche Holstein genomweit genotypisiert werden (FEDDERSEN, 2016). Dadurch soll eine Lernstichprobe für die genomisch unterstützte Selektion etabliert werden, die eine unverzerrte Zuchtwertschätzung ermöglicht (SCHAEFFER, 2014). Gleichzeitig bietet sich nun aber auch die Gelegenheit, große GWAS zur Identifizierung von Selection Targets durchzuführen. Hinsichtlich der Größe der zu genotypisierenden Kohorten ergeben sich also bereits konkrete Möglichkeiten. Auch die Phänotypisierung soll auf eine breitere Grundlage gestellt werden. Zusätzlich zu den Merkmalen, die im Rahmen der Zuchtwertschätzung erhoben werden, sollen künftig auch weitere Merkmale vor allem im Zusammenhang mit der Tiergesundheit einbezogen werden. Bei der Phänotypisierung ist jedoch ein Umdenken notwendig: Die Merkmalerfassung soll nicht mehr als quasi-hoheitlicher Akt betrachtet werden und Ungenauigkeiten als Übertretungen geahndet werden. Einfache Beobachtungen, wie sie vom Tierhalter eher beiläufig z. B. zum Verhalten gemacht werden, sollen stärker berücksichtigt werden. Andererseits soll auch die automatische Merkmalerfassung z. B. bei der automatischen Milchgewinnung oder Fütterung zur Phänotypisierung herangezogen werden. Die genomische Tierzucht der Zukunft wird in jedem Fall mit sehr großen, heterogenen genotypischen und phänotypischen Datensätzen umgehen müssen.

Genomische Tierzucht wird (endgültig) zum „Big Data“ Ansatz

Die genomische Tierzucht und der gesamte Nutztiersektor, die sich seit geraumer Zeit mit großen Datensätzen befassen, werden endgültig von den drei V's von Big Data geprägt sein: Volume (sehr große Datensätze, die nicht mehr in einer einzigen Datenbank gehalten werden können); Variety (unterschiedliche Struktur, Qualität und Bereitstellung der Daten); Velocity (schnelle Datenverarbeitung für die umgehende Bereitstellung von Entscheidungshilfen). Der Big-Data-Ansatz erfordert neue wissenschaftliche Fähigkeiten, die weder von durch die Statistik noch die Informatik abgedeckt sind. Auch die

Bioinformatik kann die nötige Expertise nicht vollumfänglich bereit stellen. Es braucht eine spezielle Disziplin, die Datenwissenschaft. Sie ermöglicht einen neuen Zugang zur Komplexität von Merkmalen der Tiere. Im Gegensatz zum hierarchischen Vorgehen der konventionellen Wissenschaftskulturen ist die neue Disziplin durch einen horizontalen Ansatz gekennzeichnet. Entgegen der landläufigen Meinung ist die Datenwissenschaft aber nicht nur mit Korrelationen befasst, sondern sie stützt sich auf ein spezifisches Konzept der Kausalität. Wesentlich dabei ist, dass die Frage, welche Faktoren und Faktorenkombinationen für ein bestimmtes Phänomen verantwortlich sind, zunächst weitgehend hypothesenfrei („vorurteilsfrei“) angegangen wird (PIETSCH, 2016). Genomweite Assoziationsstudien, wie sie zur Identifizierung von Selection Targets herangezogen werden, weisen die wissenschaftstheoretischen Charakteristika auf, welche die Datenwissenschaft ausmachen.

Genom-Editierung erweitert die Möglichkeiten der genomischen Tierzucht

Umfassende Kenntnisse über Selection Targets sind die Voraussetzung dafür, mittels neuer Methoden der Genom-Editierung, wie CRISPR-Cas9 (JINEK ET AL., 2012; GASUNAS ET AL., 2012) und ganz neu NgAgo (GAO ET AL., 2016), basengenaue Veränderungen im Genom der Nutztiere vorzunehmen. Genom-Editierung kann zunächst vor allem für die in vitro Validierung von Selection Targets eingesetzt werden. Genom-Editierung wurde bereits erfolgreich zur Zucht von gegen PRRS-Virus resistenten Schweinen (WHITWORTH ET AL., 2015) und von hornlosen Rinder verwendet (CARLSON ET AL., 2016). Bei entsprechender Kenntnis der Selection Targets kann die Genom-Editierung auch die schnelle Korrektur von Erbdefekten sowie die Berichtigung ungünstiger Allelkombinationen und damit die Auflösung von Merkmalsantagonismen ermöglichen (NIEMANN ET AL., 2016).

Schlussfolgerungen

Die ökonomischen, ökologischen und gesellschaft-

lichen Herausforderungen an die Tierzucht können nur angenommen werden, wenn sich die genomische Tierzucht im Umfeld der Megatrends „Big Data“ und „Gen-Editing“ voll entfalten kann. Dazu muss sie größer werden und zwar im Sinne, dass Tierpopulationen nicht mehr nur stichprobenweise, sondern als Grundgesamtheit untersucht werden. Umfassende genomische Information ist dann die Grundlage für eine zielgenaue Befriedigung der Bedürfnisse des Einzeltieres und nicht mehr nur für die Vorhersage des Zuchtpotenzials. Genomische Information schafft Freiheitsgrade, die es ermöglichen, schneller auf neue Herausforderungen zu reagieren. Umfassende Kenntnisse über Selection Targets sind die Grundlage für basengenaue Veränderungen im Genom der Nutztiere. Die Tierzucht wird dadurch mit einer nie dagewesenen Präzision ausgestattet, die gerade in einem wirtschaftlich schwierigen Umfeld zum Wohl der Tiere gereichen soll.

Literaturverzeichnis

ANDERSSON, L., A. L. ARCHIBALD, C. D. BOTTEMA, R. BRAUNING, S. C. BURGESS, D. W. BURT, E. CASAS, H. H. CHENG, L. CLARKE, C. COULDREY, B. P. DALRYMPLE, C. G. ELSIK, S. FOISSAC, E. GIUFFRÀ, M. A. GROENEN, B. J. HAYES, L. S. HUANG, H. KHATIB, J. W. KLIAS, H. KIM, J. K. LUNNEY, F. M. MCCARTHY, J. C. MCEWAN, S. MOORE, B. NANDURI, C. NOTREDAME, Y. PALTI, G. S. PLASTOW, J. M. REECY, G. A. ROHRER, E. SARROPOULOU, C. J. SCHMIDT, J. SILVERSTEIN, R. L. TELLAM, M. TIXIER-BOICHARD, G. TOSSER-KLOPP, C. K. TUGGLE, J. VILKKI, S. N. WHITE, S. ZHAO AND H. ZHOU (2015): Coordinated international action to accelerate genome-to-phenome with FAANG, the Functional Annotation of Animal Genomes project. *Genome Biol.* 16, 57.

CARLSON, D. F., C. A. LANCTO, B. ZANG, E.-S. KIM, M. WALTON, D. OLDESCHULTE, C. SEABURY, T. S. SONSTEGARD AND S. C. FAHRENKRUG (2016): Production of hornless dairy cattle from genome-edited cell lines. *Nat. Biotechnol.* 34, 479–481.

DAETWYLER, H. D., A. CAPITAN, H. PAUSCH, P. STOTHARD, R. VAN BINSBERGEN, R. F. BRØNDUM, X. LIAO, A. DJARI, S. C. RODRIGUEZ, C. GROHS, D. ESQUERRÉ, O. BOUCHEZ, M.-N. ROSSIGNOL, C. KLOPP, D. ROCHA, S. FRITZ, A. EGGEN, P. J. BOWMAN, D. COOTE, A. J. CHAMBERLAIN, C. ANDERSON, C. P. VAN TASSELL, I. HULSEGGE, M. E. GODDARD, B. GULDBRANDTSEN, M. S. LUND, R. F. VEERKAMP, D. A. BOICHARD, R. FRIES AND B. J. HAYES (2014): Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nat. Genet.* 46, 858–865.

EDWARDS, S. L., J. BEESLEY, J. D. FRENCH AND A. M. DUNNING (2013): Beyond GWAS: Illuminating the Dark Road from Association to Function. *Am. J. Hum. Genet.* 93, 779–797.

- Fayzullina, S., R. P. Smith, N. Furlotte, Y. Hu, D. Hinds and J. Y. Tung (2015): White Paper 23-08: Genetic Associations with Traits in 23andMe Customers.
- FEDDERSEN, E. (2016): KuhVision: Vorteile für Zucht und Management. Milch-rind 2016, 4.
- FÜRST, C., C. EGGER-DANNER, H. SCHWARZENBACHER and B. FÜRST-WALTL (2016): Der neue Gesamtzuchtwert - fit, vital und leistungsstark. Fleckvieh Austria 2006, 6–7.
- GAO, F., X. Z. SHEN, F. JIANG, Y. WU and C. HAN (2016): DNA-guided genome editing using the *Neisseria meningitidis* Argonaute. *Nat. Biotechnol.* doi:10.1038/nbt.3547, 1–7.
- GASIUNAS, G., R. BARRANGOU, P. HORVATH and V. SIKSNYS (2012): Cas9-crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, E2579-2586.
- JINEK, M., K. CHYLINSKI, I. FONFARA, M. HAUER, J. A. DOUDNA and E. CHARPENTIER (2012): A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity. *Science* 337, 816–821.
- MEUWISSEN, T. H., B. J. HAYES and M. E. GODDARD (2001): Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157, 1819–1829.
- NIEMANN, H., R. FRIES and E. THOLEN (2016): Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde zu Chancen und Risiken des Gen-Editings bei Nutztieren. *Züchtungskunde* 88, 161–166.
- PAUSCH, H., K. FLISIKOWSKI, S. JUNG, R. EMMERLING, C. EDEL, K.-U. GÖTZ and R. FRIES (2011): Genome-wide association study identifies two major loci affecting calving ease and growth-related traits in cattle. *Genetics* 187, 289–297.
- PIETSCH, W. (2016): Big Data - The New Science of Complexity. http://www.wolfgangpietsch.de/pietsch-bigdata_complexity.pdf
- SCHAEFFER, L. R. (2006): Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 123, 218–223.
- SCHAEFFER, L. R. (2014): Is The Animal Model Obsolete? *ELARES* 58, 1-12.
- SÖLKNER, J., J. MIESENBERGER, A. WILLAM, C. FÜRST and R. BAUMUNG (2000): Total merit indices in dual purpose cattle. *Arch Tierz* 43, 597–608.
- VANRADEN, P. M. (2008): Efficient Methods to Compute Genomic Predictions. *J. Dairy Sci.* 91, 4414–4423.
- WHITWORTH, K. M., R. R. ROWLAND, C. L. EWEN, B. R. TRIBLE, M. A. KERRIGAN, A. G. CINO-OZUNA, M. S. SAMUEL, J. E. LIGHTNER, D. G. MCLAREN, A. J. MILEHAM, K. D. WELLS and R. S. PRATHER (2015): Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Nat. Biotechnol.* 34, 20–22.

Diskussion



BREVES, HANNOVER

Eine Frage zu den Verläufen oder zur Entwicklung der Laktation. Da haben Sie gesagt sinngemäß, das Erreichen eines Plateaus spricht dafür, dass andere funktionale Parameter stärker betont werden. Wie soll ich mir das auf einer funktionellen Ebene vorstellen?

ANTWORT

Im schlimmsten Fall haben wir dann bei den Gesundheitsmerkmalen nichts erreicht und haben einfach durch die stärkere Gewichtung weniger Fortschritte in der Milchleistung. Das muss nicht so sein, aber das kann.

SÖLKNER, WIEN

Hinweis zur Folie: Bei Fruchtbarkeit gab es einen Balken nach links und das ist schlechter geworden und jetzt ist es nicht mehr schlechter geworden. Ist das nicht Too many Targets? Wir haben heute gehört, es gibt draußen Gene, die für die Milchleistung verantwortlich sind.

ANTWORT

Die Frage gibt es 1.000 Gene oder vielleicht auch 10.000, aber was offen ist, gibt es welche darunter, die einen großen Einfluss haben. Das sind die, die uns interessieren. Und ich glaube, wir können diese Überlegung der Missing Heritability vom Menschen nicht einfach auf unsere Tierpopulationen übertragen. Der Mensch hat eine enorm große, effektive Populationsgröße und es kann durchaus sein, das ist offen,

das muss man einfach im Einzelfall untersuchen, mit diesen genomweiten Assoziationsstudien, und sich da vorarbeiten. Ich bin überzeugt, dass wir da öfter einfach einzelne Loci finden, die doch sehr viel erklären und da kann man auch das Zusammenwirken studieren. Wenn zwei, drei kreativ wichtige Loci sind, wenn wir das Zusammenwirken auch kennen, dann können wir vielleicht einen sehr großen Teil der Varianz klären.

Aber wir müssen von diesem klassischen quantitativen Modell wegkommen. Ich weiß nicht, ob ich es irgendwo gesagt habe. Wir müssen die Genomik aus den Fängen der quantitativen Genetik befreien. Diese Fänge sind genau das was sie sagten. Es sind so viele Loci, also hat es gar keinen Sinn, da zu beginnen.

WIMMERS, DUMMERSTORF

Gerade mit dem Letzten bin ich durchaus bei ihnen. Sie stellen jetzt aber Big und Dirty dar. Der Gegenansatz ist ja, wir machen möglichst präzise Phänotypen bei dann vielleicht weniger Tieren. Sehen sie nicht die Möglichkeit, diese Ansätze zu kombinieren, indem sie z. B. Sub-Gruppen bilden in ihrem Riesen-Pool?

ANTWORT

Absolut. Ich führe das im Text ein bisschen weiter aus. Es hat mich sehr interessiert, diese wissenschaftstheoretische Einordnung von Big Data. Es ist eben ein anderer Ansatz, hierarchisch, nicht hierarchisch, so wie sie. Sie würden hierarchisch vorgehen und sagen, ich habe Hypothesen. Ich schaue mir bestimmte

Sub-Gruppen schon mal an, weil die sehr gut bestimmte Kriterien erfüllen. Dieser Big-Data-Ansatz der arbeitet horizontal und arbeitet sich dann runter. Es ist ein anderer Ansatz. Wir sind sehr geprägt in unserer Arbeit, bis anfang, dass wir Hypothesen formulieren. Dass dieser Big-Data- Ansatz richtig gemacht, wissenschaftstheoretisch richtig aufgefasst, kann eben doch was anderes.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Als Vertreter der quantitativen Genetik muss ich auch sagen, die Genomik hat erst ihren Nutzen entfaltet als sie den Fängen der Molekulargenetik entrisen wurde und in den Dienst der quantitativen Genetik gestellt wurde. Es ist ja unzweifelhaft und Herr Bennewitz hat das sehr schön gezeigt, dass wir natürlich mit den Genomen, mit der genomischen Selektion enorme Zuchtfortschritte machen und auch eine enorme Steigerung haben bezüglich zu dem, was wir

bisher hatten. Würdest du eigentlich auch sehen, dass es eigentlich mehr eine Frage der Merkmalsgewichtung ist? Wir müssten uns im Grunde vielleicht an der Folie orientieren und die blauen Säulen oder den Selektionsindex oder die Gewichtung so ausrichten, dass die blauen Säulen so sind wie die Gesellschaft oder wer immer es sich vorstellt. Momentan machen wir es ökonomisch, und es spricht eigentlich relativ viel dafür, dass das auch nicht der allerdümmste Ansatz ist, ein Zuchtziel ökonomisch zu gewichten, aber wenn es andere Beweggründe gibt. Dann kann man ja mit dem aktuellen Repertoire schon steuern.

ANTWORT

Dieses Experiment machen wir im Moment schon. Ich hoffe, es kommt gut raus. Ich bin skeptisch. Es gibt Selektionsindizes, wo diese funktionalen Merkmale schon zu 90 % gewichtet werden. Mehr geht nicht.

Perspektiven der genomischen Selektion in der Pflanzenzüchtung



Einleitung

Die genombasierte Leistungsvorhersage stellt Pflanzenzüchtern neues Werkzeug und neuartige Ansätze für die Selektion bzgl. komplexer Merkmale bereit (Heslot et al. 2015). Potentiell können hochauflösende, genomweite Genotypisierungsverfahren an unterschiedlichen Stellen in Pflanzenzuchtprogrammen eingesetzt werden, um einen erhöhten Zuchtfortschritt für schwierige Zuchtziele zu erreichen. Verbesserungen des Zuchtfortschrittes werden insbesondere durch die erzielten Zeitersparnisse erreicht, aber auch durch die Möglichkeit, wesentlich vergrößerte Familien auf Genombasis zu testen und somit den Selektionserfolg zu erhöhen, sowie durch die potentielle Reduzierung der erheblichen Kosten für mehrjährigen Feldprüfungen an multiplen Standorten.

In der klassischen Pflanzenzüchtung wird für die meisten Kulturen zunächst die genetische Zusammensetzung von neuen Zuchtlinien über zeitaufwändige und/oder teure Prozessen (z.B. Inzucht oder Haploidisierung) in nahezu homozygoter Form fixiert. Nach anschließender Saatgutvermehrung wird die Leistung dieser Stämme in diversen Umwelten geprüft. Im Falle von Hybridkulturen wird F1-Saatgut aus Testkreuzungen ausgewählter, homozygoter Elternlinien erzeugt und geprüft. Erst nach mehrjährigen Leistungsprüfungen stehen die aussichtsreichsten Sortenkandidaten fest.

Zur Optimierung dieser Prozesse können genomische Selektionsmodelle an verschiedenen Ebenen geprüft und eingesetzt werden (Lorenz et al. 2011a,

2011b, Hehlst et al. 2013): Beispielsweise können (1) Genomsequenz- und Haplotypdaten zur Identifizierung und Introgression neuer Diversität, (2) genomweite SNP-Daten für die Vorselektion der bestgeschätzten Nachkommen aus vergrößerten Kreuzungsfamilien, oder (3) genomweite Haplotypdaten zur Auswahl aussichtsreicher Hybridkombinationen mit hoher Kombinationseignung verwendet werden.

Darüber hinaus verspricht für viele wichtige Kulturpflanzen (z.B. Raps, Gerste, Weizen) eine Umstellung von Liniensorten auf Hybridsorten verstärkte Renditen für Züchter und verbesserte Ertragsicherheit im Anbau. Die hierfür notwendige Differenzierung von bislang stark durchmischten Genpools in neue, strikt getrennte heterotische Pools, kann unter Einbeziehung von Genominformationen sehr gezielt und systematisch anhand einer wissenschaftlichen Kreuzungsplanung erfolgen. Dabei wird künftig u.a. die merkmalsassoziierte Variation durch Chromosomenstrukturierung, welche in Kulturpflanzengenomen stark ausgeprägt sein kann (Chalhoub et al. 2014), eine ganz besondere Rolle.

Sortenschutz und Zuchtmethodik in der Pflanzenzüchtung

In der Pflanzen- wie auch der Tierzucht steht die Identifizierung bzw. Erzeugung von genetisch determinierter Variation als Ausgangspunkt für die Kreuzung die elementare Grundvoraussetzung für einen

Zuchterfolg dar. Im Gegensatz zur Tierzucht jedoch, kann in der Pflanzenzüchtung u.U. auch Variation von außerhalb des Primärgenpools der jeweiligen Spezies herangezogen, oder neue Variation mit Hilfe der chemikalischen Mutagenese relativ unproblematisch erzeugt werden. Grundsätzlich unterscheidet sich die Pflanzenzüchtung von der Tierzucht außerdem in der allgemeinen Bestrebung, vollständig homogene Inzuchtlinien als stabile, homogene Sorten oder als Ausgangseltern für stabile, homogene F1-Hybridisorten durch wiederholte Selbstbestäubung zu erstellen. Obligate Fremdbestäuber wie Kartoffel oder Kohl bilden hier eher die Ausnahme; bei den wichtigsten Kulturen wie Weizen, Gerste, Raps und Mais stellt die Erstellung und Selektion von homozygoten Inzuchtlinien einen äußerst wichtigen, allerdings enorm kosten- und zeitaufwändigen Prozess der Sortenentwicklung dar.

Der Einsatz der Zell- und Gewebekultur, und vor allem die Nutzung der Haploidentechnik zur Erzeugung von vollständig homozygoten “doppelhaploiden” (DH) Nachkommen, spielt bei der Beschleunigung des Zuchtprozesses eine wichtige Rolle. Mit Hilfe der DH-Technik können große Populationen schnell als homozygote Zuchtlinien fixiert und die Selektion von komplexen Merkmalen bereits 1-2 Jahre nach der Ausgangskreuzung (statt erst nach mehreren Inzuchtgenerationen) ermöglicht werden.

Strategien zum Einsatz der genomischen Selektion

Auch als Hybrideltern kommen heute in vielen kommerziellen Zuchtprogrammen DH-Linien zum Einsatz. So werden typischerweise mehrere zehntausend DH-Linien pro Jahr erstellt und in extrem umfangreichen Feldprüfungen auf Eigenleistung bzw. auf Eignung als Hybrideltern (z.B. für Blüh- bzw. Bestäubereigenschaften, Krankheitsresistenzen, Pflanzengröße, Standfestigkeit, usw.) selektiert. Eine relativ geringe Menge an Ausgangssaatgut sowie die sehr große Zahl an Prüflinien verhindert dabei i.d.R. eine Prüfung an mehreren Standorten in diesem Stadium. Andererseits weisen viele Wunschmerkmale hohe Genotyp*Umwelt-Interaktionen auf, so dass

eine hohe Selektionsgenauigkeit meist unrealistisch ist. Die konventionelle Selektion “mit Züchterauege” ist darüber hinaus häufig subjektiv und ungenau, weil der Züchter i.d.R. in nur sehr kurzer Zeit eine extrem hohe Zahl an Prüflinien betrachten und bewerten muss, nicht selten unter erschwerten Witterungsbedingungen. Die erzwungenen Kompromisse in der Selektion können an dieser Stelle entscheidend durch genomische Selektionsmethoden verbessert werden.

Der Einsatz von genetischen Selektionsmodelle bietet einem Pflanzenzüchter insgesamt vielfältige Möglichkeiten, die momentan suboptimale Selektionsgenauigkeit und meist moderaten Selektionserfolg wie im o.g. Beispiel wesentlich zu verbessern. Für alle wichtigen Kulturarten stehen inzwischen hochdichte SNP-Arrays für die kostengünstige Genotypisierung zur Verfügung (Edwards et al. 2013). Einerseits können diese eingesetzt werden, um u.U. die Zahl der Prüfpopulationen wesentlich zu erhöhen und somit eine Vorselektion von DH-Linien (sogar bereits während der Gewebekultur) zu ermöglichen. Je nach Populationsstruktur und Merkmal kann dabei die Selektionsgenauigkeit und der damit verbundenen Selektionserfolg z. T. wesentlich erhöht und gleichzeitig auch den Prüfaufwand im Feld reduziert werden. Da heute die Kosten der genomweiten SNP-Genotypisierung bereits unter denjenigen für die Feldprüfung einer Zuchtlinie gefallen sind, ermöglicht diese Option auch eine potentielle Kosteneinsparung bzw. eine Reinvestition der ersparten Mitteln in Automatisierungstechnik, zum Beispiel.

Genomische Vorhersage der Hybridleistung

Die Züchtung von Hybridisorten gewinnt zunehmend an Bedeutung, als Züchter sogar noch mit traditionell selbstbefruchtenden Arten wie Gerste und Weizen nach Leistungsverbesserung durch eine optimale Ausnutzung von Heterosis anstreben. Allerdings liegt der Zeit- und Arbeitsaufwand für die Züchtung von F1-Kulturen wesentlich höher als der für die Linienzüchtung. Nach der Erstellung von homogenen Inzuchtlinien müssen diese durch Testkreuzungen

auf Kombinationseignung geprüft werden und Saatgut für mehrjährige, meist mehrortige Prüfungen der ausgesuchten Testhybridkombinationen erstellt werden. Bei Mais fand bereits vor fast 100 Jahren eine fast vollständige Umstellung auf die Hybridzüchtung statt. Durch die strikte Differenzierung von heterotischen Genpools konnten Faktoren, die zur allgemeinen Kombinationsfähigkeit führen, sehr äußerst Effektiv durch gezielte Kreuzung und konventionelle Selektion fixiert werden. So kann heute sehr wirksam die spezifische Kombinationsleistung potentieller Hybridkombinationen mit Hilfe der genomprofile der Elternlinien genomisch vorhergesagt werden, um nur die wirklich aussichtsreichsten vorhergesagten Hybride erstellen und im Feld prüfen zu müssen. Neben der Kosten- und Arbeitseinsparung wird dabei auch der maximal erreichbare Selektionserfolg i.d.R. signifikant erhöht.

Bei anderen Kulturen wie z.B. Raps, Gerste und Weizen, die über fast einen Jahrhundert ausschließlich mittels Linienzüchtung gezüchtet wurden und für die erst in letzter Zeit eine Umstellung auf die Hybridzüchtung erfolgte (bzw. noch erfolgt), stehen Züchter vor einer völlig anderen Problematik. Hier steht in erster Linie die Pooldifferenzierung an, weil dies die Voraussetzung zum effektiven Einsatz einer effektiven Hybridleistungsvorhersage darstellt. Auch hier können allerdings genomische Daten eine wichtige Rolle spielen, vor allem bei der Erstellung und Fixierung von sog. "heterotischen Haplotypen" (Snowdon et al. 2015). Zur Verwirklichung dieses Konzeptes werden für alle Ausgangslinien eines neuen Zuchtpools die Genome vollständig resequenziert, um ein Informationsatlas der vorhandenen Sequenzdiversität zu erstellen. Dabei spielen bei Kulturpflanzen oft nicht nur SNP-Marker eine große Rolle, sondern insbesondere auch noch *Presence-Absence-Variants* (PAV) und *Copy-Number-Variants* (CNV) (McMullen et al. 2009, Schiessl et al. 2014). Diese sind in komplexen, polyploiden Kulturpflanzengenome sehr stark vertreten und spielen eine bislang ungeahnt wichtige Rolle bei der Ausprägung vor allem komplexer Merkma-

le. Mittels Array-Typisierungen oder sequenzbasierte Genotypisierung findet in jedem Zuchtzyklus eine Zuordnung von Chromosomensegmente zu den elterlichen Haplotypenvarianten statt, so dass komplementäre Haplotypen mit potentiellen additiven Heterosiseffekten in kontrastierenden Pools (neben den essentiellen Majorgenen) fixiert werden können.

Ausblick

Ein wichtiges Ziel nicht nur in der Pflanzenzüchtung ist die bessere Erfassung von fehlender Heritabilität bei komplexen Merkmalen, die u.A. auch stark von epistatischen und ggf. epigenetischen sowie andere interaktiven Effekten beeinflusst werden kann. Erste Ansätze mit Sequenzdaten von Transkriptomen und/oder kleine RNA in Pflanzen ergeben zwar z.T. sehr gute Vorhersagen insbesondere von der Hybridleistung, noch sind solche Techniken allerdings zu teuer für einen Routineeinsatz in großen Zuchtpopulationen. Pflanzen sind allerdings zur Erforschung von epigenetischen Modifikationen (z.B. Einfluss von mütterlichem Stress auf die Embryoleistung) äußerst interessante Modelle. Erste bislang unpublizierte Ergebnisse weisen auf positive Leistungseffekte durch epigenetische Effekt hin, die ggf. züchterisch anwendbar sind. Bei sinkenden Kosten können auch sonstige "Omics"-Techniken in der Routineanalytik zur Verbesserung von genomischen Vorhersagemodellen eine Rolle spielen (Riedelsheimer et al. 2012). Aufgrund der oft transienten Natur von miRNA, mRNA und Metaboliten werden hierfür allerdings alternative Schätzmodelle benötigt, welche weniger auf vollständig orthologen Datensätzen basieren. Dafür sollen in neuen Forschungseinsätzen neuartige *Machine-Learning*-Algorithmen entwickelt werden, die mit Hilfe von diffusen und nicht-orthogonalen Genom-, Transkriptom-, Phänotyp-, Metaboliten- sowie Umweltdaten eine Verhaltensvorhersage von Zuchtgenotypen ermöglichen und mit wachsenden Datenmengen das Vorhersagemodell eigenständig anpassen.

Literaturverzeichnis

Chalhoub B, Denoeud F, Liu SY, Parkin IAP, Tang HB, Wang XY, Chiquet J, Belcram H, Tong CB, Samans B, Correa M, Da Silva C, Just J, Falentin C, Koh CS, Le Clainche I, Bernard M, Bento P, Noel B, Labadie K, Alberti A, Charles M, Arnaud D, Guo H, Daviaud C, Alameiry S, Jabbari K, Zhao MX, Edger PP, Chelaifa H, Tack D, Lassalle G, Mestiri I, Schnel N, Le Paslier MC, Fan GY, Renault V, Bayer PE, Golicz AA, Manoli S, Lee TH, Thi VHD, Chalabi S, Hu Q, Fan CC, Tollenaere R, Lu YH, Batail C, Shen JX, Sidebottom CHD, Wang XF, Canaguier A, Chauveau A, Berard A, Deniot G, Guan M, Liu ZS, Sun FM, Lim YP, Lyons E, Town CD, Bancroft I, Wang XW, Meng JL, Ma JX, Pires JC, King GJ, Brunel D, Delourme R, Renard M, Aury JM, Adams KL, Batley J, Snowdon RJ, Tost J, Edwards D, Zhou YM, Hua W, Sharpe AG, Paterson AH, Guan CY, Wincker P (2014) Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome. *Science* 345:950-953

Edwards D, Batley J, Snowdon RJ (2013) Accessing complex crop genomes with next-generation sequencing. *Theor Appl Genet* 126:1-11

Heslot N, Jannink JL, Sorrells ME (2013) Using Genomic Prediction to Characterize Environments and Optimize Prediction Accuracy in Applied Breeding Data. *Crop Sci* 53:921-933

Heslot N, Jannink JL, Sorrells ME (2015) Perspectives for Genomic Selection Applications and Research in Plants. *Crop Sci* 55:1-12

Lorenz AJ, Chao S, Asoro FG, Heffner EL, Hayashi T, Iwata H, Smith KP, Sorrells ME, Jannink J-L (2011a) Chapter Two - Genomic Selection in Plant Breeding: Knowledge and Prospects. In: Donald LS (ed) *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp 77-123

Lorenz AJ, Chao SM, Asoro FG, Heffner EL, Hayashi T, Iwata H, Smith KP, Sorrells ME, Jannink JL (2011b) Genomic Selection in Plant Breeding: Knowledge and Prospects. *Adv Agron* 110:77-123

McMullen MD, Kresovich S, Villeda HS, Bradbury P, Li HH, Sun Q, Flint-Garcia S, Thornsberry J, Acharya C, Bottoms C, Brown P, Browne C, Eller M, Guill K, Harjes C, Kroon D, Lepak N, Mitchell SE, Peterson B, Pressoir G, Romero S, Rosas MO, Salvo S, Yates H, Hanson M, Jones E, Smith S, Glaubitz JC, Goodman M, Ware D, Holland JB, Buckler ES (2009) Genetic Properties of the Maize Nested Association Mapping Population. *Science* 325:737-740

Riedelsheimer C, Czedik-Eysenberg A, Grieder C, Lisec J, Technow F, Sul-pice R, Altmann T, Stitt M, Willmitzer L, Melchinger AE (2012) Genomic and metabolic prediction of complex heterotic traits in hybrid maize. *Nat Genet* 44:217-220

Schiessl S, Samans B, Huttel B, Reinhard R, Snowdon RJ (2014) Capturing sequence variation among flowering-time regulatory gene homologs in the allopolyploid crop species *Brassica napus*. *Frontiers in Plant Science* 5

Snowdon RJ, Abbadi A, Kox T, Schmutzer T, Leckband G (2015) Heterotic Haplotype Capture: precision breeding for hybrid performance. *Trends in Plant Science* 20:410-413

Diskussion



BAHRs, HOHENHEIM

Was erwarten Sie als Pflanzenzüchter von den Tierzüchtern im Hinblick auf Methoden, im Hinblick auf Zuchtziele, gegebenenfalls auch im Hinblick auf Ergebnisse?

ANTWORT

Das ist eine gute Frage. Wir bekommen auch schon sehr viel in Form von Methoden, wobei man sagen muss, statistische Methoden bislang, das, was wir ausprobieren, bringt immer relativ ähnliche Ergebnisse. Wir haben in der Pflanzenzucht mit sehr strukturierten Populationen zu tun, mit großen LD-Blocks normalerweise, die eigene genomische Selektion zulassen. Das funktioniert sehr gut, in der Regel bei Merkmalen mit geringer Heritabilität auch nicht so gut, aber besser als normale Selektion, insofern methodisch werden wir wahrscheinlich weiterhin abnehmen. Wo ich vielleicht den Nutzen der Tierzucht für die Pflanzenzüchtung, wer ist da in der Züchtung vorn, von Fremdbefruchtern. Und da haben wir auch Kollegen, die der Meinung sind, wir können sehr wohl viel von der Tierzüchtung lernen und sogar die komplette Zuchtmethode. Steht in Frage, ob es wirklich so sinnvoll ist, diese Inzucht zu betreiben oder ob wir nicht einfach, wie die Tierleute, auf Nachkommenleistung selektieren und Populationszüchtung wieder betreiben, wie es vor 100 Jahren auch bei Tierkulturen der Fall gewesen war.

KALM, KIEL

Sie haben angesprochen, dass sie die Phänotypen im Feld erfassen und da kam so ein bisschen zum Ausdruck, dass diese Erfassung mit enormen Aufwand betrieben wird. Aber wenn wir die Tierleute betrachten, die gucken sich auch jede Kuh einzeln an oder bei den Schweinen wird alles an jedem Individuum gemessen. Wenn ich die Pflanzenzüchter oder die Produktionstechniker sehe, die gehen ins Feld, ziehen eine Pflanze raus, gucken sie genau an und dann sagen sie mir, dass sind die Phänotypen, und das gehört doch dazu. Dieser Aufwand der Phänotypisierung ist schon wichtig. Wie kann man den Aufwand minimieren oder sollte er intensiviert werden.

ANTWORT

Ich habe vieles weggelassen und die Beispiele, die ich gebracht habe, waren sehr einfach. Bei der Erfassung von Ertrag z. B. spielen unzählige Faktoren eine Rolle, es sei denn, man prüft Ertrag in großen Parzellen an vielen Standorten über viele Jahre, möglichst drei, Minimum zwei Jahre. D. h., man muss das machen und man muss das wirklich im großen Stil machen. Solche Versuche werden wiederholt häufig bei großen Züchtern auf 10 bis 14 Standorten europaweit. Das ist schon ein enormer Aufwand und es ist nicht nur einmal Pflanzen ziehen. Man muss natürlich alles beernten und die Erträge messen. Man muss natürlich alle Krankheiten berücksichtigen. Viele Krankheiten sind auch unsichtbar. Man hat immer noch keine vernünftige Phänotypisierungs-

möglichkeit. Man merkt nur nach der Ernte, dass die Pflanze keinen Ertrag gebracht hat oder einen reduzierten Ertrag. Quantitative Resistenzen sind immer ein schwieriges Thema. Insektenresistenz ist im Moment unmöglich, zu phänotypisieren. Deswegen können wir praktisch nicht selektieren. Wenn wir dafür die Möglichkeit bekommen, genomische Selektionsmodelle anzuwenden, dann haben wir eine Chance, zu selektieren. Da brauchen wir aber vernünftige Phänotypisierung, selbst für Trainingspopulationen. Die haben wir häufig immer noch nicht. Bezüglich Phänotypisierung kann ich auch noch sagen, dass viele Züchter jetzt auch Bestrebungen unternehmen, die Phänotypisierung im Feld zu automatisieren, dass versucht wird, welche Teilkomponenten oder Fluoreszenz oder wie auch immer mit Sensoren auf dem Fahrzeug, was über die Parzellen fährt, zu erfassen, um diese mit Erträgen in Verbindung zu bringen. Dafür braucht man sehr gute Kalibration, die dann auch nur über mehrjährige Versuche zu erzielen sind. Ob wir soweit kommen, wir wissen, es funktioniert, wir hoffen. Die Vision für die Zukunft wäre, dass ich ins Internet gehe und irgendwelche Satellitenbilder abrufe und die dann gekoppelt mit GPS mit meinem Kalibrierungsmodell den Ertrag irgendwie schätzen kann. Das ist dann auch wie eine genomische Selektion. Man muss dann die Statistik dahinter ein bisschen glauben.

STEINHART, HAMBURG

Eine Frage zur Stressforschung. Ich nehme nämlich an, dass Stressforschung in der Pflanzenzüchtung einen ganz anderen Stellenwert hat als in der Tierzucht. Könnten sie etwas dazu sagen? Ich denke, bei den Tieren kann man Stressbewältigung leichter bewerkstelligen als in der Pflanzenzüchtung. Gibt es da unterschiedliche Ansätze?

ANTWORT

Ja. Es gibt Ansätze für Trockenstress, dass man dann bewässerte und unbewässerte Kontrollen hat oder in Ländern, wo es sowieso nicht regnet, dass man bewässerte und unbewässerte Versuche mitein-

ander vergleicht und versucht, auf der Ebene zu vergleichen und zu selektieren. Wenn man aber an solche Umfänge denkt, ist das praktisch unmöglich. Deswegen sind wir auch bestrebt – im nächsten Vortrag werden wir vielleicht einiges hören – auch kontrollierte Versuche durchzuführen, in denen wir auch unter sehr kontrollierten Bedingungen Stressversuche durchführen. Trockenstress zum Beispiel oder auch Nährstoffaufnahmeversuche, um Stickstoffnutzung sehr effizient zu verbessern. Dabei ist aber immer die Frage: Kann ich diese Versuchsergebnisse überhaupt auf das Feld übertragen? Ist das, was ich selektiere, überhaupt relevant, mit dem, was ich nachher im Feld haben will. Und das ist oft ein Problem. Die vielversprechendsten Ansätze sind diejenigen, nach meiner Meinung, die Pflanzen in großen Containern in Felddichte sehr genau anwachsen zu lassen. Da haben wir auch relativ gute Korrelationen mit Felderträgen erzielen können. Da kann man auch sehr gut Umweltbedingungen kontrollieren, relativ gut. Da ist leider noch kein Hochdurchsatz möglich. Also kleine Testpopulationen sind denkbar, aber die halten sich noch in Grenzen.

BECKER, GÖTTINGEN

Was können wir lernen von der Tierzüchtung? Bei der Populationsverbesserung ist das klar. Die Tierzüchter züchten, schätzen Zuchtwerte. Aber Populationsverbesserung ist natürlich in der Regel höchstens ein gewisser Teil dazu. Du hast Hybridzüchtung erwähnt. Wie kann man sich das vorstellen? Man müsste eigentlich alle möglichen Kombinationen, die es gibt, zwischen zwei Linien irgendwie vorhersagen. Dazu müsste man sehr viel mehr Vergleiche machen. Man müsste eigentlich auch was wissen über Dominanz. Wie kann man sich das vorstellen, dass man diese Methoden aus der Tierzüchtung anpasst und vielleicht auch weiterentwickelt für die Hybridzüchtung bei Pflanzen?

ANTWORT

Zum Beispiel spezielle Kombinationseignung. Wo bei, in der Hybridzüchtung versuchen wir, unbedingt

erst einmal die generelle Kombinationseignung zu fixieren. Wenn das gelungen ist, dann sind die Voraussagen auf spezielle Kombinationseignung relativ gut, wie wir beim Mais z. B. gehört haben. Das ist vielleicht der erste Ansatz, aber da muss ich noch nachdenken.

BENNEWITZ, HOHENHEIM

Unsere Pflanzenzüchter in Hohenheim, das sind hauptsächlich Maiszüchter und da spielt die Kreuzungszucht eine große Rolle. Die sagen, die genomische Selektion hilft ihnen, um Kreuzungsleistungen vorherzusagen. Sie müssen nicht alle möglichen Kombinationen durchführen. Sie können einige von vorn herein ausschließen. Also da sehen sie das größte Potential in der Maiszüchtung. Die Pflanzenzüchter, haben von den Tierzüchtern gelernt, was die genomische Selektion anbelangt, auch mit der Methodik. Sie haben so diese Base-Methoden implementiert usw. Jetzt sehen wir ja an der Pflanzenzüchtung, in der Tierzüchtung so einen Trend, Herr Fries, herausgestellt, dass wir doch die einzelnen Gene gerne kartieren wollen oder genauer, die kausale Mutationen, die dahinter stehen. Und die Überlegung geht dahin, wie man die auch sinnvoll im Rahmen einer quantitativ basierten Tierzüchtung, Herr Fries, entschuldigen sie bitte, diese auch mit nutzen kann für eine noch bessere Vorhersagekraft der einzelnen Algorithmen. Wie ist es denn in der Pflanzenzüchtung? Ist dort auch noch der Trend da, dass man die einzelnen Gene kartieren möchte oder bleibt man auf Black-Box-Ansatz stehen? Die genomische Selektion wird es schon richten und die Gene interessieren uns derzeit erst einmal nicht bei der Selektionsentscheidung.

ANTWORT

Also nicht unbedingt einzelne Gene aber QTL, das sind die größten Probleme im Moment. Und tatsächlich sehen wir die besten genomischen Vorhersagen, wenn wir in die Gewichtung die QTL mit einbeziehen ins Modell. D. h., wir gewichten je nach Effekt des QTLs und da kriegen wir mit QTL-gekoppelten Mar-

kern eine bessere Vorhersage als genomweit, mehr oder weniger.

WINDISCH, MÜNCHEN

Wer legte eigentlich als Tierernährer ganz banal die Zuchtziele fest? Es gäbe ja interessante Zuchtziele aus dem Bereich der Fütterung, ich denke an antinutritive Inhaltsstoffe. Denken sie mal an den Raps. Die zwei Inhaltsstoffe, die abselektiert wurden, kommen ja von einer ganz anderen Ecke her.

ANTWORT

Der Raps, es schreibt vielleicht die Mühle vor, die Ölmühle. Bis ein Bauer mehr Geld bekommt für mehr Protein und weniger Masse, wird er nur auf Öl selektieren und Öl ist negativ korreliert mit Protein, d. h., das Mehl bleibt wahrscheinlich im Hintergrund. Es gibt aber Ölmühlen, die jetzt schon signalisieren, weil Raps eigentlich heute in Deutschland als wichtigste einheimische Proteinpflanze für die Milchviehfütterung anzusehen ist. Es gibt tatsächlich Mühlen, die andeuten, dass sie bereit wären, eine Prämie zu zahlen für besseres Protein. Aber wir haben auch Bestrebungen mit der Züchtungsindustrie in Richtung Rapsprotein für die Humanernährung. Es ist tatsächlich unsere einzige große heimische Proteinquelle und wenn man wirklich kein Soja aus dem Ausland importieren möchte, dann soll man das bitte nutzen, dass wir hier gut produzieren können und vielleicht könnte das marktbetrieben eine Rolle spielen, später.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Sie haben ja alles erklärt, bis zur Sortenzulassung, wie das alles funktioniert. Meine Frage: Gibt es eigentlich auch eine strukturierte Merkmalserfassung danach, also wenn die Sorten dann im Anbau sind? Man könnte sich ja vorstellen, der Ertrag wird ja heutzutage auch erfasst, dass man vielleicht auch Wetterdaten usw. bekommt, dass man darüber nach der Sortenzulassung auch züchterische Informationen erhält?

ANTWORT

Nach der Sortenzulassung ist es schwierig, man weiß nicht unbedingt, wo was angebaut wird. Wo sehr viel Potential wäre, weil die Daten sowieso erhoben werden, ist bei den Sortenprüfungen vom Bundes-sortenamt. Also mehr vorörtliche Prüfungen über zwei bis drei Jahre, wo jeder Sortenkandidat geprüft wird. Wenn wir da die Möglichkeit hätten, mit Genotypdaten zu verknüpfen, wäre das sicherlich eine super Angelegenheit. Allerdings sind dabei auch Sortenkandidaten, die später nicht zugelassen werden. Dass ein Züchter die Genotypdaten ausgibt, da muss man einiges an Überzeugungsarbeit leisten. Bis ein Züchter überhaupt seine Genotypdaten ausgibt, vor der Sortenzulassung, ist dann auch ein gewisses Problem. Wir haben auch das Problem, dass viele Sorten heute Hybridsorten sind. Dann ist es nicht ganz so einfach, von der Hybride auf die Leistung der Elternkomponenten zurückzukommen. Trotzdem wäre das vielleicht ein Ansatz.

KALM, KIEL

Frage zu den Sorten. Ich bin jetzt über 30 Jahre in Kiel und als ich nach Kiel kam, gab es die Sorte Dekan und die Sorte Dekan ist heute noch beim Weizen im routinemäßigen Anbau. Mich wundert das. Wenn ich unsere Bullen- / Rinderzüchter sehe. Der Bulle von vor 20 - 30 Jahren. Da spricht gar keiner mehr davon. Das wundert mich. Ist gar kein Zuchtfortschritt bei den neuen Sorten? Der Jugend gehört die Zukunft.

ANTWORT

Gerade bei Weizen ist das Marktleben einer Sorte eher länger, da ein Nachbau möglich ist. Eine homozygote Sorte kann ein Bauer selber anbauen und die Bereitschaft beim Weizenanbau ist nicht immer so hoch, dem Nachbau gebührend zu zahlen, d. h., die leben mit einem geringeren Ertrag, aber müssen nicht die paar hundert Euro für Saatgut ausgeben jedes Jahr und verzichten dadurch auf eine Ertragserhöhung. Andererseits. Wir haben gerade einen sehr großen Versuch laufen, wo wir Weizensorten aus den letzten 50 Jahren anbauen unter gleichen Bedingungen. Wir bauen Bio und Ausschluss von Pestiziden an in allen Varianten, unter geringerer Düngung und geringerer Bewässerung gegenüber bewässert und gucken mal nach einem Zuchtfortschritt. Ob es überhaupt stimmt, dass die neuen Sorten besser sind, resistenter sind, Stress usw. Das Ergebnis dieser Linien ist einfach verschoben. Die neuen Sorten sind unter allen Umständen immer generell gesagt besser, und zwar wesentlich besser, 10 bis 20 % als vor 20, 30 Jahren.

Neue Phänotypen in der Pflanzenzüchtung



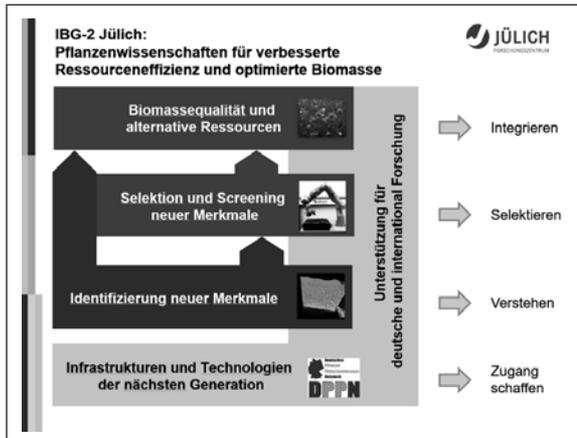
In der vergangenen Dekade hat sich durch die massive Beschleunigung der Genotypisierung die Phänotypisierung zum Flaschenhals der Pflanzenzüchtung entwickelt. Dabei spielt die Phänotypisierung an vielen Stellen des Züchtungsprozesses eine entscheidende Rolle:

- Identifikation neuer Merkmale, die pflanzliche Eigenschaften verbessern: hier erlauben moderne Phänotypisierungsverfahren die mechanistische Analyse pflanzlichen Verhaltens auf bestimmte Umweltbedingungen.
- Analyse genetischer Ressourcen: der Züchter benötigt Basisphänotypen über Linien, die er in das Zuchtmaterial einkreuzen will. In den vergangenen Jahren entwickelt sich zudem die Frage, wie – parallel zur Hochdurchsatz-Genotypisierung – ganze Samenkollektionen phänotypisiert werden können, um den Übergang von der Konservierung der genetischen Diversität zur Nutzung zu erreichen.
- Aufbau von Populationen und Charakterisierung von Eltern: gewinnt man hier mit mittlerem Durchsatz, aber durchaus schon mit erhöhter Genauigkeit Informationen zu Populationen oder Eltern können erhebliche Einsparungseffekte im Züchtungsprozess auftreten
- Genetische Analyse/ Marker-Entwicklung: um sinnvolle Marker zu entwickeln, muss parallel die Entwicklung von DNA-Markern mit der intensiven Phänotypisierung Hand in Hand gehen.

- Selektion: hier besteht die Aufgabe im hohen Durchsatz die Vielzahl der Varianten nach den Kreuzungen zu durchmustern und geeignete Linien zu identifizieren.
- Pflanzenmanagement und Präzisions-Landwirtschaft: die zunehmende Verfügbarkeit moderner nicht-invasiver Technologien befruchtet Phänotypisierung für die Züchtung und für das Pflanzenmanagement gleichermaßen.

Daraus ergibt sich eine herausragende Bedeutung für die Entwicklung von neuen, schnelleren und präziseren Methoden der quantitativen Bestimmung pflanzlicher Architektur und Funktion und deren Beziehung zu Umweltbedingungen (=Phänotypisierung).

Im Institut für Pflanzenwissenschaften IBG-2 am Forschungszentrum Jülich beschäftigen sich etwa 150 Mitarbeiter mit Themen der Identifikation von neuen Merkmalen, die die Nutzungseffizienz von Pflanzen verbessert, deren Selektion und Screening in Populationen, wie diese Eigenschaften genutzt werden können, um Biomasse-Quantität und -Qualität zu in klassische Nutzpflanzen aber auch in alternativen Biomasseträgern (z.B. Mehrjährige Pflanzen; Algen) eingebaut werden können. Darüber hinaus liegt ein Schwerpunkt in der Entwicklung, Implementierung und Bereitstellung von Phänotypisierungs-Technologien und Methoden (von der Erfassung bis zur Auswertung und Interpretation).



Identifizierung neuer Merkmale mit nicht-invasiven Phänotypisierungs-Werkzeugen

Oberirdische und unterirdische Merkmale sind wesentlich an der Ausbildung der Effizienz von Pflanzen beteiligt. Während in den vergangenen Jahrzehnten überwiegend (vor allem im Labor und Gewächshaus) Physiologie unter konstanten Umweltbedingungen untersucht wurde, stellen wir heute Phänotypisierung unter räumlich und zeitlich variablen Umweltbedingungen an, wie sie auch in der Realität der Produktionsbedingungen vorhanden sind. Damit wird angestrebt, eine höhere Relevanz der Untersuchungen zu erzielen. Darüber hinaus werden zunehmend auch Pflanzen und Pflanzenbestände untersucht, um näher an die Produktionsrealität einzugehen.

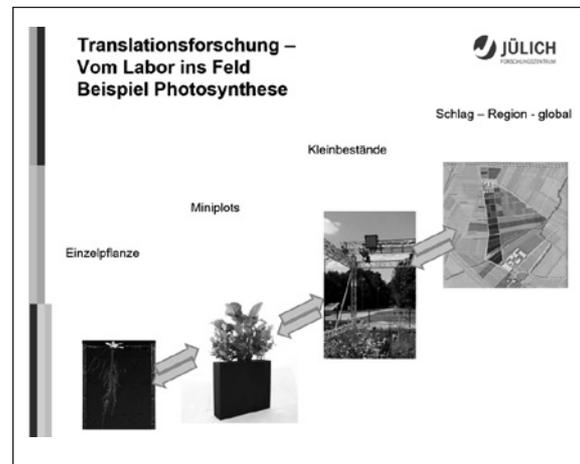
Im Bereich des Sprosses werden hier insbesondere die folgenden Ansätze verfolgt:

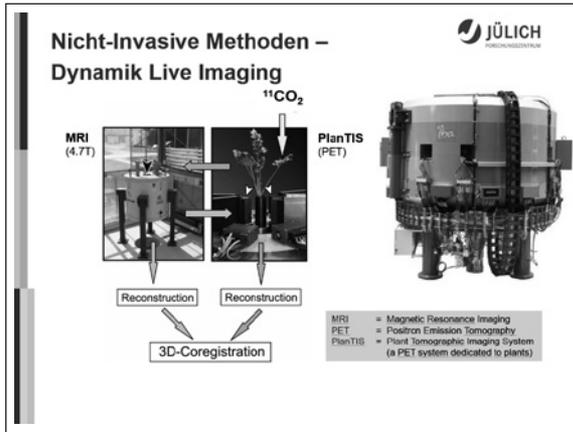
Hierzu werden **neue Verfahren** entwickelt, die sowohl die Geometrie der Pflanze (z. B. Orientierung der Blätter zum Licht) als auch die Funktion Photosynthese quantitativ bestimmen können. Um ersteres zu erreichen, wurden z.B. Stereo-Kamerasysteme oder andere 3D-Oberflächen-Abbildende Systeme entwickelt, die heute sowohl im Labor und Gewächshaus als auch im Feld eingesetzt werden können.

Aufbauend auf den neuen Verfahren können dann sogenannte „**Phenotyping Chains**“ aufgebaut werden. Hier werden ähnliche Prozesse auf der Ebene des Gewebes, des Organs, der Einzelpflanze, einer Pflanzengruppe bis hin zum Bestand im Feld vermessen. Das Ziel ist es durch Verkopplung der Skalen auch Informationen von kleineren zeitlichen und räumlichen Skalen auf der Praxisrelevanten Ebene einsetzen zu können.

Ein weiterer Zielpunkt ist die **Erhöhung des Durchsatzes und die Objektivierung**. Hierzu werden Sensoren zunehmend auf Roboter, Schienen-basierte oder fliegende Plattformen (Drohnen, Zeppelin, Flugzeuge, etc.) aufgebracht. Gleichzeitig werden automatisierte Erfassungsprotokolle und Auswertungsroutinen erstellt, um den Durchsatz zu erhöhen.

Zur Identifikation neuer Merkmalsräume für die Wurzel steht häufig noch eher das prinzipielle Verständnis im Vordergrund, da die Wurzel wegen ihrer Position im Boden noch bei weitem nicht so gut untersucht ist, wie dies für Architektur und Funktion im Spross der Fall ist. Insbesondere besteht hier das Problem, dass die Wurzeln, die aus dem Boden entnommen werden, beraubt werden, die für ihre Funk-

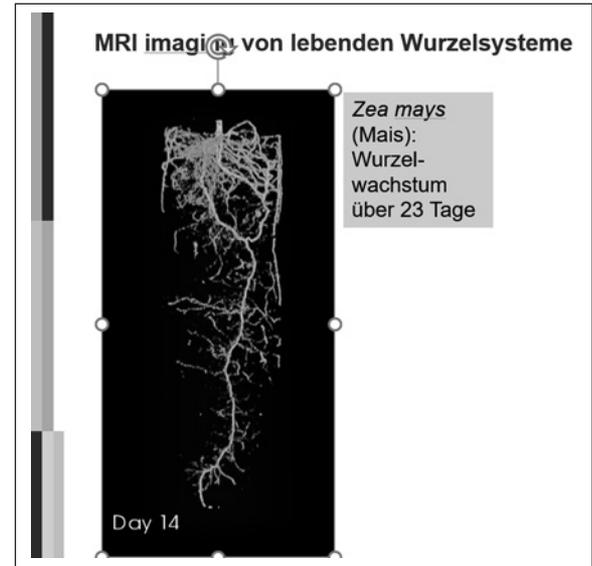




tion gegenüber der Heterogenität des Bodens extrem relevant sind.

Hier haben vor allem die Einführung tomographischer Methoden wie NMR, CT und PET in den vergangenen Jahren neue Ansätze und Durchbrüche ermöglicht. Mit Hilfe dieser Methoden kann man nicht invasiv die Struktur bestimmen und für z.B. den Kohlenstoff- oder Wassertransport auch funktionelle Parameter quantifizieren, ohne dass die beobachteten Wurzeln aus dem Boden entnommen werden müssen. Durch diese Verfahren konnten wir in den vergangenen Jahren zeigen, dass das Wurzelsystem auf auch kleinräumige und kurzfristige Änderungen in der Bodenumgebung innerhalb von Minuten reagiert und dass z.B. Kohlenstoff über eine Distanz von mehreren Dezimetern innerhalb von weniger als 30 Minuten vom Blatt zur Wurzel transportiert wird. Es zeigt sich eindrucksvoll, in welcher enger Beziehung die kurzfristige Plastizität der Wurzel in Struktur und Funktion zum lokalen und zeitlich fluktuierenden Angebot an Wasser und Nährstoffen steht.

Hier rückt zunehmend auch die Interaktion mit biotischen Effektoren ins Interesse der Forschung – sowohl bzgl. von Pathogenen als auch bei der Untersuchung der Bedeutung des Mikrobioms.



Screening und Hochdurchsatz in Gewächshaus und Feld

Im Züchtungsprozess sind viele Hochdurchsatz-Methoden gefragt, um die große Zahl an Individuen quantitativ zu analysieren. Hierzu werden ebenfalls neue Sensoren entwickelt, die es erlauben, sehr schnell quantitative Daten zu erheben. In den letzten Jahren haben wir eine große Anzahl von neuen Sensoren entwickelt oder bekannte Verfahren in ihrer Geschwindigkeit so beschleunigt, dass wir diese zum Screening in Gewächshäusern oder auch im Zuchtgarten nutzen können. Diese werden kombiniert mit automatisierten Pflanzen- oder Sensor-Transportsystemen („plant-to-sensor“ oder „sensor-to plant“). Hierdurch ist es heute möglich, wesentliche Parameter, wie Wachstum, Biomasse, Pflanzeometrie, aber auch Photosynthese, Wasserhaushalt nicht-invasiv zu quantifizieren. Da die einzelnen Methoden sehr unterschiedliche Aussagekraft und Anwendungsoptionen haben, haben wir uns am Institut für Pflanzenwissenschaften des Forschungszentrum Jülich entschlossen

sen, ein Portfolio der unterschiedlichen Methoden aufzubauen und auch in die Anlagen zu integrieren. Dadurch sind wir in der Lage auch komplexe Fragestellungen zu untersuchen und auf die vielfältigen Anfragen von Kooperationspartnern kompetent die richtige Methode zur Hand zu haben.

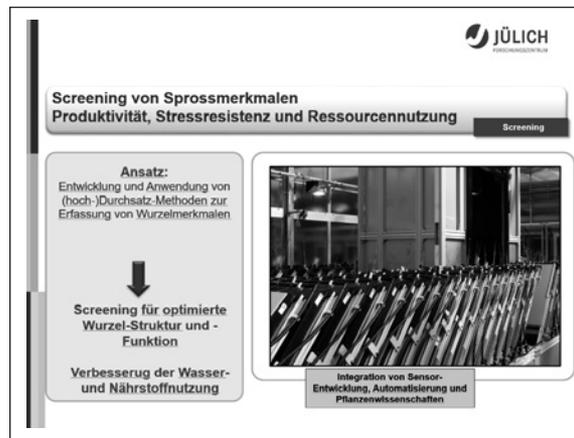
Sollten sehr wichtige Fragestellungen auftreten, für die es keine vorhandene Sensorik oder Anlage gibt, können wir aufgrund der Integration von Sensorenentwicklung, Automatisierung und Ingenieurskompetenz mit dem biologischen Verständnis neue Verfahren entwickeln. Dies machen wir teilweise auch mit und für Kooperationspartnern.



Phänotypisierung erfordert aber nicht nur die geeigneten Verfahren, um Pflanzen zu vermessen, sondern auch Optionen Umweltbedingungen gezielt verändern zu können. Hier haben wir einerseits Anlagen in Klimakammern, die sehr genaue und auch dynamisch variierbare Einstellungen von Licht, CO₂, Luft- und Bodentemperaturen oder auch von bestimmten Gaszusammensetzungen ermöglichen. Mit etwas geringerer Genauigkeit sind diese Parameter auch in Gewächshäusern einstellbar, die wir mit den automatischen Phänotypisierungs-Anlagen ausgestattet haben. In besonderen Fällen simulieren wir

auch z.B. zukünftige Kohlendioxid-Bedingungen im Freiland – so bei dem aktuell im Aufbau begriffenen BREED-FACE (FACE = Free Air Carbon Enrichment) - Anlage, bei der drei Ringe von etwa 18 m Durchmesser im Feld aufgebaut werden, in deren Inneren im Freiland die zu erwartenden CO₂-Konzentration eingestellt werden können.

Auch für den Wurzelbereich haben wir inzwischen Screening-Systeme zur Verfügung, die es uns erlauben mit erheblicher Kapazität Wurzelsysteme von Populationen bei bestimmten Bodenbedingungen zu screenen. Hierzu setzen wir hauptsächlich automatisierte Rhizotron-Systeme ein. Hierbei wachsen die Wurzelsysteme in schräg gestellten Wurzelboxen, deren untere Schrägseite transparent ist. Durch die Schrägstellung wächst die Wurzel an der Scheibe entlang und kann durch wiederholte Bildaufnahme in ihrer Entwicklung erfasst werden. Aktuell stehen Systeme mit etwa 70 Rhizotronen zur Nutzung zur Verfügung. Systeme mit deutlich höheren Kapazitäten und Anzahlen von mehreren Hundert Rhizotronen werden aktuell aufgebaut. Damit werden dann erstmals auch größere Versuchsreihen und Screening-Analysen von Wurzelmerkmalen durchführbar werden. Ergänzt werden diese Untersuchungen durch die Phänotypisierung im Feld, wobei hier noch die invasiven Me-



thoden dominieren, die allerdings durch Bildanalysen unterstützt werden, um quantitative Daten über die ausgegrabenen Wurzelsysteme oder durch Kernbohrungen gewonnenen Proben unterstützt werden.

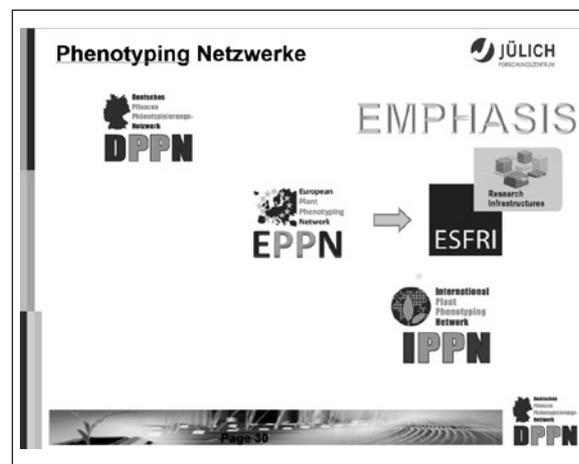
Infrastruktur – Netzwerke und Zugang für Wissenschaft und Wirtschaft

Entwicklung, Aufbau und Betrieb komplexer Phänotypisierungs-Anlagen bedarf einerseits erheblicher Investitionen und spezieller Kenntnisse und andererseits muss der Zugang zu diesen speziellen Anlagen ermöglicht und der nachhaltige und langfristige Betrieb gewährleistet werden. Dies ist meist einzelnen, kleinen Arbeitsgruppen nicht möglich. Deshalb werden sich weltweite Infrastruktur-Plattformen etablieren, die zumeist über signifikante Infrastrukturprojekte aufgebaut und dann über eine Kombination von institutioneller Förderung, über spezielle Zugangsprojekt-Funds und über Projekt-Finanzierung betrieben werden.

Deutschland hat weltweit eine Führungsrolle inne. Das Deutsche Pflanzen Phänotypisierungs Netzwerk (DPPN) wurde 2012 gestartet. DPPN wird vom Institut für Pflanzenwissenschaften des Forschungszentrum Jülich, dem IPK Gatersleben und dem HMGU München getragen; von drei Einrichtungen, die schon Pionierarbeit in der Pflanzenphänotypisierung geleistet haben, bevor das nationale Netzwerk etabliert wurde. Alle drei Einrichtungen bringen dabei neben den schon vorher installierten Infrastrukturen ihre jeweilige Spezialexpertise in Pflanzenphysiologie zu abiotischen und biotischen (inkl. Phytopathologie) Einflüssen auf die Phänotypen, in der Untersuchung genetisch determinierter Diversität, ihre Erfahrung in der Simulation von Umweltbedingungen von Pflanzen und bei der Entwicklung von Methoden und Anlagen ein. Das Prinzip, Phänotypisierungs-Infrastrukturen in eine jeweils exzellent wissenschaftlich ausgewiesene Forschungsgruppe einzugliedern haben inzwischen alle nationalen Phänotypisierungsplattformen übernommen. Das Forschungszentrum Jülich hat auch das Europäische Pflanzen Phänotypisierungs-Netzwerk (EPPN) als erstes auf Pflanzen fokussiertes

Infrastrukturprojekt initiiert und koordiniert, welches durch die Europäische Kommission gefördert wurde. EPPN hatte den wesentlichen Fokus sogenannten Transnational Access (TA) zu ermöglichen. Hierbei konnten Forschergruppen aus ganz Europa Anträge über EPPN stellen, Zugang zu Infrastrukturen zu erhalten. Bewilligte Projekte finanzierten dann sowohl den Aufenthalt der Forscher an den Infrastrukturen als auch deren Nutzung. EPPN ist Ende 2015 ausgelaufen. Bis zum Sommer 2016 sind bereits mehr als 60 Publikationen veröffentlicht worden, bei denen EPPN signifikanten Anteil an der Realisierung hatte. Diese Zahl zeigt die große Nachfrage und die signifikanten Beiträge, die gut ausgestattete Infrastruktur-Plattformen haben, wenn es über Fördermittel möglich gemacht wird, anderen Wissenschaftlern Zugang zu den Systemen zu verschaffen.

Seit März 2016 ist das Projekt EMPHASIS – “European Infrastructure for Multi-Site Plant Phenotyping and Simulation for Food Security in a Changing Climate” als Projekt auf der ESFRI-Roadmap geführt. Über den ESFRI-Mechanismus koordinieren europäische Staaten den Aufbau und Betrieb von Forschungs-Infrastrukturen mit europäischer Dimension. In den kommenden 4 Jahren soll nun ein euro-



päisches Netzwerk von Pflanzen-Phänotypisierungs-Infrastrukturen aufgebaut werden. Im Fokus stehen

- Infrastrukturen zur Phänotypisierung im Hochdurchsatz und zur mechanistischen Phänotypisierung unter kontrollierten Bedingungen (z.B. Hochdurchsatz in Klimakammern und Gewächshäusern, sowie tomographische Methoden)
- Intensive Feld-Phänotypisierungs-Anlagen mit stationären, fahrenden oder fliegenden Messsystemen inkl. der Simulation von Umweltbedingungen z.B. von zukünftigen CO₂-Konzentrationen oder zur Simulation von Trockenstress
- Ein Netzwerk von praxisnahen Feldstationen in unterschiedlichen Klima- und Bodenbedingungen mit Fokus auf Zuchtselektion (nicht auf agronomische Experimente, die andere Ansätze benötigen)
- Eine Modellierungsplattform zur virtuellen Analyse von phänotypischen Reaktionen allelischer Varianten unter verschiedenen Umweltbedingungen
- Eine alle Infrastrukturen, Plattformen und Skalen verbindende e-Infrastruktur, die Datenspeicherung, -management und -integration ermöglicht.

Das Projekt, das diese Infrastruktur vorbereitet, wurde wiederum vom Forschungszentrum Jülich stellvertretend für alle Partner eingereicht. Im Rahmen der Vorbereitungsphase wird ein europaweiter Konsultations- und Aufbau-Prozess durchgeführt werden, der das Ziel verfolgt, eine stabile, innovative Forschungsinfrastruktur in Europa für die kommenden Dekaden zu implementieren, der sowohl den Anforderungen der Nutzer entspricht als auch die Interessen der Anlagen-Betreiber, der Förderorganisationen berücksichtigt und damit die Führungsposition Europas in der Pflanzenphänotypisierung für Wissenschaft und Züchter sichert.

Weltweit organisieren sich die Phänotypisierungseinrichtungen im International Plant Phenotyping Network (IPPN). Das IPPN wurde 2015 gegründet und ist ein deutscher Verein internationalen Rechts. Das Sekretariat des IPPN befindet sich in Jülich. IPPN organisiert Arbeitsgruppen zu relevanten Themen der

Pflanzenphänotypisierung, koordiniert internationale Konzepte und Strategien und stellt Vernetzungstools zwischen den führenden Phänotypisierungseinrichtungen weltweit her.

Kooperations-Optionen in der Phänotypisierung von Pflanze und Tier

Bei allen Unterschieden, die es in den Merkmalen und Rahmenbedingungen (z.B. Unterschiede im Züchtungsprozess bei Tieren und Pflanzen) gibt, ließen sich doch erhebliche Optionen der Kooperation in methodischen Fragen heben. Dies beginnt bei der Entwicklung und Nutzung von Sensoren und Anlagen. Hier können viele der Sensoren, die in den vergangenen Jahren zur Pflanzenphänotypisierung entwickelt wurden, nach einer entsprechenden Anpassung, sicherlich auch in der Tiercharakterisierung eingesetzt werden. Auch bei der Bildauswertung und den entsprechenden Algorithmen lassen sich sicher Gemeinsamkeiten finden – dies hat sich schon bei der Interaktion mit der Medizin aber auch mit anderen Wissenschafts- und Applikationszweigen als Schlüsseltechnologie gezeigt. Die Organisation von e-Infrastrukturen, Datenhaltung und Management sind ebenfalls interessante methodische Kooperationsoptionen. Darüber hinaus ist bei Tieren und Pflanzen die Verknüpfung mit genomischen und anderen omics-Daten essentiell und folgt ähnlichen Prozessen. Last, but not least – unsere Erfahrung in der Pflanzenphänotypisierung und der Arbeit in Netzwerken in den vergangenen Jahrzehnten zeigt, dass sich auf Basis methodischer und technischer Kooperationen auch bald gemeinsame biologische Themen ergeben, die dann über den ursprünglichen Infrastruktur-Charakter hinausgehen und besonders innovative biologische Fragestellungen und Ergebnisse zeitigen. In diesem Sinne wäre es sehr anstrengenswert, Tier- und Pflanzenphänotypisierung in Zukunft enger miteinander zu verknüpfen und z.B. erste gemeinsame Projekte auf den Weg zu bringen.

Neue Phänotypen in der Tierzucht



Die Tierzucht basiert seit jeher auf Beobachtungen am Tier und die erzielten Fortschritte sind wesentlich auf geeignete Merkmalsdefinitionen und umfassende Leistungsprüfungen zurückzuführen. Gerade im genomischen Zeitalter wird die Renaissance des ‚Phänotyps‘ immer stärker proklamiert. Die Definition des Phänotyps kann weit gefasst sein, allgemein bezeichnet er die Menge aller Merkmale eines Organismus und umfasst morphologische und physiologische Charakteristika sowie Verhaltensmuster. Merkmale sind dagegen erkennbare Eigenschaften, in denen sich Tiere voneinander unterscheiden und die als statistische Größen gemessen und analysiert werden können. Im Kontext der Tierzucht sind Merkmale von Bedeutung, für die eine genetische Determination vorliegt und die entweder einen unmittelbaren wirtschaftlichen Wert besitzen oder eine gesellschaftliche bzw. Umweltrelevanz aufweisen. Während in der Vergangenheit die Menge der erzeugten tierischen Produkte sowie die Produktqualität im Vordergrund standen, wird nun der Fokus auf Merkmalskomplexe gelegt, denen in Zukunft eine große Bedeutung beigemessen wird (Boichard und Brochard, 2012; Merks et al., 2012). Dazu zählen im Wesentlichen (1) Nutzungseffizienzen sowohl bei der Erzeugung tierischer Produktion hinsichtlich Aufwand an Energie, Nährstoff- und Umweltressourcen, (2) Gesundheits- und Resistenzmerkmale, (3) spezifische Produktqualitäten mit Blick auf die Ernährungsgesundheit, (4) das Anpassungsvermögen an sich ändernde Umweltgegebenheiten (Haltungssys-

steme, Temperaturtoleranz) und (5) das Tierverhalten bzw. die physiologische Belastbarkeit von Tieren. Daraus ergibt sich die Herausforderung, für diese Merkmale und Phänotypen präzise und umfassende Informationen zu gewinnen die dann in abgestimmten Zuchtzielen unter Berücksichtigung der gesamtheitlichen Betrachtung von Tier und Umwelt sowie deren Wechselwirkungen umgesetzt werden können. Beispielhaft sei dies für die Entwicklung der Zuchtziele und den sich daraus ergebenden Konsequenzen für die Schweinezucht erläutert. Der Schlachtkörperwert und die Fleischqualität nehmen – auch auf Grund der erzielten Erfolge - in ihrer Bedeutung ab, während die Fruchtbarkeit, die Mütterlichkeit und die Ausgeglichenheit deutlich zunehmen. Gleiches gilt durch das bevorstehende Kastrationsverbot für den Merkmalskomplex Ebergeruch. Dazu kommen von Seiten der Verbraucher Forderungen hinsichtlich des Tierwohls und der Form der Produktion und von Seiten der Vermarktung Rückstandsfreiheit und Einheitlichkeit der angelieferten Schlachttiere.

Die in den letzten Jahren auf unterschiedlichen Gebieten eingetretenen technologischen Entwicklungen erlauben die Generierung von tierindividuellen Daten in einem bisher nicht für möglich gehaltenen Umfang. Mit Hilfe von Sensoren können auf verschiedenen Messebenen kontinuierlich Datenpunkte ermittelt werden und im Kontext von ‚precision farming‘ verwendet werden (Flint und Wooliams, 2008). Dazu zählen am Tier angebrachte Pedometer oder Sensoren zu Erfassung der Wiederkauaktivität als auch in

der Tierumgebung installierte Messeinrichtungen mit denen die Position des Tieres bestimmt werden kann. Zielgrößen sind Aktivitätsmuster aus denen sich wiederum Merkmale des Verhaltens ableiten lassen. So können Abweichungen von tierspezifischen Verhaltensweisen verwendet werden, um Rückschlüsse auf die Gesundheit, die Fruchtbarkeit oder das Wohlergehen zu gewinnen. Werden solche Messreihen von verschiedenen Tieren simultan betrachtet sind Aussagen über Tierinteraktionen möglich und es lassen sich z.B. aggressive oder besonders duldsame Tiere ermitteln oder Hinweise auf geeignete Haltungformen ableiten. Kamerasysteme sind in der Entwicklung, um objektiv Körpermerkmale zu bestimmen, die zur Vereinheitlichung der Exterieurbeurteilung beitragen, zusätzliche Exterieurmerkmale ermöglichen und langfristig ein kontinuierliches Monitoring der Herde erlauben (Sallau et al., 2014). Ein weiteres Anwendungsfeld von Sensoren sind Pansenboli oder Implantate, mit denen Kenngrößen wie Temperatur oder der pH-Wert direkt und simultan überprüft werden können.

Neue Techniken sind auch in der Lage, Produkte und tierische Gewebe mit Hilfe z.B. von MIR-Spektren zu charakterisieren, wobei Ansätze und Auswertungsverfahren zur Standardisierung der Fabrikate sowie zur Umsetzung der Spektrenmuster in nützliche und belastbare Kennzahlen für züchterische Belange noch in den Kinderschuhen stecken. Erste Anwendungsbeispiele betreffen Trächtigkeitsbestimmungen oder Fettsäuremuster, die aus Spektraldaten abgeleitet werden (Soyeurt et al., 2011).

Ein besonders dynamisches Gebiet mit unmittelbarem Bezug zur derzeit intensiv bearbeiteten Genomik ist die Erforschung der Zusammenhänge zwischen Phänotypen und Merkmalen zu den ‚omics‘-Ebenen. Die Endophänotypen auf Transkriptom-, Proteom- und Metabolomebene spiegeln die Kausalkette der Merkmalsausprägung wider, wobei diese ebenfalls von Umwelteffekten beeinflusst werden können und es im Gegensatz zur Pflanzenzucht deutlich schwieriger ist, geeignetes Gewebe zum relevanten Zeitpunkt und im erforderlichen Umfang zu gewinnen.

Ungeachtet dessen besitzen diese Endophänotypen ein großes Potenzial und subsumieren genetische Phänomene wie epistatische Wechselwirkungen oder epigenetische Vererbungsmuster, die mit neuen Ansätzen aus der Systembiologie erfasst werden können (Civelek et al., 2014).

Im Folgenden sollen an ausgewählten Beispielen aktuelle Fragestellungen erörtert und innovative Lösungsansätze unter Einbeziehung neuer Phänotypen dargestellt werden.

In der Diskussion über die langfristigen Auswirkungen der tierischen Erzeugung auf das Klima tritt die Ausscheidung von Methan durch das Rind immer stärker in den Vordergrund. Das naturgemäß bei der Verdauung vor allem im Pansen entstehende Gas weist eine hohe relative Umweltschädlichkeit auf und trägt 15% zu den CO₂-Äquivalenten aus der Landwirtschaft bei (Freibauer, 2003). Besonders deutlich wird dieser Sachverhalt, wenn die CO₂-Äquivalente auf eine Kilogramm erzeugtes Protein bezogen und mit anderen Tierarten verglichen werden (Schwerin et al., 2012). Eine Reihe von Untersuchungen schätzen eine mittlere Heritabilität für Methanabgabe und damit die grundsätzliche Möglichkeit einer züchterischen Bearbeitung (BELL et al., 2014; DE HAAS et al., 2011; HAYES et al. 2013), die Schwierigkeit besteht aber darin, dass die Methanabgabe tierindividuell erfasst werden und im großen Maßstab erfolgen muss. Da die Gaswechselfmessungen in Respirationskammern als ‚Goldstandard‘ nur an wenigen Tieren erfolgen können (Llonch et al., 2015) werden derzeit eine Reihe Verfahren zur Gasmessung an größeren Kohorten erprobt, u.a. die Schwefelhexafluorid-Tracer-Methode (Johnson et al., 1994) oder der erstmals von Chagunda et al. (2009) vorgestellte Einsatz von Laserdetektoren. Das generelle Problem ist die Messung in der natürlichen Umgebung vor allem vor dem Hintergrund der nicht kontinuierlichen Methanemission. Als alternatives Merkmal wurde der Archeolgehalt im Kot als Indikator für die Methanproduktion vorgeschlagen (Gill et al., 2010). Archeol ist ein Abbauprodukt der Archaeen, welche für die Methanbildung

im Pansen verantwortlich sind. Die Messung erfolgt mittels Gaschromatographie und ist daher entsprechend aufwändig (Görs et al., 2016). In Vergleichen mit den Gaswechsellmessungen in Respirationsskammern als Goldstandard konnten allgemein nützliche Beziehungen zwischen dem Archeolgehalt und der Methanemission ermittelt werden. Es besteht noch Forschungsbedarf, um über tierindividuelle Unterschiede die genetische Determination zu bestimmen und langfristig über belastbare Lernstichproben von Kühen mit Methanmessungen genomische Formeln, die populationsweit zur Anwendung kommen können, abzuleiten. Interessant im Sinne neuer Phänotypen könnte die Zusammensetzung der Mikroflora im Pansen sein. In einem Versuch, bei dem Panseninhalte zweier Kühe, die sich hinsichtlich der Mikroflora deutlich unterschieden, ausgetauscht wurden, konnte gezeigt werden, dass sich auch bei gleicher Fütterung und Haltung die ursprünglich vorhandene Mikroflora nach 8 Wochen wieder einstellte (Weimer et al, 2010). In eigenen Versuchen ergab sich ein konsistentes Muster der Zusammensetzung der Mikroflora im Pansen und im Kot, zudem zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Tieren. Die differenzierte Bestimmung der Mikroflora ist mit Next-Generation-Sequenzierung Methoden möglich und dürfte zukünftig eine große Rolle im Bereich des Zusammenspiels von Wirt und Mikroorganismen spielen.

Die energetische Effizienz der tierischen Erzeugung stellt insbesondere bei der Milchvieh- aber auch in der Sauenhaltung einen Forschungsschwerpunkt dar, der immer mehr an Bedeutung gewinnt. Im Zentrum steht das Energiedefizit zu Beginn der Laktation, welches durch eine hohe Milchleistung und im Vergleich dazu zu geringe Futtermittelaufnahme gekennzeichnet ist. Dabei ist eine sehr hohe Variation im Betrag des Energiedefizits zwischen einzelnen Tieren erkennbar und diese sind auch in unterschiedlicher Weise in der Lage, die Defizite zu kompensieren. Generell geht mit dem Energiedefizit eine Beeinträchtigung der Gesundheit und es Fruchtbarkeitsgeschehens einher, wobei festgehalten werden muss, dass die moderat negativen

Korrelationen auch als Hinweis auf hochleistende und robuste Kühe gewertet werden können (Buttchereit et al., 2012). Die direkte Erfassung des Energiedefizits basierend auf Futtermittelaufnahmemessungen ist vom Umfang her begrenzt und es stellt sich die Frage, wie eine populationsweit nützliche Selektionshilfe den Tierhaltern zur Verfügung gestellt werden könnte. Aktuell werden über eine Reihe von Hilfsmerkmalen, insbesondere dem Verhältnis von Milchleistung und Körpergewicht approximative Formeln für die Futtermittelaufnahme geschätzt (Pryce et al, 2015). Die Zielgröße einer Futtereffizienz, die sich auf eine vergleichsweise niedrigere Futtermittelaufnahme gründet, greift dabei etwas kurz. Neben den bekannten Hilfsmerkmalen wie dem ‚body condition score (BCS)‘ und dem Fett/Eiweiß-Verhältnis sind Milchmetaboliten vielversprechend. So konnte mit Hilfe künstlicher neuronaler Netzwerke eine belastbare Beziehung zur Betahydroxybuttersäure und damit zum Risiko, an Ketose zu erkranken, aufgezeigt werden (Ehret et al., 2014). Dabei wurde das Verhältnis von Glucophosphocholin zu Phosphocholin als in hohem Maße indikativ erkannt und könnte als neuer Phänotypen für die Stoffwechselstabilität verwendet werden (Klein et al. 2013). Diese Kenngröße weist eine hohe Erblichkeit auf und ein substanzieller Anteil der genetischen Variation konnte auf nur wenige Genomregionen zurückgeführt werden. Bezüglich des Energiestoffwechsels laktierender Tiere gilt es über die Phase des Defizits hinaus den gesamten Zeitraum inklusive Trockenstehzeit zu betrachten. Untersuchungen der partiellen Energiesalden über die Laktation ergaben interessante Hinweise auf die genetischen Zusammenhänge zwischen dem anabolen und dem katabolen Zustand (Tetens et al., 2014). Für die gesamtheitliche Abbildung des Energiegeschehens und der Stoffwechsellage sind umfassende ‚omics‘-Untersuchungen denkbar, die wegen des hohen Erfassungsaufwands in speziell dafür ausgewählten geeigneten Tierkohorten durchgeführt werden müssen.

Allen innovativen Technologien, die per se über hochfrequente und präzise Messungen das Tier be-

treffend zu neuen Phänotypen führen können, sind gekennzeichnet durch eine fortschreitende Automatisierungen, die ein ungeheuer großes, oftmals unstrukturiertes Datenaufkommen („big data“) zur Folge haben. Ein immer größerer Anteil dieser Daten wird direkt auf den Betrieben im Zusammenhang mit dem Herdenmanagement erhoben. Nicht immer sind die Schnittstellen kompatibel und es gilt eine effiziente Infrastruktur zu erstellen, die eine Zusammenführung der Vielzahl an Informationen sicherstellt. Wesentlich stärker als in der Vergangenheit sind dabei die Eigentumsverhältnisse der Daten zu berücksichtigen. Hier bietet es sich an, einen kontinuierlichen Datenaustausch mit Rückmeldungen in Form von Betriebsübersichten bzw. -vergleichen zu implementieren. Moderne Informationstechnologien auf Basis des Internets oder Anwendungen von „apps“ haben bereits Einzug in die Praxis gehalten und geben dem Landwirt und den Zuchtorganisationen Überblicke in Echtzeit. Die hochdimensionalen Daten erfordern hohe Ansprüche an die Auswertungsmethodik. Die Herausforderung besteht darin, aus den vorliegenden Messergebnissen zuerst verlässliche und wiederholbare Größen zu identifizieren. Als nächster Schritt müssen Beziehungen zu klar definierten Zielmerkmalen, welche das züchterische Interesse widerspiegeln, erstellt werden. In diesem Zusammenhang werden der Bereich der Systembiologie und phänotypische Vorhersagemodelle mit Hilfe von Netzwerkanalysen noch stärker in den Vordergrund treten (Richie et al, 2015). In Zukunft werden hinsichtlich der Gesundheit und Nutzungseffizienzen die Aufklärung der physiologischen Prozesse und die daran beteiligten Endophänotypen eine entscheidende Rolle spielen. Integrale Ansätze zwischen den Disziplinen Tierzucht, Tierernährung und Tierphysiologie sind erforderlich, um die neuen Phänotypen optimal nutzen zu können.

Wichtige aktuelle Ansatzpunkte für neue Phänotypen ergeben sich aus dem Antibiotikaeinsatz und den vermehrt auftretenden Resistenzen. Im Sinne einer „personalisierten“ Medizin könnten durch Kenntnis des Immunstatus und des Resistenzverhaltens eines

Tieres spezifische Applikationen den Wirkstoff und die Dosierung betreffend abgeleitet werden.

In diesem Kontext werden gegenwärtig neben der Robustheit als breit angelegte Veranlagung der Tiere mit unterschiedlichen Umweltbedingungen zurechtzukommen der Resilienz als die Fähigkeit, nach kurzfristigen Störungen wieder einen Gleichgewichtszustand einzunehmen eine steigende Bedeutung beigemessen. Die bereits angesprochene hohe Messintensität sollte genutzt werden, diese beiden Merkmalskomplexe in adäquater Weise zu bearbeiten.

Ein weiterer Schwerpunkt für die Entwicklung neuer Phänotypen ist im weiten Feld der Umweltrelevanz gegeben. Im engeren Sinn werden darunter Wechselwirkungen zwischen Haltungsumwelt und den tierischen Bedürfnissen sowie die damit in Verbindung stehenden Tier*Tier-Interaktionen gesehen. Im weiteren Sinn zählen dazu die bereits angesprochenen Auswirkungen der tierischen Produktion auf die Umwelt als auch die Konsequenzen langfristiger Umweltänderungen auf das Krankheitsgeschehen und das Leistungsvermögen der Tiere (Perry et al., 2013). Bereits jetzt sind temporär hitzebedingte Leistungsdepressionen auch in moderaten Klimaten dokumentiert und es werden die Möglichkeiten einer Zucht auf Hitzetoleranz untersucht (Sherwood und Huber, 2010).

Eine bisher hinsichtlich der Gesundheit und des Wohlbefindens von Tieren weitgehend unerschlossene Quelle neuer Phänotypen sind konsequent erfasste Daten von den Schlachthöfen. In Verbindung mit der Genetik und der Herkunft der Schlachttiere sollte es möglich sein, züchterisch verwertbare Kenngrößen zu entwickeln und zu implementieren.

Etwas spekulativ und auf die nicht unmittelbare Zukunft ausgerichtet sind auch Möglichkeiten ins Auge zu fassen, die als „designed products“ bezeichnet werden könnten. Die Kenntnis der individuellen Genomsequenz im Zusammenspiel mit Algorithmen, welche Eigenschaften von Genprodukten, wie z.B. bioaktive Peptide, vorhersagen, könnte die relative Vorzüglichkeit von Tieren in Zukunft mitbestimmen.

Neue Varianten, die in den Populationen bisher nicht vorhanden sind könnten dann durch das Verfahren des ‚gene editings‘ geschaffen werden.

In der Gesamtsicht lässt sich festhalten, dass die Anforderungen an die Tierzucht stetig zunehmen. Diese umfassen neben der Effizienzsteigerung vermehrt die Wechselbeziehung von Tier und Umwelt auch vor dem Hintergrund der gesellschaftlichen Relevanz. Unter diesen Vorgaben gilt es gesamtheitliche Konzepte zu entwickeln, die langfristig eine wirtschaftliche und anerkannte Tierhaltung gewährleisten. Im Zentrum steht dabei, aus der Informationsflut, welche über die technologischen Fortschritte generiert werden kann, sinnvolle Parameter in Form neuer Phänotypen abzuleiten. Diese sind hinsichtlich ihrer züchterischen Nützlichkeit zu bewerten und adäquat bei der Zuchtzielsetzung zu berücksichtigen.

Literaturverzeichnis

Bell, M.J., S.L. Potterton, J. Craigon, N. Saunders, R.H. Wilcox, M. Hunter, J.R. Goodman und P.C. Garnsworthy, (2014): Variation in enteric methane emissions among cows on commercial dairy farms. *Animal* 8, 1540-1546.

Boichard, D., Brochard, M. (2012): New phenotypes for new breeding goals in dairy cattle. *Animal*. 6(4):544-50.

Buttchereit, N., Stamer, E., Junge, W. Thaller, G. (2012): Genetic parameters for energy balance, fat protein ratio, body condition score and disease traits in German Holstein cows. *J. Anim. Breed. Genet.* 129, 280–288

Chagunda, M.G.G., (2013): Opportunities and challenges in the use of the Laser Methane Detector to monitor enteric methane emissions from ruminants. *Animal* 7, 394-400.

Civelek, M. and Lusi, A.J. (2014): Systems genetics approaches to understand complex traits. *Nature*, 15, 34-48.

De Haas, Y., J.J. Windig, M.P.L. Calus, J. Dijkstra, M. De Haan, A. Bannink und R.F. Veerkamp (2011): Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal of Dairy Science* 94, 6122-6134.

Ehret, A., Hochstuhl, D., Thaller, G. (2014): Extreme Learning Machine: A New Approach for Genomic Prediction of Complex Traits. 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production.

Flint, A. P. F. and Woollians, J. A. (2008): Precision animal breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society. B*, 363, 573-590.

Gill, F.L., R.J. Dewhurst, J.A.J. Dungait, R.P. Evershed, L. Ives, C.-S. Li, R.D. Pancost, M. Sullivan, S. Bera und I.D. Bull, (2010): Archaeol - a biomarker for foregut fermentation in modern and ancient herbivorous mammals? *Organic Geochemistry* 41, 467-472.

Görs, S., B. Kuhla, N. Krattenmacher, G. Thaller, und C. Metges (2016): Analytical refinements of the methane indicator archaeol in bovine feces, rumen fluid and feedstuffs. *Journal of Dairy Science*. In Press.

Hayes, B.J., H.A. Lewin und M.E. Goddard (2013): The future of livestock breeding: genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. *Trends in genetics* 29, 206–214.

Johnson, K.A., M. Huyler, H. Westberg, B. Lamb und P. Zimmerman, (1994): Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. *Environmental Science and Technology* 28, 359-362.

Klein, M., Almstetter, M.F., Nürnberger, N., Sigl, G., Gronwald, W., Wiedemann, S., Dettmer, K., Oefner, P.J. (2013): Correlations between Milk and Plasma Levels of Amino and Carboxylic Acids in Dairy Cows, *Journal of proteome research*, 12:11, 5223-32

Merks, J. W. M., Mathur, P. K. and E. F. Knol (2012): New phenotypes for new breeding goals in pigs. *Animal*. 6(4);, pp. 535-543.

Perry, B.D., Grace, D. and Sones, K. (2013): Current drivers and future directions of global livestock disease dynamics. *PNAS*, Vol. 110, No. 52, 20871-20877.

Pryce, J.E., Gonzales-Recio, O., Nieuwhof, G., Wales, W.J., Coffey, M.P., Hayes, B.J. und Goddard, M.E. (2015): Hot topic: Definition and implementation of a breeding value for feed efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 98(10):7340-50.

Ritchie, M.D., E.R. Holzinger, R. Li, S.A. Pendergrass und D. Kim (2015): Methods of integrating data to uncover genotype-phenotype interactions. *Nature Reviews - Genetics*, Vol. 16, 85-97.

Schwerin, M., B. Bongartz, H. Cramer, B. Eurich-Menden, G. Flachowsky, M. Gauly, A. Heißenhuber, D. Höppner, J. Ingwersen, O. Marquart, A. Menzel, B. Osterburg, F. Taube und G. Wittkowski (2012): Der Klimawandel und die Herausforderungen für die Nutztierhaltung von morgen in Deutschland Positionspapier der DGfZ-Projektgruppe Klimarelevanz in der Nutztierhaltung. *Züchtungskunde* 84, 103-128.

Sherwood, S.C. und M. Huber (2010): An adaptability limit to climate change due to heat stress. *PNAS*, Vol. 107, No. 21, 9552-9555.

Soyeurt, H., Dehareng, Gengler, N., McParland, S., Wall, E., Berry, D. Coffey, M. und Dardenne, P. (2011): Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. *Journal of Dairy Science*, 94, 1657-1667.

Tetens, J., Thaller, G., Krattenmacher, N. (2014): Genetic and genomic dissection of dry matter intake at different lactation stages in primiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 520-31.

Weimer, P.J., D.M. Stevenson, H.C. Mantovani und S.L.C. Man (2010): Host specificity of the ruminal bacterial community in the dairy cow following near-total exchange of ruminal contents. *Journal of Dairy Science* 93, 10.

Diskussion



KALM, KIEL

Herr Thaller hat darauf hingewiesen, Effizienz ist wichtig. Jetzt habe ich ihre Struktur der Phänotypisierung gehört und habe ein bisschen das Merkmal Effizienz vermisst. Z. B.: Die einen sagen, für Weizen brauchen wir 250 kg N, und der Nachbar sagt maximal reichen 160 kg N. Gibt es ein Effizienzmaß, mit welchem die Pflanzen zukünftig mit 160 kg N auskommen und auch die Proteinqualität schaffen, was der Markt heute fordert. Laufen in der Richtung Phänotypisierungen Futterraufnahme-Versuche oder Nährstoffaufnahme-Versuche, dass sie mit dem Stickstoff auskommen oder die Sorten werden gezüchtet, die das umsetzen, wie das Herr Thaller z. B. bei Futterraufnahme für die Milchkühe sagte?

ANTWORT

Die Stickstoffeffizienz bei Pflanzen muss man ja wieder unterteilen in verschiedene Teile. Der eine Teil ist Stickstoffaufnahme aus dem Boden. Da geht es um Wurzeln. Ich habe kurz angedeutet, was wir mit der Wurzel machen. Da gibt es jede Menge Sachen, die an der Stelle laufen. Da gibt es auch Dinge, da haben wir an der Stelle zusätzliche Probleme. Die Wurzel hat ja das Problem, dass sie mehrere Nährstoffe aus dem gleichen Volumen aufnehmen muss. Wie macht sie das? Das muss man dort bearbeiten, als Phosphat versus Nitrat, unterschiedliche Verlagerung im Boden usw. Also solche Dinge laufen. Man muss an der Stelle wieder zurückkommen auf das Anfangsstatement. Die Phänotypisierung ist dazu ein Teil. Es ist nicht die

Lösung. Die Phänotypisierung ist ein Tool. Wir bringen uns dort ein, aber wir sind nicht gleichzeitig diejenigen, die die ganzen Genotypen dazu ziehen, nicht gleichzeitig die Agronomie dazu machen. Wir bringen unseren Teil dazu in die gesamte Struktur mit ein.

LIND, BONN

Schorsch, Du hast uns gezeigt, dass wir viele Merkmale vor uns haben. Zwei Fragen dazu: 1. Wie siehst du das aus Sicht der Wissenschaft? Wie motivieren wir die Landwirte, die Daten zu erheben? 2. Hast du keine Angst davor, dass wir in die Falle tappen, auf der einen Seite Daten zu erheben, die dem Management der Landwirte nutzen und uns aber aus züchterischer Sicht nicht weiter bringen?

ANTWORT

Zu 2.: Wenn die Landwirte Daten erheben, die für ihr Management gut sind, warum sollen sie es nicht machen. Wenn wir es für die Zucht nicht brauchen, dann braucht man es beim Landwirt nicht abholen.

Zu 1.: Letztendlich ist das die entscheidende Frage, dass wir die Landwirte motivieren, dass viele Datenerhebungen, Herdenmanagementprogramme, Milchleistungen in Robotern, Fettgehalte etc. werden auf den Betrieben erhoben. Und wo wir ihnen helfen können ist, dass wir zeitig Rückmeldungen geben, dass wir sie einordnen, was bei dem Gesundheitsmonitoring in Österreich sehr gut läuft, dass sie Rückmeldungen bekommen, dass sie sich einordnen können. Wie stehe ich regional da? Wie stehe rela-

tiv zu meinen Kollegen da? Wie stehe ich relativ zu meinem Betriebsniveau da? Ich brauche unbedingt ein Feedback an die Landwirte. Dann sind sie auch bereit, die Daten zur Verfügung zu stellen. Die Daten dürfen nicht zur Verfügung stehen, die Daten müssen abgeholt werden. Da müssen saubere Schnittstellen definiert werden und die ganze Datenintegration. Das ist dann Aufgabe desjenigen, der die Daten nutzt. Das ist in dem Fall die Zucht.

WINDISCH, FREISING

Ich möchte nochmal die Frage von Herrn Kalm aufgreifen, das Thema Effizienzen. Wir haben gesehen, dass wir hier sehr komplizierte Merkmale erfassen können, aber so ganz einfache Merkmale, ganz primitive Merkmale, wie z. B.: Wieviel frisst eine Kuh an Grundfutter? Welche Biomasse steht da auf dem Hektar? Welche Menge ist das? Z. B. Futterbau: Da geht es um den Faktor drei rauf und runter. Wir wissen das gar nicht. Wieviel geht in das Silo rein.

ANTWORT

Die Erfassung Biomasse pro Hektar, Biomasse pro qm, kann man heute vom Satelliten aus machen, vom Überfliegen aus machen. Das ist überhaupt kein Problem.

WINDISCH, FREISING

Können sie das so gut machen, dass man auch die Düngung darauf einstellen kann, also auf und zu?

ANTWORT

Da sind wir jetzt wieder auf dem Schritt Richtung Precision Farming. Natürlich kann man viele von den Sensoren, wenn sie Daten liefern, auch einbauen. Da muss man dann wieder mit der anderen Seite, sprich mit der Landmaschinenindustrie, z.B. mit Claas reden, das geht. Da haben wir auch Kontakte hin. Wir haben uns zurzeit von dem, was wir gemacht haben, zunächst einmal auf das Züchtungsthema konzentriert, aber natürlich kann man vieles davon auch in anderen Bereichen einsetzen. Jeder von uns trägt Hightech in der Tasche rum, was vor

fünf Jahren auf dem Desktop nicht möglich gewesen wäre. Wenn man sich anschaut, was da gerade für eine Welle auf uns zukommt, an Sensoren, die man an Handys anschließt, das ist absolut enorm. Wir haben neulich eine Studie gemacht, mal verglichen. Es gibt für Android und Iphone eine gleiche Baustelle. Da gibt es aufklebbare Infrarotsysteme, die Imaging machen können. Die machen exakt das gleiche, wie eine 12.000,00-Euro-Infrarotkamera. So eine 250,00-Euro-Kamera kann man sich leisten. Das ist kein Problem mehr. Da kommt ganz viel an der Stelle.

ANTWORT

Ein Kommentar aus Sicht der Tierzucht zur Futteraufnahme. Die Grundfutteraufnahme müsste gemessen werden. Das ist verdammt teuer, und es gibt nur wenige Einrichtungen die über derartige technische Einrichtungen verfügen. Herrn Spiekers sollten wir dankbar sein, dass es ihm gelungen ist im Rahmen von Opti-Kuh die Betriebe zusammen zu holen. Das ist sehr gut, aber reicht nicht aus. Wir vom Institut sind in einem europäischen Konsortium dabei „Global dry matter intake“. Die Sache ist extrem wichtig für die Zukunft. Und wenn wir uns nicht sputen, das kann ich nur aus eigener Erfahrung sagen, wir haben schon die Zoetis-Geschichte gehört, und dass Sexing-Technology, die haben Finanzmittel aus dem Sexing, die denken schon weiter. Die sind dabei, für 4.000 Färsen Futteraufnahme zu installieren in Ohio. Eine Farm, 15 Ställe, 500 Tiere drin, und dort wird Futteraufnahme exakt erhoben. Wenn wir uns nicht sputen, dann kriegen wir diese Futteraufnahmezuchtwerte geliefert andere aber für US-Genetik.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Eine unvermeidbare Frage: Ich bringe meinen Studenten immer bei und alle anderen Kollegen auch, dass wir eigentlich bei den Zuchtzielen sinnvoller Weise nicht viel mehr als vier oder fünf Merkmale bearbeiten können. Jetzt schmeißt ihr uns zu mit 1.000 neuen Merkmalen. Was machen wir damit, wenn wir

die alle züchterisch verfolgen wollen? Welche schmeißen wir dann aus dem Zuchtziel raus?

In der Tierzucht ahne ich die Antwort. Mich würde es auch in der Pflanzenzucht interessieren, wie da die Problematik ist.

ANTWORT

Du hast das schon geahnt. Der derzeitige Zuchtwert besteht aus 47 Einzelmerkmalen und mindestens die Hälfte kann man wirklich rausschmeißen, weil, auf Schönheit züchten. Das hilft uns derzeit nicht weiter. Solange diese Extremmerkmale als Höchstmerkmale für Gesundheit, Fruchtbarkeit und Nutzungsdauer benötigt werden. Dann sind es Hilfsmerkmale für die Zielmerkmale, aber das Zielmerkmal ist mit zu berücksichtigen. Das sage ich auch den Studenten.

ANTWORT

Ein anderer Punkt, der bei der Pflanzenseite auch mit reinkommt. Wir haben natürlich eine Vielzahl von großen, von vielen Arten. Wir haben selbstverständlich bei uns auch Züchter, die Zierpflanzen züchten. Da hätte das Thema Schönheit schon etwas. Da geht es z. B. darum, schön zu sein, während man Trockenstress hat. Das ist wirklich ein Züchtungsziel, was die Zierpflanzenzüchter heute haben, weil der Vertrieb nicht mehr über den Gärtner läuft, sondern über den Baumarkt. Dort muss man schön sein, wenn man Trockenstress hat. Solche Dinge kommen da rein.

ADAM, MÜNSTER

Ich habe den Eindruck, die Tierzüchter sind heute ein bisschen Rinder-lastig hier. Deshalb möchte ich meine Frage zum Bereich der Schweinehaltung stellen. Die neuen Phänotypen sind ja bei den Tierarten, Herr Thaller, die sie beschrieben haben, aufgrund der individuellen Tierkennzeichnung vergleichsweise einfach zu erfassen. Wenn wir über neue Merkmale in der Schweinezucht reden, ist das Problem um ein vielfaches größer, weil die Landwirte, wenn sie ihnen irgendwelche Informationen von ihren Tieren liefern, dann kriegen sie immer Buchtenmerkmale über alle Tiere, kennen die Abstammung nicht. Die haben

zwar eine Ohrmarke BHZP, PIC oder was, aber mit Phänotyp und Genotypisierung kommen sie nicht viel weiter. Deshalb meine provokatorische Frage auch in Richtung Leistungsniveau. Wir betreiben selber eine stationäre Leistungsprüfung und die Herren unter uns, die vielleicht so etwas ähnliches machen in ihren Einrichtungen, mögen mir verzeihen, aber wir betreiben dort Merkmalerfassung, und zwar mit modernen Methoden, aber eigentlich machen wir Steinzeit. Wir messen Fleischanteil, Rückenspeck, Schinkenanteil, Fleischbeschaffenheit, aber von neuen Merkmalen keine Spur. Und ich habe das Gefühl, diejenigen, die für die Zucht in der Schweinezucht die Verantwortung tragen, das sind ja nach neuem Tierzuchtgesetz die Verbände. Wir sind eigentlich nur die Dienstleister und wir machen einfach so weiter, weil der Auftraggeber nicht aus den Puschen kommt.

ANTWORT

Ich bitte um Nachsicht. Ich habe extra Zuchtziele vom Schwein verwendet. Möchte mich auch ziemlich aufs Rind versteifen. In meiner Entwicklung habe ich mich vorwiegend mit dem Rind beschäftigt. Was wir häufig erleben, ist, dass dieses Vorausdenken nicht in dem erforderlichen Umfang erfolgt und was wir dann sehen, wenn andere Länder, andere Zuchtorganisationen dann auf den Markt kommen, dann ist so ein gewisses Gejammer. Du hattest es schon angesprochen. Herr Bennewitz mit den Gesundheitsdaten, da waren wir immer so stolz. Deutschland hat die besten Gesundheitsdaten. Das war letztlich sehr schön auf dem VIT-Ausschuss zu sehen. 96 haben wir den letzten Zuchtwert für Gesundheitsmerkmale, Nutzungsdauer dahin geführt. Seitdem reden wir von Gesundheitsdaten, von der Erfassung, haben singuläre Lösungen, aber wir haben nichts auf den Markt gebracht. Dann kommt Zoetis. Die können natürlich nicht nur die Daten sich einkaufen, weiß ich nicht, aber die können es gut vermarkten und sprechen von einem Animal Welfare Index, nehmen den normalen Index auf 70 % zurück und drücken 30 % rein und da war großes Gejammer. Da kann ich sie nur unterstützen. Letztendlich ist die Zucht verantwortlich dafür.

Da sollte eine gewisse Weitsicht sein und die ist mit Kosten verbunden, das wissen wir.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Gejammer gibt es ja immer. Das gab es auch bei der Nutztierhaltung bei Umstellung der Blutgruppen und Abstammungsanalyse in die Mikrosatellitenanalyse etc., aber heute ist sie unumstritten. Meine Frage geht in etwa die gleiche Richtung wie die letzte Frage. Das ist ihre Philosophie, Prof. Fries seine Philosophie für die Zukunft, vor allem der Big Data, die er vorgestellt hat. Sie gehen auch beide in diese Richtung. Werden als Hilfsmerkmale, um die begrenzten Zielmerkmale exakter zu schätzen, die Big Data, die mit einfachen Methoden zu erfassen oder wird man auch nicht gezwungen sein, neue Phänotypen, tiefere Phänotypen zu generieren, von denen heute noch überhaupt keiner eine Ahnung hat und wo man sich dagegen wehren wird, weil sie erst einmal nicht mit dem Betrag direkt in Zusammenhang stehen. Es ist doch auch der Weg möglich, ungenaue oder gering heritable Merkmale statt mit vielen Tiere zu schätzen, zu ersetzen, durch höher heritable Merkmale, die man in kleinen Populationen oder Gruppen bestückt.

ANTWORT

Ich habe es gerade versucht, mit den Begriffsdefinitionen. Für mich sind die wirklichen Big Data Messungen. Das müssen wir dann mit unseren Zielmerkmalen in irgendeiner Weise kalibrieren, Körpergröße, Milch sind nicht Futteraufnahme, sondern wir müssen die Futteraufnahme messen und allein für dieses Kalibrieren brauchen wir dann die unmittelbaren nützlichen Zielmerkmale. Dann kann man das ganze entsprechend kombinieren. Auf der anderen Seite ist es Kosten- Nutzenabwägung, wenn man einigermaßen eine Kalibrierung hinbekommen hat. Dann kann man natürlich in der Masse mit den Sensoren messen. Das sollte eine Strategie sein.

ANTWORT

Ich sage: Es gibt kein entweder, oder. Ich habe dieses Bild gehabt von Design, von der Pflanze. Da brau-

che ich natürlich die Teilmerkmale. Ich habe auch zwischendurch gezeigt, natürlich setze ich nicht den hochdurchsätzigen Kernspinn rein. Ich gehe von dort aus dann zu höheren Zahlen, wenn es notwendig ist. Ich glaube, das Big-Data-Thema, es ging eher um das Thema unbased oder hypothesengetrieben. Das ist wohl der Unterschied. Und auch da würde ich sagen, nicht entweder, oder. Beides hat seine Berechtigung. Wenn man unbased rangehen kann, brauche ich große Datenmengen, die ich unbased erfassen kann. Von der Phänotypisierungsseite, von der Technologiseite her muss ich beides tun, weil beides seine Berechtigung hat an unterschiedlichen Stellen.

SWALVE, HALLE-WITTENBERG

Das ist keine Frage. Ich möchte einen Kommentar machen, und zwar zu dem Thema, ob wir hier viel zu viele Merkmale haben. Das ist so ein bisschen pauschal, was die Rinder angeht. Nach meiner Zählung sind es übrigens 54 Einzelzuchtwerte. Wenn man sich die mal genau anguckt, viele sind auseinander verrechnet, wenn man das auf die tatsächlich einzelnen runterbricht, sind es viel weniger. Bei den Exterieurmerkmalen würde ich Georg Recht gebe. Die Hälfte sofort einstampfen. Die andere Hälfte ist als Hilfsmerkmal für die Nutzungsdauer sehr gut tauglich, aber ich möchte ein Beispiel geben: Für Fruchtbarkeit haben wir in Deutschland 5 oder 6 Einzelmerkmale für die weibliche Fruchtbarkeit. Andere Länder haben das nicht. Warum haben wir das? Weil wir präzisere Daten haben, z. B. Besamungsdaten. Wir können unterscheiden zwischen rastzeitorientierten Merkmalen und dem eigentlichen Akt der Besamung. Die Amerikaner haben nur Zwischenkalbezeit und die haben nur ein Merkmal. Ich bin jetzt im Zeitalter der Molekulargenetik sehr froh, dass wir so viele und so präzise Merkmale haben und damit kann man nämlich etwas anfangen. Man sollte nicht einfach so das Kind mit dem Bade ausschütten. Zu Herrn Adam: Sie sagten, wir haben nicht einmal Pedigrees für unsere Schweine. Glücklicherweise sind wir jetzt im Zeitalter der genomischen Selektion. Wir brauchen keine Pedigrees mehr. Wir können nämlich

genomische Verwandtschaftsmatrizen aufstellen und Pedigrees sind vollständig überflüssig. Das Problem, was wir beim Schwein haben, ist aber eher, dass wir es da mit Hybridmaterial zu tun haben. Das erfordert dann wieder spezielle Ansätze. Grundsätzlich brauchen wir in der Tierzucht keine Pedigrees mehr.

Die Bedeutung der Epigenetik in der Pflanzen- und Tierzucht



Der Entwicklungsbiologe Conrad Hal Waddington prägte den Begriff 'Epigenetik' für kausale Wechselwirkungen zwischen Genen und nicht-genetischen Faktoren, einschließlich Umweltfaktoren, die die Entstehung des Phänotyps aus dem Genotyp erklären. Der Begriff 'Epigenetik' in weitesten Sinn beschreibt die Vorgänge, die dazu beitragen, dass sich während der Entwicklung im Organismus verschiedenartige, hochspezialisierte Zellen differenzieren, obwohl sie alle die gleiche Erbinformation tragen. Epigenetik im engeren, molekularbiologischen Sinne bezieht sich auf Mechanismen, die Veränderung der Genaktivität verursachen, die nicht auf Variation von Nukleotidsequenzen basieren, sondern auf Modifikationen von DNA und Chromatin, wie DNA-Methylierung und Histon-Acetylierung und -Methylierung. Histon-Modifikationen beeinflussen die Genexpression durch den Grad der Chromatin-Verdichtung, während Methylierung von DNA am Cytosin, die Zugänglichkeit von regulatorischen Sequenzen für Transkriptionsfaktoren oder Bindungsproteine beeinflusst. Das Epigenom stellt in der Genotyp-Phänotyp-Abbildung eine Ebene da, die zwischen Umwelt und Genotyp vermittelt und zur phänotypischen Variation beiträgt.

Epigenetische Prozesse, dies schließt die Regulation durch nicht-kodierende RNAs ein, spielen z.B. bei Differenzierungs- und Reifungsprozessen, Embryogenom-Aktivierung, X-Chromosom-Inaktivierung und bei genomischer Prägung eine Rolle. Epigenetische Modifikationen tragen zur Geninaktivierung,

gewebsspezifischen Expression und akuten Regulation der Expression bei. So wird z.B. die Expression des S1-Kasein-Gens beim laktierenden Rind wenige Stunden nach einer Infektion mit *E.coli* herunterreguliert. Dies ist zurückzuführen auf die Remethylierung einer Stat5-Bindungsstelle im regulativen Abschnitt des Gens (Vanselow et al., 2006). Im Pflanzenreich bietet der Vorgang der Vernalisation, die Induktion der Blütenbildung, ein Beispiel für transiente Regulation der Expression. Z.B. bei *Arabidopsis thaliana* (Acker-Schmalwand) führt erst eine längere Kälteperiode zur epigenetischen Modifikationen mit Reduktion der Expression des FLC-Gens und damit zur Blütenbildung. Diese epigenetische Information geht bei der Bildung der Gameten verloren, so dass bei der nachfolgenden Generation die Blütenbildung erneut erst durch mit einer Kälteperiode einhergehende epigenetische Modifikationen induziert wird. D.h. zwischen den Generationen findet eine Reprogrammierung statt. Bei Pflanzen erfolgt keine frühe separate Keimbahnentwicklung, sondern die Keimzellen gehen aus somatischen Zellen hervor. Es gibt somit ein großes Fenster für die Entstehung und anschließende transgenerationale Weitergabe umwelt-induzierter epigenetischer Modifikationen. Tatsächlich haben Experimente von Kou et al. (2011) sowie Feng et al. (2012) gezeigt, dass die durch Stickstoffmangel- bzw. Alkali- und Salz-Stress bedingten epigenetischen Modifikationen, die Anpassung an die Umweltbedingungen bewirken, über mehrere Generationen transgenerational vererbt werden. Beim

Tier erfolgt eine epigenetische Reprogrammierung unmittelbar nach der Befruchtung und bei der Entwicklung der primordialen Keimzellen während der Embryogenese. Nach der Befruchtung gehen in der Zygote zunächst die väterlichen und mütterlichen epigenetischen Markierungen verloren. Einige spezifische Gene sowie mütterlich oder väterlich geprägte Gene und dauerhaft reprimierte repetitive Sequenzen und Transposons sind davon ausgenommen. In der anschließenden embryonalen Entwicklung findet eine de-novo DNA-Methylierung statt, die für die somatischen Zellen während mitotischer Teilungen aufrechterhalten wird. In der Keimbahn findet schon während der Embryogenese eine weitere Demethylierung der männlichen oder weiblichen Keimzellen statt sowie deren de-novo Methylierung, bei der u.a. die Signale für maternale und paternale Prägung von Genen entstehen. Obwohl das DNA-Methylierungsmuster in zwei Wellen während der embryonalen Entwicklung reprogrammiert wird, gibt es Evidenz für die transgenerationale epigenetische Vererbung. So unterscheiden sich die Methylome der kaukasischen, asiatischen und afrikanischen Probanden im Human Variation Panel in mehr als 400 populations-spezifischen DNA-Methylierungsstellen (Heyn et al., 2013). Auch Jungle Fowl und moderne Legehennen unterscheiden sich durch populations-spezifische Vererbungsmuster, die stabil vererbt werden (Nätt et al., 2012). Die Agouti-Färbung bei der Maus ist assoziiert mit der Methylierung eines Retroposons und wird maternal vererbt (Daxinger and Whitelaw, 2012). Das Fungizid Vinclozolin bedingt nach Injektion bei trächtigen Ratten Störungen der Spermatogenese bei den männlichen Nachkommen. Über mindestens 2 Generationen werden diese Störungen paternal weitergegeben, wobei keine Mutationen aber Änderungen des DNA-Methylierungsmusters gezeigt wurden (Anway et al., 2005). Schließlich wurde erst kürzlich gezeigt, dass männliche Ratten Geruchserfahrungen an ihre Nachkommen vererben (Dias and Ressler, 2014). Bei Pflanzen sind die durch Methylierung des LCYC Gens bedingte Änderung der Blütensymmetrie bei *Linaria vulgaris* (Echtes Leinkraut) und der auf

Methylierung des FWA-Gens bei *Arabidopsis* beruhende verspätete Blühzeitpunkt prominente Beispiele für über viele Generationen vererbte epigenetische Modifikationen (Epiallele).

Genomische Prägung, Imprinting, bedingt die Expression und Merkmalsausprägung in Abhängigkeit von der elterlichen Herkunft der Allele; entsprechende Genomregionen mit Imprinting-QTL sind bei verschiedenen Spezies identifiziert worden und können beim Nutztier in Zuchtprogrammen genutzt werden. Bei Mensch und Maus sind jeweils über 100 Imprinting-Gene bekannt, von denen ca. 40 beidseitig gemeinsam sind. Bei den Nutztieren Rind, Schwein und Schaf sind jeweils rund 20-30 Imprinting-Gene bekannt (O'Doherty et al., 2015). Ein auch züchterisch genutztes Beispiel ist das IGF2-Gen, das väterlich exprimiert wird. Da darüber hinaus zwei Allele des Gens beim Schwein mit großem Effekt auf Wachstumsmerkmale bekannt sind, besteht die Möglichkeit, väterliche Linien mit dem Allel für hohen Magerfleischanteil zu züchten. Während die mütterliche Linie das Allel für höheren Fettanteil, einhergehend mit verbesserter Fruchtbarkeit, trägt (van Laere et al., 2003). Das Kreuzungsprodukt dieser Linien exprimiert ausschließlich das väterliche Allel für hohen Muskelansatz und liefert so das gewünschte Produkt.

In den letzten Jahren haben vergleichende Sequenzierungen ganzer Genome verschiedener Populationen Spuren unterschiedlicher Entwicklungs-, Domestikations- und Selektionsgeschichte in Genomregionen angezeigt, die mit der Ausprägung von Merkmalen, die natürlicher oder künstlicher Selektion unterlagen, assoziiert sind. Neben Veränderungen der DNA-Sequenz tragen dabei epigenetische Modifikationen zur phänotypischen Variation bei. Variable DNA-Methylierung entsteht als Reaktion auf exogene Faktoren oder zufällig und kann zur Etablierung von meiotisch übertragbaren epigenetischen Allelen (Epiallelen; Single-Methylierungs-Polymorphismus, SMP) führen, die mit einer höheren Rate als Einzel-Nukleotid-Polymorphismen (SNPs) entstehen. Desaminierung

von Methyl-Cytosin führt zur Änderung von Cytosin nach Thymin in der DNA-Sequenz; ein SMP wird ein SNP. Dementsprechend gelten epigenetische Mechanismen als Vermittler zwischen Umwelt und Genotyp und als wichtige Faktoren und Quellen der Vielfalt in natürlichen und selektierten Populationen. Der Beitrag des Epigenoms zur Biodiversität hat bedeutende Implikationen für die Nutztierhaltung. Tatsächlich erklären epigenetische Veränderungen teilweise die allein auf DNA-Sequenz-Variation nicht zu erklärende Erbllichkeit von komplexen Merkmalen („missing heritability“). Dabei ist aber zu berücksichtigen, dass Epiallele, die stabil vererbt werden, wahrscheinlich im Kopplungsungleichgewicht mit SNPs sind und daher in Assoziationsanalysen äquivalent zu SNPs erfasst werden und keine zusätzliche Information liefern. Epiallele können aber ursächlich für phänotypische Ausprägung sein und bleiben unerkannt, wenn ausschließlich DNA-Sequenz-Variation analysiert wird (Goddard and Whitelaw, 2014; Slatkin, 2009). Ferner kann die Aufdeckung und Berücksichtigung von Einflüssen von natürlich vorhandenen oder durch Interventionen hervorgerufenen epigenetischen Varianten auf interessierende Merkmale in Modellen die Abschätzung des Vererbungsvermögens in der Tier- und Pflanzenzucht verbessern.

Epigenetische Modifikationen, provoziert durch Umweltfaktoren (z.B. Ernährung, Stress, Krankheit), bilden ein molekulares Gedächtnis, das eine Programmierung von Signal- und Stoffwechselwegen für bestimmte Bedingungen darstellt und eine Anpassung an Umweltfaktoren ermöglicht. Die Entstehung von transienten und permanenten epigenetischen Markierungen aufgrund variabler Nährstoffversorgung, auch während der in-utero Entwicklung, wurden in epidemiologischen Studien beim Mensch und experimentell bei Nager- und Nutztiermodellen gezeigt. Da maternale Gestationsdiäten potentiell direkt auf die somatischen und Keimbahnzellen der Embryonen wirken, kann von transgenerationaler Vererbung epigenetischer Modifikationen erst in der dritten Generation nach dem Muttertier gesprochen werden.

Eine Vielzahl von verschiedenen Diäten, die zu unterschiedlichen Zeitabschnitten während der Trächtigkeit in Versuchen zur fötalen Programmierung eingesetzt wurden, machen Vergleiche und die Erkennung von regelhaften Prozessen schwierig. In eigenen Untersuchungen mit nicht bedarfsgerechten maternalen Protein-diäten wurde eine 'Programmierung' des Genoms der Nachkommenschaft in Abhängigkeit von Diät, Gewebe (Leber und Muskel) und ontogenetischem Stadium gezeigt. Die Diät-abhängigen transkriptionellen Regulationen in den Nachkommen umfassten Änderungen des Lipidmetabolismus, der Zellzyklusregulation, des Energiemetabolismus, des organischen und zellulären Wachstums sowie des Glukokortikoidrezeptor Signalweges (Oster et al., 2011, 2012a,b,c). Interessanterweise waren DNA-Methylasen differentiell exprimiert. Ferner korrelierten Transkriptabundanz und DNA-Methylierungsgrad für eine Reihe metabolisch wichtiger Gene wie PPAR, NR3C1, NCAPG u.a. (Altmann et al., 2012a,b,c, 2013). Es wurden keine Gene gefunden, die in allen untersuchten ontogenetischen Stadien eine differentielle Auslenkung zwischen den Diätgruppen aufwiesen. Insbesondere konnte auch kein molekularer Pfad identifiziert werden, der bei unterschiedlichen Diäten und Geweben konsistent ausgenkt ist (Oster et al., 2014). Die Gatekeeper-Hypothese besagt, dass eine begrenzte Anzahl von Genen/Stoffwechselwegen verantwortlich für die ernährungsabhängige Modulation des Transkriptom (McMullen et al., 2012, Swali et al., 2011). In einem weiteren Experiment wurden Eber als auch trüchtige Sauen mit einer Methyl-donor-angereicherten Diät gefüttert. Die F2 Nachkommen der Eber wiesen gegenüber den Kontrollen Unterschiede im Fettansatz und der Expression von Genen im Fett- und Energiestoffwechsel auf. Ferner sind signifikante Unterschiede in der DNA-Methylierung des Gens IYD der erste Hinweis auf transgenerationale Vererbung von diät-induzierten epigenetischen Modifikationen beim Nutztier (Braunschweig et al., 2012). Die Nachkommen der experimentell gefütterten Sauen wiesen ebenfalls differentiell exprimierte Gene in Fett- und Energiestoffwechselwegen auf sowie im

Methionin-Stoffwechsel einschließlich der DNA-Methylasen (Oster et al., 2015). Dies ging eher mit Unterschieden in der DNA-Methylierung. Dabei waren DNA-Methylierung und die Expression einer Reihe von Genen negativ korreliert. Die differentielle DNA-Methylierung trat in den regulativen Abschnitten der Gene bevorzugt an konservierten Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren auf. Ferner zeigten sich Unterschiede zwischen den untersuchten Rassen Pietrain und Deutsche Landrasse, hinsichtlich des Einflusses der Diäten auf die DNA-Methylierung. Letzteres weist auf einen Zusammenhang zwischen Genotyp und Epigenom hin (Trakooljul et al., 2015). Dies zeigen auch Untersuchungen bei ein- und mehreiigen Zwillingen des Menschen, bei denen die Assoziation eines SNPs mit dem DNA-Methylierungsgrad den Zusammenhang zwischen genetischer und epigenetischer Variation belegen (Coolen et al., 2011).

Zusammenfassung

Epigenetische Mechanismen gelten als Vermittler zwischen Umwelt und Genotyp und sind wichtige Faktoren in der Evolution und als Quelle der Vielfalt in natürlichen und selektierten Populationen. Darüber hinaus könnten epigenetische Modifikationen zum Selektionserfolg als ein Anpassungsmechanismus beigetragen haben, der die Reaktion auf exogene Stressoren auf der Ebene des Genoms und Transkriptoms vermittelt; Epiallele könnten sogar zur Entstehung neuer Allele geführt haben. Die Kenntnis der molekularen Regeln für die Entstehung und Aufrechterhaltung epigenetischer Modifikationen tragen zur Verbesserung der Vorhersage des Phänotyps bei und bietet die Perspektive epigenetische Modifikationen zur Anpassung an unterschiedliche Umwelt- und Haltungsbedingungen in der Tier- und Pflanzenzucht gezielt einsetzen zu können. Die Aufdeckung und Berücksichtigung von Einflüssen von natürlich vorhandenen oder durch Interventionen hervorgerufenen epigenetischen Varianten auf interessierende Merkmale in neuen Modellen kann die Abschätzung des Vererbungsvermögens in der Tier- und Pflanzenzucht verbessern.

Literaturverzeichnis:

- Altmann S, Murani E, Metges CC, Schwerin M, Wimmers K, Ponsuksili S. (2012a): Effect of gestational protein deficiency and excess on hepatic expression of genes related to cell cycle and proliferation in offspring from late gestation to finishing phase in pig. *Molecular Biology Reports* 39(6):7095-104.
- Altmann S, Murani E, Schwerin M, Metges C C, Wimmers K, Ponsuksili S (2012b): Somatic cytochrome c (CYCS) gene expression and promoter-specific DNA methylation in a porcine model of prenatal exposure to maternal dietary protein excess and restriction. *British Journal of Nutrition* 107(6):791-9.
- Altmann S, Murani E, Schwerin M, Metges CC, Wimmers K, Ponsuksili S. (2012c): Maternal dietary protein restriction and excess affects offspring gene expression and methylation of non-smc subunits of condensin i in liver and skeletal muscle. *Epigenetics* 7(3):239-52.
- Altmann S, Murani E, Schwerin M, Metges CC, Wimmers K, Ponsuksili S. (2013): Dietary protein restriction and excess of pregnant German Landrace sows induce changes in hepatic gene expression and promoter methylation of key metabolic genes in the offspring. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24(2):484-95.
- Anway MD, Rekow SS, Skinner MK. (2008): Transgenerational epigenetic programming of the embryonic testis transcriptome. *Genomics* 91(1):30-40.
- Braunschweig M, Jagannathan V, Gutzwiller A, Bee G. (2012): Investigations on transgenerational epigenetic response down the male line in F2 pigs. *PLoS One* 7(2):e30583.
- Coolen MW, Statham AL, Qu W, Campbell MJ, Henders AK, Montgomery GW, Martin NG, Clark SJ. (2011): Impact of the genome on the epigenome is manifested in DNA methylation patterns of imprinted regions in monozygotic and dizygotic twins. *PLoS One* 6(10):e25590.
- Daxinger, L., and Whitelaw, E. (2012): Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nature Review Genetics* 13, 153–62.
- Dias BG, Ressler KJ. (2014): Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nature Neuroscience* 17(1): 89-96.
- Feng QZ, Yang CW, Lin XY. (2012): Salt and alkaline stress induced transgenerational alteration in DNA methylation of rice (*Oryza sativa*). *Australian Journal of Crop Science* 6:877–83.
- Goddard ME, Whitelaw E. (2014): The use of epigenetic phenomena for the improvement of sheep and cattle. *Frontiers in Genetics* 21(5):247.
- Heyn H, Moran S, Hernando-Herraez I, Sayols S, Gomez A, Sandoval J, Monk D, Hata K, Marques-Bonet T, Wang L, Esteller M (2013) DNA methylation contributes to natural human variation. *Genome Research* 23(9):1363-72.
- Kou HP, Li Y, Song XX, Ou XF, Xing SC, Ma J, Von Wettstein D, Liu B. Heritable alteration in DNA methylation induced by nitrogen-deficiency stress accompanies enhanced tolerance by progenies to the stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Physiology* 168(14):1685–93.
- McMullen S, Langley-Evans S, Gambling L, Lang C, Swali A, McArdle H. (2012): A common cause for a common phenotype: the gatekeeper hypothesis in fetal programming. *Medical Hypotheses* 78:88-94.

- Nätt D, Rubin CJ, Wright D, Johnsson M, Beltéky J, Andersson L, Jensen P. (2012): Heritable genome-wide variation of gene expression and promoter methylation between wild and domesticated chickens. *BMC Genomics* 13:59.
- O'Doherty AM, MacHugh DE, Spillane C, Magee DA. (2015): Genomic imprinting effects on complex traits in domesticated animal species. *Frontiers in Genetics* 6:156.
- Oster M, Muráni E, Metges C C, Ponsuksili S, Wimmers K (2011): A High Protein Diet during Pregnancy Affects Hepatic Gene Expression of Energy Sensing Pathways along Ontogenesis in a Porcine Model. *PLoS One* 6:e21691.
- Oster M, Murani E, Metges CC, Ponsuksili S, Wimmers K. (2012a): A gestational high protein diet affects the abundance of muscle transcripts related to cell cycle regulation throughout development in porcine progeny. *PLoS One* 7(3):e34519.
- Oster M, Murani E, Metges CC, Ponsuksili S, Wimmers K. (2012b): A low protein diet during pregnancy provokes a lasting shift of hepatic expression of genes related to cell cycle throughout ontogenesis in a porcine model. *BMC Genomics* 13(1):93.
- Oster M, Murani E, Metges CC, Ponsuksili S, Wimmers K. (2012c): Transcriptional response of skeletal muscle to a low-protein gestation diet in porcine offspring accumulates in growth- and cell cycle-regulating pathways. *Physiological Genomics* 44(16):811-18.
- Oster M, Murani E, Metges CC, Ponsuksili S, Wimmers K. (2014): High- and low-protein gestation diets do not provoke common transcriptional responses representing universal target-pathways in muscle and liver of porcine progeny. *Acta Physiologica (Oxford)* 210(1):202-14.
- Oster M, Nuchchanart W, Trakooljul N, Muráni E, Zeyner A, Wirthgen E, Hoeflich A, Ponsuksili S, Wimmers K. (2015): Methylating micronutrient supplementation during pregnancy influences foetal hepatic gene expression and IGF signalling and increases foetal weight. *European Journal of Nutrition* 55(4):1717-27.
- Richards EJ (2006) Inherited epigenetic variation-revisiting soft inheritance. *Nature Review Genetics* 7(5):395-401.
- Slatkin M. (2009): Epigenetic inheritance and the missing heritability problem. *Genetics* 182:845–50.
- Swali, A., McMullen, S., Hayes, H., Gambling, L., McArdle, H. & Langley-Evans, S. 2011. Cell cycle regulation and cytoskeletal remodeling are critical processes in the nutritional programming of embryonic development. *PLoS One* 6:e23189.
- Trakooljul N, Oster M, Du , Murani E, Ponsuksili S, Wimmers K. Effects of methyl-donor rich maternal diet on hepatic DNA methylation profile and gene expression of the pig offspring revealed by Reduced Representation Bisulfite Sequencing (RRBS) and RNA-Seq. *ISAFG* 2015
- Van Laere AS, Nguyen M, Braunschweig M, Nezer C, Collette C, Moreau L, Archibald AL, Haley CS, Buys N, Tally M, Andersson G, Georges M, Andersson L. (2003): A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature* 425(6960):832-6.
- Vanselow J, Yang W, Herrmann J, Zerbe H, Schuberth HJ, Petzl W, Tomek W, Seyfert HM. (2006):DNA-remethylation around a STAT5-binding enhancer in the alphaS1-casein promoter is associated with abrupt shutdown of alphaS1-casein synthesis during acute mastitis. *Journal of Molecular Endocrinology* 37(3):463-77.

Diskussion



BREM, WIEN

Wie lange hält diese epigenetische Modifikation an? Sie haben es bis zur F2 geschildert, aber gibt es Beispiele dafür, dass es länger über die Generationen hinweg weitergegeben wird oder endet es immer mit der F2? Gibt es Unterschiede zwischen den Spezies? Da hätte ich gerne eine Aussage,

ANTWORT

Ich kann zu den Beispielen, die ich genannt habe, was sagen: Bei dem Beispiel vom Schwein weiß ich nicht, ob der Herr Kollege weitergegangen ist als die F2. Bei dem Aguti z. B. ist ganz klar, das wird stabil weitervererbt. Da gibt es dennoch unterschiedliche Ansichten. Eine Gruppe hat ein Experiment gemacht. Die hat diesen Aguti-Mäusen noch zusätzlich Methionin gefüttert, um die DNA-Methylierung zu erhöhen und die beobachten, aha, das wirkt sich tatsächlich auch in den nachfolgenden Generationen quantitativ aus. Die Farbvariation ist da in Richtung Aguti. Eine andere Gruppe hat dann beobachtet, dass da keine Akkumulation des Effektes ist, wenn sie diese Fütterung mehrfach, in mehrfachen Generationen, vornehmen. Die einen sagen jetzt, das ist vererbbar, die anderen sagen, es ist nicht vererbbar. Das, was ich gelesen habe in der Zeit, was am längsten stabil war, das ist die Pflanzensymmetrie. Das ist über 80 Generationen so vererbt. Was ja auch stabil vererbt ist, sind tatsächlich die Rassenunterschiede, die wir haben. Sowie bei den ethnischen Gruppen beim Menschen als

auch z. B. wie beim Huhn, dass wir das bei anderen Nutztierassen auch sehen würden.

ZUSATZFRAGE

Es ist eigentlich verwunderlich bei einem Phänomen, dass unsere züchterischen Bestrebungen ja ganz massiv tangieren können, dass man da nicht mehr drüber weiß, über wie viele Generationen dieses Phänomen tatsächlich wirkt oder anhält. Wir müssen uns ja viel überlegen, was unsere Strategien betrifft, in Abhängigkeit davon, wie lange diese epigenetischen Effekte anhalten, ob sie nach zwei Generationen zu Ende sind oder sie kapitulieren.

ANTWORT

Sie haben völlig Recht. Deswegen ist das eben auch ein hoch aktuelles Thema und deswegen gelingt es dann auch der Arbeitsgruppe Dias, die diesen Geruchsversuch bei der Ratte gemacht haben und dann zeigen, es geht bis in F3 und die sind jetzt noch einen Schritt weiter. Das ist dann ein Knaller und das wird entsprechend publiziert. Wir stecken tatsächlich, was die epigenetischen Modifikationen angeht, sowohl hinsichtlich ihrer Kartierung und ihrer funktionellen Bedeutung und erst recht in der Frage der Vererbung, in den Kinderschuhen.

STEINHART, HAMBURG

Ich wollte in das gleiche Horn blasen. Erstens: Wenn es ein Chemiker ist, dann sollte man sein che-

misches Grundwissen vergessen, wenn man über enzymkatalysierte Reaktionen spricht. Da schließen sich meine Fragen an. Sie haben erwähnt, es gibt DNA mit Drüsentransferasen, also die transferieren etwas. Wo kommt das Methyl her? Wer ist der Methylcarrier? Zweitens: Das schließt sich an Herrn Brem an. Wie nachhaltig sind diese Reaktionen, denn auch die enzymkatalysierten Reaktionen sind Gleichgewichtsreaktionen. Wenn hier eine Methylierung von dem Zytosin stattfindet, und das ist eine normale katalysierte Reaktion, dann gibt es nirgendwo ein Gleichgewicht. Da schließt sich gleich die dritte Frage an: Wenn sich jetzt das Milieu dieser Reaktionssituation etwas ändert, dann kann natürlich auch das Gleichgewicht sich verändern, d. h., dieses Gleichgewicht kann in eine Zunahme der Methylierung, in diesem Fall des Zytosins gehen, aber diese Gleichgewichtsreaktion kann natürlich auch in eine Demethylierung dieses Zytosins, in dieser DNA, gehen. Frage: Gibt es darüber schon Erkenntnisse? Das würde doch in etwa auch die Frage von Herrn Brem beantworten: Wie nachhaltig ist denn das Ganze?

ANTWORT

Das Methyl kommt aus dem Methionin über SAM in die Umwandlung von SAH. Sie sehen anhand der Folie, da wird die Methylgruppe übertragen. Das findet nicht nur an der DNA statt, also auch da, wo sie Methylierung von Proteinen usw. haben, ist das der entscheidende Punkt. Es gibt neben den DNA Methylasen, es gibt auch Demethylasen. Wir müssen unterscheiden: die Methylierung, wie sie meiotisch weitergegeben wird, die ist stabil. Das wird durch die eine Methylase katalysiert. Die erkennt den semime-thylierten Doppelstrang und setzt die passende Methylierung dazu. Die Frage der Denovo-Methylierung, die ja nötig ist, wenn wir jetzt über transgenerationale Vererbung reden, die ist sehr komplex. Da gibt es unterschiedliche Modelle und Ideen, welche Faktoren daran beteiligt sind, auch bei der Pflanze. Das habe ich jetzt weggelassen. Es gibt Modelle, gerade bei Pflanze recht gut untersucht, wo Non-coding, kurze RNAs, eine Rolle spielen, die die methylierungskata-

lysierenden Enzyme sozusagen an die entsprechende Stelle ins Genom heranzuführen. Andere Mechanismen funktionieren da in der Zusammenarbeit von Histonmethylierung, von Histonmodifikation und der Methylierung in der Umgebung der Histone.

FRAGE

Die Streuung ist nicht bekannt?

ANTWORT

Das ist nicht endgültig geklärt.

BRENIG, GÖTTINGEN

Du hast dich im Vortrag darauf konzentriert, die DNA-Methylierung und die Effekte der DNA-Methylierung zu betrachten. Die ist ja im Vergleich zu dem was du gerade angedeutet hast mit der Histonmodifikation relativ simpel. Wenn man jetzt die Histonepigenetik betrachtet, wo wir ja nicht nur Histonvarianten kennen, wir wissen, dass es Nukleohistone gibt in Abhängigkeit von Varianten. Wir haben viel mehr verschiedene Varianten in der Modifikation, Methylierung, Phosphorylierung, Acetylierung etc. Wie ist das Verhältnis der epigenetischen Effekte, die ich durch die DNA-Methylierung erhalte im Vergleich zu den Histonvarianten und histonepigenetischen Effekten? Kann man damit einen Vergleich anstellen? Kann man überhaupt, wenn man das ganze Feld der Epigenetik sich anschaut, ohne sich die Histoneffekte zu betrachten, überhaupt die Effekte der DNA-Methylierung alleine betrachten?

ANTWORT

Ich kann da keine Zahlen nennen, wie jetzt das Verhältnis von Impact, von DNA-Methylierung und Histonmodifikation ist. Was mir jetzt untergekommen war, war der Hinweis, den ich gemacht habe, dass diese Epiallele, die man bei Pflanzen gefunden hat, die stabil vererbt werden, wie die Pflanzensymmetrie über 80 Generationen usw. Das waren alles Fälle, in denen die DNA-Methylierung eine Rolle spielte. Es hat auch Experimente gegeben, wo man zeigen kann, wenn man eingreift in die DNA-Methylierungsmaschinerie,

dann bekommt man Unterschiede in den epigenetischen Effekten. Ich denke, dass zumindest gesichert ist, dass die DNA-Methylierung tatsächlich eine wichtige Rolle spielt und im Moment ist sie einfach auch im Fokus der Analysen. Das hat sicherlich mit den zur Verfügung stehenden Techniken zu tun. Wenn wir an die Histone ran wollen, dann brauchen wir spezifische Antikörper etc. Das ist schwieriger zu untersuchen. Weiter müssen wir bedenken, dass wir in der Regel beobachten, dass wir Regionen haben mit epigenetischen Modifikationen, in denen dann beides vorkommt. Wir haben also oftmals nicht nur die DNA-Methylierung, sondern wir haben dann in der Umgebung auch Modifikationen der Histone. In aktuellen Analysen gehen die Forscher häufig so vor, dass sie, wenn sie eine differenziell methylierte Region gefunden haben, dann versuchen sie auch in der Region spezifisch zu schauen, was gibt es an Histonmodifikation.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Gibt es erste Schätzungen über die phänotypische Varianz von tierzüchterisch interessanten Merkmalen, die auf epigenetische Phänomene zurückzuführen sind?

Wenn DNA-Methylierung z. B. das physiologische Gedächtnis eines Organismus ist: Wie kann man in einem Bayes-Ansatz überhaupt die unterschiedliche physiologische Vergangenheit eines Tieres bezüglich von Prägung durch DNA-Methylierung bestimmen, erfassen?

ANTWORT

Hinsichtlich der Effekte kann ich jetzt nur zurückgreifen auf das, was man für die Imprinting-Gene weiß. Da ist es so, dass es ja relativ wenig Imprinting-Gene gibt, die aber in der Regel relativ starke Effekte haben, mehr als 10 % und beim IGF2 geht das bis zu 30 %. Was andere vererbte Modifikationen angeht für quantitative Merkmale, haben wir gesehen bei dem Experiment von Braunschweig beim Schwein. Da waren die Effekte auf Rückenspeck gering und

so gerade eben signifikant. Bei der Pflanze haben wir gesehen. Da gibt es die Effekte auf qualitative Merkmale und wir haben unterschiedliche Prolytenformen.

2. Teil der Frage: Wie gehen wir sozusagen mit dem epigenetischen Gedächtnis um, wenn es einmal da ist? Das kann ich nicht beantworten, ob sozusagen eine Korrektur des Gedächtnisses möglich ist. Also, wenn wir durch bestimmte Diäten einen Organismus einstellen auf die Verwendung dieser Nährstoffe, der das, wenn das in der Trächtigkeit passiert ist, sogar auf seine Nachkommen weitergegeben hat. Ob wir bei den Nachkommen dann eine Korrektur vornehmen können, weiß ich nicht. Müsste man tatsächlich experimentell nachvollziehen.

THALLER KIEL

Ich hatte die gleiche Frage zum Beitrag der phänotypischen Variation. Die zweite Frage ist dann: Wenn wir das LD haben zwischen den epigenetischen Merkmalen und den SNPs, kann ich dann überhaupt diese Varianzen auftrennen? Zweitens: F2 hast du gezeigt. Das waren ja praktisch Vater/Mutter-Linien mit den unterschiedlichen Merkmalen, Muskelansatz und Fruchtbarkeit. Findet man dann in den Vater-Linien und in den Mutter-Linien auch unterschiedliche Frequenzen für das A -und G-allel?

ANTWORT

Zu 2.: Klar, wie beabsichtigt. Wir würden eine Vater-Linie aufstellen, die homozygot für das A-allel arbeitet und wir würden bei der Mutter-Linie mit Homozygoten Tieren für das G-allel arbeiten, damit wir auf der Vater-Linie sicher sind, dass A-allele für Muskelwachstum weitergeben und die Mutter-Linie haben wir sozusagen schöne fette Sauen, die eine ordentliche Fruchtbarkeit zeigen. Das wäre die Idee, die dahinter steht.

Was den ersten Teil der Frage angeht. Ich habe das gesagt. Wenn wir eine stabile epigenetische Modifikation mit einem phänotypischen Effekt haben, dann können wir in unserer Population erwarten, dass die tatsächlich auch mit SNPs im Kopplungsungleich-

gewicht steht. Und wenn wir das mit SNP machen, erfassen wir das sozusagen. Wir wissen es nur nicht.

LÜHKEN, GIESSEN

Kann es nicht doch sein, dass genetische Unterschiede nachher unterschiedliche Methylierung erklären wir sehen so eine Art Heritabilität. Hat man mal nach QTLs für Methylierung gesucht?

ANTWORT

Ich stimme zu. Ich würde auch glauben und ich habe Evidenz dafür gezeigt, dass es einen Zusammenhang gibt zwischen der Entstehung von epigenetischen Modifikationen und dem Genotyp der Tiere. Einfaches Beispiel: Wenn ich in einem Tier ein C habe und im anderen Tier ist da kein C mehr, da kann es auch nicht Methylieren. QTL ist mir nicht bekannt. Wüsste ich nicht, dass man da eine Analyse gemacht hat.

BAHRS, HOHENHEIM

Wie hoch ist die gesamtgesellschaftliche Akzeptanz der Instrumente der Epigenetik sowie deren Effekte in Zukunft?

ANTWORT

Da sehe ich überhaupt keine Probleme. Das, was sich da an Anwendungen am aller ehesten abbildet für das Tier, das sind solche Fragen, wo man sagt, wenn wir was erreichen, wenn wir die Sauen während der Trächtigkeit bestimmten Bedingungen aussetzen, und das sind z. B. unterschiedliche Diäten. Ich sehe da eigentlich keine Probleme in der Akzeptanz durch die Bevölkerung. Das machen wir ja im Moment sowieso. Wir versuchen ja, empirisch verschiedene Diäten und wir ahnen nur, da passiert etwas auf epigenetischer Ebene und wir gucken nicht nach. Da sehe ich kein Problem.

Wir hatten heute schon crispr-cas (Genom Editing) usw. Es gibt auch die Möglichkeit des Epigenomediting. Wir können mit den Techniken auch epigenetische Modifikationen gezielt einführen. Würden die aber überhaupt vererbt? Das ist für die Züchtung zunächst mal nicht von Interesse, sondern das ist eine Sache, die eher auf experimenteller Ebene zum Nachweis von Kausalität eine Rolle spielen wird.

Systemtheoretische Konzepte der genomweiten molekularen Analyse und Datenintegration in der Biologie



Systembiologie ist eine moderne Entwicklung in der Biologie, die genomweite molekulare Analysen, z.B. Metabolomics, Proteomics und/oder Transkriptomics, mit Computer-gestützten mathematischen und statistischen Modellen verknüpft, um einerseits kausale Mechanismen vom Molekül zum Organismus abzuleiten und andererseits Vorhersagemodelle für die Merkmalsausprägung bzw. die Genotyp-Phänotyp-Beziehung zu erhalten. Diesen Ansatz hat bereits Ludwig von Bertalanffy 1944 in seinem Buch „Vom Molekül zur Organismenwelt“ 1944 angedeutet (1). In einer seiner wichtigsten Publikationen „Der Organismus als physikalisches System betrachtet“ beschreibt Bertalanffy bereits 1940 die mathematische Modellierung eines sich selbst regulierenden Systems von biochemischen Pathways eines „offenen“ Organismus (2). In den folgenden Jahren hat Bertalanffy seine Theorie verallgemeinert und als auf alle komplexen nicht-linearen Systeme z.B. der Biologie, Ökologie oder auch Ökonomie anwendbare „Allgemeine Systemtheorie“ definiert (3).

Die technischen Beschränkungen Bertalanffy's waren zu seiner Zeit im Hinblick auf unsere Möglichkeiten heutzutage schier unüberwindbar:

Das System, mit dem er sich 1940 auseinandersetzte, bestand aus 4 (5) Komponenten mit 4 Differentialgleichungen. Dieses System lässt sich analytisch beschreiben und man kann daraus grundlegende Prinzipien der Selbstregulation oder Selbstorganisation ableiten (2).

Wo stehen wir heutzutage mit einem „typischen“ Organismus, Pflanze oder Tier (Mensch)? Nach der Erkenntnis der molekularen Struktur und Prinzipien der Informationsspeicherung der DNA 1953 (4), dem zentralen Dogma der Molekularbiologie von Crick 1973 (5) und der rapiden Entwicklung von „next generation sequencing (NGS)“ (6) seit der Publikation des ersten Humangenoms und des ersten Pflanzen-genoms 2000 sind zur Zeit ca. 80000 Genomprojekte und deren Datenbanken verfügbar. Eine genomische Rekonstruktion eines typischen tierischen oder pflanzlichen Stoffwechsels umfasst ca. 2500 Reaktionen und wesentlich mehr kaum abzuschätzende metabolischen Komponenten (7, 8). In anderen Worten, wir müssen mindestens 2500 vernetzte Reaktionen als Differentialgleichungen darstellen und modellieren, um eine kausale Verknüpfung des Systems zu beschreiben, bzw. Vorhersagen des dynamischen molekularen Phänotyps aus der Genomsequenz abzuleiten. Diese Art von mathematischer Beschreibung eines komplexen nicht-linearen Systems ist erst mit Hilfe der hochmodernen Computertechnologie lange nach Bertalanffy möglich geworden, und man ist heutzutage in der Lage, solche Systeme numerisch zu lösen bzw. zu approximieren (7).

Desweiteren haben sich Technologien für die genomweite molekulare Analyse entwickelt, von denen Bertalanffy keine Vorstellungen haben konnte: RNAseq, Proteomics und Metabolomics (9). Diese bioanalytischen Verfahren orientieren sich an dem molekularen Dogma von Crick und sind in der Lage

hochkomplexe Gemische aus Transkripten (RNA-seq), Proteinen (Proteomics) und Metaboliten (Metabolomics) aufzulösen, viele Komponenten zu identifizieren und zu quantifizieren. Schliesslich werden in diesen Daten Interaktionen der molekularen Komponenten gesucht, die molekulare oder auch andere phänotypische Merkmale erklären können. Hierzu werden hochkomplexe multivariate statistische Verfahren eingesetzt, die letztendlich eine Datenintegration und – interpretation ermöglichen (10). In einem letzten Schritt müssen diese statistischen Modelle mit den mathematischen Modellen verknüpft werden, um aussagekräftige Genotyp-Phänotyp-Modelle zu generieren (9, 11).

Im folgenden werde ich Methoden der molekularen Hochdurchsatzanalyse vorstellen sowie einige Aspekte der mathematischen und statistischen Modellierung von molekularen Hochdurchsatzdaten und deren Verknüpfung mit genomweiten biochemischen Netzwerken erläutern.

In Abbildung 1 ist eine komplette PANOMICS Plattform dargestellt. Die moderne Analyse von Organismen, Mikroorganismen, Pflanzen, Tiere, Mensch, startet heutzutage mit der Sequenzierung des Genoms mithilfe von „next generation sequencing (NGS)“ Technologien. Auf der Basis der vorhandenen Genomsequenz koennen dann weitere

genomweite molekulare Analysen, Transcriptomics (RNAseq), Proteomics und Metabolomics, durchgeführt werden. In einem nächsten Schritt werden genomweite metabolische Netzwerke aus der vorhandenen Genomsequenz abgeleitet anhand des Vergleiches von bekannten orthologen Genen aus Datenbanken, wie z.B. Uniprot. Eine genaue Beschreibung des Vorganges dieser metabolischen Rekonstruktion habe ich in der Publikation „Unpredictability of Metabolism from Genome Sequences“ beschrieben (11).

Diese Rekonstruktion bildet allerdings nicht die phänotypische Plastizität ab, die jeden Organismus in seiner Wechselwirkung mit der Umwelt kennzeichnet. Somit kann aus der statischen Genotyp-Information nicht der plastische Phänotyp vorhergesagt werden, insbesondere nicht seine Wechselwirkungen mit der Umwelt (11). Auch genomweite Assoziierungsstudien (Genomewide association studies GWAS) erlauben nur die korrelative Verknuepfung von genetischen Polymorphismen oder Mutationen mit Phänotypen. Polymorphismen sind in den meisten Fällen molekular-neutrale Mutationen im Genom, die keinen Effekt auf den Phänotyp haben. Es gibt allerdings „linkage disequilibrium“ Phänomene, d.h. Häufungen von „single nucleotide polymorphism (SNP)“, die darauf schliessen lassen, dass in diesen genomischen Regionen Mutationen zu Anpassungen an Umweltfaktoren

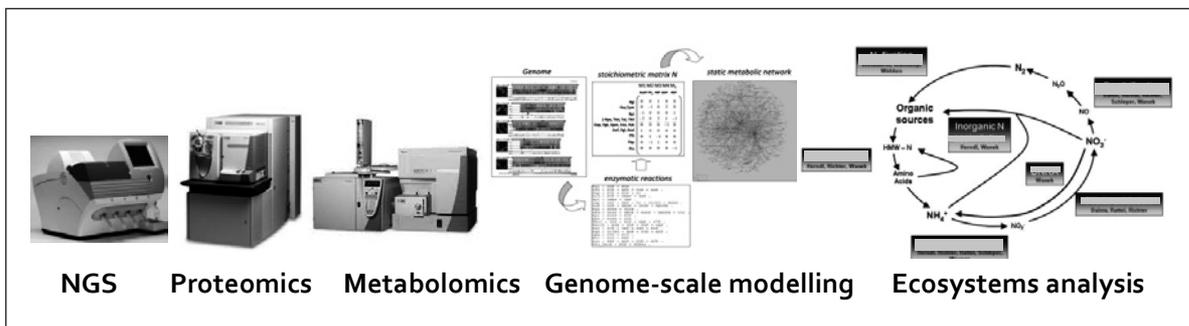


Abbildung 1: ANOMICS Plattform, welche NGS, Proteomics, Metabolomics mit metabolischer Modellierung des Modellorganismus bis hin zur Modellierung des zugehörigen Ökosystems vereint (9).

führen. Allerdings müssen diese „kausalen“ Annahmen geprüft werden mithilfe klassischer biochemischer und bioanalytischer Methoden, wie Metabolomics oder Proteomics. Eine sehr elegante Studie, die demonstriert, wie in GWAS Daten ein kausaler Mechanismus für die Akkumulation von Ölsäure in Mais-Samen entdeckt worden ist, zeigt diesen Prozess auf (12).

Der entscheidende Punkt, um nun genomweite molekulare Daten und Genomsequenz-Informationen zu verknüpfen, ist die Modellbildung (11). Diese Modelle können entweder strukturbasiert oder kinetische Modelle sein (11). Es koennen auch Mischformen aus strukturkinetischen Modellen aufgebaut werden (13), die Aussagen über die Stabilität von metabolischen Netzwerken, also ihrer Plausibilität, zulassen.

In einem völlig neuen Ansatz haben wir Kovarianz-Modelle, also quasi Assoziierungs- oder Korrelationsnetzwerke von molekularen Komponenten in einem Organismus, die direkt aus den molekularen Daten abgeleitet werden koennen, mit einer Rekonstruktion der biochemischen Regulation verknüpft (14). Dieser Ansatz erlaubt die direkte Verknüpfung von genomweiten dynamischen molekularen Daten und der statischen metabolischen Rekonstruktion aus der Genomsequenz; er erweckt sozusagen das statische metabolische Netzwerk zum Leben. 2012 haben wir zum ersten Mal demonstriert, dass man in einem inversen Modellierungsansatz tatsächlich die biochemische Regulation berechnen und entscheidende biochemische Perturbationen damit vorhersagen kann (15). Dieser neue Datenintegrationsansatz erlaubt zum ersten Mal die direkte kausale Verknüpfung von Daten und genomischer Rekonstruktion in einem beliebig komplexen biochemischen Netzwerk und stellt damit eine fundamentale Genotyp-Phänotyp-Gleichung dar (9). In vielen folgenden Arbeiten haben wir gezeigt, dass die aus den molekularen Daten *berechneten* – nicht „spekulierten“ – Vorhersagen von Schlüsselpunkten biochemischer Perturbationen korrekt sind (7, 16, 17) und auch andere Forschungsgruppen haben diese Genotyp-Phänotyp-Gleichung inzwischen eingesetzt,

um biochemische Perturbationen zu identifizieren (18, 19).

Die Berechnung von biochemischen Perturbationen aus molekularen, insbesondere Metabolomics, Daten ist implementiert in der Metabolomics Toolbox COVAIn (COVariance Inverse) (15) und kann von jedem Labor, welches metabolomische Daten zur Verfügung hat implementiert werden. COVAIn bietet ausserdem Algorithmen fuer die Datenintegration, Granger Causality Netzwerkanalyse, Strukturaufklärung und Pathway Vorhersage von unbekanntem Metaboliten, multivariate Statistik und vieles mehr (15, 16, 20). Wir haben COVAIn in einem nächsten Schritt verwendet, um quantitative phänotypische Merkmalsbeschreibungen wie z.B. die mittels micro-Computertomographie (micro-CT) gemessene Entwicklungsmorphometrie eines Organismus mit diesen metabolischen Daten zu verknüpfen (21). Dieser Ansatz erlaubt es in Zukunft, kausale metabolische Modelle mit morphometrischen Daten zu integrieren, um phänotypische Merkmale in kausalen molekularen Zusammenhängen zu interpretieren.

Literaturverzeichnis

1. Bertalanffy Lv (1944) Vom Molekül zur Organismenwelt. *Akademische Verlagsgesellschaft Athenaiion, Potsdam*.
2. Bertalanffy Lv (1940) Der Organismus als physikalisches System betrachtet. *Naturwissenschaften* 33:522-531.
3. Bertalanffy Lv (1969) General System Theory. *George Braziller, New York*.
4. Watson JD & Crick FH (1953) Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171(4356):737-738.
5. Crick F (1970) Central dogma of molecular biology. *Nature* 227(5258):561-563.
6. Metzker ML (2010) Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* 11(1):31-46.
7. Nagele T, *et al.* (2014) Solving the differential biochemical Jacobian from metabolomics covariance data. *PLoS one* 9(4):e92299.
8. Nagele T & Weckwerth W (2012) Mathematical modeling of plant metabolism-from reconstruction to prediction. *Metabolites* 2(3):553-566.
9. Weckwerth W (2011) Green systems biology - From single genomes, proteomes and metabolomes to ecosystems research and biotechnology. *Journal of proteomics* 75(1):284-305.
10. Weckwerth W & Morgenthal K (2005) Metabolomics: from pattern recognition to biological interpretation. *Drug discovery today* 10(22):1551-1558.
11. Weckwerth W (2011) Unpredictability of metabolism--the key role of metabolomics science in combination with next-generation genome sequencing. *Analytical and bioanalytical chemistry* 400(7):1967-1978.
12. Beló A, *et al.* (2008) Whole genome scan detects an allelic variant of fad2 associated with increased oleic acid levels in maize. *Molecular Genetics and Genomics* 279(1):1-10.
13. Furtauer L & Nagele T (2016) Approximating the stabilization of cellular metabolism by compartmentalization. *Theory Biosci* 135(1-2):73-87.
14. Weckwerth W (2003) Metabolomics in systems biology. *Annu Rev Plant Biol* 54:669-689.
15. Sun X & Weckwerth W (2012) COVAIN: a toolbox for uni- and multivariate statistics, time-series and correlation network analysis and inverse estimation of the differential Jacobian from metabolomics covariance data. *Metabolomics* 8:81-93.
16. Doerfler H, *et al.* (2013) Granger causality in integrated GC-MS and LC-MS metabolomics data reveals the interface of primary and secondary metabolism. *Metabolomics* 9(3):564-574.
17. Wang L, *et al.* (2016) System level analysis of cacao seed ripening reveals a sequential interplay of primary and secondary metabolism leading to polyphenol accumulation and preparation of stress resistance. *Plant J*.
18. Kugler P & Yang W (2014) Identification of alterations in the Jacobian of biochemical reaction networks from steady state covariance data at two conditions. *J Math Biol* 68(7):1757-1783.
19. Oksuz M, Sadikoglu H, & Cakir T (2013) Sparsity as cellular objective to infer directed metabolic networks from steady-state metabolome data: a theoretical analysis. *PLoS one* 8(12):e84505.
20. Doerfler H, *et al.* (2014) mzGroupAnalyzer--predicting pathways and novel chemical structures from untargeted high-throughput metabolomics data. *PLoS one* 9(5):e96188.
21. Bellaire A, *et al.* (2014) Metabolism and development - integration of micro computed tomography data and metabolite profiling reveals metabolic reprogramming from floral initiation to silique development. *New Phytol* 202(1):322-335.

Diskussion



SCHWERIN, DUMMERSTORF

Sie haben uns die verschiedenen Omicsebenen demonstriert. Nun besteht ja ein Tier auch aus verschiedenen Geweben und verhält sich ja unter verschiedenen Umweltbedingungen, Fütterung, Nichtfütterung, Hunger, Laktation, Nichtlaktation auch noch physiologisch sehr unterschiedlich. Wie berücksichtigen Sie diese Komplexität in ihren Ansätzen?

ANTWORT

Das ist ein ganz wichtiger Punkt. Ich kann vielleicht doch noch ein Beispiel zeigen. Wir haben ein Mausmodell, (Energiestoffwechsel). In diesem Mausmodell ist der Energiestoffwechsel angeschaltet, also die Maus macht Zellproliferation ohne Ende und natürlich muss das crashen das System. Sie hat ganz starke Inflammationsmarker u. s. w. Wir haben dann Proteine, Metabolite, Phosphorproteine analysiert, aber was ich zeigen will, ist genau dieser Punkt. Wir haben ein Modell erstellt und aus den Metabolit-Daten können wir jetzt - und das ist jetzt Lungengewebe, das ist eine Mischung aus verschiedensten Zellen - PAS-Werte direkt vorhersagen und die passte auch genau auf die Proteomicsebene. Jetzt können wir in dem Mausmodell die Makrophagen isolieren, da haben wir also eine einzelne Zellpopulation. Auf einmal sieht der Plot so aus. Ohne das jetzt wirklich zu verstehen. Die Heterogenität dieses multizellulären Gewebes ist unglaublich groß, fast überhaupt nicht mehr zu interpretieren für uns. Wenn man dann auf Einzelzellebene zurückgeht oder hinget, fängt man

an hier ganz dominante Effekte zu sehen. Das ist der dominante Effekt. Das ist jetzt auch eine Scal-Darstellung. Es gibt ganz viele Effekte, aber das ist wirklich der Dominante und der deutet auf ein ganz neues Protein hin im Severinstoffwechsel, wo wir auf einmal in so einem Netzwerk einen völlig neuen Effekt sehen. Das ist natürlich die Herausforderung. Wir haben die Möglichkeit, auf Einzelzellebene zu gehen mit diesen analytischen Methoden in Zukunft. Dann wieder zurückzugehen zum tierischen Gewebekomplex.

STEINHART, HAMBURG

Sehr interessant, die Zusammenhänge, die sie dargestellt haben zwischen Analytik, der Mathematik und dann die Folgerung daraus, Sie haben an einer Stelle, an der Boehringer-Tabelle, über den Metabolismus gesprochen. Hier schließt sich meine Frage an: Sie haben ja da Tausende von Reaktionen, allein aus dieser Tabelle. Wenn sie ihre Folgerungen ableiten: Wie gehen Sie denn da vor? Welche Reaktionen wählen sie denn aus aus diesem ganzen komplexen System, um eben dann Aussagen zu treffen, wie sie jetzt an diesem Mausbeispiel gezeigt haben. Meine zweite Frage. Wir haben ja auch viel mit diesen Messungen u. s. w. gemacht. Das Problem ist ja, das dauert ja auch ein bisschen, bis sie diese Analysen haben. Jetzt haben sie natürlich hier jede Menge Daten. Wie ist das denn zeitlich einzuschätzen? Wenn sie das alles machen, da vergeht ja doch sehr viel Zeit, wenn sie nur ein Tier haben. Wie komme ich jetzt aus der geringen Tierzahl und den vielen Analysen, die Zeit

beanspruchen, zu diesen komplizierten Aussagen, wo sie und jetzt diese Modelle noch gerne vorführen würden, die mathematischen.

ANTWORT

Das ist ein interdisziplinärer Ansatz. Wir machen keine Rahmenspektroskopie. Wir machen GC-MS, LC-MS. Wir haben dann Kollegen, die machen NMR. Es geht nur im Konsortium. In der Metabolomics-Welt ist es auch so. Da gibt es zum Teil viele verschiedene Labs, die unterschiedliche Technologien bereitstellen. Wir sind aber schon mit den GC-MS- und LC-MS-Daten absolut überfordert, was die Interpretation angeht. Das reicht schon. Ich muss nicht noch extra was machen, um neue Effekte zu sehen. Das ist ein ganz wesentlicher Punkt. Solange wir immer wieder neue biochemische Zusammenhänge entdecken in den Daten - ich konnte überhaupt gar nicht viele Beispiele bringen, aber wir tun das - solange bin ich eigentlich zufrieden damit. Da will ich auch gar nicht unbedingt mein Portfolio erweitern und sagen o.k., ich brauche mehr Metabolomcoverage. Ich sehe allein schon in den Daten, die ich habe, immer wieder neue Effekte.

Die Rekonstruktion sieht jetzt so aus: Wir fangen jetzt mit solchen kompletten Genomen an. Das ist eine vollständige Rekonstruktion, besteht ungefähr aus 2.500 Reaktionen für Humangenom, für Pflanzengenom, unterscheidet sich gar nicht so sehr. Wir haben biochemische Bayes in unseren Köpfen. Auf jeden Fall können wir das überhaupt nicht merken, weil unsere Metabolomcoverage nicht groß genug ist, d. h., mit Literaturdaten generieren wir diese Super PAS-Models. Hier sind die wesentlichen Reaktionen, die durch dieses Netzwerk gehen, alle abgebildet, aber wir haben ganz viele Reaktionen zusammengenommen. Man könnte sagen, die Glykolyse wird zusammengefasst als Glukose, Glukose wird zu Pyruvat. Weil ich diese Metabolite alle messen kann, kann ich sofort sehen, wenn in der Reaktion von Glukose zu Pyruvat Änderungen in der Dynamik stattfinden, wird es sofort auf diesen Gesamt-PAS-Way projiziert. Ich kann zumindest sagen, dass in der Glykolyse ir-

gendein enzymatischer Schritt sich stark verändert hat. So hangeln wir uns ran, an diese hochkomplexen Systeme und das ist es auch klar, je besser dann die Metabolomcoverage wird, desto besser werden diese Berechnungen sein. Das ist auch unsere Erfahrung. Wir fangen typischerweise mit kleinen Modellen an, machen größere und die Interpretation wird immer besser. Je größer das Modell ist, desto besser wird die Interpretation.

THALLER, KIEL

Wie hoch sind die Wiederholbarkeiten ihrer Messungen auf Metabolom und Proteom hin? Also die Reproduzierbarkeit.

Welche Konsequenz hat das dann auf ihre Netzwerke? Wie validieren sie ihre Netzwerke?

ANTWORT

Die technische Präzision ist deutlich unter der biologischen Variabilität. Damit haben wir alle Möglichkeiten, die Varianz in den Daten, die wir sehen, als biologische Varianz zu interpretieren und mit der können wir jede Art von Multivariatestatistik machen. Jede Art von Statistik, z. B. Hauptkomponentenanalyse, die uns die Probe auseinanderzieht. Das gibt uns eigentlich eine Idee über die biochemischen Änderungen. Das funktioniert völlig einwandfrei. Wir haben auch Metabolomics-Experimente schon im Feld durchgeführt, so wie dieses Proteomics-Experiment. Wir haben von den gleichen Proben auch Metabolite gemessen. Ganz interessant ist dann, wenn man den Hauptkomponenten-Plot von den Proteindaten neben den Metabolit-Plot setzt, von dem gleichen Gewebe, sieht es anders aus, also die Genotypen gruppieren zusammen. Die sind eindeutig identifiziert oder klassifiziert, wenn man so möchte. Aber welche Genotypen zusammen gruppieren, ändert sich vom Proteom zum Metabolom. D. h., es gibt zusätzliche Informationen, synergetische Informationen, wenn man die beiden Plots zusammenbringt, wenn man dann einen PCA-Plot mit Protein und Metaboliten macht, sieht man eigentlich das richtige Pattern in den Zusammenhängen der einzelnen Genotypen.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Ich frage mich, wie kann man sowas eigentlich validieren? Wie kann man wissen, dass die Ergebnisse, die man bekommt, auch was mit der biologischen Realität zu tun haben?

ANTWORT

In dem Maus-Modell haben wir alle Evidenzen, die ein klassischer Biochemiker verlangen würde. Die Evidenzen aus der Metabolit-Ebene, wir haben die Evidenz auf der Protein-Ebene, auf der Phosphor-Protein-Ebene und weil viele Leute den Massenspektren nicht glauben, müssen wir noch ein paar

Western-blots machen. Da ist alle Evidenz da und damit haben wir quasi einen völlig neuen Biomarker identifiziert, der auch total Sinn macht. Was ich gezeigt habe, ist, wenn der Energiestoffwechsel in der Zelle angeschaltet ist, konstitutiv und die Zelle überhaupt nicht mehr auf Starvation zurückschalten kann, dann ist es wie ein Mechanismus von Krebszellen. Und der Marker, den wir neu identifiziert haben, ist ein klassischer Krebsmarker, so eine Art Cross-Validierung. Das ist aber auch eine entscheidende Frage. Diese Ergebnisse müssen wir eigentlich wieder mit klassischen biochemischen Methoden beantworten und validieren auch.

Laktation, Milchbildung, Nährstoffflüsse und Regulation



Einleitung

In der Milchviehhaltung haben sich in den letzten 60 Jahren sowohl Betriebsstrukturen als auch tierbezogene Milchleistungsdaten in Deutschland wesentlich verändert. Insbesondere in den letzten 10 Jahren ist bundesweit ein ausgeprägt rückläufiger Trend der milchviehhaltenden Betriebe zu beobachten. Verglichen mit dem Jahr 2005 waren es 2015 etwa 1/3 weniger Betriebe. Parallel ist die Anzahl der Betriebe mit mehr als 50 Tieren gewachsen, wobei in Deutschland im Schnitt 56 Tiere pro Betrieb gehalten werden (Abb. 1). Gleichzeitig ist die durchschnittliche



Abbildung 1: Entwicklung der Anzahl der Milchviehalter und der Zahl an Kühen pro Betrieb zwischen 1995 und 2014 (Quelle: DVB Jahresbericht 2014/2015).

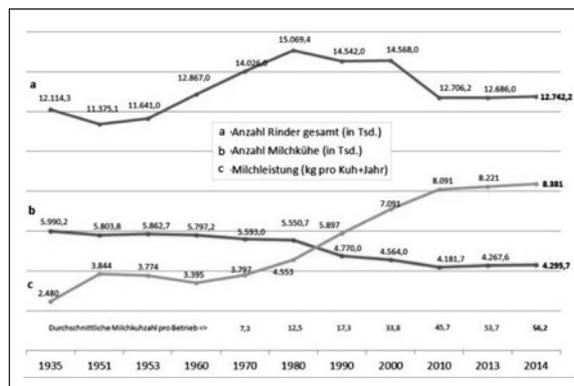


Abbildung 2: Entwicklung der Gesamtzahl an Rindern sowie der Milchkühe und deren Leistung zwischen 1935 und 2014. (Quelle: Arbeitsgemeinschaft deutscher Rinderzüchter e.V. 2015).

Laktationsleistung pro Kuh von rund 3700 kg/Jahr im Jahr 1950 auf über 8300 kg im Jahr 2014 angestiegen (Abb. 2). Diese Entwicklungen zeigen sich unter anderem auch besonders deutlich in Niedersachsen, wo die durchschnittliche Bestandsgröße im Jahr 2013/2014 bei 85,8 Tieren und einer mittleren Milchleistung von 9443 kg lag. Dabei erzielten die 25% besten Betriebe mit durchschnittlich 94,8 Kühen noch weitaus höhere Milchleistungen von 10327 kg/Kuh und Jahr (LWK Niedersachsen, Betriebszweig-analyse Milch 2013/2014).

Eine solch hohe Milchleistung setzt die effiziente und regulierte Bereitstellung bzw. Synthese aller Milchinhaltstoffe einschließlich der Hauptbestandteile Lactose, Milchfett und Milchprotein sowie die Einbindung dieser metabolischen Höchstleistungen in den Gesamtmetabolismus des Tieres voraus.

Inhaltsstoffe der (bovinen) Milch und deren Synthese

Kuhmilch ist im Hinblick auf seine (Haupt-) Inhaltsstoffe als ein wertvolles Lebensmittel anzusehen. Durchschnittlich sind in einem Liter Milch 37 g Fett, 28 g Protein bzw. Casein und 48 g Lactose enthalten (von Engelhardt et al. 2015). Bezogen auf die eingangs erwähnte Milchleistung von bis zu 10000 kg pro Laktation, produziert eine Milchkuh demnach über die gesamte Laktation bis zu 370 kg Fett, 280 kg Casein und 480 kg Lactose, wobei für diese Syntheseleistungen eine tägliche Durchblutung des Eutergewebes von etwa 13700 l notwendig ist, was ca. 19% des gesamten Herzzeitvolumens entspricht!

Im intraspezifischen Vergleich variieren bezüglich der Milchzusammensetzung besonders der Fett-, weniger deutlich der Proteingehalt, wobei der Lactosegehalt rasseunabhängig relativ konstant bei rund 5% liegt (<http://ansci.illinois.edu/l>). Bekannt ist auch die sich verändernde Milchzusammensetzung im Verlauf der Laktation mit steigenden Milchfett- und damit einhergehend Energiegehalten, sowie zunehmenden Milcheiweiß-, und abnehmenden Lactosegehalten bei insgesamt sinkender Milchleistung (von Engelhardt et al. 2015). Zusätzlich besteht eine Abhängigkeit insbesondere des Milchfettgehaltes vom Melkprozess mit steigenden Fettgehalten im Verlauf des Milchentzugs und maximalen Fettgehalten im Nachgemelk (<http://ansci.illinois.edu/l>).

Die Synthese der einzelnen Milchbestandteile findet im Drüsengewebe statt bzw. zum Teil werden die Ausgangsprodukte aus dem Blut zur weiteren Verarbeitung in das Euter aufgenommen. Das Milchfett besteht hauptsächlich aus Triacylglyceriden und wird innerhalb der Euterepithelzellen aus kurz-, mittel- und langkettigen Fettsäuren synthetisiert, wobei prozentual die langkettige Öl- sowie Palmitinsäure das Fettsäu-

renmuster dominieren (Kamphues et al. 2014). Die Fettsäuren, insbesondere die kurzkettigen, werden im Eutergewebe aus Acetat und β -Hydroxybutyrat neu synthetisiert oder entstehen aus der Spaltung von Triacylglyceriden, die in Form von Chylomikronen aus dem Darm bzw. als VLDL aus der Leber das Euter erreichen (von Engelhardt et al. 2015). Die Freisetzung der Triacylglyceride in die Milch erfolgt über die Fusionierung der Membran von am endoplasmatischen Retikulum gebildeten Fettkügelchen mit der Zellmembran im Sinne einer apokrinen Sekretion.

Caseine und in geringerem Umfang Molkenproteine bilden die Gruppe der Milchproteine. Von den drei in der Milch vorkommenden Caseinen, α -, β - und κ -Casein, liegt das β -Casein in der höchsten Konzentration vor. Die Caseine werden im Drüsengewebe aus Aminosäuren, die aus dem Blut aufgenommen werden, synthetisiert. Im Golgi-Apparat assoziieren die Caseine zu Micellen, an deren Außenseite κ -Casein angelagert ist, das mit dem sogenannten hydrophilen Haar glykosyliert ist. Das κ -Casein sorgt dafür, dass sich die ansonsten hydrophoben Caseine in der Milch lösen und stabilisiert diese gegenüber zweiwertigen Kationen, insbesondere Calcium. Als Molkenproteine bezeichnet man den Anteil der Proteine, der durch Chymosin nicht gefällt werden kann. Dazu zählen im Wesentlichen α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin. Daneben gehören Lactoferrin und Immunglobuline (IgA, IgG, IgM) zu den Molkenproteinen, welche insbesondere in der Kolostralmilch oder bei Mastitiden vorzufinden sind. Die Freisetzung der fertigen Milchproteine erfolgt nach Verpackung in sekretorische Vesikel durch Exocytose. Betrachtet man die Proteinversorgung des Wiederkäuers auch in Bezug auf die Bereitstellung der für die Milchproteinsynthese notwendigen Aminosäuren, so spielt das Protein und damit der Stickstoff mikrobiellen Ursprungs aus dem Vormagensystem eine entscheidende Rolle. Unter der Annahme, dass pro aufgenommenem MJ ME etwa 10,1 g Mikrobenprotein synthetisiert werden kann, wird etwa die Hälfte des erforderlichen nutzbaren Rohproteins, das für eine gegebene Milchleistung täglich notwendig ist, sowie die Hälfte

des Milchprotein-Stickstoffs aus mikrobieller Synthese gedeckt (Petri et al. 1988; Breves und Rodehuts-cord 2000). Mit steigender Milchleistung ergibt sich allerdings ein zunehmendes Defizit in der Deckung des Proteinbedarfs, das durch die Mobilisierung von Körperprotein, nicht abgebautem Futterprotein oder durch Fütterung von sog. pansenstabilem Futterprotein gedeckt werden kann.

Im Rahmen der tierärztlichen Bestandsbetreuung in Milchkuhherden hat die Interpretation der Milch-inhaltsstoffe und ihre Beziehung zueinander hinsichtlich der Beurteilung des Gesundheitszustandes, insbesondere in Bezug auf Stoffwechselerkrankungen, auch eine praktisch-klinische Relevanz. In diesem Zusammenhang ist der Fett:Eiweiß-Quotient (FEQ) ein gebräuchlicher Parameter zur Beurteilung der Stoffwechsellaage beim Einzeltier und auf Herdenbasis. Allgemein werden FEQ-Werte von 1 bis 1,5 als physiologisch, Werte $< 1,0$ als Indikator für acidotische Stoffwechsellaagen und Werte $> 1,5$ als Indikator für ein erhöhtes Ketoserisiko angesehen (de Kruif et al. 2007). Da die Ketose eine der wichtigsten metabolischen Erkrankungen in der frühen postpartalen Phase darstellt, wäre eine frühzeitige Einordnung von Risikotieren, die entsprechend beobachtet und therapiert werden können, anhand leicht zu erhebender Parameter wie dem FEQ erstrebenswert. Allerdings hat eine Untersuchung an Milchkühen unterschiedlicher Rasse und zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Laktation gezeigt, dass zum einen rasseabhängig weniger als die Hälfte der untersuchten Tiere mit klinisch diagnostizierter Ketose einen FEQ $> 1,5$ aufwiesen (Manzenreiter et al. 2013). Außerdem variierten in dieser Studie die Milch-inhaltsstoffe bei klinisch gesunden wie auch bei Tieren mit Ketose, so dass der FEQ nicht als allgemeingültiger Parameter für die Erkennung ketotischer Stoffwechsellaagen angesehen werden kann.

Die aus 1,4- β -glycosidisch verbundener Galactose und Glucose bestehende Lactose wird im Drüsengewebe synthetisiert. Die dafür benötigte Glucose wird über Insulin-unabhängige Glucosetransporter (GLUT 1) aus dem Blut aufgenommen und kann im Weiteren

innerhalb der Euterepithelzellen enzymatisch zu Galactose umgebaut werden. Wenn eine Milchleistung von 35 kg/Tag mit einem Lactosegehalt von 48 g/kg angenommen wird, so liegt eine tägliche Lactoseabgabe über die Milch von 1,68 kg vor. Für die Synthese dieser Lactosemenge wird der Glukosebedarf auf etwa 2,5 kg geschätzt (Kronfeld et al. 1968), wobei 70-90 % der verfügbaren Glucose für die intramam-märe Lactosesynthese zur Verfügung gestellt werden und Glucose nicht durch ein anderes Monosaccharid ersetzt werden kann.

Hinsichtlich der in der Milch enthaltenden Ionen sind vor allem die im Vergleich zum Plasma um ein Vielfaches höheren Konzentrationen an Calcium (etwa 13-fach höher als im Plasma), Phosphat (etwa 9-fach höher), Magnesium und Kalium (je etwa 5-fach höher) nennenswert. Phosphat liegt in der Milch in Form von freiem, anorganischem Phosphat (P_i), als Hydrogen- und Dihydrogenphosphat (HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$) und als kolloidales Phosphat, in der Regel in Verbindung mit Calcium in Caseinmicellen, vor (Holt und Jenness 1984). Die Aufnahme von P_i aus der Zirkulation findet dabei vornehmlich über basolaterale Natrium-Cotransportsysteme (NaPi) und unter bestimmten experimentellen Bedingungen auch im Austausch gegen Anionen statt (Shillingford et al. 1996). Die apikale Sekretion von Phosphat in die Milch erfolgt hauptsächlich über Exocytose aus sekretorischen Golgi-Vesikeln (Abb. 3). Interessanterweise konnte auch in der apikalen Membran von Epithelzellen, die aus laktierenden Eutern von Ziegen stammten, die Existenz von NaPi-Transportsystemen (NaPiIb) auf Proteinebene nachgewiesen werden, wobei die physiologische Bedeutung dieser noch weitgehend unklar ist, vermutlich aber im Bereich der Involutionsvermittlung liegt (Huber et al. 2007). Calcium liegt als freies, ionisiertes Calcium (Ca^{2+}), in Assoziation mit Phosphat und Citrat und in Verbindung mit Phosphat in Caseinmicellen in der Milch vor (Holt und Jenness 1984), wobei letztere Calciumverbindung in der Milch der meisten Spezies den größten Anteil darstellt (Neville et al. 1994). Bis heute ist der genaue Mechanismus der Calcium-Aufnahme

aus dem Blut in die Euterepithelzellen nicht bekannt, wobei die Existenz von basolateral lokalisierten Calcium-Kanälen für die effiziente Aufnahme der großen Mengen an Calcium, die letztlich in der Milch vorliegen, zwingend notwendig erscheint (Abb. 3). Der weitere Weg des Calciums durch die Epithelzelle ist ebenfalls noch nicht vollständig aufgeklärt: vermutlich wird Calcium über membranständige Calcium-ATPasen in den Golgi-Apparat aufgenommen, dort in sekretorische Vesikel verpackt und mittels Exocytose in die Milch sezerniert (Neville et al. 1981; Virk et al. 1985).

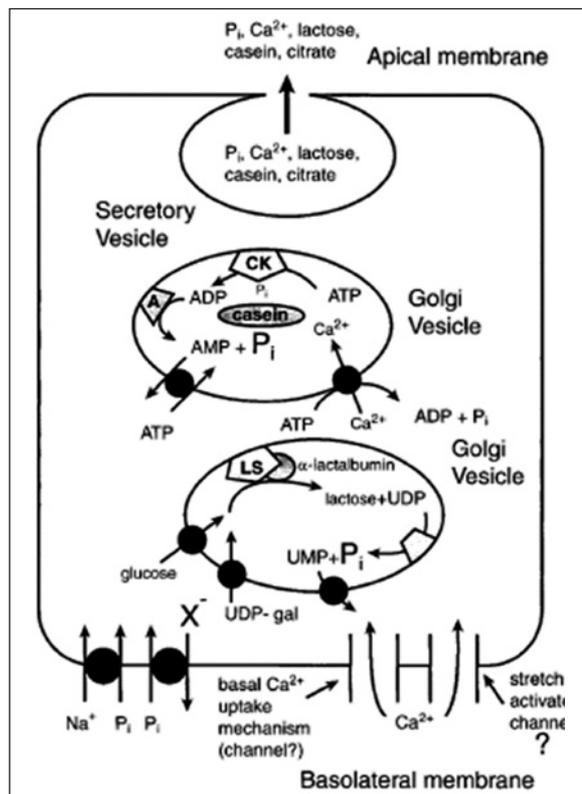


Abbildung 3: EAbb. 3: Zelluläre Mechanismen von Sekretionsprozessen in der Milchdrüse (Shennan und Peaker 2000).

Regulation der Milchbildung und Milchbestandteile

Grundsätzlich muss bezüglich der Milchbildung zwischen der Lactogenese und der Galactopoese unterschieden werden. Während der Lactogenese findet in einer ersten Phase die cytologische und enzymatische Ausdifferenzierung der Lactocyten statt (von Engelhardt et al. 2015). Hormonell wird diese Phase im Wesentlichen durch fetale Glucocorticoide reguliert. In der zweiten Phase der Lactogenese kommt es unter dem Einfluss absinkender Progesteronkonzentrationen (beim Wiederkäuer bereits deutlich ante partum) zu einer verstärkten Prolaktin-Sekretion und somit zum Einsetzen der Synthese der einzelnen Milchbestandteile (Abb. 4).

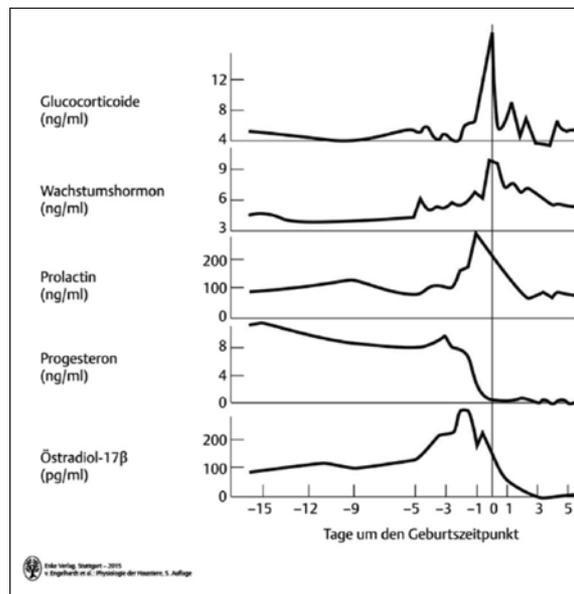


Abbildung 4: Peripartale Hormonprofile (von Engelhardt et al. 2015).

Während dieser Phase kommt es durch die oben genannten hormonellen Verhältnisse (sinkende Progesteron-, steigende Cortisol- und Prolaktinspiegel) außerdem zur Ausbildung der Blut-Euter-Schranke

durch Schließen der Tight junctions im Euterepithel (von Engelhardt et al. 2015). Die Galactopoese beschreibt die Aufrechterhaltung der Milchsynthese und -sekretion nach ihrem initialen Einsetzen. Insbesondere beim Rind sind in die Regulation dieser Prozesse die Hormone der somatotropen Achse, growth hormone (GH) und insulin like growth factor 1 (IGF1), deren Konzentrationen um den Geburtszeitpunkt steigen (Abb. 4), eingebunden. Davis et al. (1988) konnten durch die subkutane Applikation von GH bei Rindern eine Steigerung der Milchsynthese um 21% erzielen, die unter anderem auf eine verstärkte Euterdurchblutung zurückzuführen war. Weiterhin ist unter Berücksichtigung der hohen Milchleistung vor allem in den ersten Laktationswochen die Bereitstellung von Glucose zur Lactoseproduktion von entscheidender Bedeutung. Dabei kommt es durch eine postpartal verminderte Insulinsekretion und -sensitivität der peripheren Gewebe und gleichzeitig gegenläufig regulierte Glucagonsekretion zu einer Bevorzugung der insulinunabhängigen Milchdrüse bei der Glucosebereitstellung (Abb. 5).

Die weitere Galactopoese und damit Milchleistung über den Laktationsverlauf kann beim Rind wesentlich durch die Melkfrequenz beeinflusst werden. Bei einem Vergleich mehrerer Studien, die sich mit den Auswirkungen unterschiedlicher Melkfrequenzen auf die Gesamtmilchleistung sowie die Milchinhaltsstoffe befassen, war festzustellen, dass beispielsweise der dreimalige Milchentzug pro Tag zu einer Steigerung der täglichen Milchmenge um 3,5 kg gegenüber einer Melkfrequenz von zweimal pro Tag führte (Erdman und Varner 1995).

Bezüglich der Regulation der Synthese der einzelnen Milchbestandteile besteht im Fall des Milchproteins ein stimulierender Effekt von Insulin auf die Gesamtproteinmenge (Griinari et al. 1997) sowie auf die Expression der Casein- und Molkenproteingene (Menzies et al. 2009). Die Milchfettmenge im Gesamtmilch kann wesentlich über die Fütterung beeinflusst werden: eine rohfaserarme, konzentrat- und damit energiedichte Ration reduzierte in einer Studie von Bauman und Griinari (2003) den Milchfettgehalt um fast 50%. Der zugrundeliegende Mechanismus ist nach derzeitiger Auffassung eine unvollständige

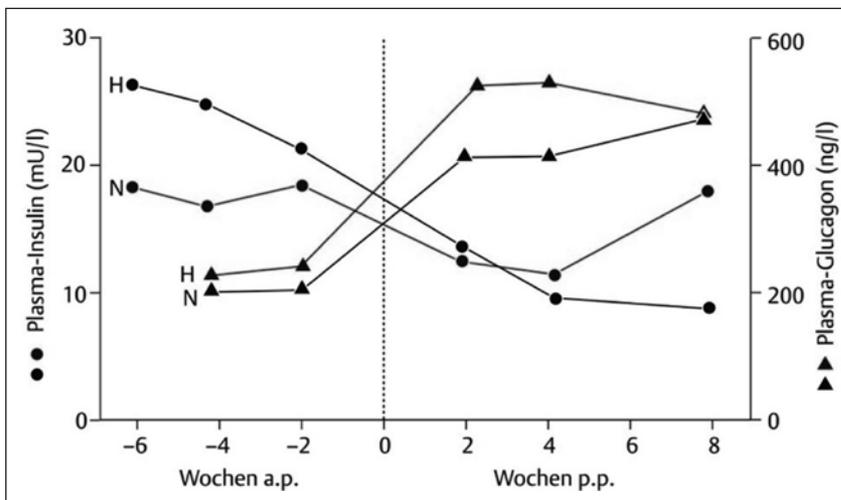


Abbildung 5: Peripartale Blutplasmaspiegel von Insulin und Glucagon bei HF-Färsen mit hoher (H: 2404 kg) und niedriger (N: 1669 kg) 100 -Tage - Milchleistung. (von Engelhardt et al. 2015).

ruminale Biohydrierung von Linolsäure durch fütterungsbedingt niedrige Pansen-pH-Werte, so dass Linolsäure vermehrt zu trans-10,cis-12 Linolsäure konjugiert wird, die in der Lage ist die Milchfettsynthese zu hemmen.

Inwieweit die Aufnahme von Phosphat und Calcium einer (hormonellen) Regulation unterliegt, ist weiterhin Gegenstand der Forschung. Ohne Kenntnis des zugrunde liegenden Mechanismus konnte beobachtet werden, dass die Behandlung von murinen Euterepithelzellen mit $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, der biologisch aktivsten Form des Vitamin D, zu einer Akkumulation von Calcium führte (Mezzetti et al. 1988). Weiterhin ließ sich die Calcium- wie auch die Phosphatsekretion in die Milch bei Ziegen durch ein weiteres calciotropes Hormon, das Parathormon-related-Protein (PTHrP), stimulieren (Barlet et al. 1992).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in den letzten Jahren stetig gestiegene Milchleistung bei den in Deutschland dominierenden Milchkuhrassen auf der eng mit dem Gesamtmetabolismus verknüpften präzisen Regulation der Milchinhaltsstoffe und damit Milchmenge basiert. Dabei spielt neben genetischen und somit rassebedingten Faktoren auch die Beeinflussung der Milchleistung durch unterschiedliche Managementmaßnahmen wie Fütterungskonzepte und Melkfrequenz sowie die hormonelle Regulation über Sexual- und insbesondere während der Persistenz der Laktation Stoffwechselformone, eine entscheidende Rolle.

Die vor dem Hintergrund ihrer Inhaltsstoffe und hohem Gehalt an Mineralstoffen als äußerst wertvolles Lebensmittel anzusehende Milch erfährt zurzeit insbesondere in Niedersachsen bezogen auf den aktuellen Auszahlungspreis von nur 23,11 ct/kg, leider in keiner Hinsicht produktionskostendeckende oder angemessene Wertschätzung.

Literaturverzeichnis

Barlet JP, Champredon C, Coxam V et al. (1992) Parathyroid hormone-related peptide might stimulate calcium secretion into the milk of goats. *J Endocrinol.* 1992 Mar;132(3):353-9.

Bauman und Grinari (2003) Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu Rev Nutr* 23:203-27.

Breves G und Rodehutsord M (2000) Gibt es Grenzen in der Zucht auf Milchleistung? Aus der Sicht der Physiologie. 27. Viehwirtschaftliche Fachtagung, BAL Gumpenstein.

Davis et al. (1988) Effects of thyroxine and growth hormone treatment of dairy cows on milk yield, cardiac output and mammary blood flow. *J Anim Sci*, 66(1):70-9.

Erdman RA und Varner M (1995) Fixed yield responses to increased milking frequency. *J Dairy Sci*, 78(5):1199-203.

de Kruijff A, Mansfeld R und Hoedemarker M (2007) Tierärztliche Bestandesbetreuung beim Milchrind. 2. Auflage, Stuttgart, Enke Verlag, S.127-129.

Grinari et al. (1997) The role of insulin in the regulation of milk protein synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci* 80(10):2361-71.

Holt C und Jenness R (1984) Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 77(2):275-82.

Huber K, Muscher A und Breves G (2007) Sodium-dependent phosphate transport across the apical membrane of alveolar epithelium in caprine mammary gland. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 146(2):215-22.

Kamphues J. et al. (2014) Supplemente zur Tierernährung. 12. überarbeitete Auflage, Hannover, M. & H. Schaper GmbH; ISBN: 978-3-7944-0240-3.

Kronfeld DS, Raggi F und Ramberg CF Jr (1968) Mammary blood flow and ketone body metabolism in normal, fasted, and ketotic cows. *Am J Physiol*, 215(1):218-27.

Manzenreiter H, Fürst-Waltl B, Egger-Dannner C et al. (2013) Zur Eignung des Gehalts an Milchinhaltstoffen als Ketoseindikator. 40. Viehwirtschaftliche Fachtagung 2013, 9-19. ISBN: 978-3-902559-93-7

Menzies KK, Lefevre C, Macmillan KL et al. (2009) Insulin regulates milk protein synthesis at multiple levels in the bovine mammary gland. *Funct Integr Genomics*, 9(2):197-217.

Mezzetti G, Monti MG, Casolo LP et al. (1988) 1,25-Dihydroxycholecalciferol-dependent calcium uptake by mouse mammary gland in culture. *Endocrinology*, 122(2):389-94.

Neville MC, Selker F, Semple K et al. (1981) ATP-dependent calcium transport by a Golgi-enriched membrane fraction from mouse mammary gland. *J Membr Biol*, 61(2):97-105.

Neville MC, Keller RP, Casey C et al. (1994) Calcium partitioning in human and bovine milk. *J Dairy Sci*, 77(7):1964-75.

Petri A, Müschen H, Breves G et al. (1988): Response of lactating goats to low phosphorus intake. 2. Nitrogen transfer from rumen ammonia to rumen microbes and proportion of milk protein derived from microbial amino acids. *J Agric Sci*, 111(2), 265-271.

Shennan DB und Peaker M (2000) Transport of milk constituents by the mammary gland. *Physiol Rev*, 80(3):925-51.

Shillingford JM, Calvert DT, Beechey RB, Shennan DB (1996) Phosphate transport via Na⁺-Pi cotransport and anion exchange in lactating rat mammary tissue. *Exp Physiol*, 81(2):273-84.

Virk SS, Kirk CJ und Shears SB (1985) Ca²⁺ transport and Ca²⁺-dependent ATP hydrolysis by Golgi vesicles from lactating rat mammary glands. *Biochem J*, 226(3):741-8.

von Engelhardt, W., G. Breves, M. Diener und G. Gäbel (2015). *Physiologie der Haustiere*. 5. Auflage Stuttgart, Enke Verlag.

Diskussion



SWALVE, HALLE

Ich habe eine konkrete Frage zum Thema Fett:Eiweiß-Quotient. Damit habe ich ein bisschen Probleme, weil ich glaube, dass wir den nicht unabhängig vom Laktationsstadium sehen können. Was mich stört, sind die Studien, die einfach Fett:Eiweiß-Quotienten über die gesamte Laktation berechnen, aber der Aussagewert des Fett:Eiweiß-Quotienten ist für meinen Geschmack und das was wir untersucht haben, hängt davon ab, zu welchem Zeitpunkt man ihn berechnet. Ganz am Anfang der Laktation, etwas weiter in die Laktation hinein, und der schlechteste Wert wäre eigentlich der Mittelwert über die ganze Laktation. Das sind unsere Ergebnisse. Die zweite Frage ist. Wenn wir den mal in Beziehung zu anderen Merkmalen betrachten meinetwegen Korrelation zu anderen Merkmalen rechnen, dann stellen wir immer wieder fest, es verhält sich eigentlich genau wie der Fettgehalt. Es ist ja auch klar, woran das liegt. Fettgehalt hat viel mehr Varianz als Eiweißgehalt. Müsste man da nicht eine Art von Entkopplung dieser Varienzen machen, so dass man einen besseren Parameter daraus machen könnte.

ANTWORT

Zum ersten Punkt: ich kann da zustimmen. Am prägnantesten ist vielleicht auch dieses Beispiel eines signifikant erhöhten Fett:Eiweiß-Quotienten im Zusammenhang beispielsweise, was ich als eine Möglichkeit angegeben hatte, Fettmobilisation und Ketose. Diese Erkrankungen weisen ja auch schon auf einen

relativ engen Zeitraum der Laktation hin. Ich kann da nur zustimmen. Man müsste das im Grunde angesichts der Variabilität und der gerichteten Veränderung der Fettgehalte natürlich über eine längere Zeit betrachten. Die zweite Frage: Ist, dass der Fett:Eiweiß-Quotient immer variantsmäßig dominiert wird vom Fettgehalt. Ja, da kann ich ihnen nur zustimmen.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Mir ist klar geworden, wie komplex das Geschehen der Laktation ist. Was sind denn die physiologischen Stellgrößen, die bei der Entwicklung dieser enormen Milchleistungssteigerung dazu geführt haben oder mit dieser Steigerung einhergehen? Physiologische Ähnlichkeiten, dass das übers Herz gehen muss. Was sind die Stellgrößen und was sind die Stellgrößen zwischen Zweinutzungs- und direktem Milchrind? Gibt es da auch Unterschiede?

ANTWORT

Bei allgemein akzeptierter Sicht ist ein ganz wesentlicher Aspekt zweifellos der Kohlenhydratstoffwechsel des Tieres, also die Glukoseverfügbarkeit. Ich hatte eingangs auch darauf hingewiesen, wir sehen ja erstaunlicherweise auch über die Laktation und auch im Vergleich der Lactosegehalte die geringste Variabilität. Die Verfügbarkeit der Glukose und damit die Möglichkeit zur Lactose-Synthese ist sicherlich die ganz entscheidende Größe hier. Das deutet auch an, dass das ein Vorgang ist, der sich in der Milchdrüse abspielt und jetzt nicht eine Sache ist, die mit dem

systemischen Kreislauf zu tun hat. Die Distanz zwischen Kreislauf oder Herzzeitvolumen und Funktion der Milchdrüse wäre viel zu groß als dass diese Größe als das Stellglied oder den entscheidenden Faktor darzustellen wäre. Das sind die Prozesse in der Milchdrüse und ich denke, soweit ich das beurteilen kann, wird das allgemein akzeptiert, hat der Kohlenhydratstoffwechsel hier die zentrale Bedeutung.

KALM, KIEL

Sie haben das aufgezeigt, mit den Ziegen, das der Mikrobenproteinanteil etwa 50 % betragen kann. Gibt es da irgendwelche Stellschrauben, dass man das eine oder das andere verbessern oder steigern kann, um eventuell dadurch eine höhere Effizienz in der Fütterung zu erreichen.

ANTWORT

Das ist ein wichtiger Punkt, der auch relativ lange und recht intensiv in der Vergangenheit betrieben worden ist. Man hat versucht, durch ganz bestimmte chemische Behandlungen die Proteinabbaubarkeit des Futterproteins im Vormagensystem einzuschränken und zu reduzieren. Wenn man die Summe der sehr vielen Arbeiten dazu nimmt, hat das nicht wirklich zu einem überzeugenden Ergebnis geführt. Vermutlich deswegen, mit Vorsicht ausgedrückt, weil ein erheblicher Teil dieses vermeintlichen Schutzes von Mikrobendegradation aus irgendwelchen Gründen, die man noch nicht genau weiß, im Vormagensystem wieder verloren geht. Das ist eigentlich die wirkungsvollste Schraube gewesen, über die man das probiert hat, weil damit natürlich ein nicht unerheblicher Teil der Eiweißverdauung wie bei monogastrischen Tieren mehr in den Dünndarm verlegt wird und damit dann die Notwendigkeit für die Mobilisierung von Körperproteinen nicht mehr so hoch ist. Das ist durchaus durchdacht und sinnvoll, aber es funktioniert leider nicht so wie man sich das im quantitativen Sinne vorgestellt hat.

SPIEKERS, GRUB

Zunächst eine Anmerkung zu Herrn Swalve. Wir müssen die Frage über diese Inhaltsstoffe richtig be-

werten, den Kenntnisstand richtig auf den Punkt bringen, und wir werden uns in der Arbeitsgruppe DLG-Fütterungskreis nächste Woche damit beschäftigen und hoffen, dass die Tierzüchter sich da auch mit einbringen. Jetzt zu der Frage, was die tierzüchterischen Möglichkeiten angeht. Auch was Herr Kalm ansprach. Die Frage bei dem Protein. Was können wir da tun. Zwei konkrete Fragen. Ist denkbar, dass Tiere, die mehr Protein im Körper haben, wie z. B. Fleckvieh, stabiler sind, wenn sie entsprechend zu Beginn der Laktation viel Protein brauchen. Und zweitens: Haben wir Unterschiede zwischen Tieren? Das ist interessant, wenn wir uns Fleckvieh und Braunvieh anschauen. Wir haben bei uns in Grub & Achselschwang die Möglichkeit, und wir stellen konkret fest, dass wir bei den Braunviehtieren geringeren Proteinaufwand haben, höhere Eiweißgehalte und geringere Milchlaktatstoffgehalte in der Milch. Da ist die Frage aus physiologischer Sicht. Ist es denkbar, dass wir Unterschiede in der mikrobiellen Effizienz haben, die vielleicht doch durch die Art des Proteins in der Milch erklärbar sind?

ANTWORT

Zur ersten Frage. Ich denke, man darf auch bei der Nutzbarkeit des endogenen Proteins differenzieren, so ähnlich wie das auch bei den Mineralstoffen gut etabliert ist zwischen dem Anteil aus dem Gesamtpool, der schnell verfügbar ist und dem Anteil, der langsamer verfügbar ist. Wenn jetzt diese Unterschiede angesprochen worden sind und bei den Tieren vielleicht der Anteil des Proteinpool im schnell verfügbaren Sinne größer ist, dann würde das selbstverständlich auch zu einer höheren Stabilität, oder anders ausgedrückt, zu einer geringeren Notwendigkeit in der Mobilisierung von Speicherproteinen führen. Das ist denkbar.

Was die Effizienz des mikrobiellen Stoffwechsels angeht, nehme ich an, dass du dich jetzt ausschließlich auf das Vormagensystem bezogen hast. Wir haben hier einen ganz wichtigen Parameter, diesen sogenannten Y_{ATP} -Wert, der anzeigt, wohin der Mikrobenstoffwechsel geht. Ob mehr in Richtung fermentativer Endprodukte oder mehr in Richtung Synthesepro-

dukte, also kurzkettige Fettsäuren, einerseits, oder Mikrobenprotein andererseits. Das ist eine zweiseitige Sache. Wenn ich nochmal an die Relevanz des Kohlenhydratstoffwechsels denke, wäre natürlich ein Y_{ATP} -Wert, bei dem weniger an fermentativen Endprodukten gebildet wird, nicht gerade besonders wünschenswert, weil das die Verfügbarkeit der Gluconeogenese-Vorläufer einschränken würde. Dann habe ich, wenn ich hier viele habe, nicht so viel Mikrobenprotein und umgekehrt. Es ist schwierig, abschließend zu beurteilen.

GROSS, BERN

Sie haben am Rande die Produktionserkrankungen angesprochen, die nach der Abkalbung auftreten. Wir haben heute und gestern gesehen, dass in den letzten Jahrzehnten eine sehr deutliche Steigerung auf mehr Milch erfolgt ist. Gibt es aber jetzt nicht auch mehr Futteraufnahme, auf mehr Gluconeogenese usw. Was kann die Ernährung und Physiologie noch verbessern?

ANTWORT

Da sind wir bei einem grundsätzlichen Thema. Es gibt ja viele epidemiologisch ausgerichtete Daten, wo beispielsweise die Wahrscheinlichkeit im Auftreten bestimmter Erkrankungen als Funktion der Leistung dargestellt wird, und das sind alles Zusammenhänge, die in irgendeiner mathematischen Funktion meist nicht linear nach oben gehen mit zunehmender Milchleistung. Aber, sie betreffen niemals 100 % der Population. Das ist ja der interessante und auch der faszinierende Punkt. Aus diesen Daten ist auch zu postulieren, dass ein nicht unbeträchtlicher Anteil in der Population besteht, die diesen Herausforderungen offenbar gewachsen sind. Nur worin die Mechanismen dieses Unterschiedes bestehen, das ist etwa, was wir grundlegend aufklären müssen, und in diese Richtung sollte auch Forschung in den nächsten Jahren gehen. Da wissen wir zu wenig.

ZEBELI, WIEN

Sie haben erklärt, wie groß diese Leistung für die ganzjährig produzierenden Kühe ist. Natürlich ist die

se Leistung verbunden mit einer großen Menge an Wärme, Extrawärmeproduktion. Kannst du kurz ein Statement geben, inwieweit der Stoffwechsel der Kuh oder der laktierenden Tiere, inwieweit sie mit dieser großen Extrawärmebelastung zu Recht kommen können bzw. inwieweit das für die weitere Steigerung der Effizienz wichtig sein kann, diese Extrawärmeproduktion.

ANTWORT

Das ist ein wichtiger Punkt, der sich in den letzten 30 Jahren auch in Verbindung mit den heute üblichen und modernen Stallbautechniken glücklicherweise grundlegend verändert hat. Wir sind viele Jahrzehnte von viel zu hohen Umgebungstemperaturen ausgegangen in der Haltung der Wiederkäuer, weil einfach nicht wirklich realisiert wurde, wo die Indifferenztemperaturen der Kühe liegen. Aufgrund dieses Vormagenstoffwechsels und vor allem der enormen Wärmebildung im Vormagen ist ja die Indifferenztemperatur nicht mehr sehr weit von 0 Grad Celsius entfernt. Das ist ein bisschen extrem, aber dicht darüber. So gesehen sind natürlich Haltungsmöglichkeiten, wo dem Wärmehaushalt nicht gerecht werden kann, sehr sehr kritisch. Ich denke, das hat mittlerweile auch eine entsprechende Akzeptanz gefunden und Wahrnehmung auch. Das erklärt auch aus diesem Aspekt warum ganzjährige Anbindehaltung im Stall natürlich nicht optimal (sondern katastrophal) ist und das Leistungspotential damit natürlich auch, denn ich reduziere ja die Leistung.

COENEN, LEIPZIG

Bei Hitzestress kommt es zu einem Abfall der Milchleistung. Die kann nur zu einem relativ bescheidenen Teil durch Reduktion der Futteraufnahme geklärt werden. Welches Regelwerk zeichnet für den Rest verantwortlich?

ANTWORT

Gute Frage. Erster Gedanke, wenn ich jetzt die Energiestufen durchgehe und dann auf die Ebene der umsetzbaren Energie komme, dann habe ich die Net-

to-Energie und die thermische Energie, die unter den Bedingungen natürlich sehr gering werden sollte. Ich fürchte, ich kann diese Frage nicht genau beantworten. Es muss irgendetwas intermediäres sein, tut mir leid, kann ich so aus dem Stehgreif nicht beantworten.

BRUCKMAIER, BERN

Zu den Unterschieden zwischen Rassen und generell. Ich glaube, es ist ja ziemlich gesichert, dass es Unterschiede gibt, also auch bei Fleischrindern. Milchkühe haben viel höhere Wachstumshormonkonzentrationen, viel höhere IGF1-Konzentrationen. Man hat lange Zeit gezüchtet, ohne das zu wissen, hat aber dann von der anderen Seite gefunden, dass Wachstumshormone gar nicht so gut helfen, um die Leistungen zu steigern. Was ich noch einbringen wollte. Wir haben so ein bisschen die Lehrbuchsituation. Sie haben das auch so gezeigt. Glut1 ist der Glucosetransporter der Milchdrüse, insulinunabhängig und es gibt einige neuere Studien, die zeigen, dass der Glut1 im Verlauf der Laktation verschwindet oder richtig nach unten geht und eigentlich gleich Glut4 nach oben geht, was dazu führt, dass die Milchdrüse zunehmend ein Teil der Homöostase wird über die Laktation. Auch so glaubt man, dass man die Laktationskurve der Wiederkäuer anschaut, natürlich sogar der Rückgang der Milchleistung vielleicht sogar gewollt ist, um aus dem Kalb, für das die Milch gemacht wird, einen Wiederkäuer zu machen. Dass das Kalb gezwungen wird, auch Pflanzen und pflanzliche Nahrung aufzunehmen. Von der Stabilität bei der Tiergesundheit angekommen. Ich habe das Gefühl, wir müssen auf diese Transportmechanismen mehr schauen. Es ist auch ganz klar, wenn man in einer fortgeschrittenen Laktation eine Futterrestriktion macht, wie in der Studie von Herrn Gross gezeigt, dann führt das eben nicht zu diesen massiven Stoffwechselentgleisungen, sondern zu einer ganz simplen Milchleistungsdepression. Das ist ja ein Schutzmechanismus, den wir am Laktationsbeginn nicht haben und der ein Fortschreiten ab der 10. Woche einsetzt. Da sollten wir in der Forschung ein bisschen mehr

darauf schauen, ob es dann auch individuelle Unterschiede gibt.

ANTWORT

Mir ist dies wohl bekannt. Ich bin aus Zeitgründen nicht auf die Details eingegangen. Die Frage der Insulinunabhängigkeit der Milchdrüse ist eine für sich sehr komplexe Frage. Es ist sehr wohl dokumentiert, dass im Laufe der Laktation auch insulinabhängige Glucosetransportsysteme exprimiert werden. Nun ist der große Vorteil von diesem Glut1, dass er besonders gut in der Lage ist, diesem hohen Bedarf an Glucose gerecht zu werden durch eine sehr hohe Transportkapazität. Der Mechanismus ist zweifelsohne physiologisch sinnvoll, wenn dann andere Organe vorübergehend etwas reduziert versorgt werden, zumal andere Möglichkeiten bestehen, was das Aufrechterhalten des Energiestoffwechsels angeht. Zum zweiten Punkt stimme ich ihnen auch vollkommen zu. Ich habe auch aus diesen Gründen dieses einfache Schema hier gezeigt, wie wir experimentell bei den Ziegen rangegangen sind. Man kann sehr wohl mit eigentlich relativ einfachen Methoden auf diese Expressionsebene eingehen und hat damit wunderbare Werkzeuge in der Hand, um in Abhängigkeit vom Laktationsstadium oder den Rassemertkmalen etc. auf die Phänomenologie solcher Systeme einzugehen und dies zu untersuchen. Wir haben das bisher auch nur auf der Ebene des Phosphattransports gemacht, weil es als Elektrolyt eine große Rolle spielt. Das ist natürlich für viele andere Transportsysteme auch möglich.

RODEHUTSCORD, HOHENHEIM

Da sollte man diesen Ansatz wählen, das sollte auch so auf funktioneller Ebene charakterisiert werden. Dazu müssen wir auf die zelluläre Ebene gehen und die Kapazität aller beteiligten Mechanismen, die irgendwie mit Tieren sein können nutzen, um zu charakterisieren, in der Hoffnung, solche Veränderungen zu finden. Das ist aber wichtige Arbeit, die vor uns liegt.

Wachstum: Produkt-relevante Gewebe, Wachstumsverläufe und –regulation



Einleitung

Im biologischen Sinne sind unter dem Begriff Wachstum alle Prozesse zu verstehen, die Veränderungen der Größe, Form und Zusammensetzung eines Organismus betreffen. Im Allgemeinen wird damit eine Größen- bzw. Massenzunahme assoziiert, jedoch sind auch Vorgänge wie die Rückbildung oder der Ersatz von Geweben, der innergewebliche Zellturnover sowie die Mobilisierung von Körperreserven in die Betrachtungen einzubeziehen. Wachstum ist Grundlage sämtlicher Nutztierleistungen. Für die Mast- und Schlachtleistung ist die Bedeutung des Wachstums offensichtlich; Wachstumsvorgänge sind aber auch hinsichtlich Reproduktion und Laktation relevant: zum einen sind dies lokale Wachstumsvorgänge wie das Follikelwachstum und die Ausbildung der Milchdrüse, zum anderen aber auch die bekannten Assoziationen zwischen der allgemeinen Gewichtsentwicklung und beispielsweise dem Pubertätsbeginn.

In der folgenden Übersicht werden die Grundlagen der Entstehung und Entwicklung von den Gewebe zusammengefasst, die im Sinne der Produktion von Lebensmitteln tierischer Herkunft hauptsächlich relevant sind. Der aktuelle Kenntnisstand über die wechselseitigen Beziehungen zwischen den Gewebetypen und deren Einbindung in hormonelle Regulationsmechanismen, bei denen die betreffenden Gewebe nicht nur passive, sondern auch aktive Akteure sein können, bildet den zweiten Schwerpunkt der Übersicht. Alle Darstellungen sind auf die Säugetierspezies

fokussiert, wobei insbesondere das Rind im Mittelpunkt steht.

Produkt-relevante Gewebe

Hinsichtlich der Fleischproduktion sind die hauptsächlich interessantesten Gewebe die Skelettmuskulatur, das (weiße) Fettgewebe sowie die Stützgewebe, also Knorpel und Knochen. Die den Erlös bestimmenden Kriterien sind neben der Ausschachtung und dem Fleischanteil das Verhältnis von Muskel- und Fettgewebe am Schlachtkörper, wobei große Unterschiede zwischen Rassen, Ernährungsstatus, Schlachtagter und Geschlecht bestehen. Hingegen ist der Knochenanteil in Relation zum Körpergewicht vergleichsweise konstant; im Folgenden werden die Stützgewebe nicht weiter berücksichtigt.

Die Wachstumsentwicklung steht auch in engem Zusammenhang zur Reproduktion, die wiederum die Voraussetzung für sämtliche Nutztierleistungen ist. Bekanntlich steht der Beginn der Pubertät in stärkerem Zusammenhang mit der körperlichen Entwicklung und hier besonders mit einem gewissen Körperfettanteil, als mit dem chronologischen Alter. Bereits 1945 wurde das Zusammentreffen des Pubertätsbeginns mit dem Wendepunkt der Wachstumskurve, an dem sich die Körperzusammensetzung von Muskel in Richtung Fettansatz verändert, beim Rind erkannt (Brody 1945). Die entsprechenden Signale sind jedoch bis heute nicht eindeutig identifiziert, so gelang es beispielsweise nicht mit Injektionen von Leptin, einem Hormon aus dem Fettgewebe, das positiv mit

dem Körperfettgehalt korreliert, bei knapp gefütterten Zebu-Färsen den Beginn der Ovaritätigkeit vorzuzulegen (Carvalho et al., 2013). Die Fruchtbarkeit von sehr fetten oder sehr mageren Tieren ist in der Regel eingeschränkt; bei Milchkühen wurde gezeigt, dass bei den Tieren, die vor der Geburt überkonditioniert waren, und deshalb einen überproportionalen Verlust an Körperkondition zu Beginn der Laktation aufwiesen, die Zeit bis zur erfolgreichen Etablierung einer Trächtigkeit gegenüber normalkonditionierten Tieren verlängert ist (u.a. Cordoso et al., 2013). Das Körperwachstum hat auch Einfluss auf die Entwicklung der Milchdrüse und damit die spätere Milchleistung. Bei intensiver Fütterung von Aufzuchtälbern vor der Pubertät wurden in den letzten Jahren eine begünstigte Entwicklung des Milchdrüsenparenchyms berichtet (Brown et al., 2005; Geiger et al., 2016); dabei sind aber Körpergewicht und Alter offenbar wichtigere Determinanten für die Entwicklung auch der histologischen Charakteristika des Milchdrüsenparenchyms als es die Wachstumsrate ist (Daniels et al., 2009; Meyer et al., 2006 a,b).

Entstehung und Wachstum von Muskel- und Fettgewebe

Sowohl das Muskel- wie auch das Fettgewebe sind mesenchymalen Ursprungs.

Die Muskulatur wird aus dem paraxialen Mesoderm der Somiten gebildet (Tzahor, 2009). Während der frühen Embryonalentwicklung differenzieren die paraxialen mesodermalen Zellen zu Muskel-Vorläuferzellen. Kurz nach der Somitogenese werden aus dem Dermomyotom einkernige Myoblasten gebildet. Aus dieser Anfangsphase entsteht der frühe Muskel, der auch als primäres Myotom bezeichnet wird, und der neben dem Dermomyotom lokalisiert ist. Die Myoblasten proliferieren, werden post-mitotisch, verlängern sich und fusionieren miteinander, um Myotuben zu bilden, die sich wiederum weiter zu Muskelfasern entwickeln. Die aus dem somitischen Dermomyotom entstandenen Myoblastentypen können - wie oben erwähnt - myotomale Zellen bilden; sie können sich aber auch zu Myoblasten entwickeln,

die Vorläufer von embryonalen und fötalen Myoblasten sowie von Satellitenzellen sind (Tajbakhsh 2005; Biressi et al., 2007). Satellitenzellen sind die einzigen, noch teilungsfähigen Myoblasten, die auch nach der Geburt, wenn die Entwicklung der Muskelfaserzahl abgeschlossen ist, Muskelfasern verlängern und regenerieren können. Während der Myogenese erhalten die Muskelfaserzellen ihre spezifischen kontraktilen und metabolischen Eigenschaften und differenzieren so zu den verschiedenen Muskelfasertypen. Während der Fötalentwicklung geschieht das Muskelwachstum primär über Hyperplasie; am Ende des zweiten Trächtigkeitsdrittels ist die Anzahl der Muskelfasern beim Rind festgelegt und das weitere Wachstum ist ausschließlich auf Hypertrophie zurückzuführen, wobei die Satellitenzellen mit schon vorhandenen Muskelfaserzellen verschmelzen können (s. z.B. Übersicht von Bonnet et al., 2010).

Der entwicklungsgeschichtliche Ursprung der Fettzellen ist weniger genau bekannt, jedoch gehen die Adipozyten auf einen mesenchymalen Stammzelltypus zurück, aus dem sowohl weiße wie auch braune Adipozyten hervorgehen können (Bosnakovski et al., 2005; Gregoire et al., 1998). Ausdifferenzierte weiße Fettzellen sind mit einem großen Lipidtropfen gefüllt (uniloculare Zelle); Zellkern, Cytosol und Organellen werden an den Rand der Zelle gedrängt, so dass daraus die typische Siegelring-Form dieser Zellen resultiert. Wenn das gespeicherte Fett mobilisiert wird, werden die Fettsäuren aus der Lipolyse ins Blut abgegeben und können von anderen Körperzellen zur Energiegewinnung genutzt werden. In braunen Adipozyten liegen hingegen mehrere kleine Fetttröpfchen vor (multiloculare oder plurivakuoläre Zellen); diese Zellen sind reich an Mitochondrien und oxidieren freigesetzte Fettsäuren direkt in der Zelle, wobei aufgrund der zelltypischen Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung über uncoupling protein-1 (UCP-1 oder Thermogenin) Wärme erzeugt wird. Abgesehen von Winterschlaf haltenden Tierarten ist diese Fähigkeit zur zitterfreien Thermogenese besonders für Neugeborene wichtig; für Erwachsene wur-

de lange angenommen, dass kein braunes Fett mehr vorkommt. Mit der Identifizierung von funktionalem braunen Fettgewebe in erwachsenen Menschen sowie dem Nachweis von dessen Induzierbarkeit sind braune Adipozyten sehr stark in den Fokus des Interesses gerückt. Die in weißem Fettgewebe auftretenden sogenannten „beigen“ Adipozyten (auch als *brite* (d.h. *brown in white*) oder induzierbare braune Adipozyten bezeichnet) gelten als vielversprechender Ansatzpunkt zur Behandlung des meist mit Übergewicht und Diabetes-Typ-2 gekoppelten metabolischen Syndroms beim Menschen (Übersicht s. z.B. Carey & Kingwell, 2013). Der hierbei erwünschte Effekte eines erhöhten Energieverbrauchs stehen den unerwünschten kachektischen Zuständen bei verschiedenen Krebsarten entgegen, für die auch ein Zusammenhang mit einer Aktivierung brauner Fettzellen angenommen wird (Beijer et al., 2012). Neben der Annahme eines den weißen und braunen Adipozyten gemeinsamen Stammzelltypus gibt es auch jüngere Hinweise auf spezifische Vorläufer für jeweils braune oder weiße Adipozyten (Seale et al., 2008).

Die aus den mesenchymalen Stammzellen entstandenen Adipoblasten proliferieren und müssen aber, bevor sie final differenzieren können, eine Unterbrechung des Zellzyklus („growth arrest“, G2/S-Phase) durchlaufen. In dieser Zeit werden sie zu Präadipozyten (Boone et al., 2000). Am Ende der zweiten Stufe der Adipogenese erfolgt schließlich die terminale Differenzierung.

Ähnlich wie Muskulatur entsteht Fettgewebe an vielen, anatomisch unterschiedlichen Lokalisationen. Generell wird in viszerales, subkutanes und muskuläres Fettgewebe unterteilt. Hyperplasie dominiert während des fötalen und des frühen postnatalen Wachstum, kann aber auch während späterer Stadien und im ausgewachsenen Tier vorkommen. Im retroperitonealen Fett (v.a. Nierenfett) findet beim Rind postnatal keine Hyperplasie mehr statt, wohingegen das intermuskuläre Fett einen relativ höheren Anteil an Hyperplasie als das omentale oder das subkutane Fett aufweist (Vernon et al., 1986); Schätzungen zufolge versechsfacht sich die Zahl der Adipozyten beim

Rind vom Ende der Fötalphase bis zum Erreichen des adulten Status (Robelin & Casteilla, 1990). Die Hypertrophie beginnt während der Fötalzeit und trägt hauptsächlich postnatal zum Wachstum der einzelnen Fettdepots bei. Die Fähigkeit zur Hypertrophie ist bei weißen Adipozyten besonders ausgeprägt und differiert ebenfalls zwischen den einzelnen Depots: während es im retroperitonealen Fett zu mehr als 100-fachen Volumenzunahmen der Adipozyten kommen kann, ist in anderen Fettdepots nur von 4- bis 10-fachen Vergrößerungen auszugehen (Vernon et al., 1986). Hinsichtlich der Entwicklung von braunem und weißem Fettgewebe wird angenommen, dass beim fötalen Kalb und Lamm das meiste Fettgewebe braun ist und sich innerhalb der ersten Lebensstage in weißes Fett umwandelt (Casteilla et al., 1987, 1989), wobei unklar blieb, ob braune Fettzellen zu weißen umgewandelt werden, oder ob die braunen Adipozyten zugrunde gehen und durch weiße ersetzt werden, oder ob beides zutrifft. Neuere Studien haben jedoch gezeigt, dass retroperitoneales fötales Fettgewebe bereits weiße Fettzellen enthält und diese sogar dominieren (Taga et al., 2011, 2012). Für subkutanes Fett ist hingegen schon lange bekannt, dass es bei Schaf- und Rinderföten weiß ist (Alexander et al., 1975, Gemmel & Alexander, 1978). Das Schwein scheint hingegen zu keiner Zeit, auch nicht während der Fetalzeit, braunes Fett zu entwickeln, weil es kein funktionales UCP-1 exprimiert (Trajhnun et al., 1989; Berg et al., 2006). Die weißen Adipozyten resultieren wahrscheinlich aus der Proliferation und Differenzierung von weißen Präadipozyten. Dennoch kann auch eine Transdifferenzierung von braunen zu weißen Fettzellen geschehen (Kucuk Baloglu et al., 2015), wobei aber noch ungeklärt ist, ob die Geburt eine derartige Transdifferenzierung auslösen kann.

Wachstumsverläufe

Die zeitliche Abfolge und Intensität der dem Wachstum zugrunde liegenden Grundprozesse (Hyperplasie und Hypertrophie, aber auch Differenzierung und Bildung von extrazellulärer Matrix) unterscheidet sich zwischen Muskel- und Fettgewebe. Bereits 1932

zeigte Hammond die Abfolge der relativen Wachstumsintensität verschiedener Gewebe, wonach sich zuerst das Nerven-, dann das Knochen-, daraufhin das Muskelgewebe und erst als Letztes das Fettgewebe entwickelt. Auch innerhalb eines Gewebetyps bestehen solche Unterschiede, wie beispielsweise für das Wachstum der verschiedenen Körperfettdepots oder einzelner Muskeln bzw. Muskelgruppen bekannt. Es resultieren allometrische Wachstumsverläufe, die sich im Vergleich verschiedener Tierarten zwar grundsätzlich ähneln, die aber auch, bedingt durch entsprechende Zuchtwahl, erhebliche Unterschiede auch innerhalb einer Spezies aufweisen können. Allein der Vergleich zwischen Fleisch- und Milchrassen, oder von groß- und kleinrahmigen Fleischrassen beim Rind zeigt, wie unterschiedlich Wachstumsdauer und geschwindigkeit sowohl des Gesamtorganismus als auch der einzelnen Gewebe sein können. Zudem sind diese Wachstumsverläufe auch durch Umweltfaktoren im weiteren Sinne beeinflussbar, wobei auch epigenetische Vorgänge – ausgehend von Prägungsphänomenen während der Fötalphase und der frühen postnatalen Phase – relevant sind.

Die allometrischen Koeffizienten einzelner Muskeln bzw. Muskelpartien (d.h. die Wachstumsrate relativ zum Wachstum des gesamten Körpers) sind für verschiedene Nutztierspezies anhand von umfangreichen Zerlegungsstudien bereits in den 1960-er Jahren beschrieben worden; ebenso wurden die wesentlichen Einflussgrößen charakterisiert (Berg & Butterfield, 1976). Angesichts der seither erzielten Veränderungen der durchschnittlichen Größe sowie der Konformation wäre eine Überprüfung dieser Koeffizienten heute, mehr als 50 Jahre später, an den heutigen Rassen interessant. Die besondere regulative Rolle der Sexualhormone hinsichtlich der Wachstumsintensität einzelner Muskeln wurde an männlichen Zwillingskälbern, von denen jeweils eines intakt, das andere kastriert war, eindrucksvoll gezeigt (Brännang, 1971) und konnte später durch die unterschiedliche Ausstattung mit Sexualhormonrezeptoren in verschiedenen Muskeln zumindest teilweise erklärt werden (Sauerwein & Meyer, 1989).

Fett ist zweifellos das am stärksten variierende Gewebe im Körper; dabei schwankt nicht nur der Gesamtfettanteil, sondern auch dessen Verteilung auf die verschiedenen Depots im Wachstumsverlauf ganz erheblich. Zwar wachsen alle Fettdepots, der höchste Zuwachs wird aber für das intermuskulare Fett sowie das subkutane Fett beobachtet (Johnson et al., 1972). Analoge neuere Daten zum Wachstumsverlauf verschiedener Fettdepots fehlen, die einzige Ausnahme dürfte das intramuskuläre Fett bilden, das in Zusammenhang mit der Fleischmarmorierung als Qualitätskriterium natürlich von besonderem Interesse ist. Im Gegensatz dazu sind das viszerale und subkutane Fett wirtschaftlich unbedeutend, aufgrund des Futteraufwandes auch als negativ zu bewerten, wenngleich sich die natürlichen Abfolgen in der relativen Wachstumsintensität der einzelnen Depots nicht entkoppeln lassen. Um Marmorierung zu erhalten, müssen die übrigen Fettdepots daher „in Kauf genommen“ werden. Die bei gleichem Alter erreichte Marmorierung kann sich bei verschiedenen Rinderrassen erheblich unterscheiden, wobei Rassen mit congenitaler Muskelhypertrophie (Doppellender) besonders geringe intramuskulären Fettgehalte aufweisen (Albrecht et al., 2006). Umgekehrt wurde in einer Rasse mit sehr hohen intramuskulärem Fettanteil, den japanischen Wagyu-Rindern, gezeigt, dass deren Muskelzellen in vitro weniger proliferieren und geringere Expressionsniveaus eines myogenen Transkriptionsfaktors aufweisen, als die von Angusrindern (Coles et al., 2015).

Wachstumsregulation

Die hinsichtlich der Regulation des Wachstums relevanten Hormonsysteme sind in den Grundzügen seit langem bekannt; als endokrine Hauptakteure sind sicherlich das Hormonsystem der somatotropen Achse, Insulin, die Schilddrüsenhormone, Glukokortikoide sowie die Sexualsteroidoide zu nennen. Unser Wissen über die Regulation hat sich aber in den vergangenen Jahren erheblich erweitert: Neben „klassischen“ endokrin vermittelten Wirkungen sind auch auto- bzw. parakrine Mechanismen in Betracht zu ziehen. Zudem ist der Kenntnisstand über die Regulation auf die

Ebene der beteiligten Rezeptoren, der verschiedenen Signalwege und deren Interaktionen nicht zuletzt aufgrund von „omics“-Technologien deutlich gewachsen. Generell gehört hier der Ernährungsstatus bzw. die Nährstoffversorgung zu am stärksten die regulativen Systeme beeinflussenden exogenen Faktoren. Zudem weisen einige Studien auch auf die Bedeutung des intestinalen Mikrobioms für speziell das Fettwachstum (Geurts et al., 2014).

Hinsichtlich der bei Myogenese und Adipogenese beteiligten Transkriptionsfaktoren sei hier nur beispielhaft auf aktuelle Übersichtsarbeiten verwiesen (Bonnet et al., 2010; Campos et al. (2016)). Zudem ist von deutlichen Interaktionen zwischen der frühen Wachstumsentwicklung und der Stoffwechselfundheit und Leistungsfähigkeit in späteren Lebensphasen auszugehen (Du et al., 2015), die als epigenetisches „Programm“ zu verstehen sind. Mit der Entdeckung von Botenstoffen direkt aus dem Fett- und Muskelgewebe (Adipokine und Myokine), und dem sich daraus ergebenden „crosstalk“, ergaben sich neue Facetten der Regulation. Dass Ergebnisse aus der Humanbiologie dabei nicht immer auch für Nutztiere gültig sind, zeigte sich eindrucksvoll am Beispiel von Irisin: dieses Myokin wird durch Bewegung induziert und wird als Spaltprodukt von Fndc5 (Fibronectin type III domain containing 5) in die Zirkulation abgegeben und wirkt im Fettgewebe, wo es die Lipolyse begünstigt, u.a. weil es die Umwandlung von weißen zu beigen Adipozyten stimuliert (Boström et al., 2012). In Untersuchungen am Rind war zwar die Expression von Fndc5 im Muskel auf Ebene der mRNA und des Proteins nachweisbar; im Blut aber kommt Irisin als solches offenbar beim Rind nicht vor, weshalb auch nicht von einer Funktion als Myokin auszugehen ist (Komolka et al., 2014). Hinsichtlich der Transdifferenzierung von Adipozyten sei abschließend noch ein ganz neues Konzept angesprochen, das eine Umwandlung von Adipozyten zu Milchdrüsenzellen beschreibt. Das Drüsenepithel der Milchdrüse entstammt dem Ektoderm. Bis zur Geburt sind aus den Mammarknospen die Zitze, Zitzen- und Drüsenzisterne entstanden, und in der ersten Trächtigkeit

dehnt sich das Gangsystem sowie das umgebende (mesenchymale) Fett und Bindegewebe aus. Dabei sprossen die Gänge in den „fat pad“ ein und erfüllen diesen schließlich. Während der Trächtigkeit und Laktation sinkt der Lipidgehalt der Adipozyten, was als Unterstützung der Milchsynthese angesehen wird; zudem sollen Adipokine das Wachstum und Funktion des Epithels regulieren (s. Übersicht von Inman et al. (2015)). Auf Basis des Nachweises der Transdifferenzierung von Adipozyten zu Alveolarepithelzellen und umgekehrt (Morrone et al., 2004), ist dann von der Arbeitsgruppe um Saviero Cinti, der Begriff „pink adipocytes“ geprägt worden (Giordano et al., 2014). Auch wenn diese Ergebnisse auf Mäusezellen beschränkt sind, bieten sie eine interessante Perspektive um die Interaktion zwischen Fettwachstum und Entwicklung der Milchdrüse auch beim Milchrind nicht nur systemisch sondern auch lokal zu betrachten.

Literaturverzeichnis

- Albrecht, E., F. Teuscher, K. Ender, & J. Wegner. 2006. Growth- and breed-related changes of marbling characteristics in cattle. *J Anim. Sci.* 84(5):1067–1075.
- Alexander, G., J. W. Bennett, & R. T. Gemmel. 1975. Brown adipose tissue in the new-born calf (*Bos taurus*). *J. Physiol.* 244(1):223–234.
- Beijer, E., J. Schoenmakers, G. Vijgen, & F. Kessels, et al. 2012. A role of active brown adipose tissue in cancer cachexia? *Oncology reviews* 6(1):e11.
- Berg, F., U. Gustafson, & L. Andersson. 2006. The uncoupling protein 1 gene (UCP1) is disrupted in the pig lineage: a genetic explanation for poor thermoregulation in piglets. *PLoS Genetics* 2(8):e129.
- Biressi, S., M. Molinaro, & G. Cossu. 2007. Cellular heterogeneity during vertebrate skeletal muscle development. *Dev. Biol.* 308(2):281–293.
- Bonnet, M., I. Cassar-Malek, Y. Chilliard, & B. Picard. 2010. Ontogenesis of muscle and adipose tissues and their interactions in ruminants and other species. *Animal* 4(7):1093–1109.
- Boone, C., J. Mouro, F. Gregoire, & C. Remacle. 2000. The adipose conversion process: regulation by extracellular and intracellular factors. *Reprod. Nutr. Dev.* 40(4):325–358.
- Bosnakovski, D., M. Mizuno, G. Kim, & S. Takagi, et al. 2005. Isolation and multilineage differentiation of bovine bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res.* 319(2):243–253.
- Boström, P., J. Wu, M. P. Jedrychowski, & A. Korde, et al. 2012. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481(7382):463–468.
- Brännäng E. 1971. Studies on monozygous cattle twins: XXIII. The effect of castration and age of castration on the development of single muscles, bones and sexual sex characters. Part II. *Swed. J. Agr. Res.* 1:69–78.

- Brody S. 1945. *Bioenergetics and growth*. Reinhold Publishing Corporation, New York.
- Brown, E. G., M. J. Vandehaar, K. M. Daniels, & J. S. Liesman, et al. 2005. Effect of increasing energy and protein intake on mammary development in heifer calves. *J. Dairy Sci.* 88(2):595–603.
- Campos, C. F., M. S. Duarte, S. E. F. Guimaraes, & L. L. Verardo, et al. 2016. Review: Animal model and the current understanding of molecule dynamics of adipogenesis. *Animal* 10(6):927–932.
- Cardoso, F. C., S. J. LeBlanc, M. R. Murphy, & J. K. Drackley. 2013. Prepartum nutritional strategy affects reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96(9):5859–5871.
- Carey, A. L., & B. A. Kingwell. 2013. Brown adipose tissue in humans: therapeutic potential to combat obesity. *Pharmacol. Ther.* 140(1):26–33.
- Carvalho, M. V., J. Diniz-Magalhães, A. S. Pereira, M. V. Santos & L. F. Silva. 2013. Effect of chronic infusion of leptin and nutrition on sexual maturation of zebu heifers. *J. Anim. Sci.* 91(3):1207-1215.
- Casteilla, L., O. Champigny, F. Bouillaud, J. Robelin, & D. Ricquier. 1989. Sequential changes in the expression of mitochondrial protein mRNA during the development of brown adipose tissue in bovine and ovine species. Sudden occurrence of uncoupling protein mRNA during embryogenesis and its disappearance after birth. *Biochem. J.* 257(3):665–671.
- Casteilla, L., C. Forest, J. Robelin, & D. Ricquier, et al. 1987. Characterization of mitochondrial-uncoupling protein in bovine fetus and newborn calf. *Am. J. Physiol.* 252(5 Pt 1):E627-36.
- Coles, C. A., J. Wadeson, C. P. Leyton, & J. P. Siddell, et al. 2015. Proliferation rates of bovine primary muscle cells relate to liveweight and carcass weight in cattle. *PLoS one* 10(4):e0124468.
- Daniels, K. M., M. L. McGilliard, M. J. Meyer, & M. E. van Amburgh, et al. 2009. Effects of body weight and nutrition on histological mammary development in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 92(2):499–505.
- Du, M., B. Wang, X. Fu, Q. Yang, & M.-J. Zhu. 2015. Fetal programming in meat production. *Meat Sci.* 109:40–47.
- Geiger, A. J., C. L. M. Parsons, R. E. James, & R. M. Akers. 2016. Growth, intake, and health of Holstein heifer calves fed an enhanced preweaning diet with or without postweaning exogenous estrogen. *J. Dairy Sci.* 99(5):3995–4004.
- Gemmell, R. T., & G. Alexander. 1978. Ultrastructural development of adipose tissue in foetal sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 31(5):505–515.
- Geurts, L., A. M. Neyrinck, N. M. Delzenne, C. Knauf, & P. D. Cani. 2014. Gut microbiota controls adipose tissue expansion, gut barrier and glucose metabolism: novel insights into molecular targets and interventions using prebiotics. *Beneficial microbes* 5(1):3–17.
- Giordano, A., A. Smorlesi, A. Frontini, G. Barbatelli, & S. Cinti. 2014. White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur. J. Endocrinol.* 170(5):R159-71.
- Gregoire, F. M., C. M. Smas, & H. S. Sul. 1998. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol. Rev.* 78(3):783–809.
- Hammond J. 1940. *Farm Animals*. Edward Arnold & Co, London.
- Inman, J. L., C. Robertson, J. D. Mott, & M. J. Bissell. 2015. Mammary gland development: cell fate specification, stem cells and the microenvironment. *Development* 142(6):1028–1042.
- Johnson, E. R., R. M. Butterfield, & W. J. Pryor. 1972. Studies of fat distribution in the bovine carcass: I. The partition of fatty tissues between depots. *Austr. J. Agr. Res.* (23):281–288.
- Komolka, K., E. Albrecht, L. Schering, & J. Brenmoehl, et al. 2014. Locus characterization and gene expression of bovine FNDC5: is the myokine irisin relevant in cattle? *PLoS one* 9(1):e88060.
- Kucuk Baloglu, F., S. Garip, S. Heise, G. Brockmann, & F. Severcan. 2015. FTIR imaging of structural changes in visceral and subcutaneous adiposity and brown to white adipocyte transdifferentiation. *Analyst* 140(7):2205–2214.
- Meyer, M. J., A. V. Capuco, D. A. Ross, L. M. Lintault, & M. E. van Amburgh. 2006a. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal bovine mammary gland: II. Epithelial cell proliferation, parenchymal accretion rate, and allometric growth. *J. Dairy Sci.* 89(11):4298–4304.
- Meyer, M. J., A. V. Capuco, D. A. Ross, L. M. Lintault, & M. E. van Amburgh. 2006b. Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: I. Parenchyma and fat pad mass and composition. *J. Dairy Sci.* 89(11):4289–4297.
- Morroni, M., A. Giordano, M. C. Zingaretti, & R. Boiani, et al. 2004. Reversible transdifferentiation of secretory epithelial cells into adipocytes in the mammary gland. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 101(48):16801–16806.
- Robelin, J., & L. Casteilla. 1990. Differentiation, croissance e developpement du tissu adipeux. *Productions Animales*(3):243–254.
- Sauerwein, H., & H. H. Meyer. 1989. Androgen and estrogen receptors in bovine skeletal muscle: relation to steroid-induced allometric muscle growth. *J. Anim. Sci.* 67(1):206–212.
- Seale, P., B. Bjork, W. Yang, & S. Kajimura, et al. 2008. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* 454(7207):961–967.
- Taga, H., M. Bonnet, B. Picard, & M. C. Zingaretti, et al. 2011. Adipocyte metabolism and cellularity are related to differences in adipose tissue maturity between Holstein and Charolais or Blond d'Aquitaine fetuses. *J. Anim. Sci.* 89(3):711–721.
- Taga, H., Y. Chilliard, B. Meunier, & C. Chambon, et al. 2012. Cellular and molecular large-scale features of fetal adipose tissue: is bovine perirenal adipose tissue brown? *J. Cell. Physiol.* 227(4):1688–1700.
- Tajbakhsh, S. 2005. Skeletal muscle stem and progenitor cells: reconciling genetics and lineage. *Exp. Cell Res.* 306(2):364–372.
- Trayhurn, P., N. J. Temple, & J. van Aerde. 1989. Evidence from immunoblotting studies on uncoupling protein that brown adipose tissue is not present in the domestic pig. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67(12):1480–1485.
- Tzahor, E. 2009. Heart and craniofacial muscle development: a new developmental theme of distinct myogenic fields. *Dev. Biol.* 327(2):273–279.
- Vernon RG. The growth and metabolism of adipocytes. In *Control and Manipulation of Animal Growth*. Eds.: P.J. Buttery, N.B. Haynes & D.B. Lindsay; pp 67-83. Butterworths, London, UK.

Diskussion



BREVES, HANNOVER

Eine Frage zur Funktion der Satellitenzellen: Du hast ja herausgestellt im Zusammenhang mit der Kernlieferung im Rahmen der Hypertrophie der Muskelzellen. Das hängt ja sicherlich vom Grad der Hypertrophie ab. Ist eigentlich die Mehrlieferung an Kernen grundsätzlich bei der Hypertrophie da oder muss ein gewisser Schwellenwert sozusagen in der Größenzunahme erst überschritten werden und welches sind dann die Faktoren, die letztlich dann die Satellitenzellen dazu bringen, nun mehr Kerne in diese vergrößerte Muskelzelle zu liefern.

ANTWORT

Die Satellitenzellen sind ja außerhalb des Zellzyklus, wenn sie quasi schlafend daliegen und die klassischen Wachstumsfaktoren, die jetzt sozusagen das Signal geben, wieder zurück in den Zellzyklus zu gehen. Das sind auch diejenigen, die man annimmt. Beispielsweise weiß man auch bei Entzündungsgeschehen, dass hier TNF-alpha zum Beispiel auch stimulieren kann, die Zellen wieder reinzugehen. Was jetzt den Grad der Hypertrophie angeht: Beim Erwachsenen haben wir ja sozusagen kein Längenwachstum mehr der Faserzellen. Hier ist es rein von der Kern-Plasma-Relation her nicht notwendig, jetzt noch weitere Zellkerne zuzugeben. Also der Faktor Längenwachstum. Das stellt man sich so vor, dass das die treibende Kraft ist. Wir haben natürlich auch einen gewissen Turnover von Zellen, also dass auch Zellen sich zurückbilden, dass hier regenerativ was stattfindet, was

aber in den Zellen selber mehr den Protein-Turnover auch bedeuten könnte. Also ob es jetzt eine maximale Größe gibt, wenn man Bodybilder anguckt, was die so an Muskelfasern, das sind ja auch nicht mehr, sondern sie sind einfach größer. Ob da jetzt tatsächlich schon Satellitenfasern angeschoben werden. Ich glaube nein. Das einzige, was man wirklich klassisch nachvollziehen konnte, sind diese Stimulationseffekte von Wachstumsfaktoren, die diese methodische Teilung dann wieder anschieben.

WÄHNER, BERNBURG

Sie haben das Leptin angesprochen. Das Leptin hat bei der Pubertät offenbar keinen großen Einfluss. Wie verhält sich das beim Schwein, bei der Sau? Wir achten in der Konditionierungsphase auf Leptin und auf die Stärke des Unterhautfettgewebes.

ANTWORT

Leptin ist eines der Hormone aus dem Fettgewebe. Ich denke sicherlich, dass wir einen Zusammenhang haben mit dem Fettgehalt im Tier. Es hat sich ja auch beim Schwein und bei den Tierarten, Mensch, wo auch immer, gezeigt, dass der Pubertätseintritt mit dem Körperfettgehalt und Leptin zurzeit einer der Faktoren ist von mehr als 2.000 Faktoren, die identifiziert worden sind, die als Botenstoffe, also als potentielle Stoffe aus dem Fettgewebe kommen. Man hat bei Tieren, wo man verglichen hat, unterschiedlichen Pubertätsbeginn, früher oder später am Leptinspiegel gemessen und hat auch gesehen, dass die, die früher

in die Pubertät kommen, einen höheren Leptinspiegel haben. Ich denke, das ist nur eine Begleiterscheinung von dem ganzen Konzert, was sozusagen an Faktoren aus dem Fettgewebe kommt und das einer allein in so einer Applikation als Spritze dann nicht den Erfolg macht. Das ist sozusagen ein Indikator für die normale Fettentwicklung, das ist sicherlich richtig und ist sicherlich auch beim Schwein richtig.

MAAK, DUMMERSTORF

Sie haben ja die Nischenfettzellen als neue Population angesprochen und da gibt es auch Arbeiten, dass da so eine Art dritte Linie bei Zellen ist, in den eigentlichen Fettzellen. Sie haben auch gezeigt, dass diese Transdifferenzierung ein sehr dynamischer Prozess ist. Sehen Sie da eigentlich ein größeres Potential, dass man energieeffizienter Muskeln erzeugen kann, dass man an dem Tierwohl was machen kann, weil die Thermogenese dann auch mit involviert ist.

ANTWORT

Im Sinne der Produktion wäre ja so was wie beige Fettzellen kontraproduktiv, da wir die Futterenergie eigentlich im Produkt haben wollen und nicht irgendwo als Wärme verlieren wollen. Die zu induzieren ist mit Kälte beispielsweise beim Menschen relativ einfach, auch mit Beta-Agonisten, die wir ja auch schon in den Anabolikaskandalen drin hatten. Das jetzt gezielt zu machen. Der Weg ist ja sozusagen Einbahnstraße. Bisher wissen wir, in weißem Fettgewebe beige Fettzellen zu erzeugen, das geht. Aber warum wir das machen sollten, sehe ich eigentlich nicht, also aus diesen Effizienzüberlegungen.

ZEBELI, WIEN

Sie haben das Knochenwachstum nicht angesprochen. Der Knochen muss dem Wachstum der Muskeln folgen und diese auch tragen. Sie haben das Wachstum beim jungen Tier angesprochen, gibt es Probleme bei dem Zusammenspiel Knochen- und Muskelwachstum aus physiologischer Sicht?

ANTWORT

Ich denke, wenn das proportionales Wachstum ist, so wie wir quasi ein Tier normalerweise wachsen sehen, z.B. in der Wildform, dann sehe ich kein Problem, weil dann der Knochen auch entsprechend mitwächst. Die Probleme, die wir haben, liegen ja eigentlich beim Geflügel, weil es ja einfach klassisch ist, mit diesem riesigen Brustmuskel, wo sozusagen der Knochen dann einfache Probleme hat und auch die ganze Statik nicht zusammen passt. Ich bin auf Knochenwachstum nicht eingegangen. Wir haben natürlich hier auch Faktoren, die sozusagen aus dem Knochen dann wiederum auf die Fettzellen wirken, wo wir hier noch einen Grad der Komplexität haben, wo ich eigentlich schon wieder aussteige, verständnis-mäßig. Es ist sicherlich wichtig, aber ich denke, dadurch, dass wir auch bei sehr unterschiedlichen Fettgehalten, auch bei unterschiedlichen Muskelgehalten, zu mindestens immer beim Rind einen Knochenanteil von 19 % haben, der eigentlich sehr konstant ist. Aus Zeitgründen habe ich diesen Komplex draußen vor gelassen.

GÄBEL, LEIPZIG

Ich würde mal gerne auf die andere Seite der Medaille vom Wachstum eingehen. Sie haben ja auch kurz auf das Negative, was zum einen ist Aroma aus Fett. Nun gibt es ja einen größeren Bereich bei der Humanmedizin aber auch in der Tiermedizin negatives Muskelwachstum im Alter. Also die Muskela-trophie betrifft nicht nur den Menschen, Hund und Katze und nicht nur die Skelettmuskulatur, sondern auch den Schließmuskel. Gilt das auch für die Rinder, die entsprechend alt werden? Und inwieweit werden solche plastischen Atrophieprozesse durch die Züchtung noch zeitlich nach vorne verlagert? Wenn dem tatsächlich der Fall ist.

ANTWORT

Um alte Rinder überhaupt studieren zu können, das wird ein Problem sein. Ich denke schon, dass quasi die Mechanismen, was man aus der Humanforschung auch an solchen Modellen von Maus, Ratte

usw. kennt, dass das prinzipiell genauso greifen könnte und die Vorgänge, was so bewegungsinduzierte Atrophien angeht, das ist sicherlich genauso zutreffend. Ob wir das jetzt vorverlagern, da ist ja die eigentlich spannende Frage. Ich denke schon, dass wir dadurch, dass wir sozusagen den gesamten Stoffwechsel beschleunigen, Turnover-Raten beschleunigen, dass hier auch tatsächlich das aus meiner Sicht möglich erscheint, dass es aber wirklich unbewiesen ist, ob das so ist. Wir haben schon Hinweise darüber, dass die mitochondriale Aktivität bei so Hochleistungstieren eigentlich die Determinante ist und das weiß man dann eigentlich auch beim Menschen. Aber das ist eine wahnsinnig spannende Frage, ob wir versuchen. Man sagt ja beim Menschen auch Energiedefizit, weil man sich ständig so kalorienbewusst ernährt, also nur ganz wenig isst, dass die dann älter werden und auch gesünder älter werden und wenn man dann auch schon keinen Spaß mehr dran hat. Das hätten wir ja auch bei der Kuh allerdings immer nur so phasenweise. Gekoppelt ist der hohe Turnover wahnsinnig spannend, aber das kann ich nicht wirklich beantworten.

BRUCKMAIER, BERN

Ich würde gern noch mal auf die Milchdrüsenentwicklung zurückkommen. Da ist ein bisschen Unordnung ins System gekommen. Es gibt die klassischen Studien, die immer auf die pubertäre Phase eigentlich beschränkt haben. Die da von DK oder von USA, die gezeigt haben, dass die Milchdrüsenanlage weniger perfekt ist und eigentlich mehr epitheliale Zellen gegründet werden, wenn in dieser Phase restriktiv gefüttert wird. Es ist auch etwas, was wir natürlich nur in Alpenländern gern apostrophieren, als großen Vorteil der Alpmung von jungen Rindern. Jetzt kann es ein bisschen mit den neueren Ergebnissen anders herum hergehen, dass die Ad libitum Fütterung, von Kälbern insbesondere, eigentlich mit großer Wahrscheinlichkeit dann zu größeren Milchleistungen führt. Wie passt das zusammen? Stimmt das immer noch alles?

ANTWORT

Es stimmt schon noch. Also die alten Daten sind ja ein anderes Zeitfenster gewesen, wo diese unterschiedliche Fütterung war. Das geht nur beim Thema von gestern, Epigenetik usw. zurück. Da man ja hier also sehr früh, quasi kurz nach der Geburt schon mit diesem Versuch differenzierte Fütterung. Und ich denke, allein die Zahlen, was diese Kälber fressen, wenn man sie lässt, sind schon eindrucksvoll. Ob das dann fürs Kalb wiederum später gut ist, wenn es wieder mehr Milch gibt, ob wir da nicht doch die metabolischen Probleme wieder forcieren. Eigentlich kann diese Mehrleistung auch negative Wirkungen haben, ich wäre mir da nicht so sicher, ob das nur gut ist.

Für mich war es auch überraschend, dass es schon so früh, ein paar Wochen alt, also noch vor dem Absetzen schon allometrisches Wachstum der Milchdrüse geben soll. Das war mir eigentlich neu, obwohl die Daten eigentlich schon alt sind und da offenbar auch ein sensitives Fenster besteht, wenn man da entsprechend rangeht, dass man da etwas verändern kann.

KALM, KIEL

Ich wollte hören, ob sie aufgrund ihrer Erfahrungen, die sie gemacht haben, das Wachstum immer noch mit täglicher Zunahme oder Lebensstagnation den klassischen Merkmalen erfasst werden sollte. Gibt es aus ihrer Sicht Ideen, dass wir in irgendeiner Form physiologische oder regulative Merkmale irgendwie erfassen sollten, um Grenzen oder auch Beeinflussungen genauer zu erfassen?

ANTWORT

Wir sollten das auf jeden Fall nach wie vor tun, die klassischen Größen zu erfassen, weil, je mehr wir molekular werden, umso mehr verlieren wir vielleicht auch den Blick für das Ganze. Aber so lokale Vorgänge, da kann man dann nur im Gewebe etwas machen, um da zu mindestens die Zusammensetzung zu haben und zu schauen auf Dinge, was in der Wachstumsbiologie oder Fleischforschung gern außer Acht gelassen wird, Das ist sozusagen interessant, aber die relative Bedeutung, dass wir ja diese dezentra-

len Depots immer mit erfüllen müssen, um sowas wie Marmorierung zu bekommen, das ist sicherlich nach wie vor gültig und da sollte man auch eher diese Differenzierungsvorgänge angucken, schon lokal und was die Milchdrüse angeht ist natürlich wieder ganz besonders spannend, was diese frühen Vorgänge angeht. Aber da müsste man wirklich lokal gucken, was dort passiert und nicht sich auf systemische Betrachtungen beschränken.

AMMON, BERLIN

Ich hätte eine Frage zur Mammogenese bei den jungen Kälbern. Wir sehen ja auch und es sind noch einige andere Gruppen, dass man durch die Fütterung auch die Hormonachse beeinflussen kann. Es tut sich die Frage auf: Kann das denn gut sein zwischen dem verstärkten Wachstum gerade in den ersten vier bis sechs Wochen schon nach der Geburt und eine Stimulation der somatotropen Achse, wäre sowas denkbar?

ANTWORT

Halt ich schon für denkbar, ja. Die F1 ist ja klassisch-methodisch stimulierend, müsste andere Gewebe auch betreffen. Wir sehen ja auch, dass der Fettpad selber auch größer wird bei solchen Tieren. Es ist sicherlich einer der Player, aber mit Sicherheit nicht der einzige.

Ein Ei pro Tag: Regulation, Reifung und Nährstoffbedarf



Heutige Legehennen produzieren mehr als 300 Eier in einer Legeperiode und die Fähigkeit mehr als 500 Eier zu legen findet sich bereits heute in verschiedenen Pedigree-Linien. Voraussetzung hierfür ist die Fähigkeit kontinuierlich zu ovulieren. Diese Eigenschaft ist bereits beim Bankivahuhn vorhanden, welches wiederholt neue Gelege anlegt, wenn zuvor gelegte Eier durch Räuber verloren gegangen sind. Im Ovar der frisch geschlüpften Legehenne finden sich ca. 12.000 Eizellen (1), von denen aber bei den meisten domestizierten Spezies nur ca. 250-500 vollständig heranreifen und zur Ovulation kommen. Mit Beginn der Legereife findet sich eine hierarchische Anordnung der Follikel, wodurch die tägliche Reifung eines einzigen Follikels zum präovulatorischen Follikel gewährleistet wird (2). Beim geschlechtsreifen Huhn finden sich zahlreiche, etwa 1 mm große Primordialfollikel im Cortex des Ovars. Aus diesem Pool ruhender Follikel reifen einzelne zu Primärfollikeln und weiter zu prä-hierarchischen Follikeln heran, von denen wiederum täglich ein Follikel zur terminalen Reifung selektiert wird. Die Regulation dieser Vorgänge ist nur in Ansätzen verstanden. Vermutet wird ein Verlust hemmender Signale auf den FSH-Rezeptor der Granulosazellen einzelner prä-hierarchischen Follikel. Die damit einsetzende FSH-Wirkung führt zur Bildung von Steroidhormonen und anti-apoptotischer Proteine (erhöhte Überlebensrate follikelassoziierter Zellen). Schließlich kommt es zu einem Umschalten von der FSH-Rezeptordominanz zur LH-Rezeptordominanz und zur Anreicherung des Dotters im rei-

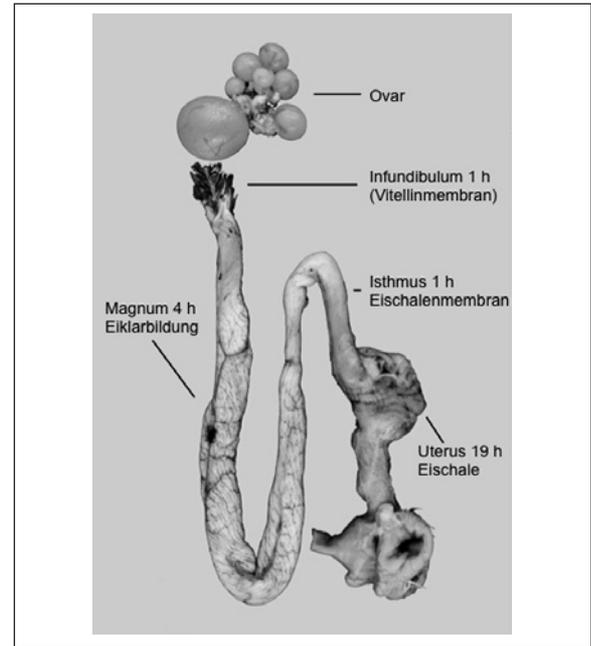
fenden Follikel. Primordialfollikel werden initial zur Oberfläche des ovariellen Cortex rekrutiert. Über den Follikelstiel erfolgt die vaskuläre und nervale Versorgung. Im Ovar kann man zahlreiche dieser 2-6 mm großen, mit weißem Dotter gefüllten Primärfollikel und mehrere 6-8 mm große prä-hierarchische Follikel finden. Die terminale Reifung zum prä-ovulatorischen Follikel erfolgt dann über einen Zeitraum von 4-6 Tagen. Sie geht mit der Einlagerung von etwa 2 g gelbem Dotter pro Tag einher und ist 24 Stunden vor der Ovulation abgeschlossen.

Dotter besteht zu 36% aus Fett (65% Triacylglyceride, 31% Phospholipide, 4% Cholesterin) und zu 17% aus Eiweiß (14% Serumalbumin = -Livetin, 41% Glycoproteine = -Livetin, 45% IgY = -Livetin), der übrige Anteil ist Wasser. Kohlenhydrate, Vitamine und anorganische Verbindungen finden sich nur in geringem Maße (< 1%). Die charakteristische Farbe wird durch Carotinoide, insbesondere durch Xanthophylle hervorgebracht (1). Fette und Eiweiße werden in der Leber synthetisiert und auf dem Blutweg zum Ovar transportiert. Von den reifenden Follikeln gebildetes Östrogen und Testosteron induzieren die Fett- und Proteinsynthese in der Leber. Die Fettfraktion wird in Form der Very Low Density Lipoproteine (VLDL) transportiert und durch Rezeptor vermittelte Endozytose in den Follikel sezerniert. Der Rezeptor LR8 ist in hoher Dichte in der Eizellmembran exprimiert. Er transportiert nicht nur VLDLs sondern auch Proteine und Protein assoziierte Vitamine. Hennen mit einer Mutationen im LR8 Gen zeigen eine Hyperlipidämie,

können aber die Blutfettfraktion nicht in die Eizelle transportieren, was zur Sterilität der Tiere führt. Als einziges Protein des Dotters wird das Immunglobulin Y (IgY) nicht in der Leber, sondern von Plasmazellen gebildet (3). Der Transfer der Antikörper aus dem Blut in die Eizelle erfolgt durch einen spezifischen Rezeptor in der Eizellmembran, den der Mannose-Rezeptor-Familie zugehörigen FcRY (4). Die Zusammensetzung der Dotter-IgY Fraktion entspricht daher der der im Blut zirkulierenden Antikörper. Insgesamt finden sich etwa 100 mg IgY im Dotter, welches somit eine hervorragende Quelle für Antikörper zur Diagnostik und Therapie darstellt.

Die Ovulation des reifen Follikels erfolgt 15-60 Minuten nach der letzten Eiablage. Im Bereich des Stigmas kommt es am Follikel durch Proteolyse der Extrazellulärmatrix zur Ruptur und so zum Follikelsprung. Ausgelöst wird die Ovulation durch einen Anstieg der Progesteronkonzentration im Blut ca. 4-6 Stunden vor dem Follikelsprung. Dieses wird überwiegend durch die Granulosazellen des größten prä-ovulatorischen Follikels gebildet. Der Progesteronanstieg induziert die Ausschüttung des luteinisierenden Hormons (LH) aus der Adenohypophyse, seine Plasamakonzentration erreicht parallel zum Progesteron (4-6 Stunden vor der Ovulation) den Maximalwert. LH induziert den Abbau der Extrazellulärmatrix und damit den Follikelsprung. Neben den genannten Faktoren sind zahlreiche weitere Hormone und Zytokine an der Regulation der Follikelreifung und Ovulation beteiligt. Eine Liste der bekannten Faktoren findet sich in (5). Eine Folge der hohen Ovulationsration bei der Legehennen ist die häufige Bildung von ovariellen Adenokarzinomen. 30-35% der Legehennen im Alter von über 2,5 Jahren bilden diese Tumore. Da Hennen nur selten bis zu diesem Alter gehalten werden, werden ovarielle Tumore unter kommerziellen Bedingungen nur ausnahmsweise beobachtet. Allerdings stellt die Legehennen das einzige spontane Tiermodell für vergleichbare Tumore bei der Frau dar (6).

Der ovulierte Follikel wird vom Infundibulum aufgefangen (siehe Abbildung). In diesem Abschnitt



des Reproduktionstrakts finden auch die Befruchtung und die Bildung der Vitellinmembran statt. Während der weiteren Passage durch den Reproduktionstrakt kommt es schrittweise zur Bildung des Eiklars im Magnum, der Eischalenmembran im Isthmus und der Kalkschale im Uterus. Von der Ovulation bis zur Eiablage dauert es bei der Legehennen 24-27 Stunden. Wie bereits erwähnt, erfolgt der nächste Follikelsprung ca. 15-60 Minuten nach der Eiablage.

Für die Bildung der Vitellinmembran verweilt der Follikel etwa eine Stunde im Infundibulum. Die Vitellinmembran ähnelt der Zona pellucida der Säugers, sie trennt die Eizelle vom Eiklar. Darüber hinaus bildet sie eine Abwehrbarriere durch den vergleichsweise hohen Gehalt an antimikrobiellen Proteinen (β -Defensin, Lysozym, Proteasen). Proteomische Studien haben 137 verschiedene Proteine in der Vitellinmembran identifiziert. Von diesen ist allerdings nur ein kleiner Teil funktionell charakterisiert (7)

Während der etwa 4-stündigen Passage durch das Magnum wird das Eiklar gebildet. Dieses besteht zu 88% aus Wasser, 90% der Trockenmasse sind Proteine, 6% Mineralstoffe und 3,5% nicht gebundene Glucose. Im Gegensatz zur Bildung der Dotterbestandteile, die (mit Ausnahme der Immunglobuline) alle aus der Leber stammen, werden die Eiklarproteine ausschließlich im Magnum gebildet. Die tubulären Drüsen bilden Ovalbumin, Ovotransferrin, Ovomucoid und Lysozym, während die Becherzellen Ovomucin und Avidin synthetisieren. Die Bildung, nicht aber die Sekretion der Proteine, wird durch Östrogen und Progesteron gesteuert und findet auch statt, wenn kein Ei im Magnum ist. Die Passage des Eies durch das Magnum induziert aber die Ausschüttung der in den Drüsenzellen gespeicherten Protein haltigen Vesikel, ein Vorgang der weder hormonell noch neural reguliert ist. Zahlreiche Proteine im Eiklar haben anti-mikrobielle Eigenschaften, wie etwa das Avidin, das Cystatin und die Defensine. Schließlich kommt es noch zur Sekretion von Wasser und damit zur partiellen Hydrierung des Eiklars (8).

Mit Übertritt in den Isthmus beginnt die Bildung der inneren und äußeren Eischalenhäute (1-2 Stunden). Sie liegen eng aneinander, lediglich am runden Ende trennen sie sich um die Luftkammer zu formen. Die Eischalenhäute bestehen aus einem Netzwerk von Proteinfasern. Sie enthalten 10% Collagen und 75% Proteine und Glycoproteine. Während die Eischalenhäute für Eiklar impermeabel sind, erlauben sie den Durchtritt von Wasser, Gasen (Sauerstoff) und Mineralstoffen. Auf ihrer äußeren Oberfläche bilden sich Projektionen (Mamillary Cores) aus Proteinen, Kohlenhydraten und Mucopolysacchariden. Sie bilden die Stellen, an denen die Kalkschalenbildung beginnt.

Nach dem Übertritt des Eis in den Uterus kommt es zunächst zu einer weiteren Hydrierung des Eiklars. Wasser wird über die Eischalenhäute in das Eiklar „gepumpt“. Dieser Vorgang führt zu einem Anschwellen des Eies, sodass die endgültige ovoide Form entsteht und sich das Ei eng an die Uteruswand

anlegt. Während der folgenden 12-14 Stunden wird im Uterus durch Sekretion einer organischen Matrix aus Glycoproteinen und Mucopolysacchariden und deren Kalzifizierung die Eischale gebildet (9). Diese besteht aus etwa 2g Calcium in Form von Calcitkristallen (CaCO_3 , welches aus dem Blut in den Uterus sezerniert wird). Hierzu muss der Blut-Calcium-Pool alle 12 Minuten erneuert werden. Eine Henne sezerniert so in einer Legeperiode (300 Eier) etwa 1,8 kg Calcium, was in etwa ihrem eigenen Körpergewicht entspricht. 60-80% des benötigten Calciums resorbiert die Henne während der Eischalenbildung aus dem Darm. 20-40% des Calciums werden bei der empfohlenen Gabe von 3,6-4,0% Calcium im Futter aus dem in dieser Phase aus dem Knochen mobilisiert. Die enterale Resorption wird durch 1,25-Dihydroxycholecalciferol ($1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$) reguliert, die Mobilisierung aus dem Knochen durch $1,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ und Parathormon (PTH). Befindet sich kein Ei im Uterus wird das enteral resorbierte Calcium zum Auffüllen der zuvor entleerten Knochenspeicher genutzt. Hierzu besitzt die Henne eine spezielle Form der Knochenmatrix, den medullären Knochen. Etwa zwei Wochen vor Beginn der Legereife bildet sich unter dem Einfluss von Östrogen und Testosteron in den Röhrenknochen ein feines Maschenwerk aus Knochenmatrix welches etwa 12% des gesamt Knochen Calciums enthält. Der medulläre Knochen trägt nicht zur Stabilität des Knochens bei. Allerdings kann sein Calcium etwa 10-mal schneller mobilisiert werden, als das Calcium aus dem corticalen Knochen.

Während der Eischalenbildung wird Calcium von den Epitelzellen des Uterus aus dem Blut aufgenommen und gegen einen Konzentrationsgradienten in das Uteruslumen sezerniert. Ca^{2+} wird aus dem Blut über einen Ca^{2+} -Kanal aufgenommen, intrazellulär an Calbindin 28K gebunden, zur apikalen Membran transportiert und hier mit Hilfe einer Ca^{2+} -Pumpe und eines $\text{Ca}^{2+}\text{-Na}^+$ -Austauschers gegen den Konzentrationsgradienten sezerniert. Zudem wird Ca^{2+} aktiv in das endoplasmatische Retikulum aufgenommen und von dort nach Bedarf abgegeben. Diese Speicherung und die Bindung an Calbindin gewährleisten

eine niedrige Konzentration an freiem Ca^{2+} welche für das Überleben der Zellen notwendig ist. Bicarbonat (HCO_3^-) wird intrazellulär aus Wasser und CO_2 unter dem Einfluss der Carboanhydrase gebildet und apikal über einen $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ - Austauscher sezerniert. Im Uteruslumen kommt es dann zur Reaktion von Ca^{2+} und HCO_3^- zu CaCO_3 . Transkriptomische und proteomische Studien haben in den letzten Jahren zur Identifizierung zahlreicher bisher unbekannter Transportproteine im Uterusepithel der Legehenne geführt. Das zuvor beschriebene Modell stellt daher eine starke Vereinfachung der tatsächlichen Situation dar und wird in den kommenden Jahren sicher weiter ergänzt und verfeinert werden (10)AC.

Die äußere Ei-Oberfläche wird von einer wachsartigen Schicht aus Polysacchariden, Lipiden und Proteinen, der Cuticula überzogen. Viele der bisher identifizierten etwa 50 Proteine haben anti-mikrobielle Eigenschaften und Verhindern das Eindringen von Mikroorganismen. Zudem verhindert die Cuticula den Verlust von Wasser aus dem Ei.

Die Eiablage beginnt mit dem Übertritt des Eis aus dem Uterus in die Vagina und wird durch die Neurohypophysenhormone Oxytocin und Arginin-Vasotocin und durch Prostaglandine aus dem Ovar gesteuert.

Die Omics-Technologien haben in den letzten Jahren zur Identifizierung einer großen Zahl an bisher nicht beschriebenen Proteinen der Vitellinmembran, des Eiklars, der Schalenhaut und der organischen Matrix der Eischale geführt. Für viele dieser Proteine ist die Funktion noch unbekannt (7, 10, 11). Die neuen Methoden der funktionellen Genomanalyse, wie etwa das „Genome Editing“ mit CRISPER/Cas9 sollten aber in den kommenden Jahren helfen sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* effiziente Funktionsanalysen durchführen zu können.

Literaturverzeichnis

1. Nys Y & Guyot N (2011) Egg formation and chemistry. *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products*, eds Nys Y, Bain M, & Van Immerseel F (Woodhead Publishing), pp 83-132.
2. Johnson AL & Woods DC (2007) Ovarian dynamics and follicle development. *Reproductive Biology and Phylogeny of aves*, ed Jamieson BGM (Science Publishers Inc.), pp 243-277.
3. Härtle S, Magor KE, Göbel TW, Davison F, & Kaspers B (2014) Structure and evolution of avian immunoglobulins. *Avian Immunology*, eds Schat K, Kaspers B, & Kaiser P (Elsevier, Amsterdam), pp 103-120.
4. Tesar DB, Cheung EJ, & Bjorkman PJ (2008) The chicken yolk sac IgY receptor, a mammalian mannose receptor family member, transcytoses IgY across polarized epithelial cells. *Molecular biology of the cell* 19(4):1587-1593.
5. Johnson AL (2015) Reproduction in the female. *Sturkie's Avian Physiology*, ed Scanes CG (Elsevier, Amsterdam), Sixth Ed, pp 635 - 665.
6. Johnson PA, Stephens CS, & Giles JR (2015) The domestic chicken: Causes and consequences of an egg a day. *Poultry science* 94(4):816-820.
7. Mann K, Macek B, & Olsen JV (2006) Proteomic analysis of the acid-soluble organic matrix of the chicken calcified eggshell layer. *Proteomics* 6(13):3801-3810.
8. Etches RJ (1996) *Reproduction in Poultry* (Wallingford; CAB International).
9. Nys Y, Hincke MT, Arias JL, Garcia-Ruiz JM, & Solomon SE (1999) Avian eggshell mineralization. *Avian and poultry Biology Reviews* 10:143-166.
10. Jonchere V, *et al.* (2010) Gene expression profiling to identify eggshell proteins involved in physical defense of the chicken egg. *BMC genomics* 11:57.
11. Mann K & Mann M (2011) In-depth analysis of the chicken egg white proteome using an LTQ Orbitrap Velos. *Proteome science* 9(1):7.

Diskussion



ASCHENBACH, BERLIN

Du sagtest ja, die Regulation, wie die Eifrequenz, es sind noch viele viele offene Fragen. Wie ist denn der Rückkopplungsmechanismus, wenn im Uterus noch ein Ei liegt, was zum Beispiel stecken bleibt. Was man auch öfter mal hat. Gibt es einen Rückkopplungsmechanismus, der dann sagt, mach mal Stopp, neue Ovulationen jetzt zuzulassen oder werden dort trotzdem ovuliert, die dann resorbiert werden?

ANTWORT

Ich weiß keinen Rückkopplungsmechanismus, die dann nochmal ovulieren. Es gibt auch Doppeldottereier. Die müssen dann zweimal ovulieren. Aber wenn ein Ei schon weit im Magnum steckt, dann gibt es eine Reihe von Mechanismen, die die weitere Ovulation stoppen. Was trotzdem vorkommen kann in seltenen Fällen, dass der Regulationsmechanismus ausfällt, weiß ich nicht. Aber die Doppeldotter, die müssen mehr oder weniger zeitnah ovulieren, denn die werden ja von der normalen Membran einer normalen Eiklarhülle umgeben. Das kann nicht passieren, wenn ich schon weit den Produktsubstrakt runter sinkt.

GROSS, BERN

Sehen Sie einen Zusammenhang mit steigender Legeleistung und Leberbelastung oder Fettleber?

ANTWORT

Da sollte man vielleicht die Genetiker fragen. Es gibt solche Zusammenhänge, die sind beschrieben. Es ist ja auffällig, wenn sie Blut von einer Legehennen nehmen, wie fettreich allein schon das Blut ist, das ist total lipämisch. Wenn sie für den Unterricht einmal lipämisches Blut brauchen, dann nehmen Sie das von der Legehennen. Das ist total trüb. Der Fettstoffwechsel wird massiv angeworfen in der Leber und die Verfettung der Leber ist ja beschrieben, aber ob das direkt korreliert mit der Legeleistung, das kann ich nicht sagen. Da müsste man die Genetiker fragen.

METGES, DUMMERSTORF

Sie haben gezeigt, dass die Glukosekonzentration sehr gering ist im Dotter, die war wohl bei 2 %.

ANTWORT

Im Dotter ist sie sehr gering, unter 1%.

METGES, DUMMERSTORF

Wie ist es denn im Vergleich zum Säugetier? Ist dann Glukose der wichtigste Energielieferant für die Entwicklung des Fötus? Wie ist das denn beim Vogel? Macht der dann sehr viel oder wird da irgendwie auch mehr Fett oxidiert? Was weiß man darüber?

ANTWORT

Im Eiklar ist ja die Glukosekonzentration an freier Glukose sowieso höher. Das ist das Erste. Das Zweite ist, in erheblichem Maße sind gebundene Kohlenhy-

drate, abgelagerte Glukoproteine. Was eine gute Quelle ist für Kohlenhydrate. Der Energiebedarf wird im Wesentlichen aus dem Fett gedeckt. Deswegen auch diese enormen Mengen an Fett, die in den Dotter rein ziseliert werden für die Entwicklung.

BRUCKMAIER, BERN

Ich verstehe eigentlich nur ein bisschen was von Milchdrüsen. Dies gibt eine Verbindung zur Milchbildung /Eibildung. Beide brauchen ziemlich viel Calcium, für das Ei, das Huhn die hinterlässt die Kurve. Wenn ich jetzt den Mechanismus richtig verstanden habe für die Calciumregulation, ist es eigentlich eine Regulation, die systemisch daherkommt. Wahrscheinlich, wenn viel Calcium verbraucht wird, werden Vitamin D und Parathormon aktiviert, sekundär, wahrscheinlich aus dem Abfall. In der Milchdrüse ist in letzter Zeit doch sehr stark in den Vordergrund getreten, dass die Milchdrüse einen Bedarf pro aktiv selber anmeldet, reguliert über Serotonin und Parathormon und Protein, so dass es eigentlich zu diesem Abfall gar nicht kommt. Es wäre eigentlich nicht unwahrscheinlich, dass es bei den Vögeln auch so einen Mechanismus gibt oder es wäre zumindest schlau, wenn es so einen geben würde.

ANTWORT

Das kann ich aber nicht sagen, ob es so einen schlauen Mechanismus gibt. Mir ist er jedenfalls nicht bekannt. Da müsste man mal nachlesen. Aber grundsätzlich spielen die gleichen Mitspieler eine Rolle, 1,25-Dihydroxy. Auch die Einzel-Dihydroxylierung findet genauso in der Niere statt. Das Parathormon spielt eine Rolle für die Mobilisierung. Da gibt es eigentlich keinen so riesengroßen Unterschied, wie jetzt der Aufbau des metolierenden Knochens, der in diesem 24-Stunden-Rhythmus reguliert wird. Der einfachste Mechanismus, den man sich ja vorstellen kann, ist, wenn die weiterhin massiv Calcium resorbieren, dann steigt die Blut-Calcium-Konzentration, was automatisch dazu führen kann, dass man mehr Calcium in den Knochen einlagert. Also die Regulation über die Blut-Calcium-Konzentration. Sobald

die Eischalenbildung beginnt und Calcium aus dem Blut herausgenommen wird, muss halt nachgeschoben werden, was primär aber über die Resorption, muss man wirklich sagen, dass die Resorption aus dem Darm erfolgt.

BRUCKMAIER, BERN

Schlussfrage: Dieses Wechselspiel mit modulierenden Knochen von Mobilisation und via Einlagerung. Gibt es da irgendwelche Hinweise, dass das mit zunehmender Alterung limitiert ist?

ANTWORT

Über die Phase, wo die Hühner in der Lage sind, diese 300 Eier zu produzieren, ist das nicht limitiert. Ich weiß noch, wie das bei alten Hühnern ist. Wir reden immer von alten Hühnern. Wenn wir Broiler angucken, haben wir ja gar keine alten Hühner, das sind ja Kinder. Wenn wir Legehennen angucken, sind das natürlich ältere Tiere, die sind ja sexual reif, aber ich mache Immunologie beim Huhn. Da frage ich, kein Immunologe hat sich jemals eine Legehenne angeguckt. Es ist schon eigentlich ganz hygienisch, wie das alles bei der Legehenne geht. Da hat sich nie einer dafür interessiert. Ich könnte mir vorstellen, dass ziemlich viele von den Mechanismen mit dem Immunsystem interagieren. Ein Beispiel, was so eine Sache wäre. Wenn ich Zeit hätte und Geld bekäme und Leute, dann würde ich mir jetzt mal jene Cytokine angucken, die im Stoffwechsel und in der BZ-Biologie noch eine Rolle spielen, die sowohl für den Knochenmetabolismus als auch für den Immunsystemmetabolismus eine Rolle spielen. Das würde mich interessieren, wie da das Wechselspiel wäre. Aber da muss man erst mal die ganzen Tools entwickeln. Wir wissen, die Gene sind da, aber, was sie machen, weiß keiner. Übrigens interessant ist. Es wurde ja über Leptin geredet. Das ist auch so eine interessante hühnerspezifische Geschichte. Wenn man die Literatur aufschlägt, steht da drinnen, Leptin gibt es beim Huhn nicht, wie zig andere Gene, die es beim Huhn nicht gibt. Aber so ganz langsam, mit der zunehmenden Zahl an Vogelsequenzen, die wir bekom-

men. Ich sage ausdrücklich Vogelsequenzen, weil, im Moment stehen etwa von 100 verschiedenen Spezies wie die Genomsequenzen zur Verfügung. Manche sind besser, manche sind schlechter, einige sind viel besser, als die vom Huhn, muss man sagen. Beginnen wir langsam solche Gene zu finden und Leptin ist da. Also die Sequenz für Leptin ist da und da muss man es jetzt auch klonieren und die Tools machen, um studieren zu können, welche Rolle mag das auch in diesem Fettmetabolismus spielen.

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Ich habe noch eine Frage zum Alter. Sie haben darauf hingewiesen, dass die Eizellen schon lange vor der Geburt angelegt sind. Gibt es Hinweise darauf, dass die Qualität der Eier, die länger rumliegen, also unbenutzt rumliegen, abnimmt oder sich verändert?

ANTWORT

Da gibt es ja zwei Qualitätsparameter. Der eine ist, das Ei von seiner nutritiven Zusammensetzung für den Konsum des Menschen ändert die sich. Das ist soweit ich weiß wesentlich der Fall ein bisschen in der Zusammensetzung. Im Verlauf der Legeperiode werden die Eier ja größer, die Schalenhärte nimmt ab, die Genetiker selektieren dagegen. Das sind aber reine technologische Probleme. Dass, wenn die Schale nicht so hart ist, kann man die nicht so gut packen. Ich soll eine schnelle Antwort geben. Das andere sind Reproduktionsprobleme und das weiß ich jetzt nicht.

GÄBEL, LEIPZIG

Wie wird denn verhindert, dass die Calciumkarbonat-Bildung schon intrazellulär stattfindet? Das ist ja ein wahnsinniger Turnover, und vor allem, die Zelle ist ja auch sehr alkalisch. Ist das nur das Calcium oder liefert eventuell das neue Modell da Erklärungen? Weil in dem alten Modell würde ich erwarten, dass die Zelle komplett verknöchert oder verkalzifiziert.

ANTWORT

Es hängt wahrscheinlich davon ab, wie hoch wirklich die intrazellulären Calciumspiegel sind, also wie

schnell das reinkommt, wenn das auf der anderen Seite wieder rausgebracht wird. Aber ja. Das wurde in dem Paper diskutiert, dass dieser endoplasmatische Speicher ein Puffersystem in dem Kontext darstellt. Es gibt aber keine funktionellen Studien dazu.

BREVES, HANNOVER

Man muss wohl sehr vorsichtig sein, und ich möchte hier zu ein bisschen Zurückhaltung raten. Diese klassischen Konzepte, was den Calcium- und Phosphathaushalt in Verbindung mit den regulativen Aspekten, also Vitamin-D-Hormonsystem, Parathormon und so weiter angeht, von Säugern auf das Geflügel zu übertragen. Wir wissen aus vielen funktionellen Studien, die auch molekularbiologisch belegt sind, dass viele der Elemente, die wir vom Säuger kennen, so beim Geflügel, und dies gilt sowohl für Broiler als auch für Legehennen, zu mindestens, wenn sie jung sind, nicht zutreffen. Eine interessante Fragestellung ist hier, Stichwort Alter noch mal: Werden diese Elemente vielleicht relevanter, wenn man die Vorgänge an älteren Legehennen untersucht? Das wissen wir noch nicht genau. Aber zu mindestens bei jungen ist es eindeutig so, dass sie diese Mechanismen eigentlich nicht nennenswert benötigen. Das ist sehr überraschend, aber es ist ein Befund.

ANTWORT

Welche Mechanismen. Sie brauchen ja genauso den Vitamin-D-Metabolismus und die Mechanismen für Vitamin D zumindest soweit ich das gesehen haben, die beschrieben sind für die Resorption von Calcium im Darm. Die sind ja relativ ähnlich.

BREVES, HANNOVER

Diese stimulierenden Effekte sind eben nicht erforderlich über das Vitamin-D-Hormonsystem. Das ist das Interessante. Die Elemente sind da, aber die Steuerung ist eine andere.

Genetische Modulation der Ernährungsphysiologie



Einleitung

Die biochemischen Abläufe des Stoffwechsels aller bekannter Lebensformen sind ein hochkomplexes Zusammenspiel aus einer Vielzahl kataboler und anaboler Prozesse, das sich über Jahrmillionen Evolutionsgeschichte entwickelt und bis heute in ein breites Spektrum angepasster Metabolismus-Typen differenziert hat (Allen et al. 2002). Betrachtet man jedoch einzelne Teilprozesse und ihre funktionellen Bestandteile, wie z.B. Enzyme, Rezeptoren usw., so ist zu erkennen, dass diese über evolutionäre Zeiträume hinweg in ihrer Struktur oftmals hoch konserviert sind und selbst bei weit entfernten Lebensformen deutliche Ähnlichkeiten aufweisen (Liu et al. 2001).

Vor diesem Hintergrund erscheint es sehr schwierig, mittels züchterischer Maßnahmen die Ernährungsphysiologie von Nutztieren grundlegend zu verändern. Gerade direkte Eingriffe in die hochempfindlichen Strukturen der funktionellen Proteine dürften in der Regel deren Funktion beeinträchtigen. Dennoch zeigt die Züchtungshistorie landwirtschaftlicher Nutztiere, dass eine Veränderung von Stoffwechselprozessen zumindest in der Gesamtbilanz möglich ist. Anders ist die kontinuierliche Leistungssteigerung landwirtschaftlicher Nutztiere nicht zu erklären (Elsik et al. 2009). Im Folgenden soll auf die zugrundeliegenden Wechselwirkungen zwischen der Genetik und der Ernährungsphysiologie exemplarisch eingegangen werden. Ein besonderer Schwerpunkt liegt dabei auf der Effizienz, mit der die Nährstoffe und die Energie des Futters über den Stoffwechsel der Nutztiere

in Produkte transformiert werden (z.B. Zuwachs an Körpergewebe, Milch, Eier), denn dies ist eines der wesentlichen Leistungskriterien der zukünftigen Tierproduktion (Windisch et al. 2013).

Effekt von Leistungshöhe und Zusammensetzung der Produkte

Genetische Unterschiede in der Leistungshöhe von Nutztieren sind stets mit einer veränderten Effizienz der Nährstofftransformation vom Futter in das Produkt (Schlachtkörper, Milch, Eier) korreliert. Grundsätzlich steigt die Effizienz der Nährstofftransformation mit zunehmender „produktiver“ Leistungshöhe im Verhältnis zum „unproduktiven“ Erhaltungsumsatz, der in der Ernährung der Tiere stets mitzutragen ist. Noch stärker wird dieser Effekt, wenn im Falle einer limitierten Kapazität der Futteraufnahme zusätzlich körpereigene Nährstoffreserven zur Aufrechterhaltung einer hohen Leistung mobilisiert werden (Kirchgessner et al. 1991; Veerkamp 1998). Dies ist ein alltägliches Phänomen, etwa bei Zuchtsauen mit hohen Ferkelzahlen oder bei Hochleistungskühen am Gipfel der Laktation. Die positive Wirkung auf die Effizienz der Nährstofftransformation ist allerdings nur scheinbarer Natur, denn die mobilisierten Nährstoffreserven müssen später wieder ersetzt werden, und zwar mit Transformationsverlusten. Langfristig betrachtet sind demnach Produktionsphasen mit Mobilisierung von Körpersubstanz ineffizienter als solche mit unmittelbarer Deckung des Gesamtbedarfs an Nährstoffen durch das aktuell verzehrte Futter.

Darüber hinaus wird die Transformationseffizienz durch systematische Veränderungen der Rationszusammensetzung beeinflusst. Um Limitierungen der Verzehrkapazität zu kompensieren, setzt man mit steigender Leistung in der Regel immer größere Mengen an hochverdaulichen Futterkomponenten ein (z.B. Kraftfutter). Die zunehmende Verdaulichkeit der Gesamtration schlägt sich unmittelbar in einer immer effizienteren Transformation vom Futter in das Produkt nieder.

Veränderungen der Zusammensetzung des tierischen Produkts wirken sich ebenfalls massiv auf die Effizienz der Nährstofftransformation aus. Beispielsweise ist eine höhere Wachstumsleistung in der Regel mit einem verstärkten Ansatz an Muskelprotein im Vergleich zum Zuwachs an Fettgewebe assoziiert, was die Effizienz der Nährstofftransformation deutlich steigert. So liegt der energetische Teilwirkungsgrad der Proteinsynthese etwa ein Drittel unter demjenigen der Fettsynthese. In der Wasserbindung des Körpergewebes übertrifft der Eiweißansatz den Fettansatz jedoch derart stark (ca. 1:4 vs. 4:1), dass der Futterverbrauch je Einheit Gewichtszuwachs beim Muskelgewebe deutlich unter dem der Bildung von Fettgewebe liegt. Die Effizienzen der jeweiligen Teilleistungen des Stoffwechsels bleiben dagegen unverändert (Kyriazakis et al. 1995; Susenbeth et al. 1999). Aus diesen ernährungsphysiologischen Zusammenhängen wird deutlich, dass beispielsweise die Selektion auf Futtereffizienz primär die Zusammensetzung des Zuwachses verändert (z.B. höheres Protein/Fett-Verhältnis im Schlachtkörper) (Herd and Bishop, 2000; Hermes, Luxford et al. 2000)

Insgesamt kann man aus den oben dargestellten Korrelationen zwischen der Höhe und Zusammensetzung der tierischen Leistung und der Transformationseffizienz vom Futter in das Produkt noch keinen unmittelbaren Einfluss der Genetik auf die Ernährungsphysiologie ableiten. Sie entstehen vielmehr indirekt durch eine veränderte Gewichtung unterschiedlich effizienter Teilleistungen des Organismus im Rahmen des Gesamtstoffwechsels. Sie zeigen darüber hinaus, welche methodischen Schwierigkeiten

für den experimentellen Nachweis potenzieller genetischer Einflüsse zu überwinden wären. So müssten die Nährstoffflüsse bzw. Energieumsetzungen sehr detailliert quantifiziert werden, und zwar insbesondere in Bezug auf Teilleistungen mit bekanntlich divergierender Effizienz (z.B. Synthese von Fett und Protein anstelle des pauschalen Merkmals „Wachstum“). Wichtig wäre auch die Haltung der Testtiere unter ceteris paribus Bedingungen, vor allem hinsichtlich der Rationszusammensetzung und der verzehrten Futtermenge, die ihrerseits die aktuelle Größe der Verdauungsorgane und deren Thermogenese moduliert (Webster et al. 1975).

Genetische Modulation der Regulation des Stoffwechsels

Auch wenn die Syntheseeffizienz von Einzelkomponenten des Leistungsstoffwechsels (z.B. Retention von Fett und Eiweiß) wenig variabel zu sein scheint, könnten genetisch bedingte Unterschiede in der Regulation des Stoffwechsels und der daran beteiligten Organe durchaus die Gesamtbilanz an Nährstoffen und an Futterenergie verändern und so die Effizienz der Nährstofftransformation beeinflussen. Solche Effekte könnten beispielsweise den Verdauungstrakt betreffen. Ein anderer Bereich wäre etwa die Höhe des Erhaltungsumsatzes oder auch die Einstellungen des Protein-Turnovers (Synthese vs. Abbau).

Rassebedingte Variationen in den scheinbaren Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe des Futters sind beim Schwein durchaus bekannt (Guixin et al. 1995). Da sie jedoch insbesondere die Faserfraktion des Futters betreffen, scheinen solche Unterschiede primär mit den mikrobiellen Umsetzungen im Enddarm assoziiert zu sein. So wurde beispielsweise für Mastschweine der Deutschen Landrasse im Vergleich zu Pietrain eine höhere Verdaulichkeit des Rohproteins gemessen (Windisch et al. 2000). Der vermeintliche Vorteil wurde jedoch durch eine entsprechend erhöhte Exkretion an Harn-Stickstoff vollständig kompensiert. Als Ursache für Unterschiede in der Verdaulichkeit der Nährstoffe werden neben morphologischen Variationen

auch Schwankungen in der Passagerate des Chymus in Betracht gezogen (Varel et al. 1988).

Der Effekt einer variierenden Verdauungskapazität auf die Gesamteffizienz der tierischen Leistung ist erheblich. Vigors et al. (2016) untersuchten Mastschweine mit hoher bzw. niedriger residueller Futtermittelaufnahme (RFI), also Tiere, die unter Berücksichtigung ihrer individuellen Lebendmasse und ihres Gewichtszuwachses im Vergleich zum aktuellen Stalldurchschnitt viel bzw. wenig Futter verzehrten (oder anders ausgedrückt, Tiere mit einer relativ schlechten bzw. guten Futterverwertung). Sie fanden bei Tieren mit hoher RFI schlechtere Verdaulichkeiten der Trockenmasse, der Energie und des Rohproteins des Futters, ein auf geringere Absorptionsaktivität deutendes Genexpressionsmuster im Dünndarm, sowie eine höhere Bildung von flüchtigen Fettsäuren im Colon in Verbindung mit einer veränderten Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms. Letzteres weist wiederum auf eine Verschiebung der Intensität der Verdauungsvorgänge vom Dünndarm in Richtung Dickdarm hin, wie sie etwa durch eine veränderte Passagerate des Chymus entstehen kann (Varel et al. 1988).

Auch bei Mastrindern, die für eine Generation auf hohe bzw. niedrige residuale Futtermittelaufnahme (RFI) selektiert wurden, zeigte sich eine signifikant negative, phänotypische Korrelation zwischen der RFI und der Verdaulichkeit der Futter-Trockenmasse (Richardson et al. 2004a; Richardson et al. 2004b). Ein genetischer Einfluss konnte dagegen nicht abgesichert werden. Die Autoren zogen weitere Ursachen in Betracht, insbesondere einen höheren Protein-Turnover und/oder eine vermehrte Stressanfälligkeit bei Tieren mit hoher residueller Futtermittelaufnahme.

Insgesamt ist die experimentelle Verwendung der residualen Futtermittelaufnahme mit dem Problem behaftet, dass dieses Merkmal weniger die Ursache, sondern vielmehr die Folge einer unterschiedlichen Verdauungsleistung oder eines durch Stressanfälligkeit veränderten Erhaltungsbedarfs ist. So steht beispielsweise einem Tier mit hoher residueller Futtermittelaufnahme in Wirklichkeit weniger umsetzbare Energie für die Leistung zur Verfügung als a priori aus der

Futtermittelaufnahme geschätzt wurde, so dass sich die Effizienz des Leistungsstoffwechsels von einem Tier mit niedriger residueller Futtermittelaufnahme möglicherweise nicht mehr unterscheidet. Zur Darstellung eventueller genetischer Einflüsse müssten demnach die der Verdaulichkeit, dem Erhaltungsumsatz und dem (Teil) Leistungsumsatz zugehörigen Flüsse an Nährstoffen und an Energie getrennt voneinander quantifiziert werden.

Ein weiterer Bereich möglicher genetischer Einflüsse auf den Stoffwechsel ist der Protein-Turnover. Dieser ist durch den gleichzeitig ablaufenden Vorgang der Proteinsynthese und des Proteinabbaus im Gewebe charakterisiert (Waterlow et al. 1978). Die phänotypisch messbare (Netto)Retention an Protein ist somit der Überschuss der Proteinsynthese gegenüber dem Proteinabbau. Sie liegt beispielsweise bei Mastschweinen in der Größenordnung von etwa 1/3 der insgesamt synthetisierten Proteinmenge. Nachdem die Proteinsynthese relativ energieaufwendig ist, könnten (genetisch bedingte) Verschiebungen der Relationen von Synthese zu Abbau die Gesamteffizienz der Nährstofftransformation beeinflussen.

Beim Vergleich von großrahmigen gegenüber kleinrahmigen Mastrindern beobachten McCarthy et al. (1983) ein insgesamt größeres Volumen des Protein-Turnovers, ohne dass dabei die Relation zwischen Synthese und Abbau verändert wurde. Ähnliche Befunde wurden vom Mastschwein berichtet (Windisch et al. 2000). Bei jungen Lämmern und Mastbroilern, die auf unterschiedlichen Leistungshöhen selektiert wurden, konnten dagegen Oddy (1993) bzw. Tomas et al. (1991) eine im Vergleich zur Proteinsynthese geringere Rate des Proteinabbaus nachweisen. Dies legt genetisch bedingte Unterschiede in der endokrinen Kontrolle des Proteinstoffwechsels nahe.

Genetisch bedingte Einflüsse auf metabolische Kontrollsysteme sind auch in Situationen denkbar, in denen sich der Stoffwechsel in einem Zielkonflikt befindet. So geraten Hochleistungskühe zu Beginn der Laktation oftmals in die Situation einer limitierten Futtermittelaufnahme, die den Gesamtbedarf an Nährstoffen für die „Soll-Leistung“ nicht ausreichend

deckt. Hier steht der Stoffwechsel im Zielkonflikt, entweder den eigenen Körperbestand zu bewahren und die Milchproduktion entsprechend der ungenügenden Nährstoffaufnahme zu reduzieren, oder Körpergewebe zur Aufrechterhaltung der Milchleistung zu opfern (mobilisieren). Tatsächlich realisieren Milchkühe etwa die Hälfte der Differenz zwischen der Soll-Leistung und der über die Futtermittelaufnahme realisierbaren Milchmenge durch Mobilisierung von Körpersubstanz (Kirchgeßner et al. 1991). Die resultierende negative Energiebilanz ist somit Ausdruck der jeweiligen Einstellung des Stoffwechsels im Zielkonflikt zwischen Milchleistung und Erhaltung der eigenen Körpersubstanz. Es ist anzunehmen, dass die Züchtung auf hohe Milchleistung diese Einstellung in Richtung Mobilisierung verschoben hat.

„Personalized nutrition“ von Nutztieren

Unter „personalized nutrition“ von Nutztieren könnte man diejenigen Interaktionen zusammenfassen, bei denen sich genetische Modifikationen punktuell auf den Stoffwechsel auswirken. Solche Zusammenhänge werden derzeit vor allem im Humanbereich unter der Disziplin der „Nutrigenomics“ diskutiert. Dabei wird der Einfluss der Ernährung auf spezielle Faktoren zur Regulation der Energie- und Nährstoffhomöostase untersucht. Gleichzeitig sollen Gene identifiziert werden, die in Verbindung mit ernährungsbedingten Risikoekrankungen stehen (Muller et al. 2003). Diese Fragestellungen werden auch bei landwirtschaftlichen Nutztieren intensiv untersucht (Byrne et al. 2005; Loores et al. 2006).

Punktuelle genetische Variabilitäten mit unmittelbarer ernährungsphysiologischer Auswirkung sind auch bei landwirtschaftlichen Nutztieren verbreitet. Schafe weisen beispielsweise erhebliche rassebedingte Unterschiede in der Toleranz gegenüber hohen Cu-Gehalten des Futters auf. So ist der für Rinder problemlose, futtermittelrechtlich zugelassene Höchstgehalt an Kupfer im Futter (35 mg/kg) für die Rasse Texel im Gegensatz etwa zu Suffolk bereits toxisch (Suttle et al. 2002; Woolliams et al. 1982). Auch bei Rindern scheint die Rasse Angus im Vergleich zu Simmental

zu einer schwächeren Cu-Exkretion über die Galle bzw. zu einer höheren Akkumulation an Kupfer in der Leber zu neigen (Gooneratne et al. 1994; Mullis et al. 2003). Bei hochleistenden Nutztieren müssen der Verdauungstrakt und der Stoffwechsel enorme Leistungen erbringen. Dabei ist es weitgehend unbekannt, inwieweit genetisch bedingte Variationen der Akteure des Stoffwechsels, wie etwa Polymorphismen von Enzymen und Transportproteinen, die Belastungsfähigkeit beeinflussen. So fanden Brugger et al. (2016) im Zusammenhang mit Fütterungsversuchen an Fleckvieh-Bullen zur Absorption von flüchtigen Fettsäuren, für den Transporter MCT4 (Monocarboxylattransporter 4, SLC16A3) in der Pansenschleimhaut bei etwa einem Drittel der Versuchstiere die erwarteten mRNA-Expressionsprofile. Bei den übrigen Tieren war die gesuchte mRNA unabhängig von der Fütterung nicht detektierbar. Der PCR-Primer wurde über die NCBI Datenbank konstruiert (Pruitt et al. 2012). Diese muss nicht notwendigerweise mit dem Genom/Transkriptom von Fleckvieh übereinstimmen, sodass die fehlende Detektion in zwei Dritteln der Versuchstiere auf einen Polymorphismus hinweisen könnte.

Im weiteren Sinne könnte man auch Mastbroiler-Linien mit hoher Wachstumsleistung zum Themenkomplex der „personalized nutrition“ zählen, denn sie sind für eine erhöhte Anfälligkeit für Skelettprobleme bekannt. Zur sicheren Versorgung mit Vitamin D wird hier die Verfütterung des Metaboliten 25(OH)D₃ beworben. Diese Substanz ist deutlich wirksamer als herkömmliches Vitamin D₃ (Soares et al. 1995) und verbessert bei den Hochleistungstieren die zootecnischen Parameter (Yarger et al. 1995). Anscheinend erfordert die fortgesetzte Züchtung auf hohe Wachstumsraten zunehmend spezielle Ernährungskonzepte, die über den Bereich der normalen Futtermittel und ihrer Inhaltsstoffe hinausgehen.

Wechselwirkungen zwischen Genetik, Immunsystem und Mikrobiom

Die Aktivität des Immunsystems beeinflusst die Effizienz der Verwertung von Nährstoffen. So verbraucht die Abwehr biotischer und abiotischer Stres-

soren viel Nährstoffe bzw. Energie und kann den „nicht-produktiven“ Erhaltungsbedarf vorübergehend stark erhöhen (Marais et al. 2011; Martin et al. 2003). Demnach könnten genetisch bedingte Resistenzfaktoren die Effizienz der Nährstofftransformation einer Tierherde unter praktischen Haltungsbedingungen verbessern. Dieser Perspektive folgend wird derzeit intensiv an der Aufklärung genetischer Komponenten des Immunsystems oder von Resistenzmechanismen in Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen geforscht (Lu et al. 2012; Lunney et al. 2010; I. W. Richardson et al. 2016).

Eine weitere wichtige Rolle des Immunsystems wird in der Steuerung der Interaktionen zwischen dem intestinalen Mikrobiom und dem Wirtstier gesehen (Cerf-Bensussan et al. 2010). So ist die Zusammensetzung des ruminalen Mikrobioms überraschend uniform („Kernmikrobiom“) (Jami et al. 2012). Allerdings ist bislang noch weitgehend unklar, welche Faktoren hier zum Tragen kommen und inwieweit sie genetische Wurzeln haben. In diesem Zusammenhang könnten jedoch die Oberflächenstrukturen auf den Epithelzellen des Magen-Darmtrakts besonders interessant sein, denn sie beeinflussen die Adhäsion von Mikroorganismen (Kirjavainen et al. 1998; Pizarro-Cerda et al. 2006). So konnten Pruijt et al. (2012) zeigen, dass eine bestimmte, genetisch determinierte Variante der Glycolipidstruktur am Dünndarmepithel die Adhäsion gewisser Stämme von *E. coli* vermindert. Ein Schutz vor Coli-Keimen könnte die Effizienz der Nährstofftransformation signifikant verbessern, denn Immunabwehr im Verdauungstrakt verursacht insbesondere im Stoffwechsel von Jungtieren hohe Zusatzkosten an Nährstoffen und Energie.

Neben der Vermeidung bestimmter Infektionskrankheiten könnten genetisch bedingte Interaktionen zwischen Wirtstier und intestinale Mikrobiom auch den mikrobiellen Beitrag an der gesamten Verdauungsleistung des Tieres modulieren. Besonders interessant wäre hier die Beeinflussung der CH_4 -Emission aus der mikrobiellen Fermentation, welche einen bedeutenden Verlust an potenzieller Nahrungsenergie und damit an Transformationseffizienz darstellt. Die-

ses Ziel ist allerdings sehr anspruchsvoll, denn die CH_4 -Bildung hängt nicht nur von der Gegenwart und Verteilung methanogener Bakterienstämme ab, sondern insbesondere auch von der Transkriptionsintensität der metabolischen CH_4 -Bildungspfade (Shi et al. 2014). Dennoch wurde durchaus ein mehr oder weniger indirekter Einfluss der Genetik auf die Methanbildung nachgewiesen, etwa eine Reduktion der CH_4 -Bildungsrate als Folge einer Selektion auf niedrige residuale Futteraufnahme (De Haas et al. 2011; Hegarty et al. 2007). Auch beim Vergleich der CH_4 -Emissionsraten von Lämmern verschiedener Mütter offenbart sich ein deutlicher Einfluss der „Abstammung“ (Pinares-Patiño et al. 2013). Es ist allerdings noch unklar, inwieweit hierbei Umwelteffekte, wie etwa eine Prägung des Mikrobioms nach der Geburt, Haltung von Eltern und Nachkommen bzw. Geschwistern im gleichen Stallabteil usw. den potenziellen genetischen Hintergrund überlagern.

Transgene Nutztiere

Angeht die enorme Komplexität des zellulären Stoffwechsels erscheint die Erzeugung transgener Nutztiere mit verbesserten ernährungsphysiologischen Fähigkeiten sehr schwierig. Tatsächlich bietet jedoch der Verdauungstrakt einen aussichtsreichen Ansatzpunkt für transgene Modifikationen. Vor allem bei monogastrischen Nutztieren hängt die Fähigkeit zur Extraktion von Nährstoffen aus der komplexen Futtermatrix von einer relativ geringen Anzahl endogener Verdauungsenzyme ab, die das Spektrum der verfütterbaren Biomasse stark einschränkt. Derartigen Limitierungen kann man beispielsweise durch Zufuhr geeigneter Enzyme in Form von Futterzusatzstoffen begegnen, wie etwa Proteasen oder Phytasen. Letztere sind ein Paradebeispiel für die Erweiterung der Verdauungskompetenz unserer Nutztiere um einen Bereich, der ihnen von Natur aus nicht oder allenfalls nur in geringem Umfang zugänglich ist.

Solche Enzyme könnten prinzipiell auch durch transgene Modifikationen in das Genom von Nutztieren implementiert werden. Ein entsprechendes Pilotprojekt ist z.B. das sogenannte EnviropigTM, eine

transgene Schweinelinie, die eine aus E.coli entnommene Phytase in einer Menge im Speichel exprimiert, die der Dosierung als Futterzusatzstoff äquivalent ist (Forsberg et al. 2013). Fütterungsstudien mit den Enviropigs™ belegen klar eine signifikant verbesserte Mineralstoff- und damit auch Futtermittelverwertung (Golovan et al. 2001). Weitere Ziele für die Erweiterung der enzymatischen Verdauungskapazität wären etwa Enzyme, die Nicht-Stärke-Polysaccharide abbauen, deren oftmals antinutritiven Eigenschaften (hohe Viskosität) eliminieren und absorbierbare Monosaccharide freisetzen bis hin zu Enzymen, die (Ligno) Cellulose abbauen könnten.

Schlussbetrachtungen

Ohne Zweifel bestehen in vielfacher Hinsicht Korrelationen zwischen genetisch bedingten Unterschieden in Leistungsmerkmalen landwirtschaftlicher Nutztiere und der Effizienz von Nährstoffumsetzungen im Stoffwechsel. Sie erwecken oftmals den Eindruck der unmittelbaren züchterischen Veränderbarkeit von Stoffwechselvorgängen. In vielen Fällen handelt es sich jedoch um indirekte Effekte, die aus einer veränderten Gewichtung von unterschiedlich effizienten Teilleistungen des Stoffwechsels herrühren, deren ernährungsphysiologische Charakteristika jedoch per se weitgehend unverändert bleiben. Die differenzierte Betrachtung der Einzelkomponenten der tierischen Gesamtleistungen und die Quantifizierung der zugehörigen Nährstoff- bzw. Energieumsetzungen sollten solche Missverständnisse ausräumen können.

Auf der anderen Seite ist die Existenz unmittelbarer genetischer Einflüsse auf die ernährungsphysiologische Funktionalität sehr wahrscheinlich, wie etwa Polymorphismen von Genen, die für Enzyme, Transportproteine etc. codieren. Solche Modifikationen dürften in der Regel mit Einschränkungen der Funktionalität assoziiert sein und wären damit Zielobjekte der züchterischen Elimination. Einen Gegenpol bilden transgene Konstrukte, über die man beispielsweise die Verdauungskompetenz von Nutztieren grundlegend erweitern könnte.

Im Bereich der Verdauungskapazität des Gastrointestinaltrakts, der Stressanfälligkeit der Tiere, den Grundeinstellungen des Stoffwechsels wie etwa dem Protein-Turnover, den regulativen Entscheidungen bei metabolischen Zielkonflikten bis hin zu den Interaktionen zwischen dem Immunsystem und dem intestinalen Mikrobiom, scheinen komplexe genetische Einflüsse vorhanden zu sein. Bei der Kalkulation der Gesamteffizienz schlagen sich solche Effekte in einer Variabilität des „nicht-produktiven“ Erhaltungsbedarfs an Nährstoffen und Energie oder der residualen Futteraufnahme nieder. Entscheidend für die Nutzung solcher genetisch bedingten Variationen ist allerdings die konsequente Nutzung quantitativer, hinreichend differenzierter phänotypischer Merkmale. Herkömmliche Maßzahlen wie z.B. Gewichtszuwachs, (residuale) Futteraufnahme, Methanemission usw. erscheinen hierfür zu grob. Sie sollten durch quantitative ernährungsphysiologische Parameter ersetzt werden, wie etwa ruminale Stoffumsetzungen, praecaeale Verdaulichkeiten, detaillierte Bilanzen an Nährstoffen, Stickstoff, Kohlenstoff, Energie, etc. Gerade auf diesem Gebiet öffnet sich ein breites Feld für die Zusammenarbeit von Tiergenetik, Tierernährung und Tierphysiologie zur Verbesserung der Effizienz der Tierproduktion.

Literaturverzeichnis

- Allen, A. P., Brown, J. H. and Gillooly, J. F. (2002) Global Biodiversity, Biochemical Kinetics, and the Energetic-Equivalence Rule. *Science* 297(5586):1545-1548.
- Brugger, D., Ettle, T., Feser, S., Windisch, W. and Bolduan, C. (2016) Post mortem endpoints of ruminal fermentation and anion/proton transporter gene expression as affected by variations in the amounts of physically effective neutral detergent fibre in the diets of growing German Fleckvieh bulls, Vol. 25: Proc Soc Nutr Physiol.
- Byrne, K., Wang, Y., Lehnert, S., Harper, G., McWilliam, S., Bruce, H. and Reverter, A. (2005) Gene expression profiling of muscle tissue in Brahman steers during nutritional restriction. *Journal of animal science* 83(1):1-12.
- Cerf-Bensussan, N. and Gaboriau-Routhiau, V. (2010) The immune system and the gut microbiota: friends or foes? *Nat Rev Immunol* 10(10):735-44.
- De Haas, Y., Windig, J., Calus, M., Dijkstra, J., De Haan, M., Bannink, A. and Veerkamp, R. (2011) Genetic parameters for predicted methane production and potential for reducing enteric emissions through genomic selection. *Journal of Dairy Science* 94(12):6122-6134.
- Elsik, C. G., Tellam, R. L. and Worley, K. C. (2009) The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and Evolution. *Science* 324(5926):522-528.
- Forsberg, C. W., Meidinger, R. G., Liu, M., Cottrill, M., Golovan, S. and Phillips, J. P. (2013) Integration, stability and expression of the *E. coli* phytase transgene in the Cassie line of Yorkshire Enviropig. *Transgenic Res* 22(2):379-89.
- Golovan, S. P., Meidinger, R. G., Ajakaiye, A., Cottrill, M., Wiederkehr, M. Z., Barney, D. J., Plante, C., Pollard, J. W., Fan, M. Z., Hayes, M. A., Laursen, J., Hjorth, J. P., Hacker, R. R., Phillips, J. P. and Forsberg, C. W. (2001) Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nat Biotechnol* 19(8):741-5.
- Gooneratne, S., Christensen, D., Bailey, J. and Symonds, H. (1994) Effects of dietary copper, molybdenum and sulfur on biliary copper and zinc excretion in Simmental and Angus cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 74(2):315-325.
- Guixin, Q., Versteegen, M. and Bosch, M. (1995) Variation of digestive capacity between genetically different pig populations: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 73(1 5):233-242.
- Hegarty, R., Goopy, J., Herd, R. and McCorkell, B. (2007) Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. *Journal of animal science* 85(6):1479-1486.
- Jami, E. and Mizrahi, I. (2012) Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals. *PLoS One* 7(3):e33306.
- Kirchgessner, M., Windisch, W., Schwab, W. and Muller, H. L. (1991) Energy metabolism of lactating dairy cows treated with prolonged-release bovine somatotropin or energy deficiency. *J Dairy Sci* 74 Suppl 2:35-43.
- Kirjavainen, P. V., Ouweland, A. C., Isolauri, E. and Salminen, S. J. (1998) The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microbiology Letters* 167(2):185-189.
- Kyriazakis, I. and Emmans, G. (1995) Do breeds of pig differ in the efficiency with which they use a limiting protein supply? *British journal of Nutrition* 74(02):183-195.
- Liu, L., Hausladen, A., Zeng, M., Que, L., Heitman, J. and Stamler, J. S. (2001) A metabolic enzyme for S-nitrosothiol conserved from bacteria to humans. *Nature* 410(6827):490-494.
- Loor, J. J., Dann, H. M., Guretzky, N. A. J., Everts, R. E., Oliveira, R., Green, C. A., Litherland, N. B., Rodriguez-Zas, S. L., Lewin, H. A. and Drackley, J. K. (2006) Plane of nutrition prepartum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. *Physiological Genomics* 27(1):29-41.
- Lu, X., Fu, W. X., Luo, Y. R., Ding, X. D., Zhou, J. P., Liu, Y., Liu, J. F. and Zhang, Q. (2012) Genome-wide association study for T lymphocyte subpopulations in swine. *BMC Genomics* 13:488.
- Lunney, J. K. and Chen, H. (2010) Genetic control of host resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection. *Virus Res* 154(1-2):161-9.
- Marais, M., Maloney, S. K. and Gray, D. A. (2011) The metabolic cost of fever in Pekin ducks. *Journal of Thermal Biology* 36(2):116-120.
- Martin, L. B., 2nd, Scheuerlein, A. and Wikelski, M. (2003) Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proc Biol Sci* 270(1511):153-8.
- McCarthy, F. D., Bergen, W. G. and Hawkins, D. R. (1983) Muscle protein turnover in cattle of differing genetic backgrounds as measured by urinary N tau-methylhistidine excretion. *J Nutr* 113(12):2455-63.
- Muller, M. and Kersten, S. (2003) Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet* 4(4):315-322.
- Mullis, L., Spears, J. and McCraw, R. (2003) Effects of breed (Angus vs Simmental) and copper and zinc source on mineral status of steers fed high dietary iron. *Journal of animal science* 81(1):318-322.
- Oddy, V. (1993) Regulation of muscle protein metabolism in sheep and lambs: nutritional, endocrine and genetic aspects. *Crop and Pasture Science* 44(5): 901-913.
- Pinares-Patiño, C., Hickey, S., Young, E., Dodds, K., MacLean, S., Molano, G., Sandoval, E., Kjestrup, H., Harland, R. and Hunt, C. (2013) Heritability estimates of methane emissions from sheep. *Animal* 7(s2):316-321.
- Pizarro-Cerda, J. and Cossart, P. (2006) Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell* 124(4):715-27.
- Pruitt, K. D., Tatusova, T., Brown, G. R. and Maglott, D. R. (2012) NCBI Reference Sequences (RefSeq): current status, new features and genome annotation policy. *Nucleic acids research* 40(D1):D130-D135.
- Richardson, E. and Herd, R. (2004a) Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 2. Synthesis of results following divergent selection. *Animal Production Science* 44(5):431-440.

- Richardson, E., Herd, R., Archer, J. and Arthur, P. (2004b) Metabolic differences in Angus steers divergently selected for residual feed intake. *Animal Production Science* 44(5):441-452.
- Richardson, I. W., Berry, D. P., Wiencko, H. L., Higgins, I. M., More, S. J., McClure, J., Lynn, D. J. and Bradley, D. G. (2016) A genome-wide association study for genetic susceptibility to *Mycobacterium bovis* infection in dairy cattle identifies a susceptibility QTL on chromosome 23. *Genet Sel Evol* 48:19.
- Shi, W., Moon, C. D., Leahy, S. C., Kang, D., Froula, J., Kittelmann, S., Fan, C., Deutsch, S., Gagic, D., Seedorf, H., Kelly, W. J., Atua, R., Sang, C., Soni, P., Li, D., Pinares-Patino, C. S., McEwan, J. C., Janssen, P. H., Chen, F., Visel, A., Wang, Z., Attwood, G. T. and Rubin, E. M. (2014) Methane yield phenotypes linked to differential gene expression in the sheep rumen microbiome. *Genome Res* 24(9):1517-25.
- Soares, J. H., Jr., Kerr, J. M. and Gray, R. W. (1995) 25-hydroxycholecalciferol in poultry nutrition. *Poult Sci* 74(12):1919-34.
- Susenbeth, A., Dickel, T., Diekenhorst, A. and Höhler, D. (1999) The effect of energy intake, genotype, and body weight on protein retention in pigs when dietary lysine is the first-limiting factor. *Journal of animal science* 77(11):2985-2989.
- Suttle, N., Lewis, R. and Small, J. (2002) Effects of breed and family on rate of copper accretion in the liver of purebred Charollais, Suffolk and Texel lambs.
- Tomas, F., Pym, R. and Johnson, R. (1991) Muscle protein turnover in chickens selected for increased growth rate, food consumption or efficiency of food utilisation: Effects of genotype and relationship to plasma IGF-I and growth hormone. *British poultry science* 32(2):363-376.
- Varel, V. H., Jung, H. G. and Pond, W. G. (1988) Effects of dietary fiber of young adult genetically lean, obese and contemporary pigs: rate of passage, digestibility and microbiological data. *J Anim Sci* 66(3):707-12.
- Veerkamp, R. F. (1998) Selection for Economic Efficiency of Dairy Cattle Using Information on Live Weight and Feed Intake: A Review. *Journal of Dairy Science* 81(4):1109-1119.
- Vigors, S., Sweeney, T., O'Shea, C. J., Kelly, A. K. and O'Doherty, J. V. (2016) Pigs that are divergent in feed efficiency, differ in intestinal enzyme and nutrient transporter gene expression, nutrient digestibility and microbial activity. *Animal*:1-8.
- Waterlow, J. C., Garlick, P. J. and MILL WARD, D. (1978) Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body: Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 335 Jan van Galenstraat, PO Box 211, 1000 AE Amsterdam, The Netherlands.
- Webster, A., Osuji, P., White, F. and Ingram, J. (1975) The influence of food intake on portal blood flow and heat production in the digestive tract of sheep. *British journal of Nutrition* 34(01):125-139.
- Windisch, W., Fahn, C., Brugger, D., Deml, M. and Buffler, M. (2013) Strategien für eine nachhaltige Tierernährung. DG (DGfZ), Hrsg.) *Züchtungskunde*:40-53.
- Windisch, W., Gotterbarm, G., Roth, F., Schams, D. and Kirchgessner, M. (2000) Einfluss der genetischen Herkunft von Mastschweinen (Deutsche Landrasse, Pietrain) auf Kenndaten des Proteinstoffwechsels. *Züchtungskunde* 72:379-388.
- Woolliams, J., Suttle, N., Wiener, G., Field, A. and Woolliams, C. (1982) The effect of breed of sire on the accumulation of copper in lambs, with particular reference to copper toxicity. *Animal production* 35(03):299-307.
- Yarger, J. G., Saunders, C. A., McNaughton, J. L., Quarles, C. L., Hollis, B. W. and Gray, R. W. (1995) Comparison of dietary 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol in broiler chickens. *Poult Sci* 74(7):1159-67.

Diskussion

BREVES, HANNOVER

Ich möchte mit dem du aufgehört hast gleich anfangen. Es gibt ja zahlreiche Beispiele aus der Literatur, wo uns die Natur dies sehr gut vormacht. Ich denke beispielsweise an Schafe, die nur in norddeutschen Regionen bevorzugt vorkommen, Heidschnucken, und an solche die züchterisch intensiver bearbeitet sind. Wir haben vor vielen Jahren bei uns im Institut eine Studie gemacht, wo das Anpassungsvermögen an Lignocellulose, eine Aktion, die ja eine typische Form der Ernährung der Heidschnucke ist, gemessen wurde. Wo eben eindeutig gezeigt werden konnte und zwar unter Feldbedingungen, dass die Heidschnucken im Stande sind, die Verweilzeiten der Phasen des Vormageninhaltes erheblich herauf zu regulieren, um durch eine längere Verweilzeit eine höhere mikrobielle Abbaubarkeit der Faserbestandteile zu sichern. Wir wissen mittlerweile auch, dass das auch die Strategie der Anpassung ist von vielen frei lebenden Wildwiederkäuern in afrikanischen Ländern als Mechanismus der Anpassung an Trockenzeiten. Was fehlt, und ich glaube das ist der Ansatzpunkt, dass sich bislang keiner, jeder hat sich damit zufrieden gegeben, diese Phänomene zu beschreiben, also im echten deskriptiven Sinne, und was fehlt, sind die mechanistischen Dinge. Welches sind die Stimuli, die solche Veränderungen herbeiführen? In die Richtung müsste die Forschung gehen und das ist natürlich funktionell orientierte Forschung.

ANTWORT

Ganz genau. Die Frage der Passage, die Frage der Verweildauer haben enorme Wirkungen. Da machen geringe Unterschiede vielleicht nur ein bis zwei Prozent schaukeln sich zu starken Unterschieden in der Gesamteffizienz hoch. Da können subtile Unterschiede sein, die man hier darstellen lässt. Man hat natürlich durch Selektion auf hohe Leistung. Blendet man vielleicht die Vielfalt der Variationsmöglichkeiten aus und hat das in vielen Fällen einfach vergessen.

ZEBEL, WIEN

Du hast den Punkt Methan angesprochen und dann am Ende auch einen Hinweis gegeben, dass die Futtermittelaufnahme besonders wichtig ist. Denkst du, dass das ein guter Ansatz ist? Wenn ich dann die Kühe sehe, dass sie während der Laktation viel Milch geben, dadurch auch weniger Methanausstoß pro Produkteinheit leisten. Sind die Kühe tatsächlich effiziente Kühe?

ANTWORT

Es sind zwei Fragen, einmal Methan und dann ist die Frage Mobilisierung. Alles was Mobilisierung beinhaltet ist ein Schaden an der Effizienz. Aus einem ganz einfachen Grund. Wir nennen das in der Tierernährung doppelte Transformationen. In dem Moment, wenn mobilisiert werden muss, da muss danach wieder eingelagert werden und der Wiederaufbau hat normale Reibungsverluste im Stoffwechsel, wenn ich alles zusammenzähle. Es ist immer ein Verlust an Ef-



fizienz da. Manchmal geht es nicht anders, als Mobilisierung, z. B. Zuchtsauen mit hohen Ferkelzahlen oder die Hochleistungskuh. Aber das sollte man so gering wie möglich halten.

Die Frage der Methanemission. Einfach nur Methanemission an sich anzuschauen. Das kann gefährlich sein. Ich darf unter keinen Umständen irgendeinen Faktor haben, der mir dann z. B. den Faserabbau langsamer macht. Das ist ja das Problem von vielen Futterzusatzstoffen. Die schädigen methanogene Bakterien. Natürlich geht damit die Methanemission herunter. Aber dafür ist der Faserabbau verlangsamt, mit der Folge, dass die Futtermittelaufnahme zurückgeht. Ich muss schon aufpassen, dass bei all die Versuchen, die Methanemission zu drücken, dass ich trotzdem einen unverändert hohen Faserabbau habe und ich an der Zusammensetzung aufpassen muss, dass auch die Zusammensetzung der Fettsäuren, also Essigsäure, Propionsäure, dass ich da nicht allzu viel verändere. Vor allen Dingen die Geschwindigkeit des Faserabbaus darf nicht leiden, sonst habe ich ein Problem bei der Milchkuh.

STEINHART, HAMBURG

Der Hinweis von Herrn Breves auf die Heidschnucken führt mich zurück auf den Vortrag gestern von Herrn Wimmers mit der Epigenetik. Was sie hier angedeutet haben, erinnert mich daran, dass irgendwie auch hier die Epigenetik eine Rolle spielen könnte bei der Veränderung solcher Vorgänge, die sie geschildert haben. Gibt es da einen Zusammenhang oder glauben sie, dass diese phänotypischen Veränderungen, also Futtermittelaufnahme die möglicherweise epigenetisch sich fortsetzen könnte?

ANTWORT

Das ist durchaus anzunehmen, dass es diese Faktoren gibt. Wir arbeiten gerade am Eisenstoffwechsel von Sauen. Es könnte durchaus sein, dass eine reichliche Eisenversorgung der Tiere, wir wollen ja die Tiere auch reichlich versorgen, niemals einen Mangel bringen, dass eine reichliche Eisenversorgung der Mutter auch die Ferkel bereits schon so programmiert,

dass ich sage, ich komme in eine eisenreiche Umwelt. Und dass viele Probleme mit dem Eisenstoffwechsel später auch daher rühren, dass wir auch die Mütter entsprechend hoch versorgen und diese geizigen Phänotypen überhaupt nicht mehr generieren. Dann, also Epigenetik. Ich möchte nicht nur die Epigenetik ansprechen, die wir gestern betrachtet haben, sondern vielleicht gibt es sogar auch auf der mikrobiellen Ebene so etwas ähnliches wie eine Epigenetik. Gibt es den Ausdruck schon? Aber wenn ich jetzt davon ausgehe, dass es Prägungen gibt im Mikrobiom, dann gibt es wohl auch einen Stalleffekt oder einen Umwelteffekt, in den die Tiere hineingeboren werden. Das wäre ja nichts anderes als ein mikrobielles Supergenom, also dass Tiere, wenn sie in dieser Umwelt geboren werden, automatisch so viel leisten. Da bin ich überzeugt davon. Das erklärt vielleicht auch viele Unterschiede im Verdauungsfeld von Rindern, wenn man sie weltweit betrachtet und ihnen das gleiche Futter gibt.

KALM, KIEL

Ich möchte keine Frage stellen, aber einen kleinen Kommentar zu dem Thema. Hinweisend, wie wichtig eigentlich heute Versuchsbetriebe sind. Wenn wir bei den landwirtschaftlichen Nutztieren in diesem Bereich Genetik und Ernährungsphysiologie weiter kommen wollen, dann brauchen wir die tierindividuelle Futtermittelaufnahme und wir müssten auch wieder auf die Stoffwechsellammern zurückgreifen. Ich möchte alle Kollegen bitten, nicht gegen Versuchsbetriebe zu argumentieren, sondern wie die Labore bei den Molekularkollegen müssen auch diese Einheiten systematisch verbessert und ausgebaut werden.

SWALVE, HALLE

Ich möchte auch einen kleinen Kommentar abgeben, und zwar um die Tierzucht und die Tierernährung so ein bisschen zu versöhnen. Zunächst einmal finde ich ganz toll, als ich vor sechs Jahren im Rahmen dieser Veranstaltung über RFI gesprochen habe, da wurde ich fast gesteinigt, und alle haben gesagt, das ist ja ganz grauenhaft, in der Tierzucht über Futtermittelaufnahme zu sprechen. Sie haben völlig Recht,

Herr Windisch, das ist ein logisches Konzept. So ganz blind kann man da nicht rangehen. Aber das würden wir Tierzüchter auch nicht machen, selbstverständlich, das haben wir damals auch schon gesagt. Veränderungen in der Futteraufnahme müssen beachtet werden. Veränderungen in den Leistungen müssen beachtet werden und wir würden immer so rangehen, dass wir die Korrelationen / Beziehungen natürlich betrachten. Und ich denke, dass wir dann jetzt bei dem sind. Ich habe bemerkt im Vortrag, was sie auf dieser Folie da haben und von da aus die Kapazität, Zirkulation des Stoffwechsels, Interaktion zwischen dem Mikrobiom da es darauf letztendlich hinausläuft. Zunächst einmal als Gedankenansatz finde ich die Residualfutteraufnahme immer noch erst mal einen schönen Denkanstoß, aber da müssen wir natürlich hin.

ANTWORT

Ich muss auch zugeben, ich bin auch in der Lage der Tierernährer gewesen mit der Residualfutteraufnahme vor sechs Jahren. Ich bin auch eines besseren belehrt worden. Es sind Residuen mit der Bestrebung, andere Faktoren auszublenden und zu schauen, wenn man die möglichst unter gleichen Bedingungen, und in dem Fall sind es eben auch Stoffwechselbedingungen die gesehen werden. Was bleibt noch an Variationen übrig? Es kommt nicht auf die Residuen an, sondern es kommt auf die Qualität der Regressionsgleichung an. Welche Parameter in die Regressionsgleichung reingehen, also nicht irgendwelche Body Condition Scores, sondern vielleicht die echte Lebendmasse und vielleicht auch echte Futteraufnahme. Und dann sind wir wieder bei den Versuchsbetrieben und bei den direkten Messungen. Je besser diese Parameter sind, desto aussagekräftiger ist die Residuale.

METGES, DUMMERSTORF

Ein Kommentar zur Futteraufnahme und zu der Einlassung von Herrn Swalve. Es gibt Untersuchungen, die zeigen, dass man die Züchtung auf Futteraufnahme, quasi indirekt auf die Magen-Darm-Volumina züchtet. Da muss ich sagen, ist es das, was

wir wollen? Man kann es bei den Zuchtsauen berücksichtigen, also wir haben bei den trächtigen Zuchtsauen eine total geringe Futteraufnahme und die Energiezufuhr liegt im letzten Abschnitt, kommen die Tiere nur mit 2 bis 2,5 kg Futter aus. Das ist enorm für so ein großes Tier. Da ist quasi züchterisch was in Richtung geringere Volumina des Magen-Darm-Traktes, was hier unter Umständen, das ist vielleicht auch der Grund, warum die Tiere dann in der Laktation nicht so viel aufnehmen wie sie eigentlich aufnehmen sollen. Da muss man ganz vorsichtig sein, wenn man da an der Futteraufnahme zu viel rumschraubt.

ANTWORT

Die Frage des Volumens des Verdauungstraktes ist überhaupt ein ganz schwieriges Thema. Die 10 Liter. Das ist das Volumen meines Verdauungstraktes, sondern, das variiert ja mit der Futteraufnahme. Sobald man ein bisschen FDH macht, dann schrumpft ja das Volumen des Verdauungstraktes ja ganz schnell zusammen. Viele Effekte, die man auf das Volumen zurückführt, habe ich ihnen gesagt, mit der Verdaulichkeit, das Volumen des Enddarmsystems, das ist ein züchterischer oder genetischer Unterschied, ist vielleicht nichts anderes als die Frage, ob da viel oder wenig fermentierbares Material in den Enddarm einströmt. Letztendlich ist es die Passagerate, die das eigentlich bestimmt. Entscheidend ist aber dann, wenn eine Situation entsteht, in der später das Volumen limitierend wirkt. Am Ende der Trächtigkeit ist vielleicht das Volumen gar nicht so wichtig, aber die Frage, ist es dann später in der Laktation ein limitierender Faktor. Diese Situationen, die muss man rausfinden und erst in solchen Situationen, wo es wirklich limitierend wird, dann kann ich erst sagen, ist ein genetischer Einfluss da. Vorher kann man sagen: Was ist Henne und was ist Ei? Futteraufnahme und Volumen bedienen sich ja gegenseitig. Es ist ziemlich schwierig, diesen Einfluss auch wirklich dingfest zu machen.

Bedeutung des gastrointestinalen Mikrobioms



Einleitung

Vor dem Hintergrund einer steigenden Weltbevölkerung und einem damit verbundenen erhöhten Bedarf an tierischen Lebensmitteln stellt sich die Frage wie die Landwirtschaft eine gleichbleibende Qualität tierischer Produkte erzeugen kann. Die effiziente Ausnutzung der Futterressourcen durch das Tier und deren im Verdauungstrakt assoziierten mikrobiellen Lebensgemeinschaft (Mikrobiom) spielt dabei eine wesentliche Rolle. Das Mikrobiom des tierischen Verdauungstraktes formt eine einzigartige Symbiose mit dem Wirtstier. Mikroorganismen agieren als zentrale Einheit zur Aufrechterhaltung der Stoffwechselleistung, des Immunstatus und somit des Gesundheitszustandes des Tieres. Sie nutzen die für den Wirt nicht umsetzbaren Futterbestandteile und generieren Stoffwechselprodukte, welche für den Energiestoffwechsel des Tieres essentiell sind (z.B. kurzkettige Fettsäuren). Des Weiteren sind sie wichtig für die Bereitstellung von Vitaminen. Kommensale Mikroorganismen dienen auch der Abwehr von pathogenen Mikroorganismen in dem sie potentielle Ansiedlungspunkte besetzen und einen Abwehrmechanismus entwickeln. Die Mikroorganismen profitieren wiederum vom kontinuierlichen Nahrungsangebot und einem geeigneten Habitat. Die Fütterung der Tiere und die zur Verfügung gestellten Nährstoffe, stellen neben der Tiergenetik und anderen externen Faktoren, die wesentlichste Einflussgröße auf die intestinale Mikrobiota dar. Eine mögliche Veränderung der Mikrobiota hat Auswirkungen auf die Interaktion

der Mikroorganismen untereinander, sowie zwischen Mikroorganismen und dem Wirtstier und somit auf die Tiergesundheit.

Mikrobielle Vielfalt im Verdauungstrakt

Im Verdauungstrakt kommen vorwiegend Bakterien vor, daneben stellen Archaeen, Pilze und Protisten einen geringeren Anteil dar. Die phylogenetische Struktur der bakteriellen Flora wurde in den letzten Jahren verstärkt mittels Hochdurchsatz-Sequenzierverfahren analysiert (Deusch *et al.*, 2015). Die Hauptphyla im Verdauungstrakt sind Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria und Proteobacteria. Im Schwein findet man im Dünndarmbereich vorwiegend Firmicutes und Proteobacteria, welche in den hinteren Abschnitten des Verdauungstraktes durch Bacteroidetes etwas verdrängt werden (Looft *et al.*, 2014). Im Geflügel werden der Kropf, die Mägen und die Dünndarmabschnitte von Vertretern der Familie *Lactobacillaceae* (Firmicutes) dominiert und die mikrobielle Zusammensetzung wird erst ab dem Caecum sehr divers (Videnska *et al.*, 2013). Im Pansen der Wiederkäuer sind verschiedenste prokaryotische (Bakterien, Archaeen) und eukaryotische (Pilze, Ciliaten) Phyla zu finden. Bei den Bakterien sind Bacteroidetes mit bis zu 50% der Gesamtbakterienpopulation dominierend, hierzu gehören vor allem *Prevotella* Spezies (Jami & Mizrahi, 2012, Ross *et al.*, 2012).

Methoden zur Untersuchung des Mikrobioms

Zu Beginn der Mikrobiom Forschung war man hauptsächlich auf Kultivierungsmethoden angewiesen. Die Charakterisierung erfolgte zunächst anhand phänotypischer Parameter, wie Morphologie, physikochemischen Parametern und Enzymaktivitäten. Dies veränderte sich mit der Etablierung der Polymerase Kettenreaktion (PCR) und dem Einsatz von DNA Sequenzierungsverfahren zur phylogenetischen Beschreibung und taxonomischen Einordnung der Isolate. Viele Spezies aus dem Verdauungstrakt von Mensch und Tier konnten so näher charakterisiert werden (Abb. 1) (Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014, Browne *et al.*, 2016).

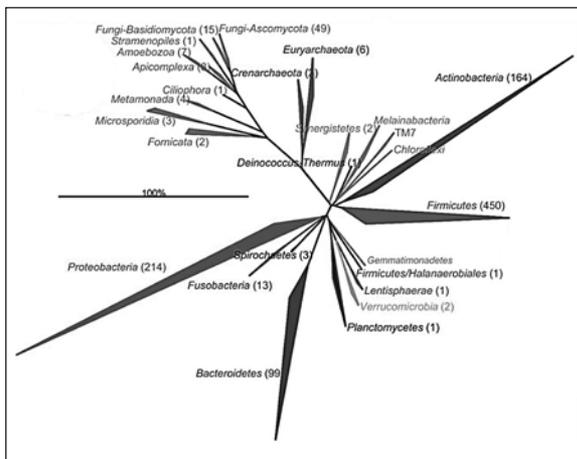


Abbildung 1: Phylogenetischer Stammbaum des humanen gastrointestinalen Mikrobioms. Die Zahlen in den Klammern stellen die Anzahl an kultivierten Vertretern jedes Phylums wieder. Angepasst aus (Rajilic-Stojanovic & de Vos, 2014).

Ein generelles Problem der Kultivierungs-basierten Verfahren stellt die ‚Unkultivierbarkeit‘ vieler Mikroorganismen dar. Zum einen ist es schwierig von bestimmten Gattungen, aufgrund ihrer Ansprüche, überhaupt Zellen zu vermehren. Zum anderen benötigen viele Mikroorganismen den Kontakt mit Zellen

anderer Spezies und sind nur als Anreicherungskulturen verfügbar. Die Weiterentwicklung von Kultivierungstechniken ist nach wie vor wichtig für die Isolation von noch unbeschriebenen Kulturen und die Charakterisierung ihrer biochemischen Funktionen. Die Entwicklung neuer Sequenzierverfahren und bioanalytischer Methoden erlaubte in den letzten zwei Jahrzehnten die Beschreibung der mikrobiellen Vielfalt mit den sogenannten *Omic*s Techniken voranzubringen (Abb. 2). Nukleinsäure-basierte Verfahren geben Einblicke in die phylogenetische Zusammensetzung des Mikrobioms und deren potentiellen Funktionen und werden Metagenomics und Metatranskriptomics genannt. Protein-basierte Analysen (Metaproteomics) erlauben zusätzliche Aussagen zur Expression der mikrobiellen Proteine und Stoffwechselwege. Die Analyse von Metaboliten (Metabolomics) zeigt die Stoffwechselprodukte, ohne jedoch Aussagen zum Produzenten treffen zu können.

In den letzten Jahren wird nun verstärkt versucht die Ergebnisse dieser Methoden zu verknüpfen um eine vertiefende Beschreibung der Funktionalität des

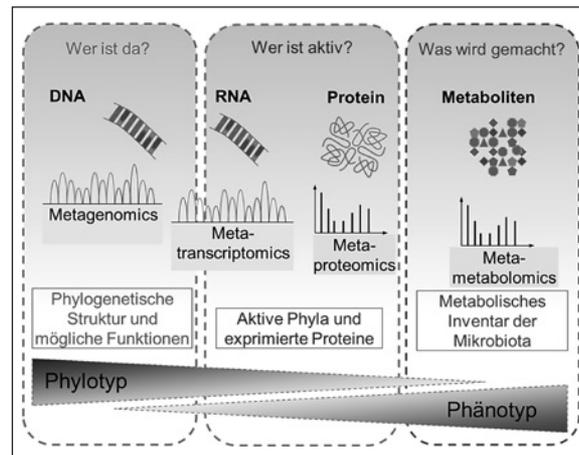


Abbildung 2: Übersicht der Omics Methoden und deren Nutzen zur Beschreibung des Mikrobioms (angepasst aus (Deusch *et al.*, 2015).

Mikrobioms zu erhalten. Dies ist in der Forschung des humanen intestinalen Mikrobioms jedoch bereits wesentlich stärker etabliert worden als in der Nutztierforschung. Im Humanbereich gibt bzw. gab es seit vielen Jahren große Konsortien wie das ‚Human Microbiome Project‘ und das EU-Projekt ‚MetaHit‘. Es gibt Vereinbarungen über standardisierte Methoden und gemeinsame Datenbanken. Dies fehlt im Bereich der Nutztierforschung fast vollständig. In den letzten Jahren wurde versucht im Rahmen des ‚Hungate1000‘ und des EU-Projektes ‚Ruminomics‘ die Forschung im Bereich der Pansenmikrobiologie zu verstärken. Außerdem gibt es EU-Projekte wie ‚ECO-FCE‘ und COST Initiativen wie ‚PiGutNet‘ die sich mit dem intestinalen Mikrobiom der Monogastrier auseinandersetzen. Es fehlen aber nach wie vor Vereinbarungen zu standardisierten Nukleinsäureextraktionsverfahren und den verwendeten Sequenzieransätzen. In einer Studie von Burbach *et al.* (2016) zeigte sich deutlich welche großen Unterschiede sich bei der Verwendung unterschiedlicher kommerzieller DNA-Extraktionskits ergeben (Abb. 3).

Ein weiterer zu beachtender Faktor ist die individuelle Zusammensetzung des Mikrobioms in jedem Tier. Auch unter standardisierten Bedingungen, wie z.B. bei Fütterungsversuchen, besitzt jedes einzelne Tier pro Abteil ein Mikrobiom, welches sich durchaus deutlich von den anderen Tieren im Abteil unterscheiden kann (Borda *et al.*, eingereicht). Die bislang verfolgte Strategie der Vereinigung von Kot- bzw. Digestaprobe von Tieren aus gleichen experimentellen Gruppen sollte wenn möglich vermieden werden.

Das Mikrobiom verändert sich dynamisch je Entwicklungsstatus, der Alterung, der Ernährung und anderen Faktoren (Lozupone *et al.*, 2012). In Humanstudien wurde dies bereits vielfach beschrieben, in Studien mit Nutztieren ist dies vor allem zu beachten wenn Leistungsdaten erfasst werden sollen. So entwickelt sich das Mikrobiom der Legehähne im Verlauf des ersten Lebensjahres und kann in drei Gruppen eingeteilt werden (Videnska *et al.*, 2014). Diese Dynamik ist ebenso in Tierernährungsstudien zu bedenken. In den allermeisten Studien werden die Futterra-

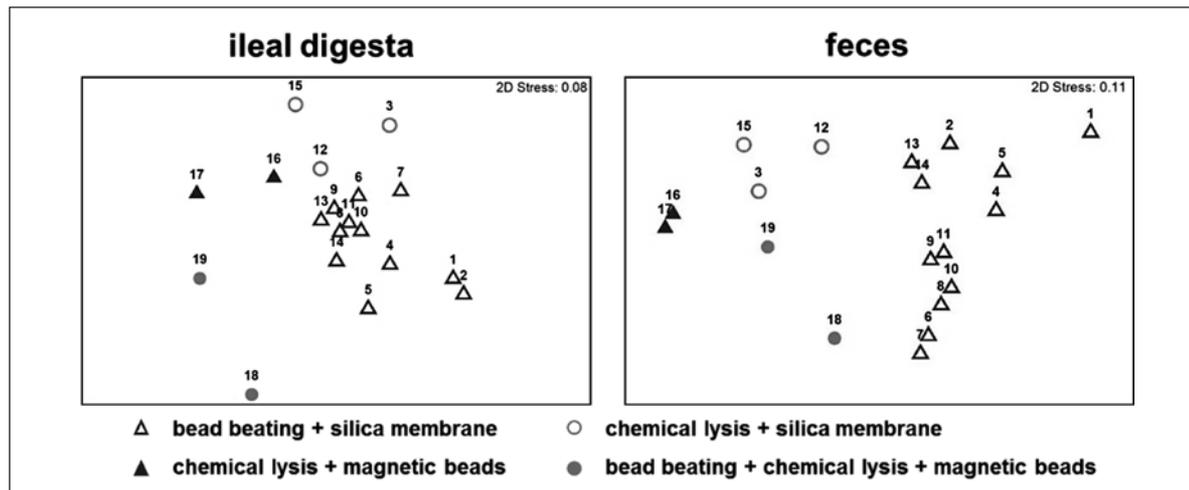


Abbildung 3: Nichtmetrische Multidimensionale Skalierung (MDS) der Sequenzdaten zum Vergleich der Ergebnisse bei Verwendung unterschiedlicher DNA Extraktionsmethoden der gleichen Ausgangsprobe (angepasst aus (Burbach *et al.*, 2016)).

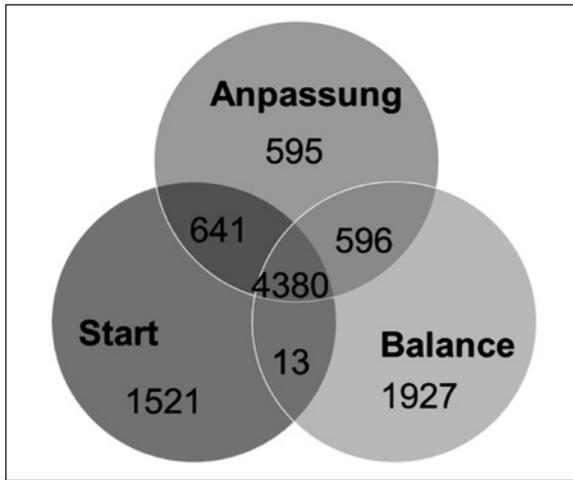


Abbildung 4: Verteilung der Anzahl an bakteriellen Proteinen identifiziert mittels LC-MS/MS basierten Analysen. Start: Phase bei Beginn der Futterumstellung; Anpassung: Phase der Umstellung der bakteriellen Gemeinschaft aufgrund der Futterumstellung, Dauer 1-2 Wochen; Balance: Phase der Stabilisierung des Mikrobioms nach Futterumstellung, 3-4 Wochen (Tilocca *et al.*, in Vorbereitung).

tionen innerhalb von ein bis zwei Wochen angepasst und dann die Proben gewonnen. Doch ist dies ausreichend um das Mikrobiom entsprechend der Ration zu stabilisieren? Eine eigene, noch in der Auswertung befindliche, Studie hat gezeigt, dass sich das fäkale Mikrobiom des Schweins während der Umstellung auf die experimentelle Ration über 3-4 Wochen anpasst (Abb. 4) (Tilocca *et al.*, in Vorbereitung).

Ausnutzung der Futterressourcen – Beispiel Phosphor

Phosphor ist ein wichtiges Mengenelement in der Tierernährung und wird unter anderem für den Aufbau von Knochen und Nukleinsäuren, und dem Energiestoffwechsel (ATP) benötigt. Anorganischer Phosphor wird meist als Kalziumphosphat in der Tierernährung eingesetzt, dies ist allerdings einer der begrenzten Rohstoffe weltweit. Phosphor kommt außerdem noch als Inositol-hexaphosphat (InsP6) in

pflanzlichen Samen und deren Verarbeitungsprodukten vor. Die Ausnutzung dieser Phosphorquelle ist aufgrund fehlender bzw. mangelnder Enzymsysteme im Monogastrier nur unzureichend und wird bislang durch Zugabe von exogenen Phytasen erhöht. Diese Phytasen sind bakteriellen bzw. pilzlichen Ursprungs und können je nach Spezifität InsP6 in verschiedene Isomere abbauen. Der dabei freigesetzte Phosphor kann dann durch das Tier genutzt werden. Endogene mikrobielle Phytasen und deren Produzenten sind bislang nur wenig untersucht. Die Lokalisation Phytase-bildender Bakterien, deren Aktivität und mögliche gezielte Stimulation sind Forschungsfragen und -ziele in Hohenheim. Eine Studie untersuchte das Mikrobiom entlang des Gastrointestinal Traktes von Broilern (Witzig *et al.*, 2015). Die erwartete Dominanz von *Lactobacillaceae* entlang des gesamten Gastrointestinal Traktes wurde bestätigt. Innerhalb dieser Familie konnten positive bzw. negative Korrelationen zwischen einzelnen Vertretern nachgewiesen werden. Die einzelnen Spezies variierten je nach Phosphorverfügbarkeit. Eine metaproteomische Analyse der Proben aus Kropf und Caecum zeigte ebenso die Dominanz von Proteinen der *Lactobacillaceae* im Kropf. Im Caecum wurde bei Phosphorverfügbarkeit eine Zunahme von Proteinen der Bacteroidaceae und Ruminococcaceae gezeigt, sowie eine Zunahme von *Lactobacillaceae*-assoziierten Proteinen bei Phosphormangel (Tilocca *et al.*, eingereicht). Die Auswertung der Proteindaten weist auf eine gestresste bakterielle Gemeinschaft unter Phosphor-limitierenden Bedingungen hin. Chaperonine, Transportproteine und Biogenese-Proteine sind hier in hoher Abundanz zu finden. Wohingegen die Zulage mit Phosphor oder Phytase scheinbar stimulierend auf das Mikrobiom wirkt und viele Proteine der wesentlichen metabolischen Wege zu finden sind. Dies wird sich ebenso günstig auf die Wirkungsweise des Mikrobioms auf die Physiologie des Broilers auswirken.

Ausblick

Die oben genannten Beispiele geben nur einen kleinen Einblick in die Leistung der mikrobiellen

Diversität im Verdauungstrakt von Nutztieren. Ein verbessertes Verständnis über die Struktur und Funktion der Mikrobiota und deren interne und externe Einflussfaktoren ist somit unumgänglich. Zukünftige Forschungsfelder sollten somit nicht nur die Interaktion der Mikroorganismen untereinander, sondern ebenso stark die Interaktion zwischen Mikrobiota und Wirtstier betrachten. Dies umfasst zwingend die Analyse des Mukosa-assoziierten Mikrobioms, da diese die Schnittstelle darstellt. Methodische Aspekte der Mikrobiomforschung müssen ebenso weiter entwickelt und vor allem standardisiert werden. Dies beginnt bereits bei der Planung des Experimentes, und setzt sich bei der Probenahme (Einzeltier!) und der standardisierten Extraktion von Biomolekülen zur Vergleichbarkeit der Studien fort. Für einen umfassenden Informationsgewinn ist die Kombination der oben vorgestellten Omics Methoden zu wünschen.

Zusammenfassung

Der tierische Verdauungstrakt ist in verschiedene Kompartimente unterteilt. Diese unterscheiden sich nicht nur in ihrer Anatomie und Physiologie, sondern auch in der Zusammensetzung und somit Funktionalität ihrer mikrobiellen Bewohner. Mikrobielle Lebensgemeinschaften (Mikrobiome) im tierischen Verdauungstrakt formen eine einzigartige Symbiose mit dem Wirtstier. Sie agieren als zentrale Einheit zur Aufrechterhaltung der Stoffwechsellistung und des Immun- und Ernährungsstatus des Tieres. Die mikrobielle Vielfalt und Funktionalität ist wichtig für die effiziente Ausnutzung der vorhandenen Futterressourcen und einer verringerten Bildung unerwünschter Stoffwechselprodukte. Die Kolonisierung des Verdauungstraktes beginnt während der Geburt und unterliegt einer dynamischen Entwicklung im Verlauf des Lebens. Die Zusammensetzung des Mikrobioms ist je nach Individuum unterschiedlich. Somit können die Ernährung, die Umwelt und die Genetik der Tiere als wesentlichste Einflussgrößen auf das intestinale Mikrobiom genannt werden. Die Entwicklung neuer Sequenzierverfahren und bioanalytischer Methoden

erlaubt nun dieses bereits bekannte Wissen vertiefend zu untersuchen. Die Verknüpfung dieser Methoden stellt einen enormen Mehrwert bei der funktionellen Beschreibung des Mikrobioms dar. So können mögliche Veränderung des Mikrobioms präziser beschrieben werden. Eine eigene Studie zeigte zum Beispiel den Einfluss von verfügbarem Phosphor auf die Vitalität des Mikrobioms. Metaproteomische Analysen des Mikrobioms im Kropf und Caecum des Broilers zeigten Indizien für eine veränderte und gestresste bakterielle Gemeinschaft unter Phosphor-limitierenden Bedingungen. Eine Studie im Schwein zeigte die Sukzession des fecalen Mikrobioms bei Umstellung des Versuchsfutters im Verlauf von vier Wochen. Hier konnte eine dynamische Entwicklung erstmalig im Detail gezeigt werden. Dies erlaubt Handlungsempfehlungen über zukünftige Adaptationszeiten bei Fütterungsversuchen geben zu können. Ein verbessertes Verständnis über die Struktur und Funktion des Mikrobioms und deren interne und externe Einflussfaktoren ist somit unumgänglich.

Literaturverzeichnis

- Borda D, Vital M, Sommerfeld V, Rodehutsord M & Camarinha-Silva A (eingereicht) Insights of the establishment of broilers gut microbiota fed with diets supplemented with phosphorus, calcium and phytase.
- Browne HP, Forster SC, Anonye BO, Kumar N, Neville BA, Stares MD, Goulding D & Lawley TD (2016) Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature* 533: 543-546.
- Burbach K, Seifert J, Pieper DH & Camarinha-Silva A (2016) Evaluation of DNA extraction kits and phylogenetic diversity of the porcine gastrointestinal tract based on Illumina sequencing of two hypervariable regions. *Microbiology-Open* 5: 70-82.
- Deusch S, Tilocca B, Camarinha-Silva A & Seifert J (2015) News in livestock research - use of Omics-technologies to study the microbiota in the gastrointestinal tract of farm animals. *Comput Struct Biotechnol J* 13: 55-63.
- Jami E & Mizrahi I (2012) Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals. *PLoS One* 7: e33306.
- Looft T, Allen HK, Cantarel BL, Levine UY, Bayles DO, Alt DP, Henrissat B & Stanton TB (2014) Bacteria, phages and pigs: the effects of in-feed antibiotics on the microbiome at different gut locations. *ISME J* 8: 1566-1576.
- Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK & Knight R (2012) Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 489: 220-230.
- Rajilic-Stojanovic M & de Vos WM (2014) The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. *FEMS Microbiol Rev* 38: 996-1047.
- Ross EM, Moate PJ, Bath CR, Davidson SE, Sawbridge TI, Guthridge KM, Cocks BG & Hayes BJ (2012) High throughput whole rumen metagenome profiling using untargeted massively parallel sequencing. *BMC Genet* 13: 53.
- Tilocca B, Witzig M, Rodehutsord M & Seifert J (eingereicht) Variations of the broiler gastrointestinal tract metaproteome caused by different phytase and phosphorous concentrations of the diets.
- Tilocca B, Burbach K, Heyer CME, Camarinha-Silva A, Hoelzle L, Mosenthin R, Stefanski V & Seifert J (in Vorbereitung) Adaptation of the pig's fecal microbiota in response to different diets shows short-term changes in the structural and functional composition.
- Videnska P, Faldynova M, Juricova H, Babak V, Sisak F, Havlickova H & Rychlik I (2013) Chicken faecal microbiota and disturbances induced by single or repeated therapy with tetracycline and streptomycin. *BMC veterinary research* 9: 30.
- Videnska P, Sedlar K, Lukac M, Faldynova M, Gerzova L, Cejkova D, Sisak F & Rychlik I (2014) Succession and replacement of bacterial populations in the caecum of egg laying hens over their whole life. *PLoS One* 9: e115142.
- Witzig M, Camarinha-Silva A, Green-Engert R, Hoelzle K, Zeller E, Seifert J, Hoelzle LE & Rodehutsord M (2015) Spatial Variation of the Gut Microbiota in Broiler Chickens as Affected by Dietary Available Phosphorus and Assessed by T-RFLP Analysis and 454 Pyrosequencing. *PLoS One* 10: e0145588.

Diskussion



GÄBEL, LEIPZIG

Zwei Fragen. Bei ihrer ganzen Kartierung sind die Protozoen und die Pilze im Vordergrund oder habe ich das falsch verstanden. Das Zweite, da war ich ein bisschen enttäuscht von ihrer Schlussfolie. Als Tiermediziner hätte ich mir schon gewünscht, dass sie den Blick noch etwas weiter rücken, weil, wir haben ja nicht nur das Mikrobiom, was sie untersucht haben, sondern die ganzen Pathogene. Die Interaktion blenden sie so ein bisschen aus. Was passiert, wenn wir in dem Humanprojekt eine latente Helicobacterinfektion haben. Oder noch extremer, wenn wir eine Kokzidiose haben? Was passiert dann? Die Frage geht noch weiter. Sind in ihren Versuchen Kokzidiostatika mit einbezogen, an ihren Hennen?

ANTWORT

Wo wir diese Broiler untersucht haben, wurde keine Kokzidiostatika eingesetzt. Restpathogene spielen natürlich eine große Rolle. Das habe ich ein bisschen außen vorgelassen, weil es auch fachlich sozusagen, es ist ein bisschen sehr verwirrend, ich möchte meinem Kollegen nicht vorgreifen, der sich mehr mit den pathogenen Mikroorganismen beschäftigt in Hohenheim. Es ist hier sehr zu kurz gekommen. Dafür entschuldige ich mich, aber sie haben völlig Recht und das ist auch ein großes Feld der Mikrobiomforschung im Menschen und sollte es auch sein im Tier, also auch Helicobacter zum Beispiel, aber auch Clostridiendefizite sind ein großes Thema im Menschen. Dieselben Methoden kann man natürlich auch

für diese pathogenen Interaktionen verwenden. Da steht außer Frage.

LÜHKEN, GIESSEN

Eine methodische Frage. Sie scheinen festzustellen, welche Mikroorganismen da sind, indem sie die DNA extrahieren und dann sequenzieren. Sie haben aber auch gezeigt, welche Anteile jeweils da waren. Wie stellen Sie das fest? Wie quantifizieren sie das? Nutzen Sie da andere Methoden? Oder geht das auch über Sequenzierung direkt?

ANTWORT

Es geht direkt über Sequenzierung, aber die Anzahl der sogenannte OTUs (operational taxonomic units) werden gezählt und dann wird eine relative Abundanz gemacht. Es sind keine absoluten Quantifizierungen, wie bei Realtime PCR, aber man könnte das, wenn man das genau will, dann anschließen. Man sollte aber erst einmal diese gesamte Diversität im Prinzip erfassen und wenn man sich dann ganz speziell für eine Gruppe interessiert, gezielt quantifizieren. Bei Protein nehmen wir die freie Markierungsmethode, wo wir anhand der biologischen und technischen Applikate auch die Proteine dann quantifizieren können.

ASCHENBACH, BERLIN

Wenn ich über Metagenomics und diese Dinge nachdenke, dann bekomme ich immer wieder das Gefühl, dass der Weg ein sehr sehr weiter ist. Viele Studien kommen doch mehr zu destruktiven Schluss-

folgerungen und die Studien, die wirklich auch funktionelle Schlussfolgerungen zulassen, die sind doch noch sehr sehr dünn gesät. Deswegen hat mir ihre letzte Schlussfolgerung sehr gut gefallen, dass wir wieder auch zurück zu den Bakterien kommen und da kommen wir auch gleich wieder die nächste Fußfessel, weil wir auch dann die Interaktion zwischen den Bakterien wieder beachten müssen. Gibt es eigentlich valide Informationen darüber, allein der Tageszeitpunkt. Sie haben ja ein Problem, die Studien zu standardisieren, die Labore zu standardisieren, aber allein im Tagesverlauf. Wir wissen, wie schnell die Bakterien sich adaptieren. Innerhalb von 20 Minuten können die Bakterien ihren kompletten Stoffwechsel umstellen. Wie realistisch sind die Chancen, dass wir da wirklich einmal soweit standardisieren können, dass wir da verlässliche Daten rausziehen können?

ANTWORT

Da haben Sie Recht. Das müssen wir auch standardisieren. Es gab auch eine Studie in Hohenheim die zum Beispiel die Pansenmikrobiota angeschaut hat zu verschiedenen Zeitpunkten und da noch starke Fluktuation gesehen hat, je nach dem, wann die letzte Fütterung war, Ruhephase vom Tier usw. Das müssen wir standardisieren, was wir gerade beim Broiler versuchen. Wir nehmen jetzt zu dem Zeitpunkt und vorher war irgendwie anderthalb Stunde kein Futter, das Licht ist gerade erst angegangen oder irgendsolche Parameter müssen wir festlegen.

BREVES, HANNOVER

Ich würde doch noch einmal auf Methanbildung zurückkommen. Es soll eine Frage werden, die mehr in die Richtung geht: Welche Funktionalität gibt es eigentlich innerhalb des Mikrobioms? Ein Beispiel: Vor einer ganzen Reihe von Jahren sind ja aus Dickdarmproben verschiedener Bakterienspezies isoliert worden mit klassischen Methoden, die zur Gruppe dieser Acetogenen Bakterien rechnen, die also Methan wiederverwenden können, um daraus Acetat zu machen und deswegen scheiden ja zum Beispiel Schweine oder auch der Mensch weniger Methan pro

Gramm verdauter organischer Substanzen aus, als ein Wiederkäuer. Nun wäre es natürlich faszinierend, so einen Keim ins Vormagensystem zu bringen. Vermutlich wäre das die wirkungsvollste Methode zur Methanreduktion. Aber das funktioniert nicht so. Solche Mikroorganismen werden erledigt, in sehr kurzer Zeit. Welches sind die funktionellen Beziehungen innerhalb einer Population, die das überleben und den Erhalt solcher Bakterien ermöglichen?

ANTWORT

Die Interaktionen sind sehr komplex. Im Pansen gibt es einen geringen Anteil an Acetogenen. Das wird da auch gezeigt, aber der ist verschwindend gering. Eigentliche wäre die energetische auch günstiger, aber wieder die Pathogenitätsmechanismen sind sozusagen, dass die verdrängt werden. Ich habe es gerade nicht ad hoc parat. Das wäre eine Methode, die Methanemission zu verringern. Da müsste man gucken, wie man die stabilisieren kann.

ZEBELI, WIEN

Mir haben diese Ergebnisse sehr gut gefallen. Auch von der Funktionalität her. Waren die Reaktionen unter dem Bedarf des Systems? Konnte man auf Stoffwechselebene irgendwas sehen, aufgrund dieses Mangels.

ANTWORT

Wir haben die Broiler leider nicht Plasma untersucht, sondern nur auf Körperzunahme und Futteraufnahme. Das fehlt jetzt noch sozusagen, weil wir auch nicht erwartet haben, dass wir so einen starken Expressions-Response überhaupt sehen. Um die Daten zu korrigieren, müssen wir auch die Körperparameter, die physiologischen Parameter des Huhns mit betrachten. Das wurde jetzt in der Studie leider nicht gemacht. Da war damals auch nicht zu erkennen, dass das so eine große Auswirkung hat auf das Mikrobiom.

RÖHE, EDINBURGH

Ich fand sehr interessant, dass sie auch zeigten die Variation in der Mikrobiota. Das gleiche finden wir auch. Wir finden aber bessere Schätzwerte auf der Basis der Mikrobengene. Die sind nicht so variabel, nicht so abhängig von all den Faktoren, die sie gefunden haben. Wir finden, dass diese mikrobiellen Gene genutzt werden können, um genetische Unterschiede bis zum Tier hin zu finden. Haben sie dort Ansätze? Sehen sie dort in dem Gebiet Ansätze? Was ich auch sehr interessant fand: Sie fanden Unterschiede zwischen den Tieren. Ich bin Genetiker. Das ist eigentlich was wir nutzen wollen. Das deutet auch darauf hin, dass ein genetischer Einfluss vorhanden ist. Wie stehen sie dazu?

ANTWORT

Es gibt Studien, wo gezeigt wurde, dass es einen tiergenetischen Einfluss auf das Mikrobiom gibt. Es wurde letztes Jahr eine Studie publiziert von der INRA, wo sie Schweine untersucht haben und die Mikrobiota dazu und dann wurde das in diese Entrotypen klassifiziert und dann schon gezeigt, haben wir verschiedene Gruppen von Schweinen. Wir haben in verschiedene Gruppierungen Klassen einteilen lassen. Da ist etwas, was meine Kollegin zusammen mit Herrn Bennewitz weiterverfolgen möchte. Dieser genetische Einfluss ist auf jeden Fall da, dieser genetische Einfluss auf das Mikrobiom. Darum reicht es auch nicht. Herr Thaller hatte gestern gezeigt, wo das Mikrobiom ausgetauscht wurde und im Prinzip ist es dann wieder stabilisiert worden. Das hat mich nicht überrascht. Das ist ein Effekt, den man recht häufig findet.

BENNEWITZ, HOHENHEIM

Ein Kommentar: In der Tat haben wir, lieber Herr Röhe, auch dazu Heritabilitätsschätzungen gemacht beim Schwein für die Zusammensetzung der Mikrobiota für die einzelnen taxonomischen Einheiten und haben auch, obwohl wir eine sehr begrenzte Tierzahl hatten, doch deutlich signifikante Heritabilitätsschätzwerte hatten, über Null gefunden. Und umgekehrt

haben wir auch gesehen, dass diese Mikrobiota die klassischen quantitativen Merkmale, die uns interessieren, beeinflussen, das heißt, wir könnten züchterisch nutzen. Die Heritabilität für eine optimierte Mikrobiomzusammensetzung zu züchten beim Schwein, mit dem Ziel, das quantitative Merkmal zu verbessern. Aus züchterischer Sicht ist das Mikrobiota eine erklärende Variable für den Phänotyp, quantitatives Merkmal, aber andererseits auch ein Merkmal des Tieres, welches wir züchterisch beeinflussen können, so dazwischen ist es dann zu sehen.

WIMMERS, DUMMERSTORF

Ich finde es toll, dass sie versuchen, von der Taxonomie auf die Ebene der Funktionalität zu kommen. Und mit den Proteomicsansätzen kommt man darauf hin. Sie teilten dann immer noch Tausende von verschiedenen Proteinen. Ich gehe davon aus, dass viele von den Proteinen funktionell aber das gleiche machen. Hat man schon eine Ahnung, auf wieviel kanonische Stoffwechselwege man das bewegen kann, falls das runterbrechen kann und ist es dann nicht so, dass es oftmals völlig egal ist, ob wir im Darm das eine oder das andere Bakterium haben, weil, die tun das gleiche.

ANTWORT

Die funktionelle Redundanz ist sehr groß. Ob wir jetzt Bakterium X oder Bakterium Y haben, es ist bei allen Pyruvatstoffwechsel. Natürlich finden wir auch die Proteine. Was der Wert an diesen Proteomics-tools ist, das benutzen ist im Prinzip die Quantifizierung. Wenn Sie jetzt verschiedene Futterrationen miteinander vergleichen ist der Stoffwechselweg, egal, ob er jetzt vom Bakterium X oder Y ist, häufiger zu finden ist als in der anderen Probe. Das ist der Mehrwert dabei. Die funktionelle Redundanz ist auf jeden Fall da.

WECKWERTH, WIEN

Kurzer Kommentar, aber wichtig. Es wurde jetzt oft diskutiert: Die Omicsmethoden generieren enorm viele Hypothesen. Die Hypothesen müssen natürlich biochemisch getestet werden. Da sind wir uns alle

einig. Ich bin seit 15 Jahren in der Methodenentwicklung. Wir haben wahrscheinlich eines der ersten Labels für die Methoden auch publiziert 2002. Der Punkt ist aber, das Wichtige kommt jetzt, dass die Journals inzwischen darauf reagieren. Es gibt jetzt Daten-Resort-Paper in vielen Journals, sehr guten Journals, die sagen, o.k. das ist ein Ressort-Paper. Hier werden sehr interessante Hypothesen aufgebaut mit den Datensätzen. Das kann so publiziert werden, ohne dass wir jetzt die Hypothesen auch alle bestätigen müssen. Dann bauen die biochemischen Arbeiten natürlich auch auf diesen Dingen auf. Da gibt es wirklich eine Reaktion in der Literatur, was ganz wichtig ist, weil, das eine schließt das andere nicht aus. Wir müssen natürlich weiter diese Omicsanalysen machen, um Datenbanken aufzubauen und gleichzeitig die biochemische Validierung durchführen.

KASPERS, MÜNCHEN

Ich habe nur einen Aspekt, der mich interessieren würde. Sie haben die Mikrobiome im Lumen und in der Mukosa verglichen, Das stelle ich mir methodisch schon relativ schwierig vor. Haben sie in der Mukosa Mikroorganismen gefunden, die ganz einmalig dafür sind, denn wären ja potentielle Kandidaten für die Interaktion zwischen dem Mikrobiom und dem Wirt. Ich denke da speziell an das Immunsystem und dem Feedback, der sich daraus ergibt.

ANTWORT

Ja, haben wir. Das ist das, was ich Ihnen zeigen wollte. Hier ist es natürlich nur sehr grob auf Familienebene runtergebrochen, aber gibt viele bakterielle und auch andere mikrobielle Spezies, die nur in der Mukosa vorkommen. Es gibt ein Beispiel aus der Humanmedizin zum Kultivieren, dies wird jetzt geprüft. Und auch die ganzen In-vitro-Methoden, die jetzt entwickelt werden, also dieses Polyferm z. B. auch Die nutzen jetzt alle diese Mukosa-Schicht. Die versuchen jetzt, diese Mukosa in ihre In-vitro-Modelle mit einzubauen, weil sie erkannt haben, dass das wichtig ist.

KASPERS, MÜNCHEN

Wenn sie sagen, Mukosa ist zumindest in den Maus-Modellen gezeigt worden, dass im Colon zwei verschiedene fluide Phasen in der Mukosa sind. Haben sie eine Vorstellung, wo die Bakterien bei ihnen sitzen und ob das bei den Hühnern eigentlich auch so ist?

ANTWORT

Da gibt es jetzt wohl noch keine Studien. Das müsste man sich wirklich mal anschauen, ob es das in der festen Gel-Art oder in der wässrigen Art gibt. Bei der Ratte und der Maus gibt es da Beispiele, aber beim Nutztier hat sich damit noch niemand näher beschäftigt.

Angeborenes und erworbenes Immunsystem – wichtige Modulatoren der Tiergesundheit?



Das angeborene und erworbene Immunsystem

Die Tiergesundheit nimmt sowohl unter dem Kriterium des Tierwohls als auch unter ökonomischen und sozialen Gesichtspunkten eine zentrale Rolle in der Tierhaltung ein. Zur Erhaltung seiner Gesundheit muss sich das Individuum mit zahlreichen potentiell pathogenen Herausforderungen auseinandersetzen, die von Klimaeinflüssen über metabolische Herausforderungen bis hin zu belebten Pathogenen (Viren, Bakterien, Parasiten) reichen (Abbildung 1). Dem Tier steht zur Abwehr von als „fremd“ erkannten Faktoren äußerer oder innerer Ursprungs das Arsenal der Mechanismen des angeborenen und erworbenen Immunsystems zur Verfügung [(Tizard 2013), Abbildung 2]. Dabei weist das angeborene Immunsystem speziessübergreifend eine hohe Stabilität auf, richtet sich

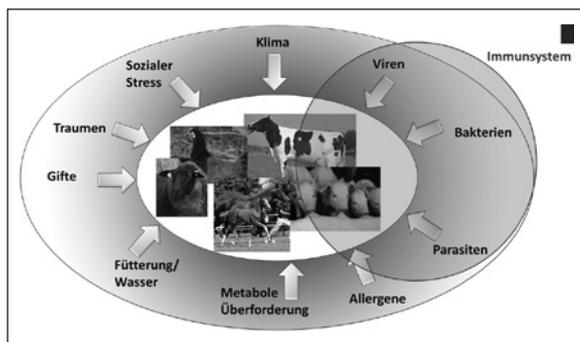


Abbildung 1: Abwehrmechanismen der Nutztiere gegenüber potentiell pathogenen Faktoren

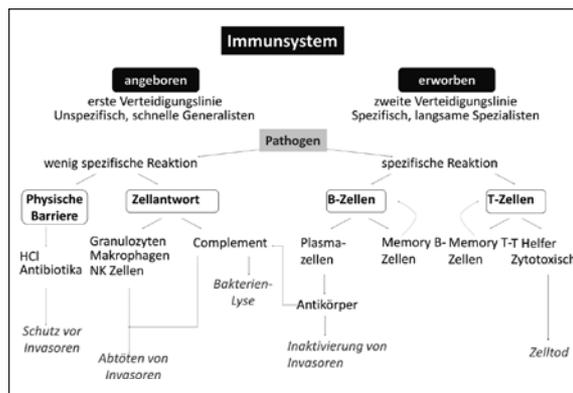


Abbildung 2: Angeborene und erworbene Immunantwort

bei geringer bis mittlerer Spezifität gegen eine Vielzahl von Fremdorganismen oder -molekülen und ist durch die hohe Geschwindigkeit seiner Aktivierung bei erstem Erregerkontakt die erste Verteidigungslinie eines Wirtes. Demgegenüber erfolgt die Reaktion des erworbenen Immunsystems – vor allem bei erster Auseinandersetzung mit dem Fremdorganismus/-molekül – nur langsam, allerdings bei oft hoher Effektivität und Spezifität. Zunehmend zeigt sich allerdings, dass eine scharfe Trennung zwischen beiden Anteilen des Immunsystems (angeboren vs. erworben) nicht gerechtfertigt ist, da es zum einen viele Wechselwirkungen z.B. über Effektormoleküle des Complementsystems oder Botenstoffe (z.B. Zytokine) gibt. Zum

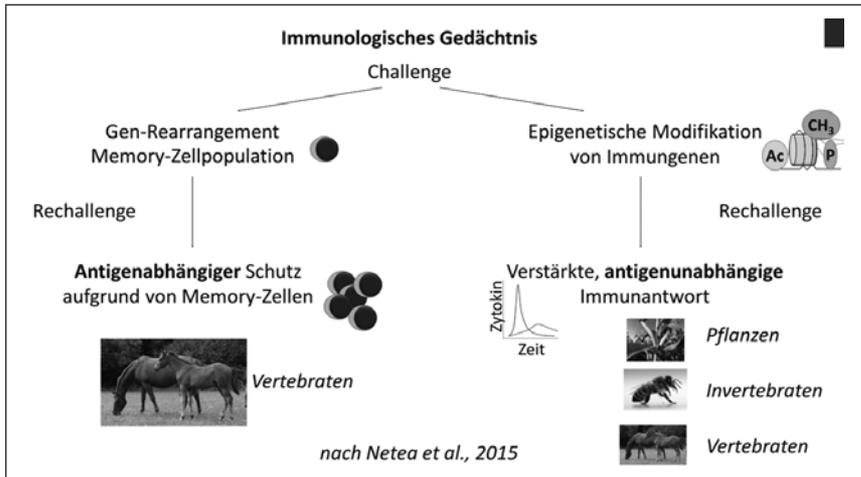


Abbildung 3: Immunologisches Gedächtnis der angeborenen und erworbenen Immunantwort

anderen ist auch für das angeborene Immunsystem eine mindestens partielle Spezifität (z.B. Rezeptoren für jeweils spezifische Gruppen von Pathogen assoziierten molekularen Mustern, PAMPS) sowie eine Gedächtnisfunktion [(Netea *et al.* 2015), Abbildung 3] belegt.

Die Effizienz der Immunantwort kann sowohl durch züchterische Maßnahmen als auch durch pro- und metaphylaktische Interventionen verbessert werden, wofür genetische Variabilität bzw. exakte Kenntnis der immunmodulierenden Faktoren Voraussetzung sind.

Genetische Variabilität des Immunsystems und der Tiergesundheit

Aufgrund der hohen Bedeutung der Tiergesundheit besteht ein wichtiges Ziel der Tierhaltung darin, die Anfälligkeit der gehaltenen Tiere durch Resistenz-zucht zu verbessern. Dabei stellt die Resistenz im engeren Sinn den „angeborenen, artspezifischen Zustand der Unempfindlichkeit eines Organismus für einen bestimmten Krankheitserreger“ [Lexikon der Veterinärmedizin, (Wiesner *et al.* 2000)] dar, ein Ideal, das innerhalb einer Spezies selten auftritt. Stattdessen ist die Resistenz im weiteren Sinn, die optimierte Fä-

higkeit eines Organismus sich gegen die pathogenen Effekte eines Erregers zur Wehr zu setzen, ein der Zuchtarbeit zugängliches Merkmal.

Forschung und Ansätze zur Resistenz-zucht bei Nutztieren sind gegen alle Kategorien von Infektionserregern beschrieben. Vorrangiger Fokus war dabei auf Viren, Bakterien und Endoparasiten gerichtet. Da Viren zur eigenen Vermehrung auf das intrazelluläre Replikationsreservoir des Wirts angewiesen sind, ist die Vermutung naheliegend, dass eine Variabilität im Wirt Effekte auf die Pathogenität des eingedrungenen Virus haben sollte. Die Zucht auf Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien und Parasiten gewinnt aktuell zunehmend weiter an Bedeutung: Zum einen bestehen zunehmend weniger Therapieoptionen (Resistenzen, Anwendungsbeschränkungen von Antibiotika, Behandlungsverbote im Rahmen ökologischer Tierhaltung). Zum anderen ist mit dem angestrebten Ausbau einer Freilandhaltung eine erhöhte Exposition der Tiere mit den Erregern gegeben. Allerdings waren bislang Bestrebungen, die Empfänglichkeit der Nutztiere gezielt züchterisch zu verbessern, nur begrenzt erfolgreich. Ursache dafür könnte die z.T. geringe Erbllichkeit dieser Merkmale sein. Wie neuere

Ergebnisse zeigen, kann allerdings durch eine tiefere Phänotypisierung der genetisch bedingte Anteil der unzweifelhaft großen phänotypischen Varianz der Krankheitsempfänglichkeit deutlich besser beschrieben werden. Dies zeigen Erblichkeiten für die Viruslast im Rahmen einer Infektion mit dem Porcinen Reproductive and Respiratory Virus (PRRV) von 0.35 (Boddicker *et al.* 2012) oder über die antikörpervermittelte Immunantwort von 0.14-0.38 (Thompson-Crispi *et al.* 2012). Auch experimentelle Daten, z.B. aus Untersuchungen mit Halbgeschwistergruppen von Färsen mit divergentem paternalen QTL-Allel für somatischen Zellscore, belegen eine deutlich genetisch bedingt unterschiedliche Empfänglichkeit für Infektionserkrankungen. So zeigten diese Färsen, die unter identischer Umwelt gehalten wurden, bei gleichem Milchleistungsniveau deutlich abweichende somatische Zellzahl in der Milch (Kühn *et al.* 2008).

Die Verknüpfung der neuen Möglichkeiten der funktionalen Genomanalyse zusammen mit vermehrtem Wissen über das Immunsystem erlauben zunehmend, die Bedeutung variabler Immunantwort des erworbenen und vor allem des angeborenen Immunsystems für die divergente Empfänglichkeit für Infektionserkrankungen abzuschätzen.

Klassisches, erstes Beispiel für genetische Variation des erworbenen Immunsystems mit Auswirkungen auf die Tiergesundheit ist die bereits 1977 noch mit serologischen Methoden der Immungenetik nachgewiesene, über den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)-Klasse I vermittelte Resistenz der Hühner gegenüber dem Virus der Marek-Erkrankung (Briles *et al.* 1977). Ein aktuelles Beispiel ist die zell- bzw. antikörpervermittelte Immunantwort (CMIR bzw. AMIR) beim Rind, die aktuell in der Rinderzucht intensiv als Bioindikator für die Empfänglichkeit gegenüber einer Reihe von Erkrankungen (u.a. Mastitis) diskutiert wird (Thompson-Crispi *et al.* 2012; Thompson-Crispi *et al.* 2013; Thompson-Crispi *et al.* 2014). Während für die erworbene Immunantwort bislang vorrangig genetische Varianten im MHC-Komplex diskutiert werden, konnten neue Untersuchungen für die erworbene Immunantwort eine Reihe von

Faktoren identifizieren, die zur genetisch bedingten Variation beitragen. Dies betrifft z.B. E-Cadherin für die Resistenz der Lachse gegenüber der Infektiösen Pankreasnekrose (Moen *et al.* 2015), das Guanylat binding protein 5 (GBP5) für die PRRV-Empfänglichkeit beim Schwein (Koltes *et al.* 2015) oder das Suppressor of Cytokine Signalling 2 (SOCS2) für die variable Zellzahl in der Milch beim Schaf, einem Indikator für Mastitiseempfänglichkeit (Rupp *et al.* 2015). Diese genetisch variablen Faktoren führen zu einem divergenten Abwehrvermögen gegenüber Infektionserregern. Allerdings sind die zugrunde liegenden exakten molekularen Wirkmechanismen noch nicht voll verstanden. So ist z.B. für eine Reihe von Adherens Junction-Proteinen bereits eine Rezeptorfunktion für Viren beschrieben, nicht jedoch für das E-Cadherin (Mateo *et al.* 2015). Auch die Rolle von GBP5, einem Bestandteil des Inflammasoms (Kim *et al.* 2016), im Rahmen der Virusabwehr ist noch unzureichend erklärt. Trotz noch nicht vollständig aufgeklärter Mechanismen konnten jedoch mit den neu gewonnenen genetische Informationen über vorteilhafte Immunantwort z.T. bereits sehr deutliche Verbesserungen der Tiergesundheit erzielt werden. So reduzierte sich die Zahl der Ausbrüche von Infektiöser Pankreasnekrose beim Lachs in Norwegen auf weniger als 1/3 seitdem dort in zunehmendem Umfang Eier mit vorteilhaftem Genotyp eingesetzt werden (Moen *et al.* 2015).

Bei der Zucht auf immun-vermittelte Krankheitsresistenz ist allerdings zu beachten, dass es sich bei der Immunantwort natürlicherweise um ein klassisches Optimum-Merkmal handelt. Sowohl eine zu geringe Abwehrbereitschaft gegenüber Fremdorganismen/-molekülen noch eine übersteigerte Reaktion können zu starken Schäden des Tieres führen. Belege für eine schädliche besonders starke Immunreaktion sind z.B. die Sommerräude der Pferde oder auch unerwünschte Impfreaktionen, wie im Rahmen der bovinen neonatalen Panzytopenie beschrieben (Bridger *et al.* 2011). Diese letale neonatale Erkrankung entsteht durch die Aufnahme von Kolostrum aus Kühen, die

zuvor mit einer definierten Vakzine gegen das Bovine-Virus-Diarrhoe Virus (BVDV) geimpft worden waren. Lediglich Kühe mit genetischer Prädisposition reagieren jedoch mit einer Synthese von für das Kalb pathogenen Alloantikörpern, die in das Kolostrum sezerniert werden. In einem Impfversuch gekoppelt mit Gesamttranskriptom-Analyse (RNAseq) konnte gezeigt werden, dass Kühe, deren Kolostrum BNP bei Kälbern auslöste, u.a. eine sehr viel höhere Expression des Interleukin 8 aufwiesen als Vollschwwestern, deren Kolostrum keine klinische BNP hervor rief (Demasius *et al.* 2016; Demasius *et al.* 2013). Aufgrund potentiell auch sehr unvorteilhafter Effekte einer veränderten Immunantwort ist besonders für eine auf Immunantwort selektierende Zucht die Kenntnis der physiologischen Prozesse wichtig, die durch Selektion beeinflusst werden.

Bislang sind jedoch viele Faktoren, die die Immunmechanismen bei den Nutztieren modulieren, erst unzureichend beschrieben. Das betrifft sowohl bislang unbekannte Immunfaktoren und nicht-kodierende, regulatorisch wirksame Elemente im Genom, die enge Vernetzung von Energiestoffwechsel und Immunsystem, als auch die nur unzureichend beschriebene genomische Struktur wichtiger Elemente des Immunsystems wie z.B. des Haupthistokompatibilitätskomplexes. Während bislang die genetische Variation der Immunantwort vor allem in protein-codierenden Bereichen des Genoms gesucht wurde, zeigt sich zunehmend, dass nicht-codierende funktionale Elemente eine wichtige Rolle bei der Immunregulation spielen. So modulieren long noncoding RNAs (lncRNAs) u.a. die Expression von Zytokinen (z.B. Effekt von NEAT1 auf die Expression von IL8 beim Menschen) (Heward & Lindsay 2014). Neue Studien beim Menschen und bei der Maus belegen darüber hinaus die immunmodulierende Funktion von endogener doppelsträngiger RNA (dsRNA) (Mannion *et al.* 2014) sowie Konsequenzen von Mutationen bei dsRNA-modifizierenden Enzymen auf eine balancierte Immunantwort (Blango & Bass 2016). Die funktionale Annotation dieser Faktoren bei Nutztierspezies ist jedoch noch in der Entwicklung.

Während früher die Mechanismen des Energiestoffwechsel und der Immunantwort weitgehend unabhängig voneinander betrachtet wurden, zeigt sich heute zunehmend, dass eine äußerst enge Verzahnung zwischen beiden Systemen besteht. Dies kann insbesondere für Situationen mit besonders hohen Belastungen für den Energiestoffwechsel (Hochleistungstiere) bzw. mit hohem Infektionsdruck (hoher Erregerexposition) zu nachteiligen Effekten auf den jeweils anderen Merkmalskomplex führen. Ein Beispiel für die Verflechtung von Energiestoffwechsel und Immunantwort ist das auch bei Krebszellen unter dem Namen Warburg-Effekt bekannte Phänomen eines Umschaltens der Energiegewinnung von der oxidativen Phosphorylierung zur Glykolyse, das unter einer Immunchallenge auch bei Leukozyten nachgewiesen wurde (Netea *et al.* 2015; Weikard *et al.* 2015). Die enge Verbindung von Metabolismus und Immunantwort zeigt sich auch am Beispiel der SOCS2-Variation beim Schaf. So wies die mutierte SOCS2-Proteinvariante eine wesentlich geringere Bindung des eines phosphorylierten Wachstumshormon-Rezeptors (GHR)-Peptids auf als das Wildtyp-Allel (Rupp *et al.* 2015). Dies erklärt vermutlich, warum die mit der divergenten Mastitisempfindlichkeit verbundene Genvariante auch mit divergentem Körperwachstum der Schafe assoziiert ist.

Modulatoren der Immunantwort

Bei der Selektion auf Immunsystem-vermittelte Resistenz des Wirtes gegenüber Krankheitserregern stellt sich die Frage, ob der Selektion auf pathogen-spezifisches Abwehrvermögen (in der Regel vermittelt durch das erworbene Immunsystem) oder eher der Selektion auf unspezifisches Abwehrvermögen (vermittelt durch das angeborene Immunsystem) der Vorzug zu geben ist. Zu berücksichtigen ist dabei eine sehr starke wirts-, zelltyp-, alters- und pathogen-spezifische Variation in der Immunantwort.

Sowohl die erworbene als auch die angeborene Immunantwort weisen eine Spezifität in Hinsicht auf das abzuwehrende Pathogen auf, wenn auch in unterschiedlich starker Ausprägung. Kombiniert mit einer

genetischen Variabilität des Wirt ergibt sich daraus, dass bei der Beurteilung einer Immunantwort immer die jeweilige Wirt-Pathogen-Kombination zu betrachten ist. Sehr anschaulich ist dies am Beispiel der Fucosyltransferase 1 (FUT1)-Genvariante des Schweins, die eine Resistenz gegenüber Ödemkrankheit vermittelt (Meijerink *et al.* 1997) – allerdings nur gegen eine durch den *E.coli* F18-Typ verursachte Erkrankung. Infektionen mit anderen *E.coli*-Typen werden durch die FUT1-Genvariante nicht beeinflusst. Neben der Spezifität der Wirt-Pathogen-Interaktion existiert auch eine ausgeprägte Zelltyp-Pathogen-Interaktion innerhalb eines Tieres. So reagieren z.B. Milchdrüsenepithelzellen, Milchdrüsenfibroblasten und Blutmakrophagen mit sehr unterschiedlicher Zytokin-Expression auf *E.coli*, *S.aureus* oder *S. uberis*-Challenge (Günther *et al.* 2016).

Bei der Betrachtung der Immunantwort ist darüber hinaus zu bedenken, dass diese je nach ontogenetischem Stadium unterschiedlich sein kann. Studien an Fibroblasten, die Tieren zu unterschiedlichem Alter entnommen wurden, zeigen nach LPS-Challenge nicht nur zwischen den Altersstufen erhebliche Unterschiede in der Quantität der Interleukin 8 - Antwort (Green *et al.* 2011). Auch innerhalb der verschiedenen Altersstufen traten Unterschiede in der Rangierung der Tiere nach Immunantwort auf. Andere Untersuchungen belegen, dass die Impffresponse von nicht-laktierenden Kühen und Kühen in der Früh-laktation deutlich abweicht (Weikard *et al.* 2015): in Leukozyten kommt es bei Früh-laktierenden zu einer sehr viel geringeren Zahl auf- bzw. abregulierter Gene nach Impfung im Vergleich zu Nichtlaktierenden. Diese Variation der Immunantwort unabhängig von genetischer Ausstattung der Tiere ist zu beachten, wenn geeignete Phänotypen für die detaillierte Charakterisierung der Immunantwort gesucht werden.

Da selbst die angeborene Immunantwort eine Art Gedächtnis u.a. im Sinn eines Primings entwickelt, kann dies für pro- bzw. metaphylaktische Interventionen genutzt werden. Entsprechende Grundlagenuntersuchungen mit einer LPS-Gabe vor experimenteller Mastitis-Infektion zeigten eine deutliche

Abmilderung des ansonsten heftigen klinischen Verlaufs der Entzündung (Petzl *et al.* 2012). Vor dem Praxiseinsatz derartiger Modulatoren sind jedoch auch hier umfangreiche Voruntersuchungen zu Wirkmechanismen erforderlich.

Zusammenfassung

Die Grenzen zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem der Nutztiere verlaufen fließend. Genetische Variation im angeborenen und erworbenen Immunsystem mit Effekten auf Tiergesundheit ist beschrieben, wobei die genauen physiologischen und molekularen Mechanismen variabler Immunantwort in der Regel jedoch noch unklar sind. Dies liegt unter anderem daran, dass funktionale Elemente und deren Effekte auf Immunantwort in Nutztiergenomen unzureichend beschrieben sind. Bei der Selektion auf Immunantwort bzw. deren pro- oder metaphylaktischer Modulation ist zu berücksichtigen, dass das Immunsystem eng verflochten ist mit anderen physiologischen Mechanismen (insbesondere dem Energiestoffwechsel). Daher ist für die Verbesserung der Tiergesundheit durch Modulation des Immunsystems die detaillierte Kenntnis über Haupt- und Nebenwirkungen von Selektionsentscheidungen bzw. Interventionen unbedingt erforderlich.

Literaturverzeichnis:

- Blango, M. G., and B. L. Bass, 2016 Identification of the long edited dsRNAome of LPS stimulated immune cells. *Genome Res.* doi:10.1101/gr.203992.116.
- Boddicker, N., E. Waide, R. Rowland, J. Lunney, D. Garrick *et al.* 2012 Evidence for a major QTL associated with host response to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus challenge. *J. Anim. Sci.* 90: 1733-1746.
- Bridger, P. S., R. Bauerfeind, L. Wenzel, N. Bauer, C. Menge *et al.* 2011 Detection of colostrum-derived alloantibodies in calves with bovine neonatal pancytopenia. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 141: 1-10.
- Briles, W. E., H. A. Stone, and R. K. Cole, 1977 Mareks-Disease - Effects of B-Histocompatibility Alloalleles in Resistant and Susceptible Chicken Lines. *Science* 195: 193-195.
- Demasius, W., R. Weikard, F. Hadlich, J. Buitkamp, and Ch. Kühn, 2016 A novel RNAseq-assisted method for MHC class I genotyping in a non-model species applied to a lethal vaccination-induced alloimmune disease. *BMC Genomics* 17: 365.
- Demasius, W., R. Weikard, F. Hadlich, K. E. Mueller, and C. Kuehn, 2013 Monitoring the immune response to vaccination with an inactivated vaccine associated to bovine neonatal pancytopenia by deep sequencing transcriptome analysis in cattle. *Vet. Res.* 44: 93.
- Green, B., S. Kandasamy, T. Elsassner, and D. Kerr, 2011 The use of dermal fibroblasts as a predictive tool of the toll-like receptor 4 response pathway and its development in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 94: 5502-5514.
- Günther, J., M. Koy, A. Berthold, H. J. Schubert, and H. M. Seyfert, 2016 Comparison of the pathogen species-specific response in udder derived cell types and their models. *Vet. Res.* 47: 22.
- Heward, J. A., and M. A. Lindsay, 2014 Long non-coding RNAs in the regulation of the immune response. *Trends in Immunology* 35: 408-419.
- Kim, B. H., J. D. Chee, C. J. Bradfield, E. S. Park, P. Kumar *et al.* 2016 Interferon-induced guanylate-binding proteins in inflammasome activation and host defense. *Nature Immunol.* 17: 481-U189.
- Koltes, J. E., E. Fritz-Waters, C. J. Easley, I. Choi, H. Bao *et al.* 2015 Identification of a putative quantitative trait nucleotide in guanylate binding protein 5 for host response to PRRS virus infection. *BMC Genomics* 16.
- Kühn, C., F. Reinhardt, and M. Schwerin, 2008 Marker assisted selection of heifers improved milk somatic cell count compared to selection on conventional pedigree breeding values. *Arch. Anim. Breed.* 51: 23-32.
- Mannion, N. M., S. M. Greenwood, R. Young, S. Cox, J. Brindle *et al.* 2014 The RNA-Editing Enzyme ADAR1 Controls Innate Immune Responses to RNA. *Cell Reports* 9: 1482-1494.
- Mateo, M., A. Generous, P. L. Sinn, and R. Cattaneo, 2015 Connections matter - how viruses use cell-cell adhesion components. *Journal of Cell Science* 128: 431-439.
- Meijerink, E., R. Fries, P. Vogeli, J. Masabanda, G. Wigger *et al.* 1997 Two alpha(1,2) fucosyltransferase genes on porcine Chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and Escherichia coli F18 receptor (EC-F18R) loci. *Mamm. Genome* 8: 736-741.
- Moen, T., J. Torgersen, N. Santi, W. S. Davidson, M. Baranski *et al.* 2015 Epithelial Cadherin Determines Resistance to Infectious Pancreatic Necrosis Virus in Atlantic Salmon. *Genetics* 200: 1313-1326.
- Netea, M. G., E. Latz, K. H. G. Mills, and L. A. O'Neil, 2015 Innate immune memory: a paradigm shift in understanding host defence. *Nature Immunol.* 16: 675-679.
- Petzl, W., J. Günther, H. Zerbe, H. J. Schubert, D. Koczan *et al.* 2012 Lipopolysaccharide treatment of the udder protects against experimental E.coli mastitis. *Innate Immunology* 18: 467-477.
- Rupp, R., P. Senin, J. Sarry, C. Allain, C. Tasca *et al.* 2015 A Point Mutation in Suppressor of Cytokine Signalling 2 (Socs2) Increases the Susceptibility to Inflammation of the Mammary Gland while Associated with Higher Body Weight and Size and Higher Milk Production in a Sheep Model. *Plos Genet.* 11: e1005629.
- Thompson-Crispi, K., A. Sewalem, F. Miglior, and B. Mallard, 2012 Genetic parameters of adaptive immune response traits in Canadian Holsteins. *J. Dairy Sci.* 95: 401-409.
- Thompson-Crispi, K. A., F. Miglior, and B. A. Mallard, 2013 Incidence Rates of Clinical Mastitis among Canadian Holsteins Classified as High, Average, or Low Immune Responders. *Clinical and Vaccine Immunology* 20: 106-112.
- Thompson-Crispi, K. A., M. Sargolzaei, R. Ventura, M. Abo-Ismael, F. Miglior *et al.* 2014 A genome-wide association study of immune response traits in Canadian Holstein cattle. *BMC Genomics* 15: 559.
- Tizard I., 2013 *Veterinary Immunology*. Elsevier, St.Louis/Missouri, USA.
- Weikard, R., W. Demasius, F. Hadlich, and C. Kuehn, 2015 Different Blood Cell-Derived Transcriptome Signatures in Cows Exposed to Vaccination Pre- or Postpartum. *Plos One* 10: e0136927.
- Wiesner E., R. Ribbeck, H. L. Schlegel, R. Berg, and A. Smollich, 2000 *Lexikon der Veterinärmedizin*. Enke Verlag, Stuttgart.

Diskussion



BRUCKMAIER, BERN

Zu der Gedächtnisfunktion des Immunsystems. Diese Studie, die mit LPS praktisch geprimed haben und dann eine Koinfektion gemacht haben. Wie ist das zu sehen? Wir haben auch viele Erfahrungen, weil wir viel mit LPS arbeiten und dieses Gedächtnis scheint aber nicht allzu lange anzudauern. Da würde ich jetzt von zwei, drei Wochen reden. Ich weiß nicht, ob sich das mit deinen Erfahrungen deckt und dann verschwindet das wieder. Kann man das irgendwie funktionell greifen? Welche Faktoren sind es und warum verschwindet es wieder?

ANTWORT

In diesem spezifischen Fall ist das schon so ein Zeitraum, der kommt schon hin. Man weiß, dass diese Modifikationen meistens nicht auf der Ebene der Methylierung ablaufen, weil das Dinge sind, die oft längerfristige Auswirkungen haben. Also chromatin und epigenetische Modifikation an Chromatin sind häufig sehr viel flexibler und schneller, hin- und herschaltbar als Methylierung und es gibt Hinweise darauf, dass das Ganze hier eher auf Chromatinmodifikation beruht als auf Methylierung, so dass das also deutlich dynamisch und flexibler ist. Beim Menschen ist das Ganze sehr viel intensiver untersucht als bei unseren Nutztieren. Da gibt es auch Hinweise darauf, dass das sicherlich nicht so lange das Gedächtnis andauert, wie wir das vom erworbenen Immunsystem kennen, wo sie wissen, dass alle, die an Tetanus geimpft und wenn sie fleißig sind, gehen sie nach 10

Jahren wieder hin. Das sind sicherlich Mechanismen des Gedächtnisses, die sich eher nach Wochen, Monaten und Jahren, weniger nach Jahren bemessen. Trotzdem sollte man die nicht missachten, gerade für metaphylaktische Maßnahmen der Frühaktation. Wenn wir die Tiere die ersten vier bis sechs Wochen besser schützen könnten, wären wir schon ein Stückchen weiter.

LÜHKEN, GIESSEN

Du hattest ja richtigerweise gesagt, dass man aufpassen muss bei bestimmten Dingen wie überschießende Immunreaktionen, dass wir gucken müssen, was wir tun. Einen Punkt hattest du nicht erwähnt. Wir müssen auch aufpassen, dass wir die Variabilität des Immunsystems durch Zucht dann nicht zu stark einschränken. Bei manchen Dingen ist es wahrscheinlich nicht so schlimm wie bei den E. coli-Rezeptoren. Die sollten eben einfach die Mutation aufreißen am besten. Aber im MHC-Denken, da gibt es Leute, die sind da auch der Meinung, man darf da tatsächlich nicht rausselektieren. Ich bin mir da nicht so ganz sicher, wie es nun ist, aber Vorsicht sollte man walten lassen.

ANTWORT

Ich habe das nicht erwähnt, aber das ist genau richtig. Deswegen denke ich: Es kann nicht Ziel sein, bei allen Hühner den gleichen MHC-Haplotyp zu züchten. Das wäre sehr gefährlich oder eben auch die Zucht da auf „Amir“ Chromosomen 23 beim

Rind, wenn alle Tiere den gleichen Haplotyp hätten, wenn man wüsste, was ist der beste Haplotyp für diese Amir-Antwort, muss das nicht unbedingt für die Tiergesundheit das Beste sein, wenn wir alle Tiere jetzt homozygot für ein bestimmtes Allel machen. Da stimme ich vollkommen zu. Die Variabilität ist unheimlich wichtig.

KALM, KIEL

Wenn sie die Pflanzenzüchter ansehen: Die haben sich vermehrt um bestimmte Krankheiten gekümmert z.B Nematodenresistenz bei den Kartoffeln, bei den Zuckerrüben bestimmte Krankheiten ausgewählt. Wenn ich jetzt ihre Ausführung höre, gibt es eigentlich im Tierbereich auch so ein Konsortium, wo wir sagen, wir nehmen uns jetzt mal die oder die Krankheit vor und versuchen mal in Richtung Resistenzen oder wie auch immer über Immunologie etwas zu schaffen. Und wenn ja, nach welchen Kriterien würde man das dann entscheiden, was man nehmen sollte. Kann man das dann auch nachhaltig so entwickeln?

ANTWORT

Leider eben nicht in Deutschland, leider auch nicht in Europa. Es gibt aber sehr schöne Konsortien in Amerika, die sich z. B. mit enzootischer Bronchopneumonie beschäftigen, gerade im Rinderbereich ein akutes Thema, da auch Jungtierverluste auftreten. Da ist mit richtig Geld ein großes Konsortium zusammengestellt worden, also ganz multidisziplinär auch, die in einem großen Konsortium daran arbeiten. Die haben sich eben umgesehen und überlegt, was ist jetzt wirklich relevant. Was ist jetzt etwas, was nicht nur punktuell von Bedeutung ist. Was aber genügend Spezifität hat, dass man es vielleicht genetisch angreifen kann. Das ist ein schönes Beispiel. Die haben auch schon einiges publiziert. Es gibt ein bisschen etwas in Richtung Paratuberkulose. Wir hatten einmal so ein bisschen die Mastitis auf der Plattform. Leider gibt es so etwas nicht im größeren Umfang. Wir haben jetzt so ein kleines Netzwerkprojekt zur Mastitis selber, was von der BLE gefördert wird. Aber so richtig große Netzwerke nicht. Es gibt ein EU-gefördertes im Maida-

Netzwerk. Allerdings sind diese auch von deutscher Seite her immer sehr übersichtlich bestückt, was die Ausstattung angeht. Leider gibt es so etwas nicht so richtig. Der Fokus müsste aus meiner Sicht sein, es muss etwas sein, was nicht nur in Nischen relevant ist, sondern eine größere Relevanz hat, was auch nicht gleich ein ganz spezifisches Pathogen ist, enzootische Pneumonie ist vielleicht ein gutes Beispiel. Es hat mehrere Erreger, von denen man recht gut weiß, dass sie beteiligt sind, es hat eine große Bedeutung. Da versucht man, so etwas zu initiieren. Man geht da nämlich von der Immunologie bis Molekularbiologie, Epidemie, das ganze Spektrum durch.

ZEBEL, WIEN

Wieder zu dem Priming, die sie gezeigt haben. Wenn man über Priming spricht, dann geht man davon aus, dass das Gewebe überhaupt niemals in Kontakt war. Aber kann man bei Kühen tatsächlich die im Stall waren über Priming sprechen, wenn sie sowieso zu viele vom Stall haben.

ANTWORT

Da kommt jetzt wieder die zellspezifische Antwort. Natürlich hat eine Darmzelle multiple LPS-Erfahrung beim Rind. Klar, da sind massenweise E. coli drinnen. Aber es geht ja um das Priming spezifisch der Euterzelle. Und nur, weil jetzt vielleicht die Darmzelle LPS-Erfahrung hatte, kommt das nicht unbedingt im immunologischen Gedächtnis der Euterzelle an. Die Euterzelle hat hoffentlich nicht so viel LPS-Erfahrung, weil E. coli eigentlich im Euter normalerweise sofort eine Immunreaktion hervorrufen. Es gibt dann schon sofort eine Mastitis, wenn E. coli größeren Umfang im Euter sind. Da muss man wirklich gucken. Das gleiche sehen wir auch bei Staphylococcus aureus. Staphylococcus aureus finden Sie z. B. in der Maul- oder Nasenhöhle massenweise, ohne dass das irgendwelche Krankheiten erzeugt. Aber wenn es in die Milchdrüse kommt, dann haben sie halt die Infektion. Da ist diese Zelltypspezifität auch in der Immunantwort, auch im Priming ganz wichtig.

SIMIANER, GÖTTINGEN

Es wurde schon mehrfach, auch in anderen Vorträgen, auf die Wechselwirkung oder den Zusammenhang zwischen Energiestoffwechsel und Immunsystem hingewiesen. Was sind denn die Teile des Immunsystems, die die Energie verbrauchen? Wie sind da die Mechanismen? Ist das klar?

ANTWORT

Zum einen ist es so, dass in dem Beispiel auf der zellulären Ebene, was ich dargestellt habe, mit dem Immun-response. Da ist es z. B. so, dass sogar das Umschalten von oxydativer Phosphorylierung auf Glykolyse ganz kurzfristig Energie bringt. Es ist energetisch eigentlich völlige Verschwendung und deswegen kann sich das die Kuh in der Früh-laktation noch gar nicht leisten. Aber es ist ganz kurzfristig Energie, die zur Verfügung steht und gleichzeitig auch noch im Sinne von Regulation auf das Anschalten von Immunprozessen wirkt. Z.B. dieses Umschalten jetzt hier von Oxydation über Phosphorylierung auf Glykolyse ist für das Tier ein riesengroßer Energieverbrauch. Ich kann die gleiche Menge Glukose reinstecken. Ich kriege aber aus der Glykolyse viel weniger ATP raus, aber auch viel schneller. Wenn ich die gleiche Menge ATP brauche, da muss ich viel mehr Glukose reinstecken, um das gleiche zu generieren. Das ist ein Unterschied, warum ich so viel auf dem Weg Energie brauche. Natürlich die ganzen inflammatorischen Prozesse, wenn mal Fieber entsteht, der ganze Metabolismus als Ganzes, wenn ja alle Reaktionen, alle Stoffumsätze werden ja hochgefahren. Das ist natürlich auch ein riesengroßer Energieverbrauch im Prozess. Z.B., wenn sie Virusinfektionen haben, dann findet ganz massiv ein Stopp statt, es begehen viele Zellen Selbstmord, weil sie verhindern wollen, dass das Virus in sich selbst repliziert. Das muss alles wieder abgebaut werden, neu aufgebaut werden. Das sind alles enorm energieaufwendige Prozesse. Ich habe das nicht kalkuliert, aber da gibt es vielleicht Spezialisten-Immunologen, die das besser erklären können als ich das kann.

FRIES, MÜNCHEN

Deine Ausführungen schreien nach einem Ausrufezeichen. Weshalb das Fragezeichen?

ANTWORT

Man muss erst mal alles in Frage stellen. Wenn man eine klare Antwort findet, dann kann man das Ausrufezeichen setzen.

FRIES, FREISING

Kann ich deine Aussagen vielleicht auch dahin interpretieren, dass Genetik nicht immer gefolgt wird von Selektion. Das ist ein Thema hier auch, dass uns vielleicht als Genetiker die Tierzuchtbereich arbeiten vorgeworfen werden. Ihr findet etwas individuelle Unterschiede mit Hilfe der Genetik und das wird dann sofort in Selektionsmaßnahmen umgesetzt. Ich glaube, die Warnung ging auch dahin, dass man da vorsichtig ist. Da kann man noch einen Schritt weitergehen, Paradigmenwechsel, um das große Wort zu brauchen, dass wir individuelle Unterschiede feststellen, die Spezialität eines bestimmten Tieres oder einer Herde und dann eben speziell darauf reagieren und nicht einfach hingehen und jetzt alle Tiere, gerade wenn es um das Immunsystem geht, in eine Richtung zu selektieren, um dann festzustellen, dass uns das in eine Sackgasse hineinführt. Eine neue Sicht der Dinge, ein besseres Management der Tierpopulation, „Precision Veterinary Medicine“

ANTWORT

Genau. Das ist also nicht unbedingt precision breeding sondern in diesem Fall precision veterinary management. Da muss man daran denken an Impfung. Impfstoffe werden getestet an relativ wenigen männlichen, gesunden Tieren kurz nach der Pubertät. Alle werden gleich behandelt. Wir sehen gerade dass der Impf-response von Tier zu Tier sehr, sehr unterschiedlich sein kann und z. B. besser zu wissen, reagiert mein Tier jetzt stark auf eine Impfung oder weniger stark auf eine Impfung. Das ist eben z. B. ein Impfstoff mit einem stärkeren Stoffeinsatz, wie bei einem Tier, was wenig Immunantwort zeigt und ein

Impfstoff mit einem schwachen Stoffeinsatz wo ich weiß, das Tier zeigt eh schon eine starke Immunreaktion, das würde vielleicht dazu führen dass wir auch bessere Impfergebnisse bekommen.

FRIES, FREISING

Oder auch Antibiotika einsetzen. Dass man moderate Tiere in der Herde identifiziert und präventiv mit Antibiotika behandelt, dass es da nicht zum Ausbruch kommt.

STEINHART, HAMBURG

Kurze Frage. Gibt es bei den Tieren auch IGE oder wird das induziert? Wie läuft das da ab, ähnlich wie beim Menschen über die Zellaktivierung oder gibt es da einen ganz anderen Mechanismus?

ANTWORT

Ich bin jetzt nicht der Immunologe, aber ich weiß natürlich, dass es IGE auch beim Nutztier gibt. Klassischerweise kennen wir das ja auch von den Parasiten. Das ist der klassische Weg, weswegen wir IGE kriegen, sind halt wenn wir Parasiteninfektionen haben, dann sehen wir, dass die IGE-Spiegel hochgehen. Das ist sicherlich nicht viel anders als der Mensch auch. Bei vielen anderen Unterschiede, die wir haben, aber das ist keiner.

SWALVE, HALLE

Nachdem wir jetzt die Immunfrage ausführlich diskutiert haben, hätte ich eine Frage. Wäre es vielleicht besser für Toleranz zu züchten? Das war jetzt nicht ihr spezifisches Thema, aber es gibt ja auch Beispiele in der Tierzucht. Tolerante Tiere, die zwar infiziert sind, die vielleicht auch die Krankheit weitergeben können, aber die selbst ganz gut damit zurechtkommen. Können Sie dazu etwas sagen?

ANTWORT

Das ist relativ schwer der Öffentlichkeit zu vermitteln. Wenn ich jetzt ein E. coli-Bakterium habe, das z. B. EHEC vermittelt, die Tiere leben damit wunderbar. Das wird aber jetzt weitergegeben. Wir erzeugen

ja Lebensmittel. Dann glaube ich, ist die Öffentlichkeit damit nicht so glücklich. Oder wenn wir daran denken, es ist ja oft bei Viruserkrankungen, wo wir dann Handelsbeschränkungen sehen, wo Tiere zwar selber wunderbar damit klar kommen, aber, weil sie wunderbar damit klar kommen, das Ganze auch sehr schön streuen und dann nicht noch einen Virusnachweis haben und dann eben Handelsbeschränkungen kriegen, tue ich mich jetzt mit einer Toleranzzucht vielleicht für spezifische Anwendungen, aber doch im allgemeinen relativ schwer, muss ich gestehen.

SWALVE, HALLE

Das waren von ihnen jetzt die negativen Beispiele, es gäbe vielleicht auch positive.

KNEIFEL, WIEN

Eine laienhafte Frage: Gibt es harte Fakten, Immunparameter, die sagen, dass diese Art von Tierhaltung sich besser ausprägt auf das Immunsystem oder auswirkt, als eine andere. Es wird ja häufig diskutiert in dem Zusammenhang. Was macht ein glückliches Tier? Hat es auch ein besseres Immunsystem? Da werden ja Werte aus Aussagen generiert, die sagen, ja. Die Tiere wachsen glücklich auf. Sind die dann auch, was das Immunsystem angeht, gesünder?

ANTWORT

Natürlich weiß man zum Beispiel, also ohne Erregerkontakt das taugt nicht. z. B., die jetzt vollkommen keimfrei aufwachsen, das ist keine Verbesserung, weder des Immunsystems noch des Tierwohls. Ein Tier, dem ich die Gelegenheit gebe, vergleichsweise stressfrei, also ohne massive Aktivierung des Cortisolsystems, was immer immunsuppressiv wirkt, aufzuwachsen, dem ich die Möglichkeit gebe auch vom Energiestoffwechsel her zum Beispiel, genügend Energieversorgung zu haben, um diese ganzen Gedächtnisfunktionen auszuprägen, aber in spezifischer Haltungsform. Das würde ich jetzt als Biomarker, wenn man jetzt nur so weiterdenkt als Biomarker für gute Haltung. Das finde ich relativ weit hergeholt.

KNEIFEL, WIEN

Aber auf den Menschen übertragen das ist interessant, weil die Hygienehypothese sagt, dass Kinder, die auf dem Bauernhof aufwachsen, zumindest in den ersten beiden Lebensjahren, dass die wesentlich robuster sind und auch weniger Asthma bekommen, weniger allergische Erkrankungen....

ANTWORT

Da komme ich auf ein Beispiel aus der Praxis zurück. Einer meiner Kunden damals war der felsenfesten Meinung, gesunde Schweine müssen dreckig sein. Nach dem Motto hat er auch seinen Stall gehalten und ich kann sagen: Er hatte Recht. Seine Schweine waren definitiv gesund, aber als Empfehlung würde ich das jetzt nicht geben.

KASPERS, MÜNCHEN

Das ist ja ein Thema, was uns schon ewig bewegt. Im Geflügel sind viele Versuche gemacht worden, wo man auch noch Antikörperkonzentrationen getestet hat. Man hat dann hinterher andere Mikroorganismen genommen. Es waren Anti-E-Coli. Das funktionierte ganz ordentlich. Dann ist man mit dem Herpesvirus gekommen, ging es den Tieren richtig schlecht. Sie haben die Komplexität am Anfang rausgestellt. Habe sie eine Idee, wie man das anpacken kann, dass wir gleichzeitig Anthelminthen, Anti-Ectoparasiten, Antivirus, wir haben viele DNA-Viren, RNA-Viren, verschiedene Bakterien, Pilze, Kokzidien in einen Schätzparameter einbauen, mit dem wir dann die Gesamtrobustheit testen können und dann vielleicht mit Hilfe der Genetiker Chips finden, die uns helfen, dass wir besser verstehen, was passiert.

ANTWORT

Ein Ansatz, der gemacht worden ist, ohne dass ich von dem vollständig überzeugt bin, ist dieser kanadische Ansatz mit dem A-Mir und C-Mir. Bei A-Mir ist ja die Idee, eine Kuh hat wahrscheinlich nie in ihrem Leben Hühnerweißlysozym gehabt. Wie gut kann sie Antikörper gegen so ein Fremdpeptid bilden? C-Mir, sie hat wahrscheinlich häufig Kontakt

mit Candida gehabt. Wie stark kann sie hier ihre Immunantwort ausbilden? Das sind globale Immunresponse-Parameter. In so eine Richtung kann man sich etwas überlegen. Ich bin nicht so ganz davon überzeugt. Zurzeit bin ich ja sehr stark aktiv geworden und angeblich gibt es auch eine Reihe von Erkrankungen. Scheint das zu funktionieren? Sagen zumindest die Kanadier. Ich denke, dass man zumindest für die aus unserer Sicht brennenden Erkrankungen vielleicht eher spezifische Tests bereitstellen sollte und vielleicht an dem Beispiel des Priming auch ein bisschen Richtung Metaphylaxe denkt. Was sind eigentlich die Mechanismen? Warum werden die Einen krank und was machen die anders, als die nicht erkrankten. Dass man so eine Metaphylaxe auch wieder Richtung „personal live“ geht.

KASPERS, MÜNCHEN

In dem Kontext ist ein anderes großes Problem, dass wir über das Immunsystem unserer Haustiere vergleichsweise wenig wissen. Die Maus-Immunologen werfen uns jeden Tag die Müllhalde von Informationen vor die Füße. Letztes Beispiel sind die Lymphozyten. Da hatte man einen, das war ein Beispiel, jetzt haben wir zwei, drei und vier. Wir wissen überhaupt nicht, zumindest über die Spezies, die mich interessiert und ob es die Dinge überhaupt gibt. Wir haben keine Tools, wir können gar nichts machen, d. h., wir können die Komplexität eigentlich gar nicht angucken und deswegen bin ich immer so im Zweifel, ob wir das irgendwie überhaupt testen können.

ANTWORT

Da sind wir noch in der genomischen Ära vielleicht, dass zumindest die funktionale Assoziation besser hinbekommen. Dass wir besser wissen, was überhaupt die genomische Ausstattung der Nutztiere ist. Da denke ich, sind die Omics-Techniken gut, weil sie einfach erst einmal deskriptiv sind. Wir hatten auch in diesem Impfversuch ein neues Cytokin gefunden. Da wusste noch keiner, dass es das überhaupt gibt beim Rind. Über die hypothesenfreien Ansätze kommt man da schon mehr zu Beobachtungen, die dann na-

türlich funktionell verifiziert werden müssen. Da bin ich wieder im Einklang mit meinen Vorrednern, dass die funktionelle Charakterisierung uns dann trotzdem hilft. Ein schönes Beispiel ist: Wir haben ein LPS, ein Polysaccharid ist ja nun gut bekannt. Eine bestimmte Subkomponente dafür wirkt auf den TLR Tier, beim

Pferd wohl agonistisch und beim Rind antagonistisch. Da sieht man schon die großen Spezies-Unterschiede und wie tief man da in die Funktion gehen muss, wenn man das sauber beschreiben will. Die funktionale Beschreibung ist schon weiter sehr wichtig.

Beiträge der Funktionalen Genomanalyse zum Verständnis des komplexen Merkmals Fruchtbarkeit



Fruchtbarkeit der Nutztiere

Fruchtbarkeit ist ein essentielles Merkmal unserer Nutztiere. Damit im positiven Sinne verbunden sind zum Beispiel Begriffe wie, Trächtigkeit, Befruchtung, Empfänglichkeit Embryonalentwicklung, gesunder Nachwuchs, Tiergesundheit allgemein und Erbgesundheit. Eher neutral sind dagegen Begriffe wie, Zwischenkalbezeit, Anzahl Laktationen, Nutzungsdauer bei der Milchkuh, Sexualzyklus, Trächtigkeitsrate, IVF und Embryotransfer und Steroidhormone. Mit Fruchtbarkeitsproblemen der Nutztiere gehen Wörter einher wie, stille Brunst, embryonaler Fruchttod und Abort, niedrige Ferkelzahl, uterine crowding, Nachgeburtsverhaltung, Mastitis und klinische oder subklinische Endometritis. Durch die teilweise zu einseitige Züchtung auf bestimmte Produktionsmerkmale oder andere nutzungsbedingte Merkmale, wie beispielsweise Nutzung für den Sport beim Pferd, kam es zunehmend zu Problemen bei der Etablierung und Erhaltung von Trächtigkeiten. Neben durch die Züchtung bedingte Ursachen haben auch die Haltungsbedingungen und verschiedene Pathogene einen negativen Einfluss auf die Fruchtbarkeit. Beim Rind sind diese Probleme besonders augenfällig bei Hochleistungs-Milchrassen, wo in den vergangenen Jahren in einigen Ländern ein dramatischer Anstieg der embryonalen Verluste vor dem Tag 16 der Trächtigkeit zu verzeichnen ist [1]. Im Zusammenhang mit der negativen Energiebilanz zu Beginn der Laktation stehen weitere Erkrankungen, wie beispielsweise Nachgeburtsverhaltung, Mastitis, und subklinische

Endometritis [2]. Beim Schwein besteht kein generelles Problem in Bezug auf Fruchtbarkeit, jedoch gibt es eine relativ hohe Schwankung in der Anzahl der Ferkel, und bei zu hoher Zahl kommt es zum Phänomen des „Uterine Crowding“, wodurch sich einzelne Ferkel verzögert entwickeln mit der Folge eines verringerten Geburtsgewichts und einer reduzierten Fleischqualität [3-5]. Beim Pferd gibt es mehrere Ursachen für Fruchtbarkeitsstörungen bzw. embryonale Verluste im Verlauf der Trächtigkeit. Beispielsweise ist die Fruchtbarkeit individueller Hengste sehr variabel, weil bei der Zucht dieses Merkmal nur eine untergeordnete Rolle spielt [6]. Bei der Stute ist das häufigste Problem die Endometrose, eine fibrotische Veränderung des Endometriums, das vor allem mit zunehmendem Alter auftritt. Diese auch als „Breeding-induced endometritis“ bezeichnete Erkrankung [7] betrifft Stuten, die empfänglich sind für eine persistierende Endometritis nach wiederholter Besamung. Um der Komplexität des Merkmals Fruchtbarkeit und verschiedenster Fruchtbarkeitsstörungen sowie relevanter Erkrankungen Rechnung zu tragen, wurden und werden zunehmend Studien basierend auf holistischen Ansätzen der sogenannten „Funktionalen Genomanalyse“ durchgeführt.

Fortschritte in den Omics-Technologien

Die enormen technologischen Fortschritte der letzten Jahre im Bereich der Funktionalen Genomanalyse hatten auch große Auswirkungen auf die Forschung im Nutztierbereich, was an einer rasanten Zunahme

von Publikationen mit entsprechenden Keywords in den letzten zehn Jahren zu sehen ist. Durch die Entwicklung des Next-Generation-Sequencing (NGS) wurde es möglich, Transkriptome und Genome in kürzester Zeit und zu tragbaren Kosten zu analysieren [8]. Auch im Bereich der Proteomanalyse gab es mit der Entwicklung neuer massenspektrometrischer Methoden große Fortschritte hinsichtlich Sensitivität und Quantifizierung [9,10]. Weiterhin wurden die NGS-Techniken so verfeinert, dass solche Untersuchungen ausgehend von kleinsten Probenmengen durchgeführt werden können, d.h. mit einzelnen oder wenigen Zellen sprich Eizellen oder frühen Embryonen [11-13]. Mit dieser rasanten Entwicklung ergibt sich aber auch die schwierige Herausforderung der Dateninterpretation und -integration [14-16]. Zunehmend werden große Datensätze zur Genexpression auf der Ebene der RNA und der Proteine sowie zu genomweiten Sequenzvarianten generiert, die mit dem Merkmal Fruchtbarkeit korrelieren [17]. Neben den „klassischen“ Genprodukten Messenger-RNA und Protein werden weitere RNA-Moleküle untersucht, die nicht für Proteine kodieren, sondern vor allem regulatorische Funktionen besitzen [18,19]. Besonders hervorzuheben sind dabei die sogenannten microRNAs (miRNAs), kurze regulatorische RNAs, die in der Regel die Translation von spezifischen Target-mRNAs inhibieren sowie mRNA-Degradation bewirken [20]. Beim Rind und beim Schwein wurden bereits einige Untersuchungen der Expression von miRNAs sowohl im Endometrium als auch im Embryo/Conceptus durchgeführt [21-23].

Sowohl die Flut der Daten als auch zu wenig standardisierte Auswertungs-Pipelines, unvollständige Genomsequenz-Assemblies und Genannotationen erschweren jedoch eine optimale Auswertung und Vergleichbarkeit verschiedener Datensätze, insbesondere wenn sie in verschiedenen Laboren und mit unterschiedlichen technologischen Plattformen generiert wurden. Hierin wird eine der wichtigen Aufgaben für die zukünftige Forschung liegen, und es besteht dringender Bedarf entsprechender Projektförderung. In

der Kombination von Daten aus GWAS- und QTL-Studien mit entsprechenden Daten aus Genexpressionsanalysen liegt ein großes Potential zum besseren Verständnis des Merkmals Fruchtbarkeit. Einige Versuche, diese Daten zu integrieren, wurden beim Rind bereits durchgeführt [24-26].

Physiologische und pathophysiologische Untersuchungsmodelle

Die ersten Studien von Genexpressionsveränderungen im Endometrium während der Phase der Erkennung und Etablierung einer Trächtigkeit mittels Methoden der Funktionalen Genomanalyse erfolgten anhand relativ einfacher Tiermodelle, wie z.B. durch Vergleiche von trächtigen und zyklischen Tieren bzw. zwischen verschiedenen Zykluszeitpunkten [27]. So wurden in einer Reihe von Studien die Genexpressionsveränderungen im bovinen Endometrium zu verschiedenen Zeitpunkten vor der Implantation des Konzeptus analysiert (Tabelle 1). Die Untersuchung mehrerer Zykluszeitpunkte brachte neue Erkenntnisse über die Dynamik von Genexpressionsverläufen im Endometrium während des Östrus-Zyklus [28]. Der Vergleich der Ergebnisse aus Untersuchungen in verschiedenen Spezies, wie beispielsweise Rind, Schwein, Pferd und Mensch brachte neue Erkenntnisse zu konservierten als auch Spezies-spezifischen Änderungen der Genexpression im Endometrium während der Präimplantationsphase [29,30]. Daneben wurden und werden zunehmend auch Modelle für gestörte Fruchtbarkeit, Einfluss des metabolischen Status sowie der Ernährung auf die Fruchtbarkeit entwickelt. Untersucht wurden beispielsweise Modelle für eine gestörte Entwicklung der Plazenta [31], Mastitis [32], Ablösung der Nachgeburt beim Rind [33], und Effekte einer negativen postpartum Energiebilanz auf die Genexpression im Endometrium [34]. Weiterhin wird auch der Effekt von Umwelteinflüssen, wie z.B. von östrogenen Substanzen, auf die Genexpression reproduktiver Organe als auch auf die Entwicklung von Embryonen und der Nachkommen untersucht [35].

Tag	Expression	Gene	Plattform	Studie
13	down	7	Illumina RNA-seq	Forde et al. 2012
15	down	59	Affymetrix Microarray	Bauersachs et al. 2012
15	down	72	Illumina RNA-seq	Bauersachs et al. 2012
16	down	161	Affymetrix Microarray	Forde et al. 2011
16	down	159	Illumina RNA-seq	Forde et al. 2012
17	down	460	Agilent Microarray	Walker et al. 2010
18	down	68	SSH+cDNA-Array	Bauersachs et al. 2006
18	down	328	Affymetrix Microarray	Bauersachs et al. 2012
18	down	915	Illumina RNA-seq	Bauersachs et al. 2012
13	up	9	Illumina RNA-seq	Forde et al. 2012
15	up	247	Affymetrix Microarray	Bauersachs et al. 2012
15	up	286	Illumina RNA-seq	Bauersachs et al. 2012
16	up	340	Affymetrix Microarray	Forde et al. 2011
16	up	229	Illumina RNA-seq	Forde et al. 2012
17	up	540	Agilent Microarray	Walker et al. 2010
18	up	80	SSH+cDNA-Array	Klein et al. 2006
18	up	99	SSH+cDNA-Array	Bauersachs et al. 2006
18	up	585	Affymetrix Microarray	Bauersachs et al. 2012
18	up	863	Illumina RNA-seq	Bauersachs et al. 2012
hIFNA	up	169	Affymetrix Microarray	Bauersachs et al. 2012

Tabelle 1: Vergleichende Genexpressionsstudien bovines Endometrium während der Präimplantationsphase. Tag: Tag der Trächtigkeit; down: niedrigere Expression im Endometrium trächtiger Tiere im Vergleich zu nicht trächtigen Kontrollen; up: höhere Expression im Endometrium trächtiger Tiere im Vergleich zu nicht trächtigen Kontrollen; SSH: Suppression subtractive hybridization; RNA-seq: RNA-Sequenzierung; cDNA-Array: Microarray mit aufgedruckten cDNA-PCR-Produkten.

Neue Formen der embryo-maternalen Interaktion und ihre Bedeutung für die Etablierung einer Trächtigkeit

Neben Interaktionen zwischen Gameten, Embryonen und dem weiblichen Reproduktionstrakt via klassischen Signalmolekülen wurden kürzlich neue Mechanismen der Interaktion entdeckt und untersucht, wie z.B. die Wechselwirkung mittels Exosomen [36]. Diese Vesikel embryonalen und maternalen Ursprungs scheinen eine äußerst wichtige Rolle für den Austausch verschiedenster Moleküle zwischen Mutter

und Gameten bzw. Embryonen/Feten zu spielen. Mit Hilfe der Methoden der Funktionalen Genomanalyse kann ihr Inhalt umfassend charakterisiert werden. Es wurde gezeigt, dass Exosomen verschiedenste Cargos zu den entsprechenden Targetzellen transportieren, wie beispielsweise RNA und Proteine, aber auch DNA und Lipide [37,38]. Auch hier ist die Integration von Datensätzen enorm wichtig, um die Effekte der transferierten Moleküle auf die Targetzellen in ihrer Gesamtheit zu verstehen.

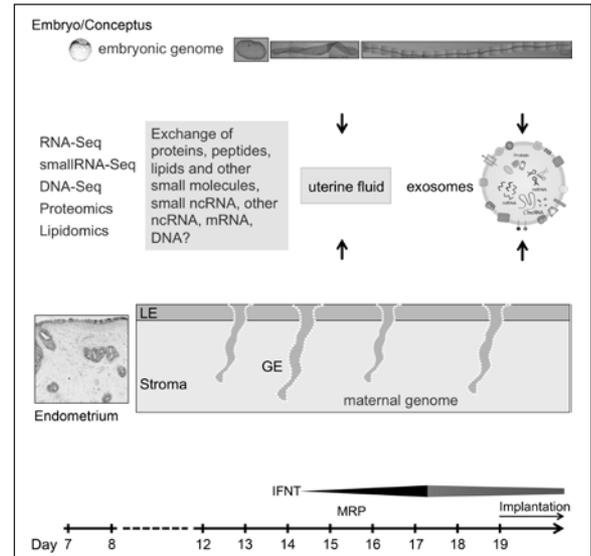
Entwicklung neuer diagnostischer Möglichkeiten

Mit den Fortschritten des Next-Generation-Sequencing ergeben sich auch völlig neue Möglichkeiten in der Diagnostik von Fruchtbarkeitsstörungen bzw. von Störungen im Verlauf der Trächtigkeit. So können zum Beispiel RNA und DNA fetalen Ursprungs im Plasma der Mutter identifiziert und sequenziert werden. Im Falle des Menschen konnten das komplette Transkriptom und Genom im Blutplasma nachgewiesen werden [39-41]. Damit ist praktisch ein Monitoring einer Schwangerschaft bzw. Trächtigkeit mit einer nicht-invasiven Methode möglich. In Bezug auf die Anwendung im Bereich der Nutztiere ist in Kombination mit der Entwicklung miniaturisierter Third-Generation Sequenziersysteme [42] eine schnelle molekulare nichtinvasive Diagnostik vor Ort in der Produktionsstätte denkbar. In greifbarer Zeit wird es möglich sein, von Einzeltieren schnell und zu geringen Kosten das Genom oder Teile davon bzw. Transkriptome zu bestimmen. Neben der Analyse von Plasmaproben gilt die Untersuchung von Exosomen isoliert aus Blut, Urin oder Milch als vielversprechende Methode, um neue und einfach zugängliche Biomarker für physiologische oder pathologische Prozesse zu identifizieren (Microgenomics Symposium Paris 2016).

Ausblick

Die Ansätze der Funktionalen Genomanalyse haben neue Wege eröffnet, um dem Verständnis des Merkmals Fruchtbarkeit näher zu kommen. Trotzdem gibt es eine Reihe großer anstehender Herausforderungen. Eines der Hauptprobleme ist die Integration verschiedener Datensätze, einerseits Datensätze, welche in verschiedenen Laboratorien generiert wurden, auf der anderen Seite Ergebnisse verschiedener holistischer Ansätze, wie beispielsweise Transkriptom-, Proteom-, und Genomanalysen (Genomvarianten). Einen Überblick über einen möglichen systembiologischen Ansatz zur Untersuchung der embryo-maternalen Interaktion während der Präimplantationsphase beim Rind zeigt Abbildung 1.

Eine große Hürde bei der Integration von Omics-Daten ist die Existenz verschiedenster Datenbanken und Identifier sowie unvollständige, uneinheitliche und nicht aufeinander abgestimmter Genannotationen, beispielsweise im Vergleich der Genomdatenbanken des NCBI und Ensembl. Eine unzureichende oder fehlerhafte Gen- oder Protein-Annotation führt zu deutlichen Datenverlusten oder im schlimmsten Fall Fehlinterpretationen der erhaltenen Ergebnisse. Weiterhin bringen die sogenannten Omics-Ansätze oftmals eine Flut von Daten und Ergebnissen, die nicht einfach zu interpretieren sind. Der Charakter solcher Untersuchungen ist oft eher hypothesengenerierend, so dass die erhaltenen Ergebnisse im Prinzip zahlreiche weitere Studien nach sich ziehen müssten, um diese neuen Hypothesen zu prüfen und zu validieren. In Bezug auf die Forschungsförderung müsste hier wesentlich mehr investiert werden, um erstens die Integration und tiefere Analyse der großen Datenmengen zu bewältigen und damit einhergehend die aus den Ergebnissen generierten Hypothesen auch zu validieren.



Literaturverzeichnis

1. Diskin MG, Parr MH, Morris DG. Embryo death in cattle: an update. *Reprod Fertil Dev* 2011;24:244-251
2. Wathes DC. Mechanisms linking metabolic status and disease with reproductive outcome in the dairy cow. *Reprod Domest Anim* 2012;47 Suppl 4:304-312
3. Pardo CE, Berard J, Kreuzer M, Bee G. Intrauterine crowding impairs formation and growth of secondary myofibers in pigs. *Animal : an international journal of animal bioscience* 2013;7:430-438
4. Pardo CE, Kreuzer M, Bee G. Effect of average litter weight in pigs on growth performance, carcass characteristics and meat quality of the offspring as depending on birth weight. *Animal : an international journal of animal bioscience* 2013;7:1884-1892
5. Vallet JL, McNeel AK, Miles JR, Freking BA. Placental accommodations for transport and metabolism during intra-uterine crowding in pigs. *Journal of animal science and biotechnology* 2014;5:55
6. Varner DD, Gibb Z, Aitken RJ. Stallion fertility: a focus on the spermatozoon. *Equine Vet J* 2015;47:16-24
7. Troedsson MH, Woodward EM. Our current understanding of the pathophysiology of equine endometritis with an emphasis on breeding-induced endometritis. *Reprod Biol* 2016;16:8-12
8. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* 2016;17:333-351
9. Zhang G, Annan RS, Carr SA, Neubert TA. Overview of peptide and protein analysis by mass spectrometry. *Current protocols in molecular biology* / edited by Frederick M Ausubel [et al] 2014;108:10 21 11-30
10. Zhang Z, Wu S, Stenoien DL, Pasa-Tolic L. High-throughput proteomics. *Annual review of analytical chemistry* 2014;7:427-454
11. Hrdlickova R, Toloue M, Tian B. RNA-Seq methods for transcriptome analysis. *Wiley interdisciplinary reviews RNA* 2016
12. Marr C, Zhou JX, Huang S. Single-cell gene expression profiling and cell state dynamics: collecting data, correlating data points and connecting the dots. *Current opinion in biotechnology* 2016;39:207-214
13. Liu N, Liu L, Pan X. Single-cell analysis of the transcriptome and its application in the characterization of stem cells and early embryos. *Cell Mol Life Sci* 2014;71:2707-2715
14. Suravajhala P, Kogelman LJ, Kadarmideen HN. Multi-omic data integration and analysis using systems genomics approaches: methods and applications in animal production, health and welfare. *Genetics, selection, evolution : GSE* 2016;48:38
15. Rajasundaram D, Selbig J. More effort - more results: recent advances in integrative 'omics' data analysis. *Current opinion in plant biology* 2016;30:57-61
16. Sun YV, Hu YJ. Integrative Analysis of Multi-omics Data for Discovery and Functional Studies of Complex Human Diseases. *Advances in genetics* 2016;93:147-190
17. Bauersachs S, Wolf E. Uterine responses to the preattachment embryo in domestic ungulates: recognition of pregnancy and preparation for implantation. *Annual review of animal biosciences* 2015;3:489-511
18. Bidarimath M, Khalaj K, Wessels JM, Tayade C. MicroRNAs, immune cells and pregnancy. *Cell Mol Immunol* 2014;11:538-547
19. Kotaja N. MicroRNAs and spermatogenesis. *Fertil Steril* 2014;101:1552-1562
20. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010;11:597-610
21. Ponsuksili S, Tesfaye D, Schellander K, et al. Differential expression of miRNAs and their target mRNAs in endometria prior to maternal recognition of pregnancy associates with endometrial receptivity for in vivo- and in vitro-produced bovine embryos. *Biol Reprod* 2014;91:135
22. Krawczynski K, Bauersachs S, Reliszko ZP, Graf A, Kaczmarek MM. Expression of microRNAs and isomiRs in the porcine endometrium: implications for gene regulation at the maternal-conceptus interface. *BMC Genomics* 2015;16:906
23. Krawczynski K, Najmula J, Bauersachs S, Kaczmarek MM. MicroRNAome of porcine conceptuses and trophoblasts: expression profile of micromRNAs and their potential to regulate genes crucial for establishment of pregnancy. *Biol Reprod* 2015;92:21
24. Pimentel EC, Bauersachs S, Tietze M, et al. Exploration of relationships between production and fertility traits in dairy cattle via association studies of SNPs within candidate genes derived by expression profiling. *Anim Genet* 2011;42:251-262
25. Minten MA, Bilby TR, Bruno RG, et al. Effects of fertility on gene expression and function of the bovine endometrium. *PLoS One* 2013;8:e69444
26. Moore SG, Pryce JE, Hayes BJ, et al. Differentially Expressed Genes in Endometrium and Corpus Luteum of Holstein Cows Selected for High and Low Fertility Are Enriched for Sequence Variants Associated with Fertility. *Biol Reprod* 2016;94:19
27. Bauersachs S, Mitko K, Ulbrich SE, Blum H, Wolf E. Transcriptome studies of bovine endometrium reveal molecular profiles characteristic for specific stages of estrous cycle and early pregnancy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008;116:371-384
28. Gebhardt S, Merkl M, Herbach N, et al. Exploration of global gene expression changes during the estrous cycle in equine endometrium. *Biol Reprod* 2012;87:136

29. Bauersachs S, Wolf E. Transcriptome analyses of bovine, porcine and equine endometrium during the pre-implantation phase. *Anim Reprod Sci* 2012;134:84-94
30. Bauersachs S. Combined analysis of transcriptome studies of bovine endometrium during the preimplantation phase and comparison to results from ovine and porcine preimplantation endometrium. In: Juengel JL, Miyamoto A, Price C, et al eds, *Reproduction in Domestic Ruminants VIII, Proceedings of the Ninth International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants*. Leicestershire: Context Products Ltd, Leicestershire, UK; 2014:167-177
31. Bauersachs S, Ulbrich SE, Zakhartchenko V, et al. The endometrium responds differently to cloned versus fertilized embryos. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:5681-5686
32. Mitterhuemer S, Petzl W, Krebs S, et al. *Escherichia coli* infection induces distinct local and systemic transcriptome responses in the mammary gland. *BMC Genomics* 2010;11:138
33. Strey D, Kenngott R, Herbach N, et al. Gene expression profiling of bovine periparturient placentomes: detection of molecular pathways potentially involved in the release of foetal membranes. *Reproduction* 2012;143:85-105
34. Wathes DC, Cheng Z, Chowdhury W, et al. Negative energy balance alters global gene expression and immune responses in the uterus of postpartum dairy cows. *Physiol Genomics* 2009;39:1-13
35. Kradolfer D, Floter VL, Bick JT, et al. Epigenetic effects of prenatal estradiol-17beta exposure on the reproductive system of pigs. *Mol Cell Endocrinol* 2016;430:125-137
36. Machtinger R, Laurent LC, Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2016;22:182-193
37. Ng YH, Rome S, Jalabert A, et al. Endometrial exosomes/microvesicles in the uterine microenvironment: a new paradigm for embryo-endometrial cross talk at implantation. *PLoS One* 2013;8:e58502
38. Loyer X, Vion AC, Tedgui A, Boulanger CM. Microvesicles as cell-cell messengers in cardiovascular diseases. *Circ Res* 2014;114:345-353
39. Tsui NB, Jiang P, Wong YF, et al. Maternal Plasma RNA Sequencing for Genomewide Transcriptomic Profiling and Identification of Pregnancy-Associated Transcripts. *Clin Chem* 2014
40. Bauersachs S. Is maternal plasma transcriptome analysis a new tool for monitoring high-risk pregnancies? *Clin Chem* 2014;60:914-915
41. Lo YM. Non-invasive prenatal testing using massively parallel sequencing of maternal plasma DNA: from molecular karyotyping to fetal whole-genome sequencing. *Reproductive biomedicine online* 2013;27:593-598
42. Deamer D, Akeson M, Branton D. Three decades of nanopore sequencing. *Nat Biotechnol* 2016;34:518-524

Diskussion



BREM, WIEN

Eigentlich habe ich einen Teil vermisst, wenn ich richtig überlege, die embryonale Reproduktion beginnt doch nicht erst im Uterus. Trächtigkeit beginnt ja schon im Eileiter und sie haben überhaupt nichts dazu gesagt. Es ist höchst interessant, dass der mütterliche Organismus bereits auf das Eintreffen der Spermien oder auf die Eizellen reagiert. Dort ist die Mengenlage vielleicht noch übersichtlicher. Im Eileiter sind am wenigsten Teile des weiblichen Reproduktionstraktes vielleicht sehr viel, auch was das Schicksal dieser entstehenden Frucht betrifft. Können Sie dazu was sagen?

ANTWORT

Sie haben völlig Recht. Das wurde bisher immer vernachlässigt. Die meisten Reaktionen im Endometrium hat man erst nach der Befruchtung gefunden, da sie vielleicht vorher zu lokal sind. Man hatte nicht die richtigen Methoden, um das gut zu untersuchen. Ich hatte vorher schon erwähnt, dass die Exosomen z. B. auch im Ovidukt vorhanden sind. Da haben wir auch eine Kooperation mit einer Arbeitsgruppe in Frankreich, wo diese Exosomen untersucht werden. Das wird auch im Oviduktepithel abgegeben werden, dass sich praktisch die Zusammensetzung im Zyklus ändert, was darauf hinweist, dass wahrscheinlich spezifische Zusammensetzungen vorhanden sind. Es gibt kleine RNAs, es gibt auch große mRNAs, normale Proteine. Möglicherweise werden da ganze Ribosomen verfrachtet, die schon mit MRAs bestückt sind.

Es gibt da sicher eine Interaktion, nur bisher hat man nicht die richtigen Methoden und Techniken gefunden, um das wirklich sensitiv zu analysieren.

ASCHENBACH, BERLIN

Ich möchte anknüpfen an diese Komplexität. Wir haben das Ovar, wir haben den Eileiter, den Uterus und wir haben auch noch den ganzen Rest vom Tier, was daran hängt. Und gerade beim Rind hat ja die Arbeitsgruppe Bollwein recht gut gezeigt, dass es die hohe Leberdurchblutung ist, das Progesteron aus dem Plasma holt und dadurch die Progesteronspiegel senkt und dann diesen hohen Anteil an frühembryonalen Fruchttot bedingt. Jetzt habe ich ganze Zeit überlegt, wie man das vielleicht hier mit angehen könnte. Könnten sie sich vorstellen, dass man so einen Ansatz macht, wo man schaut, ob es vielleicht einen Uterus gibt, der mit etwas weniger Progesteron auskommt und dann trotzdem Laktation zulässt? Dass man nach den Expressionsprofilen guckt. Haben sie da eine Idee?

ANTWORT

Da gibt es immer widersprüchliche Meinungen. Progesteron ist immer wichtig, wann der Anstieg erfolgt im Zyklus. Wenn der frühe Anstieg zu spät kommt, gibt es häufig keine Trächtigkeit, da gibt es eine Assoziation.

ASCHENBACH, BERLIN

Die haben zum einen den niedrigen Progesteronspiegel gezeigt bei den hochleistenden Kühen und zum anderen haben sie auch durch Supplementierung mit Progesteron dann die Trächtigkeitsraten verbessern können.

ANTWORT

Soweit ich weiß, kommt es auch darauf an, zu welchem Zeitpunkt die Supplementation erfolgt. Es gibt Studien, wo es keinen Effekt hat oder eher negativ wirkt. Das könnte man schon machen, aber inwiefern das jetzt in der Praxis umsetzbar ist. Was wir in der Hinsicht durchgeführt haben bei Holstein-Kühen, haben wir mal verglichen Laktierende gegen Trockenstehende, Tag 19 in der Trächtigkeit und haben dort weniger Unterschiede gefunden zu dem Zeitpunkt ist das eigentlich alles relativ ähnlich. Die waren natürlich auch trächtig. Die nicht trächtigen werden nicht untersucht.

KALM, KIEL

Wo bekommt man eigentlich diese Fülle von Daten her? Sie haben da ihren Info-Bogen gezeigt, wo man das eintragen kann, aber wie kann das praktisch ablaufen? Das habe ich noch nicht so ganz durchschaut. Gerade wenn es um den Bereich, embryo-maternale Interaktion geht?

ANTWORT

Am Anfang habe ich erwähnt, wie man die Proben gewinnt, über das Design. Man erhält sie schnell und kurz. Im Prinzip sind das schon Tiere, die zyklussynchronisiert werden. Man möchte möglichst definierte Zeitpunkte haben und nicht irgendwas aus dem Schlachthof. Dann muss man möglichst schnell die Organe gewinnen und die Proben entnehmen, weil die RNA relativ instabil ist und sich die Muster verändern können. Dann muss man eben Replikate machen pro Stadium, Zeitpunkt und dann wird RNA isoliert aus diesen Proben. Man kann auch DNA isolieren und Proteine.

THALLER, KIEL

Mit ist das Funktionelle entgangen. Ich habe das sehr deskriptiv gesehen. Rauf- und Runterregulieren. Haben sie einmal genomweit eine Assoziationsstudie gemacht und wer steuert das Ganze?

ANTWORT

Wenn wir die Listen von diesen differenziellen Genen abgleichen und mit Ergebnissen von QTL-Studien vergleichen so fanden wir viele Gene, die man als reguliert gefunden hatten während des Zyklus, z. B. praktisch dann, wenn die in der Diöstrusphase hochreguliert werden. Man nimmt das an, das spielt eine Rolle für die Entwicklung des Konzeptes. Es werden dann oft Allele gefunden, die sehr negativ assoziieren mit Fruchtbarkeit oder positiven Produktionsmerkmalen. Daneben waren aber auch einige Gene dabei, die praktisch positiv sind für Fruchtbarkeit und positiv sind für Produktionsmerkmale. So etwas wäre vielleicht interessant für die Tierzucht und auf solche Marker zu züchten. Es gab noch eine Studie, die eigentlich von Anfang an darauf abgezielt war von einer irischen Gruppe, die das noch viel stärker durchgeführt haben und die Daten auch besser integriert haben. Die haben auch eine Reihe von Genen gefunden, die bei diesen Prozessen hier eine Rolle spielen und dann bestimmte Varianten aufweisen, die dann auch für Fruchtbarkeitsmarker eine Rolle spielen, die positiv sind und wie auch bei Produktionsmerkmalen. Die oft antagonistisch sind. Ich bin zu wenig Tierzüchter, wie man das dann in der Praxis umsetzen könnte oder in der Tierzucht umsetzen könnte. Das wurde auf jeden Fall schon gemacht

SCHWERIN, DUMMERSTORF

Sie gehören zu den Wissenschaftlern in der Welt, die sicherlich auf dem Gebiet mit die größte Erfahrung haben, nicht erst seit Fugato Plus, sondern seit Fugato. Gibt es seit dieser mehr als 10jährigen intensiven Betrachtung von Eileiter-Uterus einen Biomarker, den sie den Tierzüchtern als Fruchtbarkeitsmarker empfehlen können?

ANTWORT

Das Problem ist natürlich, wenn man eine Biopsie hat, das ist ein bisschen schwierig in der Praxis als Probe für einen Biomarker umzusetzen. Was versucht wurde, das sind auch Gene, die sich in der Expression verändern im Zusammenhang mit der frühen Trächtigkeit und im Blut zu finden sind oder im Plasma. Meines Wissens ist das nicht so wirklich erfolgreich. Man findet dann schon diese Interferon-induzierten Gene, zum Teil in Blutzellen. Die Frage ist natürlich: Hat ein Tier irgendeine subklinische Entzündung, dann sind die wahrscheinlich auch hochreguliert. Die Frage ist jetzt, ob sich das wirklich eignet. Ich habe noch keinen Biomarker gefunden, wo ich jetzt sagen

würde, das ist optimal. Wir hatten mal ein Protein gefunden in der uterinen Flüssigkeit, was man für gezielte Besamungszeiten hernehmen könnte, weil das einen richtigen Peak im Zyklus macht, aber es war eben auch in der uterinen Flüssigkeit, wo man es schlecht gewinnen kann. Eine Möglichkeit wäre, dann vielleicht doch über diese Exosomen, wenn man die im Plasma analysiert, wenn wahrscheinlich viele Marker dann doch in diesem Exosomen sind. Wenn man Gesamtplasma nimmt, verdünnt man das Ganze, wenn man diese anreichert, wäre das vielleicht eine Möglichkeit, dass man irgendwas findet, was man sensitiv nachweisen kann und eben einfach im Plasma oder in anderen Flüssigkeiten.

Zusammenfassung



Die diesjährigen Hülseberger Gespräche standen unter dem Thema „Die postgenomische Ära: Die Renaissance des Phänotyps“. Damit wurde ein Themenbereich aufgegriffen, der im Bereich der Biowissenschaften nach der Genomschlüsselung bei zahlreichen Tierspezies als besonders relevant erkannt worden ist und dessen intensive wissenschaftliche Bearbeitung Voraussetzung dafür ist, den Kenntnisstand aus der Genetik um die funktionellen Korrelate zu erweitern.

Inhalte des ersten Vortragsblocks „**Von der konventionellen Zuchtwertschätzung zur Identifizierung der individuellen DNA - Variation**“, waren drei Vorträge, die ein aktuelles Abbild moderner und auch künftiger Ansätze der Tierzucht dargestellt haben.

Im ersten Vortrag hat Prof. Bennewitz die Entwicklung in der Vorgehensweise der klassischen Zuchtprogramme über die Marker-gestützte Tierzucht mit der erstmaligen Einbeziehung der DNA-Informationen und der Ausweitung auf Genomebene erläutert. Dabei wurden die Potentiale des Precision Animal Breeding berücksichtigt, die höhere Genauigkeit, die Vermeidung von Seiteneffekten und den Erhalt der Diversität ermöglichen. In der Diskussion wurden die Konkurrenzsituation zwischen Zuchtverbänden und kommerziellen Institutionen sowie die Probleme in kleinen Populationen im Hinblick auf den Erhalt der genetischen Eigenständigkeit berücksichtigt.

Im zweiten Vortrag hat Prof. Drögemüller zum effektiven Einsatz neuer DNA-Sequenzierungsmethoden bei Erbfehlern gesprochen.

Er hat die Bedeutung dominanter Mutationen mit ihrem unmittelbaren Bild von den rezessiven Mutationen, die erst nach mehreren Generationen auftreten, differenziert. Trotz der seit 2005 entschlüsselten Referenzgenome ist der Kenntnisstand noch lückenhaft, und die Einzelgenomsequenzierung ist eine geeignete Methode zur Problembehebung. Die Möglichkeiten zur Erfassung von Erbfehlern bestehen international über verschiedene Plattformen. Beispielhaft wurden u. a. die Thrombopathie, die Cardiomyopathie und die Cholesterindefizienz erläutert. Bedarf besteht im Bereich des effizienten Monitoring, des Managements von Erbfehlern und der Genomsequenzierung von Zuchttieren. Bei der Erfassung von Erbfehlern sollte prinzipiell auch eine exakte Parallelerfassung der Phänotypen erfolgen.

Im dritten Vortrag hat Prof. Fries die Einbindung der Tierzucht in einen systemischen Ansatz, der die ökonomischen, ökologischen Herausforderungen an die Tierzucht berücksichtigt, erläutert. Er hat die Bedeutung der echten genomischen Selektion erläutert und dabei die Selektion an kausalen Stellen im Genom und die „Selection Targets“ herausgestellt. Besondere Schwerpunkte waren die Herausforderungen in Umsatz und Nutzung der sog. Big Data und des „Gene Editing“ als einer neuen Methode. Die Potentiale der Selection targets für den Selektionsfortschritt

funktionaler Merkmale, die Präzision der Selektion, die Entwicklung für die Präzisionstiermedizin wurden besonders herausgestellt.

Im zweiten Vortragsblock „**Synergien in der Pflanzen- und Tierzucht**“ standen vier Vorträge im Mittelpunkt.

Im ersten Vortrag hat Prof. Snowdon die grundsätzlichen Probleme in der Pflanzenzüchtung dargestellt, die von der Kreuzung bis zur Anmeldung einer Sorte eine Zeit von 10 – 12 Jahren erfordern. Er hat die Möglichkeiten der Zuchtbeschleunigung durch Anwendung der Doppelhaploidentechnik erläutert und die mögliche Nutzung von Ansätzen aus der Tierzuchtung bei Fremdbefruchten dargestellt. Epigenetische Effekte können in der Pflanzenzucht von besonderem Interesse sein, dies gilt insbesondere auch für Leistungsmerkmale und daraus resultierende Züchtungsansätze. Grundsätzliche Probleme bestehen in der Übertragbarkeit von Daten aus Laborversuchen auf Feldbedingungen.

Prof. Schurr hat sich im zweiten Vortrag mit neuen Phänotypen in der Pflanzenzüchtung befasst und die enorme methodische Breite und Vielfalt der Verfahren zur Phänotypisierung in der Pflanzenzüchtung herausgestellt. Moderne Methoden der Medizin finden hier ebenso wie besondere Isotopentechniken breite Anwendung.

Methodisch stellen Untersuchungen zur Dynamik der Wurzelentwicklung besondere Herausforderungen dar, die Technisierung in der Samentypisierung wurde eindrucksvoll erläutert. Besondere Berücksichtigung erfuhren die Möglichkeiten zur Kommunikation der umfangreichen Daten über entsprechende Netzwerke.

Im dritten Vortrag hat Prof. Thaller die entsprechende Datenlage in der Tierzuchtung erläutert. Auf funktioneller Ebene hat er die Bedeutung der Identifizierung von Biomarkern dargestellt und dies beispielhaft an der Methanemission, der Futtereffizienz, der Energiebilanz und Erkrankungen wie der Ketose

dargestellt. Kernpunkte in der Diskussion beider Beiträge waren Übertragung von Effizienzkriterien auf die Pflanzenebene, z.B. im Hinblick auf die N-Effizienz, Probleme in der Motivation der Landwirte für die Datenerhebung und die realistische Einschätzung der Zahl von Zuchtindices für die Beurteilung des Zuchtfortschrittes.

Im vierten Vortrag dieses Blocks hat Prof. Wimmers im Hinblick auf die Komplexität von Genom, Epigenom und Umwelt als Determinanten für den Phänotyp die Relevanz der Epigenetik erläutert.

Er hat den Kenntnisstand der Mechanismen der DNA Methylierung im Detail dargestellt und verschiedene Beispiele für die Vererbung epigenetischer Veränderungen sowie für die Bedeutung der Epigenetik in der Reproduktionsbiologie und der metabolischen Programmierung gegeben. Nicht abschließend geklärt ist die transgenerationale Persistenz der Epigenetik.

Im ersten Vortrag des Blocks „**Physiologische Programme der Merkmalsausprägung**“ hat Prof. Weckwerth die Konzepte der genomweiten molekularen Analyse und Datenintegration in der Biologie dargestellt.

Er hat deutlich gemacht, dass die Grundlagen der Systembiologie bereits in den 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts erkannt wurden. Sie verbindet die sog. „omics“-Techniken mit aufwendigen statistischen und mathematischen Ansätzen, um letztlich Genotyp – Phänotypinteraktionen zu identifizieren. Angesichts der enormen zu bearbeitenden Datenfülle setzt die aktuelle Bearbeitung dieser Fragen ein weites methodisches Spektrum voraus und Mathematikfeindlichkeit ist als ein „No Go“ für die Datenintegration und die Bearbeitung dieses Wissensgebietes anzusehen.

In den drei folgenden Vorträgen dieses Blocks wurden die im Nutztierbereich relevanten phänotypischen Ebenen, d.h., Laktation, Wachstum und Legeleistung, im Detail dargestellt. So hat Prof. Breves

die Milchbildung als ein komplexes physiologisches System dargestellt, das den Verdauungstrakt, verschiedene körpereigene Gewebe und die Milchdrüse miteinander verbindet, wobei als Transportmedium über die Perfusion der Milchdrüse das Blut mit einem hohen Anteil des Herzzeitvolumens fungiert. Besonderes Augenmerk ist in den vergangenen Jahren auf die quantitativen Merkmale der Nährstoffflüsse und ihrer Regulation gelegt worden, eine Datenlage, die es auch ermöglicht, Grenzen von Leistungen zu definieren.

Prof. Sauerwein hat im folgenden Vortrag die relevanten Gewebe dargestellt, die im Zusammenhang mit Wachstum von Bedeutung sind. Muskel-, Fett- und Stützgewebe sind hier die wichtigen Gewebe, und Hyperplasie und/oder Hypertrophie im Zusammenhang mit Entwicklung und Differenzierung extrazellulärer Matrix wichtige Mechanismen. Die Ausprägung vom Grundsatz ähnlicher Prinzipien allometrischer Wachstumsverläufe wird durch die Tierspezies entscheidend beeinflusst. Im Hinblick auf systemische hormonelle Regulationsprinzipien hat es in den vergangenen Jahren enorme Erkenntnisfortschritte gegeben.

Prof. Kaspers hat sich im letzten Vortrag dieses Blocks mit den mechanistischen und metabolischen Aspekten der Legeleistung befasst, ein biologisches System, bei dem der Reproduktionstrakt mit unterschiedlichen metabolischen Systemen interagiert. Neben den organischen Inhaltstoffen des Eies hat über die Bildung der Eischale die Ca-Homöostase qualitativ und quantitativ eine besondere Bedeutung. Interessanterweise sind in den letzten Jahren angesichts der hohen Ovulationsraten bei älteren Legehennen häufig Adenocarcinome identifiziert worden, die Ähnlichkeiten zu humanen pathologischen Prozessen aufweisen und die vermutlich auf die hohen Teilungsraten zurückzuführen sind.

Im Mittelpunkt des abschließenden vierten Blocks „Postgenomics – besseres Verstehen der Interaktion von

Umwelt und Genom“ standen vier Vorträge. Zunächst hat Prof. Windisch zur genetischen Modulation der Ernährungsphysiologie vorgetragen. Er hat dabei anhand der verschiedenen Stoffwechselwege und Parametern des Gastrointestinaltraktes Möglichkeiten und Grenzen genetischer Modulationen erläutert. Perspektivisch sind die aus der Humanernährung stammenden Ansätze zu „Personalized Nutrition“ für spezifische Ansätze der Ernährung im Nutztierbereich zu diskutieren. Der zweite Vortrag von Prof. Seifert behandelte mit den Erläuterungen zum gastrointestinalen Mikrobiom einen Bereich, der sich in den letzten Jahren infolge moderner molekularbiologischer Methoden enorm entwickelt hat und im Vergleich mit klassischen kultivierenden Methoden den Kenntnisstand zur Zusammensetzung des Mikrobioms außerordentlich erweitert hat. Hier hat sich auch gezeigt, dass aufgrund vieler Ähnlichkeiten im Mikrobiom zwischen Mensch und Schwein die besondere Eignung des Schweins als Modelltier für Fragestellungen der Humanmedizin auch aus dieser Sicht unterstrichen wird.

Im dritten Vortrag hat Prof. Kühn das angeborene und erworbene Immunsystem im Hinblick auf genetische Modulatoren der Tiergesundheit dargestellt. So hat die züchterische Beeinflussung der Krankheitsresistenz mittlerweile auch bei bakteriell bedingten Erkrankungen große Bedeutung erlangt. Diese Ansätze müssen aber stets berücksichtigen, dass neben den erwünschten Effekten auch unerwünschte überschießende Reaktionen induziert werden können, die die Grenzen der genetischen Modulation der Tiergesundheit markieren. Mit dem abschließenden Vortrag zum Beitrag der funktionalen Genomanalyse im Hinblick auf Fruchtbarkeit hat Prof. Bauersachs Ansätze erläutert, mit denen hoch komplexe Merkmalsysteme untersucht werden können. Diese methodisch anspruchsvollen Verfahren können neben der Klärung von Interaktionen zwischen Gameten und maternalem Gewebe auch neue Wege identifiziert werden, die es ermöglichen, molekulare Austauschprozesse zwischen embryonale/fetalem und maternalem Gewebe zu entschlüsseln.

Die 26. Hülseberger Gespräche haben mit den einzelnen Vorträgen und den Diskussionen einen sehr hohen Grad an Interdisziplinarität zwischen Bereichen der modernen Genetik und der funktionell orientierten Forschung demonstriert. Diese Interdisziplinarität

ist nicht nur als geeignet zu beurteilen sondern zugleich ein vielversprechender Weg, um durch wissenschaftliche Kooperationen den Herausforderungen der postgenomischen Ära im Sinne eines echten Erkenntnisfortschrittes gerecht zu werden.

Schlussworte



Meine sehr verehrten Damen und Herren,

die 26. Hülseberger Gespräche standen unter einem hochaktuellen interdisziplinären Thema der Züchtung, Genetik und Physiologie und im Namen des Vorstandes und des Kuratoriums bedanke ich mich ganz herzlich bei allen Referenten, die in vorbildlicher Weise den Intensionen der Veranstalter gefolgt sind und die Themen nicht nur aus der Sicht der neuesten Erkenntnisse dargestellt, sondern auch für die Kollegen der Nachbardisziplinen verständlich erläutert haben. Die nationale und internationale Bedeutung der Nutztierforschung dürfte allen Beteiligten deutlich geworden sein. Die interdisziplinären Forschungsarbeiten sowohl innerhalb der Nutztierwissenschaften als auch zwischen Pflanzen- und Tierzüchtern müssen deutlich intensiviert werden.

Die lebhaften Diskussionen wurden von den Diskussionsleitern im zeitlichen Ablauf der Tagung gut geführt, so dass der Ablauf der Gespräche wie vorgegeben in dem gesetzten Zeitrahmen ablaufen konnte. Einige Referenten haben sich exakt an die Vorgaben der Redezeit gehalten; es gibt aber noch Optimierungsbedarf. Ich danke den Diskutanten, die durch ihre Wortmeldungen aktiv die Gespräche zu dem werden ließen, wie es den Zielvorgaben entspricht.

Wie bei den vorhergehenden Hülseberger Gesprächen, so beehrten uns die Eigentümer der Schaumann Gruppe, die Brüder Charles Antoine Seiller und Olliver Seiller, die mit großem Interesse den

Vorträgen und Diskussionen gefolgt sind. Ich danke den Gesellschaftern und Inhabern der Schaumann Gruppe für die großzügige Förderung der Stiftung, die sich nicht nur in den finanziellen Zuwendungen, sondern auch in Ihrem aktiven Interesse an den Hülseberger Gesprächen widerspiegelt. Mein Dank gilt ebenso den anwesenden Vorstandsmitgliedern Herrn Buchleitner, Dr. Mathies und Dr. Pricker.

Mein Dank gilt den Mitarbeitern der Fa. Schaumann, ohne deren Hilfe die Tagung nicht durchgeführt werden könnte. Hierfür danke ich vor allem Herrn Rüdiger Schramm, Frau Mull, aber besonders den Damen im Tagungsbüro Frau Peters und Frau Ramming, ferner Herrn Dr. Pecher für die technische Assistenz bei den Präsentationen.

Herr Dr. Weisthoff hat in seinen Eingangsworten auf Gregor Mendel hingewiesen, der vor genau 150 Jahren die allen bekannten Mendelschen Regeln aufgestellt hat, auch ohne Molekulargenetik!

Anlässlich dieser 26. Hülseberger Gespräche wurde wieder einmal die Nutztierforschung speziell die Genetik in den Mittelpunkt gestellt. Jedem ist deutlich geworden, dass es zukünftig auf eine besonders exakte und möglichst einheitliche Merkmalerfassung ankommt, erst danach können neue Züchtungstechniken zum Einsatz kommen. Die Merkmalerfassung bei den Funktionsabläufen z. B. der Physiologie, der Immunität sind eine große Herausforderung, doch gerade wenn es z. B. um Effizienz oder Gesundheit

geht, müssen bestimmte Abläufe klar dokumentiert sein, um die negativen Varianten und deren Kopplungen mit den Genen/SMPs zu finden. Das Zeitalter der Phänotypisierung ist eine wichtige, große Herausforderung, leider wird es in der Praxis häufig nicht so gesehen und befördert.

Ich persönlich konnte aus den Vorträgen großen Forschungsbedarf erkennen. Die Wissenschaftler und betroffene Wirtschaft sind gefordert diesen Bereich schwerpunktmäßig zu bearbeiten, damit nutzbare Ergebnisse und Techniken umgesetzt werden können. Es sind schon spannende Zeiten und den Nachwuchswissenschaftlern stehen neue und interessante Wissensgebiete offen.

Die diesjährigen Hülsenberger Gespräche werden wieder in einer Broschüre in der gewohnten Form mit den Diskussionsbeiträgen gedruckt und die dazugehörige CD steht auch zur Verfügung. Ich bitte die Referenten, ihre Manuskripte baldmöglichst nachzureichen, sofern sie noch nicht vorliegen.

Das Heft wird voraussichtlich im Oktober an alle Teilnehmer versandt, Hefte von früheren Tagungen können angefordert werden.

Die nächsten Hülsenberger Gespräche werden 2018 stattfinden, wobei ich um Verständnis bitte, dass sich die Einladungen wieder an Persönlichkeiten richten werden, die dem Generalthema fachlich verbunden sind.

Ich wünsche Ihnen eine gute und sichere Heimfahrt, freue mich auf ein Wiedersehen und schließe die 26. Hülsenberger Gespräche.

Teilnehmer

an den 26. HÜLSENBERGER GESPRÄCHEN 2016

ABEL, Prof. Dr. Hansjörg	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
ADAM, Dr. Friedhelm	Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Bad Sassendorf
ASCHENBACH, Univ.-Prof. Dr. Jörg R.	Freie Universität Berlin, Berlin
BAHRS, Prof. Dr. Enno	Universität Hohenheim, Stuttgart H. Wilhelm Schaumann Stiftung
BAUERSACHS, PD Dr. Stefan	Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Zürich, Schweiz
BECKER, Prof. Dr. Heiko	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
BENNEWITZ, Prof. Dr. Jörn	Universität Hohenheim, Stuttgart
BERGFELD, Dr. Uwe	Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Köllitsch
BLANK, Dr. Ralf	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
BONGARTZ, Dr. Bettina	Deutsche Gesellschaft für Züchtungskunde e. V., Bonn
BREM, Univ.-Prof. Dr. Gottfried	Veterinärmedizinische Universität Wien, Wien, Österreich
BRENIG, Prof. Dr. Bertram	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
BREVES, Prof. Dr. Gerhard	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover H. Wilhelm Schaumann Stiftung
BRUCKMAIER, Prof. Dr. Rupert	Universität Bern Bern, Schweiz
BRUHN, Dr. Oliver	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
BUCHLEITNER, Rudolf	Union Agricole Holding AG, Pinneberg
BUFFLER, Marzell	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan
BULLA, Dr. Hans-Joachim	H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg

CAMARINHA-SILVA, Dr. Amélia	Universität Hohenheim, Stuttgart
COENEN, Prof. Dr. Manfred	Universität Leipzig, Leipzig
DÄNICKE, Prof. Dr. Sven	Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Braunschweig
DANIEL, Prof. Dr. Hannelore	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan
DIEKMANN, Dr. Ludwig	Landwirtschaftskammer Niedersachsen, Oldenburg
DRÖGEMÜLLER, Prof. Dr. Cord	Universität Bern, Bern, Schweiz
ERHARDT, Prof. Dr. Georg	Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen
FRIES, Prof. Dr. Ruedi	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan
GÄBEL, Prof. Dr. Gotthold	Universität Leipzig, Leipzig
GERLACH, Dr. Katrin	Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
GIERUS, Prof. Dr. Martin	Universität für Bodenkultur Wien Wien, Österreich
GILLER, Dr. Katrin	Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, Zürich, Schweiz
GRANDKE, Dr. Reinhard	DLG e. V., Frankfurt
GROSS, Dr. Josef Johann	Universität Bern Posieux, Schweiz
GRUBER, Univ. Doz. Dr. Leonhard	Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt, für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein, Irnding, Österreich
HAMMON, PD Dr. Harald	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
HINRICHS, Prof. Dr. Dirk	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
HUMMEL, Prof. Dr. Jürgen	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
KAESLER, Dr. Bruno	Lohmann Animal Nutrition GmbH, Cuxhaven
KALM, Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Ernst	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Hamburg
KASPERS, Prof. Dr. Bernd	Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), München
KNEIFEL, Prof. Dr. Wolfgang	Universität für Bodenkultur Wien, Wien, Österreich H. Wilhelm Schaumann Stiftung

KNORR, Prof. Dr. Christoph	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
KÖNIG, Prof. Dr. Sven	Universität Kassel, Witzenhausen
KORNBLUM, Dr. Erhard	UNA-HAKRA, Hamburg Hanseatische Kraftfuttermittelgesellschaft mbH
KRICK, Friederike	agrar-press, Koblenz
KRIETER, Prof. Dr. Joachim	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
KÜHN, Prof. Dr. Christa	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
LATACZ-LOHMANN, Prof. Dr. Uwe	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
LÉON, Prof. Dr. Jens-Peter	Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
LIND, Dr. Bianca	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Rinderzüchter e.V. , Bonn
LOOFT, Prof. Dr. Christian	Hochschule Neubrandenburg, Neubrandenburg
LÜHKEN, Prof. Dr. Gesine	Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen
MAAK, Prof. Dr. Steffen	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
MATHIES, Dr. Edmund	Union Agricole Holding AG, Pinneberg
METGES, PD Dr. Cornelia	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
MURÁNI, Dr. Eduard	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
PECHER, Dr. Hans-Peter	H. Wilhelm Schaumann GmbH, Pinneberg
PINTER, Andrés	Huelsenberg Holding GmbH & Co. KG, Pinneberg
PREISINGER, Prof. Dr. Rudolf	Lohmann Tierzucht GmbH, Cuxhaven
PRICKER, Dr. Hermann	Union Agricole Holding AG, Pinneberg
RAFFASEDER, Dr. Christian	H. Wilhelm Schaumann GmbH & Co. KG, Brunn am Gebirge, Österreich
RAMHOLD, Dietmar	ISF GmbH, Wahlstedt
REENTS, Dr. Reinhard	Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V. (VIT), Verden
REINSCH, Prof. Dr. Norbert	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf

RIMBACH, Dr. Martin	ISF GmbH, Pinneberg
RODEHUTSCORD, Prof. Dr. Markus	Universität Hohenheim, Stuttgart H. Wilhelm Schaumann Stiftung
RÖHE, Prof. Dr. Rainer	Scottish Agricultural College-Livestock Group, Edinburgh, UK
RÖMER, Prof. Dr. Anke	Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern, Dummerstorf
SAUERWEIN, Prof. Dr. Helga	Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
SHELLANDER, Prof. Dr. Karl	Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn
SCHMITZ-MÖLLER, Dr. Patricia	Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Bonn
SCHOLZ, Prof. Dr. Armin	Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), Oberschleißheim
SCHONS, Dr. Hans-Peter	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tierzüchter e.V., Bonn
SCHRAMM, RA Rüdiger	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Pinneberg
SCHURR, Prof. Dr. Ulrich	Forschungszentrum Jülich, Jülich
SCHUSSER, Prof. Dr. Benjamin	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan
SCHWARZ, Prof. Dr. Frieder	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan
SCHWERIN, Prof. Dr. Manfred	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Broderstorf
SEIFERT, Jun.-Prof. Dr. Jana	Universität Hohenheim, Stuttgart
SEILLER, M. B. A. Dipl. Kfm. Charles A.	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Hamburg
SEILLER M. B. A. Olivier M.	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Hamburg
SIEME, Prof. Dr. Harald	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
SIMIANER, Prof. Dr. Henner	Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen
SNOWDON, Prof. Dr. Rod	Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen
SÖLKNER, Prof. Dr. Johann	Universität für Bodenkultur Wien Wien, Österreich

SPIEKERS, Prof. Dr. Hubert	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing
STEINHART, Prof. Dr. em. Hans	Buchholz/Nordheide
STRATZ, Dr. Patrick	Universität Hohenheim, Stuttgart
SWALVE, Prof. Dr. Hermann H.	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle, Saale
TETENS, PD Dr. Jens	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
THALLER, Prof. Dr. Georg	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
TRAULSEN, Dr. Imke	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
WÄHNER, Prof. Dr. Martin	Hochschule Anhalt, Bernburg
WASSMUTH, Prof. Dr. Ralf	Hochschule Osnabrück, Osnabrück
WECKWERTH, Prof. Dr. Wolfram	Universität Wien, Wien, Österreich
WEIGEND, Prof. Dr. Steffen	Friedrich-Loeffler-Institut, Neustadt
WEISTHOFF, Dr. Wilhelm	H. Wilhelm Schaumann Stiftung, Pinneberg
WESTREICHER-KRISTEN, Dr. Edwin	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel
WILKENS, Dr. Mirja	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
WIMMERS, Prof. Dr. Klaus	Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN), Dummerstorf
WINDISCH, Prof. Dr. Wilhelm	Technische Universität München (TUM), Freising-Weihenstephan H. Wilhelm Schaumann Stiftung
WINKELMANN, Dr. Jörg	Schaumann BioEnergy GmbH, Pinneberg
WÖLGER, DI Reinhold	H. Wilhelm Schaumann GmbH & Co. KG, Brunn am Gebirge, Österreich
ZEBELI, Prof. Dr. Qendrim	Veterinärmedizinische Universität Wien, Wien, Österreich
ZENTEK, Prof. Dr. Jürgen	Freie Universität Berlin, Berlin
ZEYNER, Prof. Dr. Anette	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle, Saale

Referenten

an den 26. HÜLSENBERGER GESPRÄCHEN 2016

Prof. Dr. Enno Bahrs
Universität Hohenheim
Institut für Landwirtschaftliche Betriebslehre
70599 Stuttgart
Phon: 0711 459 22566
bahrs@uni-hohenheim.de

Dr. Stefan Bauersachs
Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
(ETH)
Institut für Tierphysiologie
Tannenstraße 1 Tan D 5.2
CH-8092 Zürich
Phon: +41 44 632 2631
stefan.bauersachs@usys.ethz.ch

Prof. Dr. Jörn Bennewitz
Universität Hohenheim
Institut für Nutztierwissenschaften
Garbenstraße 17
70599 Stuttgart
Phon: 0711 459 23570
j.bennewitz@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. Gerhard Breves
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Physiologisches Institut
Bischofsholer Damm 15, Geb. 102
30173 Hannover
Phon: 0511 856 7271
gerhard.breves@tiho-hannover.de

Prof. Dr. Hannelore Daniel
Technische Universität München (TUM)
Wissenschaftszentrum Weihenstephan
Gregor-Mendel-Straße 2
85354 Freising-Weihenstephan
Phon: 08161 713400
daniel@wzw.tum.de

Prof. Dr. Cord Drögemüller
Universität Bern
Institut für Genetik
Postfach 8466
CH-3001 Bern
Phon: +41 31 631 2529
cord.droegemueller@vetsuisse.unibe.ch

Prof. Dr. Hans-Rudolf Fries
Technische Universität München (TUM)
Lehrstuhl für Tierzucht
Liesel-Beckmann-Straße 1
85354 Freising
Phon: 08161 71 3228
ruedi.fries@tierzucht.tum.de

Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Ernst Kalm
H. Wilhelm Schaumann Stiftung
Kollaustraße 105
22453 Hamburg
Phon: 04101 218 4081 / 0172 172 0782
ekalm@tierzucht.uni-kiel.de

Prof. Dr. Bernd Kaspers
Ludwig-Maximilians-Universität (LMU)
Institut für Tierphysiologie
Veterinärstraße 13
80539 München
Phon: 089 2180 3758
kaspers@tiph.vetmed.uni-muenchen.de

Prof. Dr. Wolfgang Kneifel
Universität für Bodenkultur Wien
Institut für Lebensmittelwissenschaften
Muthgasse 18
A-1190 Wien
Phon: 00431 1 47654 75411
wolfgang.kneifel@bodu.ac.at

Prof. Dr. Christa Kühn
Leibniz Institut für Nutztierbiologie (FBN)
Institut für Genombiologie
Wilhelm-Stahl-Allee 2
18196 Dummerstorf
Phon: 038208 68 709
kuehn@fbn-dummerstorf.de

Prof. Dr. Markus Rodehutschord
Universität Hohenheim
Institut für Nutztierwissenschaften
Emil-Wolff-Straße 8
70599 Stuttgart
Phon: 0711 459 22420
markus.rodehutschord@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. Helga Sauerwein
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Institut für Tierwissenschaften, Physiologie und
Hygiene
Katzenburgweg 7-9
53115 Bonn
Phon: 0228 73 2810
sauerwein@uni-bonn.de

Prof. Dr. Ulrich Schurr
Forschungszentrum Jülich
Prof.-Wilhelm-Johnen-Straße
52428 Jülich
Phon: 02461 613073
u.schurr@fz-juelich.de

Jun.-Prof. Dr. Jana Seifert
Universität Hohenheim
Institut für Nutztierwissenschaften
Emil-Wolff-Straße 8
70599 Stuttgart
Phon: 0711 459 24284
j.seifert@uni-hohenheim.de

Prof. Dr. Dr. h.c. Manfred Schwerin
Leibniz-Institut für Nutztierbiologie (FBN)
Wilhelm-Stahl-Allee 2
18196 Dummerstorf
Phon: 038208 68600
schwerin@fbn-dummerstorf.de

Prof. Dr. Rod Snowdon
Justus-Liebig-Universität Gießen
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung
Heinrich-Buff-Ring 26-32
35392 Gießen
Phon: 0641 9937 420
rod.snowdon@agrار.uni-giessen.de

Prof. Dr. Georg Thaller
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (CAU)
Institut für Tierzucht und Tierhaltung
24098 Kiel
Phon 0431 8807329
gthaller@tierzucht.uni-kiel.de

Prof. Dr. Wolfram Weckwerth

Universität Wien
Department Molekulare Systembiologie
Althanstraße 14
A-1090 Wien
Phon: +43 1 4277 57501
wolfram.weckwerth@univie.ac.at

Dr. Wilhelm Weisthoff

H. Wilhelm Schaumann Stiftung
Kollastraße 105
22453 Hamburg
Phon: 04101 218 2002
wilhelm.weisthoff@schaumann.de

Prof. Dr. Klaus Wimmers

Leibniz Institut für Nutztierbiologie (FBN)
Wilhelm-Stahl-Allee 2
18196 Dummerstorf
Phon: 038208 68700
wimmers@fbn-dummerstorf.de

Prof. Dr. Wilhelm Windisch

Technische Universität München (TUM)
Lehrstuhl für Tierernährung
Liesel-Beckmann-Straße 2
85354 Freising-Weihenstephan
Phon: 08161 713552
wilhelm.windisch@wzw.tum.de

Hülsenberger Gespräche von 1965 bis 2016

1965	Themen aus der Fütterungsforschung
1967	Aktuelle Themen aus der Forschung
1969	Probleme bei Hochleistungskühen
1971	Aktuelle Aspekte der Schweineproduktion
1973	Ausgewählte Themen der Schweineproduktion
1976	Fruchtbarkeit beim Rind
1978	Probleme der Ferkelproduktion
1980	Probleme der Rindfleischproduktion
1982	Milch und Milcherzeugung
1984	Wirtschaftseigenes Futter
1986	Tierhaltung – Tiergesundheit – Umwelt
1988	Schweinefleischproduktion
1990	Tierische Erzeugung und Lebensmittelproduktion
1992	Biologisch-technische Entwicklungen in der Tierproduktion

- 1994 Forderungen der Tiergesundheit in der EU
- 1996 Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft in einer umweltverträglichen Landwirtschaft
- 1998 Lebensmittel für eine gesunde Ernährung
- 2000 Biotechnologie in den Nutztierwissenschaften
- 2002 Perspektiven für die Erzeugung von Lebensmitteln tierischer Herkunft in Europa
- 2004 Mikrobiologie und Tierernährung
- 2006 Fortschritte in Tierzucht und Tierhaltung
- 2008 Perspektiven der landwirtschaftlichen Energieerzeugung
- 2010 Wiederkäuerernährung – wesentliche Grundlage für Tiergesundheit, Ressourcenschonung sowie Umwelt- und Klimaschutz
- 2012 Zusatzstoffe in der Ernährung
- 2014 Innovative Erzeugung, Konversion und Nutzung agrarischer Biomasse – Zukunftsfeld der Bioökonomie
- 2016 Die postgenomische Ära: Die Renaissance des Phänotyps