

Genomweite Assoziationsstudien von Winkelmessungen in zwei Pferderassen

A.I. Gmel^{1,2}, T. Druml³, R. von Niederhäusern¹, T. Leeb²,
M. Neuditschko^{1,3}

¹ Agroscope, Schweizer Nationalgestüt SNG, Avenches

² Institut für Genetik, Vetsuisse Fakultät, Universität Bern

³ Institut für Tierzucht und Genetik, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich

Einleitung

Ein wichtiges Ziel der heutigen Tiergenetik ist es, Genregionen zu finden, die für die Zucht relevante Merkmale beeinflussen. Zu diesem Zweck werden quantitative erfasste Merkmale im Zusammenhang mit dem ganzen Genom analysiert (Genomweite Assoziationsstudien, GWAS). Je mehr Tiere man für diese Studien berücksichtigen kann, und je besser die Merkmalsdefinition, desto grösser ist die Wahrscheinlichkeit, signifikante genetische Assoziationen zu finden. Bei Pferden, wo die direkten Erfolgsmerkmale aus dem Sport erst spät messbar sind, werden oft sekundäre Merkmale, besonders das Exterieur (Morphologie) in GWAS genutzt. Die visuelle Exterieur-Beurteilung von Pferden wird traditionell durch erfahrene Rasserichter vorgenommen und basiert auf einem vorgegebenen Zuchtziel. Die immer häufiger eingesetzte lineare Beschreibung vergleicht Tiere innerhalb einer Population auf ihrer Merkmalsausprägung. Jedoch sind beide Arten der Merkmalserfassung vom menschlichen Auge beeinflusst. Zusätzlich sind die Zuchtpopulationen der einzelnen Rassen im Vergleich zu anderen Nutztieren (z.B. Rind) relativ klein. Beachtet werden jedoch häufig nicht nur rassespezifische Merkmale (Typ), sondern auch über alle Pferderassen vergleichbare Merkmale wie Schulterneigung, Kruppenwinkelung, Sprunggelenkwinkelung, usw. In dieser Studie wurde ein objektives Masssystem genutzt, um spezifische Merkmale der Exterieurbeurteilung in zwei Rassen zu erfassen. Diese Merkmale wurden dann anhand einer GWAS analysiert.

Material und Methoden

Der Umriss und spezifische Landmarks von 157 Freiburgerhengsten und 209 Lipizzaner Zuchthengsten (n=115) und -stuten (n=94) wurden anhand eines Fotos nach dem Horse Shape Model phänotypisiert (Druml *et al.* 2015). Je drei spezifisch nach dem sogenannten *Horse Shape Model* gesetzten Punkte ergeben einen Winkel, der nach seinen Pixel-Koordinaten berechnet werden kann (Abb. 1). Basierend auf den vorgegebenen Punkten wurden approximative Nacken-, Hals-, Schulter-, Ellbogen-, Karpal-, Fesselgelenk-, Kruppe-, Knie- und Sprunggelenkwinkel berechnet und die Winkel als quantitative Phänotypen in einer GWAS berücksichtigt. Die Freiburgerhengste wurden entweder auf 670K SNP-array genotypisiert oder von 50K SNP-array auf die Sequenz hochimputiert (Frischknecht *et al.* 2014). Die Lipizzaner Pferde wurden alle mit dem 670K SNP-Chip genotypisiert. Die vorläufigen GWAS Berechnungen basierten auf 227'665 genomweiten Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) und wurden mit einem „mixed model“ in GenABEL berechnet, wobei die Berechnungen auf die fixen Effekte, Alter, Geschlecht und Rasse korrigiert wurden (Aulchenko *et al.* 2007).



Abbildung 1
Horse Shape Model mit zusätzlichen Winkeln

Ergebnisse und Diskussion

Nacken- und Kniegelenkwinkel (Abb. 1, Winkel 1 und 8) wiesen signifikante oder tendenziell signifikante Assoziationen auf (Abb. 2). Der tendenziell mit der Kniewinkelung assoziierte SNP lag innerhalb des RSPO2 Gens, das die Entwicklung des Kniegelenks beim Menschen beeinflusst (Pazin *et al.* 2012). Die Assoziation mit dem Nackenwinkel scheint dennoch die vielversprechendste; die zwei signifikant assoziierten SNPs befinden sich in der Nähe des ALX1 Gen, welches für die Entwicklung der Neuralleiste und des Schädels mitverantwortlich ist (Uz *et al.* 2010). Die Nackenflexion ist im Reitsport besonders in der Dressur relevant. Ist die Kopf-Hals Stellung beim Pferd zum Teil genetisch bedingt, ist sie beim Reiten ebenfalls limitiert und eine erzwungene Position führt zu steifen Bewegungen oder Abwehrverhalten, das als fehlende Rittigkeit interpretiert werden könnte. Daher könnte der Nackenwinkel als ein Sekundärmerkmal für Rittigkeit genutzt werden.

Fazit

Das *Horse Shape Model* ist eine vielversprechende Methode, den Körperbau unabhängiger Rassen objektiv zu vergleichen und anhand GWAS die genetischen Hintergründe aufzuzeigen. Besonders die genetische Assoziation mit dem Nackenwinkel scheint ein vielversprechender Ansatz zu sein. Zusätzliche FM Hengste werden bereits genotypisiert. Der Ansatz wäre auch in anderen Rassen wie dem Shagya-Araber oder dem Schweizer Warmblut möglich. Grössere Stichprobenzahlen sollten es in Zukunft ermöglichen, die bereits gefundenen Genorte zu bestätigen und noch weitere mit einem Einfluss auf das Exterieur zu identifizieren.

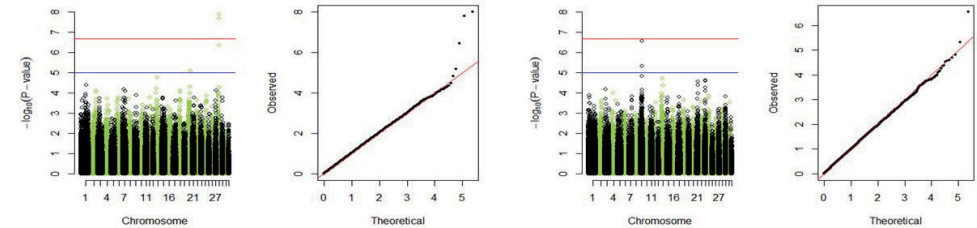


Abbildung 2

Manhattan-Plots der signifikanten resp. tendenziell signifikanten GWAS mit dem Phänotyp Nackenwinkel (links) und Kniewinkel (rechts)

Literatur

Aulchenko Y.S., Ripke S., Isaacs A., Van Duijn C.M., 2007. GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics* 23, 1294-1296.

Druml T., Dobretsberger M., Brem G., 2015. The use of novel phenotyping methods for validation of equine conformation scoring results. *animal*, 1-10.

Frischknecht M., Neuditschko M., Jagannathan V., Drögemüller C., Tetens J., Thaller G., Leeb T., Rieder S., 2014. Imputation of sequence level genotypes in the Franches-Montagnes horse breed. *Genetics Selection Evolution* 46, 63.

Pazin D.E., Gamer L.W., Cox K.A., Rosen V., 2012. Molecular profiling of synovial joints: use of microarray analysis to identify factors that direct the development of the knee and elbow. *Developmental Dynamics* 241, 1816-1826.

Uz E., Alanay Y., Aktas D., Vargel I., Gucer S., Tuncbilek G., von Eggeling F., Yilmaz E., Deren O., Posorski N., 2010. Disruption of ALX1 causes extreme microphthalmia and severe facial clefting: expanding the spectrum of autosomal-recessive ALX-related frontonasal dysplasia. *The American Journal of Human Genetics* 86, 789-796.