

Institut für Nutztierwissenschaften der Universität Hohenheim
Fachgebiet Tiergenetik und Züchtung
Prof. Dr. Jörn Bennewitz

**Quantitativ-genetische und genomische
Analysen zu den Merkmalen perinataler
Saugreflex und Trinkverhalten bei Kälbern der
Rasse Braunvieh**

DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades in den Agrarwissenschaften
(Dr. sc. agr.)

vorgelegt von
CLARISSA SUSANNE DREHER
aus Darmstadt

Stuttgart-Hohenheim, 2019

Institut für Nutztierwissenschaften der Universität Hohenheim
Fachgebiet Tiergenetik und Züchtung
Prof. Dr. Jörn Bennewitz

Quantitativ-genetische und genomische Analysen zu den
Merkmalen perinataler Saugreflex und Trinkverhalten bei
Kälbern der Rasse Braunvieh

DISSERTATION

vorgelegt von
CLARISSA SUSANNE DREHER
aus Darmstadt

Datum der mündlichen Prüfung:	13.01.2020
Dekan d. Fakultät AW:	Prof. Dr. R. Vögele
Leiter der Prüfung:	Prof. Dr. S. Böttinger
Berichterstatter, 1. Prüfer:	Prof. Dr. J. Bennewitz
Berichterstatter, 2. Prüfer:	Prof. Dr. J. Tetens
3. Prüfer:	Prof. Dr. M. Chagunda

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	IX
Zusammenfassung	X
Summary	XII
1 Einleitung	1
2 Literatur	3
2.1 Zuchtgeschichte der Rasse Braunvieh.....	3
2.2 Bedeutung der Kolostrumaufnahme	6
2.3 Einflussfaktoren auf das Trinkverhalten und den Saugreflex.....	7
2.4 Quantitativ-genetische und genomische Analysen.....	10
3 Material und Methoden	15
3.1 Datenerhebung.....	15
3.2 Pedigree-basierte genetische Analysen.....	18
3.2.1 Datenaufbereitung	18
3.2.2 Statistische Auswertung	20
3.3 Genomische Analysen.....	23
3.3.1 Datenaufbereitung	23
3.3.2 Statistische Auswertungen.....	27
3.4 Genomische Analysen von maternalen Effekten.....	31
3.4.1 Datenerfassung und Datenaufbereitung	31
3.4.2 Statistische Auswertung	33
3.5 Analyse von Betriebseinflüssen	35
3.5.1 Datenaufbereitung	35

Inhaltsverzeichnis

3.5.2	Statistische Auswertungen.....	35
4	Ergebnisse.....	36
4.1	Deskriptive Statistik	36
4.2	Quantitativ-genetische Parameter.....	39
4.3	LD-Struktur	44
4.4	Genomweite Assoziationskartierungen.....	46
4.5	Funktionelle Genannotation und Pfadanalysen.....	52
4.6	Einfluss des maternalen Genoms auf den Saugreflex der Kälber	57
4.7	Betriebseinflüsse	59
5	Allgemeine Diskussion.....	61
	Literaturverzeichnis.....	68
	Anhang	76
	Danksagung	98
	Curriculum Vitae	99
	Eidesstattliche Versicherung.....	101

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Kodierungsvarianten für den Saugreflex der Kälber.</i>	16
<i>Tabelle 2: Skalierung und Beschreibung der Kälberphänotypen.</i>	17
<i>Tabelle 3: Vergleich der verwendeten Datensätze und Anzahl der vorhandenen SNPs für Single-Marker und Multi-Marker-Analysen.</i>	25
<i>Tabelle 4: Anzahl Kälberphänotypen bezogen auf den Datensatz für Zustand und Qualität der Kälber (ZQ) zur Analyse der maternalen Effekte.</i>	32
<i>Tabelle 5: Anzahl Kälberphänotypen bezogen auf den Datensatz für die Trächtigkeitsdauern (TD) zur Analyse der maternalen Effekte.</i>	32
<i>Tabelle 6: Verteilung der Kälberphänotypen im verwendeten finalen Pedigree-Datensatz der Kälber.</i>	37
<i>Tabelle 7: Einflussgebende Variablen auf den Saugreflex und das Trinkverhalten mit P-Werten des Wald-Tests mit ASReml-R.</i>	37
<i>Tabelle 8: Phänotypische (oberhalb der Diagonalen) und genetische (unterhalb der Diagonalen) Korrelationen (Standardabweichungen) für die Merkmale Saugreflex (SR), Trinkverhalten (TV), Größe und Qualität (GQ), Vitalität (VIT), Trächtigkeitsdauer (TD) und Kalbeverlauf (KVL), sowie die Heritabilitäten auf der Diagonalen.</i>	39
<i>Tabelle 9: Heritabilitäten (h^2) aus univariater Varianzkomponentenschätzung mit MCMCglimm für Saugreflex (SR) und Trinkverhalten (TV), Standardabweichung (sd) und lower- und upper-HPD-Intervalle.</i>	41
<i>Tabelle 10: Absolute Mittelwerte, Standardabweichungen (sd), Minima und Maxima der Zuchtwerte für die 10 besten und 10 schlechtesten Väter bezogen auf den Saugreflex.</i>	42
<i>Tabelle 11: Gefundene QTL-Regionen aus den genomweiten Multi-Marker-Analysen für Saugreflexkodierung TC1 mit enthaltenen positionellen Kandidatengenens und in diesen QTL-Regionen enthaltene signifikante SNPs ($P_{\text{nominal}} < 5E-05$) aus den Single-Marker-Analysen (TC1). Die Positionen sind dem NCBI Genomassembly <i>Bos_taurus_UMD_3.1.1</i> entnommen.</i>	51
<i>Tabelle 12: Positionen der kartierten 1-Mb-Regionen up- und downstream der gefundenen signifikanten SNPs (SR TC1).</i>	52

<i>Tabelle 13: Ergebnisse des Tests mit der Software PANTHER auf Über- (+) oder Unterrepräsentation (-) der GO-Terme für biologische Prozesse für Saugreflex TC1, aufsteigend sortiert nach FDR.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 14: Positionen der kartierten 1-Mb-Regionen up- und downstream der gefundenen signifikanten SNPs (TV).....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 15: Ergebnisse des mit DAVID durchgeführten functional annotation chart für GO-Terme biologischer Prozesse.....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 16: Maternale genomische Heritabilitäten (h_{SNP}^2) und Standardfehler (SE) der drei Saugreflexkodierungen.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 17: Signifikante SNPs aus der Single-Marker-GWAS und positionelle Kandidatengene.....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 18a: Übersicht der 10 besten Betriebe nach Saugreflexmittelwert.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 18b: Übersicht der 10 schlechtesten Betriebe nach Saugreflexmittelwert.....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 19: Ergebnisse des Mittelwertvergleichs zwischen guten und schlechten Betrieben mittels Fisher`s Exakt Test.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabelle 20: Ergebnis der Varianzanalyse zum Einfluss der Mineralfutterkomponenten in der Kuh- (K) bzw. Trockensteherration (T) auf den mittleren Saugreflex.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabelle A21: Zuchtwerte (EBV), Relativzuchtwerte (RZW) und Sicherheiten der Zuchtwerte (r^2) der Väter (V) mit mind. 50 Nachkommen für alle drei Kodierungsvarianten im Saugreflex (TC1, TC2, TC3) und dem Trinkverhalten (TV), geordnet nach Anzahl der Kälber pro Vater (N).....</i>	<i>76</i>
<i>Tabelle A22: Signifikante SNP-Positionen aus GWAS für Saugreflex und positionelle Kandidatengene.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabelle A23: Signifikante SNP-Positionen aus GWAS für Trinkverhalten und positionelle Kandidatengene.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabelle A24: Cluster 1 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 3.60.....</i>	<i>82</i>
<i>Tabelle A25: Cluster 2 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 3.29.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle A26: Cluster 3 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 2.91.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle A27: Cluster 4 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 2.78.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabelle A28: Cluster 5 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 2.29.....</i>	<i>86</i>

Tabelle A29: Cluster 6 der funktionellen Annotation mit DAVID. Enrichment Score = 2.06 87

Tabelle A30: Cluster der funktionellen Annotation mit DAVID für Trinkverhalten. Enrichment Score = 1,52. 87

Tabelle A31: Signifikante Ergebnisse der Pfadanalysen anhand der Datenbanken KEGG und Reactome, annotiert mit DAVID. 88

Tabelle A32: GO-Terme biologischer Prozesse für Trinkverhalten..... 90

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Darstellung der genetischen Distanzen zwischen unterschiedlichen Schweizer Rinderpopulationen durch Multidimensionale Skalierung zur Demonstration bestehender verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen Brown Swiss (BS), Schweizer Braunvieh (BV), Original Braunvieh (OB), Holstein (HO), Red Holstein (RH), Schweizer Fleckvieh (SF), Simmental (SI), Eringer (ER) und Evolèner (EV) (aus Signer-Hasler et al., 2017) .</i>	<i>4</i>
<i>Abbildung 2: Entwicklung der Herdbuch-Braunvieh-Population und der Anzahl der Braunviehhaltenden Betriebe in Baden-Württemberg von 1990-2018 (Quelle: Rinderunion Baden-Württemberg)</i>	<i>5</i>
<i>Abbildung 3: Pedigreevollständigkeit. Darstellung getrennt nach Geschlechtern.</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 4: Verteilung und Dichte der SNPs auf dem 50K SNP Chip (oben) und dem HD SNP Chip (unten)</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 5: Verteilung des Saugreflexes der Kälber innerhalb der Betriebe (nur Betriebe mit > 80 Kälbern in der Auswertung berücksichtigt).</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 6: Verteilung des Saugreflexes über die Geschlechter im reduzierten Datensatz mit 5.541 Kälbern.</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 7: Verteilung des Trinkverhaltens über die Geschlechter im reduzierten Datensatz mit 5.450 Kälbern.</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 8: Posteriori-Verteilung der Heritabilitäten für Saugreflex-Kodierungen TC1, TC2 und TC3 (univariates Modell).</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 9: Posteriori-Verteilung der Heritabilitäten für Saugreflex Kodierungen TC1, TC2 und TC3 im Modell TD (univariates Modell).</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 10: Zuchtwerte der Väter für die Wahrscheinlichkeit, mit der diese einen schlechten Saugreflex an ihre Nachkommen vererben, dargestellt für die binären Modelle TC2 und TC3. Auf der X- Achse sind die Väter mit mindestens 10 Nachkommen im Datensatz dargestellt, die Y-Achse stellt deren Zuchtwerte für den Saugreflex auf der phänotypischen Skala dar.</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 11: Darstellung der Relativzuchtwerte für Saugreflexkodierung TC1 (RZSR_TC1) und Trinkverhalten (RZTV). Die Y-Achse enthält die Relativzuchtwerte, auf der X-Achse sind die Väter (min. 50 Nachkommen) dargestellt.</i>	<i>43</i>

Abbildung 12: Darstellung der Marker-LD-Struktur in der untersuchten Braunviehpopulation über alle Autosomen hinweg. Auf der X-Achse sind die untersuchten Distanzen in kb abgebildet, die Y-Achse gibt den errechneten r^2 -Wert an.	44
Abbildung 13: Darstellung des LD-Abfalls in der Braunviehpopulation für alle 29 untersuchten <i>Bos Taurus</i> Autosomen (BTA).	45
Abbildung 14: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC1. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert)(oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$).....	47
Abbildung 15: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC2. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert)(oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$).....	48
Abbildung 16: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC3. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert)(oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$).....	49
Abbildung 17: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Trinkverhalten. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Die rote Linie zeigt $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, während die blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$ zeigt.....	50
Abbildung 18: Manhattan-Plots der Single-Marker-GWAS zu maternalen Einflüssen auf den Saugreflex. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Oben: TC1. Mitte: TC2. Unten: TC3. Die blaue Linie zeigt das nominal Signifikanzniveau von $P < 5E-05$	58
Abbildung A19: Imputationsgenauigkeiten für jeden einzelnen autosomalen SNP.	91
Abbildung A20: Absolute Häufigkeit der Imputationsgenauigkeiten über alle Autosomen hinweg.	91

Abbildung A21: Manhattan-Plots der GWAS für Saugreflex mit dem 50K SNP Chip. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Die blaue Linie zeigt die Signifikanzschwelle bei $P_{nominal} < 5E-05$. Oben: Saugreflexkodierung TC1. Mitte: Saugreflexkodierung TC2. Unten: Saugreflexkodierung TC3. 92

Abbildung A22: Manhattan-Plots der GWAS für Trinkverhalten mit dem 50K SNP Chip. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Die blaue Linie zeigt die Signifikanzschwelle bei $P_{nominal} < 5E-05$ 93

Abbildung A23: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC1. 93

Abbildung A24: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC2. 94

Abbildung A25: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC3. 94

Abbildung A26: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für das Trinkverhalten (TV). 95

Abbildung A27: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC1_TD. 95

Abbildung A28: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC2_TD. 96

Abbildung A29: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC3_TD. 96

Abbildung A30: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) im multivariaten Modell mit MCMCglmm. a) Saugreflex (SR TC1), b) Trinkverhalten (TV), c) Größe und Qualität (GQ), c) Zustand (VIT) 97

Abkürzungsverzeichnis

Bp	Basenpaare
BS	<i>Brown Swiss</i>
BV	Braunvieh
cM	<i>centi Morgan</i>
ES	<i>Enrichment Score</i>
GQ	Gewicht und Qualität
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HD	<i>high density</i>
HPD	<i>highest posterior density</i>
KST	<i>Kappa Similarity Threshold</i>
KVL	Kalbeverlauf
LD	<i>linkage disequilibrium</i>
Lfl	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LGL	Landesamt für Geoinformation und Landentwicklung
MAF	Minor-Allel-Frequenz
Mb	<i>Mega base</i>
OB	Original Braunvieh
RBW	Rinderunion Baden-Württemberg
<i>TIMP_SEQ</i>	Korrelation zwischen imputierten und sequenzierten Genotypen
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i>
SR	Saugreflex
TD_l	Trächtigkeitsdauer linear
TD_q	Trächtigkeitsdauer quadratisch

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, genetische Parameter der Merkmale perinataler Saugreflex und Trinkverhalten in der süddeutschen Braunviehpopulation zu ermitteln und die genetische Architektur dieser Merkmale anhand der Durchführung genomweiter Assoziationsstudien (GWAS) zu erfassen. Die durch GWAS kartierten positionellen Kandidatengene wurden auf ihre Eignung als putative funktionelle Kandidatengene anhand von Gen-Ontologie- (GO) Termen und Pfadanalysen überprüft. Basierend auf den Ergebnissen der umfangreichen genetischen und genomischen Analysen sollten Empfehlungen für eine Zuchtungsstrategie entwickelt werden, welche in die zukünftige Zuchtroutine implementiert werden kann und das Problem der Trinkschwäche in der Braunviehpopulation eindämmt. Zusätzlich sollte durch die Untersuchung genomischer Daten der Mütter der phänotypisierten Kälber der Einfluss der maternalen Genetik auf den Saugreflex der Kälber abgeklärt werden. Um die sich schon zu Beginn der Untersuchungen abzeichnenden starken Betriebseffekte näher analysieren zu können, wurden zusätzlich Betriebsdaten in Bezug auf Haltungs- und Fütterungsumwelten der Tiere untersucht.

Eine frühzeitige und ausreichende Kolostrumaufnahme innerhalb der ersten Stunden nach der Geburt ist essentiell für die passive Immunisierung neugeborener Kälber. Hierdurch wird der Grundstein für die Aufzucht vitaler und leistungsstarker Tiere gelegt. Ist die Kolostrumaufnahme der neugeborenen Kälber eingeschränkt, so hat dies nicht nur Entwicklungsstörungen und eine erhöhte Krankheitsanfälligkeit der Tiere zur Folge, sondern birgt auch das Risiko von erhöhter postnataler Sterblichkeit. Eine eingeschränkte Kolostrumaufnahme hat daher sowohl aus Sicht des Tierschutzes eine hohe Relevanz, als auch für die Wirtschaftlichkeit betroffener landwirtschaftlicher Betriebe. In der Rinderrasse Braunvieh zeigt sich das Problem trinkschwacher Kälber (Inzidenz: 10 %) häufiger als in anderen Rassen. Durch Studien innerhalb der italienischen Braunviehpopulation konnte bereits eine genetische Komponente mit Heritabilitäten im mittleren Bereich für ein fehlerhaftes Trinkverhalten der neugeborenen Kälber festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass das Trinkverhalten durch die Genetik der Tiere beeinflusst wird und somit züchterisch zu bearbeiten ist. Aus diesem Grund wurde in der hier vorgestellten Arbeit die Charakterisierung der genetischen Hintergründe des perinatalen Saugreflexes und des Trinkverhaltens bei neugeborenen Kälbern in der Braunviehpopulation vorgenommen. Hierfür wurden auf über 220 braunviehhaltenden und in Baden-Württemberg lokalisierten Milchviehbetrieben Daten erhoben. Neben einer Evaluierung des Haltungs- und Fütterungsmanagements der Betriebe wurden zur Durchführung Pedigree-basierter genetischer Analysen, mittels uni- und multivariater Vaterschwellenwertmodelle, die Phänotypdaten von über

10.000 Kälbern erhoben. Zusätzlich erfolgte die Sammlung von Gewebeproben von über 3.000 Kälbern für die Durchführung genomischer Analysen. Unter Verwendung von hochdichten Markerkarten wurden genomweite Assoziationskartierungen sowohl mit Single-Marker-Modellen, als auch mit bayes'schen Multi-Marker-Modellen durchgeführt. Gewebeproben von circa 900 Müttern wurden ebenfalls gesammelt und deren 50K-typisierte Genotypen analysiert. Anhand der mütterlichen Markergenotypen wurden maternale genetische Effekte auf einen fehlerhaften Saugreflex der Kälber untersucht.

Es konnten niedrige Heritabilitäten für die Merkmale Trinkverhalten und Saugreflex ermittelt werden. Diese lagen in Abhängigkeit des betrachteten Merkmals, der angewandten Merkmalskodierungen und der verwendeten Modelle im Bereich zwischen 0,06 bis 0,23. Die für das Trinkverhalten geschätzte Heritabilität war sowohl im univariaten Modell, als auch im multivariaten Modell etwas höher, als für das Merkmal Saugreflex. Die genomweiten Assoziationsanalysen zeigten deutlich einen quantitativ-genetischen Hintergrund beider betrachteter Merkmale. Aus diesen Erkenntnissen lässt sich für die praktische Züchtung ableiten, dass eine Verbesserung der Problematik anhand von Gentests, wie dies beispielsweise bei monogenen Erbkrankheiten erfolgt, nicht zielführend ist. Stattdessen ist ein Zuchtfortschritt über den Einsatz der genomischen Selektion zu empfehlen. Dafür ist eine konstante Merkmalerfassung erforderlich. Die Erfassung des Trinkverhaltens der Kälber sollte dafür innerhalb der ersten 12 Stunden *postpartum* erfolgen. Die Ergebnisse der Gen-Annotation mittels GO-Termen und der Pfadanalysen zeigten die Überrepräsentation von Genen mit Funktionen bei der Entwicklung des zentralen Nervensystems, der Neurogenese und Signalübertragung. Um maternale genetische Effekte auf die Trinkschwäche der Kälber effektiv schätzen zu können, waren sowohl die Markerdichte von 50K zu gering, als auch der verwendete Datensatz zu klein. Es konnte ein hoch signifikanter allgemeiner Betriebseinfluss auf die untersuchten Merkmale festgestellt werden. Allerdings ergaben die durchgeführten Auswertungen hinsichtlich spezifischer Einflüsse in Bezug auf die Haltungs- und Fütterungsumwelten der Kühe und Kälber auf den Betrieben keine signifikanten Unterschiede.

Summary

The aim of the present study was to determine genetic and genomic parameters for the traits perinatal sucking reflex and sucking behavior in the South-German Brown Swiss population and to analyze the genetic architecture of these traits by performing genome-wide association studies (GWAS). The positional candidate genes mapped by GWAS were tested for their suitability as putative functional candidate genes through the use of gene ontology (GO) terms and pathway analysis. Based on the results of the extensive genetic and genomic analyzes, recommendations for a breeding strategy should be developed, which can be implemented in the future breeding routine, and mitigates the problem of sucking weakness in the Brown Swiss population. In addition, the influence of the maternal genome on the sucking reflex of the calf should be clarified by examining genomic data from the mothers of the phenotyped calves. In order to analyze the strong farm effects emerging at the beginning of the investigations in detail, additional data were examined with regard to animal husbandry and feeding environments on the farms.

A healthy sucking behavior is important for newborn calves to ensure sufficient colostrum intake in the first few hours *postpartum*. This is essential for the passive immunization of newborn calves and provides the foundation for raising vital and well developed animals. Insufficient colostrum intake not only results in developmental disorders and increased susceptibility to certain diseases, but also inherits the risk of increased postnatal mortality. Therefore, an insufficient colostrum intake is an animal welfare problem and it also leads to economic losses for the farmers. Brown Swiss breeders are more likely to experience the problem of non-sucking calves (incidence: 10%) than is apparent in other breeds. Studies in the Italian Brown Swiss population have already identified a genetic component with mid-range heritabilities for erroneous perinatal sucking behavior. This indicates that the trait sucking behavior is partly influenced by the genes of the animals and thus breeding for this trait might lead to a selection response. Therefore, the characterization of the genetic background of perinatal sucking reflex and sucking behavior in neonatal calves in the Brown Swiss population was carried out in this work. For this purpose, data were collected on more than 220 dairy cattle farms located in Baden-Württemberg. In addition to an evaluation of the husbandry and feeding management of the farms, the phenotype data of more than 10,000 calves were collected to carry out pedigree-based genetic analyzes using univariate and multivariate sire threshold models. In addition, the collection of tissue samples from over 3,000 calves was carried out for the performance of genomic analyzes. Using high-density marker maps, genome-wide association mapping was performed using both single-marker models and Bayesian multi-marker models. Tissue samples of approximately 900 mothers were also collected and their

50K-genotypes were analyzed. Based on the maternal marker genotypes, maternal genetic effects on an erroneous sucking reflex of the calves were investigated.

Low heritabilities for the traits sucking behavior and sucking reflex could be determined. These ranged from 0.06 to 0.23, depending on the trait, the trait coding used and the models used. The heritability estimates for sucking behavior were slightly higher in the univariate model as well as in the multivariate model than for sucking reflex. The GWAS results clearly showed a quantitative-genetic background of both traits. From these findings, it can be deduced for practical breeding strategies that improving the problem by means of genetic tests, as is the case, for example, with monogenic hereditary diseases, would not be expedient. Instead, breeding progress through the use of genomic selection is recommended. A constant trait recording is required for this purpose. The sucking behavior of the calves should be recorded within the first 12 hours *postpartum*. The results of gene annotation using GO terms and pathway analysis revealed the overrepresentation of genes with functions in the development of the central nervous system, neurogenesis, and signal transduction. In order to effectively estimate maternal genetic effects on calf sucking weakness, both the marker density of 50K was too low and the data set too small.

A highly significant farm effect on the investigated traits was found. However, the evaluations carried out with regard to specific influences of the housing and feeding environments on farms did not show any significant differences.

1 Einleitung

Eine rechtzeitige und ausreichende Kolostrumaufnahme innerhalb der ersten Stunden nach der Geburt ist für neugeborene Kälber essentiell, da die syndesmochoriale Plazenta bei Rindern eine Übertragung von Immunglobulinen im Uterus verhindert. Zahlreiche Studien haben sich in der Vergangenheit bereits mit den Auswirkungen einer nicht erfolgten Übertragung der passiven Immunität (*failure of transfer of passive immunity*, FPT) beschäftigt. (Weaver et al., 2000; Hadorn et al., 1997; Wesselink et al., 1999; Novo et al., 2017; Blum, 2006). Nicht nur die spätere Entwicklung der betroffenen Tiere ist eingeschränkt, sondern eine unzureichend erfolgte Aufnahme der Kolostralmilch gilt vor allem als einer der Hauptgründe für postnatale Sterblichkeit (Gomez und Chamorro, 2017). Daher ist eine unzureichende Kolostrumaufnahme nicht nur tierschutzrelevant, sondern auch von wirtschaftlichem Interesse. Eine nicht oder nur unzureichend erfolgte Aufnahme des Kolostrums ist meistens darauf zurückzuführen, dass betroffene Kälber eine ausgeprägte Trink- oder Saugschwäche zeigen. Dies bedeutet, sie sind nicht in der Lage das angebotene Kolostrum aufzunehmen. Für betroffene Landwirte stellt das Vorkommen trinkschwacher Kälber neben den wirtschaftlichen Verlusten zusätzlich einen erhöhten Arbeitsaufwand dar, da in vielen Fällen viel Zeit für die Kolostrumgabe dieser Kälber aufgewendet werden muss und in einigen Fällen die Zwangsernährung der betroffenen Tiere durch Drenchen durchgeführt wird. Doch auch diese zwanghafte Verabreichung von Kolostrum birgt gesundheitsrelevante Risiken. So besteht z.B. ein hohes Risiko von Lungenentzündungen bei unsachgemäßem Gebrauch, weshalb viele Landwirte in der Praxis auf das Drenchen der betroffenen Kälber verzichten. Trinkschwache Kälber zeigen zumeist nur einen schwachen bis gar keinen Saugreflex. Dieses Problem zeigt sich bei Kälbern der Rasse Braunvieh häufiger, als in anderen Rassen. In der italienischen Braunviehpopulation konnte eine Inzidenz trinkschwacher Kälber von 10 % festgestellt werden (Maltecca et al., 2007). Es werden hauptsächlich umweltbedingte Faktoren für das Vorkommen trinkschwacher Tiere verantwortlich gemacht (Vasseur et al., 2009; Homerosky et al., 2017), aber auch ein genetischer Hintergrund wird nicht ausgeschlossen (Rossoni et al., 2005; Maltecca et al., 2007). So konnten für das perinatale Saugverhalten italienischer Braunviehkälber bereits niedrige bis mittlere Heritabilitäten geschätzt werden (Maltecca et al., 2007), was eine Züchtung auf dieses Merkmal ermöglicht. Eine aktuelle Umfrage ergab, dass die deutschen Braunviehzüchter dem perinatalen Saugreflex ein relativ hohes wirtschaftliches Gewicht in einem fiktiven Gesamtzuchtwert beigemessen haben (Just et al., 2018), was darauf hindeutet, dass die Aufnahme dieses Merkmals in den Gesamtzuchtwert unter Braunviehzüchtern durchaus gewünscht ist. Im Jahr 2011 wurde die genomische Selektion

in der Braunviehpopulation eingeführt. Der für diese Zwecke genutzte 50K SNP-Chip enthält eine Reihe von rassespezifischen Markern zur Identifizierung verschiedener Erbkrankheiten (Schwarzenbacher et al., 2016). Sollte ein fehlerhafter Saugreflex auf nur einige wenige Genorte im Braunviehgenom zurückzuführen sein, so könnten diese in ähnlicher Weise auf dem Chip integriert werden. Dies würde die Zucht auf einen funktionalen Saugreflex erheblich vereinfachen. Andernfalls müsste der Saugreflex als typisch quantitatives Merkmal verstanden werden und über den Einsatz der genomischen Selektion und eine damit verbundene kontinuierliche Datenerfassung verbessert werden.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, genetische Parameter der Merkmale Saugreflex und Trinkverhalten zu ermitteln und die genetische Architektur dieser Merkmale durch die Durchführung genomweiter Assoziationsstudien zu erfassen. Zu diesem Zweck standen sowohl Phänotypdaten von über 9.000 Braunviehkälbern zur Verfügung sowie genomische Daten von knapp 3.000 Kälbern. Die Tiere stammten von circa 200 braunviehhaltenden Betrieben in Baden-Württemberg. Basierend auf den Ergebnissen der umfangreichen genetischen und genomischen Analysen sollten Empfehlungen für eine Zuchtungsstrategie entwickelt werden, welche in die zukünftige Zuchtoutine implementiert werden können und das Problem der Trinkschwäche in der Braunviehpopulation eindämmen. Zusätzlich sollte durch die Untersuchung genomischer Daten der Mütter der phänotypisierten Kälber der Einfluss der maternalen Genetik auf den Saugreflex der Kälber abgeklärt werden. Um die sich schon zu Beginn der Untersuchungen abzeichnenden starken Betriebseffekte näher analysieren zu können, wurden zusätzlich Betriebsdaten in Bezug auf Haltungs- und Fütterungsumwelten der Tiere untersucht.

2 Literatur

2.1 Zuchtgeschichte der Rasse Braunvieh

Die heute weltweit verbreitete Rinderrasse Braunvieh hat ihren Ursprung in der Schweiz, wo schon vor rund 1.000 Jahren im Kloster Einsiedeln im Kanton Schwyz die Zucht einer widerstandsfähigen, langlebigen, fruchtbaren und leistungsfähigen Rinderrasse zur Nutzung von Fleisch, Milch und Zugkraft dokumentarisch festgehalten wurde. Bis zur Gründung des Schweizerischen Braunviehzuchtverbandes im Jahr 1897 wurden in der Schweiz und den angrenzenden Alpenregionen in Deutschland, Österreich und Italien noch verschiedene Braunviehschläge gehalten, die im Laufe der Jahre immer weiter zum Schlag des Original Braunviehs vereinheitlicht wurden (Braunvieh Schweiz, 17.04.2019).

In den Jahren von 1869 bis 1906 wurden insgesamt 150 Original Braunvieh Tiere (21 männliche, 129 weibliche) in die USA exportiert, wo die ursprüngliche Doppelnutzungsrasse im Jahr 1906 von der Brown Swiss Cattle Breeders Association zu einer reinen Milchleistungsrasse ernannt wurde. Bis zu den 1930er Jahren wurden über 50.000 weibliche und 30.000 männliche Tiere registriert, die von diesen ursprünglichen 150 Tieren abstammten (Yoder und Lush, 1937).

In Deutschland und auch der Schweiz erfolgte ab 1966 ein gezielter Umzüchtungsprozess der bis dahin herrschenden Doppelnutzungsrasse Braunvieh. Durch Einkreuzung amerikanischer Brown-Swiss-Genetik sollten großrahmige und stärker milchbetonte Tiere bei gleichzeitigem Fokus auf eine ausreichende Fleischleistung erzielt werden (ASR). In der Folge entwickelten sich zwei unterschiedliche und heute weitestgehend voneinander genetisch getrennte Populationen. Die zunehmende Einkreuzung amerikanischer Genetik zur Verbesserung der Milchleistung sorgte dafür, dass bis Mitte der 1980er Jahre der Anteil der Tiere mit Original Braunviehgenetik dramatisch zurück ging und der alte Schlag der Doppelnutzung bereits auf der Roten Liste bedrohter Nutzierrassen in Deutschland durch die Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e. V. (GEH) als stark gefährdet (Stufe II) eingestuft wurde. Verschiedene Studien haben sich in der Vergangenheit mit dem Nachweis der genetischen Eigenständigkeit der beiden Populationen befasst. Laut Hagger (2005) und Signer-Hasler et al. (2017) lässt sich die Rasse Braunvieh sogar in 3 Populationen unterschiedlichen genetischen Ursprungs aufteilen. Dabei grenzt sich die Population des Originalen Braunviehs als Doppelnutzungsrasse klar von den milchbetonten Braunviehrindern, welches Kreuzungstiere aus Brown Swiss und Original Braunvieh darstellen (Hagger, 2005), und der

Milchrasse Brown Swiss ab (Abbildung 1). Die Verwandtschaft zwischen Tieren der Rassen Braunvieh und Brown Swiss erscheint im Vergleich hierzu sehr viel größer, weshalb im allgemeinen Sprachgebrauch zwischen Brown Swiss und Braunvieh nicht mehr unterschieden wird.

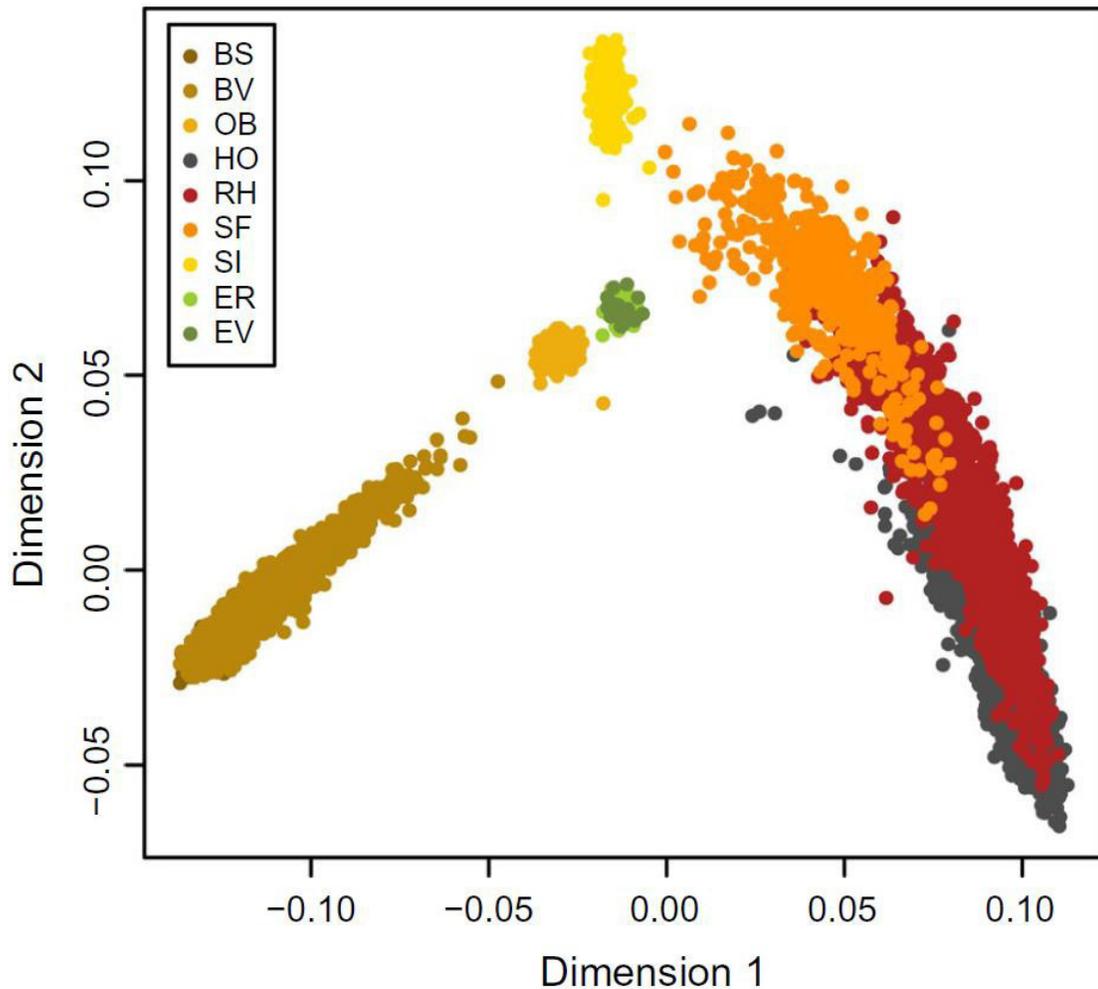


Abbildung 1: Darstellung der genetischen Distanzen zwischen unterschiedlichen Schweizer Rinderpopulationen durch Multidimensionale Skalierung zur Demonstration bestehender verwandtschaftlicher Beziehungen zwischen Brown Swiss (BS), Schweizer Braunvieh (BV), Original Braunvieh (OB), Holstein (HO), Red Holstein (RH), Schweizer Fleckvieh (SF), Simmental (SI), Eringer (ER) und Evolèner (EV) (aus Signer-Hasler et al., 2017).

Seit dem Ende der neunziger Jahre ist die Entwicklung der Braunvieh-Herdbuchbetriebe und die Anzahl an eingetragenen Herdbuchtieren im süddeutschen Raum rückläufig (Abbildung 2). Auffällig ist zudem das vermehrte Auftreten verschiedener Erbkrankheiten, welche hauptsächlich aus Kreuzungen mit amerikanischen Brown Swiss Tieren hervorgingen (Troyer et al., 1993; Stocker et al., 1996; Hafner et al., 1993; Braun et al., 1987; Leipold et al., 1973). Auch die Problematik eines fehlenden Saugreflexes bei neugeborenen Braunviehkälbern scheint erst Anfang bis Mitte der Siebziger Jahre in der Braunviehpopulation zu bestehen (persönliches Gespräch mit Dr. A. Weidele, Geschäftsführer der RBW am 17.01.19).

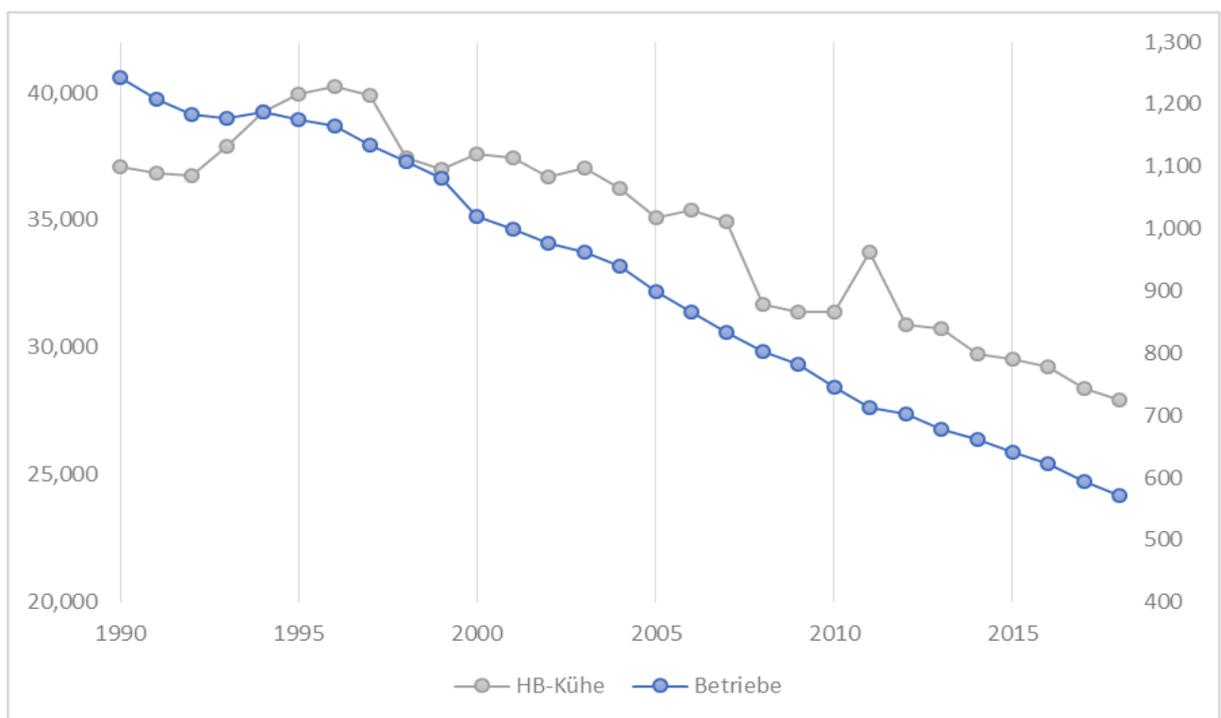


Abbildung 2: Entwicklung der Herdbuch-Braunvieh-Population und der Anzahl der Braunviehhaltenden Betriebe in Baden-Württemberg von 1990-2018 (Quelle: Rinderunion Baden-Württemberg)

2.2 Bedeutung der Kolostrumaufnahme

Wiederkäuer besitzen eine syndesmochoriale Plazenta, die durch voneinander getrennte Blutflüsse die Übertragung von Immunglobulinen und weiteren Makromolekülen im Uterus verhindert (Weaver, 2000). Aus diesem Grund ist die sofortige Aufnahme der Kolostralmilch für neugeborene Kälber nicht nur von Bedeutung für eine ausreichende Versorgung des Neugeborenen mit wichtigen Nährstoffen, sondern sie ist auch vor allem für die passive Immunisierung und die allgemeine Kälbergesundheit essentiell. Die im Kolostrum enthaltenen nicht-nährstoffreichen Substanzen, wie Immunglobuline und Laktoferrin, dienen nicht nur der passiven Immunisierung des Kalbes, sondern spielen auch eine große Rolle bei der Modulation des Gastrointestinaltraktes und der dort lebenden mikrobiellen Population (Blum, 2006). Die im Dickdarm der neugeborenen Kälber enthaltenen Enterozyten können Makromoleküle nur innerhalb der ersten 24 bis 36 Stunden über Pinozytose aufnehmen. Ein optimaler Immunglobulin-Transfer über das Darmepithel ist bis zu vier Stunden *postpartum* gewährleistet. Dieser Transfer nimmt jedoch 12 Stunden nach der Geburt schon rapide ab (Weaver, 2000; Homerosky et al., 2017). Aus diesen Gründen ist die frühzeitige Aufnahme einer ausreichenden Menge von Kolostrum von großer Bedeutung für die Gesundheit und weitere Entwicklung der Kälber. Eine unzureichende und verspätete Kolostrumaufnahme führt nicht nur zu einer fehlerhaften passiven Immunisierung, verringertem Wachstum und einer fehlerhaften Entwicklung, sondern gilt auch als einer der Hauptgründe für postnatale Sterblichkeit (Hadorn et al., 1997; Weaver et al., 2000; Windeyer et al., 2014; Gomez und Chamorro, 2017). Daher ist die unzureichende Kolostrumzufuhr nicht nur aus tierschutzrechtlichen Gründen ein Problem, sondern auch von hohem wirtschaftlichen Interesse für betroffene Betriebe.

2.3 Einflussfaktoren auf das Trinkverhalten und den Saugreflex

Umwelteffekte

Mehrere Studien haben sich bereits mit dem Einfluss von verschiedenen Umweltfaktoren auf das Trinkverhalten der Kälber befasst. Laut Rademacher (2013) wird Trinkschwäche bei Kälbern im Allgemeinen in eine primäre und eine sekundäre Form untergliedert werden und kann durch viele unterschiedliche Faktoren verursacht werden. Unter der primären Trinkschwäche wird das fehlerhafte oder gänzlich fehlende Aufnehmen der Kolostralmilch verstanden. Hierfür kann es bei vereinzelt oder bei bestandsweise gehäuftem Auftreten unterschiedliche Ursachen geben. So können beispielsweise Erkrankungen oder pränatale Infektionen eine postnatale Trinkschwäche verursachen. Auch eine schwere Geburt wird häufig dafür verantwortlich gemacht, dass die Kälber eine geringe Motivation der Kolostrumaufnahme zeigen (Murray und Leslie, 2013). Schweregeburten stehen oft auch in engem Zusammenhang mit einer eingeschränkten Vitalität der Kälber nach der Geburt, welche nach Vasseur et al. (2009) als einer der Haupteinflussfaktoren auf eine mangelhafte Kolostrumaufnahme angesehen werden kann. Rademacher (2013) macht weiterhin Geburtsverletzungen oder die Schädigung des Gehirns durch Sauerstoffmangel bei Schweregeburten für eine Saug- oder Schluckstörung in den ersten Stunden nach der Geburt verantwortlich. Bei einem bestandsweise gehäuftem Auftreten trinkschwacher Kälber könnten weitere Ursachen jedoch auch eine in der Trächtigkeit erfolgte BVD-Virusinfektion sein oder ein gebietsweise auftretender Mangel in der Vitamin-E- oder der Selenversorgung. Die Versorgung einer ausreichenden Menge an Mineral- und Spurennährstoffen schon während der Fetalzeit ist für das Kalb essentiell. Die Notwendigkeit der Vitamin-E und Selenversorgung für Kälber in Bezug auf die Ausprägung eines gesunden Saugreflexes wurde bereits in mehreren Studien beschrieben (Bostedt and Schramel, 1990; Goldhofer, 2016; Hefnawy and Tórtora-Pérez, 2010; Konvičná and Kováč, 2015; Reed et al., 2007). Eine sekundäre Trinkschwäche lässt sich laut Rademacher (2013) auch als „krankheitsbedingte Appetitlosigkeit“ beschreiben. Diese steht allerdings nicht im Fokus der hier vorliegenden Arbeit.

Vor allem ein gut entwickelter Saugreflex ist die Grundvoraussetzung für eine freiwillige, ausreichende und rechtzeitige Aufnahme von Kolostrum (Homerovsky et al., 2017). Die vollständigen physiologischen Hintergründe eines funktionierenden Saugreflexes bei Rindern sind bisher kaum beschrieben. Es ist jedoch festzuhalten, dass sich der Saugreflex aus einem vielfältigen Zusammenspiel von Muskelkontraktionen aus Zungen-, Kiefer- und Gaumenmuskulatur zusammensetzt und eine vollständige Innervierung und Funktionsfähigkeit dieser Bereiche gegeben sein muss. In einigen Studien konnte zudem ein Einfluss der Jahreszeit

der Geburt der Kälber nachgewiesen werden, wobei in den Wintermonaten geborene Kälber häufiger eine Problematik im Trinkverhalten zeigen (Rossoni et al., 2005; Maltecca et al., 2007). Ein schwerer Geburtsverlauf, sowie die Vitalität des Kalbes nach der Geburt zeigten in einigen Studien ebenfalls einen Einfluss auf die aufgenommene Menge an Kolostrum (Homerovsky et al., 2017; Vasseur et al., 2009; Maltecca et al., 2007). Maltecca et al. (2007) konnten zudem hochsignifikante Herdeneffekte zum Trinkverhalten bei Braunviehkälbern feststellen. Auch maternale Effekte scheinen einen großen Anteil an der Ausprägung des Trinkverhaltens der Kälber zu haben. Diese sind im folgenden Unterkapitel näher erläutert.

Maternale Effekte

Unter maternalen Effekten wird in der Tierzucht ganz allgemein der Einfluss verstanden, welchen sowohl der Genotyp, als auch der Phänotyp der Mutter, auf den Phänotyp ihrer Nachkommen nimmt. Maternale Effekte beeinflussen hauptsächlich Merkmale, die im Zusammenhang mit der Jugendentwicklung ihrer Nachkommen stehen, sodass ihr Einfluss daher meist mit zunehmendem Alter der Nachkommen nachlässt (Schüler et al., 2001). Die Komponenten der maternalen Effekte lassen sich in eine genetische und eine Umweltkomponente untergliedern, allerdings stellen sie aus Sicht der Nachkommen immer einen Umwelteffekt dar (Lynch und Walsh, 1998). Schüler et al. (2001) machen ebenfalls deutlich, dass sich maternale Effekte sowohl in pränatalen, als auch postnatalen Effekten unterscheiden. Die Hauptkomponenten der pränatalen Umwelt sind hierbei sowohl in der uterinen Umwelt, als auch in der zytoplasmatischen Umwelt der Eizelle zu sehen. Postnatale Maternaleffekte sind hauptsächlich das Säugeverhalten und die Milchleistung. Als wichtigen Einflussfaktor pränataler maternaler Effekte auf das Saugverhalten der Kälber zeigen Konvičná und Kováč (2015) z.B. die plazentäre Versorgung des Fötus mit einer ausreichenden Menge an Selen auf. Diese ist essentiell um oxidativem Stress vorzubeugen und einem fehlerhaften Saugreflex nach der Geburt entgegen zu wirken. Souza-Conde AL et al. (2015) und Keyserlingk und Weary (2007) machen deutlich, dass auch das Verhalten der Kuh gegenüber ihrem Kalb direkt nach der Geburt einen Einfluss auf das Saugverhalten nimmt. So stellen die Autoren fest, dass Kälber schneller aufstehen und Kolostrum aufnehmen, wenn deren Mütter durch Trockenlecken und Aufschieben einen Kontakt herstellen. Aber auch die Konformation des mütterlichen Euters und die Form der Zitzen haben einen erheblichen Einfluss auf das postpartale Saugverhalten der Kälber (Ventorp and Michanek, 1992; Wesselink et al., 1999). In modernen Milchviehhaltungssystemen ist dieser Kontakt zwischen Kuh und Kalb jedoch durch die zumeist sehr frühe Trennung nur selten gegeben (Johnsen et al., 2016), und der Einfluss postnataler maternaler Effekte somit begrenzt.

Genetische Einflussfaktoren

Über einen genetischen Hintergrund von fehlerhaftem Trinkverhalten ist bisher wenig bekannt, jedoch scheint es rassebedingte Unterschiede zu geben. So konnten Selman et al. (1970) feststellen, dass Kälber im Fleischrinderbereich einen deutlich schnelleren und besser entwickelten postnatalen Saugreflex zeigten, als Kälber von Milchkuhrassen. Auch innerhalb der Milchkuhrassen werden immer wieder rassebedingte Unterschiede im Saugverhalten der neugeborenen Kälber festgestellt. Maltecca et al. (2007) schätzten genetische Parameter für das perinatale Saugverhalten in der italienischen Braunviehpopulation und berichteten von niedrigen bis mittleren Heritabilitäten (0,08 - 0,26) in Abhängigkeit des verwendeten Modells und der Definition des Merkmals. Auch Rossoni et al. (2005) konnten für die Saugfähigkeit bei italienischen Braunviehkälbern eine Heritabilität von 0,13 schätzen. Diese Befunde deuten darauf hin, dass auch die Genetik Auswirkungen auf die Ausprägung des Saugverhaltens hat. Aus diesem Grund könnte auch die Umsetzung einer Zuchtstrategie zur Verbesserung des Saugreflexes bei neugeborenen Braunviehkälbern möglich sein.

2.4 Quantitativ-genetische und genomische Analysen

Quantitativ-genetische und genomische Analysen sind in der modernen Tierzucht unabdingbar. Sie spielen nicht nur eine wichtige Rolle für Selektionsprozesse, sondern sind auch allgemein zur Charakterisierung der genetischen Architektur von Merkmalen von großer Bedeutung. Unter genetischer Analyse wird ganz allgemein die Betrachtung des genetischen Hintergrundes eines spezifischen Merkmales innerhalb einer Population verstanden. Die phänotypische Ausprägung eines quantitativen Merkmales setzt sich dabei aus einer genetischen und einer umweltbedingten Komponente zusammen. Die genetische Komponente lässt sich wiederum in die drei Einzelkomponenten der additiven, dominanten und epistatischen Geneffekte untergliedern. Für die praktische Tierzucht ist vor allem die Betrachtung der additiv-genetischen Effekte von Bedeutung, da diese den Großteil der gesamt-genetischen Variation bedingen. Dominante und epistatische Genwirkungen zerfallen bei der Vererbung und sind daher nur schwer und aufwendig zu erfassen (Falconer and Mackay, 2009). Schüler et al. (2001) erläutern die Bedeutung und Funktionen der Varianzkomponentenanalyse für die praktische Tierzucht in drei Punkten: So ist die Varianzkomponentenschätzung zum einen wichtig für das Verständnis der Funktion genetischer Mechanismen und für jede Form der Zuchtwertschätzung. Zum anderen benötigt man Kenntnis über die Varianzkomponenten eines Merkmals zur Berechnung des Zuchtfortschritts. Für die Genauigkeit der Schätzung von Varianzkomponenten ist die Einbeziehung von Pedigree-Informationen unerlässlich. Die Entdeckung von Einzelnukleotidpolymorphismen (*single nucleotide polymorphism*, SNP), die sich aufgrund ihrer gleichmäßigen Verteilung über das gesamte Genom hervorragend als genomische Marker eignen (Meuwissen et al., 2001), führte zur Entwicklung von unterschiedlich dichten SNP-Chips. Durch die Verwendung dieser SNP-Chips zur Genotypisierung landwirtschaftlicher Nutztiere ist es im Zuge der genomischen Selektion möglich, durch Kenntnis über die Markergenotypen auch genomische Verwandtschaftsmatrizen mit in die Schätzung zu integrieren (Meuwissen et al., 2001). Genomweite Assoziationsanalysen zur Identifizierung quantitativer Merkmalsgenorte (*quantitative trait loci*, QTL) im Genom befassen sich sowohl mit der Schätzung der QTL-Position im Genom als auch mit der Schätzung der QTL-Effekte auf ein oder mehrere Merkmale (Goddard und Hayes, 2009; Meuwissen und Goddard, 2010). Es existieren hierbei verschiedene Ansätze, die in den folgenden Unterkapiteln näher erläutert werden.

LD-Struktur im Rindergenom

Kenntnis über die Struktur der Kopplungsungleichgewichte (*linkage disequilibrium*, LD) innerhalb einer Population sind von großer Bedeutung für die Durchführung von genomweiten Assoziationskartierung und spielen eine entscheidende Rolle für die Genauigkeit, mit der sich QTL-Effekte durch die Marker erklären lassen. LD-Strukturen ergeben sich aus einer Kopplung von Allelen oder Haplotypen, die aufgrund der Vererbung von identischen Chromosomensegmenten durch einen gemeinsamen Vorfahren bei dessen Nachkommen auftritt (Goddard und Hayes, 2009). In einer Population mit geringer effektiver Populationsgröße N_e haben nur innerhalb weniger Generationen Rekombinationsereignisse stattgefunden, daher sind in solchen Populationen die gemeinsamen Chromosomensegmente oft sehr groß. Das LD breitet sich hier über lange Distanzen über das Genom aus. Das erwartete LD lässt sich als eine Funktion aus N_e und der Distanz zwischen den Markern (Sved, 1971) beschreiben. Mit steigender Distanz zwischen den Markern und mit steigender N_e nimmt das LD schnell ab. Zur Berechnung der LD-Struktur innerhalb einer Population wird häufig das r^2 -Maß verwendet. Dieses ist abhängig von den Allel- und Haplotypfrequenzen innerhalb der untersuchten Population und bewegt sich zwischen 0 und 1, wobei 1 eine vollständige Kopplung beschreibt (Hill und Weir, 1994; Schmid und Bennewitz, 2017). In den meisten Rinderpopulationen sind hauptsächlich weitreichende LD-Blöcke zu beobachten. Dies lässt sich vor allem auf den intensiven Einsatz einer nur begrenzten Anzahl an Zuchtbullen zurückführen, was wiederum eine nur sehr geringe effektive Populationsgröße zur Folge hat (Schmid und Bennewitz, 2017).

Genomweite Assoziationsstudien- Single-Marker Analysen

Zur Identifizierung merkmalsgekoppelter Marker im Genom werden in der Praxis häufig gemischt-lineare Modelle verwendet, bei denen ein SNP nach dem anderen auf Assoziation mit dem Phänotyp getestet wird (Goddard und Hayes, 2009; Yang et al., 2014; Schmid und Bennewitz, 2017). Hierbei wird jeder SNP als fixer Regressionseffekt im Modell betrachtet und seine Abweichung von 0 getestet. Dies ergibt dann für jeden Marker einen P -Wert (Schmid und Bennewitz, 2017). Liegt der errechnete P -Wert unterhalb eines zuvor festgelegten Signifikanzniveaus, so ist von einer Assoziation zwischen Marker und Merkmal auszugehen, wobei der Marker hierbei entweder selbst die kausale Mutation darstellt, oder mit dieser in einem LD steht. Das separate Testen jedes Markers führt jedoch vor allem bei Datensätzen mit hoher Markerdichte zu dem Problem des multiplen Testens. Wird in der Folge keine Korrektur vorgenommen, so häufen sich hierdurch falsch-positive Ergebnisse. Eine bewährte Korrektur neben der Bonferroni-Methode ist ebenfalls die Kontrolle falsch-positiver Ergebnisse über die

Berechnung der FDR (*false discovery rate*). Die Bonferroni-Korrektur wird häufig zur Festlegung eines genomweiten Signifikanzniveaus genutzt, gilt aber vor allem zumeist bei hoher Markerdichte als sehr stringente Methode (Schmid und Bennewitz, 2017). Ein in der Nutztiergenetik gängiges Signifikanzniveau für Single-Marker-GWAS liegt bei einem nominalen P -Wert von $P < 5E-05$. Zusätzlich zu den fixen Markereffekten wird ein zufälliger polygener Effekt in die Modelle integriert, der über die Einbeziehung der Verwandtschaftsmatrix die Populationsstruktur abbildet und so die Akkumulierung von Fehlern-I-Art (α -Fehler) verhindert (Schmid und Bennewitz, 2017). Die Abbildung der Verwandtschaftsstrukturen kann sowohl durch die Herkunftsgleichheit von Allelen über ein vollständiges Pedigree der Tiere erfolgen (IBD, *identical by descend*), als auch über die Ähnlichkeit der Marker (IBS, *identical by state*) modelliert werden. Letzteres wird dann als die genomische Verwandtschaftsmatrix bezeichnet (VanRaden, 2008). Die Verwendung der genomischen Verwandtschaft ist laut Hayes (2013) vor allem dann zu bevorzugen, wenn das Pedigree der Tiere im Datensatz nicht vollständig ist. Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass die Einbeziehung des zu testenden SNPs bei der Modellierung der genomischen Verwandtschaftsmatrix in einer reduzierten Kartierungspower resultiert (Yang et al., 2014; Schmid et al., 2017). Dies ist zurückzuführen auf die doppelte Modellierung des zu testenden SNPs, zum einen als fixer Effekt und zusätzlich als zufälliger Effekt über die Integration in die Modellierung der Verwandtschaftsstrukturen. Aus diesem Grund propagieren Yang et al. (2014) bei der Modellierung der genomischen Verwandtschaftsmatrix den Ausschluss des Chromosoms, auf welchem der auf Assoziation zu testende Marker lokalisiert ist. Durch das Entfernen des gesamten Chromosoms wird sichergestellt, dass auch mit dem zu testenden Marker gekoppelte SNPs nicht modelliert werden.

Genomweite Assoziationsstudien- Multi-Marker Analysen

Multi-Marker-Modelle wurden ursprünglich zur Nutzung in der genomischen Selektion entwickelt (Meuwissen et al., 2001). Bei der Verwendung von Multi-Marker-Modellen findet eine simultane Schätzung aller im Datensatz vorhandenen SNPs statt. Durch die Betrachtung der Marker als zufällige Effekte und deren simultane Schätzung wird nicht nur die LD-Struktur zwischen Marker und kausaler Mutation erfasst, sondern auch die LD-Struktur zwischen den Markern berücksichtigt (Dekkers, 2012; Schmid und Bennewitz, 2017). Dies ist sinnvoll, da sich eine QTL-Region über mehrere Marker erstrecken kann und die Region der kausalen Mutation kaum noch zu definieren ist, wenn nicht auch die Kopplungsstrukturen zwischen Markern berücksichtigt werden (Hayes, 2013). Hayes (2013) stellt diese Problematik vor allem noch einmal für die Nutztierzüchtung heraus, da sich ein niedriges LD hierbei durchaus über mehrere Mb erstrecken kann. Guo et al. (2012) geben hierbei zu bedenken, dass die engen Verwandtschaftsverhältnisse durch den

weltweiten Einsatz künstlicher Besamung mitunter zu der größten Störgröße („*chief confounding factor*“) in Assoziationsstudien gehören. Eine Problematik durch das simultane Schätzen der Markereffekte ergibt sich dadurch, dass die Anzahl der Marker und mit ihr die Anzahl der zu schätzenden Parameter zumeist bei weitem die Menge der Daten übersteigt („*large-p-with-small-n-problem*“, De Los Campos et al., 2013). Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit der Verwendung von Methoden zur Variablenselektion (*variable selection*) oder Parameterschrumpfung (*shrinkage procedures*). Innerhalb der Methoden der Parameterschrumpfung geht es darum, dass die mittlere quadratische Abweichung (*mean-squared error*, MSE) durch das Schrumpfen der Schätzwerte verringert werden soll. Dies geschieht entweder mit sogenannten *penalized estimation procedures*, zu denen die Verwendung von Ridge Regression oder LASSO gehören (De Los Campos et al., 2013). Auch Bayes'sche Methoden können über die Wahl unterschiedlicher Vorannahmen (*prior*) zur Verteilung der SNP-Effekte sowohl Variablenselektion, Parameterschrumpfung, oder auch Beides nutzen. Eine detaillierte Beschreibung möglicher Methoden ist De Los Campos et al. (2013) zu entnehmen. Bayes'sche Modelle funktionieren im Allgemeinen, indem aus einer Prior-Annahme in Verbindung mit der Likelihoodfunktion der Daten, eine Posterior-Verteilung der zu schätzenden Parameter ermittelt wird. Dies geschieht häufig über sogenannte Markov Chain Monte Carlo (MCMC) Verfahren, wobei hauptsächlich der Gibbs-Sampling-Algorithmus genutzt wird. Die unterschiedlichen Modelle aus der Bayes'schen Statistik in Bezug auf genomweite Assoziationskartierungen unterscheiden sich lediglich in ihren Prior-Annahmen zur Verteilung der SNP-Effekte. Schmid und Bennewitz (2017) fassen hierbei die wichtigsten Bayes'schen Modelle für GWAS zusammen. So gehen die von Meuwissen et al. (2001) vorgestellten Methoden BayesA und BayesB in ihren Priorannahmen davon aus, dass die SNP-Effekte nur aus einer Verteilung gezogen werden. Im Fall von BayesA sind alle Markereffekte einer *t*-Verteilung zu entnehmen, während BayesB nur einem Teil der Marker einen Effekt zuschreibt und diese ebenfalls einer *t*-Verteilung entnimmt. Eine genauere Anpassung an die Realität der Verteilung quantitativer Merkmale wird durch Annahmen gemacht, welche die Markereffekte aus mehreren Verteilungen ziehen. So entstammen im Modell BayesC (BayesSSVS, Verbyla et al., 2009) die zu schätzenden Effekte aus zwei unterschiedlich skalierten *t*-Verteilungen. Einige wenige Markereffekte entstammen hierbei einer *t*-Verteilung mit großer Varianz, während der Großteil der Markereffekte einer *t*-Verteilung mit sehr kleiner Varianz zu Grunde gelegt werden kann. Marker, die der kleiner skalierten Verteilung entstammen, tragen kaum einen Effekt zur genetischen Varianz eines quantitativen Merkmales bei (Schmid und Bennewitz, 2017), allerdings wird anhand dieser Markerfraktion die Populationsstruktur abgebildet. Das Modell BayesC π (Habier et al., 2011) nimmt ebenfalls zwei Verteilungen für die Größe der Markereffekte an, jedoch stammen die Effekte hierbei aus zwei Normalverteilungen.

Weitere Bayes'sche Modelle sind BayesD (Bennewitz et al., 2017), welches auch Dominanzeffekte berücksichtigen kann, und BayesR (Erbe et al., 2012), welches auf einer Mischung mehrere Normalverteilungen für die Schätzung der SNP-Effekte basiert. Bei der Auswahl von Bayes'schen Modellen zur Durchführung einer Assoziationsanalyse mit genomischen Daten sind vor allem die Markerdichte und die genetische Architektur des betrachteten Merkmals zu beachten (Habier et al., 2011). Um schlussendlich bestimmen zu können, ob ein getesteter Marker tatsächlich eine Assoziation zu dem untersuchten Merkmal aufweist, werden die aus der Posteriorverteilung gezogenen SNP-Effekte häufig in Fenstern (*window-approach*) zusammengefasst. Durch das simultane Testen aller Marker wird angenommen, dass benachbarte SNPs miteinander hochkorreliert sind und Effekte einzelner Marker zu gering sind, um eine Assoziation mit dem Merkmal zeigen zu können (Fernando und Garrick, 2013; Schmid und Bennewitz, 2017). Durch das Zusammenfassen mehrerer SNP-Effekte in Fenstern wird die genetische Varianz jedoch gebündelt und die Assoziation zu einer QTL-Region kann dargestellt werden.

3 Material und Methoden

3.1 Datenerhebung

Im Rahmen des Trinkschwächeprojektes wurden zwischen Juni 2015 und Juli 2016 in Baden-Württemberg auf insgesamt 254 braunviehhaltenden Milchviehbetrieben Daten erhoben. Die Teilnahme der landwirtschaftlichen Betriebe am Projekt erfolgte auf freiwilliger Basis und die für die Erfassung der Kälberdaten zuständigen Personen wurden von Mitarbeitern der RBW geschult, um eine standardisierte Datensammlung zu gewährleisten. Es wurden insgesamt Daten von 10.545 Braunviehkälbern erfasst. Dazu zählten neben Ohrmarkennummern, Geschlechtern und Geburtsdaten der Kälber auch der Zwillingsstatus, der Kalbeverlauf, sowie der Zustand und die Qualität des Kalbes nach der Geburt (ZQ). Der Zustand des Kalbes beschrieb hierbei, ob das Kalb nach der Geburt vital oder lebensschwach erschien, während die Qualität des Kalbes in dreistufiger Skala die Kälber hinsichtlich ihrer Größe einteilte. Die Trächtigkeitsdauern der Mütter wurden vom Landesamt für Geoinformation und Landentwicklung (LGL, Kornwestheim) übermittelt. Diese wurden über das Jahr verrechnet und lagen als Trächtigkeitsdauer linear (TD_l) und Trächtigkeitsdauer quadratisch (TD_q) vor. Weiterhin wurden in Bezug auf das Trinkverhalten der Kälber der Zeitpunkt des ersten Tränkeversuchs, sowie der Zeitpunkt des ersten erfolgreichen Tränkeversuchs festgehalten, ebenso das Trinkverhalten des Kalbes im Allgemeinen und der Saugreflex im Speziellen. Um die Ausprägung des Saugreflexes der Kälber dokumentieren zu können, wurde ihnen vor dem ersten Tränkeversuch ein Finger in das Maul eingeführt und anhand der Kontraktion der Zungenmuskulatur die Stärke des Reflexes bestimmt.

Die Skalierung und genaue Beschreibung der erfassten Merkmale ist Tabelle 2 zu entnehmen. Zusätzlich wurden Krankheiten, Missbildungen oder Abnormitäten der Kälber (Sehnenstelzfuß, Fruchtwasser in der Lunge, Nabelbruch, verkürzter Unterkiefer) erfasst. Es wurden für nachfolgende Analysen drei unterschiedliche Kodierungen (TC, *trait coding*) für den Saugreflex der Kälber angenommen (Tabelle 1). Dies erfolgte unter anderem, um die sinnvollste Kodierung für eine mögliche zukünftige Erfassung und Beurteilung des Merkmals in der Praxis zu ermitteln. Die erste Kodierung (TC1) erfolgte nach der auf den Betrieben erfassten ordinalen vierstufigen Skalierung. Für die zweite (TC2) und dritte (TC3) Variante wurden binäre (0/1) Kodierungen gewählt, wobei jeweils ein *Case-Control*-Design angenommen wurde. Dies bedeutet, dass Kälber die keinen, bzw. einen lediglich schwachen Saugreflex zeigen, als befallen (*Case*) galten und mit einer 1 erfasst wurden, während Kälber, die einen Reflex ausprägten, als Kontrollen (*Control*) galten und ein 0 erhielten.

Für die genomischen Analysen wurden Ohrstanzproben am Projekt beteiligter Kälber durch Mitarbeiter der RBW gezogen. Diese wurden in regelmäßigen Abständen an das Labor des Fachgebietes Tiergenetik und Züchtung der Universität Hohenheim entsendet. Insgesamt lagen Gewebeproben von 5.054 Kälbern vor.

Zur Analyse individueller Betriebsfaktoren, die einen möglichen Einfluss auf die Ausprägung des Trinkverhaltens der Kälber haben könnten, wurden an alle teilnehmenden Betriebe Evaluierungsbögen entsendet. Die Betriebsleiter waren angehalten, betriebsspezifische Fragen in Bezug auf Haltungs- und Fütterungsmanagement auf ihren Betrieben zu beantworten. Hierbei waren vor allem Haltung und Fütterung der trockenstehenden Kühe von Interesse, aber auch das betriebsindividuelle Management der Kälberaufzucht. Von 224 Betrieben wurden die Fragebögen zur Fütterungs- und Haltungsumwelt der Kühe und Kälber ausgefüllt und zur Auswertung von betriebsindividuellen Einflussfaktoren weiterverarbeitet.

Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Kodierungsvarianten für den Saugreflex der Kälber.

Kodierung Saugreflex	Kein	Schwach	Normal	Stark
TC 1	1	2	3	4
TC 2	1	0	0	0
TC 3	1	1	0	0

Tabelle 2: Skalierung und Beschreibung der Kälberphänotypen.

Phänotyp	Skalierung	Legende
Größe und Qualität (GQ)	1-3	1: klein und leicht 2: medium 3: groß und schwer
Zustand und Vitalität (VIT)	1-2	1: lebensschwach 2: vital
Kalbeverlauf maternal (KVL)	1-4	1: leicht (ohne Hilfe) 2: mittel (leichte Hilfe/ ein Helfer) 3: schwer (mehrere Helfer oder mechanische Hilfe) 4: Operation (Kaiserschnitt)
erster Tränkeversuch	1-3	1: < 2 Stunden 2: zwischen 2 bis 6 Stunden 3: > 6 Stunden
erster erfolgreicher Tränkeversuch	1-3	1: < 2 Stunden 2: zwischen 2 bis 6 Stunden 3: > 6 Stunden
Trinkverhalten (TV)	1-4	1: saugt ohne Hilfe 2: saugt nach Anlernen 3: einmaliges Drenchen 4: mehrmaliges Drenchen
Saugreflex (SR)	1-4	1: kein Reflex 2: schwacher Reflex 3: normaler Reflex 4: starker Reflex

3.2 Pedigree-basierte genetische Analysen

3.2.1 Datenaufbereitung

Im Rahmen der Datenaufbereitung wurden von den weiteren Analysen Kälber ausgeschlossen, welche Krankheiten, Missbildungen oder Abnormitäten aufwiesen sowie Kälber, die innerhalb der ersten 48 Stunden *post-partum* verendeten. Dies erfolgte, da beispielsweise für Auswertungen eines Einflusses der genannten Krankheiten die Datenmenge zu gering war und ein möglicher Einfluss auf den Saugreflex der Kälber nicht im Detail erfasst werden konnte. Weiterhin wurden Tiere mit duplizierten oder gänzlich fehlenden Eintragungen aus dem Datensatz entfernt. Kälber, die im Datensatz verblieben, mussten von Vätern stammen, welche pro erfasstem Betrieb mindestens zwei Kälber aufwiesen. Dies war wichtig, um den Vätereffekt vom Tiereffekt trennen zu können. Ebenso verblieben nur Kälber im Datensatz, die von Betrieben mit mindestens 14 Tieren stammten und die alle vier Saugreflexausprägungen im Betrieb dokumentieren konnten. Es wurden in den folgenden Analysen zwei unterschiedliche Datensätze berücksichtigt wobei es sich bei Ersterem um einen Testdatensatz handelt. Dieser umfasste 5.783 Kälber auf 120 Betrieben die von 171 Vätern abstammten. Da dieser Datensatz anhand der fixen Effekte des Betriebes, des Halbjahres der Geburt und der Trächtigkeitsdauern linear (TD_l) und quadratisch (TD_q) untersucht wurde, wird dieser Datensatz im Folgenden mit „TD“ gekennzeichnet. Der finale Datensatz für pedigree-basierte genetische Analysen bestand aus 5.541 Kälber auf 108 unterschiedlichen Betrieben die von 178 Vätern abstammten. Dieser finale Datensatz wird im Folgenden mit „ZQ“ abgekürzt werden, da hierbei als fixe Effekte zusätzlich zu Betrieb und Halbjahr der Geburt des Kalbes der Zustand und die Qualität als Faktoren mit eingeflossen sind. Diese Differenzierung fand statt, weil die Trächtigkeitsdauern der Mütter einen signifikanten Einfluss auf das Merkmal Saugreflex zeigten, wenn Zustand und Qualität des Kalbes nicht mit in das Modell eingeflossen waren. Da die Trächtigkeitsdauern der Mütter im Routineverfahren jedoch bereits dokumentiert werden, im Gegensatz zu der Größe oder dem Zustand des Kalbes, erschien es sinnvoll, die unterschiedlichen Schätzer der angewandten Modelle genauer zu betrachten.

Das Pedigree der im finalen Datensatz verbliebenen Kälber umfasste insgesamt 49.759 Tiere. Der Abbildung 3 ist die Vollständigkeit des Pedigrees zu entnehmen. Die Bearbeitung und Darstellung des Pedigrees erfolgte unter Verwendung des R-Paketes *optiSel* (Wellmann, 2019).

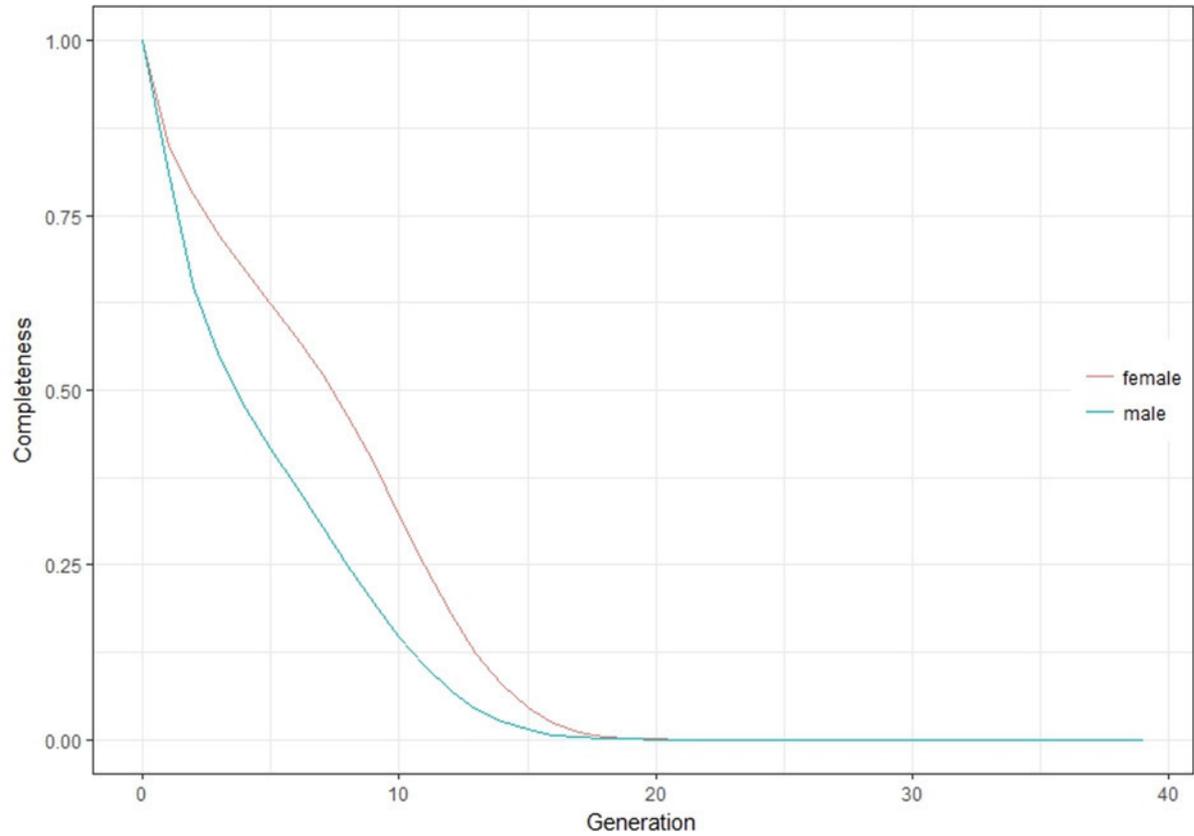


Abbildung 3: Pedigreevollständigkeit. Darstellung getrennt nach Geschlechtern. Auf der X-Achse ist die Zahl an Generationen abgebildet, auf der Y-Achse die Vollständigkeit (completeness) des Pedigrees.

3.2.2 Statistische Auswertung

Die Schätzung der Varianzkomponenten erfolgte unter Verwendung generalisierter gemischt-lineare Modelle (glmm, *generalized linear mixed models*) mit dem R-Paket *MCMCglmm* (Hadfield, 2010). Dieses R-Paket bedient sich eines iterativen Schätzverfahrens, welches Markov-Chain-Monte-Carlo-Algorithmen verwendet. Zur Feststellung signifikant einflussgebender Variablen auf den Saugreflex wurde zu Beginn der Varianzkomponentenschätzungen ein Wald-Test mit dem R-Paket *ASReml-R* (Butler et al., 2009) durchgeführt. Die getesteten Variablen, sowie die Ergebnisse des Signifikanztests sind Tabelle 7 zu entnehmen. Es wurden nur Variablen als fixe Effekte in die Modelle zur Schätzung der Varianzkomponenten integriert, die einen P -Wert $\leq 5E-02$ aufwiesen.

Die Schätzung der Varianzkomponenten für die Merkmale Saugreflex und Trinkverhalten erfolgte getrennt anhand eines univariaten Vater-Schwellenwertmodells. Das Pedigree der Väter bestand aus insgesamt 8.644 Tieren. Folgendes gemischt-lineares Modell fand hierbei Anwendung:

$$\lambda = Xb + Zs + e, \quad (1)$$

wobei der Vektor λ die Anfälligkeit der Kälber für einen fehlenden, bzw. schlecht ausgeprägten Saugreflex in den jeweiligen Kodierungen TC1, TC2 oder TC3 sowie das Trinkverhalten für Kalb i enthält, im Vektor b sind das Populationsmittel, sowie die fixen Effekte des Halbjahres und des Betriebseffektes für Kalb i enthalten und je nach Modell entweder die Trächtigkeitsdauern als lineare und quadratische Variablen (TD) oder der Zustand und die Qualität des Kalbes nach der Geburt (ZQ). Dabei dient X als Zuordnungsmatrix. Die zufälligen Effekte der Väter finden sich im Vektor s_i mit einer Kovarianz-Struktur von $s_i | \sigma_s^2 \sim N(0, A\sigma_s^2)$, wobei A die pedigree-basierte Verwandtschaftsmatrix darstellt. Die Prior-Annahme der zufälligen Vätereffekte beruhte auf einem nicht informativen Prior mit Inverser-Gamma-Verteilung $\sigma_s^2 \sim inv-gamma(0.01, 0.01)$. Die Annahme eines flachen, nicht informativen Priors wurde gewählt, da die Informationen zur Verteilung der Effekte aus dem Datensatz selbst generiert werden sollten, um eine möglichst realistische Effektschätzung zu gewährleisten. Es wurden 250.000 Iterationen angenommen, wobei die ersten 100.000 Samples als Burn-In verworfen wurden. Zur Vermeidung einer Autokorrelation der Schätzer wurde außerdem nur jedes hundertste Iterationssample gezogen. Dies ergab 1.500 Einzelwerte. Die Heritabilitäten für den Saugreflex in den unterschiedlichen Kodierungen wurden über folgende Formel berechnet:

$$h^2 = 4 \sigma_s^2 / (\sigma_s^2 + \sigma_e^2), \quad (2)$$

wobei σ_s^2 den Vektor mit den Varianzen der ermittelten Vätereffekte darstellt und σ_e^2 den Vektor der fixierten Residualvarianzen angibt, mit $\sigma_e^2 = 1$. Im Folgenden wurde dann aus dem

errechneten Vektor h^2 mit 1.500 Einzelwerten das arithmetische Mittel gebildet, um die mittlere Heritabilität des Saugreflexes zu erhalten. Die *highest posterior density*- (HPD-) Intervalle wurden ebenfalls ermittelt. Durch die Spanne des HPD-Intervalls wird in der bayes'schen Statistik angegeben, dass die ermittelten Schätzwerte mit einer Wahrscheinlichkeit von $1 - \alpha$ (95 %) innerhalb der Posterior-Verteilung liegen (Sorensen und Gianola, 2008).

Zur Berechnung genetischer Korrelationen und der Heritabilitäten von allen untersuchten Merkmalen wurde ebenfalls mit dem R-Paket *MCMCglmm* ein multivariates Vatermodell angewandt. Es wurde erneut ein uninformativer Prior gewählt und Modell 1 wurde in der Form abgewandelt, dass dem Vektor λ_i neben dem Saugreflex (TC1) die Kälberphänotypen für das Trinkverhalten (TV), die Größe und Qualität der Kälber (GQ) sowie deren Zustandsausprägung (VIT) hinzugefügt wurde. Als fixe Effekte gingen in diesem Lauf lediglich der Betrieb und das Halbjahr der Geburt in den Vektor b_i ein. Die Anzahl der Iterationen sowie auch Burn-In und Ausdünnungsintervall wurden, wie im univariaten Modell beschrieben, gewählt.

Im Anschluss an die Varianzkomponentenschätzung mit Modell 1 erfolgte für die Merkmale Saugreflex im finalen Datensatz (ZQ) und Trinkverhalten eine Zuchtwertschätzung für Väter mit mindestens 10 Nachkommen im Datensatz. Hierfür standen 88 Väter zur Verfügung. Für die Zuchtwertschätzung fand Modell 1 erneut Verwendung, allerdings wurden in der Priorannahme die zuvor ermittelten Varianzkomponenten fixiert. Die Sicherheiten für die geschätzten Zuchtwerte wurden über folgende Formel ermittelt (Mrode und Thompson, 2005):

$$r^2 = 1 - PEV/\sigma_s^2(1 + F_i), \quad (3)$$

wobei r^2 ein Vektor mit den Sicherheiten (*reliability*) der Zuchtwerte ist, PEV beschreibt die Fehlervarianz der Vorhersage (*prediction error variance*) und berechnet sich aus der Varianz der zufälligen Vätereffekte, σ_s^2 ist ein Vektor mit den additiv genetischen Varianzen der Väter, die zuvor innerhalb der Varianzkomponentenschätzung ermittelt wurde. Die Inzuchtkoeffizienten der Väter werden durch F_i berücksichtigt. Väter mit einer Sicherheit der geschätzten Saugreflex- (Trinkverhalten-) Zuchtwerte $\geq 0,5$ ($\geq 0,3$) wurden im Anschluss rangiert. Für jede Kodierungsvariante im Saugreflex wurden der Mittelwert, sowie Minima und Maxima für die 10 besten und die 10 schlechtesten Väter, bezogen auf die Ausprägung des Saugreflexes (Trinkverhaltens) ihrer Nachkommen, ermittelt. Es wurden ebenfalls Relativzuchtwerte für den Saugreflex (RZSR) und das Trinkverhalten (RZTV) berechnet, wobei ein Mittelwert (μ) von 100 und eine Standardabweichung (sd) von 12 zugrunde gelegt wurden:

$$RZ_i = \mu + sd \frac{(\hat{s}_i - \bar{s})}{\sqrt{4\sigma_s^2}} \quad (4)$$

Wobei RZ_i die Relativzuchtwerte jedes Vaters i beschreibt. Im Vektor \hat{s}_i sind die geschätzten zufälligen Vätereffekte enthalten.

Für die beiden binären Kodierungsvarianten des Saugreflexes TC2 und TC3 sollten im Modell „ZQ“ die Wahrscheinlichkeiten ermittelt werden, mit der Kälber von Vätern mit mindestens 10 Nachkommen im Datensatz einen fehlerhaften Saugreflex ausprägen werden. Um diese auf einer Wahrscheinlichkeitsskala (*probability scale*) grafisch darstellen zu können, fand eine Transformation statt (Heringstad et al., 2003):

$$p_i = \Phi(\mu + \hat{s}_i). \quad (5)$$

Hierbei beschreibt p_i die Wahrscheinlichkeit, mit der Kälber von Vater i einen fehlerhaften Saugreflex zeigen, $\Phi(\cdot)$ beschreibt die Funktion der Standardnormalverteilung. Der Probit-Link μ verknüpft die ermittelten Zuchtwerte der Väter (\hat{s}_i) auf der Anfälligkeitsskala (*liability scale*) mit den Wahrscheinlichkeiten auf der phänotypischen Skala (*observed scale*) und sorgt so für eine Transformation der Daten.

3.3 Genomische Analysen

Die Genotypisierungen wurden von den Laborassistentinnen des Fachgebietes Genetik und Züchtung landwirtschaftlicher Nutztiere der Universität Hohenheim unter der Leitung von Dr. Siegfried Preuß durchgeführt. Die Analyse der LD-Struktur, sowie das Imputieren der Kälber 50K-Genotypen auf HD-Genotypen erfolgte durch Dr. Patrick Stratz (ehemaliger wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachgebiet).

3.3.1 Datenaufbereitung

50K Genotypisierung

Um die Braunviehkälber genotypisieren zu können, wurde zunächst DNA aus 3.072 Gewebeproben isoliert. Die Isolierung der DNA aus den Kälberohrstanzen erfolgte mit dem Promega Maxwell[®] 16 Tissue DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA), wobei die Vorbehandlung mit Hilfe des Promega Tissue and Hair Extraction Kit erfolgte. Hierfür wurden die Proben in 300 µl Lysis-Puffer. Dieser bestand aus einer Mischung von 1600 µl Incubation Buffer (Promega, 4 °C), 200 µl DTT und 200 µl Proteinase K 18 mg/ml und wurde für zwei Stunden bei 56 °C inkubiert. Die Genotypisierung erfolgte mit dem Illumina[®] BovineSNP50 v2 Genotyping BeadChip, der insgesamt 56.715 SNPs enthielt. Die Positionen der Marker wurden der Illumina[®] Manifest-Datei zu diesem Chip entnommen und basierten auf dem Genomassembly Bos_taurus_UMD_3.1.1 (Zimin et al., 2009). Individuen, bei denen mehr als 10 % der Genotypen nicht erkannt werden konnten, wurden aus dem Datensatz entfernt. Ebenfalls schieden Kälber aus, bei denen eine vorangegangene Abstammungsprüfung negativ ausgefallen war, sowie Tiere, die einen verkürzten Unterkiefer oder Fruchtwasser in der Lunge aufwiesen. Die SNP-Filterung erfolgte im ersten Schritt mit dem Programm GenomeStudio V2011.1 (Illumina Inc., San Diego, USA). Es verblieben nur Proben im Datensatz, die eine Call Rate $\geq 0,98$ und einen P_{10GC} -Wert $\geq 0,51$ aufwiesen, sowie autosomale SNPs mit einer Call Frequenz $\geq 0,99$ und Cluster Separation $\geq 0,4$. SNPs mit signifikanter Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ($P < 0,03$) und einer MAF $< 0,05$ wurden in einem weiteren Filterungsschritt mit PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007) aus dem Datensatz entfernt. Zu dem vorhandenen Datensatz konnten noch die Genotypen von 214 männlichen Braunviehkälbern hinzugefügt werden, deren Genotypen im Rahmen der genomischen Zuchtwertschätzung an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) Grub bereits typisiert wurden und für die im Rahmen des Trinkschwächeprojektes die jeweiligen Phänotypen vorlagen. Somit standen für erste Auswertungen insgesamt 2.775 Kälbergenotypen und 34.844 SNPs zur Verfügung.

HD Genotypisierung und Imputieren

Zusätzlich zu den Kälbern, die bereits mit dem Illumina® BovineSNP50 v2 Genotyping BeadChip typisiert wurden, sollten bei speziell ausgewählten Kälbern auch Typisierungen mit einem dichteren, so genannten *high density* (HD, 777K) Chip durchgeführt werden. Hierfür wurden 192 Tiere ausgewählt, die paarweise von einem Betrieb stammten, eine divergente Ausprägung des Saugreflexes zeigten und idealerweise den gleichen Vater aufwiesen. Die Isolierung der DNA aus den Gewebeproben der Kälber erfolgte wie oben beschrieben. Die Genotypisierungen wurden mit dem Illumina® BovineHD Genotyping BeadChip durchgeführt. Als Vorbereitung für das Imputieren der 50K-Genotypen auf eine Abdeckung mit 777K erfolgten ausgehend von insgesamt 777.962 SNPs die bereits erwähnten Filterungsschritten in GenomeStudio V2011.1 (Illumina Inc., SanDiego, USA) und PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007) und zusätzlich das Entfernen von SNPs, deren Genotypen von denen des 50K-Chips abwichen. Im weiteren Verlauf wurde das Softwareprogramm BEAGLE 3.3 (Browning und Browning, 2009) für ein separates *Pre-phasing* der HD-typisierten und 50K-typisierten Kälbergentypen verwendet sowie ebenfalls für die Imputation sporadisch fehlender Genotypen für konkordante SNPs.

Das Programm Minimac3 Version 2.0.1 (Howie et al., 2012) wurde für das Imputieren der an der Universität Hohenheim bereits typisierten 50K-Genotypen genutzt. Die von der LfL Grub stammenden 50K-Genotypen sind hierbei vor dem Imputieren aus dem Datensatz ausgeschlossen worden. Die Voreinstellungen von Minimac3 wurden verwendet und die bereits 777K-typisierten Genotypen als Referenzpopulation genutzt. Um die Güte des Imputationsvorgangs bestimmen zu können, fand die Ermittlung der Imputationsgenauigkeiten über eine Fünffach-Kreuzvalidierung statt. Für jedes Set wurden die HD-typisierten Tiere in eine Referenz- und eine Validierungspopulation aufgeteilt. Dafür erfolgte in jedem Durchgang die zufällige Auswahl von ca. 38 Tieren, welche die Validierungsstichprobe bildeten. Die übrigen 154 Tiere stellten die Referenzstichprobe dar. Die SNP-Genotypen der Tiere aus der Validierungsstichprobe wurden im weiteren Verlauf auf die auf dem 50K SNP-Chip vorhandenen Markergenorte reduziert. Mit den vorhandenen HD-Genotypinformationen aus der Referenzpopulation wurden im Folgenden die Genotypen der maskierten SNP Loci *in silico* abgeleitet. Die Berechnung der Gesamtimputationsgenauigkeit erfolgte aus der mittleren Korrelation zwischen den *in silico* imputierten und den wahren HD-Genotypen ($r_{IMP,SEQ}$) über alle fünf Sets und jedes Chromosom hinweg. Um die Imputationsgenauigkeiten für jede chromosomale Position ermitteln zu können, wurden die Korrelationen zwischen den Matrizen der imputierten und der wahren Genotypen berechnet. Diese Werte wurden dann gemittelt um den gesamten $r_{IMP,SEQ}$ -Wert zu erhalten. Zusätzlich wurden die HD typisierten Genotypen in 10

unterschiedliche Klassen gruppiert, bezogen auf die ermittelte MAF in der Referenzpopulation. Der $r_{IMP,SEQ}$ -Wert für jede MAF-Klasse ergab sich dann aus dem Mittelwert über die 29 Chromosomen und fünf Sets hinweg. Zusätzlich wurde der chromosomale $r_{IMP,SEQ}$ -Wert jeweils aus dem Mittelwert der fünf Sets berechnet.

Nach dem Imputieren lag ein Datensatz von insgesamt 2.561 Tiere mit 616.419 SNPs vor. Für die nachfolgenden Single-Marker-Analysen wurden zusätzlich SNPs mit einer MAF von $< 0,03$ entfernt, sodass 549.877 SNPs im Datensatz verblieben. Da für die nachfolgenden Multi-Marker-Analysen mit BayesC eine MAF von $< 0,03$ zu gering ist, um die SNP-Effekte schätzen zu können, wurde hierfür eine MAF von $> 0,05$ angenommen und es verblieben noch 525.949 SNPs im Datensatz. Es sollten nur für diejenigen Tiere mit vorliegenden HD-Genotypen weitere Auswertungen erfolgen, die auch im Datensatz der Pedigree-basierten genetischen Analysen enthalten waren. Dies beinhaltete insgesamt 1.871 Kälber für die Studien zum Saugreflex und 1.852 Kälber für Studien zum Trinkverhalten. Tabelle 3 enthält eine Übersicht über die verwendeten Datensätze. Der Abbildung 4 ist ein Vergleich der Dichteverteilung der SNPs auf dem 50K-Chip und dem 777K-Chip zu entnehmen.

Tabelle 3: Vergleich der verwendeten Datensätze und Anzahl der vorhandenen SNPs für Single-Marker und Multi-Marker-Analysen.

	Single-Marker-Analysen (GCTA)	Multi-Marker-Analysen (BayesC)
Anzahl Kälber im HD-Datensatz Saugreflex	1.871	1.871
Anzahl Kälber im HD-Datensatz Trinkverhalten	1.852	-
MAF	0,03	0,05
Anzahl SNPs nach Filterung	549.877	525.949

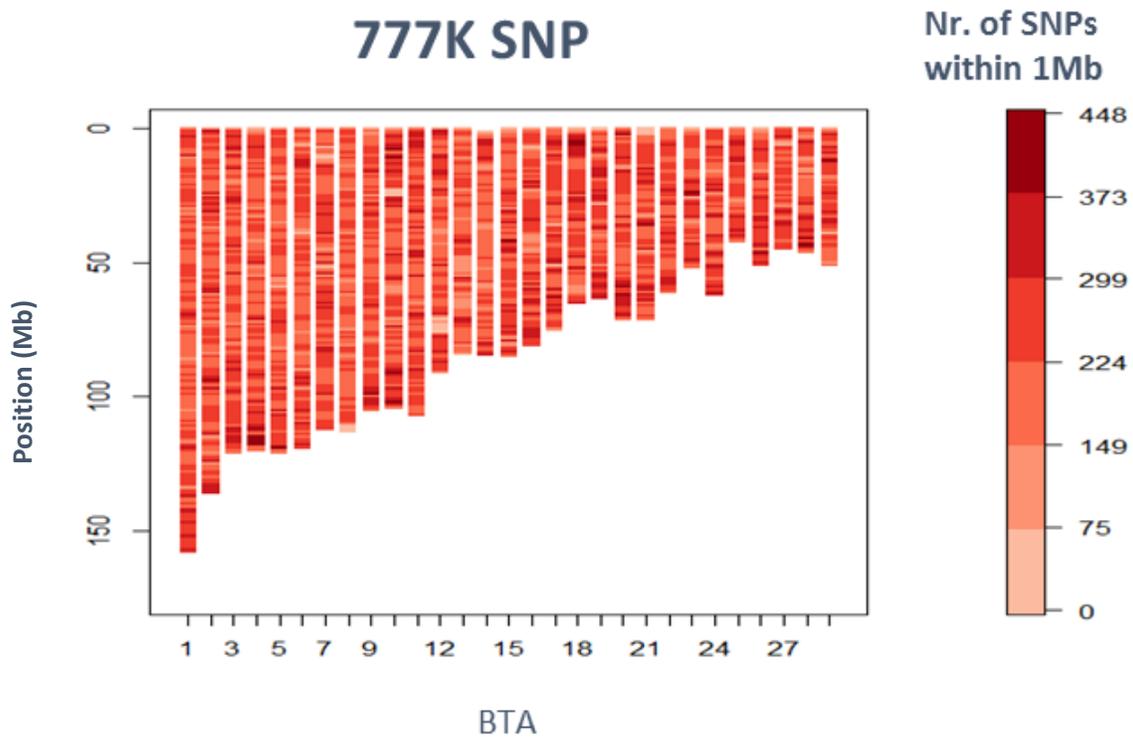
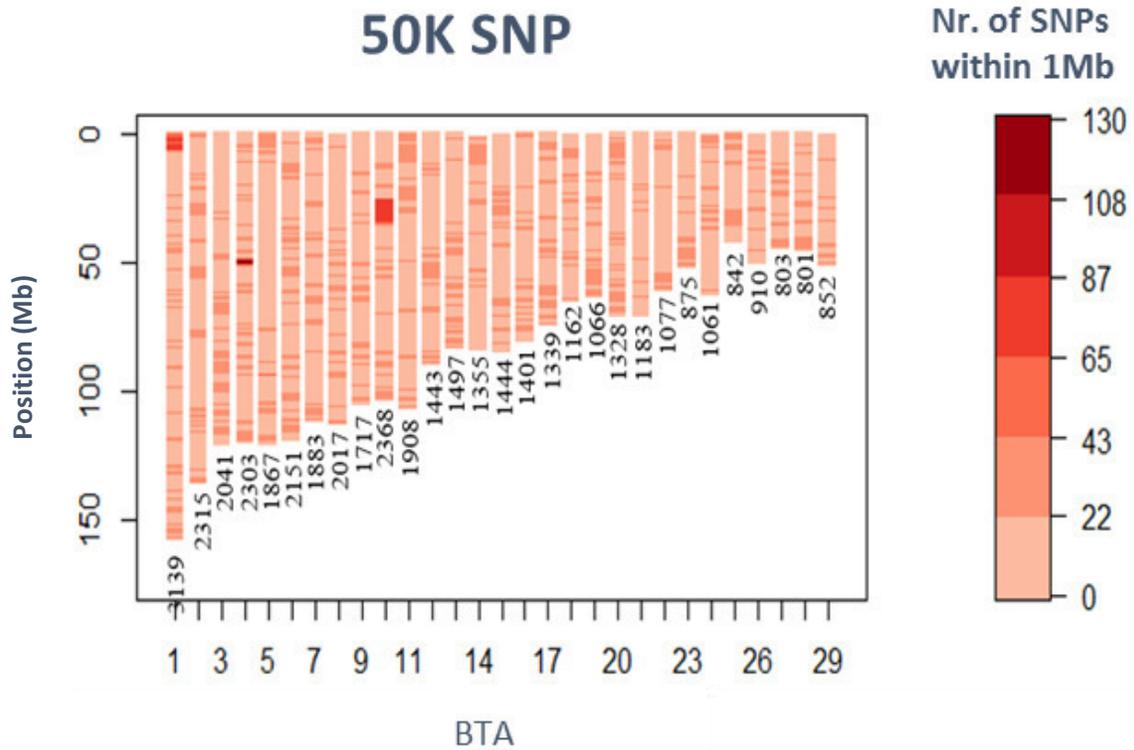


Abbildung 4: Verteilung und Dichte der SNPs auf dem 50K SNP Chip (oben) und dem HD SNP Chip (unten). Auf der X-Achse dargestellt sind die Chromosomen (BTA) von 1 – 29, auf der Y-Achse die SNP-Position im Genom.

3.3.2 Statistische Auswertungen

Analyse der LD-Struktur

Das LD innerhalb der Braunviehpopulation wurde mit PLINK v1.07 (Purcell et al., 2007) über das R-package *synbreed* (Wimmer et al., 2012) analysiert und abgebildet.

Genomweite Assoziationskartierungen- Single-Marker-Modell

Es wurden genomweite Assoziationskartierung für alle drei Saugreflex Kodierungen (TC1, TC2, TC3) und für das Trinkverhalten für die 50K- und HD-Genotypen durchgeführt. Das Trinkverhalten der Kälber wurde lediglich mit Single-Marker-Analysen untersucht, während der Saugreflex sowohl mit Single-Marker-Modellen, als auch mit Multi-Marker-Modellen betrachtet wurde. Die Single-Marker-Analysen erfolgten mit dem Softwareprogramm GCTA (*Genome-wide Complex Trait Analysis*, Yang et al., 2011, Yang et al., 2014) nach folgendem Modell:

$$y_i = \mu + b_j x_{i,j} + g_i + e_i \quad (6)$$

wobei y_i den Vektor mit den phänotypischen Werten für Kalb i (Saugreflex, Trinkverhalten) darstellt. Diese wurden im HD-Datensatz um die fixen Effekte von Geschlecht, Zustand und Größe des Kalbes (ZQ), das Halbjahr der Geburt und den Betriebseffekt vorkorrigiert. Im 50K-Datensatz wurden als fixe Effekte lediglich das Halbjahr der Geburt und der Betriebseffekt berücksichtigt und gingen als Kovariaten in das Modell ein. Die ersten Assoziationskartierungen erfolgten im 50K Datensatz. Als die Genotypisierungsergebnisse der 50K-Genotypen vorlagen, wurden die Analysen des *high-density* typisierten Datensatzes angeschlossen. Im Vektor b_j ist der fixe Effekt des auf Assoziation mit dem Phänotyp zu testenden SNPs j enthalten, und $x_{i,j}$ enthält die Anzahl an Kopien des 1-Allels am SNP j für Kalb i ($x_{i,j} = 0, 1$ oder 2). Der Vektor g_i mit einer Dimension von $n \times 1$ enthält einen polygenen Term mit der Verteilung $\mathbf{g} \sim N(0, \mathbf{G}\sigma_g^2)$, wobei \mathbf{G} die genomische Verwandtschaftsmatrix beschreibt und σ_g^2 die additiv-genetische Varianz. Das Residuum für Kalb i ist im Term e_i enthalten, wobei $\mathbf{e} \sim N(0, \mathbf{I}\sigma_e^2)$. Hierbei enthält \mathbf{I} die Einheitsmatrix und σ_e^2 die Varianz der Resteffekte. Die in der genomischen Verwandtschaftsmatrix abgebildete genetische Verwandtschaft zweier Individuen i und k wird anhand von folgendem Modell geschätzt (Yang et al., 2011):

$$G_{ik} = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \frac{(x_{ij} - 2p_j)(x_{kj} - 2p_j)}{2p_j(1 - p_j)} \quad (7)$$

Hierbei stellt G_{ik} die genomische Verwandtschaftsmatrix dar, mit i und k als den Individuen, zwischen welchen die genetische Verwandtschaft geschätzt werden soll, N berücksichtigt die Anzahl an SNPs. Die Anzahl der Kopien des Referenzallels für den jeweiligen SNP j und das Individuum i sind in x_{ij} angegeben, p_j ist die Frequenz des Referenzallels des SNP j . Das Regressionsmodell wurde mit einer Methode ausgewertet, die bei der Erstellung der genomischen Verwandtschaftsmatrix das Chromosom ausschließt, auf welchem sich der zu testende SNP befindet (*mlma-loco, mixed linear model association- leave one chromosome out*). Indem man eine doppelte Modellierung (*double-fitting*) des auf Assoziation zu testenden SNPs vermeidet, kann die statistische Power erhöht werden (Yang et al., 2014). Neben dem genomweiten Signifikanzniveau ($P_{genome-wide} < 5E-02$) wurde ein Signifikanzniveau von $P_{nominal} < 5E-05$ verwendet, das weniger stringent, jedoch für die Anzahl an SNPs angemessen war.

Genomweite Assoziationskartierungen- Multi-Marker-Modell

Die Auswertungen im Multi-Marker-Modell erfolgten lediglich für die drei Saugreflex-Kodierungen (TC1, TC2, TC3) im HD-Datensatz. Hierbei wurde BayesC (Verbyla et al., 2009) verwendet, welches im R-Paket BayesDSamples (Wellmann und Bennewitz, 2012) implementiert ist. Das angewandte gemischt-lineare Modell lautete wie folgt:

$$y_i = \mu + \sum_{j=1}^n a_j x_{i,j} + e_i, \quad (8)$$

wobei in y_i die vorkorrigierten phänotypischen Werte für Kalb i enthalten sind. Die fixen Effekte, um welche vorkorrigiert wurde, sind im Kapitel *Genomweite Assoziationskartierungen- Single-Marker-Analysen* beschrieben. Das Populationsmittel wird durch μ gekennzeichnet, $x_{i,j}$ enthält die Anzahl an Kopien des 1-Allels am SNP j für Kalb i ($x_{i,j} = 0, 1$ oder 2), a_j ist der zufällige Effekt von SNP j und e_i ist das Residuum von Kalb i , mit $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$. Die SNP-Effekte stammen aus zwei unterschiedlich skalierten t -Verteilungen. Bedingt durch eine Bernoulli-verteilte Variable γ_j , welche die Markereffekten der jeweiligen Verteilung zuordnet, ergibt sich folgende Vorannahme:

$$a_j | \gamma_j \sim \gamma_j t(0, v, s^2) + (1 - \gamma_j) \varepsilon t(0, v, s^2) \quad (9)$$

$$\gamma_j \sim \text{Bernoulli}(pLD)$$

Wenn $\gamma_j = 1$, so wird der Effekt des Markers aus der Verteilung mit der größeren Varianz gezogen. Der Hyperparameter pLD (*probability of Linkage Disequilibrium*) gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein Marker mit der kausalen Mutation gekoppelt ist und wurde aufgrund der großen Anzahl an SNPs im HD-Datensatz auf 0,05 festgelegt. Für die t -Verteilung, aus der die SNP-Effekte

gezogen wurden, wurden 3,5 Freiheitsgrade (ν) angenommen. Die t -Verteilung ist um den Faktor $\varepsilon = 0,01$ kleiner skaliert, wenn $y_j = 0$. Das Programm passte die Skalierungsparameter (s^2) so an, dass die erwartete Varianz der SNP-Effekte auch ihrer geschätzten Varianz entsprach (Wellmann und Bennewitz, 2012). Die phänotypische Varianz wurde dabei auf 1 standardisiert. Insgesamt durchlief das Modell 150.000 Gibbs-Sample Iterationen, wobei die ersten 50.000 Iterationen als Burn-In verworfen wurden. Im Anschluss erfolgte die Berechnung von Fenster-Zuchtwerten (EBV_w), indem die geschätzten SNP-Effekte fensterweise aufsummiert wurden. Dieser Vorgang erfolgte anhand von *sliding windows*, für die eine Größe von 1 cM ($1\text{cM} \approx 1\text{Mb}$) festgelegt wurde. Diese Fenstergröße wurde angenommen, da die Wahrscheinlichkeit für ein LD zwischen Marker und kausaler Mutation bei Distanzen > 1 cM stark abnimmt (Abbildungen 12 und 13). Wie in Bennewitz et al. (2017) beschrieben, wurden die Abweichungen der Varianz der EBV_w s von der erwarteten Windowvarianz genutzt, um merkmalsassoziierte Genorte ausfindig machen zu können. Es wurde angenommen, dass benachbarte Fenster, die eine Fenstervarianzabweichung von $\geq 2E-05$ zeigten, eine mögliche QTL-Region beherbergen könnten.

Funktionelle Genannotation und Pfadanalysen

Für die Saugreflexkodierung TC1 und das Trinkverhalten wurden Post-GWAS Analysen durchgeführt. Hierfür wurden Gene als positionelle Kandidatengene annotiert, die innerhalb einer Region von 1 Mb sowohl up-, als auch downstream von signifikanten SNP-Positionen kartiert werden konnten. Diese positionellen Kandidatengene wurden anschließend auf ihre funktionellen Eigenschaften analysiert. Hierfür wurden Gen-Ontologie-Terme (*GO-Terms*) genutzt. GO-Terme werden gegliedert in ihre Rolle bei biologischen Prozessen (*biological processes*, BP), ihre molekularen Funktionen (*molecular function*, MF) oder ihre Wirkung auf zellulärer Ebene (*cell components*, CC) (Ashburner et al., 2000). GO-Terme der biologischen Prozesse wurden einem Fishers-Exakt Test auf Über- oder Unterrepräsentation mit dem Softwareprogramm PANTHER (*Protein ANalysis THrough Evolutionary relationships*, Mi et al., 2013; Mi et al., 2017; Thomas et al., 2006) unterzogen und zur Korrektur um multiples Testen die FDR berechnet. Außerdem wurde die Anreicherung von Genen in speziellen funktionellen Clustern untersucht und eine Pfad-Analyse mit den in der Software DAVID (*Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*, Huang et al., 2009a, 2009b) integrierten Tools *functional annotation chart* und *functional annotation clustering* durchgeführt. In der Pfadanalyse wurden sowohl KEGG (Kanehisa und Goto, 2000), als auch Reactome (Fabregat et al., 2018) *pathways* genutzt. Für die Cluster-Analysen wurden nur Cluster ausgewählt, die einen *Kappa Similarity Threshold* (KST) > 0.70 und einen *Enrichment Score* (ES) $> 1,3$ aufwiesen. Der *Kappa Similarity Threshold* dient als

Maß der Ähnlichkeit zwischen Genen, bezogen auf ihre funktionellen Eigenschaften. Er liegt in einem Bereich zwischen 0 und 1, wobei die Ähnlichkeit zwischen Genen mit steigendem KST zunimmt. Der ES beschreibt die biologische Signifikanz von Genclustern, basierend auf den anhand eines Fishers-Exakt-Tests ermittelten P-Werten (*EASE score*) aller angereicherten GO-Terme oder Pfade. Ein ES-Wert $> 1,3$ entspricht einem P-Wert von $< 5E-02$.

3.4 Genomische Analysen von maternalen Effekten

Die Aufbereitung der Gewebeproben, die DNA-Isolierung sowie die anschließende Genotypisierung erfolgte durch die Laborassistentinnen des Fachgebietes Genetik und Züchtung landwirtschaftlicher Nutztiere der Universität Hohenheim unter der Leitung von Dr. Siegfried Preuß.

3.4.1 Datenerfassung und Datenaufbereitung

Die maternalen Gewebeproben wurden zwischen Januar und Februar 2018 auf 61 Betrieben in der Allgäuer Region von Mitarbeitern der RBW gesammelt. Ohrstanzproben von insgesamt 963 Müttern der im Trinkschwäche-Projekt bereits phänotypisierten Kälber lagen vor. Den Tabellen 4 und 5 sind die Anzahlen der erfassten Kälberphänotypen für die analysierten Merkmale zu entnehmen.

Die Typisierung der maternalen Genotypen erfolgte nach der bereits im vorangegangenen Kapitel beschriebenen DNA-Isolierung mit dem Illumina® BovineSNP50 v3 Genotyping BeadChip, der insgesamt 53.218 SNPs enthielt. Es verblieben nur Proben im Datensatz, die eine Call Rate $\geq 0,95$ und einen $P_{10}GC$ -Wert $\geq 0,68$ aufwiesen. Die SNP-Filterung mit dem Programm GenomeStudio V2011.1 (Illumina Inc., SanDiego, USA) erfolgte nach den gleichen Einstellungen wie im vorangegangenen Kapitel für die 50K-typisierten Kälbergentypen beschrieben. Bei der Qualitätsfilterung mit PLINK 2.0 (Purcell et al., 2007, Chang et al., 2015) wurden Tiere mit mehr als 10 % fehlenden Genotypen entfernt und auch SNPs mit einer MAF $< 0,01$ wurden aus dem Datensatz entfernt. Für die nachfolgenden Analysen standen dadurch noch 35.424 SNPs zur Verfügung.

Genomische Analysen von maternalen Effekten

Tabelle 4: Anzahl Kälberphänotypen bezogen auf den Datensatz für Zustand und Qualität der Kälber (ZQ) zur Analyse der maternalen Effekte.

Saugreflex	1	2	3	4	Summe
Anzahl Tiere	65	123	674	87	949
Geschlecht					
Männlich	36	62	324	41	949
Weiblich	29	61	350	46	
Quartal					
1	22	37	210	21	949
2	8	30	134	16	
3	15	23	107	27	
4	20	33	223	23	
Zustand des Kalbes					
Lebensschwach	7	13	8	0	943
Vital	56	110	662	87	
Qualität des Kalbes					
Klein	17	29	79	14	934
Mittel	40	74	505	49	
Groß	7	18	81	21	

Tabelle 5: Anzahl Kälberphänotypen bezogen auf den Datensatz für die Trächtigkeitsdauern (TD) zur Analyse der maternalen Effekte.

Saugreflex	1	2	3	4	Summe
Anzahl Tiere	64	121	632	86	903
Geschlecht					
Männlich	35	61	299	40	903
Weiblich	29	60	333	46	
Quartal					
1	22	37	196	21	903
2	8	29	126	16	
3	14	22	102	26	
4	20	33	208	23	

3.4.2 Statistische Auswertung

Die Analysen in diesem Kapitel erfolgten mit dem Softwareprogramm GCTA (*Genome Complex Trait Analysis*, Yang et al., 2011, Yang et al., 2014). Es wurde lediglich der Saugreflex in den drei vorliegenden Kodierungsvarianten (TC1, TC2, TC3) näher beleuchtet, das Trinkverhalten wurde hingegen in den folgenden Analysen nicht berücksichtigt.

Varianzkomponentenschätzung

Die Schätzung der Varianzkomponenten erfolgte anhand der maternalen Genotypen unter Verwendung einer mit GCTA zuvor generierten genomischen Verwandtschaftsmatrix (siehe Formel 7, Yang et al., 2011). Über die in GCTA ebenfalls integrierte GREML-Methode (*Genomic-Relatedness-based Restricted Maximum Likelihood*) wurde dann folgendes gemischt lineares Modell angewendet:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{g} + \boldsymbol{\varepsilon} \quad (10)$$

Hierbei beinhaltet \mathbf{y} die Phänotypen der Kälber (Saugreflex TC1, TC2 und TC3). Die fixen Effekte von Betrieb, Quartal und der Zustand und die Qualität des Kalbes nach der Geburt sind in $\boldsymbol{\beta}$ enthalten mit \mathbf{X} als entsprechender Zuordnungsmatrix. Der Vektor der gesamten zufälligen Effekte aller SNPs über alle Individuen ist beschrieben durch \mathbf{g} wobei $\mathbf{g} \sim \mathbf{N}(0, \mathbf{G}\sigma_g^2)$. Die genomische Verwandtschaftsmatrix wird dargestellt durch \mathbf{G} und wird berechnet aus der Ähnlichkeit der Markergenotypen der Mütter. Die Varianz σ_g^2 wird durch alle Marker erklärt. Die Schätzung der SNP-basierten maternalen Heritabilität für den Saugreflex der Kälber erfolgte nach folgendem Ansatz:

$$h_{SNP}^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_\varepsilon^2}$$

Hierbei wird die SNP-basierte Heritabilität (h_{SNP}^2) berechnet aus dem Anteil, der durch die Marker erklärten genetischen Varianz σ_g^2 an der phänotypischen Varianz. Die phänotypische Varianz setzt sich zusammen aus der Summe der genetischen Varianz σ_g^2 und der Residualvarianz σ_ε^2 .

Genomweite Assoziationskartierungen

Die genomweiten Assoziationsstudien der mütterlichen SNP-Genotypen erfolgten mit GCTA im Single-Marker-Modell. Hierfür wurde das erneut das Modell aus Formel 6 (Kapitel 3.3.2) genutzt. Im Vektor b_j sind nun lediglich die SNP-Effekte der maternalen Genotypen enthalten. Auch innerhalb dieser Studien wurde die GRM unter Ausschluss des Chromosoms erstellt, welches den zu testenden SNP beinhaltet (*mlma-loco*). Die genomweiten Assoziationskartierungen erfolgten für jede der drei Kodierungsvarianten des Saugreflexes. Für die Kartierung signifikant assoziierter SNPs wurde ein nominales Signifikanzniveau bei $p_{nominal} < 5E-05$ angenommen.

Die gefundenen signifikanten SNPs wurden mit Hilfe der Datenbank Ensembl (Zerbino et al., 2018) im Genomassembly UMD-3.1.1 auf Assoziation mit Genen untersucht. Wie schon in Kapitel 3.3.2 beschrieben, wurden Regionen von 1 Mb up- und downstream von signifikanten SNPs auf weitere Gene untersucht und biologische Prozesse gefundener Gene eines Tests auf Über- bzw. Unterrepräsentation mit der Software PANTHER (Mi et al., 2017; Mi et al., 2013) unterzogen. Um funktionelle Gencluster identifizieren zu können wurde erneut die Software DAVID (Huang et al., 2009a, 2009b) genutzt.

3.5 Analyse von Betriebseinflüssen

3.5.1 Datenaufbereitung

Von insgesamt 224 Betrieben wurden Evaluierungsbögen zur Fütterungs- und Haltungsumwelt der Kühe und Kälber ausgefüllt und zur Auswertung von betriebsindividuellen Einflussfaktoren weiterverarbeitet. In den folgenden Auswertungen wurden ausschließlich Betriebe berücksichtigt, welche zu allen analysierten Parametern eine vollständige Datenstruktur aufweisen konnten und die mindestens 25 Kälbern mit Saugreflex-Phänotypen hatten. Dies traf auf 63 Betriebe zu. Da in den Auswertungen lediglich ein Wert pro Betrieb vorlag, mussten die Angaben zum Saugreflex der Kälber über den jeweiligen betrachteten Betrieb gemittelt werden. Für einen einfachen Mittelwertvergleich zwischen den Betrieben wurden in einem weiteren Datensatz die 10 Betriebe mit den jeweils geringsten bzw. den höchsten Saugreflexmittelwerten klassenweise in gute und schlechte Betriebe eingeteilt (siehe Tabellen 18a und 18b). Die Einteilung der Betriebe nach „guten“ und „schlechten“ Betrieben ist allein bezogen auf den Saugreflexmittelwert zu sehen und spiegelt keine Bewertung der Betriebe an sich wieder.

3.5.2 Statistische Auswertungen

Sowohl die 10 besten, als auch die 10 schlechtesten Betriebe wurden hinsichtlich Faktoren wie Weidehaltung, Anfütterung und Mineralfuttergabe der Kühe und Trockensteher beurteilt und analysiert. Die Analyse der 10 besten und 10 schlechtesten Betriebe erfolgte mit Hilfe eines Fisher's Exakt Tests für kleine Stichproben.

Anhand des Datensatzes von 63 Betrieben wurde mittels einer Varianzanalyse getestet, ob die einzelnen Mineralfutterkomponenten einen signifikanten Einfluss auf den mittleren Saugreflex zeigen. Dies wurde über ein einfaches lineares Modell getestet.

$$y = a + bx + e \quad (12)$$

Im y -Vektor waren hier die Saugreflexmittelwerte der Betriebe enthalten, a beinhaltet den Mittelwert, der Vektor b beinhaltete den fixen Effekt der Calcium-, Phosphor-, Magnesium- und Selengehalte im Mineralfutter für die Trockensteherration und der Restfehler wird durch e beschrieben.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Bei etwa 7% der Kälber im gesamten Datensatz konnte kein Saugreflex festgestellt werden. Ein schwacher Saugreflex zeigte sich bei knapp 14% der Tiere. Dies bedeutet, dass insgesamt 21% der Kälber der Braunviehpopulation Probleme bei der Kolostrumaufnahme haben. Ein Unterschied zwischen den Geschlechtern konnte weder visuell (Abbildung 6), noch statistisch (Tabelle 7) bestätigt werden. Beim Trinkverhalten zeigte sich, dass insgesamt 9 % der Kälber gedrencht werden mussten (Abbildung 6). Tabelle 6 kann die Verteilung der Kälberphänotypen der untersuchten Merkmale für den Pedigree-Datensatz entnommen werden. Der Wald-Test zur Bestimmung eines signifikanten Einflusses getesteter Variablen ergab einen hochsignifikanten Einfluss des Betriebes und des jeweiligen Halbjahres, in welchem das Kalb geboren wurde. Hierbei hatten Kälber, die im Winterhalbjahr geboren waren (Oktober 2015 - März 2016) häufiger einen schlechter entwickelten Saugreflex, als es bei in Sommermonaten (Juni - September 2015, April - Mai 2016) geborenen Kälbern der Fall war. Außerdem zeigte sich, dass Vitalität und Größe des Kalbes direkt nach der Geburt einen signifikanten Einfluss auf den Saugreflex haben, wobei größere und vitalere Kälber einen stärker ausgeprägten Saugreflex zeigten, als kleine und leichte, oder lebensschwache Kälber. Die starken Unterschiede beim Saugreflex der Kälber auf den Betrieben werden auch in Abbildung 5 deutlich. Einige Betriebe haben nur wenige bis gar keine

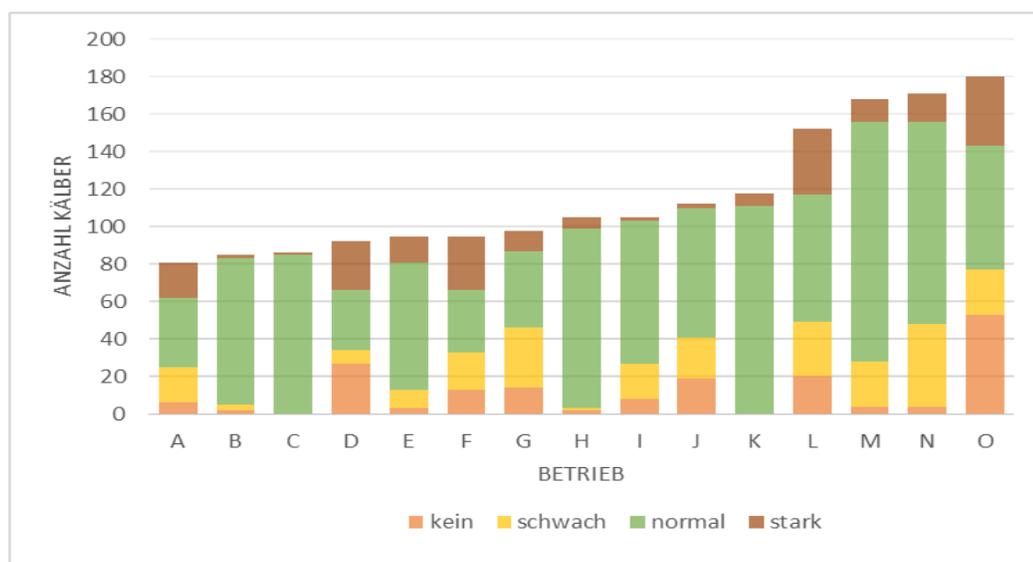


Abbildung 5: Verteilung des Saugreflexes der Kälber innerhalb der Betriebe (nur Betriebe mit > 80 Kälbern in der Auswertung berücksichtigt).

Kälber mit einem fehlenden Saugreflex, während andere Betriebe angeben, dass fast die Hälfte aller neugeborenen Kälber einen fehlerhaft ausgeprägten Saugreflex zeigte.

Tabelle 6: Verteilung der Kälberphänotypen im verwendeten finalen Pedigree-Datensatz der Kälber.

Saugreflex	kein	schwach	normal	stark	Summe
Anzahl Tiere	530	801	3462	748	5541
Geschlecht					
Männlich	247	369	1704	373	2693
Weiblich	283	432	1758	375	2848
Halbjahr					
1	305	507	2026	358	3196
2	225	294	1436	390	2345
Zustand des Kalbes					
Lebensschwach	57	88	32	5	182
Vital	473	713	3430	743	5359
Qualität des Kalbes					
Klein und Leicht	103	168	405	68	744
Mittel	302	491	2447	428	3668
Groß und Schwer	125	142	610	252	1129

Tabelle 7: Einflussgebende Variablen auf den Saugreflex und das Trinkverhalten mit P-Werten des Wald-Tests mit ASReml-R.

Variable	P-Wert	Signifikanzstatus ¹	P-Wert	Signifikanzstatus ¹
	Saugreflex		Trinkverhalten	
Geschlecht	4,30E-01	n.s.	1,09E-01	n.s.
Zwillingsstatus	6,60E-01	n.s.	5,42E-01	n.s.
Quartal	9,34E-04	**	1,23E-02	**
Halbjahr	4,67E-05	**	1,29E-03	**
Größe des Kalbes	3,08E-10	***	3,57E-41	***
Vitalität des Kalbes	3,47E-48	***	9,63E-08	***
Trächtigkeitsdauer	3,40E-01	n.s.	8,18E-01	n.s.
Kalbeverlauf	2,30E-01	n.s.	3,77E-01	n.s.
Laktationsnummer	8,00E-02	n.s.	5,67E-01	n.s.
Betrieb	6,25E-41	***	7,95E-179	***

¹n.s.= nicht signifikant, >5E-02; * = signifikant, ≤ 5E-02; ** = hoch signifikant, ≤ 1E-02; *** = höchst signifikant, ≤ 1E-05

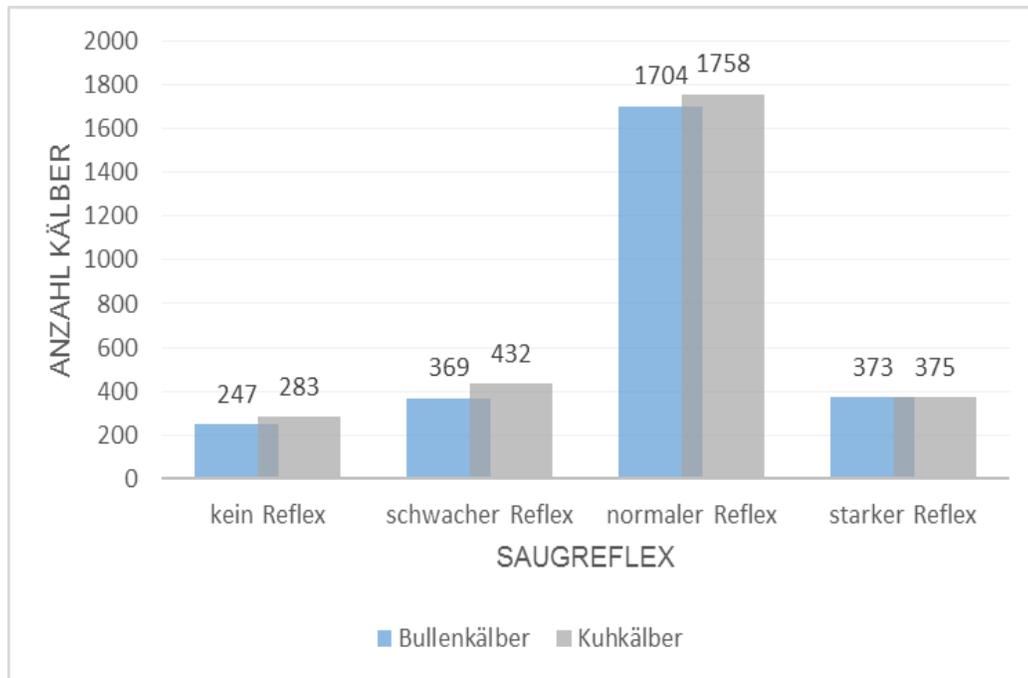


Abbildung 6: Verteilung des Saugreflexes über die Geschlechter im reduzierten Datensatz mit 5.541 Kälbern.

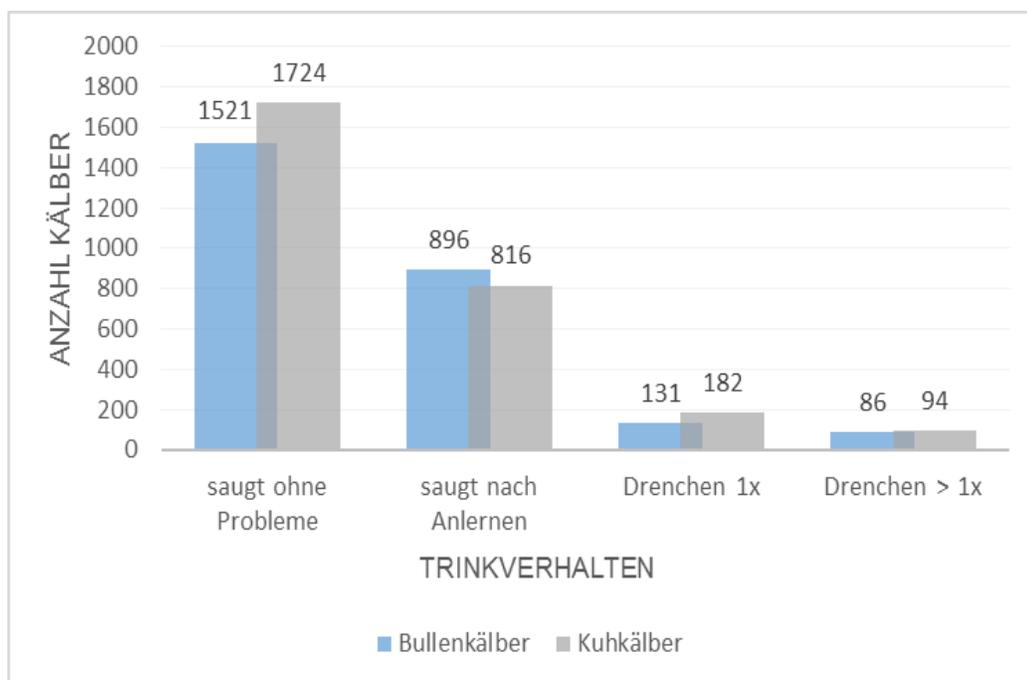


Abbildung 7: Verteilung des Trinkverhaltens über die Geschlechter im reduzierten Datensatz mit 5.450 Kälbern.

4.2 Quantitativ-genetische Parameter

Für die Merkmale Saugreflex, Trinkverhalten, die Qualität und den Zustand des Kalbes wurden im multivariaten Vatermodell mit dem R-Paket *MCMCglmm* sowohl Heritabilitäten, als auch genetische Korrelationen geschätzt. Die Ergebnisse hierzu sind in Tabelle 8 dargestellt.

Die ebenfalls mit dem R-Paket *MCMCglmm* ermittelten Heritabilitäten im univariaten Vatermodell finden sich in Tabelle 9 wieder. Für den finalen Datensatz mit Verwendung von Zustand und Qualität des Kalbes (ZQ) als fixe Effekte im Modell liegen die Heritabilitäten in einem niedrigen Bereich zwischen 0,08 bis 0,11. Die anhand des Testdatensatzes ermittelten Heritabilitäten unter Verwendung der Trächtigkeitsdauern als fixe Effekte lagen zwischen 0,065 und 0,08 etwas niedriger. Die vierstufige ordinale Kodierung des Merkmals Saugreflex zeigte in allen Modellen die höchste Heritabilität. Das Trinkverhalten zeigt sowohl im univariaten Modell (Tabelle 9), als auch im multivariaten Modell (Tabelle 8) höhere Heritabilitäten als der Saugreflex. Zur Verdeutlichung der Konvergenz der Modelle sind dem Anhang die *trace plots* der jeweiligen Modelle (Abbildungen A23 bis A30) hinzugefügt.

Den Abbildungen 8 und 9 sind die Posteriori-Verteilungen der Heritabilitäten für die Saugreflexkodierungen TC1, TC2 und TC3 im Modell ZQ, sowie für die Saugreflex Kodierungen im Modell TD zu entnehmen.

Abbildung 10 zeigt die Variabilität der Zuchtwerte der Väter für die Wahrscheinlichkeiten, mit der diese einen fehlerhaften (TC3), beziehungsweise keinen (TC2) Saugreflex an ihre Nachkommen vererben. Für Kodierungsvariante TC3 liegen diese zwischen 0,18 und 0,32 etwas höher als im Vergleich zu Kodierungsvariante TC2 (0,02 bis 0,13).

Tabelle 8: Phänotypische (oberhalb der Diagonalen) und genetische (unterhalb der Diagonalen) Korrelationen (Standardabweichungen) für die Merkmale Saugreflex (SR), Trinkverhalten (TV), Größe und Qualität (GQ) und Vitalität (VIT), sowie die Heritabilitäten auf der Diagonalen.

	SR	TV	GQ	VIT
SR	0,16 (0,04)	-0,602	0,096	0,206
TV	-0,99 (0,008)	0,23 (0,04)	-0,069	-0,185
GQ	0,22 (0,18)	-0,28 (0,17)	0,19 (0,03)	0,098
VIT	0,87 (0,11)	-0,89 (0,09)	0,31 (0,21)	0,13 (0,04)

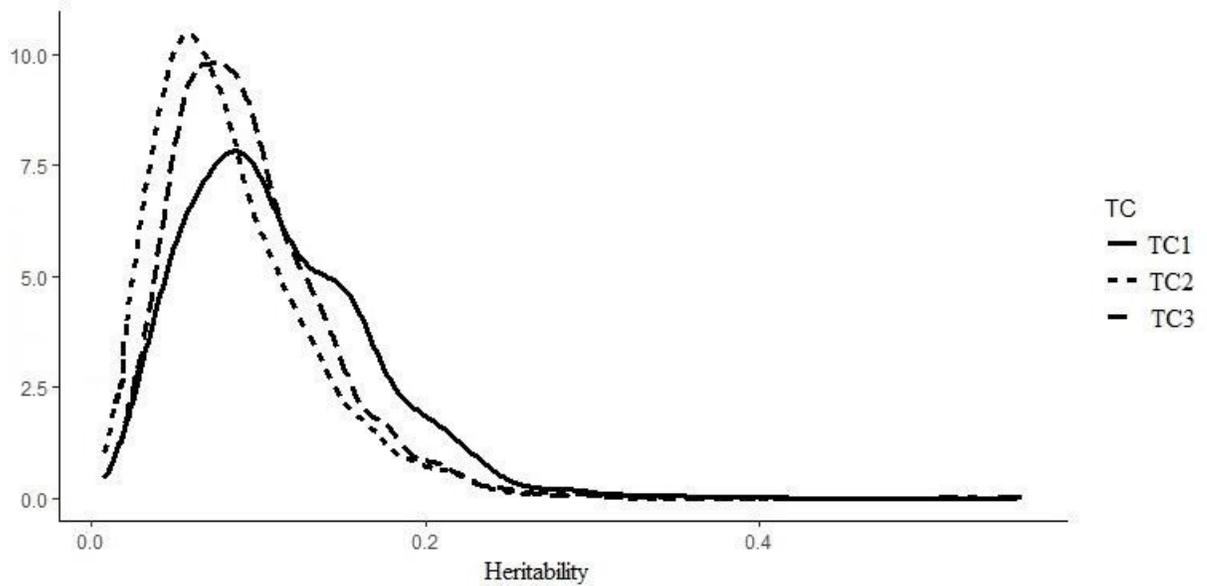


Abbildung 6: Posteriori-Verteilung der Heritabilitäten für Saugreflex-Kodierungen TC1, TC2 und TC3 (univariates Modell). Auf der X-Achse ist die Heritabilität dargestellt, die Y-Achse enthält die Häufigkeiten.

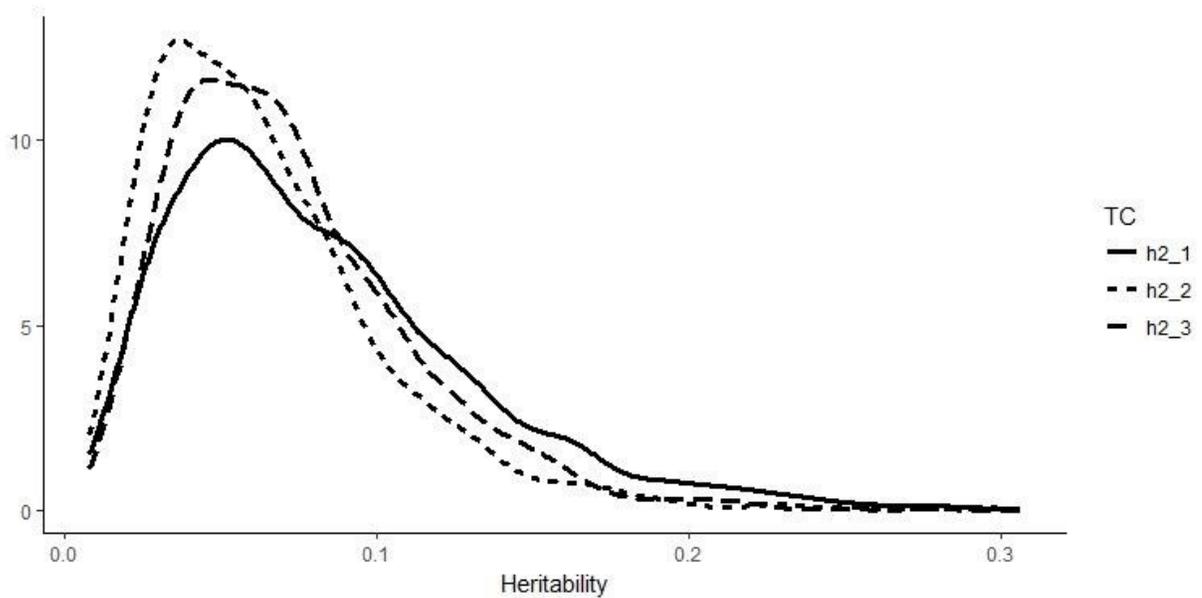


Abbildung 7: Posteriori-Verteilung der Heritabilitäten für Saugreflex Kodierungen TC1, TC2 und TC3 im Modell TD (univariates Modell). Auf der X-Achse ist die Heritabilität dargestellt, die Y-Achse enthält die Häufigkeiten.

Tabelle 9: Heritabilitäten (h^2) aus univariater Varianzkomponentenschätzung mit *MCMCglmm* für Saugreflex (SR) und Trinkverhalten (TV), Standardabweichung (sd) und lower- und upper-HPD-Intervalle.

Kodierung	h^2	sd	l-HPD	u-HPD
SR TC1 (ZQ)	0,110	0,056	0,027	0,22
SR TC2 (ZQ)	0,084	0,047	0,013	0,19
SR TC3 (ZQ)	0,095	0,057	0,019	0,19
SR TC1 (TD)	0,080	0,048	0,011	0,18
SR TC2 (TD)	0,065	0,039	0,010	0,14
SR TC3 (TD)	0,072	0,038	0,014	0,15
TV	0,120	0,067	0,024	0,26

Der Vergleich zwischen den 10 besten Vätern und den 10 schlechtesten Vätern (Tabelle 10) bezieht sich nur auf die Stärke der Ausprägung des Saugreflexes bzw. des Trinkverhaltens ihrer Nachkommen. Der Mittelwert der 10 besten Väter bei Kodierungsvariante TC1 liegt im positiven Bereich, während er bei Kodierungsvarianten TC2, TC3 und TV im negativen Bereich liegt. Bei TC1 nimmt der Saugreflex mit steigender Kodierung zu, während in den binären Varianten TC2 und TC3 für einen fehlenden bzw. fehlerhaften Saugreflex eine 1 angenommen wird und für einen funktionalen Saugreflex eine 0, vergleichbar mit einem *Case-Control-Design*. Die Standardabweichungen (sd) der 10 besten Tiere übersteigen die Mittelwerte der Zuchtwerte in jeder Kodierungsvariante (siehe Tabelle 8).

Insgesamt 26 Bullen wiesen mindestens 50 Nachkommen im Datensatz auf. Tabelle A21 im Anhang zeigt für diese Bullen sowohl die über das R-Paket *MCMCglmm* ermittelten Zuchtwerte und deren Sicherheiten, als auch die Relativzuchtwerte (RZW) für einen besseren Vergleich zwischen den Kodierungsvarianten. Abbildung 11 enthält die grafische Darstellung der RZW für den Saugreflex und das Trinkverhalten.

Quantitativ-genetische Parameter

Tabelle 10: Absolute Mittelwerte, Standardabweichungen (sd), Minima und Maxima der Zuchtwerte für die 10 besten und 10 schlechtesten Väter bezogen auf den Saugreflex.

Kodierung	Mittelwert	sd	Minimum	Maximum
TC1 SR				
Schlechteste 10	-0,351	0,081	-0,490	-0,226
Beste 10	0,114	0,154	-0,074	0,303
TC2 SR				
Schlechteste 10	0,220	0,109	0,076	0,393
Beste 10	-0,099	0,101	-0,301	0,027
TC3 SR				
Schlechteste 10	0,240	0,122	0,093	0,405
Beste 10	-0,158	0,126	-0,376	8E10-5
TV				
Schlechteste 10	0,235	0,107	0,145	0,488
Beste 10	-0,161	0,187	-0,507	0,032

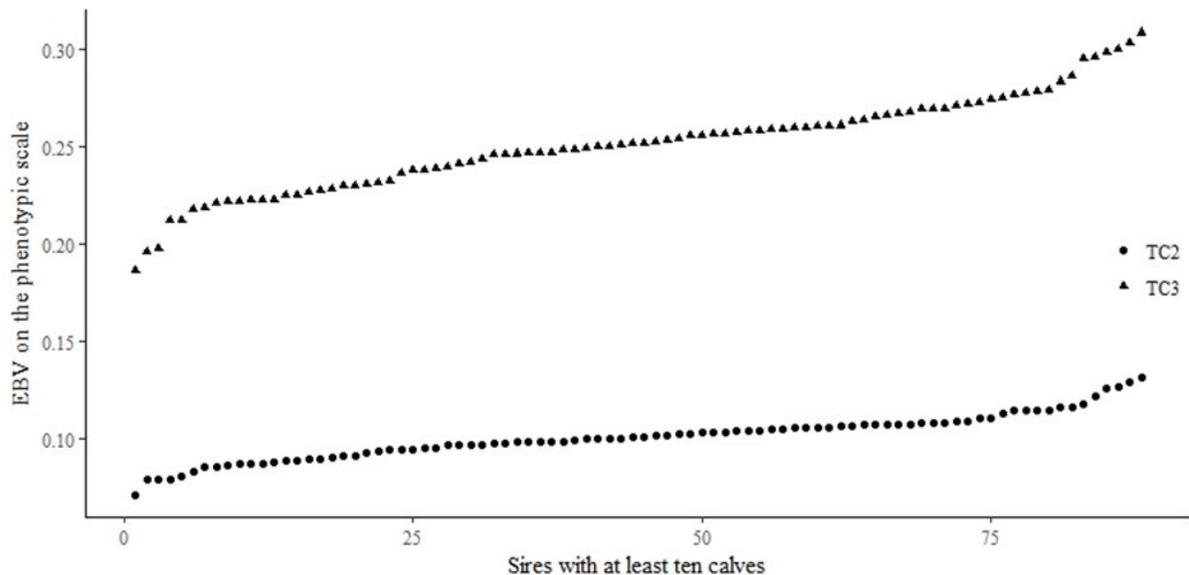


Abbildung 8: Zuchtwerte der Väter für die Wahrscheinlichkeit, mit der diese einen schlechten Saugreflex an ihre Nachkommen vererben, dargestellt für die binären Modelle TC2 und TC3. Auf der X- Achse sind die Väter mit mindestens 10 Nachkommen im Datensatz dargestellt, die Y-Achse stellt deren Zuchtwerte für den Saugreflex auf der phänotypischen Skala dar.

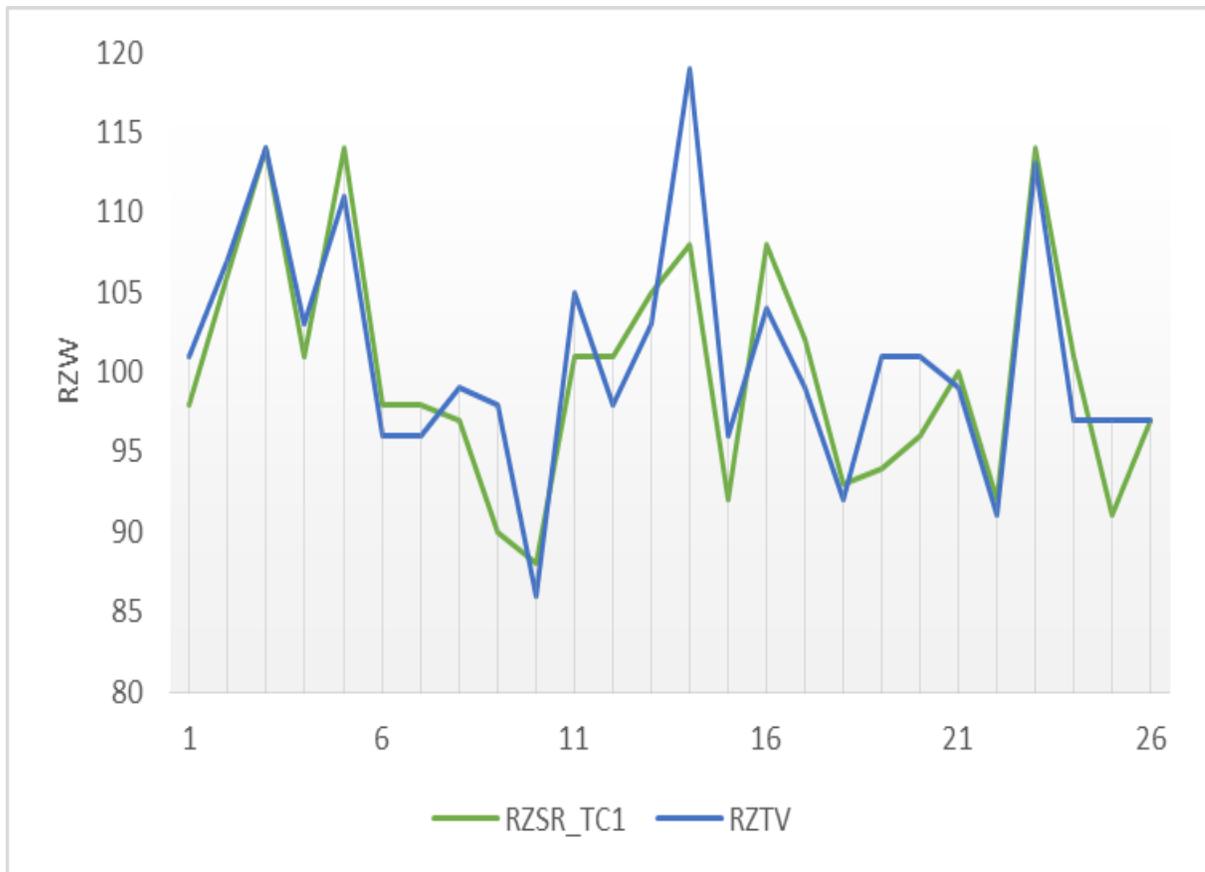


Abbildung 9: Darstellung der Relativzuchtwerte für Saugreflexkodierung TC1 (RZSR_TC1) und Trinkverhalten (RZTV). Auf der X-Achse sind die Väter (min. 50 Nachkommen) dargestellt, die Y-Achse enthält die Relativzuchtwerte.

4.3 LD-Struktur

Eine Darstellung der LD-Struktur in der untersuchten Braunviehpopulation über alle betrachteten Autosomen hinweg ist Abbildung 12 zu entnehmen. Hierbei ist zu erkennen, dass das LD mit zunehmender Entfernung zwischen den Markern schnell abnimmt und bei Distanzen über 1 Mb bei r^2 -Werten von 0,05 ungefähr gleich bleibt. Hohe r^2 -Werte von bis zu 0,7 zeigen sich nur für sehr geringe Inter-Marker Abstände.

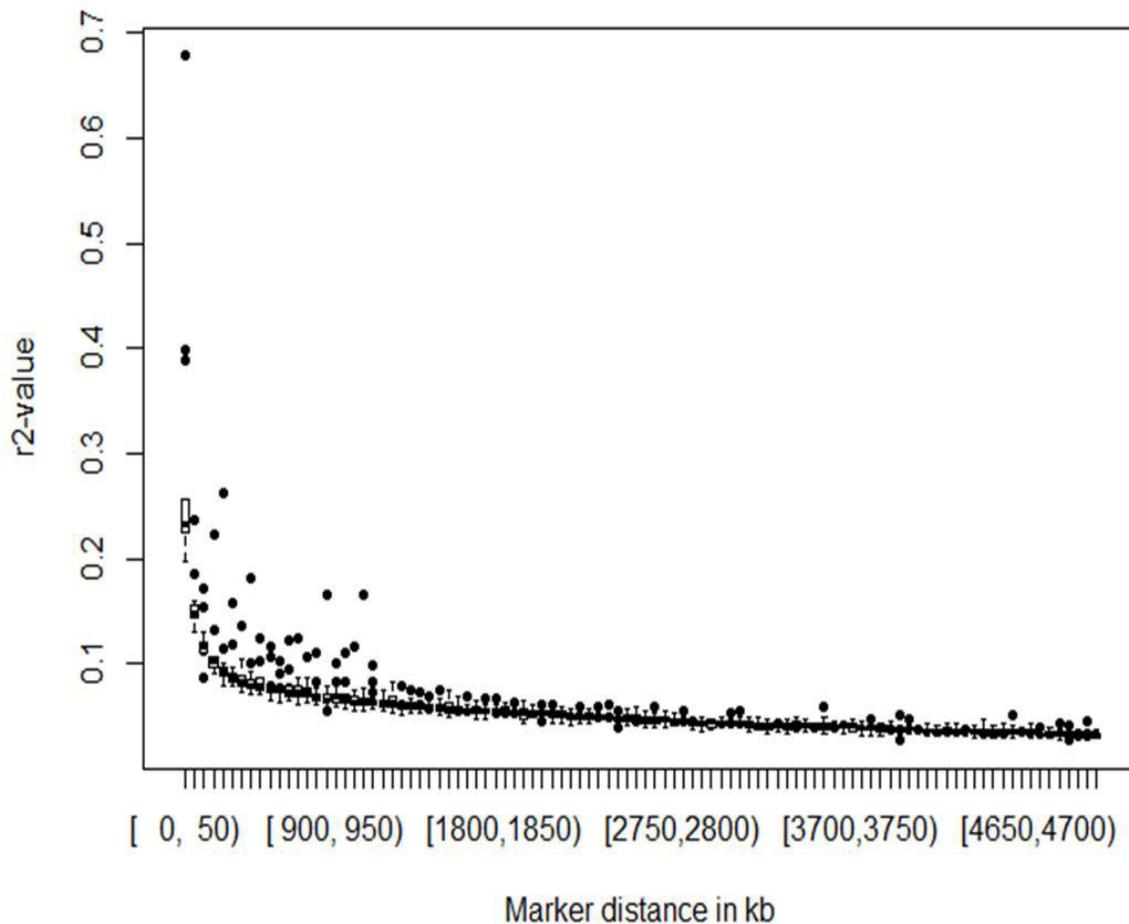


Abbildung 10: Darstellung der Marker-LD-Struktur in der untersuchten Braunviehpopulation über alle Autosomen hinweg. Auf der X-Achse sind die untersuchten Distanzen in kb abgebildet, die Y-Achse gibt den errechneten r^2 -Wert an.

Abbildung 13 zeigt den Abfall des LD für alle untersuchten Autosomen separat. Auch hier ist der Abfall mit zunehmender Inter-Marker Distanz zu beobachten. Auffällig ist das sehr starke LD bei geringen Distanzen von unter 0,025 Mb auf Chromosomen 4, 5, 18 und 26.

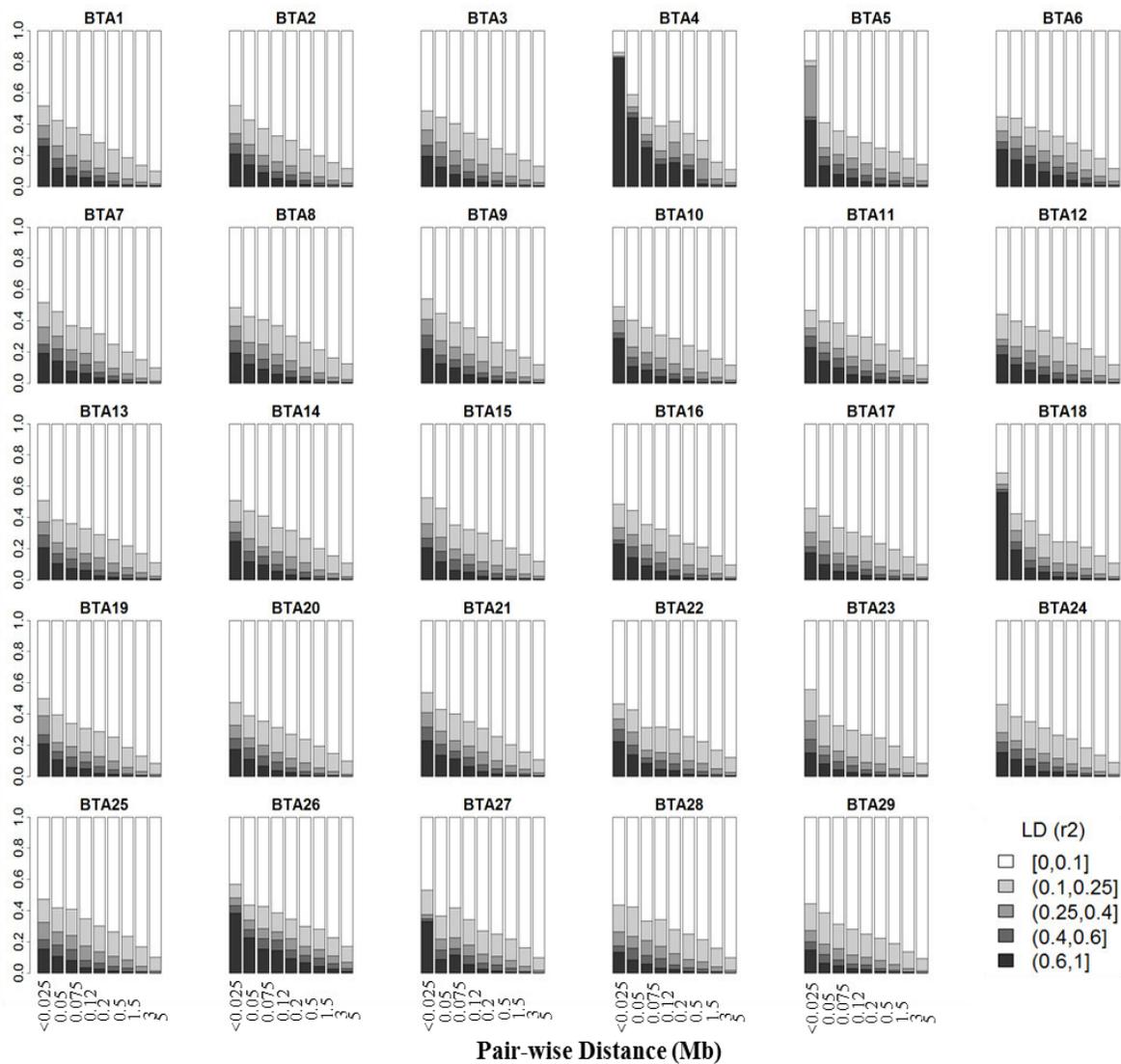


Abbildung 11: Darstellung des LD-Abfalls in der Braunviehpopulation für alle 29 untersuchten *Bos Taurus* Autosomen (BTA).

4.4 Genomweite Assoziationskartierungen

Die genomweiten Assoziationskartierungen der 50K Genotypen zeigten für alle drei Saugreflexkodierungen lediglich 5 SNPs, die das nominale Signifikanzniveau von $P_{\text{nominal}} < 5E-05$ unterschritten. Für das Trinkverhalten konnte bei der Analyse der 50K Genotypen kein signifikanter SNP gefunden werden. Die Manhattan-Plots der GWAS Ergebnisse sind im Anhang abgebildet (Abbildungen A21).

Die Ergebnisse der Kreuzvalidierung zur Feststellung der Imputationsgenauigkeiten sind im Anhang den Abbildungen A19 und A20 zu entnehmen.

Für die HD-Genotypen zeigten die genomweiten Assoziationsanalysen mit den Single-Marker-Modellen für den Saugreflex keinen genomweit signifikanten Marker. Es konnten jedoch für den Saugreflex in allen drei Kodierungsvarianten insgesamt 71 Marker kartiert werden, die das nominale Signifikanzniveau ($P_{\text{nominal}} < 5E-05$) unterschritten. Davon wurden insgesamt 34 SNPs für TC1 hauptsächlich auf Chromosom 7 (13 SNPs), 14 (11 SNPs), und 15 (6 SNPs) lokalisiert, aber auch auf den Chromosomen 9, 11 und 25 zeigten sich signifikante SNPs. Für TC2 konnten insgesamt nur 5 signifikante Marker gefunden werden, während TC3 32 SNPs auf den Chromosomen 7, 10, 11, 14, 15, 21 und 22 zeigte. Eine detaillierte Übersicht gefundener signifikanter SNPs für alle drei Kodierungen des Saugreflexes mit Positionsangaben auf dem Genom und positionelle Kandidatengene ist im Anhang Tabelle A22 zu entnehmen.

Für das Merkmal Trinkverhalten konnten in der Single-Marker-Analyse insgesamt 43 signifikante SNPs gefunden werden, die sich auf den Chromosomen 2, 3, 6, 7, 8, 14, 18, 20 und 28 befinden. Ein SNP auf Chromosom 29 zeigte sich als genomweit signifikant ($P_{\text{genomweit}} < 5E-02$). Auch für die Ergebnisse der GWAS zum Merkmal Trinkverhalten kann eine detaillierte Übersicht zu den gefundenen signifikanten SNPs dem Anhang (Tabelle A23) entnommen werden.

Die Manhattan-Plots der mit BayesC durchgeführten Multi-Marker-Analysen für das Merkmal Saugreflex in allen drei Kodierungsvarianten zeigen für TC1 und TC3 mehrere Regionen, die den festgelegten Schwellenwert von $2E-05$ überschreiten (Abbildung 14 und 16). Für TC2 kann keine deutliche Abweichung der Fenstervarianz festgestellt werden (Abbildung 15).

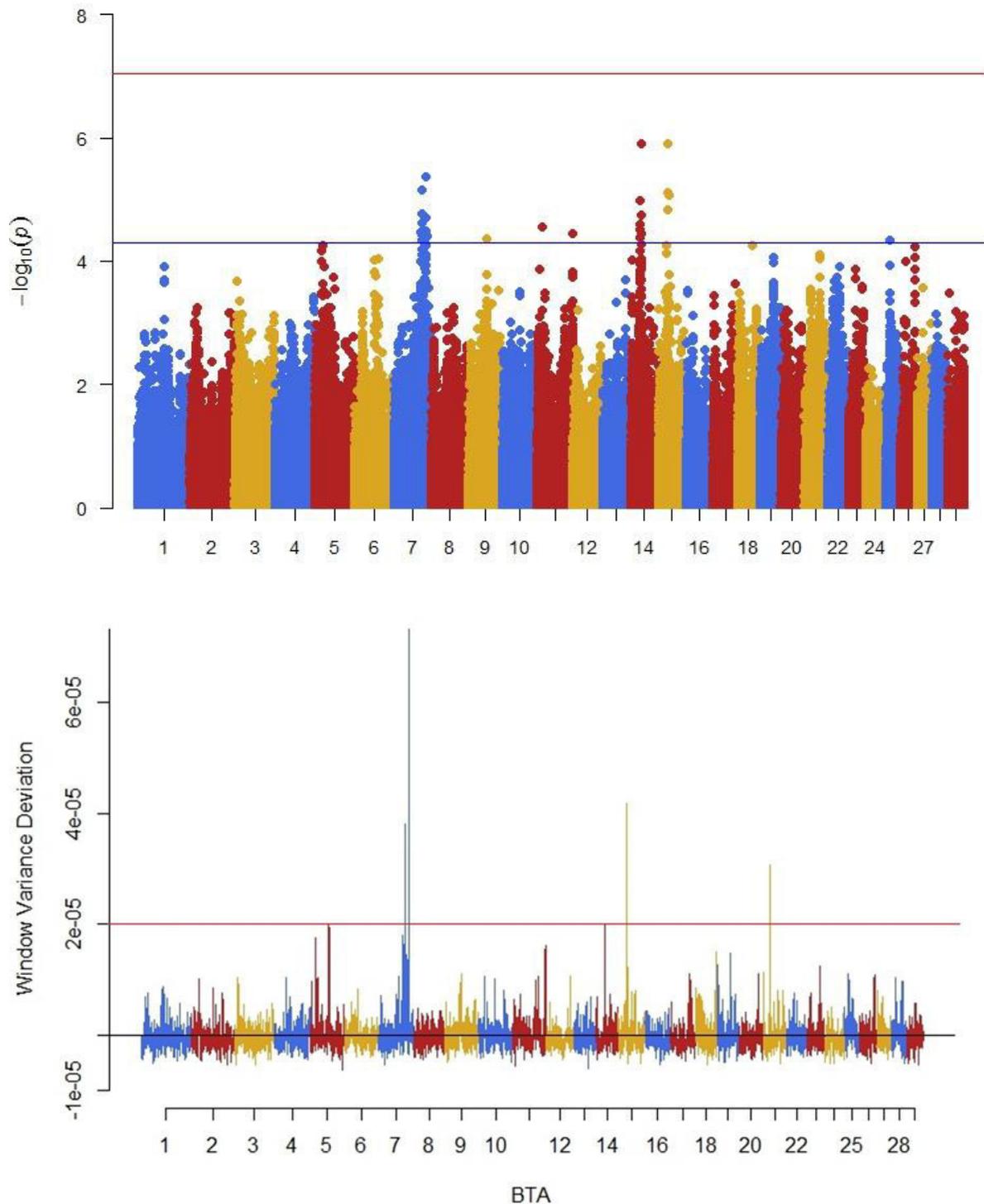


Abbildung 12: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC1. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert) (oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$)

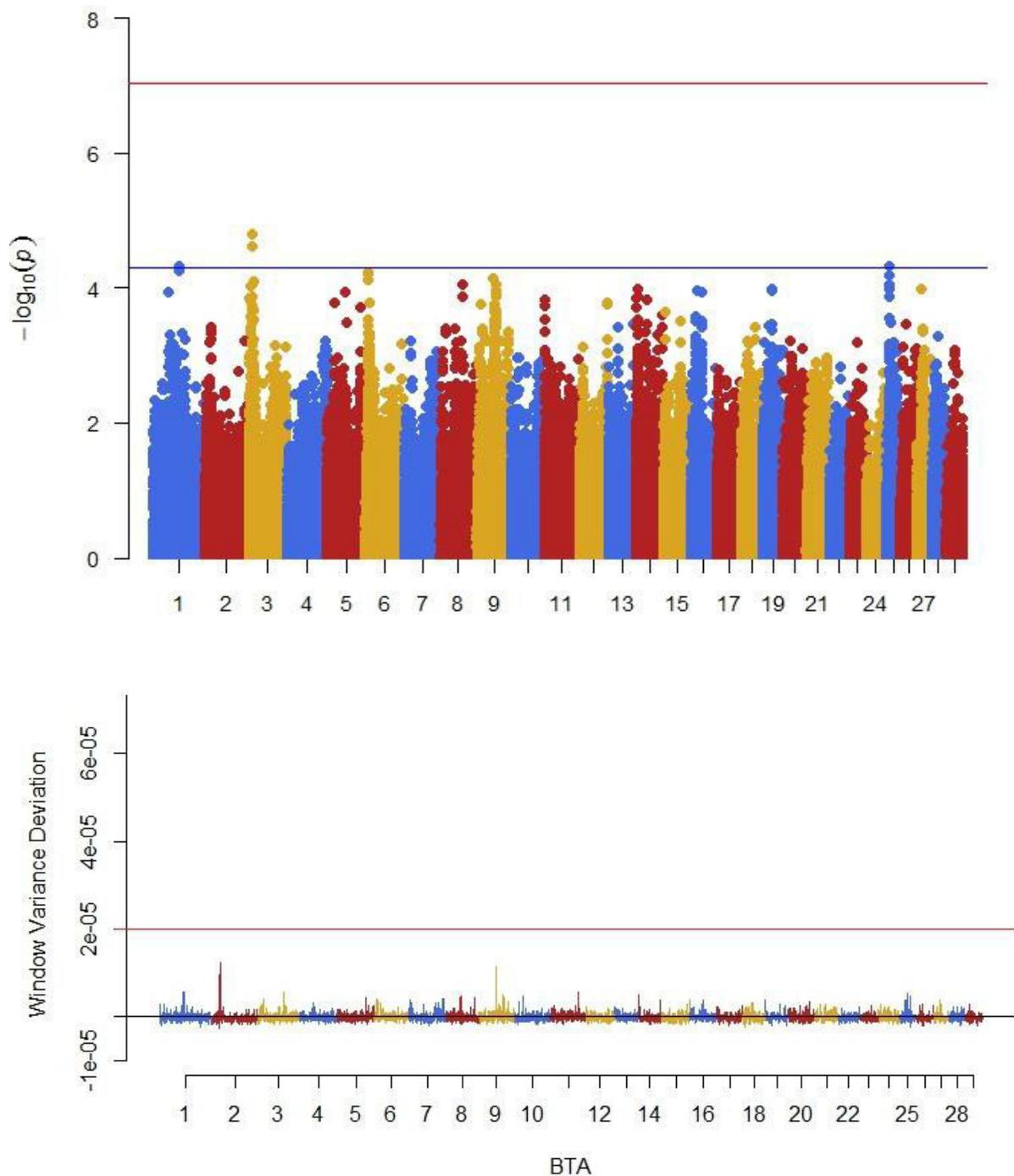


Abbildung 13: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC2. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert)(oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$)

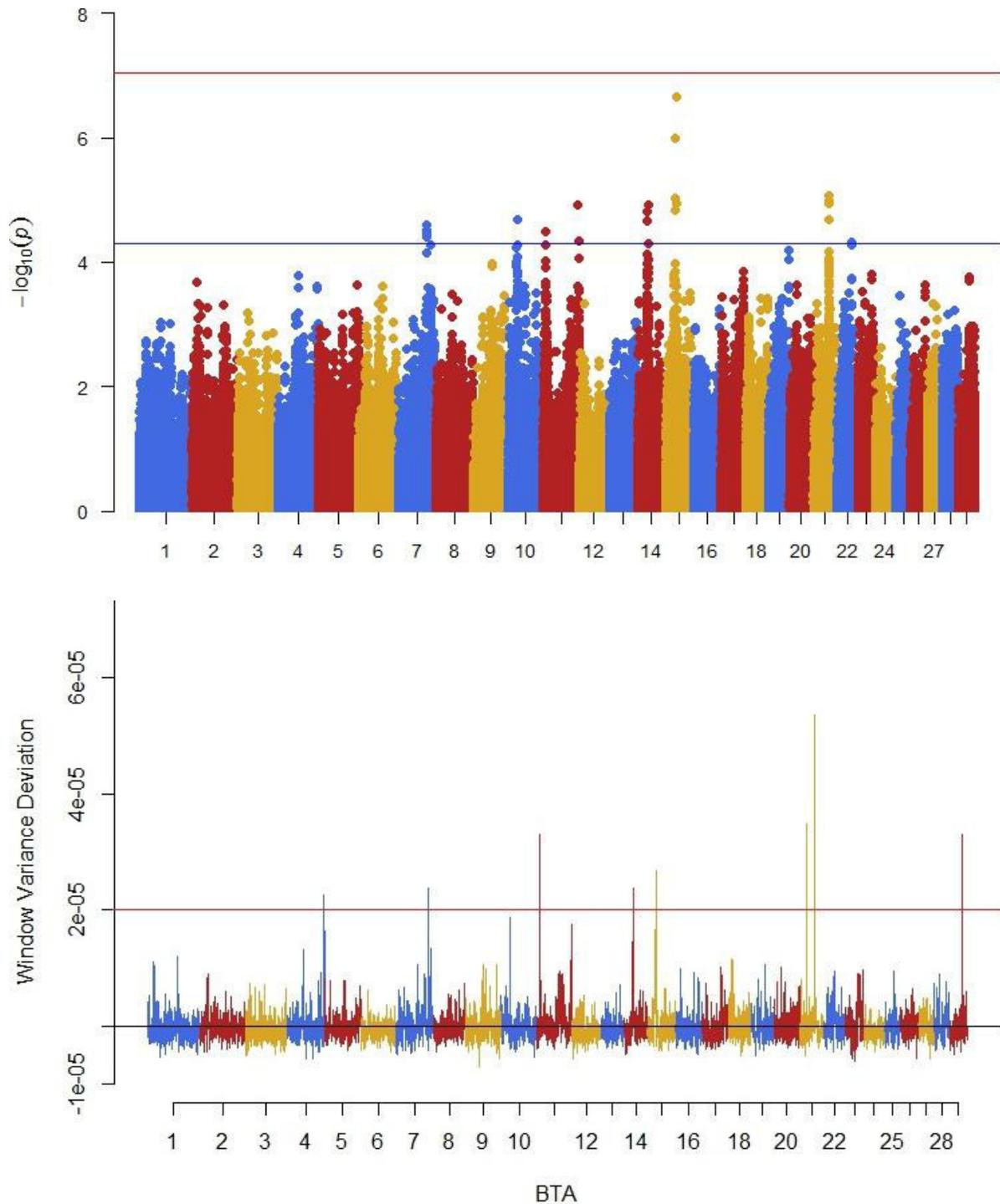


Abbildung 14: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Saugreflex Kodierung TC3. Die x-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert) (oben) bzw. die Windowvarianzabweichungen (unten). Oben: Single-Marker-Modell (rote Linie: $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$). Unten: Multi-Marker-Modell (rote Linie bei $2E-05$)

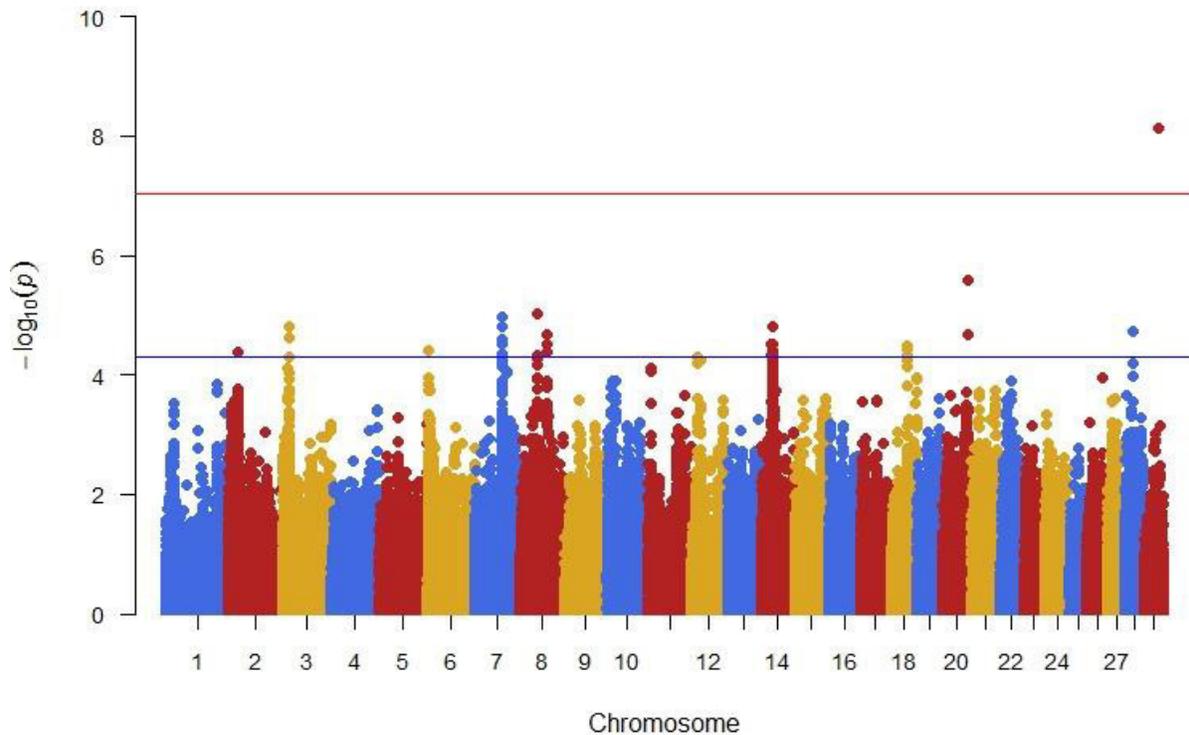


Abbildung 15: Manhattan-Plots mit den Ergebnissen der Genomweiten Assoziationskartierung für Trinkverhalten. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}(P\text{-Wert})$. Die rote Linie zeigt $P_{\text{genomweit}} < 5E-02$, während die blaue Linie: $P_{\text{nominal}} < 5E-05$ zeigt.

Für weitere Analysen wurde lediglich die ordinale Kodierung des Saugreflexes betrachtet. Es zeigte sich, dass insgesamt vier QTL-Regionen gefunden wurden, von denen drei Regionen ebenfalls signifikant mit dem Saugreflex assoziierte SNPs in den Single-Marker-Analysen enthalten (Tabelle 11). Die Gene *EDIL3*, *CEP164* und *CAST* konnten sowohl in den Single-Marker-Analysen, als auch in den Multi-Marker-Analysen als positionelle Kandidatengene bestätigt werden. Insgesamt konnten in Regionen von 1 Mb up- und downstream gefundener signifikanter SNP- bzw. QTL-Regionen 277 positionelle Kandidatengene kartiert werden. Eine Übersicht ist Tabelle 12 zu entnehmen.

Tabelle 11: Gefundene QTL-Regionen aus den genomweiten Multi-Marker-Analysen für Saugreflexkodierung TC1 mit enthaltenen positionellen Kandidatengen und in diesen QTL-Regionen enthaltene signifikante SNPs ($P_{\text{nominal}} < 5E-05$) aus den Single-Marker-Analysen (TC1). Die Positionen (Bp) sind dem NCBI Genomassembly *Bos_taurus_UMD_3.1.1*. entnommen.

Multi-Marker GWAS					Single-Marker GWAS	
QTL-Nr.	BTA	Startposition (Bp)	Endposition (Bp)	Positionelle Kandidatengene	rs-Nr.	Position (Bp)
1	7	86.593.875	86.633.971	<i>EDIL3</i>	rs137246368	86.575.688
					rs136980239	86.582.012
					rs42301774	86.593.875
2	7	98.454.085	98.985.065	<i>CAST, ERAP1, ERAP2, LNPEP, LIX1</i>	rs132707186	98.448.831
					rs110540286	98.449.505
					rs135811099	98.474.995
3	15	28.496.787	28.947.625	<i>CEP164, DSCAML1, FXYD6</i>	rs41758723	28.495.074
					rs41758721	28.495.571
					rs41758719	28.497.908
					rs41758714	28.501.479
4	21	20.282.153	21.041.394	<i>LOC101906218, LOC100298937, LOC100336807, LOC515149, LOC101906604, ACAN, HAPLN3, MFGE8, ABHD2</i>	-	-

4.5 Funktionelle Genannotation und Pfadanalysen

Saugreflex (TC1)

Für den Saugreflex konnten insgesamt 277 positionelle Kandidatengene gefunden werden. Die Positionsangaben zu den untersuchten Regionen, sowie die Anzahl der innerhalb dieser Regionen gefundenen Gene sind in Tabelle 12 aufgelistet. Die Software DAVID konnte alle 277 Gene analysieren, während PANTHER lediglich 173 Gene auf ihre Gen-Ontologie-Terme hin untersuchte.

Tabelle 12: Positionen (Bp) der kartierten 1-Mb-Regionen up- und downstream der gefundenen signifikanten SNPs (SR TC1).

BTA	Region (Bp)	Anzahl gefundener Gene
7	85.575.688-87.593.875	11
7	97.448.831-99.474.995	25
9	56.747.539-58.747.539	7
11	15.152.298-17.152.298	16
11	105.029.236-107.029.236	84
14	28.594.745-34.640.136	47
15	27.495.074-29.501.479	48
15	30.731.747-32.731.747	24
21	20.282.153-21.041.394	9
25	10.841.482-12.841.482	6
Anzahl gesamt:		277

Die Ergebnisse des mit PANTHER durchgeführten Tests auf Über- oder Unterrepräsentation von GO-Termen sind in Tabelle 13 dargestellt. Insgesamt konnten nach Korrektur um multiples Testen anhand der *False Discovery Rate* (FDR) 39 signifikante ($P \leq 0,01$) GO-Terme für biologische Prozesse mit PANTHER gefunden werden. Die höchste Signifikanz wurde hierbei für die Überrepräsentation von Genen festgestellt, welche die Entwicklung des zentralen Nervensystems beeinflussen. Ebenfalls signifikant war die Überrepräsentation von Genen für GO-Terme mit Bezug zu Funktionen des erworbenen Immunsystems oder regulatorischen Prozessen im Fettstoffwechsel. Signifikant unterrepräsentiert waren lediglich Gene für den GO-Term des biologischen Prozesses der Reizantwort.

Die Suche nach funktionalen Gen-Clustern mit der Software DAVID ergab insgesamt 6 Cluster für den Saugreflex (Anhang Tabellen A24-A29). Diese Cluster zeigten Funktionen in der humoralen (Cluster 1) und der zellulären (Cluster 5) Immunantwort, aber auch bei der Entwicklung des zentralen Nervensystems und des Skelettsystems (Cluster 3). Weiterhin konnten Gene geclustert werden, die für den Fettstoffwechsel von Bedeutung sind (Cluster 2 und 4). Die Pfadanalyse mit DAVID unter Verwendung der KEGG- und Reactome-Datenbanken zeigte die signifikante Beteiligung einiger untersuchter Gene bei Prozessen in Immunsystem und endokrinem System (Anhang Tabelle A31).

Tabelle 13: Ergebnisse des Tests mit der Software PANTHER auf Über- (+) oder Unterrepräsentation (-) der GO-Terme für biologische Prozesse für Saugreflex TC1, aufsteigend sortiert nach FDR.

GO-Term	N	Fold Enrichment	Über-/Unterrepräsentiert	P-Wert	FDR
Central nervous system development (GO:0007417)	6	31.76	+	1,13E-07	2,02E-04
Acylglycerol catabolic process (GO:0046464)	5	41.59	+	4,48E-07	2,66E-04
Steroid biosynthetic process (GO:0006694)	6	24.95	+	3,88E-07	3,46E-04
Glycerolipid metabolic process (GO:0046486)	5	27.72	+	2,41E-06	6,15E-04
Cholesterol homeostasis (GO:0042632)	5	29.11	+	1,96E-06	7,00E-04
Sterol biosynthetic process (GO:0016126)	5	30.64	+	1,58E-06	7,05E-04
Glycerolipid catabolic process (GO:0046503)	5	27.72	+	2,41E-06	7,18E-04
Regulation of sodium ion transport (GO:0002028)	5	25.31	+	3,56E-06	7,93E-04
T cell differentiation (GO:0030217)	4	46.58	+	4,77E-06	9,45E-04
Lipoprotein metabolic process (GO:0042157)	4	35.83	+	1,11E-05	1,98E-03
Cholesterol transport (GO:0030301)	4	25.88	+	3,30E-05	4,21E-03
Positive regulation of biosynthetic process (GO:0009891)	3	69.87	+	3,30E-05	4,52E-03
Lipid homeostasis (GO:0055088)	5	15.32	+	3,14E-05	4,67E-03
Regulation of metal ion transport (GO:0010959)	5	15.32	+	3,14E-05	5,09E-03
Regulation of transport (GO:0051049)	9	5.32	+	7,11E-05	8,45E-03

Funktionelle Genannotation und Pfadanalysen

GO-Term	N	Fold Enrichment	Über-/Unter-repräsentiert	P-Wert	FDR
Triglyceride metabolic process (GO:0006641)	4	17.25	+	1,34E-04	1,19E-02
Secondary alcohol metabolic process (GO:1902652)	4	17.91	+	1,17E-04	1,23E-02
Steroid metabolic process (GO:0008202)	6	7.94	+	1,54E-04	1,25E-02
Regulation of ion transmembrane transport (GO:0034765)	4	17.25	+	1,34E-04	1,26E-02
Extracellular structure organization (GO:0043062)	4	16.63	+	1,52E-04	1,29E-02
Cholesterol metabolic process (GO:0008203)	4	17.91	+	1,17E-04	1,31E-02
Regulation of cation transmembrane transport (GO:1904062)	4	17.25	+	1,34E-04	1,33E-02
Regulation of localization (GO:0032879)	9	4.68	+	1,81E-04	1,40E-02
Positive regulation of cellular metabolic process (GO:0031325)	4	15.53	+	1,93E-04	1,44E-02
System development (GO:0048731)	6	7.35	+	2,28E-04	1,63E-02
Regulation of ion transport (GO:0043269)	5	9.39	+	2,67E-04	1,83E-02
Regulation of ion transmembrane transporter activity (GO:0032412)	4	13.7	+	3,00E-04	1,91E-02
Response to stimulus (GO:0050896)	3	0.2	-	3,17E-04	1,95E-02
Regulation of transmembrane transporter activity (GO:0022898)	4	13.7	+	3,00E-04	1,98E-02
Glycine transport (GO:0015816)	2	> 100	+	4,28E-04	2,31E-02
Neutral lipid metabolic process (GO:0006638)	4	12.59	+	4,03E-04	2,32E-02
Regulation of transmembrane transport (GO:0034762)	4	12.26	+	4,43E-04	2,32E-02
Proline transport (GO:0015824)	2	> 100	+	4,28E-04	2,38E-02
Acylglycerol metabolic process (GO:0006639)	4	12.59	+	4,03E-04	2,40E-02

GO-Term	N	Fold Enrichment	Über-/Unterrepräsentiert	P-Wert	FDR
Regulation of lipid metabolic process (GO:0019216)	4	11.64	+	5,30E-04	2,70E-02
Branched-chain amino acid transport (GO:0015803)	2	77.63	+	7,09E-04	3,51E-02
Phospholipid transport (GO:0015914)	4	9.7	+	1,00E-03	4,83E-02
Neutral amino acid transport (GO:0015804)	2	58.22	+	1,06E-03	4,84E-02
Alanine transport (GO:0032328)	2	58.22	+	1,06E-03	4,96E-02

Trinkverhalten

Für das Trinkverhalten konnten insgesamt 232 Gene innerhalb der 1-Mb-Regionen up- und downstream von gefundenen signifikanten SNPs der Single-Marker-GWAS kartiert werden (Tabelle 14). Die Analyse auf Über- oder Unterrepräsentation von GO-Termen mit PANTHER zeigte nach Korrektur über die FDR keine signifikanten Ergebnisse. PANTHER konnte von den 232 eingelesenen Genen lediglich 140 analysieren, während DAVID insgesamt 227 Gene analysierte. Es konnte ein signifikantes Gencluster mit einem Enrichment Score von 1,52 gefunden werden (Anhang Tabelle A30). Dieses Cluster enthält Gene, die Funktionen im katabolen Proteinstoffwechsel gemeinsam haben. Die Genanreicherungsanalyse mit dem in DAVID ebenfalls implementierten *functional annotation chart* Tool ergab 12 ($P < 5E-02$) GO-Terme für biologische Prozesse im Bereich der Signalübertragung und der Entwicklung des Gehirns (Tabelle 15).

Tabelle 14: Positionen der kartierten 1-Mb-Regionen up- und downstream der gefundenen signifikanten SNPs (TV).

BTA	Region (Bp)	Anzahl gefundener Gene
2	22.939.641-24.939.641	15
3	12.635.591-14.719.712	46
6	3.066.097-5.066.097	11
7	67.153.116-70.571.902	23
8	41.494.815-43.494.815	17
8	68.023.256-70.228.319	20

Funktionelle Genannotation und Pfadanalysen

BTA	Region (Bp)	Anzahl gefundener Gene
14	26.938.528-32.135.094	27
18	41.826.428-43.842.089	19
20	63.565.481-66.094.366	8
28	16.896.938-18.896.938	11
29	36.358.973-38.358.973	35
Anzahl gesamt:		232

Tabelle 15: Ergebnisse des mit DAVID durchgeführten functional annotation chart für GO-Terme biologischer Prozesse für das Merkmal Trinkverhalten.

GO-Nummer	Term	P-Wert	FDR	Gene
GO:0045746	negative regulation of Notch signaling pathway	1,22E-02	0,16	<i>DLX2, DLX1, PEAR1</i>
GO:0060021	palate development	1,47E-02	0,19	<i>CHD7, BBS7, ARID5B, ASPH</i>
GO:0021893	cerebral cortex GABAergic interneuron fate commitment	1,53E-02	0,2	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0021882	regulation of transcription from RNA polymerase II promoter involved in forebrain neuron fate commitment	2,28E-02	0,28	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0021544	subpallium development	2,28E-02	0,28	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0007265	Ras protein signal transduction	2,34E-02	0,29	<i>DOK2, IQGAP3, CCNA2</i>
GO:0021766	hippocampus development	2,64E-02	0,31	<i>DLX2, DLX1, BCAN</i>
GO:0043524	negative regulation of neuron apoptotic process	3,09E-02	0,36	<i>NES, DLX1, NTRK1, NDNF</i>
GO:0060411	cardiac septum morphogenesis	3,78E-02	0,42	<i>CHD7, HAND1</i>
GO:0042475	odontogenesis of dentin-containing tooth	3,93E-02	0,43	<i>DLX2, DLX1, HAND1</i>
GO:0030163	protein catabolic process	4,29E-02	0,46	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
GO:0006508	proteolysis	4,56E-02	0,48	<i>ST14, PAG10, GGH, PAG2, PAG12</i>

4.6 Einfluss des maternalen Genoms auf den Saugreflex der Kälber

Maternale Heritabilität

Die mit der Software GCTA geschätzten maternalen Heritabilitäten für die drei Kodierungen des Saugreflexes sind in Tabelle 16 dargestellt. Die maternale Heritabilität befindet sich insgesamt in einem niedrigen Bereich. Die höchste Heritabilität konnte für die binäre Kodierung TC3 bei 0,10 geschätzt werden, für TC2 wurde mit 0,03 die geringste Heritabilität festgestellt.

Tabelle 16: Maternale genomische Heritabilitäten (h_{SNP}^2) und Standardfehler (SE) der drei Saugreflexkodierungen.

Kodierung Saugreflex	h_{SNP}^2	SE
TC1	0,06	0,049
TC2	0,03	0,040
TC3	0,10	0,060

Genomweite Assoziationskartierungen

Die Single-Marker-Analysen der maternalen 50K Genotypen zeigten für die binären Kodierungsvarianten TC2 und TC3 jeweils einen signifikanten Marker auf Chromosom BTA 19 (TC2) und auf Chromosom 14 (TC3) (Tabelle 17). Abbildung 18 stellt die Manhattan-Plots der GWAS für die drei Saugreflexkodierungen dar. Für die ordinale Kodierungsvariante TC1 konnte kein signifikanter Marker kartiert werden. Der auf Chromosom 14 ermittelte signifikante SNP rs41567288 konnte innerhalb der Region des positionellen Kandidatengens *TRAPPC9* annotiert werden. Sowohl der Test auf Über- oder Unterrepräsentation spezifischer GO-Terme, als auch die durchgeführten Genanreicherungs- und Pfadanalysen zeigten keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 17: Signifikante SNPs aus der Single-Marker-GWAS und positionelle Kandidatengene.

Saugreflex Kodierung	Rs-Nr.	IlluminaSNP Name	BTA	Bp	P-Wert	Positionelles Kandidatengen
TC2	rs29027430	Hapmap60988- rs29027430	19	33.326.152	3,65E-05	-
TC3	rs41567288	UA-IFASA- 5765	14	4.520.969	1,67E05	<i>TRAPPC9</i>

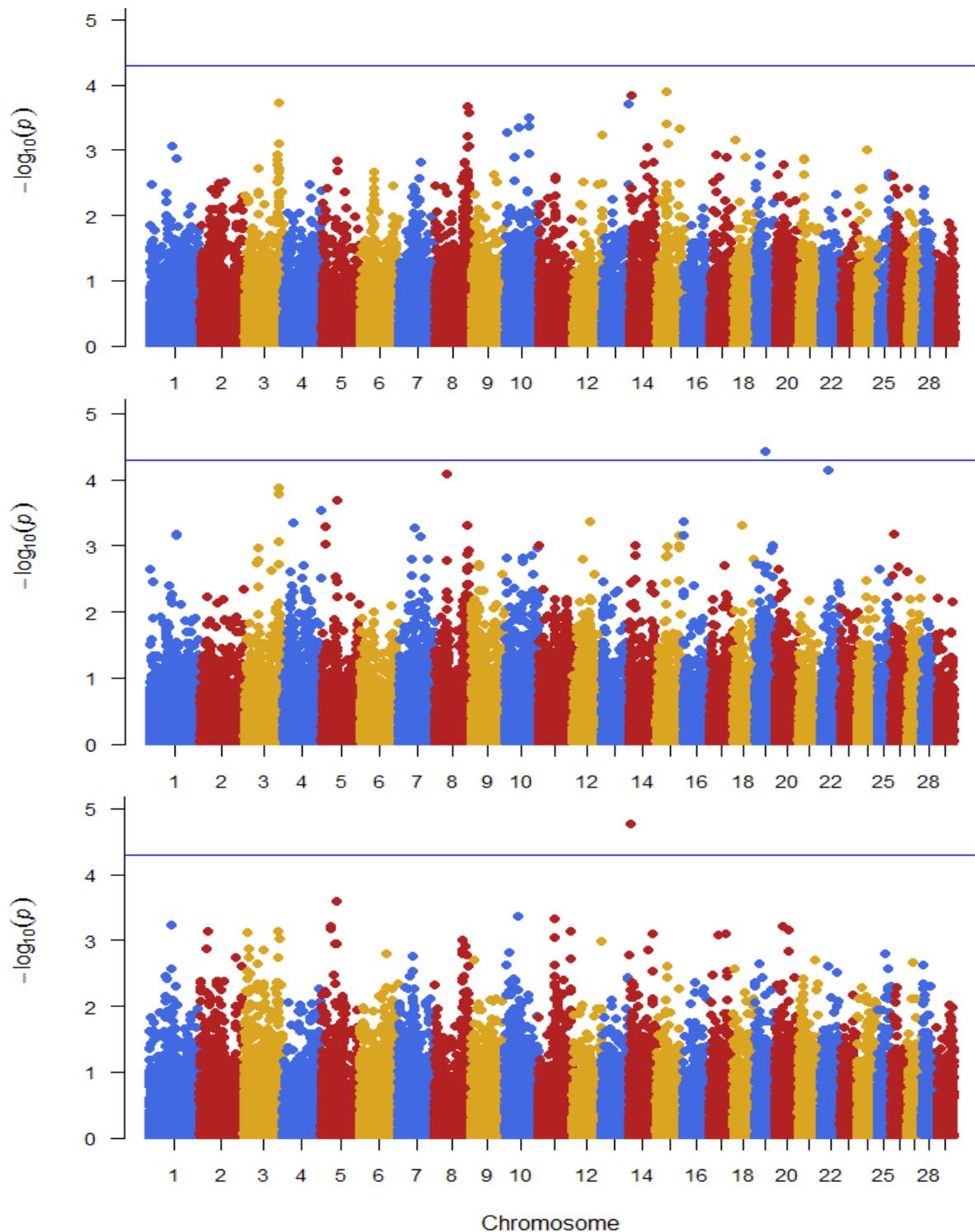


Abbildung 16: Manhattan-Plots der Single-Marker-GWAS zu maternalen Einflüssen auf den Saugreflex. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Oben: TC1. Mitte: TC2. Unten: TC3. Die blaue Linie zeigt das nominal Signifikanzniveau von $P < 5E-05$.

4.7 Betriebseinflüsse

Den Tabellen 18a und 18b ist die Übersicht der Mittelwerte im Saugreflex zu entnehmen, die Betriebsnummern wurden durch alphabetische Buchstaben ersetzt. Der Saugreflexmittelwert der 10 besten Betriebe liegt zwischen 3,08 und 3,33 (Tabelle 18a), innerhalb der 10 schlechtesten Betriebe befindet sich der Saugreflex im Mittel zwischen 2,39 und 2,66 (Tabelle 18b).

Tabelle 18a: Übersicht der 10 besten Betriebe nach Saugreflexmittelwert

Betrieb	Mittelwert Saugreflex
A	3,082
B	3,100
C	3,111
D	3,130
E	3,143
F	3,154
G	3,181
H	3,279
I	3,314
J	3,333

Tabelle 18b: Übersicht der 10 schlechtesten Betriebe nach Saugreflexmittelwert

Betrieb	Mittelwert Saugreflex
K	2,391
L	2,483
M	2,484
N	2,590
O	2,600
P	2,620
Q	2,636
R	2,644
S	2,645
T	2,660

Betriebseinflüsse

Die Analyse der Saugreflexmittelwerte im Vergleich zwischen den Betrieben zeigte keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Haltungs- oder Fütterungsform auf den Betrieben (Tabelle 19). Die Varianzanalyse zur Feststellung welches Mineralfutter einen Einfluss auf die Ausprägung der Saugreflexmittelwerte zeigt, ergab kein signifikantes Ergebnis (Tabelle 20).

Tabelle 19: Ergebnisse des Mittelwertvergleichs zwischen guten und schlechten Betrieben mittels Fisher`s Exakt Test.

Effekt	P-Wert
Weidehaltung Kühe	1,00
Mineralfutter Kühe	0,21
Weidehaltung Trockensteher	0,63
Anfütterung Trockensteher	0,47
Mineralfutter Trockensteher	0,14

Tabelle 20: Ergebnis der Varianzanalyse zum Einfluss der Mineralfutterkomponenten in der Kuh- (K) bzw. Trockensteherration (T) auf den mittleren Saugreflex.

Komponente	P-Wert
Ca _K	0,14
P _K	0,06
Mg _K	0,58
Se _K	0,54
Ca _T	0,97
P _T	0,70
Mg _T	0,22
Se _T	0,45

5 Allgemeine Diskussion

Um die Fähigkeit einer frühzeitigen Kolostrumaufnahme bei Kälbern der Rasse Braunvieh zu charakterisieren, wurden in der vorliegenden Arbeit ausführliche Pedigree-basierte genetische und genomische Analysen mittels hochdichter Markerkarten zu den Merkmalen perinataler Saugreflex und Trinkverhalten durchgeführt. Die durch GWAS kartierten positionellen Kandidatengene wurden auf ihre Eignung als putative funktionelle Kandidatengene anhand von Gen-Ontologie-Termen und Pfadanalysen überprüft. Um den Einfluss der mütterlichen Genetik auf das Merkmal perinataler Saugreflex beim Kalb ermitteln zu können, wurden maternale Heritabilitäten für den Saugreflex der Kälber über die genomischen Informationen der Mütter geschätzt. Mittels Analyse einzelner Betriebsfaktoren sollte versucht werden, den starken Einfluss des Betriebes auf den Saugreflex der Braunviehkälber weiter zu differenzieren und näher zu spezifizieren. Im Folgenden werden die Ergebnisse der durchgeführten Analysen und die daraus resultierenden Entscheidungen für die Zuchtpraxis diskutiert.

Maltecca et al. (2007) erfassten das perinatale Saugverhalten der Kälber. Dadurch sollte sowohl die Fähigkeit eines Kalbes zur Kolostrumaufnahme dokumentiert werden, als auch die Bereitschaft und Motivation des Kalbes, dieses Verhalten auszuüben. Einige Studien beschäftigten sich bereits mit dem Einfluss der das Kalb betreuenden Person und der Art der Kolostrumdarbietung auf die Kolostrumaufnahme des neugeborenen Kalbes (Kehoe et al., 2007; Vasseur et al., 2009). Häufig ist die Bereitschaft des Kalbes zur Kolostrumaufnahme abhängig von der Intensität der Betreuung in den ersten Stunden nach der Geburt (Roth et al., 2009). Dadurch wird deutlich, dass schon bei einer allgemeinen Erfassung des Trinkverhaltens ein größerer Einfluss verschiedener Faktoren herrscht, z.B. wenn nicht auch um den Effekt der betreuenden Person korrigiert werden kann. Daher wurde in den in dieser Arbeit vorgestellten Analysen zwischen den Merkmalen Trinkverhalten und Saugreflex differenziert. Bei der Erfassung des Saugreflexes der Kälber wird eine fehlerhafte Kolostrumaufnahme aufgrund einer fehlenden Bereitschaft schon durch die Definition des Reflexbegriffes ausgeschlossen: Ein Reflex kann zwar erlernt oder antrainiert werden, gilt allerdings als nicht kontrollierbare Bewegung oder Reaktion auf einen äußerlichen Reiz (Pavlov, 2010).

Die Inzidenz eines vollständig fehlenden Saugreflexes von 7 % in der untersuchten Population sowie der Anteil von 9 % an Kälbern, die zwangsernährt werden mussten, decken sich mit den Ergebnissen anderer Studien (Rossoni et al., 2005; Maltecca et al., 2007). Insgesamt zeigen 21 % der Kälber in der Population Probleme bei der Ausprägung eines gesunden Saugreflexes. Dieses hohe Vorkommen in der Population macht deutlich, dass eine Verbesserung des perinatalen

Saugreflexes in der Rasse Braunvieh dringend erforderlich ist. Der Wunsch der Einbeziehung dieses Merkmals in den Gesamtzuchtwert wurde von den Züchtern dieser Rasse bereits geäußert (Just et al., 2018).

Die anhand der Varianzanalyse ermittelten Einflussfaktoren auf den Saugreflex und das Trinkverhalten der Kälber ergaben höchst signifikante ($P < 1E-05$) Betriebseffekte. Auch Maltecca et al. (2007) konnten einen Einfluss des Betriebes in ihren Studien feststellen. Die daraufhin durchgeführten Auswertungen hinsichtlich spezifischer Einflüsse der Betriebe in Bezug auf die Haltungs- und Fütterungsumwelten der Kühe und Kälber zeigten jedoch keine signifikanten Unterschiede, welche die starken Betriebseffekte näher hätten spezifizieren können. Dies könnte unter anderem durch die nicht konsistente Datenerfassung in Bezug auf die Betriebsfragebögen zu erklären sein. Für eine aussagekräftige Unterscheidung spezifischer Betriebsunterschiede, z.B. in Bezug auf die Fütterung, hätten sowohl eine genaue Analyse der auf den Betrieben verabreichten Rationen und ihrer Inhaltsstoffe erfolgen müssen, sowie eine Kontrolle der tatsächlich erfolgten Aufnahme der Futterkomponenten. Um die Versorgung mit einer ausreichenden Menge an Mineral- und Spurennährstoffen feststellen zu können, wären zudem Blutuntersuchungen der Kühe und Kälber nötig gewesen. Diese Analysen konnten jedoch im Rahmen des durchgeführten Projektes nicht vorgenommen werden.

Weitere Effekte mit signifikantem Einfluss auf die untersuchten Zielmerkmale waren das Halbjahr der Geburt der Kälber, sowie die Größe bzw. Qualität der Kälber und auch der Zustand nach der Geburt. Kälber, die in den Wintermonaten geboren wurden, hatten einen häufig schlechter ausgeprägten Saugreflex. Diese Beobachtung werden von Maltecca et al. (2007) bestätigt. Vasseur et al. (2009) konnten zeigen, dass sich für die Vorhersage der aufgenommenen Kolostrummenge eines neugeborenen Kalbes am besten die Indikatoren Größe und Vitalität der Kälber nach der Geburt eigneten. Auch Homerosky et al. (2017) fanden einen Einfluss des Zustandes der Kälber nach der Geburt auf den Saugreflex. Ein in Züchterkreisen allgemein häufig diskutierter Einfluss des Geschlechts auf die Ausprägung des Saugreflexes ließ sich weder in den hier durchgeführten Analysen nachweisen, noch konnten Studien von Vasseur et al. (2009) oder Maltecca et al. (2007) signifikante Geschlechtseffekte bestätigen. Ein signifikanter Einfluss des Laktationsstadiums, des Kalbeverlaufs oder des Zwillingstatus auf die Kolostrumaufnahme neugeborener Kälber konnten in dem vorliegenden Datensatz, im Gegensatz zu anderen Studien (Maltecca et al., 2007; Homerosky et al., 2017), nicht gezeigt werden.

Die Trächtigkeitsdauer der Kühe hatte einen signifikanten Einfluss auf den Saugreflex der Kälber, wenn Größe oder Zustand der Kälber nicht berücksichtigt wurden. Daher wurden ebenfalls Varianzkomponentenschätzungen durchgeführt, die statt Größe und Zustand des Kalbes die

Trächtigkeitsdauern in das Modell integrierten (siehe folgendes Unterkapitel *Genetische Parameter*)

Genetische Parameter

Zwischen den beiden Merkmalen Saugreflex und Trinkverhalten konnten hohe phänotypische und genetische Korrelationen geschätzt werden. Das negative Vorzeichen der Korrelationen ergibt sich hierbei aus der gegensätzlichen Kodierung der beiden Merkmale, wobei die aufsteigende Kodierung des Saugreflexes als positiv für eine gute Kolostrumaufnahme zu werten ist, beim Trinkverhalten jedoch als negativ. Je nach Abhängigkeit der angewandten Modelle und Merkmalskodierungen lagen die geschätzten Heritabilitäten für beide Zielmerkmale in einem niedrigen Bereich zwischen 0,6 und 0,23. Für das Trinkverhalten konnten leicht höhere Heritabilitäten geschätzt werden, als für den perinatalen Saugreflex. Dies könnte dadurch begründet sein, dass bei der Betrachtung des Trinkverhaltens zusätzlich zu einem schlecht ausgeprägten Saugreflex noch weitere genetisch bedingte Faktoren einfließen könnten, die zu einer eingeschränkten Kolostrumaufnahme führen, die jedoch nicht näher analysiert werden konnten. Insgesamt sind die ermittelten Heritabilitäten in Übereinstimmung mit den bisherigen Ergebnissen aus der Literatur (Rossoni et al., 2005; Maltecca et al., 2007). Trotz der geringen Erblichkeit des Saugreflexes ist eine Einbeziehung des Merkmals in die Zuchtwertschätzung möglich. Die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Vater einen fehlerhaften Saugreflex an seine Nachkommen vererbt, zeigt bei der Vorhersage der Zuchtwerte eine nutzbare genetische Variation, sodass die Betrachtung des Merkmals Saugreflex in der praktischen Zuchtwertschätzung erfolgsversprechend scheint. Auch andere niedrig erbliche Fitnessmerkmale werden im Gesamtzuchtwert beim Braunvieh bereits berücksichtigt und zeigen trotz niedriger Heritabilitäten einen Selektionserfolg (Fuerst-Waltl et al., 2016). Die im multivariaten Modell erzielten höheren Heritabilitäten für Saugreflex und Trinkverhalten könnten sich dadurch erklären lassen, dass sowohl der Zustand des Kalbes, als auch Größe und Gewicht erbliche Merkmale sind und hohe genetische Korrelationen mit beiden Zielmerkmalen zeigen. Eine Betrachtung als Kovariaten im univariaten Modell wird den Abhängigkeiten zwischen den Merkmalen nicht vollständig gerecht. Jedoch war die Betrachtung der Merkmale Zustand, Qualität und Größe des Kalbes als Kovariaten in den angewandten univariaten Modellen sinnvoll, um die lediglich den Saugreflex und das Trinkverhalten betreffende genetische Variation erfassen zu können. Für weitere Analysen der Zusammenhänge zwischen den betrachteten Merkmalen, sowohl als abhängige oder unabhängige Variablen, wäre die Verwendung von Strukturgleichungsmodellen, wie in Gianola und Sorensen (2004) beschrieben, zu empfehlen.

Ein Vergleich über den Einfluss der unterschiedlichen Merkmalskodierungen des Saugreflexes ergab die höchsten Heritabilitäten für die ordinale Merkmalskodierung TC1, weshalb diese Kodierung auch für eine praktische Erfassung zu bevorzugen wäre. Eine binäre Kodierung, wie in Variante TC2 untersucht, wäre ebenfalls ratsam, da die mit einem unzureichenden Saugreflex assoziierten Probleme hauptsächlich auf das völlige Fehlen des Reflexes zurückzuführen sind. Die mit der binären Merkmalskodierung TC2 erzielten schlechteren Ergebnisse könnten aus der unbalancierten Datenstruktur resultieren. Diese ergab sich aus dem Zusammenfassen der drei Kategorien „schwacher Reflex“, „normaler Reflex“ und „starker Reflex“ im Vergleich zur bedeutend geringeren Anzahl an Kälbern in der Kategorie „kein Reflex“.

Die Berücksichtigung der Trächtigkeitsdauern als Kovariaten in den univariaten Läufen zeigten niedrigere Heritabilitäten, als bei Integration von Zustand und Größe (ZQ) der Kälber in die Modelle. Für die Berücksichtigung des Merkmals Saugreflex in der Routine ist allerdings die Verwendung der Trächtigkeitsdauern als lineare und quadratische Kovariaten zu empfehlen, da diese in der Routineerfassung den Zuchtwertschätzstellen bereits vorliegen. Größe und Zustand der Kälber müssten ansonsten ebenfalls zusätzlich in die Routineerfassung implementiert werden, was wiederum mit einem zusätzlichen Aufwand, auch für die Landwirte, einhergeht.

Um eine zügige Verbesserung der Kolostrumaufnahme in der Population zu erzielen, sollte in der Routineerfassung allerdings die Dokumentation des Trinkverhaltens erfolgen, da dieses zum einen neben dem Saugreflex noch weitere, bisher unbekannte genetische Ursachen berücksichtigen kann und zum anderen durch die höhere Heritabilität einen schnelleren Zuchtfortschritt verspricht. Da jedoch nicht alle Betriebsleiter das Drenchen der Kälber vornehmen, sollten hierbei die Kategorien „einmaliges Drenchen“ bzw. „mehrmaliges Drenchen“ ersetzt werden.

Genomische Analysen

Die Ergebnisse der genomweiten Assoziationskartierungen mit den Single-Marker- und Multi-Marker-Modellen zeigten deutlich den polygenen Hintergrund der Merkmale Saugreflex und Trinkverhalten. Aus diesen Erkenntnissen lässt sich für die praktische Züchtung ableiten, dass eine Verbesserung der Problematik anhand von Gentests, wie dies beispielsweise bei monogenen Erbkrankheiten erfolgt, nicht zielführend ist. Stattdessen könnte ein Zuchtfortschritt über den Einsatz der genomischen Selektion vielversprechend sein. Dafür ist allerdings eine konstante Merkmalserfassung erforderlich. Die ersten Ergebnisse der GWAS mit 50K-SNP Genotypen (Anhang Abbildung A21 und A22) enthielten aufgrund der geringen Markerdichte kaum signifikant assoziierte SNPs, weshalb die Erhöhung der Markerdichte auf 777K SNPs zur Identifizierung kausaler Genorte als sinnvoll bewertet werden kann. Die Annahme der

Fenstergröße von 1 cM für die Darstellung der Fenstervarianzen im Multi-Marker-Modell ist bei Betrachtung der in der Population herrschenden LD-Struktur (Abbildungen 12 und 13) gerechtfertigt, da bei Inter-Marker-Abständen von mehr als 1 cM das LD zwischen den SNPs stark abnimmt. Der Vergleich der Multi-Marker-Analysen für Saugreflexkodierung TC1 mit den Ergebnissen der Single-Marker-Analysen (Tabelle 11) zeigte die Überlappung von drei Genregionen mit den gleichen positionellen Kandidatengen an. Der genetische Hintergrund eines fehlerhaften Saugreflexes könnte sich durch die genauere Betrachtung der Ergebnisse der funktionellen Genannotation und der Analyse von über- oder unterrepräsentierten GO-Termen erschließen. Ein schlecht ausgeprägter postnataler Saugreflex könnte zum Beispiel durch eine fehlerhafte Weiterleitung von Sensorreizen oder Nervenimpulsen zustande kommen. Tatsächlich zeigt Tabelle 13 die höchste Signifikanz für eine Überrepräsentation des GO-Terms der Entwicklung des zentralen Nervensystems. Zudem konnten Regionen detektiert werden, die Gene enthalten wie *DSCAML1*, *HAPLN1*, *HAPLN3*, *ACAN*, und *VCAN*. Diesen Genen werden Funktionen in der Neurogenese, der Gehirnentwicklung und der Signalübertragung in Nervenzellen zugeschrieben. Auch die für das Trinkverhalten durchgeführten funktionellen Genannotationen zeigten eine Überrepräsentation von GO-Termen, die mit der Entwicklung verschiedener Hirnareale assoziiert werden (Tabelle 15). Denen im Anhang enthaltenen Tabellen A25 und A26 sind Cluster zu entnehmen, die sowohl mit der Entwicklung des zentralen Nervensystems, dem Hormonsystem und dem Fettstoffwechsel assoziiert sind. Auch die Ergebnisse der durchgeführten Pfadanalyse konnte Gene mit Funktionen in Fettstoffwechsel und Hormonsystem herausfinden (Anhang Tabelle 30). Es ist bekannt, dass der Fettstoffwechsel bei der Neurogenese und der Signalübertragung eine wichtige Rolle einnimmt, da er für die Myelinisierung der Axone mit verantwortlich ist. Außerdem werden neurodegenerative Erkrankungen oft mit einem fehlerhaften Fettstoffwechsel in Verbindung gebracht (Bales, 2010; Shamim et al., 2018). Eine intensive Betrachtung weiterer Reflexe der betroffenen Kälber wäre hilfreich gewesen, um eine generelle Fehlfunktion verschiedenster Reflexe auszuschließen. Eine weitere Erklärung für einen fehlerhaften Saugreflex könnte ein fehlendes Hungergefühl des Kalbes sein. Diese Vermutung wird unterstützt durch das Kandidatengen *CRH* (*corticotropin releasing hormone*) auf Chromosom 14, das nicht nur involviert ist in die Stressreaktion und das explorative Verhalten, sondern auch die Futterraufnahme beeinflusst, sowie physiologische Gegebenheiten, die mit der Futterraufnahme assoziiert sind (Glowa et al., 1992; Arborelius et al., 1999; Bernier, 2006). Auch eine fehlerhafte olfaktorische Wahrnehmung bei saugreflexschwachen Kälbern wurde angenommen. Diese Annahme basierte auf Studien in Schweine- und Mäusepopulationen, in denen bereits festgestellt werden konnte, dass dem olfaktorischen System eine wichtige Funktion bei der Suche nach der Milchquelle und der Einleitung eines Saugreflexes

zukommt (Morrow-Tesch und McGlone, 1990; Hongo et al., 2000). Diese Annahme konnte jedoch nicht durch entsprechende funktionelle Kandidatengenregionen bestätigt werden.

Bei Betrachtung des Manhattan-Plots der Single-Marker-GWAS für Trinkverhalten fällt auf, dass ein einziger SNP auf Chromosom 29 das genomweite Signifikanzniveau überschritten hat. Da jedoch kein weiterer Marker die nominale Signifikanzschwelle überschreitet und Marker, die in einem LD mit dem signifikant erscheinenden SNP stehen, zumindest einen Teil der genetischen Variation abgreifen müssten und dadurch in der Nähe erscheinen sollten, wird davon ausgegangen, dass es sich um einen falsch-positiv kartierten Markereffekt handeln könnte.

Maternale Effekte

Bei Betrachtung von maternalen Effekten auf den Saugreflex der Kälber kann in der modernen Milchviehhaltung lediglich der Fokus auf die pränatale maternale Umwelt erfolgen, da zumeist eine sofortige Trennung von Kuh und Kalb nach der Geburt erfolgt. Lediglich in Systemen mit Ammenkuhhaltung oder muttergebundener Kälberaufzucht müsste ebenfalls der Einfluss postnataler maternaler Effekte untersucht werden, dies war aber innerhalb des hier vorgestellten Projektes nicht der Fall. Die Untersuchung pränataler maternaler Einflüsse mittels 50K-SNP-Genotypen zeigte kaum signifikante Ergebnisse. Lediglich zwei SNPs auf Chromosom 19 und auf Chromosom 14 überschritten das nominale Signifikanzniveau. Diese konnten jedoch nicht für alle drei untersuchten Merkmalskodierungen bestätigt werden. Um eine Aussage über die genetischen Hintergründe eines maternalen Einflusses auf den Saugreflex der Kälber treffen zu können, sind genomweite Assoziationsanalysen mit größeren Stichproben und mittels hochdichter Markerkarten zu empfehlen.

Die Transitperiode und die anschließende Geburt stellt eine belastende Phase für Immun- und Hormonsystem von Milchkühe dar. Unterschiede zwischen der intrauterinen Umwelt im Mutterleib und den äußeren Einflüssen nach der Geburt können bei dem Kalb zu oxidativem Stress führen (Przybylska et al., 2007; Konvičná and Kováč, 2015), welcher wiederum Auswirkungen auf die Immunabwehr nimmt und somit zu erhöhter Krankheitsanfälligkeit führen kann. Das Spurenelement Selen nimmt nicht nur eine wichtige Rolle bei verschiedenen Funktionen der Signalübertragung und Nervenzellentwicklung ein, sondern zusätzlich wird Selen eine antioxidative Wirkung zum Schutz der Zellen vor oxidativem Stress und Schädigung zugesprochen (McKenzie et al., 2002; Konvičná and Kováč, 2015). Da die Transitperiode bei Milchkühen häufig eine Phase mit einem höheren Risiko für oxidativen Stress darstellt, kann eine unzureichende Selenversorgung oder ein mangelndes Absorptionsvermögen des Muttertiers während dieser riskanten Phase auch zu einer verminderten Funktion des Saugreflexes der

Kälber führen. Die Untersuchung des Selenblutspiegels bei Kälbern und deren Müttern wäre interessant für weitere Studien zur Auswirkung maternaler Effekte auf den Saugreflex der Kälber.

Schlussfolgerungen

Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse sind wichtig für eine in die Zukunft ausgerichtete, tierwohl- und wirtschaftsfördernde weitere Züchtung der Rasse Braunvieh. Die Ergebnisse zeigten eine niedrige, jedoch züchterisch zu bearbeitende Heritabilität der Merkmale Trinkverhalten und Saugreflex. Um eine konsistente Merkmalerfassung für die Durchführung genomischer Selektionsmethoden gewährleisten zu können, sollte die Erfassung des Trinkverhaltens der Kälber innerhalb der ersten 12 Stunden *postpartum* durch die Betriebsleiter erfolgen. Aktuell können die Betriebsleiter den Saugreflex ihrer Kälber über das Herdenmanager-Tool des Landeskontroll-Verbandes Baden-Württemberg (LKV BW) dokumentieren, dies ist jedoch erst bis zu einer Woche nach der Geburtsmeldung möglich. Vielen Betriebsleitern ist ein erneutes Dokumentieren zu aufwendig, wie anhand persönlicher Gespräche mit einigen Landwirten deutlich gemacht wurde. Daher wäre eine Dokumentation direkt mit der Geburtsmeldung empfehlenswert, so wie es auch beispielsweise für den Kalbeverlauf durchgeführt wird. Um eine zügige Verbesserung der Kolostrumaufnahme in der Population zu erzielen, sollte eine Dokumentation des Trinkverhaltens erfolgen, da dieses zum einen neben dem Saugreflex noch weitere, bisher unbekannt genenetische Ursachen berücksichtigen kann und zum anderen durch die höhere Heritabilität einen schnelleren Zuchtfortschritt verspricht. Jedoch sollten hierbei die Kategorien „einmaliges Drenchen“ bzw. „mehrmaliges Drenchen“ ersetzt werden, da nicht alle Betriebsleiter das Drenchen der Kälber vornehmen. Um die genetischen Hintergründe pränataler maternaler Effekte wirkungsvoll erfassen zu können, könnten Untersuchungen des maternalen Genoms mit hochdichten Markerkarten angeschlossen werden. Um den Einfluss der gefundenen funktionellen Kandidatengene auf Saugreflex und Trinkverhalten näher untersuchen zu können, wären Genexpressionsstudien zu empfehlen. Die geringen Heritabilitäten und der festgestellte hohe Einfluss des Betriebes auf Saugreflex und Trinkverhalten der Kälber machen deutlich, dass primär Umweltfaktoren eine fehlerhafte Kolostrumaufnahme bedingen. Daher wäre eine detaillierte Untersuchung wichtig, welche die Einflüsse der betrieblichen Haltungs- und Fütterungsumwelt, sowie auch der Person, welche das Kalb in den ersten Stunden nach der Geburt betreut und auf die Kolostrumaufnahme vorbereitet. Der Einfluss des Spurenelementes Selen, sowohl auf den Saugreflex der Kälber, als auch auf viele andere Vitalfunktionen von Kalb und Kuh, sollte nicht unterschätzt werden. Die Versorgung mit Selen in der Transitperiode der Kuh und die Auswirkungen einer mangelhaften Versorgung sollte vor allem durch Blutanalysen genauer untersucht werden.

Literaturverzeichnis

- Ashburner, M., C. A. Ball, J. A. Blake, D. Botstein, H. Butler, J. M. Cherry, A. P. Davis, K. Dolinski, S. S. Dwight, J. T. Eppig, M. A. Harris, D. P. Hill, L. Issel-Tarver, A. Kasarskis, S. Lewis, J. C. Matese, J. E. Richardson, M. Ringwald, G. M. Rubin, and G. Sherlock. (2000). Gene Ontology: Tool for the unification of biology. *Nature genetics* **25:25** EP -.
- Arborelius, L., M. J. Owens, P. M. Plotsky, and C. B. Nemeroff. (1999). The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders. *The Journal of endocrinology* **160** (1):1–12.
- Bales, K. R. (2010). Brain lipid metabolism, apolipoprotein E and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* **59** (4-5):295–302.
- Bennewitz, J., C. Edel, R. Fries, T. H. E. Meuwissen, and R. Wellmann. (2017). Application of a Bayesian dominance model improves power in quantitative trait genome-wide association analysis. *Genetics, selection, evolution GSE* **49** (1):7.
- Bernier, N. J. (2006). The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *General and comparative endocrinology* **146** (1):45–55.
- Blum, J. W. (2006). Nutritional physiology of neonatal calves. *Journal of animal physiology and animal nutrition* **90** (1-2):1–11.
- Bostedt, H., and P. Schramel. (1990). The importance of selenium in the prenatal and postnatal development of calves and lambs. *Biol Trace Elem Res* **24** (2-3):163–171.
- Braun, U., F. Ehrensperger, and V. Bracher. (1987). The Weaver syndrome in cattle. Clinical, biochemical and pathologico-anatomic studies in a Braunvieh/Brown Swiss cow with bovine progressive degenerative myeloencephalopathy[Braunvieh/Brown Swiss cow with bovine progressive degenerative myeloencephalopathy]. *Tierärztliche Praxis* **15** (2):139–144.
- Browning, B. L., and S. R. Browning. (2009). A Unified Approach to Genotype Imputation and Haplotype-Phase Inference for Large Data Sets of Trios and Unrelated Individuals. *The American Journal of Human Genetics* **84** (2):210–223.
- Butler, D. G., B. R. Cullis, A. R. Gilmour, and B. J. Gogel. (2009). ASReml-R reference manual. The State of Queensland, Department of Primary Industries and Fisheries, Brisbane.
- Chang, C. C., C. C. Chow, L. C. Tellier, S. Vattikuti, S. M. Purcell, and J. J. Lee. (2015). Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience* **4**:7.
- Dekkers, J. C. M. (2012). Application of genomics tools to animal breeding. *Current genomics* **13** (3): 207–212.

- De Los Campos, G., J. M. Hickey, R. Pong-Wong, H. D. Daetwyler, and M. P. L. Calus. (2013). Whole-genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. *Genetics* **193** (2):327–345.
- Erbe, M., B. J. Hayes, L. K. Matukumalli, S. Goswami, P. J. Bowman, C. M. Reich, B. A. Mason, and M. E. Goddard. (2012). Improving accuracy of genomic predictions within and between dairy cattle breeds with imputed high-density single nucleotide polymorphism panels. *Journal of dairy science* **95** (7):4114–4129.
- Fabregat, A., S. Jupe, L. Matthews, K. Sidiropoulos, M. Gillespie, P. Garapati, R. Haw, B. Jassal, F. Korninger, B. May, M. Milacic, C. D. Roca, K. Rothfels, C. Sevilla, V. Shamovsky, S. Shorser, T. Varusai, G. Viteri, J. Weiser, G. Wu, L. Stein, H. Hermjakob, and P. D'Eustachio. (2018). The Reactome Pathway Knowledgebase. *Nucleic acids research* **46**(D1):D649-D655.
- Falconer, D. S., and T. F. C. Mackay. (2009). *Introduction to quantitative genetics*. 4. ed., [16. print.]. Pearson Prentice Hall, Harlow.
- Fernando, R. L., and D. Garrick. (2013). Bayesian methods applied to GWAS. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **1019**:237–274.
- Fuerst-Wattl, B., C. Fuerst, W. Obritzhauser, and C. Egger-Danner. (2016). Sustainable breeding objectives and possible selection response: Finding the balance between economics and breeders' preferences. *Journal of dairy science* **99** (12):9796–9809.
- Gianola, D., and D. Sorensen. (2004). Quantitative genetic models for describing simultaneous and recursive relationships between phenotypes. *Genetics* **167** (3):1407–1424.
- Glowa, J. R., J. E. Barrett, J. Russell, and P. W. Gold. (1992). Effects of corticotropin releasing hormone on appetitive behaviors. *Peptides* **13** (3):609–621.
- Goddard, M. E., and B. J. Hayes. (2009). Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature reviews. Genetics* **10** (6):381–391.
- Goldhofer, A. (2016). Spurenelement- und Vitaminversorgung von Milchviehbeständen in einem Praxisgebiet in Oberbayern und deren Bezug zur Kälbergesundheit. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Gomez, D., and M. Chamorro. (2017). The importance of colostrum for dairy calves. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* **30**:241–244.
- Guo, J., H. Jorjani, and Ö. Carlborg. (2012). A genome-wide association study using international breeding-evaluation data identifies major loci affecting production traits and stature in the Brown Swiss cattle breed. *BMC genetics* **13**:82.
- Habier, D., R. L. Fernando, K. Kizilkaya, and D. J. Garrick. (2011). Extension of the bayesian alphabet for genomic selection. *BMC bioinformatics* **12**:186.

- Hadfield, J. D. (2010). MCMC methods for multi-response generalized linear mixed models: The MCMCglmm R package. *Journal of Statistical Software* **33** (2):1–22.
- Hadfield, J. (2019). MCMCglmm Course Notes.
- Hadorn, U., H. Hammon, R. M. Bruckmaier and J. W. Blum. (1997). Delaying Colostrum Intake by One Day Has Important Effects Delaying Colostrum Intake by One Day Has Important Effects on Metabolic Traits and on Gastrointestinal and Metabolic Hormones in Neonatal Calves. *The Journal of Nutrition* **127**:2011–2023.
- Hafner, A., E. Dahme, G. Obermaier, P. Schmidt, and G. Dirksen. (1993). Spinal Dysmyelination in New-Born Brown Swiss x Braunvieh Calves. *Journal of Veterinary Medicine, Series B* **40** (1-10):413–422.
- Hagger, C. (2005). Estimates of genetic diversity in the brown cattle population of Switzerland obtained from pedigree information. *Journal of animal breeding and genetics*, **122** (6):405–413.
- Hayes, B. (2013). Overview of Statistical Methods for Genome-Wide Association Studies (GWAS). *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* **1019**:149–169.
- Hefnawy, A. E. G., and J. L. Tórtora-Pérez. (2010). The importance of selenium and the effects of its deficiency in animal health. *Small Ruminant Research* **89** (2-3):185–192.
- Heringstad, B., R. Rekaya, D. Gianola, G. Klemetsdal, and K. A. Weigel. (2003). Genetic Change for Clinical Mastitis in Norwegian Cattle: A Threshold Model Analysis. *Journal of dairy science* **86** (1):369–375.
- Hill, W. G., and B. S. Weir. (1994). Maximum-likelihood estimation of gene location by linkage disequilibrium. *The American Journal of Human Genetics* **54** (4):705–714.
- Homerovsky, E. R., E. Timsit, E. A. Pajor, J. P. Kastelic, and M. C. Windeyer. (2017). Predictors and impacts of colostrum consumption by 4h after birth in newborn beef calves. *The Veterinary Journal* **228**:1–6.
- Hongo, T., A. Hakuba, K. Shiota, and I. Naruse. (2000). Suckling dysfunction caused by defects in the olfactory system in genetic arhinencephaly mice. *Biology of the neonate* **78** (4):293–299.
- Howie, B., C. Fuchsberger, M. Stephens, J. Marchini, and G. R. Abecasis. (2012). Fast and accurate genotype imputation in genome-wide association studies through pre-phasing. *Nature genetics* **44** (8):955–959.
- Huang, D. W., B. T. Sherman, and R. A. Lempicki. (2009a). Bioinformatics enrichment tools: Paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic acids research* **37** (1):1–13.
- Huang, D. W., B. T. Sherman, and R. A. Lempicki. (2009b). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature protocols* **4** (1):44–57.

- Johnsen, J. F., K. A. Zipp, T. Kälber, A. M. de Passillé, U. Knierim, K. Barth, and C. M. Mejdell. (2016). Is rearing calves with the dam a feasible option for dairy farms? Current and future research. *Applied Animal Behaviour Science* **181**:1–11.
- Just, A., R. Wellmann, and J. Bennewitz. (2018). Estimation of relative economic weights and the marginal willingness to pay for breeding traits of Brown Swiss cattle using discrete choice experiments. *Journal of dairy science* **101** (6):5207–5213.
- Kanehisa, M., and S. Goto. (2000). KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research* **28** (1):27–30.
- Kehoe, S. I., B. M. Jayarao, and A. J. Heinrichs. (2007). A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *Journal of dairy science* **90** (9):4108–4116.
- Keyserlingk, M. A.G. von, and D. M. Weary. (2007). Maternal behavior in cattle. *Hormones and Behavior* **52** (1):106–113.
- Konvičná, J., and G. Kováč. (2015). Oxidative Stress and Role of Selenium during Periparturient Period in Dairy Cows. *Folia Veterinaria* **59** (1):44–52.
- Leipold, H. W., B. Blaugh, K. Huston, C. G.M. Edgerly, and C. M. Hibbs. (1973). Weaver syndrome in Brown Swiss cattle: Clinical signs & pathology. *Veterinary medicine, small animal clinician*.
- Lynch, M., and B. Walsh. (1998). *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Assoc, Sunderland, Mass.
- Maltecca, C., A. Rossoni, C. Nicoletti, E. Santus, K. A. Weigel, and A. Bagnato. (2007). Estimation of genetic parameters for perinatal sucking behavior of Italian Brown Swiss calves. *Journal of dairy science* **90** (10):4814–4820.
- McKenzie, R. C., J. R. Arthur, and G. J. Beckett. (2002). Selenium and the regulation of cell signaling, growth, and survival: Molecular and mechanistic aspects. *Antioxidants & redox signaling* **4** (2):339–351.
- Meuwissen, T., and M. Goddard. (2010). Accurate prediction of genetic values for complex traits by whole-genome resequencing. *Genetics* **185** (2):623–631.
- Meuwissen, T. H., B. J. Hayes, and M. E. Goddard. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* **157** (4):1819–1829.
- Mi, H., X. Huang, A. Muruganujan, H. Tang, C. Mills, D. Kang, and P. D. Thomas. (2017). PANTHER version 11: Expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic acids research* **45** (D1):D183-D189.
- Mi, H., A. Muruganujan, J. T. Casagrande, and P. D. Thomas. (2013). Large-scale gene function analysis with the PANTHER classification system. *Nature protocols* **8** (8):1551–1566.

- Morrow-Tesch, J., and J. J. McGlone. (1990). Sensory systems and nipple attachment behavior in neonatal pigs. *Physiology & Behavior* **47** (1):1–4.
- Mrode, R. A., and R. Thompson. (2005). Linear models for the prediction of animal breeding values. 2nd ed. CABI Pub, Wallingford, UK, Cambridge, MA. S.50ff.
- Murray, C. F., and K. E. Leslie. (2013). Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *Veterinary journal* **198** (2):322–328.
- Novo, S. M. F., J. F. D. R. Costa, C. C. Baccili, N. M. Sobreira, B. T. Silva, P. L. de Oliveira, D. J. Hurley, and V. Gomes. (2017). Effect of maternal cells transferred with colostrum on the health of neonate calves. *Research in veterinary science* **112**:97–104.
- Pavlov, P. I. (2010). Conditioned reflexes: An investigation of the physiological activity of the cerebral cortex. *Annals of neurosciences* **17**(3):136–141.
- Przybylska, J., E. Albera, and M. Kankofer. (2007). Antioxidants in bovine colostrum. *Reproduction in domestic animals* **42** (4):402–409.
- Purcell, S., B. Neale, K. Todd-Brown, L. Thomas, M. A. R. Ferreira, D. Bender, J. Maller, P. Sklar, P. I. W. de Bakker, M. J. Daly, and P. C. Sham. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American journal of human genetics* **81** (3):559–575.
- Rademacher, G. (2013). Kälberkrankheiten: Ursachen und Früherkennung ; neue Wege für Vorbeugung und Behandlung. 5. aktual. Aufl., Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart (Hohenheim). S.137 ff.
- Reed, J. J., M. A. Ward, K. A. Vonnahme, T. L. Neville, S. L. Julius, P. P. Borowicz, J. B. Taylor, D. A. Redmer, A. T. Grazul-Bilska, L. P. Reynolds, and J. S. Caton. (2007). Effects of selenium supply and dietary restriction on maternal and fetal body weight, visceral organ mass and cellularity estimates, and jejunal vascularity in pregnant ewe lambs¹. *Journal of Animal Science* **85** (10):2721–2733.
- Rossoni, A., C. Nicoletti, S. Ghiroldi, E. Santus, and A. Bagnato. (2005). Calf's suckling ability in Italian Brown Swiss. *Interbull Bulletin* (**33**):218.
- Roth, B. A., K. Barth, L. Gygax, and E. Hillmann. (2009). Influence of artificial vs. mother-bonded rearing on sucking behaviour, health and weight gain in calves. *Applied Animal Behaviour Science* **119** (3-4):143–150.
- Schmid, M., and J. Bennewitz. (2017). Invited review: Genome-wide association analysis for quantitative traits in livestock - a selective review of statistical models and experimental designs. *Archives Animal Breeding* **60** (3):335–346.

- Schüler, L., H. Swalve, and K.-U. Götz. (2001). Grundlagen der quantitativen Genetik: 94 Tabellen. UTB für Wissenschaft Agrarwissenschaft 2183. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (Hohenheim).
- Schwarzenbacher, H., J. Burgstaller, F. R. Seefried, C. Wurmser, M. Hilbe, S. Jung, C. Fuerst, N. Dinhopf, H. Weissenböck, B. Fuerst-Waltl, M. Dolezal, R. Winkler, O. Grueter, U. Bleul, T. Wittek, R. Fries, and H. Pausch. (2016). A missense mutation in TUBD1 is associated with high juvenile mortality in Braunvieh and Fleckvieh cattle. *BMC genomics* **17**:400.
- Selman, I.E., A. D. McEwan and E. W. Fisher. (1970). Studies on Natural Suckling in Cattle during the First Eight Hours post partum: II Behavioural Studies (Calves). *Animal Behaviour* (**18**):284–289.
- Shamim, A., T. Mahmood, F. Ahsan, A. Kumar, and P. Bagga. (2018). Lipids: An insight into the neurodegenerative disorders. *Clinical Nutrition Experimental* **20**:1–19.
- Signer-Hasler, H., A. Burren, M. Neuditschko, M. Frischknecht, D. Garrick, C. Stricker, B. Gredler, B. Bapst, and C. Flury. (2017). Population structure and genomic inbreeding in nine Swiss dairy cattle populations. *Genetics selection evolution GSE* **49** (1):83.
- Souza-Conde AL, E., M. V. Andrea, M. Conde L, J. Delgado-Mendez, F. C. Souza, M. Paranhos da Costa JR, T. C. B. de Bittencourt dos SC, and K. de Oliveira N. (2015). Maternal-calf relationships and their influence on calves up to 120 days. *Revista MVZ Córdoba* **20**:4436–4446.
- Sorensen, D., and D. Gianola. (2008). Likelihood, Bayesian, and MCMC methods in quantitative genetics. 4. printing, corr. 2. print., 2004. *Statistics for biology and health*. Springer, New York. S.262.
- Stocker, H., J. Berger Pusterla, H. Lutz, and P. Ossent. (1996). Eine neue Erbkrankheit beim Braunvieh in der Schweiz: Spinale Dysmyelinisierung (SDM) bei festliegenden Kälbern. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT die Fachzeitschrift für* **138**(6):295–300.
- Sved, J. A. (1971). Linkage Disequilibrium and Homozygosity of Chromosome Segments in Finite Populations. *Theoretical Population biology* (**2**):125–141.
- Thomas, P. D., A. Kejariwal, N. Guo, H. Mi, M. J. Campbell, A. Muruganujan, and B. Lazareva-Ulitsky. (2006). Applications for protein sequence-function evolution data: mRNA/protein expression analysis and coding SNP scoring tools. *Nucleic acids research* **34** (Web Server):W645-W650.
- Troyer, D., W. C. Cash, J. Vestweber, T. Hiraga, and H. W. Leipold. (1993). Review of spinal muscular atrophy (SMA) in brown Swiss cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation*

- official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc **5** (2):303–306.
- VanRaden, P. M. (2008). Efficient methods to compute genomic predictions. *Journal of dairy science* **91** (11):4414–4423.
- Vasseur, E., J. Rushen, and A. M. de Passillé. (2009). Does a calf's motivation to ingest colostrum depend on time since birth, calf vigor, or provision of heat? *Journal of dairy science* **92** (8):3915–3921.
- Ventorp, M., and P. Michanek. (1992). The Importance of Udder and Teat Conformation for Teat Seeking by the Newborn Calf. *Journal of dairy science* **75** (1):262–268.
- Verbyla, K. L., B. J. Hayes, P. J. Bowman, and M. E. Goddard. (2009). Accuracy of genomic selection using stochastic search variable selection in Australian Holstein Friesian dairy cattle. *Genetics research* **91** (5):307–311.
- Weaver, D. M.; J. W., Tyler; C, VanMetre; E, Hostetler; M, Barrington. (2000). Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine* **14** (6):569–577.
- Wellmann, R. (2019). Optimum contribution selection for animal breeding and conservation: The R package optiSel. *BMC bioinformatics* **20** (1):25.
- Wellmann, R., and J. Bennewitz. (2012). Bayesian models with dominance effects for genomic evaluation of quantitative traits **94**:21–37.
- Wesselink, R., K. J. Stafford, D. J. Mellor, S. Todd, and N. G. Gregory. (1999). Colostrum intake by dairy calves. *New Zealand veterinary journal* **47** (1):31–34.
- Wimmer, V., T. Albrecht, H.-J. Auinger, and C.-C. Schön. (2012). synbreed: A framework for the analysis of genomic prediction data using R. *Bioinformatics (Oxford, England)* **28** (15):2086–2087.
- Windeyer, M. C., K. E. Leslie, S. M. Godden, D. C. Hodgins, K. D. Lissemore, and S. J. LeBlanc. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine* **113** (2):231–240.
- Yang, J., S. H. Lee, M. E. Goddard, and P. M. Visscher. (2011). GCTA: A Tool for Genome-wide Complex Trait Analysis. *The American Journal of Human Genetics* **88** (1):76–82.
- Yang, J., N. A. Zaitlen, M. E. Goddard, P. M. Visscher, and A. L. Price. (2014). Advantages and pitfalls in the application of mixed-model association methods. *Nature genetics* **46**:100 EP -.
- Yoder, D. M., and J. L.A.Y. Lush. (1937). A genetic history of the Brown Swiss cattle in the United States. *Journal of Heredity* **28** (4):154–160.
- Zerbino, D. R., P. Achuthan, W. Akanni, M. R. Amode, D. Barrell, J. Bhai, K. Billis, C. Cummins, A. Gall, C. G. Girón, L. Gil, L. Gordon, L. Haggerty, E. Haskell, T. Hourlier, O. G. Izuogu, S. H. Janacek, T. Juettemann, J. K. To, M. R. Laird, I. Lavidas, Z. Liu, J. E. Loveland, T. Maurel, W.

- McLaren, B. Moore, J. Mudge, D. N. Murphy, V. Newman, M. Nuhn, D. Ogeh, C. K. Ong, A. Parker, M. Patricio, H. S. Riat, H. Schuilenburg, D. Sheppard, H. Sparrow, K. Taylor, A. Thormann, A. Vullo, B. Walts, A. Zadissa, A. Frankish, S. E. Hunt, M. Kostadima, N. Langridge, F. J. Martin, M. Muffato, E. Perry, M. Ruffier, D. M. Staines, S. J. Trevanion, B. L. Aken, F. Cunningham, A. Yates, and P. Flicek. (2018). Ensembl 2018. *Nucleic acids research* **46** (D1):D754-D761.
- Zimin, A. V., A. L. Delcher, L. Florea, D. R. Kelley, M. C. Schatz, D. Puiu, F. Hanrahan, G. Pertea, C. P. van Tassell, T. S. Sonstegard, G. Marçais, M. Roberts, P. Subramanian, J. A. Yorke, and S. L. Salzberg. (2009). A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome biology* **10** (4):R42.

Internetquellen

Braunvieh Schweiz,

https://homepage.braunvieh.ch/xml_1/internet/de/application/d2/d466/f469.cfm, zugegriffen am 17.04.2019

Arbeitsgemeinschaft Süddeutscher Rinderzucht- und Besamungsorganisationen e.V. (ASR),

<https://www.asr-rind.de/rinderrassen/deutsches-braunvieh.html>, zugegriffen am 17.04.2019

ARGE Braunvieh, <https://www.deutsches-braunvieh.de/deutsches-braunvieh/>, zugegriffen am 17.04.2019

Anhang

Tabelle A21: Zuchtwerte (EBV), Relativzuchtwerte (RZ) und Sicherheiten der Zuchtwerte (r^2) der Väter (V) mit mind. 50 Nachkommen für alle drei Kodierungsvarianten im Saugreflex (SR; TC1, TC2, TC3) und dem Trinkverhalten (TV), geordnet nach Anzahl der Kälber pro Vater (N).

V	N	TC1			TC2			TC3			TV		
		EBV	r^2	RZSR	EBV	r^2	RZSR	EBV	r^2	RZSR	EBV	r^2	RZTV
1	53	-0,15	0,51	98	0,34	0,42	90	0,10	0,41	98	0,02	0,43	101
2	54	0,07	0,32	106	0,01	0,22	102	-0,06	0,21	104	-0,14	0,26	107
3	64	0,30	0,39	114	-0,20	0,30	110	-0,07	0,30	105	-0,35	0,32	114
4	67	-0,09	0,37	101	0,04	0,36	101	0,06	0,28	100	-0,04	0,36	103
5	67	0,30	0,43	114	-0,19	0,41	110	-0,38	0,31	116	-0,27	0,42	111
6	68	-0,15	0,36	98	0,22	0,34	94	0,21	0,24	94	0,19	0,34	96
7	71	-0,16	0,44	98	0,22	0,39	94	0,18	0,29	95	0,17	0,37	96
8	81	-0,19	0,44	97	0,03	0,37	102	0,12	0,33	98	0,09	0,40	99
9	83	-0,40	0,47	90	0,24	0,39	94	0,18	0,39	95	0,11	0,41	98
10	85	-0,45	0,40	88	0,20	0,39	95	0,38	0,32	88	0,49	0,41	86
11	88	-0,08	0,43	101	-0,11	0,40	107	0,05	0,39	100	-0,10	0,41	105
12	95	-0,07	0,48	101	0,00	0,40	103	0,03	0,41	101	0,13	0,43	98
13	97	0,04	0,47	105	0,05	0,43	101	-0,09	0,36	106	-0,02	0,44	103

V	N	TC1			TC2			TC3			TV		
		EBV	r ²	RZSR	EBV	r ²	RZSR	EBV	r ²	RZSR	EBV	r ²	RZTV
14	98	0,13	0,47	108	-0,17	0,41	109	-0,29	0,34	113	-0,51	0,43	119
15	123	-0,33	0,55	92	0,39	0,47	88	0,36	0,50	89	0,18	0,51	96
16	125	0,12	0,51	108	-0,05	0,43	105	-0,31	0,42	114	-0,05	0,45	104
17	157	-0,06	0,59	102	0,11	0,52	99	-0,13	0,49	107	0,08	0,52	99
18	169	-0,31	0,58	93	0,34	0,51	90	0,40	0,53	87	0,30	0,55	92
19	182	-0,27	0,56	94	0,07	0,50	100	0,08	0,50	99	0,03	0,56	101
20	229	-0,23	0,62	96	-0,09	0,55	106	-0,03	0,58	103	0,04	0,62	101
21	247	-0,11	0,65	100	0,11	0,55	98	0,00	0,56	102	0,10	0,61	99
22	257	-0,33	0,66	92	-0,01	0,58	103	0,35	0,60	89	0,32	0,64	91
23	270	0,30	0,67	114	-0,30	0,56	114	-0,12	0,63	107	-0,33	0,62	113
24	313	-0,07	0,67	101	0,03	0,59	102	0,04	0,62	101	0,16	0,63	97
25	367	-0,37	0,71	91	-0,11	0,61	107	0,09	0,66	99	0,14	0,70	97
26	406	-0,19	0,72	97	0,08	0,67	100	0,06	0,68	100	0,14	0,71	97

Anhang

Tabelle A22: Signifikante SNP-Positionen (Bp) aus GWAS für Saugreflex und positionelle Kandidatengene.

rs-Nr.	Name	BTA	Bp	P-Wert	TC	Positionelles Kandidatengen
rs135469242	BovineHD0700023741	7	81586441	3.45E-05	TC1	<i>LOC112447478</i>
rs42123228	BovineHD0700024618	7	83853705	3.68E-05	TC1	<i>SSBP2</i>
rs137246368	BovineHD0700025391	7	86575688	2.44E-05	TC1	<i>EDIL3</i>
rs136980239	BovineHD0700025393	7	86582012	1.74E-05	TC1	<i>EDIL3</i>
rs42301774	BovineHD0700025396	7	86593875	6.90E-06	TC1	<i>EDIL3</i>
rs43215714	BovineHD0700025471	7	86806693	4.57E-05	TC1	-
rs134921290	BovineHD4100006347	7	98387314	3.16E-05	TC1	-
rs136591803	BovineHD4100006348	7	98400574	3.16E-05	TC1	-
rs109928957	BovineHD0700028718	7	98424217	1.95E-05	TC1	-
rs132707186	BovineHD0700028726	7	98448831	4.37E-06	TC1	<i>CAST</i>
rs110540286	BovineHD0700028727	7	98449505	4.37E-06	TC1	<i>CAST</i>
rs135811099	BovineHD0700028737	7	98474995	4.37E-06	TC1	<i>CAST</i>
rs29015255	Hapmap53420- rs29015255	7	103224029	3.91E-05	TC1	-
rs42550152	BovineHD0900015773	9	57747539	4.42E-05	TC1	<i>EPHA7</i>
rs43671237	BovineHD1100005140	11	16152298	2.76E-05	TC1	-
rs110070498	BovineHD1100030756	11	106029236	3.52E-05	TC1	-
rs137064131	BovineHD1400008582	14	29594745	4.12E-05	TC1	<i>NKAIN3</i>
rs136641039	BovineHD1400008987	14	31130832	3.13E-05	TC1	<i>CYP7B1</i>
rs135334148	BovineHD1400008989	14	31135094	3.13E-05	TC1	<i>CYP7B1</i>
rs41569905	UA-IFASA-8640	14	31242174	1.06E-05	TC1	-
rs136446433	BovineHD1400009019	14	31257126	2.58E-05	TC1	-
rs110369282	BovineHD1400009237	14	32063369	1.75E-05	TC1	<i>DNAJC5B</i>
rs134522122	BovineHD1400009240	14	32066689	3.48E-05	TC1	<i>DNAJC5B</i>
rs136075773	BovineHD1400009241	14	32067688	3.48E-05	TC1	<i>DNAJC5B</i>
rs42457571	BovineHD1400009243	14	32069740	3.48E-05	TC1	<i>DNAJC5B</i>
rs110509749	BovineHD1400009244	14	32070748	3.48E-05	TC1	<i>DNAJC5B</i>
rs134063804	BovineHD1400009656	14	33640136	1.25E-06	TC1	<i>CPA6</i>
rs137832548	BovineHD1500007578	15	28299985	1.47E-05	TC1	-
rs41758723	BovineHD1500007635	15	28495074	1.21E-06	TC1	<i>CEP164</i>
rs41758721	BovineHD1500007636	15	28495571	7.70E-06	TC1	<i>CEP164</i>
rs41758719	ARS-BFGL-NGS- 117683	15	28497908	1.21E-06	TC1	<i>CEP164</i>
rs41758714	BovineHD1500007639	15	28501479	7.70E-06	TC1	<i>CEP164</i>

rs-Nr.	Name	BTA	Bp	P-Wert	TC	Positionelles Kandidatengen
rs137340488	BovineHD1500008574	15	31731747	8.68E-06	TC1	<i>GRIK4</i>
rs134472572	BovineHD4100017207	25	11841482	4.62E-05	TC1	<i>SHISA9</i>
rs109013162	BovineHD0100023385	1	81402282	4.63E-05	TC2	-
rs43249379	BTB-00037326	1	81406451	4.63E-05	TC2	-
rs132726113	BovineHD0300003676	3	11180421	2.38E-05	TC2	<i>SPTA1</i>
rs110354528	BovineHD0300003699	3	11214944	1.57E-05	TC2	<i>OR10Z1</i>
rs134418306	BovineHD0300003700	3	11215436	1.57E-05	TC2	-
rs42302949	BovineHD0700025379	7	86542527	3.80907E-05	TC3	<i>EDIL3</i>
rs137246368	BovineHD0700025391	7	86575688	3.95268E-05	TC3	<i>EDIL3</i>
rs136980239	BovineHD0700025393	7	86582012	3.08974E-05	TC3	<i>EDIL3</i>
rs42301774	BovineHD0700025396	7	86593875	2.58024E-05	TC3	<i>EDIL3</i>
rs43215714	BovineHD0700025471	7	86806693	3.32704E-05	TC3	-
rs109994197	BovineHD1000008329	10	25574015	2.10907E-05	TC3	-
rs110019173	BovineHD1000008333	10	25590097	2.10907E-05	TC3	<i>LOC522609</i>
rs110781820	BovineHD1100002705	11	7326765	3.30363E-05	TC3	<i>SLC9A2</i>
rs134754443	BovineHD1100030156	11	103632442	1.17988E-05	TC3	<i>NACC2</i>
rs135434977	BovineHD1100031207	11	107274061	4.64696E-05	TC3	<i>RXRA</i>
rs41731617	BovineHD1400008739	14	30214397	1.54779E-05	TC3	-
rs41731625	BovineHD1400008745	14	30245551	2.13891E-05	TC3	-
rs134063804	BovineHD1400009656	14	33640136	0.000011894	TC3	<i>CPA6</i>
rs13783254	BovineHD1500007578	15	28299985	9.50944E-06	TC3	-
rs41758723	BovineHD1500007635	15	28495074	1.02491E-06	TC3	<i>CEP164</i>
rs41758721	BovineHD1500007636	15	28495571	1.44118E-05	TC3	<i>CEP164</i>
rs41758719	ARS-BFGL-NGS- 117683	15	28497908	1.02491E-06	TC3	<i>CEP164</i>
rs41758714	BovineHD1500007639	15	28501479	1.44118E-05	TC3	<i>CEP164</i>
rs110246304	BovineHD1500008331	15	31025538	1.12821E-05	TC3	-
rs137340488	BovineHD1500008574	15	31731747	2.20307E-07	TC3	<i>GRIK4</i>
rs110129783	BovineHD2100012904	21	44886865	1.12521E-05	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs137583262	BovineHD2100012907	21	44889681	8.63417E-06	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs110872001	BovineHD2100012909	21	44892212	8.63417E-06	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs110308172	BovineHD2100012910	21	44893681	8.63417E-06	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs133107300	BovineHD2100012912	21	44896108	1.02382E-05	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs110539656	BovineHD2100012913	21	44899042	1.02382E-05	TC3	<i>LOC112443158</i>
rs136635096	BovineHD2100013341	21	46573693	2.08393E-05	TC3	-

Anhang

rs-Nr.	Name	BTA	Bp	P-Wert	TC	Positionelles Kandidatengen
rs135300752	BovineHD2200012995	22	44861882	4.84705E-05	TC3	ARHGEF3
rs133912666	BovineHD2200012997	22	44865400	4.84705E-05	TC3	ARHGEF3
rs136034903	BovineHD2200012998	22	44866470	4.84705E-05	TC3	ARHGEF3
rs136235529	BovineHD2200012999	22	44866923	4.84705E-05	TC3	ARHGEF3
rs136972587	BovineHD2200013000	22	44869975	4.84705E-05	TC3	ARHGEF3

Tabelle A23: Signifikante SNP-Positionen (Bp) aus GWAS für Trinkverhalten und positionelle Kandidatengene.

rs-Nr.	Name	BTA	Bp	P-Wert	Positionelles Kandidatengen
rs110062299	ARS-BFGL-NGS-106490	3	13635591	5,00E-05	-
rs41882177	ARS-BFGL-NGS-37980	18	42826428	4,70E-05	-
rs41573302	BTA-106423-no-rs	28	17896938	1,91E-05	-
rs109480199	BovineHD0200006851	2	23939641	4,25E-05	RAPGEF4
rs110840298	BovineHD0300004433	3	13636772	5,00E-05	-
rs110771084	BovineHD0300004463	3	13714790	1,54E-05	-
rs109172434	BovineHD0300004466	3	13719712	2,33E-05	-
rs110727131	BovineHD0600001058	6	4066097	3,85E-05	-
rs43514682	BovineHD0700019962	7	68153116	2,96E-05	-
rs43121342	BovineHD0700019996	7	68280771	4,93E-05	LOC104969230
rs111005408	BovineHD0700020285	7	69321686	2,61E-05	-
rs134310373	BovineHD0700020286	7	69337650	2,93E-05	SGCD
rs133107287	BovineHD0700020288	7	69342634	2,93E-05	SGCD
rs42898936	BovineHD0700020291	7	69359241	2,93E-05	SGCD
rs42880353	BovineHD0700020306	7	69390343	1,55E-05	SGCD
rs136319086	BovineHD0700020329	7	69441642	1,05E-05	SGCD
rs133474996	BovineHD0700020383	7	69571902	4,54E-05	SGCD
rs133072500	BovineHD0800012644	8	42494815	4,80E-05	-
rs134377162	BovineHD0800012645	8	42498845	9,27E-06	-
rs135644959	BovineHD0800012646	8	42500741	9,27E-06	-
rs137362792	BovineHD0800020748	8	69023256	2,10E-05	-
rs134026006	BovineHD0800020805	8	69217556	4,14E-05	-
rs136268113	BovineHD0800020806	8	69221303	4,14E-05	-
rs133476019	BovineHD0800020808	8	69225918	4,14E-05	-
rs135373186	BovineHD0800020809	8	69226707	4,14E-05	-
rs136172208	BovineHD0800020810	8	69228319	3,10E-05	-
rs109256770	BovineHD1400008003	14	27938528	4,71E-05	-
rs43073810	BovineHD1400008009	14	27958205	3,12E-05	-
rs41731617	BovineHD1400008739	14	30214397	3,83E-05	-

rs-Nr.	Name	BTA	Bp	P-Wert	Positionelles Kandidatengen
rs41731625	BovineHD1400008745	14	30245551	4,63E-05	-
rs135115183	BovineHD1400008750	14	30266385	3,06E-05	-
rs110878887	BovineHD1400008925	14	30900738	4,32E-05	-
rs136641039	BovineHD1400008987	14	31130832	1,57E-05	CYP7B1
rs135334148	BovineHD1400008989	14	31135094	1,57E-05	CYP7B2
rs137379013	BovineHD1800012657	18	42828134	4,70E-05	-
rs41882229	BovineHD1800012658	18	42832356	3,19E-05	-
rs134312018	BovineHD1800012659	18	42833969	3,79E-05	-
rs41883368	BovineHD1800012660	18	42839012	3,60E-05	-
rs41883378	BovineHD1800012661	18	42839851	3,60E-05	-
rs41883386	BovineHD1800012663	18	42842089	3,79E-05	-
rs41953398	BovineHD2000018504	20	64565481	2,15E-05	-
rs110271980	BovineHD2000018631	20	65094366	2,57E-06	-
rs110159529	BovineHD2900011273	29	37358973	7,37E-09	-

Tabelle A24: Cluster 1 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 3.60

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR013106	Immunoglobulin V-set	10	1.50E-05	0.02	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, HAPLN3, SCN2B, ACAN, DSCAML1, SCN4B, VCAN, JAML
PFAM	PF07686	Immunoglobulin V-set domain	9	4.72E-05	0.06	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, HAPLN3, SCN2B, ACAN, SCN4B, VCAN, JAML
INTERPRO	IPR013783	Immunoglobulin-like fold	17	3.90E-04	0.54	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, CD3G, HAPLN3, SCN2B, CD3D, CD3E, SORL1, DSCAML1, JAML, EPHA7, IL10RA, ACAN, SCN4B, VCAN, UNC5C
INTERPRO	IPR007110	Immunoglobulin-like domain	14	4.92E-04	0.68	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, CD3G, HAPLN3, SCN2B, CD3D, CD3E, DSCAML1, JAML, ACAN, SCN4B, VCAN, UNC5C
UP_KEYWORDS		Immunoglobulin domain	8	9.37E-04	1.13	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, CD3G, CD3E, ACAN, SCN4B, VCAN
INTERPRO	IPR003599	Immunoglobulin subtype	11	0.002	2.77	MPZL3, HAPLN1, MPZL2, HAPLN3, SCN2B, ACAN, DSCAML1, SCN4B, VCAN, JAML, UNC5C

Tabelle A25: Cluster 2 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 3.29

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR000566	Lipocalin/cytosolic fatty-acid binding protein domain	5	4.15E-04	0.57	LCN12, LCN6, PTGDS, LCNL1, C8G
PFAM	PF00061	Lipocalin / cytosolic fatty-acid binding protein family	5	4.44E-04	0.56	LCN12, LCN6, PTGDS, LCNL1, C8G
INTERPRO	IPR012674	Calycin	5	5.15E-04	0.71	LCN12, LCN6, PTGDS, LCNL1, C8G
INTERPRO	IPR022272	Lipocalin conserved site	4	6.23E-04	0.86	LCN12, LCN6, LCNL1, C8G
INTERPRO	IPR011038	Calycin-like	5	6.31E-04	0.87	LCN12, LCN6, PTGDS, LCNL1, C8G

Tabelle A26: Cluster 3 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 2.91

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR000538	Link	4	3.41E-04	0.47	HAPLN1, HAPLN3, ACAN, VCAN
PFAM	PF00193	Extracellular link domain	4	3.93E-04	0.49	HAPLN1, HAPLN3, ACAN, VCAN
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0005201	Extracellular matrix structural constituent	5	4.48E-04	0.56	TECTA, HAPLN1, HAPLN3, ACAN, VCAN
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007417	Central nervous system development	5	8.98E-04	1.31	HAPLN1, HAPLN3, ACAN, DSCAML1, VCAN
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0005540	Hyaluronic acid binding	4	0.001	1.32	HAPLN1, HAPLN3, ACAN, VCAN
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0007155	Cell adhesion	7	0.006	8.27	MPZL3, HAPLN1, HAPLN3, ACAN, DSCAML1, VCAN, MFGE8
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0001501	Skeletal system development	4	0.013	17.30	HAPLN1, HAPLN3, ACAN, VCAN

Tabelle A27: Cluster 4 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 2.78

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0033700	Phospholipid efflux	5	3.49E-06	0.01	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3, ABCA2</i>
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0042627	Chylomicron	4	4.93E-05	0.06	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0033344	Cholesterol efflux	5	6.86E-05	0.10	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3, ABCA2</i>
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0034361	Very-low-density lipoprotein particle	4	2.43E-04	0.29	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0042157	Lipoprotein metabolic process	4	3.40E-04	0.50	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0019433	Triglyceride catabolic process	4	4.16E-04	0.61	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0070328	Triglyceride homeostasis	4	4.16E-04	0.61	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0030300	Regulation of intestinal cholesterol absorption	3	8.61E-04	1.26	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0060228	Phosphatidylcholine-sterol O-acyltransferase activator activity	3	9.30E-04	1.15	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0042632	Cholesterol homeostasis	5	9.74E-04	1.42	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3, ABCA2</i>
INTERPRO	IPR000074	Apolipoprotein A1/A4/E	3	9.98E-04	1.37	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
PFAM	PF01442	Apolipoprotein domain A1/A4/E	3	0.001	1.37	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0031102	Neuron projection regeneration	3	0.001	1.87	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0010873	Positive regulation of cholesterol esterification	3	0.002	2.59	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0010898	Positive regulation of triglyceride catabolic process	3	0.002	2.59	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0034372	Very-low-density lipoprotein particle remodeling	3	0.002	2.59	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0051006	Positive regulation of lipoprotein lipase activity	3	0.002	2.59	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0034380	High-density lipoprotein particle assembly	3	0.002	3.42	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0046470	Phosphatidylcholine metabolic process	3	0.003	4.35	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0045723	Positive regulation of fatty acid biosynthetic process	3	0.005	6.50	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0043691	Reverse cholesterol transport	3	0.005	6.50	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0017127	Cholesterol transporter activity	3	0.006	7.08	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-174800		3	0.008	9.04	<i>APOA4, APOA1, APOC3</i>
UP_KEYWORDS		Lipid transport	4	0.009	10.25	<i>APOA4, APOA1, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0034364	High-density lipoprotein particle	3	0.009	10.48	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0031210	Phosphatidylcholine binding	3	0.009	10.85	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
KEGG_PATHWAY	bta03320	PPAR signaling pathway	4	0.015	15.92	<i>APOA1, RXRA, APOA5, APOC3</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006695	Cholesterol biosynthetic process	3	0.021	26.97	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0015485	Cholesterol binding	3	0.032	33.71	<i>APOA4, APOA1, APOA5</i>

Anhang

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0072562	Blood microparticle	4	0.037	36.49	<i>APOA4, APOA1, APOA5, C8G</i>

Tabelle A28: Cluster 5 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 2.29

Datenbank	Term ID	Term	N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR015484	CD3 protein, gamma/delta subunit	3	3.03E-04	0.42	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
GOTERM_CC_DIRECT	GO:0042105	Alpha-beta T cell receptor complex	3	9.29E-04	1.11	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
PFAM	PF02189	Immunoreceptor tyrosine-based activation motif	3	0.002	2.03	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
INTERPRO	IPR003110	Phosphorylated immunoreceptor signaling ITAM	3	0.002	2.82	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-202427	Phosphorylation of CD3 and TCR zeta chains	3	0.007	7.93	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-202430	Translocation of ZAP-70 to Immunological synapse	3	0.007	7.93	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-389948	PD-1 signaling	3	0.012	12.71	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-202433	Generation of second messenger molecules	3	0.022	22.68	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
REACTOME_PATHWAY	R-BTA-198933	Immunoregulatory interactions between a Lymphoid and a non-Lymphoid cell	4	0.027	27.47	<i>CD3G, CD3D, CD3E, JAML</i>
KEGG_PATHWAY	bta04660	T cell receptor signaling pathway	4	0.043	39.51	<i>CD3G, CD3D, CD3E, VAV2</i>

Tabelle A29: Cluster 6 der funktionellen Annotation mit DAVID und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 2.06

Datenbank	Term ID		N	P-Value	FDR	Gene
INTERPRO	IPR024571	Domain of unknown function DUF3358	3	0.003	3.72	LNPEP, ERAP1, ERAP2
PFAM	PF11838	ERAP1-like C-terminal domain	3	0.003	3.71	LNPEP, ERAP1, ERAP2
INTERPRO	IPR001930	Peptidase M1, alanine aminopeptidase/leukotriene A4 hydrolase	3	0.004	5.84	LNPEP, ERAP1, ERAP2
INTERPRO	IPR014782	Peptidase M1, membrane alanine aminopeptidase, N- terminal	3	0.005	7.05	LNPEP, ERAP1, ERAP2
PFAM	PF01433	Peptidase family M1	3	0.006	7.03	LNPEP, ERAP1, ERAP2
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0070006	Metalloaminopeptidase activity	3	0.010	12.23	LNPEP, ERAP1, ERAP2
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0043171	Peptide catabolic process	3	0.014	18.12	LNPEP, ERAP1, ERAP2
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0008217	Regulation of blood pressure	3	0.040	45.51	LNPEP, ERAP1, ERAP2
GOTERM_MF_DIRECT	GO:0042277	Peptide binding	3	0.043	42.52	LNPEP, ERAP1, ERAP2

Tabelle A30: Cluster der funktionellen Annotation mit DAVID für Trinkverhalten und Anzahl der annotierten Gene (N). Enrichment Score = 1,52.

Datenbank	Term ID		N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR012848:Propeptide, peptidase A1		3	0,0210	25,13	PAG10, PAG2, PAG12
INTERPRO	IPR001969:Peptidase aspartic, active site		3	0,0224	26,56	PAG10, PAG2, PAG12
UP_KEYWORDS	Aspartyl protease		3	0,0225	23,58	PAG10, PAG2, PAG12

Datenbank	Term ID	N	P-Wert	FDR	Gene
INTERPRO	IPR001461:Peptidase A1	3	0,0253	29,46	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
INTERPRO	IPR021109:Aspartic peptidase	3	0,0332	36,80	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
GOTERM_MF_DIRECT T	GO:0004190~aspartic-type endopeptidase activity	3	0,0376	37,34	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0030163~protein catabolic process	3	0,0429	46,22	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
GOTERM_BP_DIRECT	GO:0006508~proteolysis	5	0,0456	48,33	<i>ST14, PAG10, GGH, PAG2, PAG12</i>

Tabelle A31: Signifikante Ergebnisse der Pfadanalysen anhand der Datenbanken KEGG und Reactome, annotiert mit DAVID.

Datenbank	Term	Pfad	Term	P-Wert	Gene
1	R-BTA-2672351	Transport of small molecules	Stimuli-sensing channels	2.21E-04	<i>SLC17A3, SGK3, ANO3, WNK3, NEDD4L, ASPH</i>
1	R-BTA-202427	Immune System	Phosphorylation of CD3 and TCR zeta chains	7.00E-03	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
1	R-BTA-202430	Immune system	Translocation of ZAP-70 to Immunological synapse	7.00E-03	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
1	R-BTA-389948	Immune system	PD-1 signaling	1.20E-02	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
2	bta03320	Endocrine system	PPAR signaling pathway	1.50E-02	<i>APOA1, RXRA, APOA5, APOC3</i>
1	R-BTA-202433	Immune system	Generation of second messenger molecules	2.20E-02	<i>CD3G, CD3D, CD3E</i>
1	R-BTA-198933	Immune system	Immunoregulatory interactions between a Lymphoid and a non-Lymphoid cell	2.70E-02	<i>CD3G, CD3D, CD3E, JAML</i>
2	bta04660	Immune system	T cell receptor signaling pathway	4.30E-02	<i>CD3G, CD3D, CD3E, VAV2</i>
1	R-BTA-192105	Metabolism of Lipids	Synthesis of bile acids and bile salts	5.40E-02	<i>CYP7B1, RXRA</i>

Datenbank	Term	Pfad	Term	P-Wert	Gene
1	R-BTA-975634	Metabolism of vitamins and cofactors, Signal Transduction	Retinoid metabolism and transport	6.10E-2	<i>APOA4, APOA1, APOC3</i>
1	R-BTA-5578775	Muscle contraction (Cardiac conduction)	Ion homeostasis	7.40E-02	<i>FXVD2, ASPH, FXVD6</i>
2	bta04120	Immune system	Ubiquitin mediated proteolysis	8.00E-02	<i>ANAPC2, UBE4A, BIRC6, NEDD4L</i>

¹Pathway Databases: 1 = Reactome pathway, 2 = KEGG pathway

Tabelle A32: GO-Terme biologischer Prozesse für Trinkverhalten.

GO-Nummer	Term	P-Wert	Gene
GO:0045746	negative regulation of Notch signaling pathway	1,22E-02	<i>DLX2, DLX1, PEAR1</i>
GO:0060021	palate development	1,47E-02	<i>CHD7, BBS7, ARID5B, ASPH</i>
GO:0021893	cerebral cortex GABAergic interneuron fate commitment	1,53E-02	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0021882	regulation of transcription from RNA polymerase II promoter involved in forebrain neuron fate commitment	2,28E-02	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0021544	subpallium development	2,28E-02	<i>DLX2, DLX1</i>
GO:0007265	Ras protein signal transduction	2,34E-02	<i>DOK2, IQGAP3, CCNA2</i>
GO:0021766	hippocampus development	2,64E-02	<i>DLX2, DLX1, BCAN</i>
GO:0043524	negative regulation of neuron apoptotic process	3,09E-02	<i>NES, DLX1, NTRK1, NDNF</i>
GO:0060411	cardiac septum morphogenesis	3,78E-02	<i>CHD7, HAND1</i>
GO:0042475	odontogenesis of dentin-containing tooth	3,93E-02	<i>DLX2, DLX1, HAND1</i>
GO:0030163	protein catabolic process	4,29E-02	<i>PAG10, PAG2, PAG12</i>
GO:0006508	proteolysis	4,56E-02	<i>ST14, PAG10, GGH, PAG2, PAG12</i>

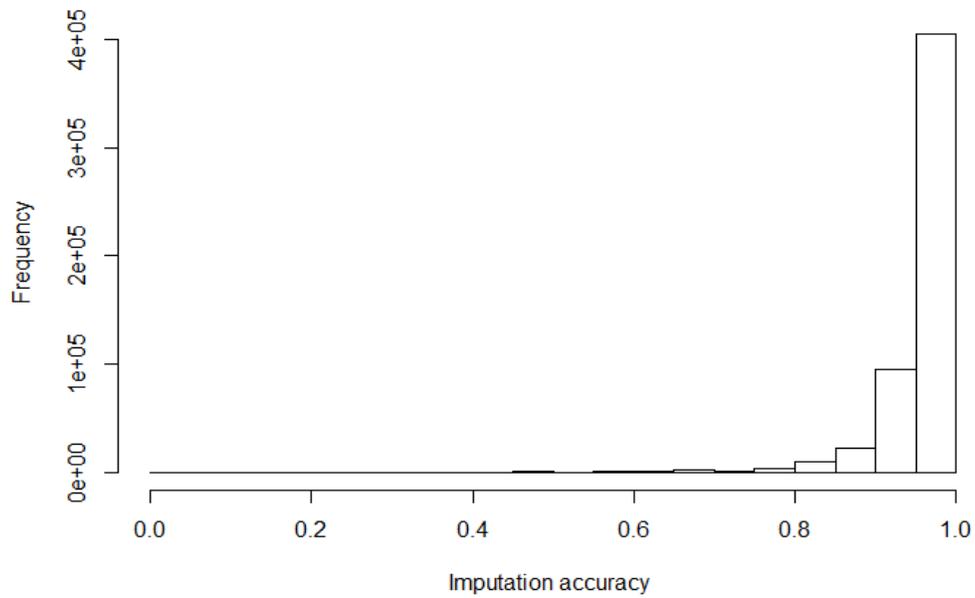


Abbildung A18: Absolute Häufigkeit der Imputationsgenauigkeiten über alle Autosomen hinweg.

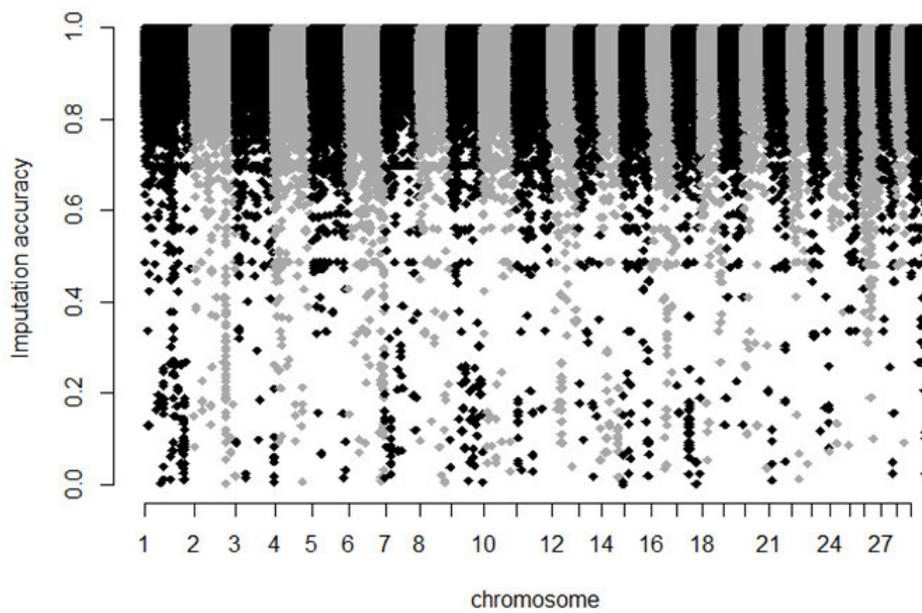


Abbildung A17: Imputationsgenauigkeiten für jeden einzelnen autosomalen SNP.

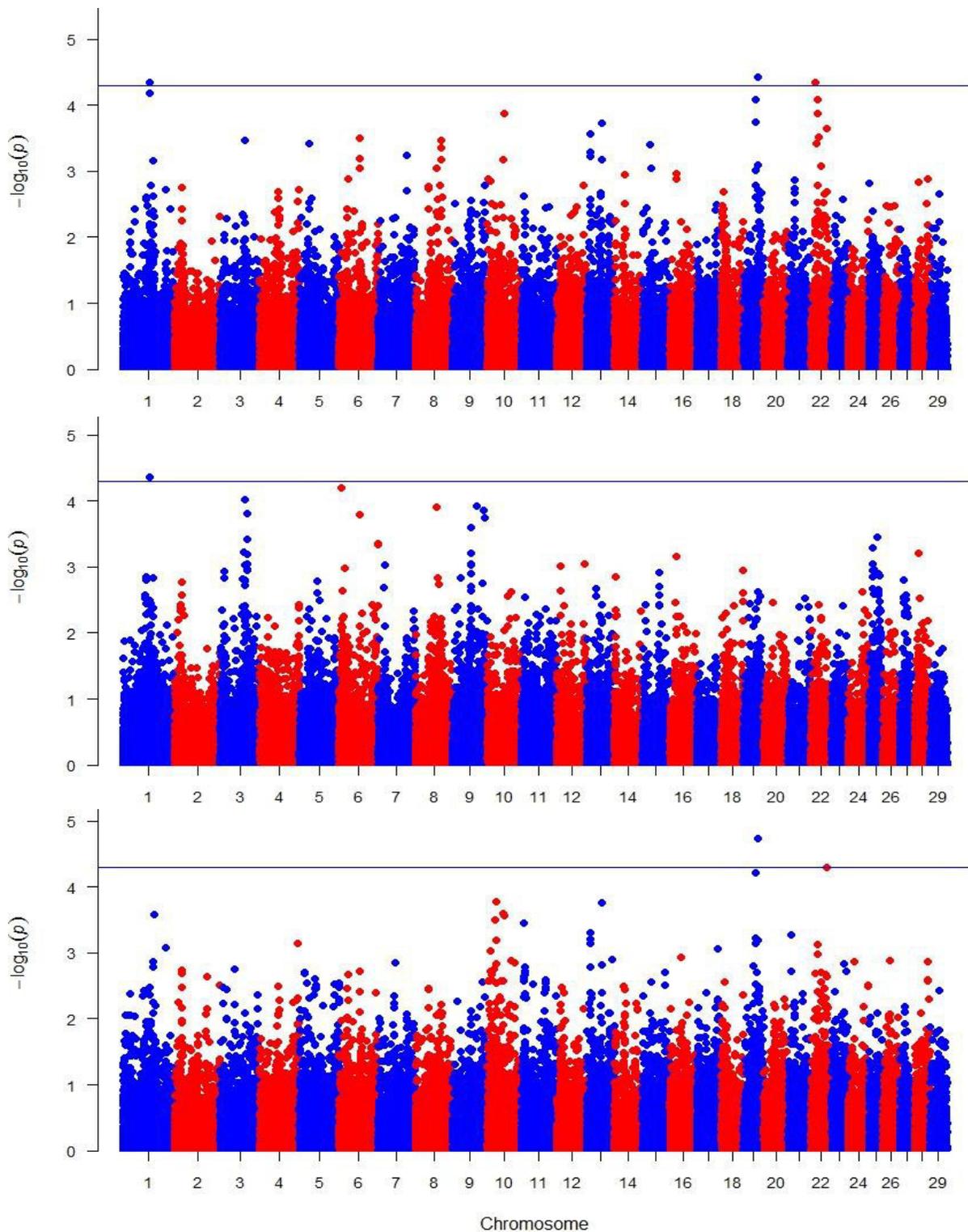


Abbildung A19: Manhattan-Plots der GWAS für Saugreflex mit dem 50K SNP Chip. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Die blaue Linie zeigt die Signifikanzschwelle bei $P_{nominal} < 5E-05$. Oben: Saugreflexkodierung TC1. Mitte: Saugreflexkodierung TC2. Unten: Saugreflexkodierung TC3.

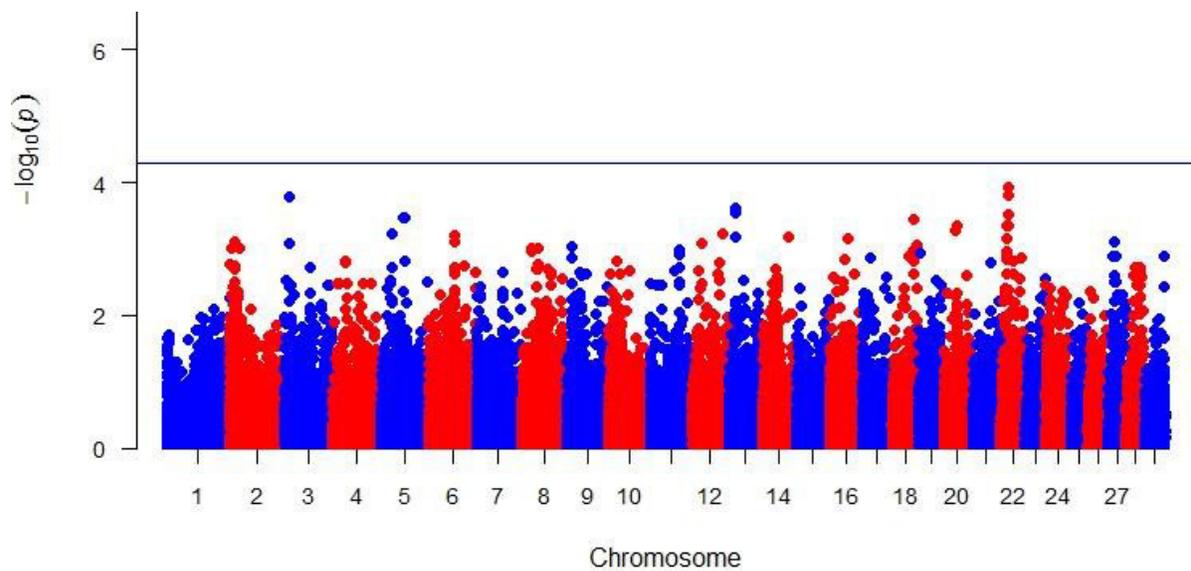


Abbildung A20: Manhattan-Plots der GWAS für Trinkverhalten mit dem 50K SNP Chip. Die X-Achse zeigt die Position auf dem Genom und die Y-Achse den beobachteten $-\log_{10}$ (P-Wert). Die blaue Linie zeigt die Signifikanzschwelle bei $P_{\text{nominal}} < 5E-05$.

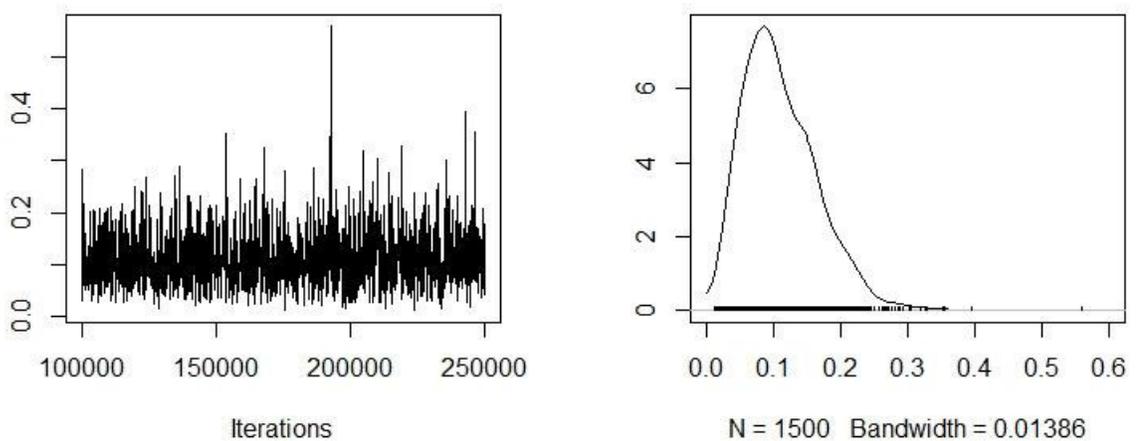


Abbildung A21: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC1.

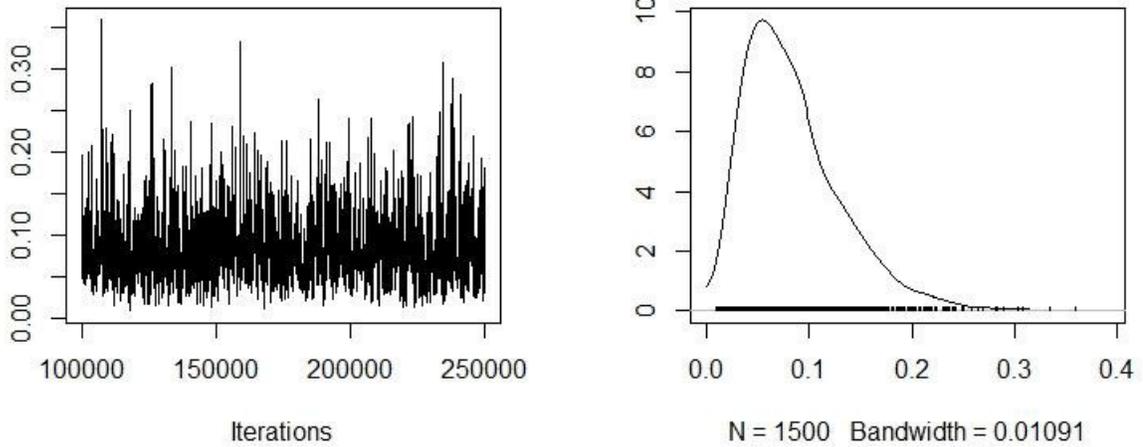


Abbildung A22: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC2.

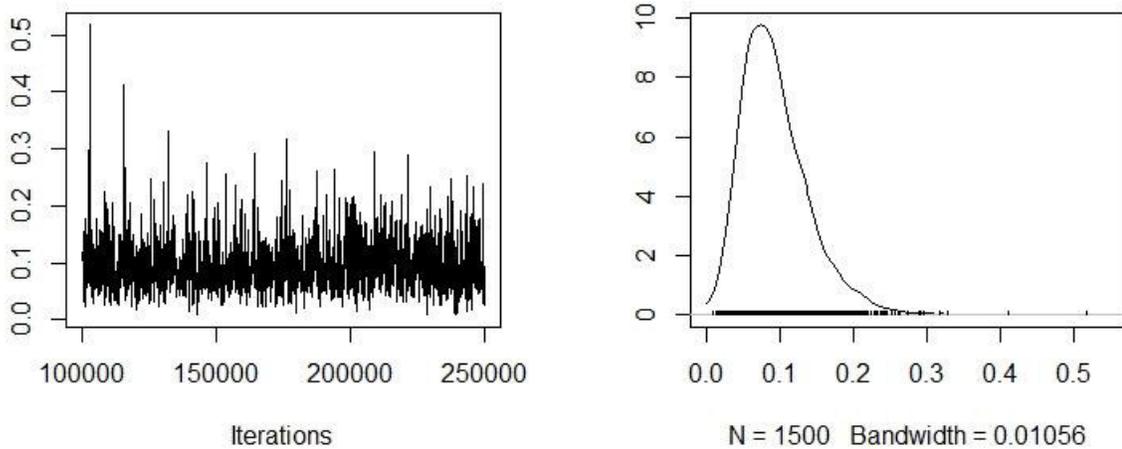


Abbildung A23: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC3.

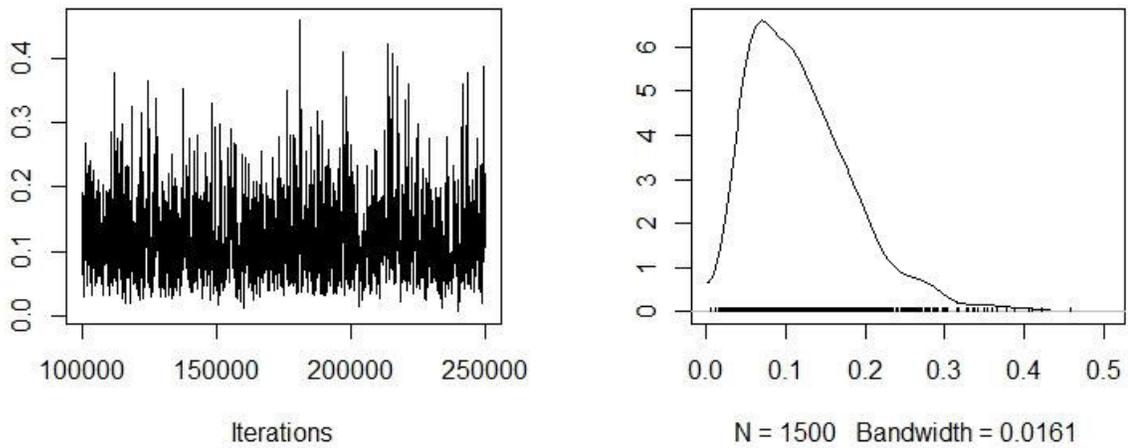


Abbildung A24: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für das Trinkverhalten (TV).

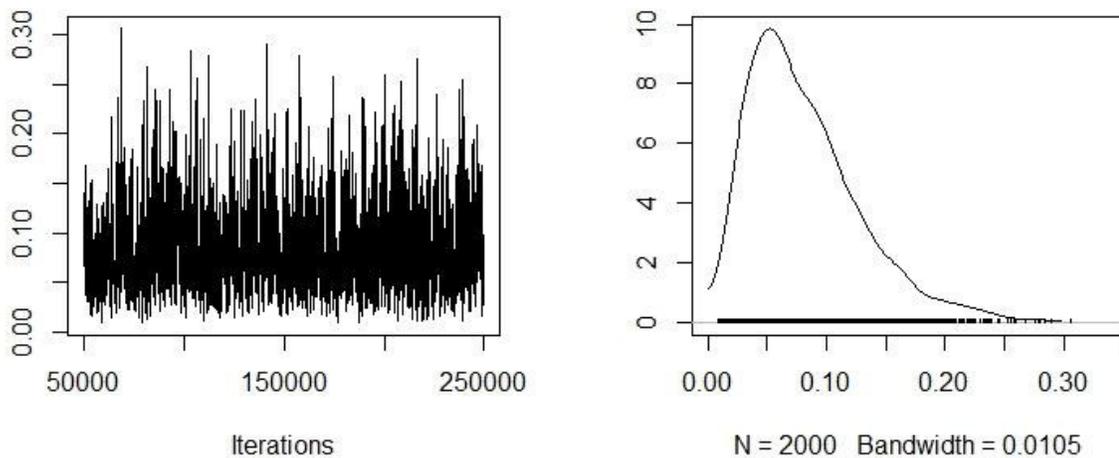


Abbildung A25: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC1_TD.

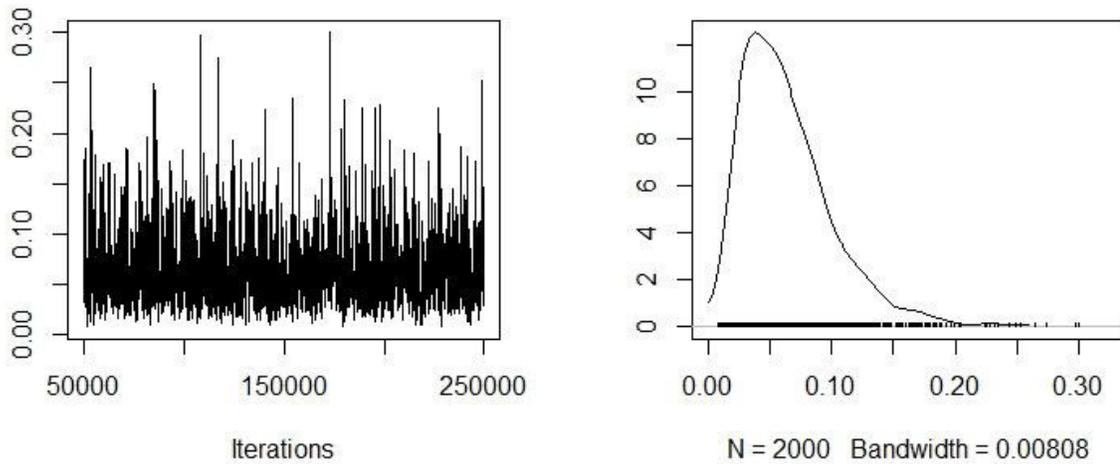


Abbildung A26: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC2_TD.

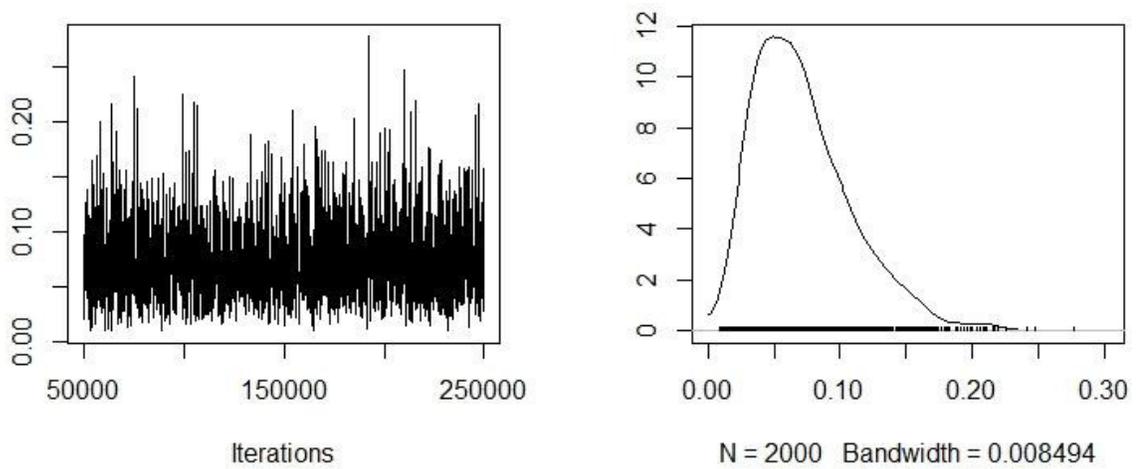


Abbildung A27: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) mit MCMCglmm für Saugreflex Kodierung TC3_TD.

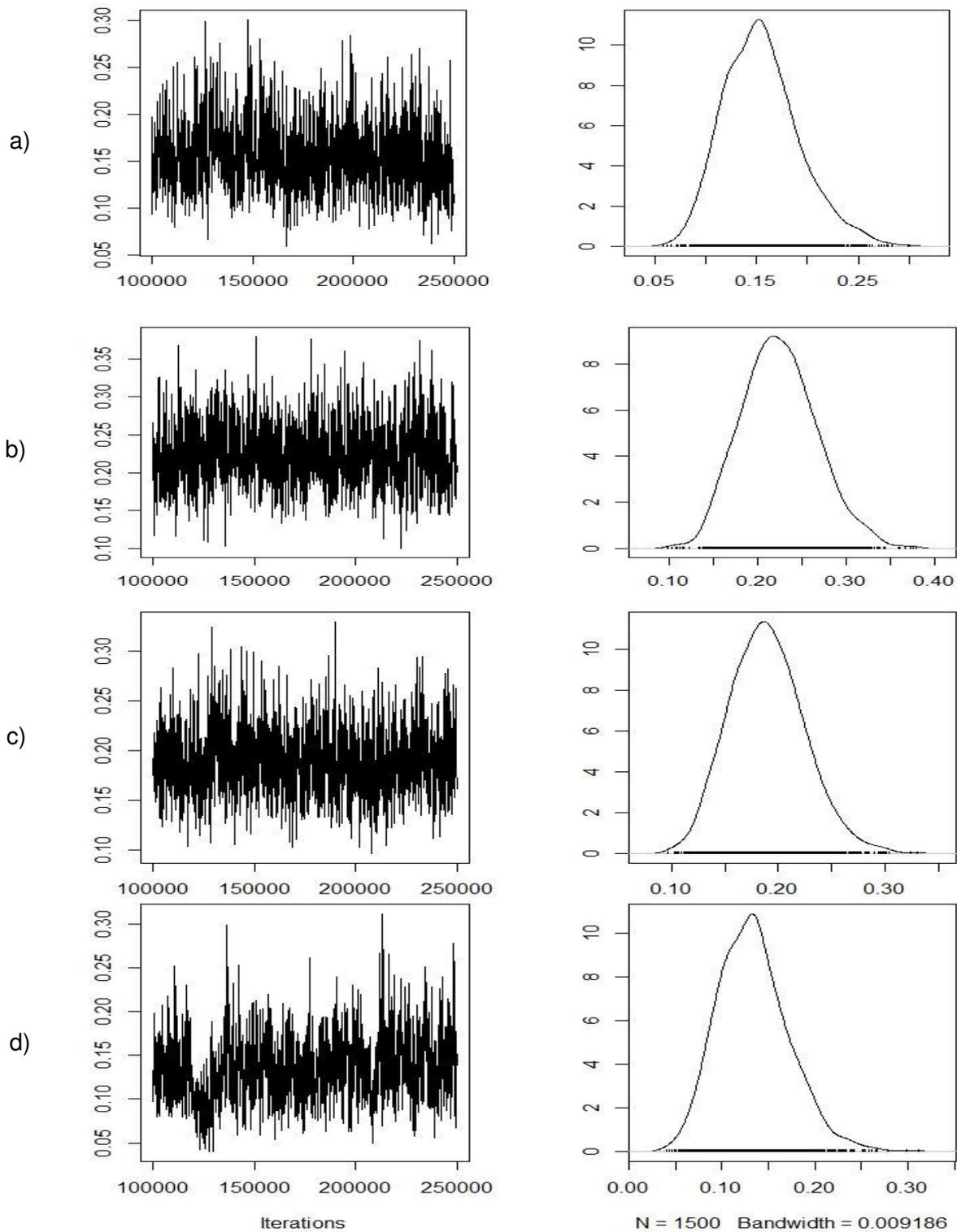


Abbildung A28: Trace Plot der Iterationen (links) und Verteilung der geschätzten Varianz (rechts) im multivariaten Modell mit MCMCglimm. a) Saugreflex (SR TC1), b) Trinkverhalten (TV), c) Größe und Qualität (GQ), c) Zustand (VIT)

Danksagung

Mein besonderer und herzlichster Dank gilt Herrn Prof. Dr. Jörn Bennewitz. Dafür, dass er mir die Bearbeitung des Trinkschwäche-Projektes und somit die Anfertigung dieser Dissertationsschrift anvertraut hat und auch während der gesamten Promotionszeit sämtliche Weiterbildungen und die Präsentation meiner Arbeit auf nationalen und internationalen Tagungen ermöglicht hat. Ganz besonders möchte ich ihm auch dafür danken, dass er mir in jeder Situation mit Zeit und Rat zu Seite stand und mich immer unterstützt hat.

Auch Frau Christina Schweizer möchte ich an dieser Stelle meinen Dank für jegliche Unterstützung von organisatorischer Seite her aussprechen.

Ebenfalls möchte ich Herrn Dr. Siegfried Preuß meinen besonderen Dank aussprechen. Er nahm sich für die Beantwortung jeder meiner Fragen immer und sofort Zeit und unterstützte mich bei meiner Arbeit wesentlich durch kritisches Hinterfragen und wertvolle Hinweise. Unter seiner Leitung wurden zudem alle Laborarbeiten und Genotypisierungen des in dieser Arbeit verwendeten Datensatzes durchgeführt. In diesem Zuge möchte ich mich daher auch bei allen Mitarbeiterinnen des Labors bedanken, ohne deren Arbeit dieses Projekt nicht möglich gewesen wäre.

Einen herzlichen Dank möchte ich auch Herrn Dr. Patrick Stratz, Herrn Dr. Dr. Robin Wellmann und Herrn Dr. Markus Schmid zukommen lassen. Dr. Patrick Stratz hat dieses Projekt vor allem an Anfang durch unterschiedliche Voranalysen maßgeblich unterstützt und stand mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Auch Dr. Dr. Robin Wellmann nahm sich immer Zeit, um mich bei den statistischen Analysen zu unterstützen. Die stets fruchtbaren, interessanten und manchmal auch amüsanten Diskussionen mit Dr. Markus Schmid werden mir in der Zukunft sehr fehlen, da sie nicht nur einiges zu meinem Verständnis verschiedenster Zusammenhänge beigetragen haben, sondern auch so manch schwierige Phase erleichtert haben.

Ein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. Henning Hamann vom LGL in Kornwestheim, der das Projekt und meine Arbeit immer mit notwendigen Daten versorgt hat.

Auch den Mitarbeitern der Rinderunion Baden-Württemberg und deren Geschäftsführer Herrn Dr. Weidele gebührt mein Dank, dass diese Promotion im Rahmen des Trinkschwäche-Projektes möglich war.

Allen meinen Kolleginnen und Kollegen des Fachgebietes Tiergenetik und Züchtung gebührt mein größter Dank für die unvergessliche Zeit. Der Zusammenhalt, die Hilfe, Ratschläge und die gegenseitige Motivation untereinander hat das Arbeitsklima mehr als angenehm und wertvoll gestaltet und hatte für mich persönlich einen familiären Charakter.

Zuletzt möchte ich meiner Familie danken. Meinen Eltern und Geschwistern, aber auch Familie Beilstein, die meinen Lebensweg bisher stetig begleitet haben. Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinen Eltern für die bedingungslose Unterstützung in jeder Lebenslage, die Aufmunterung und Motivation, den Rückhalt und auch die finanzielle Beihilfe in manchen Situationen.

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name: Clarissa Susanne Dreher

Geburtsdatum: 04.03.1988

Geburtsort: Darmstadt

Ausbildung

11/2015–04/2019	Doktorandin Universität Hohenheim, Institut für Nutztierwissenschaften, Fachgebiet Tiergenetik und Züchtung landwirtschaftlicher Nutztiere,
10/2013-10/2015	Master Agrarwissenschaften Universität Hohenheim, Fachrichtung Tierwissenschaften Master-Thesis: <i>„Assoziationskartierungen mit genomischen Modellen für korrelierte Milchmerkmale in der deutschen Holsteinpopulation“</i>
10/2009-06/2013	Bachelor Agrarwissenschaften, Fachrichtung Tierwissenschaften Universität Hohenheim, Bachelor-Thesis: <i>„Genetische Hornlosigkeit bei Fleischrindern und ihre Auswirkungen auf die Leistungsmerkmale“</i>
08/2007–07/2009	Ausbildung Landwirtin LTZ Augustenberg, Außenstelle Rheinstetten-Forchheim, Limousin-Zuchtbetrieb Gerhard Beilstein, Welterod
03/2007	Abitur Gymnasium am Kurfürstlichen Schloss, Mainz

Praktika

- 09/2012 Convis, Ettelbrück (LU)
Abteilung Fleischrinder
- 08/2011 Landwirtschaftskammer Rheinland-Pfalz, Koblenz
Abteilung Beratung Tierzucht

Nebentätigkeiten

- 02/2012-07/2015 Schultze & Braun, Insolvenzverwaltung, Stuttgart
Studentische Aushilfskraft
- 02/2012-07/2012 Universität Hohenheim, Stuttgart
Institut für Nutztierwissenschaften
Studentische Aushilfskraft Projekt Federpicken
- 2010-2011 Universität Hohenheim, Stuttgart
Institut für Nutztierwissenschaften
Studentische Aushilfskraft Tierernährung

Projektmitarbeit

- 11/2015–04/2019 *Projekt Trinkschwäche bei Braunviehkälbern*
Rinderunion Baden-Württemberg (RBW), Förderverein
Bioökonomieforschung (FBF), Universität Hohenheim
- 02/2017–07/2017 *Projekt Federpicken*
Universität Hohenheim

Ort, Datum

Unterschrift

Eidesstattliche Versicherung

Eidesstattliche Versicherung über die eigenständig erbrachte Leistung gemäß § 18 Absatz 3 Satz 5 der Promotionsordnung der Universität Hohenheim für die Fakultäten Agrar-, Natur- sowie Wirtschafts- und Sozialwissenschaften

1. Bei der eingereichten Dissertation zum Thema „Quantitativ-genetische und genomische Analysen zu den Merkmalen perinataler Saugreflex und Trinkverhalten bei Kälbern der Rasse Braunvieh“ handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.
2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
3. Ich habe nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung oder -beratung in Anspruch genommen.
4. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und der strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt.

Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärung bestätige ich. Ich versichere an Eides Statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erklärt und nichts verschwiegen habe.

Ort, Datum

Unterschrift