

Zebuines Kerngenom und taurine Mitochondrien: Admixtur von Nelore, der größten brasilianischen Rinderrasse

Johann SÖLKNER,¹ Ana M. PEREZ O'BRIEN,¹ Daniela HÖLLER,¹
Solomon A. BOISON,¹ Marco MILANESI,² Lorenzo BOMBA,²
Yuri T. UTSUNOMIYA,³ Roberto CARVALHEIRO,³ Haroldo H. R. NEVES,³
Marcos V. B. DA SILVA,⁴ Curtis P. VAN TASSELL,⁵ Tad S. SONSTEGARD,⁵
Gábor MÉSZÁROS,¹ Paolo AJMONE-MARSAN² und Jose Fernando GARCIA⁶

Zusammenfassung

Die Rinderwirtschaft ist ein bedeutender Erwerbszweig in Brasilien, und das Land ist aktuell der weltweit drittgrößte Exporteur von Rindfleisch. Mitte der 1950er bis Mitte der 1960er Jahre wurden Tausende von Zebus aus Indien importiert und die Fleischrasse Nelore (auch Nellore genannt) etabliert. Die Studie analysiert mit Methoden der Cluster-Analyse, implementiert in der Software „Admixture“, wie hoch der Anteil von indicinem und taurinem Erbgut in der aktuellen Nelore-Population ist. Als taurine Referenz werden die Rassen Angus, Fleckvieh, Hereford, Holstein Friesian, Limousin und Piedmontese verwendet, indicine Referenz sind ancestrale Nelore- und Gir-Tiere sowie die Rasse Brahman.

Abstract

The beef industry is a major employment industry in Brazil and the country is currently the world's third largest exporter of beef. From the mid-1950s to the mid-1960s, thousands of zebus were imported from India, establishing the meat breed Nelore (or Nellore). This study uses cluster analysis methods, implemented by the “Admixture” software, to analyze the proportion of indicine and taurine genetic material in the current Nelore population. Angus, Fleckvieh, Hereford, Holstein Friesian, Limousin and Piedmontese cattle breeds are used as taurine references. Ancestral Nelore and Gir animals and the Brahman cattle breed serve as the indicine references.

1. Einleitung

Die Rinderwirtschaft ist ein bedeutender Erwerbszweig in Brasilien, und das Land ist aktuell der weltweit drittgrößte Exporteur von Rindfleisch, nach Indien und Australien. Rinder kamen mit der Kolonialisierung vor rund 400 Jahren aus dem Süden Europas nach Brasilien. Die

1 Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Department Nachhaltige Agrarsysteme, Wien (Österreich).

2 Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, Institute of Zootechnica and Biodiversity and Ancient DNA Research Center – BioDNA, Piacenza (Italia).

3 Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias, Jaboticabal-SP (Brasil).

4 Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora-MG (Brasil).

5 United States Department of Agriculture – Agricultural Research Service, Bovine Functional Genomics Laboratory, Beltsville (MD, USA).

6 Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Araçatuba-SP (Brasil).

europäischen Typen von Rindern, welche der Subspezies *Bos taurus taurus* angehören, sind nicht angepasst an das in großen Teilen Brasiliens vorherrschende tropische Klima. Seit dem späten 19. Jahrhundert liefen Versuche, Zebu-Rinder der Subspezies *Bos taurus indicus* aus Indien zu importieren. Mitte der 1950er bis Mitte der 1960er Jahre wurden Tausende von Zebus aus Indien importiert und die Fleischrasse Nelore (auch Nelore genannt) sowie die Milchrasse Gir (auch Gyr genannt) etabliert. Über 80 % der brasilianischen Rinderpopulation haben einen hohen Anteil an Zebu-Genen, aktuell gibt es mehr als 100 Millionen Nelore-Rinder.

Mehrere Nelore-Zuchtprogramme etablieren aktuell die genomische Selektion als Zucht-methode und genotypisieren dafür große Zahlen von Tieren mit dem Bovinen *High-density*-SNP-Chip (BovineHD Genotyping BeadChip, Illumina), welcher Information für 777 000 genetische Marker pro Tier liefert. In der vorliegenden Studie untersuchen wir mit Methoden der Cluster-Analyse, implementiert in der Software „Admixture“, wie hoch der Anteil von indicinem und taurinem Erbgut in der aktuellen Nelore-Population ist. Als taurine Referenz werden die Rassen Angus, Fleckvieh, Hereford, Holstein Friesian, Limousin und Piedmontese verwendet, indicine Referenz sind ancestrale Nelore- und Gir-Tiere sowie die Rasse Brahman.

2. Material und Methoden

2.1 Beschreibung der Rasse Nelore

Nelore stammt von der indischen Rasse Ongole ab und hat ihren Namen nach der Provinz Nelore im Bundesstaat Andhra Pradesh, von der aus die ersten Exporte nach Brasilien stattfanden. Rund 7000 Tiere wurden insgesamt importiert (VOZZI et al. 2007), die Ausbreitung der Rasse erfolgte durch Verdrängungskreuzung mit lokalen taurinen Creole-Rindern. Der Name der Rasse wurde erstmals 1868 erwähnt; ein Herdebuch und die dazu gehörigen Regelungen zur Zucht wurden 1838 etabliert (FLECHA 1997, ACNB 2006, DANI et al. 2008).

Nelore-Rinder haben wie alle anderen Zebus einen Schulterhöcker, haben lange Beine und für Zebus sehr kurze und stehende Ohren. Die Haut ist sehr dunkel, meist schwarz, das Fell ist einheitlich sehr hell (weiß oder hellgrau), und die Ohren sind zebu-untypisch klein und aufrecht. Die Rasse ist robust, hitzeresistent und viel weniger anfällig gegenüber durch Zecken übertragenen Parasiten. Diese Eigenschaften sowie rasches Wachstum in der Jugend und ein guter Mutterinstinkt haben Nelore zur mit Abstand am weitesten verbreiteten Rinderrasse Brasiliens werden lassen (FLECHA 1997).

Aktuell gibt es zwei konkurrierende Zuchtsysteme: Die Pedigree-Züchter legen größten Wert auf rein indische Abstammung, dokumentiert durch den Pedigree; die Produktionszüchter legen Wert auf sehr gute Fleischleistung und sind weniger streng bezüglich der indischen Abstammung.

2.2 Genotyp-Daten

Extrahierte DNA wurde mit dem Illumina BovineHD Genotyping BeadChip (Illumina, 2012) mit insgesamt 777 962 (777k) Single-Nucleotide-Polymorphismus-Markern (SNPs) getestet.

Dieser Chip beinhaltet SNPs aller 30 bovinen Chromosomenpaare sowie auch 314 Marker der mitochondrialen (mt) DNA.

Das ZGC (*Zebu Genomic Consortium*) aus Brasilien und das *Bovine HapMap Project* des USDA (*United States Department of Agriculture*) stellten die Genotypen-Daten von 706 Tieren zur Verfügung. Die Rasse Nelore wurde in drei Gruppen unterteilt: ancestrale Nelore (ANL, 21 Tiere), von Importen aus Indien, und zwei Gruppen von „jungem“ Nelore, Pedigree-Typ (YNLped, 148) und Produktions-Typ (YNLProd, 304).

Als taurine Referenzpopulationen wurden Angus (ANG, 30), Fleckvieh (FLV, 20), Hereford (HFD, 27), Holstein (HOL, 30), Limousin (LIM, 30) und Piedmontese (PMT, 24) herangezogen, weitere indicine Referenzpopulationen neben ancestraler Nelore waren Gir (GIR, 30) und Brahman (BRA, 30). Von der Rasse Brahman ist bekannt, dass es bei ihrer Entwicklung in den USA einen nicht unwesentlichen Beitrag tauriner Herkunft gab.

Nach Genotyp-Qualitätskontrolle mit Plink 1,07 (PURCELL et al. 2007) verblieben 704 Tiere mit 706017 autosomalen SNPs, 693 Tiere mit 98 Y-chromosomal SNPs und 703 Tiere mit 27 mitochondrialen SNPs zur Analyse. Eine detaillierte Beschreibung der Schritte der Qualitätskontrolle findet sich bei HÖLLER (2013). Der größte Teil der 314 mitochondrialen SNPs am Chip waren monomorph für den gesamten Datensatz.

2.3 Genetische Analysen

Die autosomalen SNPs wurden einer Admixture-Analyse mit der Software Admixture 2.1 (ALEXANDER et al. 2009) unterzogen. Die Software verwendet das bei dieser Art von Analysen häufig angewandte Hidden-Markov-Modell (HMM) der Cluster-Analyse. Die vorzuziehende Anzahl der ancestralen Populationen wurde von 2 bis 9 variiert, der Anteil jeder ancestralen Population im Genom jedes Individuums wird mit dem HMM-Algorithmus ermittelt. Admixture-Graphen geben Auskunft über die anteilige Zugehörigkeit jedes Individuums zu einer oder mehreren ancestralen Populationen. Für mitochondriale und Y-chromosomale SNPs wurden Haplotypen-Analysen mit der Software fastPHASE v1.2 (SCHEET et al. 2006) durchgeführt. Hier wurde nach in der jeweiligen Rasse bzw. Subspezies dominanten Haplotypen gesucht.

3. Ergebnisse

3.1 Autosomales Genom

Die Analyse der Admixture des Autosoms mit zwei ancestralen Populationen zeigt eine sehr klare Trennung von taurinen und indicinen Populationen (Abb. 1). Die aktuellen Nelore-Populationen (Produktions- und Pedigree-Typen) sind fast ausschließlich indicin, der durchschnittliche Anteil an taurinem Erbgut ist deutlich unter 1%. Brahman-Tiere zeigen einen deutlich höheren Anteil an taurinem Erbgut (13%), und auch Gir-Tiere sind aufgrund der vorliegenden Analyse weniger rein indicin als Nelore (4% taurin).

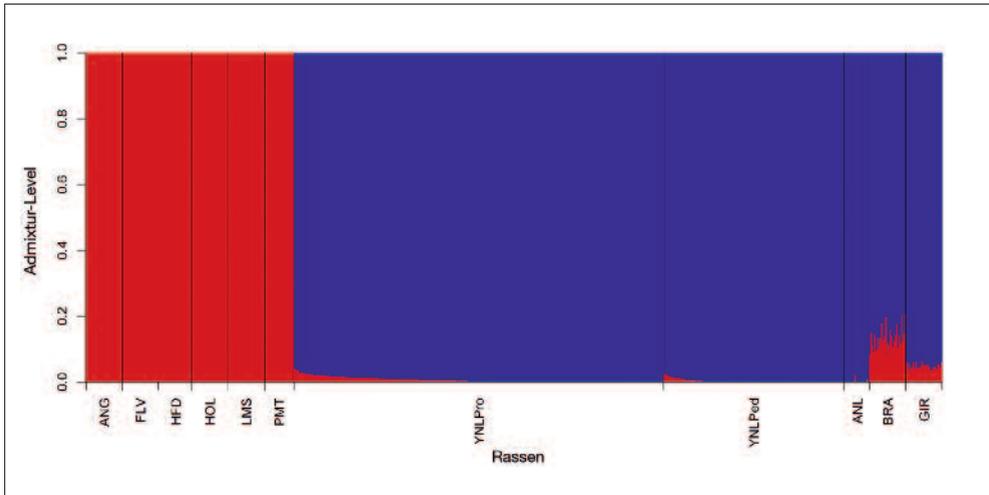


Abb. 1 Genomweite Admixture bei zwei ancestralen Populationen. Rassen: Angus (ANG), Fleckvieh (FLV), Hereford (HFD), Holstein (HOL), Limousin (LMS) und Piedmontese (PMT), aktuelle Nelore Produktionstyp (YNLpro) und Pedigree-Typ (YNLped), ancestrale Nelore (ANL), Brahman (BRA), Gir (GIR). Rote Farbe indiziert taurine, blaue Farbe indicine Abstammung.

Bei Vorgabe von 9 ancestralen Populationen (Abb. 2) ergibt sich kein klares Bild. Fleckvieh, Limousin und Piedmontese erscheinen in einem Cluster, Brahman und Gir in einem anderen. Die Tiere der Rasse Nelore werden nicht eindeutig zugeordnet, sondern zeigen 4 Abstammungen, die allerdings privat für die Rasse sind.

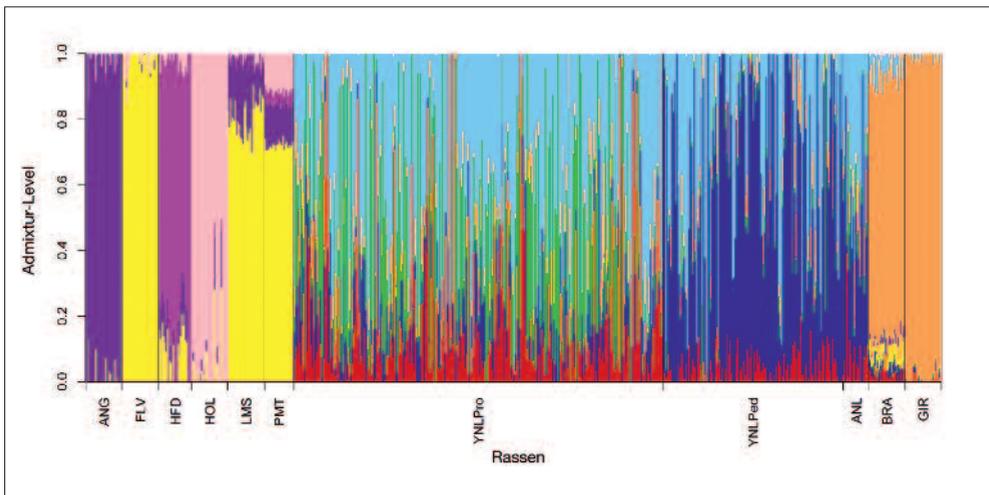


Abb. 2 Genomweite Admixture bei neun ancestralen Populationen. Für Erklärung der Abkürzungen siehe Abb. 1.

3.2 Y-chromosomale und mitochondriale Genome

Die Admixtur-Analyse des Y-chromosomalen Genoms zeigt eine klare Zuordnung der aktuellen Nelore-Population zum indicinen Typ. Die Auswertung des mitochondrialen Genoms zeigt keine klare Trennung (für Details zu beiden Analysen siehe HÖLLER 2013). Eine Haplotypen-Analyse, wie sie üblicherweise für Marker dieser beiden Genome vorgenommen wird, zeigt für die auf 9 polymorphen SNPs basierenden Y-chromosomalen Haplotypen keine klare Trennung von taurinen und indicinen Typen (Tab. 1). Es zeigt sich ein dominanter Haplotyp, der bei Nelore zu 100 % vorkommt, aber auch bei Holstein monomorph und bei den übrigen taurinen Rassen dominant ist. Lediglich Fleckvieh und Piedmontese zeigen private Haplotypen in nennenswerter Frequenz.

Tab. 1 Frequenzen Y-chromosomaler Haplotypen. Die Hintergrundfarbe zeigt die höchste und zweithöchste (wenn > 0,10) Frequenz eines Haplotyps innerhalb einer Rasse in gelb bzw blau. Haplotypen, die für eine Rasse privat sind, werden in orange angezeigt.

Hap-ID	Rassen											
	ANG	FLV	HFD	HOL	LMS	PMT	ANL	BRA	GIR	YNL _{pro}	YNL _{ped}	
1	0,964	0,600	0,852	1,000	0,933	0,417	1,000	0,864	0,897	1,000	1,000	
2			0,148		0,067	0,333		0,136	0,103			
3		0,400										
4						0,250						
5	0,036											

Die Haplotypenanalyse der 27 mitochondrialen SNPs (Tab. 2) zeigt mit insgesamt 15 Haplotypen eine größere Variabilität. Zehn dieser Haplotypen sind allerdings privat für eine Rasse und kommen bis auf eine Ausnahme in jeweils einer Kopie vor. Der dominante Haplotyp hat eine Frequenz von > 50 % in allen Rassen, der zweithäufigste Haplotyp kommt ausschließlich in indicinen Rassen vor. Bei der sicher unverfälschten Stichprobe der ancestralen Nelore beträgt die Frequenz 40,3 %, bei aktuellen Nelore lediglich 1,3 % (Nelore-Produktion) bzw. 8,5 % (Nelore-Pedigree). Die im Vergleich zu ancestralen Nelore deutlich niedrigere Frequenz dieses Haplotyps deutet auf taurine Mutterlinien hin.

Tab. 2 Frequenzen mitochondrialer Haplotypen. Die Hintergrundfarbe zeigt die höchste und zweithöchste (wenn > 0,10) Frequenz eines Haplotyps innerhalb einer Rasse in gelb bzw blau. Haplotypen, die für eine Rasse privat sind, werden in orange angezeigt.

Hap-ID	Rassen											
	ANG	FLV	HFD	HOL	LMS	PMT	ANL	BRA	GIR	YNL _{pro}	YNL _{ped}	
1	0,833	0,833	0,962	0,899	0,900	1,000	0,545	0,632	0,793	0,982	0,911	
2			0,038	0,033			0,403	0,167	0,207	0,013	0,085	
3	0,033	0,033		0,033	0,033			0,101				
4		0,033		0,033								
5	0,067											
6								0,067				
7					0,033							
8					0,033							
9	0,033											
10	0,033											
11									0,033			
12							0,047					
13		0,033										
14		0,033										
15		0,033										

4. Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen, dass das autosomale Genom der Chromosomen 1–29 der aktuellen Nelore-Population zu mehr als 99 % indicines Erbgut enthält. Die Variation ist gering, der größte Anteil an taurinem Erbgut in einem Einzeltier beträgt rund 5 %. Dies ist mit einer konsequenten Verdrängungskreuzung mit Einsatz rein indiciner Vätertiere gut vereinbar. Die Analyse der im *High-density*-Chip ebenfalls vorhandenen Marker aus mitochondrialer DNA gibt Hinweise zur Vererbung entlang der maternalen Ahnenlinien. Insgesamt waren 27 der über 300 mitochondrialen SNPs informativ. Die Analyse von Haplotypen ergibt allerdings keine vollständige Trennung von taurinen und indicinen Haplotypen, der bei den taurinen Rassen dominante Haplotyp findet sich auch bei rund 55 % den ancestralen Nelore-Tiere. Der mit 40 % zweithäufigste Haplotyp bei ancestralen Nelore findet sich jedoch kaum in der aktuellen Nelore-Population. Eine konventionelle Analyse durch Sequenzierung des mitochondrialen Genoms oder des D-Loop (UTSUNOMIYA et al. 2014) wäre wohl aussagekräftiger als die vorliegende Analyse von mtDNA-SNPs aus dem bovinen *High-density*-SNP-Chip. Die Analyse von 9 informativen Y-chromosomal SNPs indiziert keine klare Trennung der Subspezies.

Zusammenfassend bestätigen die Ergebnisse der SNP-Analysen die Zuchtpraxis einer äußerst konsequenten Verdrängung von taurinen Genanteilen aus der Rasse Nelore in einem

Zeitraum von rund 60 Jahren. Dass sich hier praktisch kein Unterschied zwischen den Pedigree- und Produktionspopulationen von Nelore zeigt, ist für die brasilianische Züchtergemeinschaft überraschend und hoch relevant (PEREZ-O'BRIEN et al. 2015). Die Analyse der autosomalen Admixtur aus SNP-Chip-Daten ist sehr nützlich zur Klärung individueller Kreuzungslevels in Nutztierpopulationen (FLORI et al. 2012, FRKONJA et al. 2012).

Literatur

- ACNB: A Raça: Histórico. Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. (2006)
<http://www.nelore.org.br/Raca/Historico> visited on 2013-11-24
- ALEXANDER D. H., NOVEMBRE, J., and LANGE, K.: Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Gen. Res.* 19, 1655-1664 (2009)
- DANI, M. A. C., HEINEMAN, M. B., and DANI, S. U.: Brazilian Nelore cattle: a melting pot unfolded by molecular genetics. *Genet. Mol. Res.* 7, 1127–1137 (2008)
- FLECHA, J. P.: Nelore. Oklahoma State University, Department of Animal Science, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. (1997)
<http://www.ansi.okstate.edu/breeds/cattle/nelore/> visited on 2013-09-29
- FLORI, L., GONZATTI, M. I., THEVENON, S., CHANTAL, I., PINTO, J., BERTHIER, D., ASO, P. M., and GAUTIER, M.: A quasi-exclusive European ancestry in the Senepol Tropical Cattle Breed highlights the importance of the slick locus in tropical adaptation. *PLOS ONE* 7, 5 (2012)
- FRKONJA, A., GREDLER, B., SCHNYDER, U., CURIK, I., and SÖLKNER, J.: Prediction of breed composition in an admixed cattle population. *Anim. Genet.* 43, 696–703 (2012)
- HÖLLER, D.: Assessing Taurine Introgression in the Current Brazilian Nelore Cattle Population. Master Thesis, Universität für Bodenkultur Wien (2013)
- PEREZ O'BRIEN, A. M., et al.: Low levels of taurine introgression in the current Brazilian Nelore and Gir indicine cattle populations. *Genet. Sel. Evol.* 47, 1–7 (2015)
- PURCELL, S., NEALE, B., TODD-BROWN, K., THOMAS, L., FERREIRA, M. A. R., BENDER, D., MALLER, J., SKLAR, P., BAKER, P. I. W. DE, DALY, M. J., and SHAM, P. C.: PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *Amer. J. Hum. Genet.* 81, 559-575 (2007)
- SCHEET P., and STEPHENS M.: A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: Applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase. *Amer. J. Hum. Genet.* 78, 629-644 (2006)
- UTSUNOMIYA, Y. T., BOMBA, L., LUCENTE, G., COLLI, L., NEGRINI, R., LENSTRA, J. A., ERHARDT, G., GARCIA, J. F., and AJMONE-MARSAN, P.: Revisiting AFLP fingerprinting for an unbiased assessment of genetic structure and differentiation of taurine and zebu cattle. *BMC Genet.* 15/1, 1 (2014)
- VOZZI, P. A., MARCONDES, C. R., BEZERRA, L. A. F., and LÔBO, R. B.: Pedigree analyses in the breeding program for Nelore cattle. *Genet. Mol. Res.* 29, 482-485 (2007)

Prof. Dr. Johann SÖLKNER
Universität für Bodenkultur Wien (BOKU)
Department Nachhaltige Agrarsysteme
Institut für Nutztierwissenschaften (NUWI)
Augasse 2–6
1090 Wien
Österreich
Tel.: +43 1 47654 93201, 93231
E-Mail: johann.soelkner@boku.ac.at