

# *Genetische Abstammungskontrolle bei ungezielter Herdenpaarung sowie die Bestimmung eines genetischen Zuchtfaktors zur Erhöhung der Käseausbeute bei Saanenziegen*

Obwohl die Ziegenpopulation in der Schweiz seit den sechziger Jahren leicht abgenommen hat, erkennt man tendenziell eine Zunahme der Anzahl Ziegen pro Halter. Auch wenn 55% der Ziegenbesitzer Kleinherden mit 1-4 Ziegen halten und somit die traditionellen Strukturen der Ziegenhaltung im landwirtschaftlichen Nebenerwerb bestätigen, zeichnet sich parallel eine Entwicklung mit Intensivhaltung von mittleren und grossen Herden (100-500 Tiere) ab.



Für die folgende Studie wurden insgesamt 278 Elterntiere und Nachkommen aus einer offenen Herde von Saanen-Ziegen aus einem Grossbetrieb in der Westschweiz beprobt. Das hierbei verwendete Zuchtverfahren entspricht der ungezielten Paarung mit ausgewählten Bestandsböcken mittels Brunstsynchronisation im Laufstall. Zusätzlich wird mit künstlicher Besamung gezielt Spermia nachzuchtgeprüfter französischer Böcke eingesetzt. Bei diesem Zuchtverfahren stellt die genetische Abstammungskontrolle eine leistungsstarke und eindeutige Identifizierungsart der Elterntiere dar.

In einem zweiten Teil werden die Möglichkeiten der molekulargenetischen Analytik anhand der Bestimmung der genetischen Unterschiede des Kaseins aufgezeigt. Dadurch kann die effektive Kaseinmenge, ein wesentliches Qualitätsmerkmal für die Milchausbeute in der Käseherstellung, vorausgesagt und durch gezielte Kreuzungszucht verbessert werden.

## **Ausgangslage und technisch-analytisches Prinzip**

Jedes Zuchttier, das in ein Zuchtbuch eingetragen werden soll, muss entsprechend dem Tierzuchtgesetz eine nachgewiesene Abstammung aufweisen. Das Sprungblatt bildet die Grundlage zur Herdebuchführung. Bei Belegung mit zwei oder mehreren Herdebuchböcken in der gleichen Herde kann die Abstammung des Nachkommen nicht bestimmt werden und wird im Sprungmeldeblatt mit dem Vermerk «Belegbock» ohne Angabe einer Einzelabstammung eingetragen. Dadurch gehen dem Ziegenhalter neben der eindeutigen Abstammung auch aufschlussreiche Erkenntnisse der Nachzuchtprüfung verloren.

Die Methoden zur Überprüfung der Abstammungsangaben haben sich in den letzten Jahren stark entwickelt und werden bei den landwirtschaftlichen Nutztierassen Rind, Schwein und Pferd routinemässig überprüft. Moderne Ver-

fahren beruhen auf der individuellen Variation bestimmter Abschnitte der Erbsubstanz (DNA). Mit Hilfe automatischer Analysegeräte werden tierindividuelle DNA-Muster ermittelt, die mit hoher Sicherheit Abstammung und Identität des betreffenden Tieres klären bzw. nachweisen können. Das in dieser Arbeit verwendete molekulargenetische Diagnoseverfahren wird als Mikrosatellitenanalyse bezeichnet. Mikrosatelliten sind längenvariable DNA-Abschnitte die gleichermassen von Vater und Mutter vererbt werden, in vielen Varianten (Allelen) vorkommen und in grosser Anzahl gleichmässig über das gesamte Erbgut (Genom) verteilt auftreten (siehe auch Abbildung 2). Bei den Auswahlkriterien der 13 eingesetzten Mikrosatelliten wurde vor allem Wert auf eine hohe Aussagesicherheit bei möglichst geringem Analysenaufwand gelegt mit der Zielsetzung einer schnellen, kostengünstigen und sicheren Analyse der Abstammung und Identität. Gleichzeitig wurden die DNA-Marker Empfehlungen der Internationalen Gesellschaft für Tiergenetik (ISAG) weitestgehend mitberücksichtigt, um einen möglichst kompatiblen Austausch der Daten zwischen einzelnen Laboratorien im In- und Ausland zu gewährleisten.

Für die vollständige genetische Charakterisierung muss geeignetes Probenmaterial der Eltern- und Jungtiere zur Verfügung stehen. Grundsätzlich eignet sich jedes zellkernhaltige Gewebe wie beispielsweise Blut- und Haarwurzelzellen. Von Seiten des Schweizerischen Ziegenzuchtverbandes (SZZV) werden gegenwärtig nur in speziellen Fällen und nur ausgehend von Blutproben Abstammungskontrollen akzeptiert.

Am 22. November 2004 hat der Vorstand des Schweizerischen Ziegenzuchtverbandes beschlossen, dass die vorgestellten Abstammungskontrollen auch für den Eintrag ins Herdebuch akzeptiert werden. Der Mehraufwand für das nachträgliche Eintragen von Vatertieren wird dem Züchter in Rechnung gestellt.

Schweizerischer Ziegenzuchtverband

Das einmal aus einem Tier gewonnene Erbmaterial enthält die gesamte genetische Information dieses Lebewesens und steht somit auch für weitere genetische Abklärungen zur Verfügung. Exemplarisch für die diagnostische Mehrfachverwendung der DNA wird im nächsten Abschnitt die genetische Bestimmung der Kasein-Gen-Varianten aus demselben Probenmaterial aufgezeigt.

### Bestimmung der Kasein-Gen-Varianten

Das Eiweiss stellt neben dem Fett den wichtigsten Bestandteil der Milch dar. Die wichtigsten Eiweissstoffe in Milch sind die Kaseine mit einem Anteil von 75%, die Globuline und das Serumalbumin.

Aus verschiedenen Studien ist bekannt, dass genetische Faktoren massgeblich den Kasein-gehalt der Ziegenmilch beeinflussen. Vor allem bei einer Fraktion der Kaseine, dem sogenannten alpha S<sub>1</sub> Kasein ( $\alpha_{s1}$ -Kasein) gibt es eine Vielzahl an Genvarianten, welche für grosse Unterschiede im Gehalt der Ziegenmilch verantwortlich sind.

In erster Linie verbessert ein hoher Kasein-gehalt die Käsetauglichkeit im Bezug auf



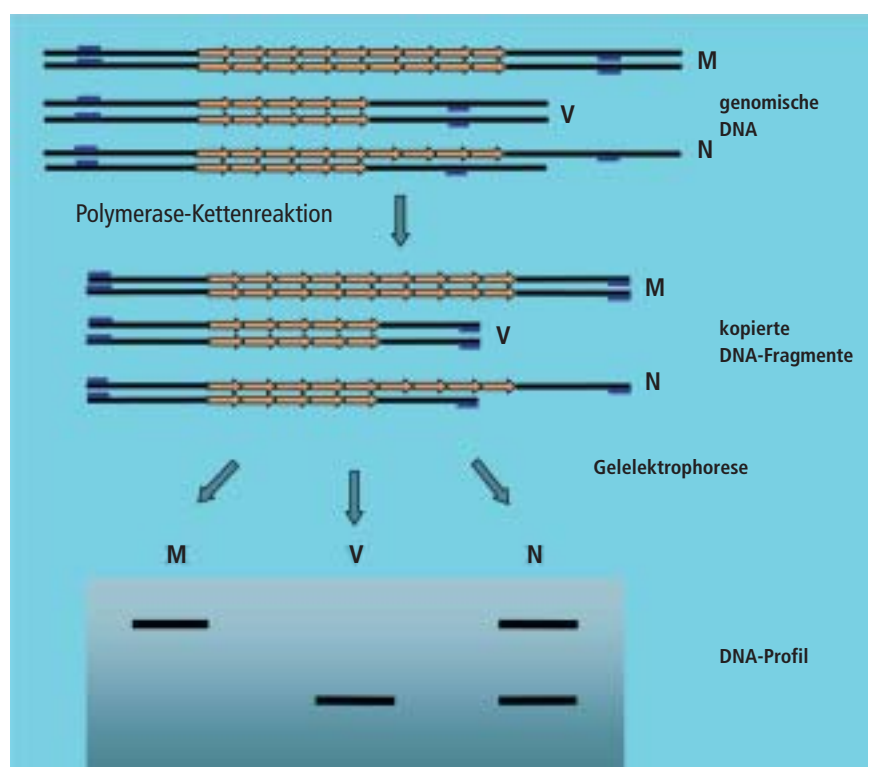
Abbildung 1: Aussengehege der Laufstallungen.

Illustration 1: Parc extérieur de la stabulation libre.

(Photo: J. Rentsch)

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Mikrosatelliten-Analyse

Dargestellt ist ein Mikrosatellit mit unterschiedlicher Anzahl an Wiederholungseinheiten bei Mutter (M), Vater (V) und Nachkommen (N). Die mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) vervielfältigten DNA-Stücke werden in einer Gelelektrophorese der Länge nach aufgetrennt. Dabei wandern die kürzeren Fragmente schneller und liegen weiter vorn bzw. unten. Das exemplarische Resultat zeigt für die Mutter und den Vater jeweils eine Bande. Da die Mutter mehr Wiederholungseinheiten aufweist liegt ihre Bande höher als die des Vaters. Für den Nachkommen lassen sich zwei unterschiedlich vererbte Banden nachweisen, die sich auf die Eltern zurückführen lassen. Ist dies für alle untersuchten Mikrosatelliten der Fall, kann die Abstammung bestätigt werden.



Zusammensetzung, Gerinnungseigenschaften und Käseausbeute. Daneben wird beschrieben, dass die Kaseinvarianten auch einen Einfluss auf die Wahrnehmungsmerkmale beim Käse haben, indem beispielsweise die Varianten O und F des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins einen Käse mit ausgeprägterem Ziegengeschmack generieren sollen.

Die genetisch festgelegten Unterschiede sind bei der Ziege gut charakterisiert und können geschlechts-, alters- und lactationsunabhängig molekulargenetisch erfasst werden. Über die Bestimmung der individuellen Genvarianten des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins kann die Zucht auf bestimmte Proteinvarianten oder auf die Erhöhung der Kaseinmenge in der Ziegenmilch ausgerichtet werden. Dies hat heute bereits seine Anwendung bei der Ziegenzucht in Frankreich, wonach jeder gekörte Bock seine Vererbungseigenschaft bezüglich des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins auszuweisen hat. In dieser Arbeit wurden insgesamt 49 Ziegen aus der selben Herde auf die  $\alpha_{s1}$ -Kaseinvariante hin untersucht, wobei vorrangig die jungen Bestandsböcke und eine Auswahl an weiblichen Tieren beprobt und typisiert wurden.

## Ergebnisse

### Abstammungskontrollen

Für die Abstammungskontrolle wurden insgesamt 102 Muttertiere, 11 Belegböcke und 141 Nachkommen genotypisch mit 13 Mikrosatelliten erfasst und ausgewertet. Dabei konnte für 131 Nachkommen eine eindeutige und zweifelsfreie Einzelabstammung aus der Herde der beprobten Belegböcke bestimmt werden. Lediglich in acht Vaterschaftsabklärungen mussten die beprobten Belegböcke allesamt ausgeschlossen werden und die Vaterschaft als unbekannt und ausserhalb der beprobten männlichen Herdentiere eingestuft werden. Bei den restlichen zwei Nachkommenschaften konnte auch durch Einbezug von drei weiteren Mikrosatelliten-

Markern die väterliche Abstammung lediglich auf jeweils zwei Kandidaten-Väter eingeschränkt werden. Bei diesen beiden zuletzt genannten Abklärungen, wie auch bei weiteren 22 Jungtieren, waren die bestätigten Mütter zum Zeitpunkt der Probenahme tot und somit standen die mütterlichen genetischen Daten nicht zur Verfügung. Die Aussagekraft von Abstammungen mit fehlendem mütterlichen Elternteil wird in Abhängigkeit der Anzahl der Belegböcke und ihrer verwandtschaftlichen Beziehung erschwerend beeinflusst.

Trotz professioneller Zucht und Haltung im beprobten Betrieb ist die mütterliche Zuordnung aufgrund der offensichtlichen mütterlichen Fürsorge trügerisch und kann bei Brunst-synchronisation und Mehrlingsgeburten im Laufstall bei entsprechender Konstellation zu Verwechslungen führen.

So konnte beispielsweise in zwei Fällen die «Ammenmutter» ausgeschlossen und die biologische Mutter im Genpool der Muttertiere gefunden werden.

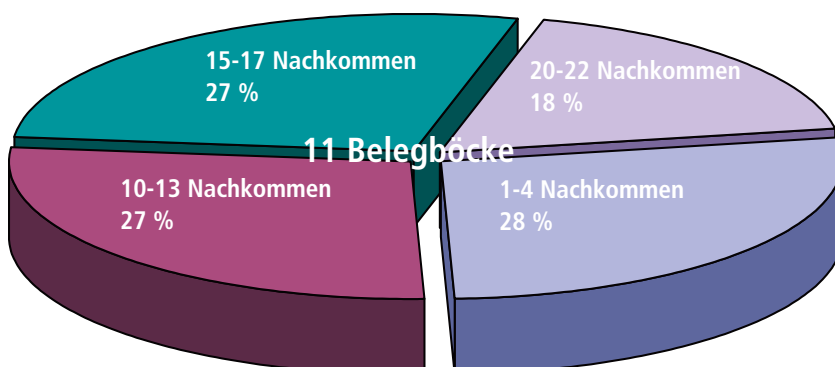
Eine weitere nützliche Information aus diesen Abstammungskontrollen ist die Bestimmung der Sprungfrequenz der einzelnen Belegböcke, welche in der Graphik (Abbildung 3) verdeutlicht ist. Nachträgliche Abklärungen mit dem Züchter haben ergeben, dass die geringe Nachkommenschaft (1-4 Nachkommen) einiger Böcke durch die vergleichsweise kurze Belegzeit im Laufstall begründet ist. Allgemein kann die Kenntnis der Sprungfrequenz als Ausdruck von Dominanz, Rangordnung und des Alters eines männlichen Tieres unterstützend vom Züchter für die Auswahl der räumlichen/zeitlichen Belegung im Herdesprung eingesetzt werden.

### Biometrische Methoden zur Beurteilung der genetischen Vielfalt (Diversität)

Verschiedene statistische Grössen konnten von den vollständigen Daten der 13 Mikrosatelliten aller 278 in der Abstammungskontrolle eingesetzten Individuen der Herde berechnet werden. Die Qualität der Abstammungsmethode als auch die genetische Diversität einer Population lässt sich recht gut an der Anzahl der Mikrosatelliten-Varianten (Allele) und der Allelverteilung abschätzen. Je mehr Allele in einer Population vertreten sind und je gleichmässiger sie in dieser verteilt sind, desto variabler ist das genetische Potential dieser Population anzusehen.

Zusammenfassend belegt die hohe Anzahl an Allelen über alle Mikrosatelliten als auch die hohe beobachtete Heterozygotie, dass die gewählten Mikrosatelliten hoch informativ sind und

Abbildung 3: Sprungfrequenz der Belegböcke



Die Deckhäufigkeit der 11 Belegböcke im Herdensprung. Böcke wurden entsprechend der Anzahl an Nachkommen zusammengefasst und die Sprungfrequenz im Kreisdiagramm dargestellt. Die Verteilung der Deckhäufigkeit ist einerseits beeinflusst durch die Aufenthaltsdauer (Böcke mit 1-4 Nachkommen) und andererseits durch Auswirkungen der Rangordnung im räumlich begrenzten Laufstall.

## Genetische Bestimmungen von Qualitätsmerkmalen: Die $\alpha_{s1}$ -Kasein-Variante

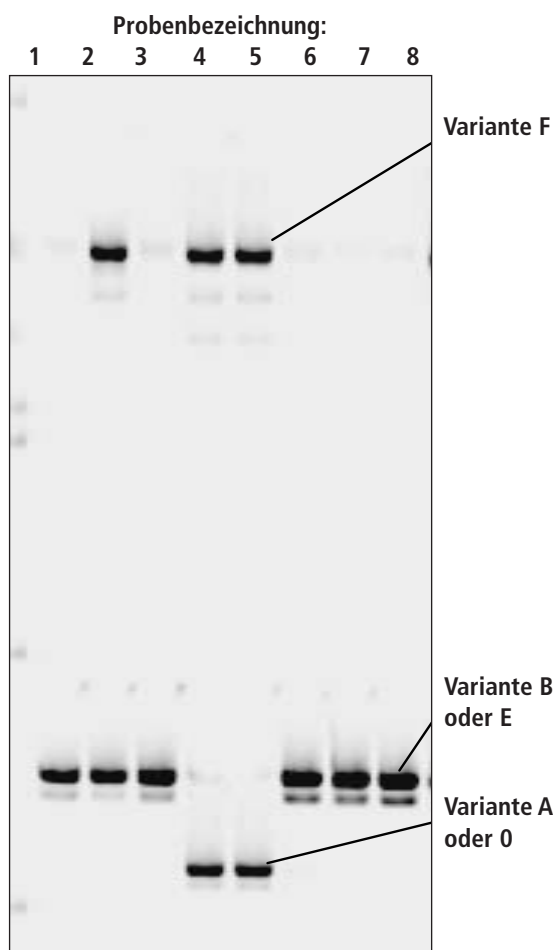
Abbildung 4a:  
Allelfrequenzen im  $\alpha_{s1}$ -Kasein der Saanenrasse verschiedener Länder

Rasse	Land	$\alpha_{s1}$ -Kasein-Variante					
		A	B	C	E	F	0
			3.5g/l		1.1g/l	0.45g/l	
Saanen	F	0.07	0.06	---	0.41	0.43	<b>0.03</b>
Saanen	USA	0.09	0.13	---	0.32	0.45	---
Saanen	CH*	<b>0.25</b>	<b>0.01</b>	---	<b>0.53</b>	<b>0.20</b>	---
Toggenburger	USA	<b>0.06</b>	<b>0.05</b>	---	<b>0.06</b>	<b>0.82</b>	---

Die Auftretenshäufigkeit der Kaseinvarianten in den USA und Frankreich im Vergleich zu den eigenen Erhebungen. Auffällig ist dabei auch die Häufigkeit (82%) der schwachen F-Variante bei Toggenburger Ziegen in den USA.

\* Die Angaben der Allelfrequenzen aus der CH beziehen sich lediglich auf die 49 Untersuchungen aus derselben Herde und sind daher nicht repräsentativ für unser Land.

Abbildung 4b:  
Gelelektrophoretische Auftrennung der Kasein-Gen-Varianten



Das Kasein-Gen wird molekularbiologisch analysiert, wobei das Grössenmuster der DNA-Banden in der Gelelektrophorese ausschlaggebend ist für die Bestimmung der individuellen  $\alpha_{s1}$ -Kasein Varianten bei der Ziege. Bei Tieren mit dem Muster für Variante B/E oder Variante A/0 muss in einem weiteren Analysenschritt die richtige Variante bestimmt werden. Es sei in Erinnerung gerufen, dass jedes Tier eine Variante von der Mutter, die Andere vom Vater vererbt hat. Ein Tier kann zweimal dieselbe (homozygot) oder zwei verschiedene (heterozygot) Varianten in seinem Erbgut tragen.

Die zuvor genannten biometrischen Kenndaten mit zusätzlichen Erläuterungen sind der interessierten Leserschaft in der Abbildung 5 Seite 10 (Deutsche Version) dargestellt.

damit für die Vaterschaftsanalyse bei der Ziege gut geeignet sind.

### Bestimmung der genetischen Variante des alpha s1-Kaseins ( $\alpha_{s1}$ -Kasein)

Die Eiweissfraktion der Milch setzt sich aus den Molkenproteinen mit den beiden Fraktionen  $\alpha$ -Lactalbumin,  $\beta$ -Lactoglobulin sowie den Kaseinen zusammen. Bei den Kaseinen werden vier Fraktionen unterschieden:  $\alpha_{s1}$ -Kasein,  $\alpha_{s2}$ -Kasein,  $\beta$ -Kasein sowie das  $\kappa$ -Kasein, wobei innerhalb der vier Fraktionen weitere genetisch festgelegte Unterschiede in Form von Varianten (Allelen) auftreten, die durch Grossbuchstaben gekennzeichnet sind. Vor allem die Varianten, welche am  $\alpha_{s1}$ -Kasein Locus auftreten sind bei Ziegen von grossem Interesse, da sie mit stark unterschiedlichen Kaseinmengen einhergehen, wie es in der Zusammenstellung der Abbildung 4a aufgeführt ist. Wie häufig eine bestimmte Variante auftritt kann je nach Rasse sehr unterschiedlich sein.

Zur Bestimmung der genetischen Varianten wurde das  $\alpha_{s1}$ -Kasein Gen mittels PCR vermehrt und über Grössen- und Sequenzunterschiede charakterisiert (Abbildung 4b). Damit können die Varianten A, B oder C, welchen die höchste Kaseinmenge (ca. 3.5g/l) zugeordnet werden, die Variante E mit einer mittleren Kaseinmenge (1.1g/l) und die schwache Variante F (0.45g/l) unterschieden werden. Letztlich kann auch eine sogenannte 0-Variante, bei welchem die  $\alpha_{s1}$ -Kaseinfraktion gänzlich fehlt, bestimmt werden.

Bei Kenntnis des  $\alpha_{s1}$ -Kasein Genotypen, welcher sich aus den beiden Varianten aus mütterlicher und väterlicher Vererbung zusammensetzt, kann die individuelle Leistung dieser Milcheiweissfraktion oder der individuelle Zuchtwert für dieses Merkmal vorausbestimmt werden.

Im Folgenden wurden die Kaseinvarianten von 49 Ziegen der Saanenrasse bestimmt und die Auftretenshäufigkeit (Frequenz) der verschiedenen Varianten den Vergleichszahlen früherer Untersuchungen mit Saanenziegen aus Frankreich und den USA gegenübergestellt.

Aufgrund des kleinen Stichprobenumfangs und der Beprobung einer einzelnen Subpopulation ist die statistische Aussagekraft dieses Vergleichs beschränkt, jedoch erkennt man die deutliche Verschiebung der Allelfrequenzen in Richtung der wünschenswerten starken A-Variante. Diese deutliche Allelfixierung widerspiegelt grösstenteils die Zuchtanstrengungen des Herdenbesitzers über gezielte Einkreuzung gekörter Böcke mit bekannter Vererbungseigenschaft bezüglich des  $\alpha_{s1}$ -Kaseins.

### Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde ein molekulargenetisches Verfahren zur Abstammungskontrolle auf seine analytische Aussagekraft geprüft und als routinetaugliche Dienstleistung etabliert.

Neben den Angaben zu Tieridentität und Abstammung sind diese Daten informativ für Aussagen der genetischen Variation innerhalb der Population und dienen als Grundlage zur Ausarbeitung von Zuchtprogrammen hinsichtlich genetischer Vielfalt und der Abschätzung des Inzuchtgrades in der Leistungs- sowie in der gezielten Erhaltungszucht.

Als weitere zukunftssträchtige Einsatzmöglichkeit der molekulargenetischen Diagnostik wurde die Charakterisierung von züchterischen Qualitätsmerkmalen am Beispiel des Molkenproteingehalts der Kaseinfraktion aufgezeigt.

Unsere molekulargenetische Diagnostik versteht sich allgemein als Vermittlerin jüngerer genetischer Erkenntnisse aus Forschung und Wissenschaft im Dienste der praktischen Zuchtunterstützung.

In diesem Bestreben wurde zwischenzeitlich ein diagnostisches Verfahren zur genetischen Bestimmung der Hornlosigkeit in unserem Labor eingeführt. Dieses qualitative Merkmal, falls homozygot (von mütterlicher und väterlicher Seite) vererbt, ist bei der Ziege mit einem gehäuften Auftreten von Geschlechtsanomalien gekoppelt. □

Abbildung 5: Biometrische Daten

Bezeichnung (Lokus)	Allele [bp] (Frequenz)	Anzahl Allele/Lokus	erwartete Heterozygotie (H <sub>e</sub> )	beobachtete Heterozygotie (H <sub>o</sub> )	Fixationsindex (F <sub>is</sub> )
BM1258	<b>100</b> (0.093); <b>102</b> (0.39); <b>104</b> (0.023); <b>106</b> (0.068); <b>108</b> (0.199); <b>110</b> (0.125); <b>112</b> (0.017); <b>114</b> (0.028); <b>120</b> (0.014); <b>124</b> (0.037)	10	0.777	0.799	-0.028
CSRD0247	<b>226</b> (0.282); <b>228</b> (0.543); <b>230</b> (0.057); <b>234</b> (0.003); <b>236</b> (0.023); <b>238</b> (0.089)	6	0.614	0.644	-0.048
HSC	<b>268</b> (0.005); <b>270</b> (0.068); <b>272</b> (0.057); <b>274</b> (0.165); <b>276</b> (0.019); <b>278</b> (0.008); <b>280</b> (0.269); <b>282</b> (0.057); <b>284</b> (0.026); <b>286</b> (0.201); <b>288</b> (0.08); <b>290</b> (0.037)	12	0.840	0.878	-0.045
ILST0087	<b>135</b> (0.008); <b>137</b> (0.088); <b>139</b> (0.197); <b>141</b> (0.104); <b>143</b> (0.062); <b>145</b> (0.28); <b>147</b> (0.217); <b>151</b> (0.039)	8	0.812	0.831	-0.023
ILST0019	<b>146</b> (0.053); <b>148</b> (0.64); <b>150</b> (0.125); <b>152</b> (0.059); <b>154</b> (0.12)	5	0.554	0.561	-0.013
INRA0005	<b>113</b> (0.007); <b>115</b> (0.377); <b>117</b> (0.46); <b>119</b> (0.134); <b>121</b> (0.019)	5	0.628	0.615	0.020
INRA0063	<b>171</b> (0.003); <b>173</b> (0.134); <b>175</b> (0.562); <b>177</b> (0.246); <b>179</b> (0.052)	5	0.603	0.629	-0.045
INRA0132	<b>140</b> (0.537); <b>142</b> (0.462)	2	0.498	0.428	0.141
INRA0023	<b>195</b> (0.05); <b>197</b> (0.17); <b>199</b> (0.082); <b>209</b> (0.152); <b>211</b> (0.491); <b>213</b> (0.052)	6	0.695	0.727	-0.045
OarFCB0020	<b>93</b> (0.039); <b>95</b> (0.124); <b>97</b> (0.512); <b>99</b> (0.127); <b>101</b> (0.003); <b>103</b> (0.161); <b>105</b> (0.017); <b>107</b> (0.012)	8	0.679	0.727	-0.071
SRCRSP005	<b>220</b> (0.197); <b>222</b> (0.061); <b>228</b> (0.005); <b>232</b> (0.079); <b>238</b> (0.165); <b>240</b> (0.462); <b>242</b> (0.028)	7	0.713	0.737	-0.035
SRCRSP008	<b>163</b> (0.066); <b>165</b> (0.165); <b>169</b> (0.077); <b>171</b> (0.241); <b>173</b> (0.438); <b>175</b> (0.003); <b>179</b> (0.007)	7	0.710	0.662	0.068
SRCRSP023	<b>77</b> (0.014); <b>79</b> (0.066); <b>81</b> (0.075); <b>85</b> (0.007); <b>91</b> (0.043); <b>93</b> (0.179); <b>95</b> (0.21); <b>97</b> (0.034); <b>99</b> (0.059); <b>101</b> (0.205); <b>103</b> (0.007); <b>105</b> (0.077); <b>107</b> (0.019)	13	0.860	0.917	-0.067
Mittelwert (Alle)		7.23	0.691	0.704	-0.019

Die Allelfrequenzen bilden die Basis für die Berechnung zahlreicher populationsgenetischer Masse. Diese Masse dienen dazu, die genetische Variation von Populationen oder die genetischen Unterschiede zwischen Populationen zu quantifizieren. Der Heterozygotenanteil in einer Population ist der Anteil an Genotypen, die an einem Locus (Mikrosatellit) zwei verschiedene Allele tragen. Neben dem tatsächlichen d.h. dem beobachteten Heterozygotiegrad (H<sub>o</sub>) einer Population kann auch der erwartete Heterozygotiegrad (H<sub>e</sub>) bestimmt werden. Schliesslich wurde der Fixationsindex (F<sub>is</sub>-Wert) eingeführt, welcher das Verhältnis der heterozygoten Genotypen innerhalb der Individuen einer Subpopulation im Vergleich zu dem unter Zufallspaarung erwarteten heterozygoten Anteil innerhalb der jeweiligen Herde quantifiziert. Daher wird er oft als ein Mass für den

Inzuchtgrad angesehen. Der F<sub>is</sub>-Wert<sup>1</sup> kann relativ einfach durch die beobachteten (H<sub>o</sub>) und die erwarteten Heterozygotiewerte (H<sub>e</sub>) dargestellt werden. Alle hier aufgeführten populationsgenetischen Grössen wurden mit dem Softwareprogramm GDA<sup>2</sup> berechnet.

<sup>1</sup>)  $F_{is} = H_e - H_o / H_e$

<sup>2</sup>) Lewis, P. O., and Zaykin, D. 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>

# Contrôle génétique de la descendance pour des accouplements libres et détermination des facteurs génétiques d'élevage concernant le rendement en fromage chez la chèvre Gessenay

Bien que la population des chèvres ait quelque peu diminué depuis les années 60, le nombre de sujets par détenteur augmente. Même si 55% des éleveurs de chèvres n'en détiennent que 1 à 4 par exploitation, ce qui confirme la structure traditionnelle de la détention hobby ou en activité accessoire, la détention professionnelle de troupeaux moyens ou plus importants (100 à 500 animaux) devient de plus en plus courante.

L'étude présentée ici a été réalisée avec 278 animaux, chèvres, boucs et cabris confondus, détenus en stabulation libre sur une grande exploitation de chèvres Gessenay en Suisse Romande. Après synchronisation des chaleurs, les accouplements sont libres avec des boucs d'élevage de l'exploitation. Les accouplements dirigés sont faits par insémination artificielle avec des semences de mâles français testés.

Pour ce type d'élevage, les contrôles génétiques et la recherche des parents sont nécessaires pour l'identification claire et précise des sujets.

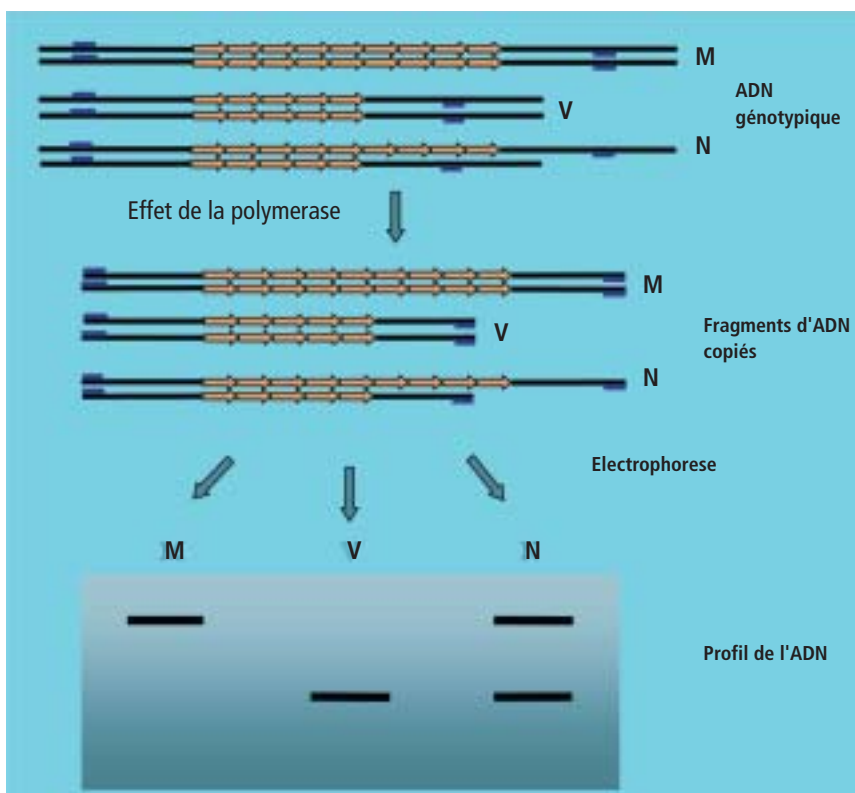
Corrélée à cette première recherche en génétique moléculaire, l'occasion a été saisie d'effectuer une étude des différentes variantes de la caséine dans ce troupeau. Les résultats attestent qu'il est possible de prévoir la quantité effective de caséine produite, un critère de qualité déterminant pour le rendement en fromage. Les résultats obtenus facilitent aussi le choix pour des croisements et des accouplements dirigés afin d'améliorer la production dans les élevages.

## Situation de départ et principe technico-analytique

Chaque individu enregistré au herdbook doit, selon la loi sur l'élevage, être doté d'une descendance contrôlée. La feuille des saillies est la base pour les relevés dans le registre d'élevage (herdbook). Lors de saillies par deux ou plusieurs boucs dans le

### Illustration 2 : Représentation schématique d'une analyse par microsatellites

Représentation d'un microsatellite avec un nombre différent d'unités de répétition chez la mère (M), le père (V) et le descendant (N). Au moyen de la réaction en chaînes de la polymérase (PCR), les morceaux d'ADN multipliés sont séparés selon leur longueur respective par électrophorèse sur gel. Durant cette expérience, les fragments les plus courts se déplacent plus rapidement et sont plus en avant (vers le bas). Le résultat exemplaire démontre une bande pour la mère et une pour le père. Etant donné que la mère présente plus d'unités de répétition, sa bande se trouve plus haut que celle du père. Chez le descendant, les deux bandes héritées se présentent bien distinctement, ce qui atteste de la transmission effective de ses parents. Lorsque ce cas se répète pour tous les microsatellites examinés, l'ascendance est prouvée avec certitude.



même troupeau, la descendance ne peut être attestée. Sous la rubrique père, il faut alors noter «boucs de saillies», et aucun lien de parenté ne peut être utilisé pour la sélection. Par cette façon de procéder, moult connaissances de testage par les descendants sont perdues. La génétique ne peut être suivie et améliorée.

Les méthodes de contrôles de la descendance et de recherches de paternité se sont énormément développées au cours de ces dernières années. Elles sont utilisées de façon routinière pour les animaux de rentes tels le porc, le cheval ou le bovin. Les procédés modernes se basent sur la variation individuelle de séquences précises du matériel génétique (ADN). A l'aide d'appareils automatiques, il est possible d'analyser l'ADN individuel, qui permet la détermination sûre et efficace de l'ascendance et l'identité de l'animal en question. Le procédé utilisé est un diagnostic génétique moléculaire basé sur l'analyse de microsatellites. Les microsatellites sont des séquences d'ADN à longueur variable, transmises telles quelles de la mère et du père. Leurs nombreuses variantes (allèles) sont réparties sur le matériel génétique (génome) (voir illustration 2, page 11). 13 microsatellites ont été pris en considération dans ce travail. Le but de cette étude est aussi de déterminer les microsatellites les plus simples à analyser, qui permettent les meilleurs résultats sans équivoque possible. Pour une application pratique à plus grande échelle, il est en effet nécessaire de disposer d'une méthode avancée, rapide, efficace et sûre afin d'obtenir des résultats fiables. De plus, il était aussi nécessaire de suivre les recommandations concernant les marqueurs ADN de la Société Internationale pour la Génétique Animale (ISAG) dans le dessein de disposer de données compatibles sur le plan international et de permettre un échange de données avec d'autres laboratoires en Suisse et à l'étranger.

Pour la caractérisation génétique complète, il faut disposer d'un échantillon adéquat de matériel des parents et des descendants. En principe, chaque tissu cellulaire contenant des noyaux comme par exemple le sang ou les cellules des racines des poils font l'affaire. Actuellement, la Fédération Suisse d'Élevage Caprin (FSEC) n'accepte et ne reconnaît des résultats obtenus avec des échantillons de sang que pour des cas bien particuliers et spéciaux de contrôles de descendance.

Le matériel génétique prélevé une fois d'un animal contient l'ensemble des informations génétiques de cet individu et est en conséquence aussi à disposition pour d'autres recherches génétiques. Par exemple, le paragraphe suivant décrit la détermination des variantes du gène de la caséine sur la base des mêmes échantillons qui ont servi aux recherches de paternité décrites plus haut.

### Détermination des variantes du gène de la caséine

La protéine, au côté de la matière grasse, est une composante des plus importantes du lait. La caséine est la fraction la plus grande de la protéine du lait de chèvre avec une part de 75%, le reste se

décompose en globulines et albumine du sérum.

Les facteurs génétiques influençant la teneur en caséine du lait de chèvre sont bien connus et décrits dans de nombreux articles de la littérature. La fraction de la caséine, en particulier pour la caséine alpha S1 (caséine  $\alpha_{s1}$ ), est déterminée par de nombreuses variantes de gènes, ce qui explique les grandes différences dans les teneurs du lait de chèvre.

Une teneur élevée en caséine n'est pas seulement intéressante pour le rendement fromager, mais influence aussi la composition et les qualités du caillé et de la pâte du fromage. De plus, les différentes variantes de caséine sont aussi des critères de qualité, à l'instar de la variante O/F de la caséine  $\alpha_{s1}$  qui a une influence sur l'odeur de chèvre des produits.

Les différences génétiques sont bien connues chez la chèvre, et peuvent être déterminées indépendamment du sexe, de l'âge ou de la lactation. Par la détermination de la variante génétique individuelle de la caséine  $\alpha_{s1}$ , la sélection des animaux est rendue plus efficace et fiable pour les éleveurs. La sélection des sujets les plus productifs en caséine peut donc se faire sur la base des prédictions génétiques et des valeurs d'élevage. Ce dernier critère de sélection est déjà utilisé dans les élevages en France, où les boucs inscrits au herdbook sont testés sur ces critères de qualité de la caséine. 49 individus ont été examinés dans ce travail et qualifiés selon les variantes de la caséine  $\alpha_{s1}$ , en particulier des jeunes boucs de l'exploitation et un choix de femelles.

## Résultats

### Contrôles de la descendance

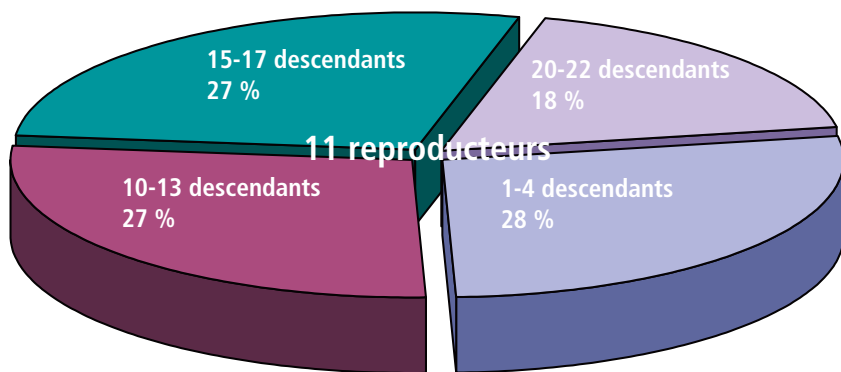
102 chèvres, 22 boucs et 141 descendants ont été analysés génétiquement avec 13 microsatellites. La paternité de 131 cabris a pu être prouvée de manière précise et fiable. Dans 8 cas, l'ascendance n'a pas pu être prouvée avec suffisamment de certitude avec les boucs présents dans le groupe. Pour les deux sujets restant, la prise en considération de trois microsatellites supplémentaires a permis la détermination de l'affiliation, mais sur un choix de 2 boucs différents. Malheureusement, d'autres analyses complémentaires n'ont pu être effectuées puisque au moment des résultats, certains animaux (dont des mères) avaient déjà été abattus. Il n'y avait donc plus de possibilité d'effectuer d'autres recherches complémentaires. Pour ces cas précis, la fiabilité et la preuve de la descendance ne sont pas suffisamment éclairés, ce qui est aussi dû au nombre important de pères présents et surtout à cause de leurs liens très étroits de parenté.

Malgré l'élevage et la détention professionnelles dans cette exploitation, l'attribution maternelle peut conduire à des confusions, de

Le 22 novembre, le comité de la Fédération Suisse d'Élevage Caprin a décidé que les contrôles de descendance présentés sont aussi reconnus pour l'inscription des sujets dans le Herdbook. Le travail supplémentaire pour une inscription plus tardive des pères est facturé à l'éleveur.

Fédération Suisse d'Élevage Caprin

Illustration 3: Fréquences des saillies des boucs reproducteurs



La fréquence des saillies des 11 boucs reproducteurs dans le troupeau. Les boucs ont été regroupés selon leur nombre respectif de descendants. Les fréquences individuelles sont représentées à l'aide d'un diagramme en parts de gâteau. La distribution de la fréquence des saillies est influencée par la durée de détention (en ce qui concerne les boucs avec 1 à 4 descendants) ainsi que par la position hiérarchique dans le groupe en stabulation libre dans un espace limité.

par le fait des qualités maternelles prononcées de certaines mères et surtout de par la synchronisation et la présence de nombreux jumeaux dans cette stabulation libre.

C'est ainsi que dans deux cas, la mère nourrice a pu être exclue en tant que mère biologique et que celle-ci a pu être déterminée avec certitude grâce aux données récoltées. Une autre

information importante découlant de cette étude est la détermination de la fréquence de saillies pour chaque bouc, qui est représentée dans l'illustration 3. Des vérifications a posteriori auprès des éleveurs ont indiqué que les boucs ayant un nombre réduit de descendants (de 1 à 4) avaient passé moins longtemps que les autres animaux dans l'étable pour la saillie. De manière générale, la connaissance de la fréquence de saillies permet de déterminer la dominance, le rang hiérarchique ainsi que l'âge d'un mâle, données qui peuvent être utilisées par l'éleveur pour fixer les critères spatiaux et temporels des saillies ultérieures.

Les données biométriques présentées ci-dessus peuvent être consultées par les lecteurs intéressés, dans l'illustration 5 page 10.

Les fréquences d'allèles sont utilisées pour de nombreux calculs en génétique de population. Ces mesures servent à quantifier la variation génétique d'une population ou les différences génétiques entre populations. Le degré d'hétérozygotie d'une population est la part de génotypes présentant deux allèles différents sur un même locus (microsatellite). En plus du degré d'hétérozygotie effectif, c'est à dire du degré d'hétérozygotie observé ( $H_o$ ) d'une population, il est possible de déterminer le degré d'hétérozygotie attendu ( $H_e$ ). En dernier lieu, l'indice de fixation a été calculé (valeur  $F_{is}$ ). Cette valeur exprime le rapport des génotypes hétérozygotes des individus d'une sous-population en regard de la part attendue d'individus hétérozygotes, sous un système d'accouplements libres, parmi la totalité du troupeau considéré. Par cette définition, l'indice de fixation est souvent considéré comme mesure pour le degré de consanguinité. La valeur  $F_{is}$ <sup>1</sup> s'exprime par le rapport entre le nombre d'hétérozygotes attendus ( $H_o$ ) et le nombre d'individus hétérozygotes observés effectivement ( $H_e$ ). Toutes les valeurs présentées ici concernant des mesures ou des calculs génétiques de population ont été calculées avec le programme informatique GDA<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>)  $F_{is} = H_e - H_o / H_e$

<sup>2</sup>) Lewis, P. O., and Zaykin, D. 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>

### Méthodes biométriques pour l'appréciation de la variation génétique (diversité)

Les 13 microsatellites des 278 contrôles de descendance considérés permettent la détermination de différentes valeurs statistiques. La qualité des contrôles de descendance, ainsi que la diversité génétique d'une population se laisse facilement évaluer sur la base du nombre des variantes des microsatellites (allèles) et de leur distribution ou répartition. Plus il y a d'allèles dans une population, plus ils sont répartis de façon homogène et plus le potentiel génétique de cette population est variable.

En résumé, le nombre élevé d'allèles exprimés par les microsatellites signifie le nombre élevé d'hétérozygotes, qui rapportent beaucoup d'informations pour les microsatellites considérés, et qui attestent de la validité de cette méthode pour l'analyse de paternité chez la chèvre.

### Détermination de la variante génétique de la caséine alpha S1 (caséine $\alpha_{s1}$ )

La protéine du lait se compose de la protéine du petit-lait, qui elle-même se décompose en  $\alpha$ -lactalbumine et en  $\beta$ -lactoglobuline, et de la fraction de la caséine. La caséine se divise quant à elle en quatre fractions: caséine  $\alpha_{s1}$ , caséine  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ -caséine ainsi que la  $\kappa$ -caséine. Ces quatre variantes sont elles-mêmes décomposées en différentes variantes génétiques (allèles) qui sont caractérisées par des majuscules. Une variante en particulier, localisée sur le locus de la caséine  $\alpha_{s1}$ , joue un rôle important, car déterminante pour la quantité de caséine produite, ce qui est présenté dans l'illustration 4a, page 14. La fréquence d'une variante bien précise peut être très différente d'une race à l'autre.

Afin de déterminer les variantes génétiques, le gène de la caséine  $\alpha_{s1}$  a été multiplié à l'aide de la méthode PCR, et caractérisé selon sa longueur et ses différences de séquences (illustration 4a et 4b, page 14). Avec cette méthode, il est possible d'attribuer les variantes A, B ou C avec les plus hautes quantités en caséine (env. 3.5 g/l), la variante E avec un taux de caséine moyen

## Détermination génétique de critères de qualité: variantes de la caséine $\alpha_{s1}$

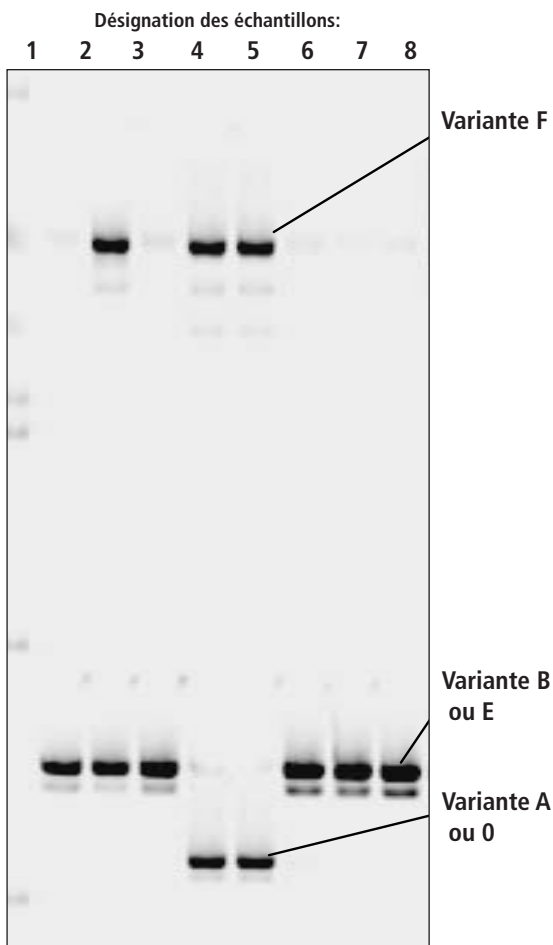
Illustration 4a: Fréquence des allèles de la caséine  $\alpha_{s1}$  chez la Gessenay de plusieurs pays

Race	Pays	Variante de la caséine $\alpha_{s1}$					
		A 3.5g/l	B 3.5g/l	C	E 1.1g/l	F 0.45g/l	0
Gessenay	F	0.07	0.06	---	0.41	0.43	<b>0.03</b>
Gessenay	US	0.09	0.13	---	0.32	0.45	---
<b>Gessenay</b>	<b>CH*</b>	<b>0.25</b>	<b>0.01</b>	---	<b>0.53</b>	<b>0.20</b>	---
Toggenburger	US	0.06	0.05	---	0.06	0.82	---

Fréquences des différentes variantes présentes dans les troupeaux de quelques pays. Aux USA et en France les fréquences observées sont très différentes des valeurs obtenues dans ce travail. La fréquence élevée (82%) de la variante faible F chez la chèvre du Toggenburg dans la population américaine est à relever.

\* Les données pour les fréquences des allèles dans la ligne CH se rapportent uniquement à un troupeau de 49 sujets, et ne peuvent en aucun cas être considérés comme représentatifs pour la Suisse. Dans l'exploitation considérée, la variante 0 n'a pas été décelée.

Illustration 4b: Séparation par électrophorèse des variantes de la caséine



Le gène de la caséine est analysé par biologie moléculaire, où la détermination de la grandeur de la bande d'ADN est faite à l'aide de l'électrophorèse sur gel. Chez les animaux présentant la variante B / E ou la variante A / 0, il faut faire un pas supplémentaire pour déterminer la variante correcte. Rappelons à cet effet que chaque animal obtient une variante de la mère et une variante de son père. Un sujet peut donc présenter deux fois la même variante (homozygote) ou deux variantes différentes (hétérozygote).

(1.1 g/l) et la variante faible F (0.45 g/l). Finalement, il est aussi possible de déterminer une variante O, qui n'a pas été décelée dans ce travail.

Grâce à la détermination des génotypes de la caséine  $\alpha_{s1}$ , provenant des deux variantes transmises par le père et par la mère, la production individuelle de cette fraction de protéine du lait peut être prédite sous forme de valeur d'élevage.

Par la suite, les variantes de caséine de 49 chèvres laitières de la race Gessenay ont été déterminées et leur fréquence analysée, afin de les comparer à d'autres études et résultats de travaux effectués en France et aux USA.

Sur la base du petit nombre disponible d'échantillons et de la répartition en sous-populations, les résultats statistiques de cette étude n'ont que peu de signification, mais révèlent cependant de fortes tendances sensibles. Dans cet élevage, l'augmentation du nombre des allèles vers la variante A prouve que l'éleveur considère ce critère avec la plus grande attention. Cette fixation distincte de la répartition des allèles reflète bien les efforts de cet éleveur pour effectuer des accouplements dirigés dans le dessein d'améliorer la production de la caséine  $\alpha_{s1}$  recherchée.

### Résumé et perspectives

Ce travail a permis l'appréciation et l'évaluation d'un procédé de génétique moléculaire pour la détermination et le contrôle de la descendance, ainsi que sa fiabilité analytique et surtout sa validité pour des services de routine.

En plus des résultats obtenus pour l'identification des animaux et leur descendance, les données récoltées ont été utilisées pour déterminer la variation génétique à l'intérieur de cette population et servent de bases pour l'élaboration de programmes d'élevage (diversité biologique, évaluation du degré de consanguinité et maintien des performances chez les éleveurs).

L'utilisation pratique des critères analysés a été prouvée en présentant des résultats fiables quant à la détermination des différentes fractions de caséine.

Ce diagnostic par analyse moléculaire se comprend comme transfert des dernières connaissances en génétique de la recherche et de la science au profit direct des éleveurs praticiens.

Dans notre propre laboratoire, toujours dans l'optique d'offrir des services aux praticiens, nous avons déjà élaboré un procédé de diagnostic pour la détermination génétique de la présence de cornes des individus. Ce critère qualitatif, en cas d'homozygotes (de par la mère et de par le père), est souvent lié, chez la chèvre, à la présence plus fréquente d'anomalies sexuelles. □

## Die Autoren des Artikels / Les auteurs de cet article



Jürg Rentsch hat im Anschluss an das Studium der Molekularbiologie an der Universität Zürich eine Dissertation auf dem Gebiet der tiermedizinischen Grundlagenforschung am veterinärbiochemischen Institut der Universität Zürich ausgeführt. Danach arbeitete er einige Jahre in der pharmakologischen Forschung bei Novartis AG in Basel. Seit 1997 leitet er bei den Swiss Quality Testing Services (SQTS) eine Gruppe, welche diagnostische Verfahren im Bereich Lebensmittel- und Futtermittelsicherheit und im Bereich der Tierartendifferenzierung und Nutztiergenetik anbietet.

*A la suite de ses études en biologie moléculaire de l'université de Zürich, l'auteur a présenté une dissertation dans le domaine de la recherche fondamentale en médecine vétérinaire à l'institut de biochimie vétérinaire de cette même université. Par la suite, Jürg Rentsch a travaillé quelques années en recherche pharmacologique chez Novartis SA à Bâle. Depuis 1997, il dirige, auprès de Swiss Quality Testing Services (SQTS) un groupe offrant des services de diagnostic dans le domaine de la sécurité alimentaire et des aliments pour animaux, ainsi que dans la différenciation des espèces animales et la génétique des animaux de rente.*

Karin Beck ist gebürtige Österreicherin und hat nach der Matura die Ausbildung als medizinisch-technische Assistentin am Allgemeinen Krankenhaus in Wien absolviert. Nach 2 Jahren Tätigkeit in der angewandten immunologischen Forschung, wechselte sie an das Institut für Tierneurologie der Universität Bern, wo sie sich mit tiermedizinischer Forschung und Diagnostik von Neuropathologien befasste. Seit 1999 ist sie Cheflaborantin bei den SQTS in der Abteilung Molekularbiologie. Für die vorliegende Publikation hat sie massgeblich an der Methodenentwicklung und Datenerarbeitung mitgewirkt.



*Ressortissante autrichienne, après une maturité, Karin Beck a fait ses études comme assistante en technique médicale à l'hôpital général de Vienne. Après deux ans d'activités dans la recherche appliquée en immunologie, elle a travaillé à l'institut de neurologie animale de l'université de Berne, où elle s'occupait principalement de recherches en médecine vétérinaire et en diagnostic de neuropathologie. Depuis 1999, elle est cheffe laborantine auprès de SQTS dans le département de biologie moléculaire. Pour cette publication, elle s'est particulièrement investie dans le développement des méthodes et le traitement informatique des données.*

### Inserat Rentsch 1/2-Seite 4-farbig