

Technische Universität München

Lehrstuhl für Tierzucht

**DNA-basierte Rückverfolgbarkeit beim Schwein
unter Einbeziehung von Abstammungsinformationen
am Beispiel des Produktionssystems der
Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR**

Stefanie Ostler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Agrarwissenschaften (Dr.agr.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dr. h. c. Johann Bauer

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. sc. techn. ETH, Dr. agr. habil. Hans-Rudolf Fries
2. Univ.-Prof. Dr. agr. Georg Alois Thaller,
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Die Dissertation wurde am 24.07.2007 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 30.10.2007 angenommen.



meinem lieben Papa



Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	S.	1
2 Grundlagen und Literatur.....	S.	3
2.1 Rückverfolgbarkeit nach EU 178/2002.....	S.	3
2.1.1 Rückverfolgbarkeit in der Tierproduktion.....	S.	3
2.2 Bisherige Identifikationssysteme in der Tierproduktion.....	S.	5
2.2.1 Ohrmarken.....	S.	6
2.2.2 Transponder.....	S.	7
2.3 Mikrosatelliten als genetische Marker.....	S.	8
2.3.1 Entstehung von Mikrosatelliten.....	S.	9
2.3.2 Struktur der Mikrosatelliten.....	S.	9
2.3.3 Anwendung von Mikrosatelliten.....	S.	10
2.3.3.1 Genetischer Fingerprint.....	S.	11
2.3.3.2 Ausschlusswahrscheinlichkeit.....	S.	13
2.3.3.3 Abstammungskontrolle mit Mikrosatelliten.....	S.	13
2.3.3.4 Rückverfolgbarkeit mit Mikrosatelliten.....	S.	15
2.4 Single Nucleotid Polymorphisms (SNPs).....	S.	16
2.4.1 Abstammungskontrolle mit SNPs.....	S.	17
2.4.2 Rückverfolgbarkeit mit SNPs.....	S.	17
3 Tiere, Material und Methoden.....	S.	19
3.1 Tiere.....	S.	19
3.1.1 Erstellung von Genotypen mit Mikrosatelliten.....	S.	19
3.1.1.1 DNA-Gewinnung aus Haarproben.....	S.	21
3.1.1.2 Genotypen-Datensatz.....	S.	21
3.1.2 Informationen zu Sauen und Würfen.....	S.	21
3.1.2.1 Sauendatei.....	S.	22
3.1.2.2 Würfedatei.....	S.	22
3.1.3 Zuordnung der Genotypen zu den Tieren in der LKV-Datei.....	S.	22
3.1.3.1 Aktive Sauenpopulation.....	S.	23
3.1.3.2 Aktive Eberpopulation.....	S.	25
3.2 Bestimmung von Kennzahlen zur Charakterisierung der Markerqualität.....	S.	26
3.2.1 Schätzung der Allelfrequenzen.....	S.	27
3.2.2 Heterozygotiegrad.....	S.	28
3.2.3 Polymorphism Information Content (PIC).....	S.	29
3.2.4 Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWGG).....	S.	29
3.3 Vorgehen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	31
3.3.1 Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeiten.....	S.	31
3.3.1.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten an einzelnen Mikrosatelliten.....	S.	31
3.3.1.2 Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten.....	S.	32



3.3.1.3 Beziehung von Ausschlusswahrscheinlichkeit und der Sicherheit des Ausschlusses für die Rückverfolgbarkeit.....	S.	32
3.3.2 Betrachtung der Verwandtschaft der Sauenpopulation.....	S.	33
3.3.2.1 Simulation eines möglichen Einflusses einer Verwandtschaft zwischen den Sauen.....	S.	33
3.3.2.2 Praktische Untersuchung der Verwandtschaft unter den Sauen.....	S.	34
3.3.3 Möglichkeiten zum Abgleich von Genotypen.....	S.	35
3.3.3.1 Direkte Methode.....	S.	35
3.3.3.2 Indirekte Methode.....	S.	36
3.3.3.3 Anwendung des indirekten Abgleichs im Produktionssystem der IGZ GbR.....	S.	37
3.3.4 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems.....	S.	39
3.3.4.1 Szenario 1- Rückverfolgung anhand der Sauen-Genotypen.....	S.	40
3.3.4.2 Szenario 2- Einbeziehung der Eber.....	S.	41
3.3.4.3 Szenario 3- Erweiterung um zusätzliche Informationen.....	S.	43
3.3.4.4 Ausschluss von nicht aus dem System stammenden Fleischproben.....	S.	44
3.3.4.5 Untersuchung zum Einfluss einer variierenden Anzahl eingesetzter Eber.....	S.	44
3.3.5 Etablierung des Rückverfolgbarkeitssystems.....	S.	45
3.3.5.1 Beteiligte Instanzen.....	S.	45
3.3.5.2 Ablaufgeschehen.....	S.	49
3.3.6 Probeläufe zur Überprüfung des Vorgehens in der Rückverfolgung.....	S.	51
3.3.6.1 Erster Probelauf.....	S.	51
3.3.6.2 Zweiter Probelauf.....	S.	51
3.3.6.3 Dritter Probelauf.....	S.	52
3.3.6.4 Überprüfung von Genotypen.....	S.	52
3.4 Zusätzliche Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	53
3.4.1 Ausweitung der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit auf größere Populationen.....	S.	53
3.4.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs.....	S.	53
3.4.2.1 Vergleich anhand der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit.....	S.	53
3.4.2.2 Einsatz von SNPs in die Simulationen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	54
3.5 Untersuchung zur Ermittlung eines möglichen Einflusses des Marker-Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel.....	S.	54
3.5.1 Aufbereitung der Daten.....	S.	55
3.5.2 Statistisches Modell.....	S.	56
4 Ergebnisse.....	S.	58
4.1 Kennzahlen zur Charakterisierung der Markerqualität.....	S.	58
4.1.1 Allelzahlen und -frequenzen.....	S.	58
4.1.2 Heterozygotiegrad.....	S.	61
4.1.3 Polymorphism Information Content (PIC).....	S.	62
4.1.4 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.....	S.	63
4.2 Ergebnisse zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	65
4.2.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten.....	S.	65



4.2.1.1 Berechnete Ausschlusswahrscheinlichkeiten an einzelnen Mikrosatelliten.....	S.	66
4.2.1.2 Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten.....	S.	67
4.2.1.3 Beziehung von Ausschlusswahrscheinlichkeit und der Sicherheit der Rückverfolgbarkeit.....	S.	68
4.2.2 Verwandtschaft der Sauen-Population.....	S.	69
4.2.2.1 Darstellung des möglichen Einflusses einer Verwandtschaft zwischen den Sauen	S.	69
4.2.2.2 Verwandtschaftsverhältnisse der Sauen in der IGZ GbR.....	S.	70
4.2.3 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems.....	S.	72
4.2.3.1 Szenario 1- Rückverfolgung anhand der Sauen-Genotypen.....	S.	74
4.2.3.2 Szenario 2- Einbeziehung der Eber.....	S.	76
4.2.3.3 Szenario 3- Erweiterung um zusätzliche Informationen.....	S.	78
4.2.3.4 Ausschluss von nicht aus dem System stammenden Fleischproben.....	S.	80
4.2.3.5 Variierende Anzahl Eber.....	S.	81
4.2.4 Ergebnis der praktischen Durchführung.....	S.	83
4.2.5 Auswertungen der Testläufe.....	S.	84
4.2.5.1 Erster Probelauf.....	S.	84
4.2.5.2 Zweiter Probelauf.....	S.	85
4.2.5.3 Dritter Probelauf.....	S.	87
4.2.5.4 Testlauf zur Überprüfung von Genotypen.....	S.	89
4.3 Ergebnisse zusätzlicher Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	90
4.3.1 Ausweitung der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit auf größere Populationen.....	S.	90
4.3.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit Single Nucleotid Polymorphisms (SNPs).....	S.	94
4.3.2.1 Vergleich anhand der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit.....	S.	94
4.3.2.2 Einsatz von SNPs in die Simulationen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	96
4.4 Einfluss des Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel.....	S.	98
4.4.1 Aufbereitung der Daten.....	S.	98
4.4.2 Statistisches Modell.....	S.	99
5 Diskussion.....	S.	101
5.1 Tiere, Genotypen und LKV-Daten.....	S.	101
5.2 Kennzahlen zur Charakterisierung der Markerqualität.....	S.	103
5.3 Rückverfolgbarkeit.....	S.	104
5.3.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Markern.....	S.	105
5.3.2 Verwandtschaft der Sauenpopulation.....	S.	105
5.3.3 Simulation zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems.....		106
5.3.4 Durchführung der Rückverfolgbarkeit.....	S.	107
5.3.5 Testläufe.....	S.	107
5.4 zusätzliche Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	109
5.4.1 DNA-basierte Rückverfolgbarkeit in größeren Populationen.....	S.	109



5.4.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs.....	S.	110
5.5 Einfluss des Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel.....	S.	110
6 Schlussfolgerung.....	S.	112
7 Zusammenfassung.....	S.	114
7.1 Zusammenfassung.....	S.	114
7.2 Summary.....	S.	115
8 Literaturverzeichnis.....	S.	118
9 Anhang.....	S.	I
9.1 Zusatz zu Tiere, Material und Methoden	S.	I
9.1.1 Mikrosatellitenmarker.....	S.	I
9.1.1.1 10er-Plex.....	S.	I
9.1.1.2 5er-Plex ohne Marker S0228.....	S.	VI
9.1.2 Dateien vom LKV Bayern e.V.....	S.	VIII
9.1.2.1 Sauendatei.....	S.	VIII
9.1.2.2 Wuerfedatei.....	S.	IX
9.1.3 Schätzung der Allelfrequenzen.....	S.	X
9.1.4 Ausschlusswahrscheinlichkeiten.....	S.	XI
9.1.4.1 Ein Elter bekannt.....	S.	XI
9.1.4.2 Beide Eltern bekannt.....	S.	XII
9.1.5 Verwandtschaft der Sauenpopulation.....	S.	XIII
9.1.5.1 Simulation nach der von SHERMAN <i>et al.</i> (2004) erweiterten Formel.....	S.	XIII
9.1.5.2 Praktische Untersuchung in der Sauenpopulation der IGZ GbR.....	S.	XIV
9.1.6 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems.....	S.	XIV
9.1.6.1 Abgleich von Genotypen.....	S.	XIV
9.1.6.2 Simulationen zur Rückverfolgbarkeit.....	S.	XV
9.1.7 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs.....	S.	XVIII
9.2 Zusatz zu den Ergebnissen.....	S.	XVIII
9.2.1 Allelfrequenzen nach Rasse bzw. Rassenkombination.....	S.	XVIII
9.2.2 Simulationen zum Rückverfolgbarkeitssystem.....	S.	XXVI
9.2.2.1 Szenario 1.....	S.	XXVI
9.2.2.2 Szenario 2.....	S.	XXVI
9.2.2.3 Szenario 3.....	S.	XXVII
Danksagung.....	S.	XXVIII
CV.....	S.	XXX



Abbildungsverzeichnis:

Abbildung	1: Ausgerissene Ohrmarken bei einem Schaf und bei einem Schwein (CAJA, 2003)	S.	7
Abbildung	2: Erstellung eines genetischen Fingerprints (modifiziert nach WAGNER, 2001)	S.	12
Abbildung	3: Zusammensetzung der einheitlich vergebenen Tiernummer	S.	23
Abbildung	4: Prinzip des direkten Ausschlusses	S.	36
Abbildung	5: Prinzip des indirekten Ausschlusses	S.	37
Abbildung	6: Schema Vorgehensweise indirekte Methode	S.	38
Abbildung	7: Prinzip Szenario 2 -Paarung ‚genetisch nicht möglich‘-	S.	41
Abbildung	8: Prinzip Szenario 2 -Paarung ‚genetisch möglich‘-	S.	42
Abbildung	9: Übersicht zur Betrachtung der theoretischen Anpaarungen genetisch möglicher Elterntiere	S.	43
Abbildung	10: Ablaufgeschehen, Proben- und Datenfluss	S.	49
Abbildung	11: Auszug aus den Daten zur Wurfgröße	S.	56

Grafiken:

Grafik	1: Histogramm der aktiven Zuchtsauen mit vorhandenem Genotyp und Informationen der IGZ im betrachteten Zeitraum	S.	24
Grafik	2: Verteilung der Rassen bzw. Rassenkombinationen der aktiven Sauenpopulation in der IGZ	S.	25
Grafik	3: Rassen bzw. Rassenkombinationen der aktiven Eberpopulation in der IGZ	S.	26
Grafik	4: Heterozygotie und PICs der eingesetzten Marker für alle 5.604 genotypisierten Schweine	S.	63
Grafik	5: Erwartete (E) und beobachtete (B) Genotypen der Rasse BayernHybrid am Marker SW951	S.	65
Grafik	6: Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Rassen bzw. Rassenkombinationen	S.	68
Grafik	7: Übertragung der um den Faktor $(1-c)$ erweiterten Formel zur Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit nach SHERMAN <i>et al.</i> (2004) auf die Situation beim Schwein	S.	69



Grafik 8:	Väterliche Halbgeschwister der Sauenpopulation der IGZ GbR	S. 71
Grafik 9:	Mütterliche Halbgeschwister der Sauenpopulation der IGZ GbR	S. 72
Grafik 10:	Sicherheit für den Ausschluss bei 200 Proben für Szenario 1 bis 3 bei verschiedenen Markeranzahlen	S. 73
Grafik 11:	Simulation für je 200 Proben mit 4.600 Sauen bei einer ansteigenden Anzahl Marker –Szenario 1-	S. 75
Grafik 12:	Simulation für je 200 Proben mit 4.600 Sauen bei einer ansteigenden Anzahl Marker –Szenario 2-	S. 77
Grafik 13:	Simulation für je 200 Proben mit 4.600 Sauen bei einer ansteigenden Anzahl Marker –Szenario 3-	S. 79
Grafik 14:	Durchschnittliche Anzahl gefundener möglicher Paarungen bei verschiedener Anzahl Marker und steigendem Sauen/ Eber-Verhältnis	S. 83
Grafik 15:	Ergebnisse der Simulationen zur Ausweitung des Systems auf größere Populationen	S. 91
Grafik 16:	Simulation der Rückverfolgbarkeit mit 14 Markern und einer ansteigenden Anzahl Sauen	S. 93
Grafik 17:	Vergleich der Anzahl Mikrosatelliten und SNPs	S. 96
Grafik 18:	Ergebnis der Simulation des dritten Szenarios mit unterschiedlicher Anzahl eingesetzter SNPs	S. 97
Grafik 19:	Verteilung der Anzahl der lebend geborenen Ferkel (Wurfgröße)	S. 98



Tabellenverzeichnis:

Tabelle 1:	Primersequenzen der verwendeten Mikrosatellitenmarker	S.	20
Tabelle 2:	Aufteilung der bis zum Datenschnitt 5.604 genotypisierten Schweine nach Rasseangaben	S.	27
Tabelle 3:	Einzelne Tabellen der vom Lehrstuhl für Tierzucht erstellten Datenbank und ihre Inhalte	S.	47
Tabelle 4:	Übersicht über die mais GmbH-Datenbank und deren Inhalte	S.	48
Tabelle 5:	Allelzahlen der einzelnen Loci für jede Rasse bzw. Rassenkombination	S.	58
Tabelle 6:	Fragmentlängen an den eingesetzten Mikrosatelliten, Werte in Klammern sind einmalig auftauchende Fragmentlängen bei einzelnen Rassen bzw. Rassenkombinationen	S.	59
Tabelle 7:	Allele mit einer Frequenz von 0,7 und höher	S.	60
Tabelle 8:	Heterozygotiegrade nach Rasse bzw. Rassenkombination und Loci	S.	60
Tabelle 9:	Polymorphism Information Content nach Rasse bzw. Rassekombination und Locus	S.	62
Tabelle 10:	Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts	S.	64
Tabelle 11:	Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Marker, ein Elter bekannt	S.	66
Tabelle 12:	Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Marker, beide Eltern bekannt	S.	67
Tabelle 13:	Vollgeschwister der Sauenpopulation der IGZ	S.	70
Tabelle 14:	Genotypen der neun Vollgeschwistersauen	S.	71
Tabelle 15:	Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 1 -nur Sauen-	S.	76
Tabelle 16:	Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 2 -Sauen und Eber-	S.	78
Tabelle 17:	Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 3 -tatsächliche Paarungen bekannt-	S.	80
Tabelle 18:	Allelfrequenzen von insgesamt 300 nicht aus dem System stammenden simulierten Proben	S.	81



Tabelle 19:	Durchschnittliche Anzahl ermittelter Elternpaare von je 200 simulierten „Schnitzeln“ bei unterschiedlicher Anzahl Marker mit 4.600 Sauen und 100, 150, 250 und 500 Ebern	S.	82
Tabelle 20:	Anzahl der nicht stimmigen Allele der Genotypen der Proben des zweiten Probelaufs, für die mindestens ein angegebener Elter nicht zugeordnet werden kann	S.	87
Tabelle 21:	Ergebnis der Untersuchung der Genotypen von vier Familien aus dem dritten Probelauf	S.	89
Tabelle 22:	Anzahl Sauen nach nicht stimmigen Genotypen	S.	90
Tabelle 23:	Zusammengefasstes Ergebnis der Rückverfolgbarkeit für größere Populationen	S.	92
Tabelle 24:	Zusammengefasstes Ergebnis der Rückverfolgbarkeit für größere Populationen –nur Sauen-	S.	94
Tabelle 25:	Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten mit steigender Anzahl Mikrosatelliten und benötigte Anzahl SNPs	S.	95
Tabelle 26:	F-Werte mit Signifikanzniveaus der Varianzursache des Genotyps auf die Wurfgröße an den einzelnen Markern	S.	99
Tabelle 27:	p-Werte, Differenz und Anzahl des Auftretens der Genotypen an den signifikanten Markern	S.	100

Formeln:

Formel 1:	Berechnung der Allelfrequenzen am Genort m	S.	28
Formel 2:	Berechnung des Heterozygotiegrades	S.	28
Formel 3:	Berechnung des Polymorphism Information Content (PIC)	S.	29
Formel 4:	Vergleich beobachteter (B) und erwarteter (E) Genotypen	S.	30
Formel 5:	Berechnung der Anzahl Freiheitsgrade (FG) bei k Allelen	S.	30
Formel 6:	Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus (Exclp), ein Elter bekannt	S.	31
Formel 7:	Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus (ExclP), beide Eltern bekannt	S.	32
Formel 8:	Kombinierte Ausschlusswahrscheinlichkeit für m Marker	S.	32
Formel 9:	Ausschlusswahrscheinlichkeit erweitert um den Faktor $(1-c)$ nach SHERMAN <i>et al.</i> (2004)	S.	34



Abkürzungsverzeichnis

ASR	=	Arbeitsgemeinschaft Süddeutscher Rinderzucht- und Besamungsorganisationen
BayHybrid	=	Bayern Hybrid
BE	=	Betrieb
BKA	=	Bundeskriminalamt
bp	=	Basenpaare
BSE	=	Bovine Spongiforme Encephalopathie
BV	=	Braunvieh
BWHybrid	=	Baden-Württemberg Hybrid
bzw.	=	beziehungsweise
CCIA	=	Canadian Cattle Information Agency
csv	=	Character Separated Values
DAD	=	DNA-Analyse-Datei
DB	=	Datenbank
DE	=	Deutsches Edelschwein
DL	=	Deutsche Landrasse
DNA	=	Desoxyribonucleic acid
e.V.	=	eingetragener Verein
EC	=	European Community
EG	=	Europäische Gemeinschaft
EID	=	Elektronische Identifikation
EU	=	Europäische Union
Exclp	=	Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus, ein Elter bekannt
ExclP	=	Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus, beide Eltern bekannt
FAO	=	Food and Agriculture Organization
FG	=	Freiheitsgrad
FISH	=	Fluoreszenz in situ Hybridisation
FV	=	Fleckvieh
GbR	=	Gesellschaft bürgerlichen Rechts
GmbH	=	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GT	=	Genotyp



HF	=	Holstein Frisian
HWGG	=	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
IGZ	=	Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR
INRA	=	l'institute national de la recherche agronomique
ISAG	=	International Society of Animal Genetics
kB	=	KiloBite
KCl	=	Kaliumchlorid
kg	=	Kilogramm
LfL	=	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
LKV	=	Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern
mais	=	Mitteldeutsche Agentur für Informationsservice GmbH
MARC	=	U.S. Meat Animal Research Center
max.	=	maximal
mg	=	Milligramm
MgCl₂	=	Magnesiumchlorid
MKS	=	Maul- und Klauenseuche
ml	=	Milliliter
mM	=	millimolar
mm	=	Millimeter
MR	=	Mutterrasse
MS	=	Mikrosatellit
NK	=	Nachkomme
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
PE	=	Ausschlusswahrscheinlichkeit
PEP	=	parental exclusion power
pH	=	pondus Hydrogenii
PIC	=	Polymorphism information content
Pig Imp(r). C(o).	=	Pig Improvement Company
RFID	=	Radio Frequency Identification
SNP	=	Single Nucleotid Polymorphism
STR	=	Short tandem repeat
TUM	=	Technische Universität München



UK	=	United Kingdom
US.	=	Untersuchung
USA	=	United States of America
VNTR	=	variable number of tandem repeats
WN	=	Wurfnummer
Wo.	=	Wochen
Wurfnr.	=	Wurfnummer
YS	=	year-season



1 Einleitung

In den letzten Jahren sind die Nutztierbestände vermehrt von Krankheiten und Skandalen wie BSE, MKS oder nitrofenverseuchten Futtermitteln heimgesucht worden, vor kurzem bewegte die Gammelfleischaffäre die Bevölkerung. Aufgrund dieser Tatsache ist das Interesse der Verbraucher an der Herkunft und der Gesundheit der Tiere enorm angestiegen. Der Konsument möchte sicher gehen, auch in Zukunft unbedenklich Fleisch verzehren zu können. Über die verschiedenen Produktionsstufen, die ein Tier bis zum verzehrfertigen Produkt an der Ladentheke durchläuft, gestaltet sich die Identifizierung des Einzeltieres oft als sehr schwierig.

Dieser Umstand gab den Anstoß, Rückverfolgbarkeitssysteme zu entwickeln, mit Hilfe derer die Herkunft eines Tieres bis zu seinem Geburtsort nachvollzogen werden kann. So wird es bei Auftreten einer Krankheit oder Seuche möglich, sehr schnell den Betrieb zu ermitteln, aus dem betroffene Tiere stammen. Bei Missbrauch von Medikamenten oder Einsatz illegaler Futtermittel kann der Verursacher unmittelbar ausfindig gemacht und zur Verantwortung gezogen werden. Die bisher gebräuchlichen Systeme zur Rückverfolgung basieren auf speziellen Ohrmarken, subkutan implantierten Chips und Etikettierung.

Damit ist prinzipiell die sichere Aufzeichnung der einzelnen Stufen der Prozesskette gewährleistet. Trotzdem ist das Fleischstück am Ende der Kette anonym, selbst wenn es sich um ein Produkt aus einer geschlossenen Produktion handeln sollte. Ein Rückschluss auf das Einzeltier ist nach der Zerlegung nicht mehr möglich, womit keine vollständige Transparenz für den Verbraucher gegeben ist.

Mit dem Einsatz der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit kann diesen Problemen Abhilfe geschaffen werden. Es sind keine technischen Hilfen mehr notwendig um ein Tier zu identifizieren. Dieses geschieht hier auf Basis von Genotypen und ermöglicht die Zuordnung eines Fleischstückes zum Herkunftstier auch nach der Schlachtung.

Mit der vorliegenden Arbeit sollten folgende Zielstellungen verfolgt werden:

1. Entwicklung eines Systems zur DNA-basierten Rückverfolgbarkeit beim Schwein, das sowohl für die Produzenten wirtschaftlich tragbar als auch für den Konsumenten des Endprodukts finanzierbar ist.
 2. Praktische Umsetzung und Etablierung dieser Rückverfolgbarkeit im Produktionssystem der Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR.
-



-
3. Weitere Untersuchungen hinsichtlich Anwendungsmöglichkeiten und Optimierung dieses Systems wie z.B. eine Ausweitung auf größere Populationen oder eventuelle Einflüsse eines bestimmten Eber-Sauen-Verhältnisses.
-



2 Grundlagen und Literatur

2.1 Rückverfolgbarkeit nach EU 178/2002

Nach Artikel 18 der VERORDNUNG (EG) NR. 178/2002 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES (2002) zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts ist seit dem 01. Januar 2005 die Rückverfolgbarkeit von Tieren, die der Lebensmittelgewinnung dienen, in allen Produktions-, Verarbeitungs- und Vertriebsstufen sicherzustellen. Dazu müssen die Lebensmittelunternehmer Systeme und Verfahren einrichten, um den Verbleib der Erzeugnisse bei den verschiedenen Unternehmen der Produktionskette feststellen zu können. Lebensmittel, die in der Gemeinschaft in Verkehr gebracht werden, sind durch sachdienliche Dokumentation oder Information gemäß den diesbezüglich in spezifischeren Bestimmungen enthaltenen Auflagen ausreichend kenntlich zu machen, um ihre Rückverfolgbarkeit zu erleichtern.

Durch diese Verordnung soll innerhalb der Europäischen Gemeinschaft die Rückverfolgbarkeit von Produkten in allen Produktionsstufen geregelt werden, wozu Systeme und Verfahren einzurichten sind, um den zuständigen Behörden die notwendigen Informationen mitzuteilen.

2.1.1 Rückverfolgbarkeit in der Tierproduktion

Mit dem WEIBBUCH ZUR LEBENSMITTELSICHERHEIT (2000) der Kommission der Europäischen Gemeinschaft werden die Probleme in der Lebensmittelsicherheit als internationale Angelegenheit festgelegt. Es zeigt Rechtsvorschriften zur Sicherheit von Lebensmitteln, Überwachung der Lebensmittelsicherheit und Verbraucherinformationen auf, die von den einzelnen Mitgliedsstaaten der EU umzusetzen sind. In Kapitel 2 des Weißbuches wird folgendes ausgesagt: ‚Voraussetzung für eine erfolgreiche Lebensmittelpolitik ist die Rückverfolgbarkeit von Futter- und Lebensmitteln sowie ihrer Zutaten. Es müssen Verfahren eingeführt werden, welche die Rückverfolgung erleichtern. Hierzu zählt auch die Verpflichtung der Futter- und Lebensmittelunternehmen, Vorkehrungen zu treffen, um Futter- und Lebensmittel aus dem Verkehr zu ziehen, sobald ein Risiko für die Gesundheit der Verbraucher besteht. Die Unternehmen sollten Aufzeichnungen über die Lieferanten der Ausgangsstoffe und Zutaten führen, damit festgestellt werden kann, wo ein gegebenes Problem seinen Ursprung hat. Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass eine eindeutige Rückverfolgung von Futter- und Lebensmitteln sowie ihren Zutaten ein kompliziertes Unterfangen ist, bei dem die Besonderheiten der einzelnen Sektoren und Ausgangsstoffe Berücksichtigung finden müssen.‘



Bezug nehmend auf das WEIßBUCH ZUR LEBENSMITTELSICHERHEIT (2000) wird das Fehlen internationaler Standards zur Rückverfolgbarkeit bei der Lebensmittelgewinnung dienenden Tieren als Probleme der Kennzeichnung beschrieben (PETTITT, 2001). Um eine größere Absicherung für den Verbraucher zu erzielen, sind anspruchsvollere Technologien wie die Erstellung von DNA-Profilen oder eine Retina-Überprüfung jedes einzelnen Tieres erforderlich.

MCKEAN (2001) bezeichnet die Rückverfolgbarkeit als die Fähigkeit, die glaubhafte Aufsicht und Verwaltung einer Identifikation von Tieren bzw. tierischen Produkten durch die verschiedenen Schritte der Produktionskette vom Erzeuger bis zum Händler aufzuweisen. Seit den 80er Jahren sind die Bedenken zur Lebensmittelsicherheit und –qualität sowohl auf Regierungs- als auch Konsumentenseite enorm angestiegen, so erfordert die Rückverfolgbarkeit eine transparente Produktionskette, um eine glaubwürdige und komplette Funktion des Informationstransfers zu erreichen. Dieses kann durch die Erfüllung zweier Komponenten der Produkt-Rückverfolgbarkeit realisiert werden:

1. Sichere Systeme zur eindeutigen Identifikation von Tieren und Fleischprodukten
2. Einrichtung einer zuverlässigen und nachprüfaren Identitätsbewahrung

Die Identifikation von Schlachtkörpern oder Gruppen von Tieren eines Betriebes bis zur Schlachtstufe ist durch die Möglichkeit von Ohrmarken, Tätowierungen oder elektronische Anwendungen gegeben. Größere Schwierigkeiten treten auf, sobald der Schlachtkörper vor der Verpackung für den Handel in Einzelteile zerlegt wird. Für Betriebe mit geringem Durchsatz, in denen einzelne Tiere verarbeitet werden, ist die Identifikation durch physikalische Separation oder manuelle Aufzeichnungen möglich. In großen Zerlegungsbetrieben, in denen viele Tiere unterschiedlichster Herkunft im Hochdurchsatz bearbeitet werden, ist diese individuelle Identifikation undenkbar. Hier sind Modifikationen bestehender Einrichtungen zur Rückverfolgbarkeit sowie die Einführung zusätzlicher Arbeitsschritte erforderlich.

Schwierigkeiten und Möglichkeiten der Rückverfolgbarkeit in der Schweineproduktion wurden von TOPEL (2003) aufgezeigt. Er stellte zunächst fest, dass der Rückverfolgbarkeit je nach Bedarf unterschiedliche Bedeutungen zugeordnet werden. So erfordert die Rückverfolgbarkeit z.B. in den USA einen präzisen Prozess, durch den der Weg eines Stückes Fleisch vom Ferkelerzeugerbetrieb bis in den Handel beschrieben wird, während in Dänemark eine „Vorwärts“-Rückverfolgbarkeit zur Ermittlung von Krankheitserregern in Herden und eine „Rückwärts“-Rückverfolgbarkeit zur Findung eines Stückes Fleisch zwischen Einzelhandel



und Verpacker beschrieben werden. Trotz unterschiedlicher Studien und Untersuchungen bedarf es sowohl in den USA als auch in verschiedenen anderen Ländern verbesserter Systeme zur sicheren Rückverfolgbarkeit.

Zur Einhaltung von Standards wie z.B. Unterbringung und Futterregelung, Freilauf für tragende Sauen und Dokumentation der Gesundheit der Tiere für den Import von Schweinefleisch, wie sie beispielsweise in Dänemark gesetzt sind (STAUN, 2002), ist in sämtlichen EU-Staaten ein sicheres Rückverfolgbarkeitssystem erforderlich. Durch dieses soll die Möglichkeit gegeben sein, die Herkunft eines Stückes Fleisch bis zum Ferkelerzeuger nachvollziehen zu können.

Innerhalb eines Bio-Labels produziertes Schweinefleisch ist ein spezialisiertes Erzeugnis für den Markt, dessen Produktion die EU gesetzlich festlegen möchte. Durch Methoden zur Rückverfolgbarkeit sollen sowohl die Getreideproduktion und die Futtermittelzusammensetzung als auch der Einsatz von Arzneimitteln und der Gesundheitsstatus der Tiere offengelegt werden. Durch die hierfür auftretenden zusätzlichen Kosten nimmt diese Rückverfolgbarkeit einen Einfluss auf die Preisbildung des Biofleisches. Der bedeutendste Grund zur Etablierung eines verbesserten Rückverfolgbarkeits-Systems liegt in der Reduktion von gesundheitlichen Schäden durch Fleisch bzw. -produkte. Das Interesse und die Nachfrage der Konsumenten an der Gesundheit der Tiere, die ihrer Lebensmittelgewinnung dienen hatten in Europa zu verschiedenen Ansätzen zur Rückverfolgbarkeit geführt. Trotz Einsatz von Barcodes endet die eindeutige Identifikation eines Tieres sobald die Schweinehälfte in verschiedene Teilstücke zerlegt wird.

2.2 Bisherige Identifikationssysteme in der Tierproduktion

Thomas von Walsingham (BLANCOU, 2001) berichtete, dass im Jahre 1275 ein reicher Franzose ein spanisches Mutterschaf nach Northumberland brachte, welches schmutzig und mit einer Krankheit infiziert war. Diese breitete sich über das ganze Reich aus und wurde als die erste ‚Pest‘ in England bezeichnet.

Dieses Beispiel zeigt, dass bereits in sehr früher Zeit Möglichkeiten nötig wurden, um den Verbreitungsweg einer Tierseuche herauszufinden. So sind Landwirte bzw. Besitzer von Tieren seit vielen Jahren mit der Identifikation ihres Bestandes konfrontiert, sei es im Falle eines Verlustes, einer die Produktion betreffende ökonomischen Entscheidung oder den Wert des



Viehs zu steigern. Die drei in der Vergangenheit eingesetzten Hauptmethoden basierten auf Dokumenten bzw. Zertifikaten, die auf einen Brand Bezug nehmen, einfachen Markierungen direkt auf dem Tierkörper oder entfernbaren Marken.

In der Produktionskette Schwein bildet die Identifikation des Einzeltieres die Basis für die Rückverfolgbarkeit (MADEC *et al.*, 2001). Traditionell sammeln Landwirte Informationen zu ihren Tieren entsprechend dem, was sie sehen, hören und fühlen. So sind Ohrmarken und Tätowierungen die meist verwendeten Kennzeichnungen beim Schwein, wobei elektronische Identifikationssysteme und Monitoring aufgrund der umfangreichen Datenspeicherung eine Stütze für die Betriebsführung darstellen können. Durch in Datenbanken gespeicherte Informationen zum Tierbestand können Fehler im Management entdeckt und behoben werden, um finanzielle Einbußen zu minimieren. Als hauptsächliche Kriterien eines guten Identifikationssystems werden folgende Elemente betrachtet (BARCOS, 2001):

- Leichtigkeit der Anwendung, für unterschiedliche Produktionssysteme geeignet
- einfaches Ablesen und eindeutige Übertragbarkeit der Daten
- Dauerhaftigkeit der Qualität
- Gesundheit und Wohl der Tiere
- Unbedenklichkeit für die Lebensmittel
- Manipulationssicherheit
- niedrige Kosten

2.2.1 Ohrmarken

Die zur eindeutigen Identifikation eingesetzten aus Plastik oder Metall bestehenden Ohrmarken sollen manipulationssicher, visuell erkennbar, nicht gesundheitsgefährdend und kombinierbar mit eventuell zur genaueren Rückverfolgbarkeit eingesetzten Einrichtungen wie Barcodes oder elektronischen Chips sein (STANFORD, 2001). Die größten Schwierigkeiten beim Einsatz dieser Markierungen liegen in der Positionierung der Marke, der Größe, der geeigneten Anwendbarkeit und der Infektionsrate. Außerdem ist die Qualität von Ohrmarken abhängig von der eingesetzten Technologie, den Umweltbedingungen und dem Betriebsmanagement, in dem sie eingesetzt werden. Die Verwendung von Barcode-Ohrmarken bis zur Schlachtung eines Tieres, bei der die Marke jedes einzelnen Tieres entfernt, gereinigt und in einer Tüte dem Schlachtkörper beigelegt wird, ist in größeren Schlachthäusern, wo die Verarbeitung mit hohem Durchsatz erfolgt, nicht durchführbar.



Bereits 1999 wurde die Sicherheit der Ohrmarken angezweifelt. Es wurde auf ein Ausreißen der Ohrmarken und damit verbundenen erheblichen Verletzungen mit eitrigen Entzündungen der Ohrmuschel hingewiesen (<http://www.animal-health-online.de>). Gleichzeitig ist so die Identität einzelner Tiere nicht mehr eindeutig feststellbar. Der Verordnung nach müssen den verletzten Tieren innerhalb weniger Tage die Ohrmarken wieder eingesetzt werden, was zu Kritik durch Tierschützer und Fachleute führt. Abbildung 1 zeigt ausgerissene Ohrmarken bei verschiedenen Spezies.



Abbildung 1: Ausgerissene Ohrmarken bei einem Schaf und bei einem Schwein (CAJA, 2003)

In der Literatur sind Verluste von Ohrmarken von 1 bis 60% beschrieben (MADEC *et al.*, 2001; CAJA *et al.*, 2005; BABOT *et al.*, 2006), externe Kennungen konnten nicht erfasst werden oder es traten Lesefehler auf. Verluste der Markierungen wurden während der Mast, auf dem Transport zum Schlachthaus und in allen Stadien des Schlachtprozesses festgestellt, so ist die Identifikation vieler Einzeltiere nicht mehr gegeben.

2.2.2 Transponder

In den frühen 90er Jahren wurden Transponder in verschiedene Körperteile von Nutztieren wie dem Ohransatz oder die Bauchhöhle implantiert, bei den ersten Versuchen zeigten sich Abwanderungen, Verluste und technische Probleme dieser Systeme (MADEC *et al.*, 2001; CAJA *et al.*, 2005). Hier hat die durchführende Person großen Einfluss auf das Ergebnis, der Einsatz erfahrener Operatoren senkt das Infektionsrisiko und den Verlust der Transponder durch fehlerhafte Injektion. Gegenüber den Ohrmarken gehen auf den Betrieben und während des Transports zum Schlachthof zwar wesentlich weniger der peritoneal implantierten Transponder verloren (BABOT *et al.*, 2006), jedoch fällt bei der Entnahme des Darmtrakts ein



Teil von bis zu 30% der Implantate zu Boden (BAARS, 2005). So werden als Nachteile dieser Markierungen ein hoher Arbeitsbedarf von zwei Personen für die Kennzeichnung, hohe Anforderungen an die Personen zur fachgerechten Applikation, zeit- und arbeitsaufwändige Entnahme im Schlachtbetrieb, mögliche Tierverluste durch fehlerhafte Injektion sowie zu hohe Kosten angegeben.

Ein Projekt der European Community (EC) sollte unter Verwendung von elektronischer Identifikation und molekularen Markern eine Verbesserung der Rückverfolgbarkeit von Viehbestand und Fleisch ermöglichen. Zehn Institutionen aus fünf Ländern waren an der Entwicklung eines auf elektronischer Identifikation (EID) und DNA-Typisierung basierenden Doppelsystems (EID+DNA) zur Rückverfolgbarkeit beteiligt. Dabei soll durch den Einsatz von EID eine Methode zur eindeutigen Identifikation und Rückverfolgung für den Gebrauch auf den Betrieben und zu administrativen Zwecken bis zur Schlachtung erstellt werden (<http://www.uab.es/tracing/>). Durch die zusätzliche Erstellung eines DNA-Profiles aus Blut soll die Möglichkeit gegeben sein, den Weg von Tieren, Schlachtkörpern und Fleischstücken innerhalb der gesamten Fleischindustrie zu überprüfen. Jedes Tier wird unter dem auf dem EID verzeichneten Code in einer Datenbank gespeichert und auch die Blutprobe wird anhand dieses Codes registriert. Diese Datenbank beinhaltet sämtliche zum Einzeltier vorhandene Informationen und wird kontinuierlich aktualisiert (CAJA, 2003).

2.3 Mikrosatelliten als genetische Marker

Das Genom von Säugetieren umfasst circa 3×10^9 Basenpaare (bp), wobei mehr als 50% der DNA aus repetitiven Sequenzen bestehen, nur etwa 2% der DNA hat kodierende Funktion. Seit den siebziger Jahren sind einfache sich wiederholende Muster von Nucleotidsequenzen bekannt. Ihre gleichmäßige Verteilung über das gesamte eukaryontische Genom führte zu der Bezeichnung Satelliten-DNA (HAMADA *et al.*, 1982; TAUTZ UND RENZ, 1984). Die unterschiedliche Motivlänge sowie die Anzahl der Wiederholungen dieser repetitiven DNA lassen eine Einteilung in Makro-, Mini- und Mikrosatelliten zu (MARIAT UND VERGNAUD, 1992).

Makrosatelliten sind Teile der nicht-codierenden Bereiche der DNA und bestehen aus sehr langen Sequenzen von 100en bis 1000en von Basenpaaren (bp). Diese Sequenzen werden tandemartig wiederholt und können bis zu 100.000 bp lang sein. Als Minisatelliten werden repetitive Elemente von 10 bis 150 Nukleotiden bezeichnet. Sie bestehen aus kurzen Sequenzen von 100 bis 15.000 bp und sind hypervariabel, die Anzahl ihrer Wiederholungen differiert



bei verschiedenen Individuen (JEFFREYS *et al.*, 1985). Aufgrund dieser Gegebenheit sind sehr viele Mitglieder innerhalb einer Population an demselben Locus heterozygot, dadurch eignen sich Minisatelliten, um verschiedene Individuen voneinander zu unterscheiden. Sie bilden Polymorphismen in der Population, die VNTR (variable number of tandem repeats) genannt werden. Aufgrund ihrer Größe sind Minisatelliten nicht über die Polymerase Kettenreaktion (PCR) darstellbar und finden sich häufiger in den Telomerregionen der Chromosomen, daher haben sie in der Tierzucht als Marker nur eine geringe Bedeutung (SCHELLANDER, 1999).

Wie die Makro- und Minisatelliten bestehen Mikrosatelliten aus repetitiven Wiederholungseinheiten, wobei die Länge einer Einheit nur ein bis sechs Nukleotide beträgt. Mikrosatelliten sind hochvariabel und gleichmäßig über das Genom verteilt. So haben sie den Vorteil, über die PCR gut darstellbar zu sein (TAUTZ, 1990), wobei Primer verwendet werden, die kurze Tandemrepeats flankieren. Daher eignen sie sich sehr gut als genetische Marker (SCHELLANDER, 1999).

2.3.1 Entstehung von Mikrosatelliten

Die Entstehung von Mikrosatelliten ist nicht hinreichend geklärt. LEVINSON UND GUTMAN (1987) gehen davon aus, dass diese Marker zufällig aus kurzen so genannten ‚Proto-Mikrosatelliten‘ entstehen. Durch ein ‚Slippage‘ der Polymerase am repetitiven Strang bei der DNA-Replikation werden Abschnitte der Matrizen-DNA wiederholt synthetisiert, wodurch es zum fehlerhaften Einbau von Nukleotiden kommt.

TAUTZ *et al.* (1986) diskutieren eine andere Möglichkeit, nämlich die ungleiche Aneinanderlegung der Chromosomenstränge beim Crossing-Over während der Replikation.

‚Proto-Mikrosatelliten‘ weisen kurze Sequenzen wie z.B. ATGTGTGT auf (MESSIER *et al.*, 1996). Durch Transition eines Guanins (G) zu einem Adenin (A) innerhalb dieser Einheit ändert sich die Sequenz zu ATGTATGT, somit ist ein Mikrosatellit mit zwei Wiederholungseinheiten (ATGT)₂ entstanden. Je nach Spezies entwickelte sich dieser Marker weiter zu (ATGT)₅ beim Menschen oder (ATGT)₄ beim Afrikanischen Affen. Diese mögliche Entstehung verifizierten MESSIER *et al.* (1996) für den η -Globin-Locus in Affenlinien.



2.3.2 Struktur der Mikrosatelliten

Mikrosatelliten liegen überwiegend in den nicht-codierenden Bereichen des Genoms. Durch die Anzahl von durchschnittlich sechs bis zwölf Allelen, wobei die Unterscheidung der Länge der einzelnen Allele durch die variierenden Wiederholungseinheiten entsteht, sind diese Marker hochpolymorph (TAUTZ UND RENZ, 1984; TAUTZ, 1989; STALLINGS *et al.*, 1991). Sie werden auch als SSLPs (simple sequence length polymorphisms) (TAUTZ, 1989) oder STR(P)s (short tandem repeat (polymorphisms)) bezeichnet (WEBER UND WONG, 1993). Beim Schwein wird die Zahl der Mikrosatelliten auf 65.000 bis 100.000 geschätzt, wobei die Zahl der verfügbaren definierten Marker im porcinen Genom ca. 1.400 beträgt (GELLIN *et al.*, 2000).

In den Wiederholungseinheiten wurden sämtliche mögliche Nukleotidkombinationen festgestellt, wobei das Motiv $(CA)_n \cdot (GT)_n$ am häufigsten auftritt (HAMADA *et al.*, 1984; TAUTZ UND RENZ, 1984; WINTERO *et al.*, 1992) und bei Säugetieren circa 0,5% des gesamten Genoms ausmacht (TAUTZ, 1989).

Nach GOLDSTEIN UND SCHLÖTTERER (1999) lassen sich Mikrosatelliten kategorisch nach den Motiven ihrer Wiederholungseinheiten einteilen:

- Perfekte Mikrosatelliten z.B. CTCTCTCTCTCTCTCT
bestehen aus einfachen Repeats ohne Unterbrechungen
- Imperfekte Mikrosatelliten z.B. CTCTCTCTGTCTCTCTCT
sind von einem kurzen Nukleotidmotiv unterbrochen
- Unterbrochene Mikrosatelliten z.B. CTCTCTCTGGGTCTCTCTCT
weisen eine Insertion von mehreren nicht zur Mikrosatellitenstruktur gehörenden Nukleotiden auf
- Zusammengesetzte Mikrosatelliten z.B. CTCTCTCTCTGATGATGAT
enthalten verschiedene Wiederholungssequenzen mit oder ohne Unterbrechung

2.3.3 Anwendung von Mikrosatelliten

Seit Mitte der neunziger Jahre finden Mikrosatelliten sowohl beim Menschen (ALFORD *et al.*, 1994) als auch bei den verschiedenen Nutztieren Anwendung in der Abstammungskontrolle. Die Kenntnis der Abstammung eines Tieres hat in der Tierzucht eine grundlegende Bedeutung, denn zur Feststellung des Zuchtwertes, aber auch des Handelswertes eines Tieres ist die gesicherte Zuordnung von Eltern und Nachkommen eine Voraussetzung. Bei einer unsicheren Abstammung ist der erbliche Einfluss von Elterntieren auf die Folgegeneration nicht eindeutig



und sowohl das Leistungsvermögen und die Erbgesundheit nicht sicher feststellbar. Das Grundprinzip der Abstammungskontrolle besteht darin, an einer bestimmten Anzahl von polymorphen Marker-Loci die Allele bei Eltern und Nachkommen festzustellen. Da autosomale Mikrosatelliten kodominant vererbt werden, sind sie zu diesem Zweck ideal geeignet.

Die aktuelle Genomkarte Pigbase 2006 (<http://iowa.threarkdb.org/>) umfasst beim Schwein über 4.000 Genmarker. Außerdem stellt das U.S. MEAT ANIMAL RESEARCH CENTER (MARC) (<http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html>) eine detaillierte Übersicht zur Verfügung.

2.3.3.1 Genetischer Fingerprint

Der Engländer Alec Jeffreys erkannte im Jahr 1984 mittels Einsatz von VNTRs, dass man durch die variable Anzahl von Wiederholungen der Sequenzen der Minisatelliten ein Muster erzeugen kann, welches eine für jeden Menschen charakteristische und unverwechselbare Struktur aufweist. So entstand der ‚genetische Fingerprint‘ (JEFFREYS *et al.*, 1985). Es werden pro VNTR-Locus und untersuchtem Individuum eine oder zwei Banden erwartet, je nachdem, ob die Allele, von denen eines von der Mutter und das andere vom Vater stammt, die gleiche (homozygot) oder unterschiedliche (heterozygot) Längen aufweisen.

Der genetische Fingerabdruck findet Anwendung in der Forensik. Aus am Ort eines Verbrechens gefundenen Blut-, Haar- oder Gewebeproben eines Täters kann ein DNA-Profil erstellt werden, was mit denen tatverdächtiger Personen verglichen wird. Im Jahr 1986 konnte erstmals in England der Tod eines Mädchens, das zunächst vergewaltigt und dann ermordet wurde, durch Abgleich Haut- und Spermaproben des Täters mit den am Tatort gefundenen aufgedeckt werden. In Deutschland wurde 1998 ein ähnlicher Fall über die Erstellung von DNA-Fingerprints aus Speichelproben von ca. 12.000 Männern aus den Nachbardörfern aufgeklärt. Seit diesem Jahr wird beim Bundeskriminalamt (BKA) eine DNA-Analyse-Datei (DAD) aufgebaut. Darin werden fortan die DNA-Identifizierungsmuster, bestehend aus acht ausgewählten STR-Systemen, von bereits verurteilten Straftätern, beschuldigten Personen und Tatortspuren gespeichert. Der Datenbestand betrug im Mai 2005 ca. 401.000 DNA-Muster, darunter 70.000 von Spuren aus ungeklärten Fällen. Etwa 20.000 Straftaten konnten seit 1998 mit Hilfe der DAD aufgeklärt werden (INSTITUT FÜR RECHTSMEDIZIN, UNIVERSITÄT LEIPZIG).



Seit der Entdeckung und Weiterentwicklung von Mikrosatelliten kommen diese Marker vermehrt für die Erstellung von genetischen Fingerprints zum Einsatz. Als Vorteile der Verwendung von Mikrosatelliten gegenüber den VNTRs werden beschrieben:

1. STR-Fragmente sind kürzer und können mit besserer Auflösung getrennt werden
2. Mikrosatelliten können leichter bei schon zerfallener DNA eingesetzt werden
3. Kleine Mengen sind ausreichend für die Erstellung eines Fingerprints
4. Die potentielle Anzahl möglicher zu verwendender Loci ist sehr groß
5. Die Durchführung kann schnell (in 1-2 Tagen) erfolgen
6. Der Prozess ist weitgehend automatisierbar

In Abbildung 2 ist der Ablauf der Darstellung eines genetischen Fingerabdrucks am Beispiel einer Familie schematisch dargestellt.

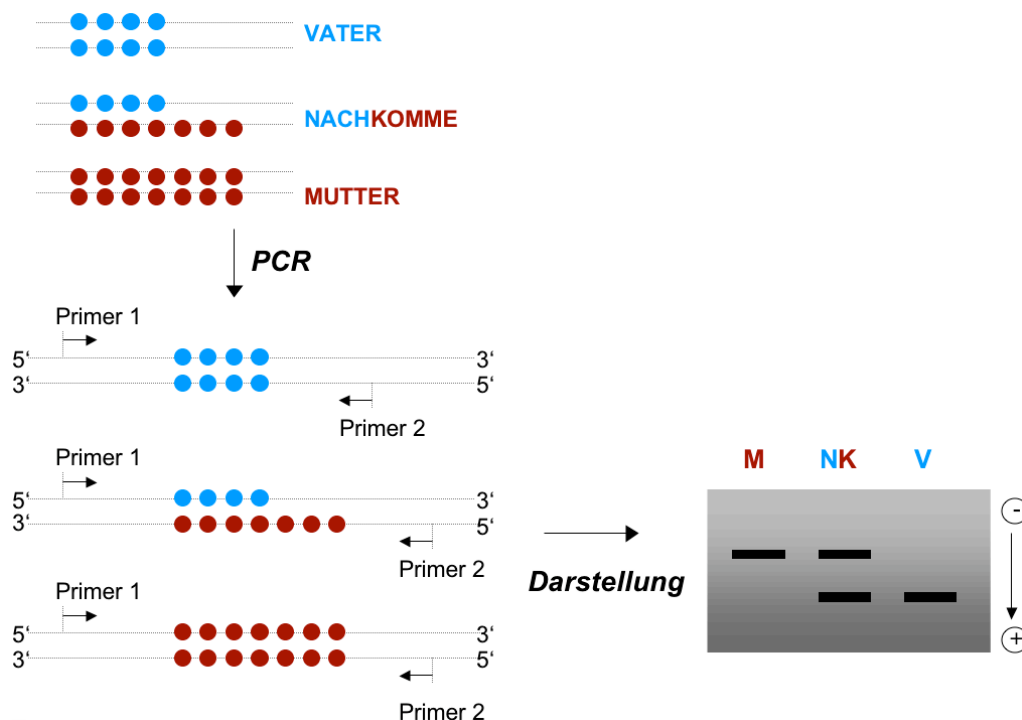


Abbildung 2: Erstellung eines genetischen Fingerprints (modifiziert nach WAGNER, 2001)

Grundlage für die Erstellung eines Fingerprints ist eine bestimmte Anzahl Mikrosatelliten. In Abbildung 2 wird ein Mikrosatellit betrachtet, wobei jeder Punkt eine Wiederholungseinheit (Repeat) anzeigt. Die unterschiedlichen Allele am betrachteten Mikrosatelliten sind durch ihre Länge definiert. In Abbildung 2 ist die Mutter am betrachteten Marker homozygot, da beide



Allele eine identische Anzahl Repeats aufweisen. Auch der Vater ist homozygot, jedoch für ein anderes Allel mit einer anderen Länge. Der Nachkomme ist heterozygot, er erhält sowohl von der Mutter als auch vom Vater jeweils ein Allel an jedem Locus. Die Gesamtheit dieser jeweils zwei Allele eines Individuums an sämtlichen untersuchten Mikrosatelliten ergibt das spezifische DNA-Profil, den genetischen Fingerprint. Aus einer Blut-, Haar-, Speichel- oder Gewebeprobe der zu testenden Individuen wird genomische DNA präpariert. Mittels der Polymerase Kettenreaktion (PCR) können Mikrosatelliten dieser DNA unter Einsatz spezifischer Primer vervielfältigt werden. Die so erhaltenen Stücke werden z.B. mit Gelelektrophorese ihrer Größe nach aufgetrennt. Das Bandenmuster zeigt in Abbildung 2 jeweils eine Bande für Mutter und Vater, da sich die gleichlangen Allele überlagern, und zwei Banden für den Nachkommen, von denen sich jeweils eine auf Höhe derer eines Elters befindet (WAGNER, 2001).

2.3.3.2 Ausschlusswahrscheinlichkeit

Das Prinzip der Ermittlung einer Abstammung auf Basis von Genotypen unter Einsatz genetischer Marker ist ein Ausschlussverfahren. Sind z.B. die Genotypen eines Tieres und seiner Mutter gegeben, kann ein möglicher Vater als wahrer Vater ausgeschlossen werden, sobald ein Allel an einem Genort des Nachkommen, das nicht von der Mutter stammen kann, beim untersuchten Vater nicht vorhanden ist. Die Wahrscheinlichkeit, mit der ein falscher Vater auch als solcher erkannt wird, wird als Ausschlusswahrscheinlichkeit bezeichnet und hängt von der Anzahl und der Variabilität der verwendeten Marker ab (JAMIESON, 1994; JAMIESON UND TAYLOR, 1997). Eine Ausschlusswahrscheinlichkeit von über 99 % lässt sich nach ACHMANN *et al.* (2000) mit 10 bis 12 variablen Mikrosatelliten erreichen. Je mehr Marker untersucht werden, je größer die Anzahl der Allele pro Marker ist und je gleichmäßiger diese Allele in der Population verteilt sind, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, mit der sämtliche falsche Eltern ausgeschlossen werden können.

2.3.3.3 Abstammungskontrolle mit Mikrosatelliten

Als einen neuen Ansatz für die Abstammungskontrolle beim Rind bezeichneten GLOWATZKI-MULLIS *et al.* (1995) die Entwicklung zweier PCR-Systeme mit insgesamt sechs unterschiedlichen STR Loci. Die Mikrosatelliten-Polymorphismen wurden über die automatisierte Fluoreszenz-Detektion visualisiert. So konnten Allelfrequenzen aus den Genotypen von 238 Rindern ermittelt und für die Abstammungskontrolle herangezogen werden. Auch HEYEN *et al.*



(1997) ermittelten 22 Mikrosatelliten an 1.022 Holstein- und 311 Fleischrinderbullen fünf verschiedener Rassen, die 17 väterlichen Halbgeschwistergruppen angehörten. Es wurden Ausschlusswahrscheinlichkeiten für zwei Situationen bestimmt:

1. Die Genotypen eines potentiellen Elters und eines Nachkommen sind bekannt, nicht aber die der wahren Eltern.
2. Die Genotypen eines potentiellen Elters, eines Nachkommen und eines wahren Elternteils sind bekannt.

In dieser Untersuchung ließ sich für den ersten Fall eine Ausschlusswahrscheinlichkeit von 0,9986 berechnen, für den zweiten Fall betrug sie 0,9999.

NECHTELBERGER *et al.* (2001) führten eine molekulargenetische Analyse zur Anwendung von Mikrosatelliten in der Abstammungskontrolle einer österreichischen Schweinepopulation durch. Aus 27 Mikrosatelliten des von der INRA aufgestellten Markersets zur Diversitätsuntersuchungen beim Schwein (<http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/panel.htm>) wurden 15 Marker ausgewählt. Diese wurden als unabhängig segregierend und hochpolymorph beschrieben, außerdem sollen sie keine Nullallele aufweisen. Es erfolgte eine Genotypisierung aus Ohrproben von je 50 unverwandten Tieren der Rassen Large White, Landrasse und Pietrain. Es konnten eine 10- und eine 5-plex PCR ermittelt werden, für die Gesamtausschlusswahrscheinlichkeiten zwischen 96,69% (Genotyp eines Elters nicht bekannt) und 99,99% (Genotypen beider Eltern bekannt) erreicht wurden.

Auf Grundlage des von NECHTELBERGER *et al.* (2001) entwickelten Markersets führten WIMMERS *et al.* (2003) eine Untersuchung zur Abstammungskontrolle bei je 50 unverwandten Tieren der Rassen Deutsches Edelschwein, Deutsche Landrasse und Pietrain durch. Der Informationsgehalt der einzelnen Marker wurde anhand der Allelzahlen und -frequenzen, des Heterozygotiegrads, dem Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts, des Polymorphism Information Contents (PIC) und der Ausschlusswahrscheinlichkeiten der einzelnen Loci für die einzelnen Rassen ermittelt.

Den Einfluss der Anzahl und der Verwandtschaft von Vätern auf die Ausschlusswahrscheinlichkeit und die Wahrscheinlichkeit einer eindeutigen Elternschaft untersuchten SHERMAN *et al.* (2004). Um unter Verwendung von Mikrosatelliten den korrekten Vater eines Probanden zu ermitteln, müssen alle anderen potentiellen Väter ausgeschlossen werden. Die „probability



of unambiguous parentage (PUP)' und die ‚proportion of calves with unambiguous parentage (PCUP)' kann für eine Gruppe unverwandter Väter auf Basis der Ausschlusswahrscheinlichkeit PE bestimmt werden. Die korrekte Zuordnung eines individuellen Nachkommen zum korrekten Elter wird von der Anzahl und der Verwandtschaft der potentiellen Väter signifikant beeinflusst. Zur Untersuchung wurden Blutproben von 589 Kälbern einer Red Angus Herde gezogen und an 11 Mikrosatelliten genotypisiert. Die theoretische Ausschlusswahrscheinlichkeit wurde für den Fall, dass Genotypen eines Elters (Bulle) und des Nachkommen (Kalb) existieren, zunächst für jeden einzelnen Mikrosatelliten und dann über das gesamte Markerset ermittelt. Durch die Einbeziehung des Verwandtschaftsgrades c in die Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeit ermitteln SHERMAN *et al.* (2004) das Ausmaß einer verwandtschaftlichen Beziehung der Väter untereinander.

Die Ausschlusswahrscheinlichkeiten nahmen für ansteigende Verwandtschaftsgrade c unter den potentiellen als Väter in Frage kommenden Bullen deutlich niedrigere Werte an. Für unverwandte Bullen entsprachen die ermittelten PUP-Werte denen der Ausschlusswahrscheinlichkeiten, wobei die Ergebnisse mit der Anzahl der unverwandten Tiere ansteigen. Es konnten 1,1% der typisierten Kälber keinem der Väter in der Herde zugeordnet werden, jedoch waren nur 85,8% der Kälber eindeutig auf einen Vater und somit auf eine sichere Abstammung zurückzuführen.

2.3.3.4 Rückverfolgbarkeit mit Mikrosatelliten

Durch den leistungsstarken technologischen Einsatz von Marker-Genotypen ergeben sich verschiedene Möglichkeiten zur Rückverfolgbarkeit unter Anwendung der DNA-Identifikationstechnik (CUNNINGHAM UND MEGHEN, 2001):

1. Überprüfung der Identität durch den Vergleich der fraglichen Probe mit der eines lebenden Verwandten. Hier ist die Typisierung der Eltern die effizienteste Methode. Dieser Ansatz erfordert keine spezielle Infrastruktur im Sammeln von DNA-Proben, jedoch kann es aufgrund von Fehlern in der Aufzeichnung z.B. der Väter bei der künstlichen Besamung zu Problemen wie eines nicht auffindbaren Elternteils kommen.
2. Überprüfung der Identität durch den Vergleich einer fraglichen Probe mit einer Probe, die vorher von demselben Tier entnommen wurde.

Viehbeständen werden oft zur Überprüfung von Krankheiten oder Seuchen biologische (z.B. Blut) Proben entnommen. Diese können genutzt werden, um den identischen Genotypen eines fraglichen Tieres unter den vorher gespeicherten aufzufinden.



3. Systematisches Beprobieren aller jungen Tiere und Archivierung dieser Proben. Die Entnahme von z.B. Haarproben während der ersten Identifikation mit Ohrmarken ermöglicht ab diesem Zeitpunkt einen Abgleich mit einer später erstellten DNA-Probe. Auch diese Möglichkeit basiert auf der Entnahme und Speicherung von DNA-Proben, wobei dieses populationsweit erfolgen soll. Die Einführung eines solchen Systems stellt eine logistische Herausforderung dar, da jedes Tier beprobt werden muss.
4. Systematisches Sammeln und Erstellen von DNA-Profilen der Tiere. Die gezogenen Proben werden sofort typisiert und die Genotypen in einer Datenbank gespeichert. Die Speicherung der Genotypen in einer Datenbank anstatt der Aufbewahrung der Gewebe- bzw. Blutproben stellt eine nützliche Alternative dar, erfordert jedoch die umgehende Typisierung einer jeden Probe, was mit erhöhten Kosten verbunden ist.

ORRU *et al.* (2004) etablierten die DNA-basierte Rückverfolgbarkeit von Fleisch mit molekularen Markern in italienischen Rinderrassen. Da die Konsumenten in Italien immer öfter nach Fleisch eines bestimmten Tieres, dessen Aufzucht und Mast ihnen bekannt ist, fragen, plant das Landwirtschaftsministerium für Italien eine Rückverfolgbarkeit ab dem Zeitpunkt des Schlachtens. Dazu soll von jedem geschlachteten Tier eine Fleischprobe entnommen und eingefroren werden, um auf Wunsch des Konsumenten ein gekauftes Stück Fleisch einem bestimmten Tier zuordnen zu können. Dies geschieht durch die Erstellung eines Genotyps an sowohl von einer Probe des gekauften Fleisches als auch des eingefrorenen Stückes. Stimmen die beiden Genotypen überein, stammt das Fleisch von dem gewünschten Tier. Um die Typisierung finanzierbar zu halten, sollte eine Multiplex-PCR mit einer möglichst geringen Anzahl Mikrosatelliten ermittelt werden. Es wurden insgesamt 287 unverwandte Tiere vier unterschiedlicher Rassen nach Entnahme einer Blutprobe an 9 Loci typisiert. Aufgrund der Untersuchungen erwies sich die Verwendung einer 5-Multiplex-PCR für alle betrachteten Rassen als ausreichend, da lediglich maximal 0,7 von 1.000 Tieren einen identischen Genotyp aufweisen.

2.4 Single Nucleotid Polymorphisms (SNPs)

Mit SNPs werden Einzelbasenaustausche im DNA-Strang bezeichnet, die bei mindestens 1% der jeweiligen Population vorkommen (KRAWCZAK, 1999). Im Gegensatz zu Mikrosatelliten, an denen meist eine größere Anzahl Allele auftreten, weisen SNPs nur zwei Allele auf und haben somit einen geringeren Einzelinformationsgehalt. So liegt der einzige Nachteil gegen-



über hochpolymorphen Mikrosatelliten in der niedrigen Aussagekraft eines einzelnen SNPs, was aber mit einer höheren Anzahl eingesetzter SNPs kompensiert werden kann (WERNER *et al.*, 2004). Bereits in den 80er Jahren wurden SNPs bei der Verwendung von Restriktionsenzymen zur Feststellung der An- bzw. Abwesenheit von Schnittstellen und der darauf folgenden Betrachtung der Fragmentlängenvariation entdeckt (BOTSTEIN *et al.*, 1980). SNPs lassen sich einfach in Hochdurchsatzverfahren typisieren und ermöglichen einen hohen Grad an parallelen Analysen. Biallelelische Marker liefern zudem einfach zu digitalisierende Daten. Aufgrund ihrer großen Stabilität in der Laboranwendung sowie ihrer Beständigkeit in der Vererbung und der populationsgenetischen Auswertung können SNPs durchaus an die Stelle von Mikrosatelliten treten (KRAWCZAK, 1999; HEATON *et al.*, 2002). Seit den späten 90er Jahren erfolgte in der Molekulargenetik eine Umstellung von der Verwendung von STRs zu SNPs, die vermehrt zur Identifikation der Gene, die komplexen multifaktoriellen Krankheitsbildern zugrunde liegen, eingesetzt wurden (GRAY, 2000). Die sehr niedrigen Mutationsraten dieser Marker machen sie interessant für die Vaterschaftsanalyse (SOBRINO *et al.*, 2005).

2.4.1 Abstammungskontrolle mit SNPs

Zur Identifikation von SNP-Minimalsets, welche ausreichend informativ sind, um in den gängigen Rinderrassen zur Abstammungskontrolle Einsatz zu finden, werden die Untersuchungen mehrerer Autoren beschrieben (HEATON *et al.*, 2002; WERNER *et al.*, 2004; LÓPEZ HERRÁEZ *et al.*, 2005). Es konnten mit Sets, die eine Anzahl zwischen 32 und 43 SNPs enthielten, bei einigen Rassen Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten von bis zu 99,99% erreicht werden, wobei der Einfluss einzelner Marker von der Allelfrequenz und der Lokalisation der Marker abhängt.

2.4.2 Rückverfolgbarkeit mit SNPs

WEBB (2005) beschreibt ein Programm zur Rückverfolgbarkeit beim Schwein in Kanada. Da die Erstellung eines Genotyps für jedes einzelne Tier zu hohe Kosten verursachen würde, wird eine typisierte Fleischprobe mit den Genotypen aller im System befindlichen Mütter abgeglichen. Die über die Ausschlusswahrscheinlichkeit ermittelte Anzahl benötigter SNPs für 25.000 Sauen liegt bei 180, wobei die Verwandtschaft der Sauen nicht berücksichtigt wurde. Eine zur Zeit der Veröffentlichung in Planung stehende Simulation sollte zeigen, dass zur sicheren Rückverfolgbarkeit ein Panel von mindestens 250 SNPs benötigt wird.



Unter Verwendung der Genotypen von 96 Kreuzungstieren (LW x Pietrain x Landrasse) und 32 reinrassigen Schweinen fünf verschiedener Rassen konnte ein SNP-Set zur Rückverfolgbarkeit beim Schwein etabliert werden (GOFFAUX *et al.*, 2005). Es konnten 39 neue SNPs und ein bereits beschriebener aufgefunden werden, von denen 21 aufgrund ihres Heterozygotiegrads von über 0,3 ausgewählt wurden. Um die Anwendung des neuen Markersets für die Rückverfolgbarkeit in der Produktionskette zu überprüfen, erhielt jedes Schwein eine Ohrmarke mit einer Nummer, die das Einzeltier und seinen Geburtsbetrieb identifiziert. Ein Rückverfolgbarkeits-Test erlaubte eine Wiederherstellung der Beziehung von Fleisch- und Ohrprobe von zwei Schlachtkörpern und somit über die Ohrmarke eine Verbindung zum Geburtsbetrieb. Die Genotypen von 10 fremden Proben konnten keinem der 128 Tiere zugeordnet werden, so könnte ein solches System gemeinsam mit einer administrativen Einheit zur Rückverfolgbarkeit beim Schwein Verwendung finden.



3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Tiere

Basis der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen bilden die im System der Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR (IGZ) eingesetzten Elterntiere. Im Jahr 2003 haben sich 36 Landwirte aus Mittel-, Unterfranken und der Oberpfalz zu dieser Gemeinschaft zusammengeschlossen und sich zum Ziel gesetzt, dem Verbraucher qualitativ hochwertiges, zertifiziertes und rückverfolgbares Schweinefleisch im Hochpreissegment anzubieten. In diesem Produktionssystem werden bei 22 Ferkelerzeugern jährlich ca. 100.000 Schweine geboren, die von 14 angeschlossenen Mästern bis zur Vermarktung aufgestellt werden.

Von sämtlichen in diesem System zur Reproduktion eingesetzten Tieren erfolgt die Erstellung eines Genotyps an einer bestimmten Anzahl Mikrosatelliten. Des Weiteren stehen vom Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. (LKV) für jedes dieser Tiere zusätzliche Informationen zur Verfügung.

Der Bestand eines jeden Betriebes und auch die Eber wechseln fortwährend, so dass eine kontinuierliche Aktualisierung der Daten erforderlich ist. Das Projekt wird auch nach Ausscheiden des Lehrstuhls für Tierzucht als wissenschaftlicher Betreuer fortgeführt, wodurch sich der Datenumfang kontinuierlich erhöht. Für die in dieser Arbeit betrachteten Aspekte wurde ein Datenschnitt zum 4. April 2005 durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich laut Dateninformationen folgende Tiere im Bestand:

- 8.448 Sauen (keine Berücksichtigung, ob diese Tiere bereits typisiert sind)
- 187 Eber (zusätzlich 110 Eber, die als Vater eingesetzt wurden jedoch noch keinen Genotyp haben)

3.1.1 Erstellung von Genotypen mit Mikrosatelliten

Für die DNA-Gewinnung der Sauen und Eber zur Genotypisierung an den Markerloci werden Haarproben herangezogen. Sämtlichen im System befindlichen Elterntieren werden mit einer Flachzange im Nackenbereich einige Borsten samt Haarwurzeln ausgezogen. Daraus wird im Labor der GeneControl GmbH genomische DNA präpariert, die dann zur Erstellung eines Genotyps an einer Reihe von Mikrosatellitenmarkern verwendet wird.

Als DNA-Marker fanden die im Rahmen eines Forschungsprojektes zur genetischen Analytik in der Schweinezucht (NECHTELBERGER *et al.*, 2001) zusammengestellten Mikrosatelliten Verwendung, die effizient im Multiplex-Verfahren genotypisiert werden können. In dieser



Multiplex-PCR werden zunächst zehn, dann weitere fünf unabhängige Genorte in einem einzigen Amplifikationsschritt untersucht, die Ergebnisse werden automatisch in einer elektrophoretischen Auftrennung analysiert. Aufgrund von Typisierungsproblemen wurde der Marker S0228 aus dem 5plex nicht weiter berücksichtigt. Eine Übersicht zu den verwendeten Mikrosatelliten findet sich im Anhang (9.1.1). Die Primersequenzen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Primersequenzen der verwendeten Mikrosatellitenmarker

	<i>Locus</i>	<i>Primer</i>	<i>Referenz</i>
10plex	S0005	F: 5'-TCC TTC CCT CCT GGT AAC TA-3' R: 5'-GCA CTT CCT GAT TCT GGG TA-3'	FREDHOLM <i>et al.</i> (1993)
	S0090	F: 5'-CCA AGA CTG CCT TGT AGG TGA ATA-3' R: 5'-GCT ATC AAG TAT TGT ACC ATT AGG-3'	FREDHOLM <i>et al.</i> (1993)
	S0101	F: 5'-GAA TGC AAA GAG TTC AGT GTA GG-3' R: 5'-GTC TCC CTC ACA CTT ACC GCA G-3'	ELLEGREN <i>et al.</i> (1994)
	S0155	F: 5'-TGT TCT CTG TTT CTC CTC TGT TTG-3' R: 5'-GTT AAA GTG GAA AGA GTC AAT GGC TAT-3'	ELLEGREN <i>et al.</i> (1994)
	S0355	F: 5'-TCT GGC TCC TAC ACT CCT TCT TGA TG-3' R: 5'-GGT TGG GTG GGT GCT GAA AAA TAG GA-3'	ROBIC <i>et al.</i> (1994)
	S0386	F: 5'-GAA CTC CTG GGT CTT ATT TTC TA-3' R: 5'-GTC AAA AAT CTT TTT ATC TCC AAC AGT AT-3'	RIQUET <i>et al.</i> (1995)
	SW24	F: 5'-CTT TGG GTG GAG TGT GTC C-3' R: 5'-ATC CAA ATG CTG CAA GCG-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
	SW240	F: 5'-AGA AAT TAG TGC CTC AAA TTG G-3' R: 5'-AAA CCA TTA AGT CCC TAG CAA A-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
	SW857	F: 5'-TGA GAG GTC AGT TAC AGA AGA CC-3' R: 5'-GAT CCT CCT CCA AAT CCC AT-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
	SW951	F: 5'-TTT CAC AAC TCT GGC ACC AG-3' R: 5'-GAT CGT GCC CAA ATG GAC-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
5plex (ohne S0228)	S0227	F: 5'-GAT CCA TTT ATA ATT TTA GCA CAA AGT-3' R: 5'-GCA TGG TGT GAT GCT ATG TCA AGC-3'	ROBIC <i>et al.</i> (1994)
	SW72	F: 5'-ATC AGA ACA GTG CGC CGT-3' R: 5'-GTT TGA AAA TGG GGT GTT TCC-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
	SW911	F: 5'-CTC AGT TCT TTG GGA CTG AAC C-3' R: 5'-CAT CTG TGG AAA AAA AAA GCC-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)
	SW936	F: 5'-TCT GGA GCT AGC ATA AGT GCC-3' R: 5'-GTG CAA GTA CAC ATG CAG GG-3'	ROHRER <i>et al.</i> (1994)



3.1.1.1 DNA-Gewinnung aus Haarproben

Im Labor GeneControl GmbH wird aus den Haarproben nach folgendem Protokoll (SEICHTER, 2005) Lysat erstellt.

- 8 Haarwurzeln in ein Eppendorf Tube einschneiden
- Zugabe von 50µl Lysispuffer-Proteinase K-Gemisch*
- Inkubation im Wasserbad für 1h 20min bei 65°C
- 20min Abkochen der Proben im Wasserbad bei 95°C
- kurz abzentrifugieren

*Lysispuffer-Proteinase K-Gemisch besteht aus 50µl Lysispuffer** und 6µl Proteinase K-Lösung (20mg/ml in TE) je Probe

**Lysispuffer setzt sich zusammen aus 20mM Tris-HCl pH8.3, 1,5mM MgCl₂, 25mM KCl und 0,5% Tween20

Von diesem Lysat werden 3µl in 15µl PCR-Reaktion eingesetzt.

3.1.1.2 Genotypen-Datensatz

Die Genotypen der Einzeltiere an den verwendeten Markern bilden letztendlich die Grundlage für die Auswertungen dieser Arbeit. In der von der GeneControl GmbH gelieferten Rohdaten wird die Anzahl der Basenpaare an den einzelnen Allelen der verschiedenen Mikrosatelliten für jede Haarprobe nach Labornummer angegeben, wobei das kleinere Allel an erster Stelle steht. Diese Daten werden in regelmäßigen Abständen in Form einer Textdatei an den Lehrstuhl für Tierzucht geschickt, wo sie zunächst in eine MySQL-Datenbank eingelesen werden. Zum 4. April 2005 befanden sich die Genotypen von 5.604 Schweinen in der Datenbank. Durch Zuordnung der Genotypen der einzelnen Tiere zu den unter 3.1.2 beschriebenen Datensätzen lassen sich die typisierten Schweine, die mindestens 17 verschiedenen Rassen bzw. Kreuzungen angehören, in 5.168 Sauen, 217 Eber und 219 Tiere ohne Angaben einteilen.

3.1.2 Informationen zu Sauen und Würfen

Jeder Ferkelerzeugerbetrieb wird von einem Ringassistenten des Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. (LKV) betreut, der, je nach dem, ob der Landwirt seinen Sauenplaner selbständig führt oder ihn direkt durch diesen organisieren lässt, zwischen ein- und viermal im Monat den Betrieb aufsucht, um die neuesten Daten zu Sauen



und Würfen aufzunehmen. Die elektronisch gespeicherten Informationen gibt er wöchentlich zur Weiterverarbeitung an die LKV-Zentrale in München weiter. Von hier gelangen die Daten der IGZ-Mitgliedsbetriebe als csv-Dateien an den Lehrstuhl für Tierzucht. Die übermittelten Daten stellen eine Momentaufnahme der Situation in den Beständen der IGZ-Ferkelerzeuger dar. Es wurden Daten ab dem 01. Januar 2003 berücksichtigt.

3.1.2.1 Sauendatei

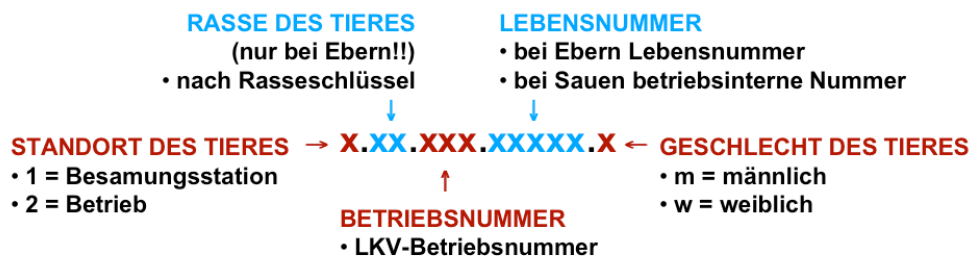
Dieser Datensatz umfasst sämtliche verfügbare Informationen zu jeder einzelnen Zuchtsau auf den IGZ-Mitgliedsbetrieben. Jede der bis zum Datenschnitt erfassten 8.448 Zeilen beinhaltet Angaben zu einer bestimmten Sau, die nach LKV-Betriebsnummer und betriebsintern vergebenen Sauennummer eindeutig gekennzeichnet ist. Neben Rasse, Eltern, Geburtsdatum, Herkunft und Zugangsdatum sind die für eine Zuchtsau wesentlichen Merkmale wie erstes Deckdatum, Anzahl Würfe, Gesamtzahl Ferkel und Zwischenwurfzeit aufaddiert über alle Würfe verzeichnet. Eine genaue Beschreibung der in der Sauendatei erfassten Informationen findet sich im Anhang (siehe 9.1.2.1).

3.1.2.2 Würfedatei

In dieser Datei ist jeder Wurf der unter 3.1.2.1 beschriebenen Sauen verzeichnet. Auch hier erfolgt die Zuordnung zu der einzelnen Zuchtsau anhand Betrieb und Sauennummer. Jeder Wurf erhält eine Wurfnummer. Die zu den einzelnen 20.261 verzeichneten Würfen verfügbaren Informationen sind das Wurfdatum, die Anzahl lebend bzw. geborener, zu- und weggesetzter Ferkel sowie bis zu drei als Väter in Frage kommende Eber. Außerdem informiert der Datensatz über die Beschaffenheit des Wurfes wie die Gleichheit und Fülle der Ferkel oder ein eventuelles Vorliegen von Anomalien. Auch hier ist die genaue Beschreibung im Anhang (9.1.2.2) verzeichnet.

3.1.3 Zuordnung der Genotypen zu den Tieren in der LKV-Datei

Die Zuordnung der Genotypen (3.2.1.3) zu den einzelnen Sauen und Ebern erfolgt bereits vor der Typisierung im Labor. Jedem in der Sauen- und Würfedatei verzeichneten Tier wird eine einheitliche Tiernummer vergeben. Diese setzt sich wie Abbildung 3 dargestellt zusammen.



Beispiele:

1.05.026.68369.m

Besamungsstation, Rasse Pietrain, Neustadt/Aisch, Nummer 68369, Eber

2.00.126.00008.w

Betrieb, keine Rasseangabe, Betrieb 126, Nummer 8 auf Betrieb, Sau

Abbildung 3: Zusammensetzung der einheitlich vergebenen Tiernummer

Jede Haarprobe ist durch Betrieb und Nummer der Sau bzw. des Ebers auf dem Betrieb eindeutig identifizierbar. Ist dieses Tier in der Datenbank, in der die unter 3.1.2 beschriebenen Informationen gespeichert sind, verzeichnet und somit als Zuchtsau bzw. –eber registriert, vergibt der Projektmanager der IGZ GmbH zu der Tiernummer eine Labornummer mit Barcode, die er direkt in die Datenbank eingibt. Im Labor werden die einzelnen Haarproben ausschließlich über diese Labornummer identifiziert, die Erfassung erfolgt hier mit einem Barcodescanner. So kann der fertige Genotyp dem entsprechenden Schwein zugeordnet werden.

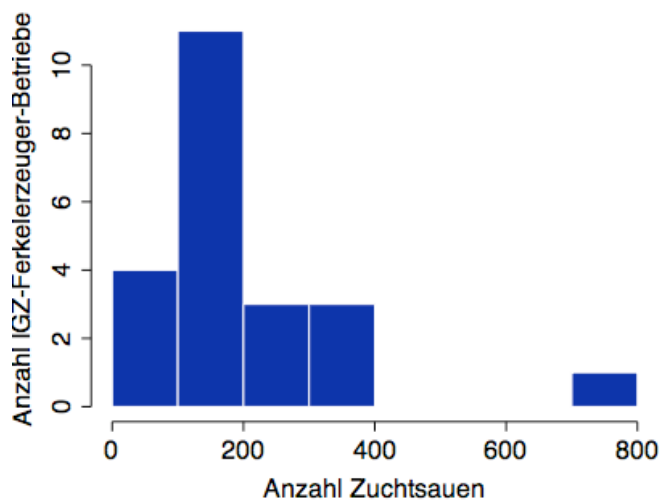
3.1.3.1 Aktive Sauenpopulation

Aus dem unter 3.1.1 und 3.1.2 beschriebenen Datenmaterial lässt sich durch Zuordnung der Genotypen zu den Informationen aus der Sauendatei eine so genannte aktive Population herausfiltern. Zu diesem Zweck wurden aus allen genotypisierten Sauen und Ebern die ausgewählt, die im System aktiv sind und mindestens als Elter eines Wurfes nach einem bestimmten Stichtag vorkommen. Mit der Datenübertragung werden alle Informationen ab dem 1. Januar 2003 berücksichtigt, so werden auch Daten von Tieren, die nicht mehr als Eltern aktiv sind, aufgenommen. Die aktive Population beinhaltet nur Sauen und Eber, die aktuell zur Erzeugung von Ferkeln zum Einsatz kommen. Um sicher alle möglichen Ferkel der Würfe dieser mindestens bis zum Datenschnitt aktiven Eltern zu erfassen und durch die Aufzeichnung der Besamungsdaten dem System zuordnen zu können, wurde hier der 1. April 2004 festgelegt.



Aus den nach Zusammenstellung der Genotypen-, Sauen- und Würfedatei erhaltenen 5.331 Tieren mit Genotyp und aus Betrieb und Saunummer konstruierter Tiernummer lassen sich 4.412 Zuchtsauen herausfiltern, die diese Anforderungen erfüllen und als aktiv zu bezeichnen sind, die übrigen sind entweder aus dem System ausgeschieden oder hatten nach dem 01. April 2004 keinen Wurf mehr.

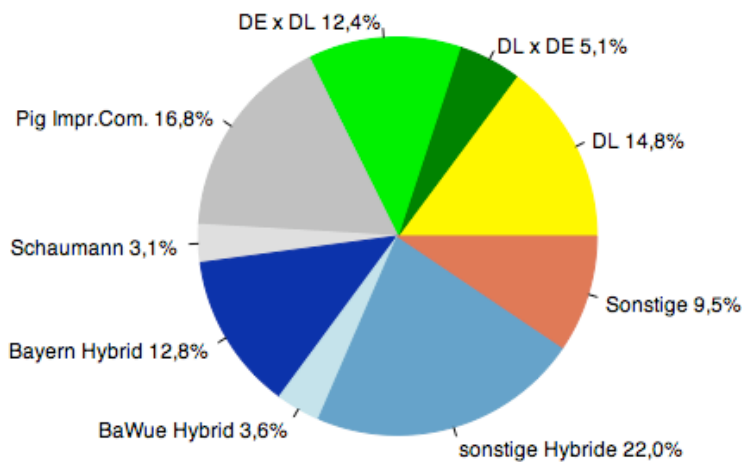
Grafik 1 zeigt ein Histogramm der Anzahl dieser 4.412 Zuchtsauen nach den einzelnen im System befindlichen Mitgliedsbetrieben.



Grafik 1: Histogramm der aktiven Zuchtsauen mit vorhandenen Genotypen und Informationen der IGZ im betrachteten Zeitraum

Auf den einzelnen Ferkelerzeuger-Betrieben wurden zwischen 45 und 717 Tiere als Mütter eingesetzt, woraus sich eine mittlere Anzahl von 200,6 Tieren pro Betrieb berechnen lässt. Wie in Grafik 1 deutlich wird, sind auf dem größten Teil der Ferkelerzeugerbetriebe zwischen 100 und 200 Zuchtsauen aktiv. Während auf keinem Betrieb zwischen 400 und 700 Sauen eingesetzt werden, weist einer mehr als 700 Zuchtsauen auf.

Aus den Rasseangaben lässt sich entnehmen, dass die eingesetzten Sauen 17 verschiedenen Rassen- oder Rassenkombinationen angehören. In Grafik 2 sind die reinen Rassen bzw. Kreuzungen aufgeführt, von denen mindestens 50 Tiere in der aktiven Sauenpopulation verzeichnet sind. Die übrigen Sauen sind unter Sonstige zusammengefasst.



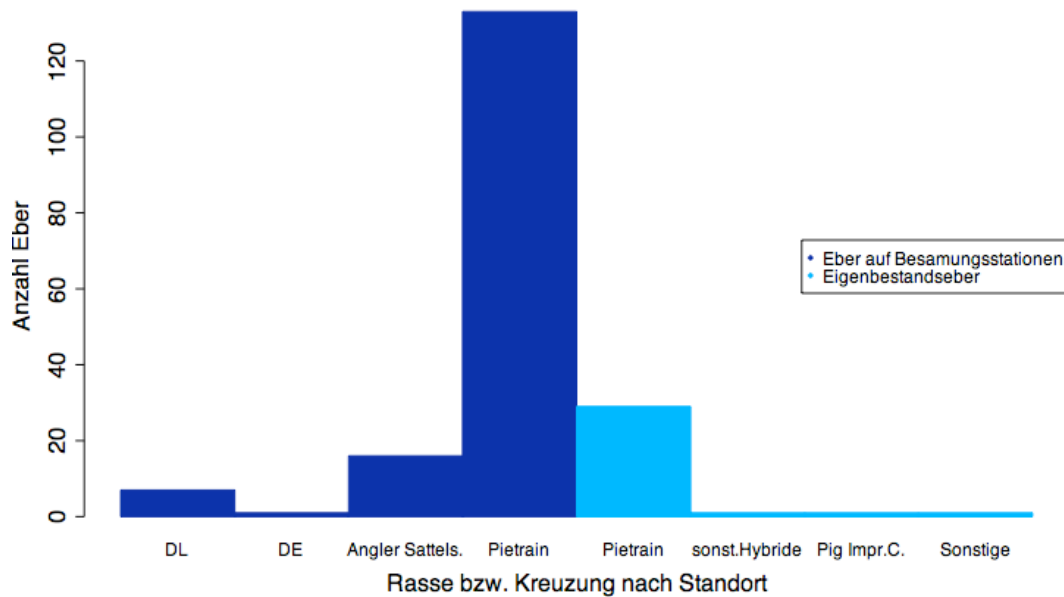
Grafik 2: Verteilung der Rassen bzw. Rassenkombinationen der aktiven Sauenpopulation in der IGZ

Obwohl der größte Teil der in Bayern erzeugten Mastschweine Produkte aus der Einfachkreuzung Pietrain x Deutsche Landrasse (DL) sind (LKV BAYERN E.V., 2005), lässt die Grafik eine überwiegende Verwendung von Hybridsauen im Bestand der IGZ erkennen. Neben den stark vertretenen Bayern- und Baden-Württemberg-Hybrid-Tieren kommen als sonstige Hybride sämtliche Kombinationen der einzelnen Rassen zum Einsatz. Hier sind fast 20% Kreuzungen der Rassen Deutsches Edelschwein (DE) und Deutscher Landrasse (DL), wobei im größeren Anteil die Deutsche Landrasse (DL) als Muttersau eingesetzt wurde.

3.1.3.2 Aktive Eberpopulation

Eine weitere Informationsquelle bilden die auf den Betrieben eingesetzten Eber, bei denen es sich zum größten Teil um auf einer Besamungsstation aufgestellte Tiere handelt. Ein kleinerer Anteil sind die zumeist als Sucheber verwendeten Eigenbestandseber. Die Gesamtanzahl der mindestens einmal nach dem 1. April 2004 als Väter eingesetzten Eber ist 189, wobei 157 dieser Tiere auf einer Besamungsstation und 32 auf IGZ-Ferkelerzeugerbetrieben stehen.

Grafik 3 zeigt die Rassezugehörigkeit dieser aktiven Eberpopulation, eingeteilt in Besamungs- und Eigenbestandseber.



Grafik 3: Rassen bzw. Rassenkombinationen der aktiven Eberpopulation in der IGZ

Wie der Grafik zu entnehmen ist, gehören insgesamt 85,7% der Eber der Rasse Pietrain an, 8,5% der Rasse Angler Sattelschwein, 3,7% der Rasse DL und nur jeweils ein Tier den Rasse DE, den Hybriden PIC, sonstige Hybride oder Sonstige.

3.2 Bestimmung von Kennzahlen zur Charakterisierung der Marker-Qualität

Wie unter 3.1.1 beschrieben erfolgt die Bestimmung der Genotypen im Produktionssystem der IGZ mit 14 über das Genom verteilte Mikrosatellitenmarkern, deren Eigenschaften wie Allelgrößen und -anzahl bereits von verschiedenen Autoren (FREDHOLM *et al.*, 1993; ROHRER *et al.*, 1994, 1996; ELLEGREN *et al.*, 1994a, 1994b; ROBIC *et al.*, 1994; RIQUET *et al.*, 1995; LOPEZ-CORRALES *et al.*, 1999) beschrieben wurden. Um die Verwendbarkeit dieser Marker für die Rückverfolgbarkeit im Produktionssystem der IGZ zu überprüfen, werden die Kennzahlen, die Auskunft über die Informativität von polymorphen Marker-Loci geben, im Bezug auf die im System vorhandenen Tiere ermittelt.

Zur Analyse dieser Größen wurden den in der Genotypen-Datei verzeichneten Tieren über die gemeinsame Tiernummer die Informationen aus der Sauen- und der Würfedatei zugeordnet. So war es möglich, die zum Zeitpunkt des Datenschnittes vorhandenen 5.604 genotypisierten Tiere, Sauen und Eber, ihrer Rasse bzw. Rassenkombination nach einzuteilen. 4,1% der Tiere



konnten keiner Rasse zugeordnet werden. Die Anzahl der zu den verschiedenen Rassen bzw. -kombinationen zugehörigen Schweine mit Genotyp zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2: Aufteilung der bis zum Datenschnitt 5.604 genotypisierten Schweine nach Rasseangaben

<i>Rasse bzw. Rassekombination</i>	<i>Anzahl</i>	<i>Anteil</i>
Pietrain	159	2,8%
DL	688	12,3%
DL x DE	281	5,0%
DE x DL	692	12,3%
PIC	711	12,7%
Schaumann	83	1,5%
Bayern Hybrid	675	12,0%
BaWue Hybrid	287	5,1%
sonstige Hybride	1.147	20,5%
Sonstige	651	11,6%
ohne Angabe	230	4,1%

Der Informationsgehalt eines Mikrosatellitenmarkers hängt von der Anzahl der Allele und deren Frequenz in der betrachteten Population ab. Je zahlreicher diese Allele und je gleichmäßiger ihre Verteilung ist, umso höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Individuum heterozygot an diesem Locus ist. Die Frequenz der Heterozygoten ergibt den Heterozygotiegrad, der das einfachste Maß für die Markerqualität darstellt.

Weitere Aussagen zum Informationsgehalt der einzelnen Marker können über den Polymorphism Information Content (PIC), der die Wahrscheinlichkeit angibt, mit der aus dem Markergenotyp eines Nachkommen erschlossen werden kann, welches der beiden Allele vom Elterntier stammt, gemacht werden (BOTSTEIN *et al.*, 1980).

3.2.1 Schätzung der Allelfrequenzen

In den Zusammenstellungen der einzelnen Mikrosatelliten durch das U.S. Pig Gene Mapping Koordinationsprogramm ([HTTP://WWW.MARC.USDA.GOV/GENOME/GENOME.HTML](http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html)) sind die Allelzahlen und Größen der kleinsten bzw. größten Allele verzeichnet. Diese Angaben können nicht ohne weiteres zur Beurteilung der eingesetzten Marker für die in diesem Projekt beschriebene Population, die sich aus Tieren unterschiedlicher Rassen und Rassekombinationen zusammensetzt, übernommen werden. Eine Schätzung der Allelfrequenzen der aktiven



Elternpopulation der IGZ erlaubt eine Aussage über die Informativität der verwendeten Marker.

Über die Anzahl (n_i) eines Allels i ($i = 1, 2, \dots, k$), wobei k die maximale Anzahl verschiedener Allele darstellt, im Verhältnis zur doppelten Anzahl der Individuen ($2 \cdot N$) lässt sich die Frequenz p eines Allels i am Genort m erfassen.

Formel 1: Berechnung der Allelfrequenzen am Genort m

$$p_{im} = \frac{n_{im}}{2N} \quad \text{wobei gilt} \quad \sum_{i=1}^{k_m} p_{im} = 1$$

Die Berechnung erfolgt mit einem in Python erstellten Programm (siehe Anhang 9.1.3), mit dem die Genotypen der Tiere zunächst nach Rasseangabe geordnet für den entsprechenden Marker aus der MySQL-Datenbank ausgelesen werden. Die so erhaltenen Genotypen werden in das Statistik-Programm R exportiert, wo mit dem Paket ‚Genetics‘ ein Auszählen der Allele zur Schätzung der Allelfrequenzen erfolgt.

3.2.2 Heterozygotiegrad

Eines der am häufigsten verwendeten Maße zur Beurteilung der Informativität ist der Heterozygotiegrad H , der prozentuale Anteil der Tiere mit heterozygotem Genotyp innerhalb einer Population. Seine Berechnung erfolgt über die Allelfrequenzen, es wird die Verteilung aller Allele an einem Locus betrachtet. Je gleichmäßiger die Verteilung der Frequenzen über alle Allele desto größer ist der Heterozygotiegrad. Für eine Anzahl von N Individuen und der Frequenz p des Allels i an einem Locus m mit k Allelen in der betrachteten Stichprobe errechnet sich der Heterozygotiegrad nach folgender Formel (NEI, 1978).

Formel 2: Berechnung des Heterozygotiegrades

$$H = 1 - \sum_{i=1}^{k_m} p_i^2$$

Mit dem Paket ‚Genetics‘ des Programms R lässt sich der Heterozygotiegrad der im Vorfeld nach Rasseangaben sortierten Genotypen für jeden einzelnen Marker m ermitteln.



3.2.3 Polymorphism Information Content (PIC)

Eine weitere Größe zur Charakterisierung der einzelnen Marker zur Differenzierung zwischen den analysierten Individuen erfolgt über den von BOTSTEIN *et al.* (1980) eingeführten Polymorphism Information Content (PIC). Dieser gibt den Polymorphiegrad des einzelnen Markers m mit k Allelen und ihren Frequenzen p an.

Formel 3: Berechnung des Polymorphism Information Content (PIC)

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^k p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2p_i^2 p_j^2$$

Nach Import der mit dem in Python erstellten Programm vorbereiteten Daten in das Programm R kann der PIC auf Basis der Allelzahlen k und –frequenzen p an den jeweiligen Loci unter Verwendung des Paketes ‚Genetics‘ berechnet werden.

3.2.4 Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWGG)

Ein Genort, an dem alle Genotypen unterscheidbar sind, erlaubt eine Überprüfung, ob die durch die Allelfrequenzen in der Elternpopulation bestimmten Genotypfrequenzen der Nachkommen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorliegen. Streng genommen impliziert die Annahme des HWGG eine ideale Population, für welche sowohl von der Abwesenheit von Selektion, Migration und Mutation als auch von kontinuierlicher Zufallspaarung ausgegangen wird. In einer begrenzten Stichprobe sind Abweichungen vom HWGG durch Zufall möglich (FALCONER, 1996). Für die betrachtete Population der IGZ GbR liegen ausschließlich Genotypen und somit Allelfrequenzen für die Elternpopulation vor, es gibt kein ausgeglichenes Geschlechterverhältnis. So lässt sich zum einen eine Kontrolle der Genotypen in der betrachteten Population durchführen, zum anderen kann aufgrund der nicht zufällig durchgeführten Paarungen überprüft werden, ob ein Überschuss von homozygoten Individuen vorliegt. Ist dies der Fall, könnten Verwandtschaften zwischen den angepaarten Tieren bestehen (FALCONER, 1996). Außerdem werden in der Schweinezucht vermehrt Kreuzungen verschiedener Rassen durchgeführt, um den Heterosiseffekt auszunutzen. Durch die Auswahl von genetisch möglichst unterschiedlichen reinrassigen Zuchtlinien der Elterngeneration resultiert in der F1-Generation ein erhöhter Anteil heterozygoter Tiere.

Des Weiteren erlaubt die Überprüfung eines Vorliegens des HWGG eine Beurteilung der Markergüte, so weicht eine Population z.B. beim Auftreten von Nullallelen vom HWGG ab.



Ein χ^2 -Test gibt Auskunft, ob die Annahmen für die Hardy-Weinberg-Genotypfrequenzen erfüllt waren und eine gegebene Abweichung noch als zufällig akzeptiert werden kann. Mit diesem Test wird der Wert für die Testgröße g ermittelt.

Formel 4: Vergleich beobachteter (B) und erwarteter (E) Genotypen

$$g = \sum_{i=1}^d \frac{(B - E)^2}{E}$$

Befindet sich die betrachtete Population im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht so strebt der Wert für g gegen eine χ^2_{FG} -Verteilung, wobei FG die Anzahl der betrachteten Freiheitsgrade angibt. Die Anzahl der Freiheitsgrade berechnet sich für die Anzahl von k Allelen an einem Locus nach Formel 5:

Formel 5: Berechnung der Anzahl Freiheitsgrade (FG) bei k Allelen

$$\text{AnzahlFG} = \left[\left(\frac{k(k+1)}{2} \right) - 1 \right] - (k-1), \quad \text{wobei } \frac{k(k+1)}{2} \text{ die Anzahl möglicher Genotypen-}$$

konstellationen (Klassen) bei k Allelen angibt. Die Subtraktion von 1 erfolgt jeweils, weil die letzte Klasse durch die vorangegangenen, die durch Angabe der Allelfrequenzen und ihrer Gesamtanzahl bekannt sind, festgelegt ist.

Weichen die beobachteten Genotypanzahlen bzw. –klassenbesetzungen (B) stark von den erwarteten (E) ab wird der Wert g größer. Ab einem bestimmten kritischen Wert (Schwelle für z.B. 1% oder 5% der g -Werte unter Vorliegen von HWGG) kann die Annahme des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Als Nullhypothese wird aufgestellt, dass in der Population ein Hardy-Weinberg-Gleichgewicht vorliegt. Es können nun Fehlentscheidungen erster (fälschliche Annahme, die Population befindet sich nicht im HWGG) bzw. zweiter Art (fälschliche Annahme, die Population befindet sich im HWGG) getroffen werden. Je schwerwiegender die Konsequenzen des Fehlers erster Art, umso geringer wird der Signifikanzgrad (Irrtumswahrscheinlichkeit α), der die Wahrscheinlichkeit einer Fehlentscheidung angibt, gewählt. Je kleiner die Irrtumswahrscheinlichkeit α , desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit, den Fehler erster Art zu begehen.



Ist der ermittelte p-Wert größer oder gleich der Irrtumswahrscheinlichkeit α , wird angenommen, die betrachtete Population befindet sich im HWGG (Annahme der Nullhypothese), liegt er darunter, wird angenommen, es liegt kein HWGG vor (Ablehnung der Nullhypothese).

R ermöglicht den Test auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht der nach Rasseangaben geordneten Genotypen für die verschiedenen Mikrosatellitenmarker. Dabei wird keine Rücksicht auf das Geschlecht der Tiere genommen. Das Programm simuliert dabei 10.000mal zufällige Genotypen aus den vorhandenen Allelfrequenzen und ermittelt einen Wert p, welcher die Wahrscheinlichkeit angibt, dass unter Annahme der Nullhypothese (es liegt HWGG vor) der angegebene oder ein höherer Wert für g auftritt. Wird p sehr klein (unter 0,01 bzw 0,05, je nachdem, ob die Betrachtung auf 1%- oder 5%-Signifikanzniveau erfolgt) sinkt die Wahrscheinlichkeit, dass sich die betrachtete Population im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befindet.

3.3 Vorgehen zur Rückverfolgbarkeit

3.3.1 Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeit

Die Ausschlusswahrscheinlichkeit stellt die entscheidende Größe für die Rückverfolgbarkeit dar. Um ein sicher rückverfolgbares Produkt anbieten zu können, muss diese Ausschlusswahrscheinlichkeit hohe Werte annehmen. Die Berechnung der Gesamtausschlusswahrscheinlichkeit aller eingesetzten Mikrosatelliten gibt Auskunft über die Aussagekraft des ausgewählten Marker-Sets zur Rückverfolgbarkeit in der betrachteten Population.

3.3.1.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten an einzelnen Mikrosatelliten

Die Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Marker m mit k Allelen und den Frequenzen p_i und p_j des i -ten – bzw. j -ten Allels am betrachteten Locus errechnet sich für den Fall, das ein Elter bekannt ist, nach Formel 6. Sind beide Eltern bekannt, wird Formel 7 verwendet (JAMIESON, 1965; WEIR, 1996). Hier wird davon ausgegangen, dass keinerlei Verwandtschaft innerhalb der Sauenpopulation besteht.

Formel 6: Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus (Exclp), ein Elter bekannt

$$Exclp = \sum_{i=1}^k p_i^2 (1 - p_i)^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k 2p_i p_j ((1 - p_i - p_j)^2)$$



Formel 7: Ausschlusswahrscheinlichkeit an einem Locus (ExclP), beide Eltern bekannt

$$ExclP = \sum_{i=1}^k p_i(1-p_i)^2 - 0,5 \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k p_i^2 p_j^2 (4 - 3p_i - 3p_j)$$

Zur Ermittlung der Ausschlusswahrscheinlichkeiten der einzelnen Marker für ihren Einsatz in der gegebenen Population werden die benötigten Informationen zunächst mit einem in Python erstellten Programm aus der MySQL-Datenbank ausgelesen. Die Genotypen der 5.604 bis zum Datenschnitt verzeichneten typisierten Tiere werden nach Rasse und Marker sortiert. Nach dem Import dieser Daten in R werden mit dem Paket ‚genetics‘ die Allelfrequenzen ermittelt. Anschließend durchlaufen diese Programme, welche die Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Formel 6 und 7 berechnen (siehe Anhang 9.1.4).

3.3.1.2 Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten

Die über alle m Loci kombinierten Ausschlusswahrscheinlichkeiten $cExclp$ (ein Elter bekannt) bzw. $cExclP$ (beide Eltern bekannt) berechnet sich nach Formel 8 (WEIR, 1996).

Formel 8: Kombinierte Ausschlusswahrscheinlichkeit für m Marker

$$cExclp = 1 - \prod_{i=1}^m (1 - Exclp) \quad \text{bzw.} \quad cExclP = 1 - \prod_{i=1}^m (1 - ExclP)$$

Aus den unter 3.3.1.1 berechneten Ausschlusswahrscheinlichkeiten $Exclp$ bzw. $ExclP$ wird für jede einzelne im System auftretenden Rasse bzw. Rassenkombination eine Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit über die verwendeten Mikrosatelliten berechnet. Diese erlaubt eine Aussage über die Eigenschaften der ausgewählten Markersets in der Population.

3.3.1.3 Beziehung von Ausschlusswahrscheinlichkeit und der Sicherheit des Ausschlusses für die Rückverfolgbarkeit

Um eine sichere Rückverfolgbarkeit zu erreichen, müssen in einem gegebenen Produktionssystem alle Eltern bis auf ein Elternpaar (das wahre) ausgeschlossen werden, nur so kann eindeutig der Herkunftsbetrieb einer Probe bestimmt werden. Zusätzlich soll gewährleistet sein, dass ein systemfremdes Tier als solches erkannt wird und ihm kein Elternpaar zugeordnet werden kann.

Ein Elternpaar (Muttersau A und Eber B) hat einen Nachkommen AB. Die Wahrscheinlichkeit des Ausschlusses eines Tieres, gegebenes ist ein falsches Tier, lässt sich nach Formel 8



für die verwendete Anzahl Mikrosatelliten aus den für die Population der IGZ GbR ermittelten Allelfrequenzen berechnen. Hier erfolgt die Unterscheidung, ob der Genotyp eines Elters (hier der Mutter A oder des Vaters B)

- $P(\text{Ausschluss} \mid \text{Tier ist kein Nachkomme der Mutter A}) \Rightarrow cExclp$
- $P(\text{Ausschluss} \mid \text{Tier ist kein Nachkomme des Vaters B}) \Rightarrow cExclp$

oder beider Eltern (hier der Mutter A und des Vaters B) bekannt ist

- $P(\text{Ausschluss} \mid \text{Tier ist kein Nachkomme der Mutter A und des Vaters B}) \Rightarrow cExclP$.

$cExclP$ gibt also die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit an, mit den eingesetzten 14 Mikrosatelliten ein Elternpaar auszuschließen. Diese Wahrscheinlichkeit kann erweitert werden, wenn z.B. ein Produktionssystem mit mehreren potentiellen Eltern (x_2) betrachtet wird

- $P(x \text{ Tiere ausschließen} \mid \text{alle } x \text{ Tiere stammen nicht aus dem System}) \Rightarrow (cExclP)^{x_2}$

Zur Vereinfachung soll ein System betrachtet werden, für das nur ein Elternteil bekannt ist, hier die Mutter. x_1 entspricht somit der Anzahl betrachteter Sauen im System. Folglich ist die Wahrscheinlichkeit, eine einzelne Sau als potentielle Mutter auszuschließen, die für das verwendete Markersset berechnete Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit $cExclp$ ($= (cExclp)^1$), die Wahrscheinlichkeit eine zweite Sau auszuschließen, beträgt $(cExclp)^2$, eine dritte $(cExclp)^3$ usw.

Um eine sichere Rückverfolgbarkeit zu erreichen, muss eine Sicherheit des Ausschlusses von mindestens 99,5% gegeben sein. Der Term $(cExclP)^{x_1}$ muss also einen Wert von 0,995 annehmen. Wird ein System mit einer großen Anzahl potentieller Mütter betrachtet und x_1 ist sehr groß, muss die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit für das eingesetzte Markersset erhöht werden, um die vorgegebene Sicherheit des Ausschlusses gewährleisten zu können.

3.3.2 Betrachtung der Verwandtschaft der Sauenpopulation

3.3.2.1 Simulation eines möglichen Einflusses einer Verwandtschaft zwischen den Sauen

SHERMAN *et al.* (2004) führten eine Untersuchung zur Auswirkung der Verwandtschaft von Bullen als Väter auf die Ausschlusswahrscheinlichkeit und die Wahrscheinlichkeit der eindeutigen Vaterschaft durch (siehe Kapitel 2.3.3.3). Die Ausschlusswahrscheinlichkeit für den Fall, dass die Genotypen der Väter und Kälber, nicht aber die der Mütter bekannt sind, wurde



ebenso wie in dieser Arbeit mit der Formel 6 berechnet. Um die Verwandtschaft von in Frage kommenden Vätern einzubeziehen, erweiterten SHERMAN *et al.* (2004) die Formel zur Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeit um den Faktor $(1-c)$, wobei c die Wahrscheinlichkeit darstellt, dass mindestens ein Allel des potentiellen Vaters die identische Herkunft des vom wahren Vater an den Nachkommen gegebenen Allels aufweist.

Formel 9: Ausschlusswahrscheinlichkeit erweitert um den Faktor $(1-c)$ nach SHERMAN *et al.* (2004)

$PE(c)_i = (1 - c)PE(0)_i$ für i von 1 bis M (Anzahl Marker), wobei $PE(0)$ die Wahrscheinlichkeit für den Ausschluss der Verwandtschaft eines potentiellen mit dem wahren Vater angibt.

Mit der hier dargestellten Simulation wird der Ausschluss von potentiellen Müttern unter der Annahme angegeben, dass nur Genotypen eines Elters bekannt sind. Für das in dieser Arbeit beschriebene System entspricht dies einem Abgleich nur mit den Sauen (Kapitel 3.3.4.1), da sich die Betrachtung nur auf die Verwandtschaft innerhalb der Sauen, nicht auch auf die der Eber bezieht. Es wird zunächst mit einem R-Programm eine bestimmte Anzahl Marker erstellt, dieses erfolgt über die Simulation von Allelfrequenzen von Mikrosatelliten. Es wird eine Frequenz für das erste Allel definiert, so dass durch Aufaddition der Allelfrequenzen bis 1,0 in vorher festgelegten Schritten Marker mit bis zu 14 Allelen erstellt werden. Für diese fiktiven Mikrosatelliten werden die Ausschlusswahrscheinlichkeiten *Exclp* (Formel 6) ermittelt. Anschließend wird unter Berücksichtigung der von SHERMAN *et al.* (2004) erweiterten Formel 9 die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit für jeweils 1.000 Sauen verschiedener Verwandtschaftsverhältnisse berechnet (siehe Anhang 9.1.5.1). So lässt sich feststellen, in welchem Ausmass eine Verwandtschaft innerhalb der Sauenpopulation einen Einfluss auf die zur Rückverfolgbarkeit benötigte Anzahl Marker hat.

3.3.2.2 Praktische Untersuchung der Verwandtschaft unter den Sauen

Neben der theoretischen Betrachtung der Wahrscheinlichkeit, unter der eine Vollgeschwister-sau der wahren Mutter einer Probe je nach Genotyp als mögliche Mutter ausgeschlossen werden kann, wurden die tatsächlich vorhandenen Verwandtschaftsverhältnisse der dem System zugehörigen Sauenpopulation untersucht. Aus der Sauendatei (Kapitel 3.1.2.1) wurden dazu sämtliche Sauen herausgefiltert, die vollständige Elternangaben aufweisen. Von den insge-



samt zum Datenschnitt in der Sauendatei 8.448 verzeichneten Tieren waren lediglich von 1.701 Mutter und Vater bekannt. Zur Bestimmung der Anzahl von Voll- und väter- bzw. mütterlichen Halbgeschwistern wurde keine Rücksicht genommen, ob die betrachteten Sauen einen Genotyp haben. Nach der Erstellung einer Tabelle im Statistik-Programm R, in dem die Nummern der Mütter und Väter als ‚Eltern‘ zusammengefasst wurden, konnten durch einfache Sortierungen Vollgeschwistergruppen gefunden werden. Die Sauen wurden zum einen auf gemeinsame Mütter, zum anderen auf identische Väter untersucht. Dies erfolgte ebenso mit einem R-Programm zur Sortierung der erstellten Tabellen (Anhang 9.1.5.2).

3.3.3 Möglichkeiten zum Abgleich von Genotypen

Die DNA-basierte Rückverfolgbarkeit von Tieren bzw. tierischen Produkten basiert wie die Abstammungssicherung (siehe Kapitel 2.3.3.3) auf dem Ausschlussprinzip, durch Abgleich der Genotypen können nicht passende Elterntiere ausgeschlossen werden. Hier hängt der Ausschluss vom Vorliegen der Genotypen ab, die abgeglichen werden:

- Genotypen aller Nachkommen, die in ein Produktionssystem geboren werden, sind vorhanden (Rückstellproben)

Eine Probe wird typisiert und es muss der identische Genotyp im System genau einmal vorkommen, das heißt alle anderen Tiere müssen ausgeschlossen werden

- Genotypen von Müttern, Vätern oder beiden Elternteilen sind vorhanden.

Es liegen keine Genotypen jedes Tieres vor, sondern Genotypen aller potentiellen Mütter, Väter oder beider Elternteile in einem System. Durch Abgleich des Genotyps einer Probe mit denen aller eingesetzten Mütter, Väter oder Eltern werden im Idealfall alle potentiellen Elternpaare bis auf das wahre ausgeschlossen, so kann über die Mutter auf den Herkunftsbetrieb der Probe geschlossen werden

3.3.3.1 Direkte Methode

Beim direkten Abgleich von Genotypen ist der von einer beliebigen Probe erstellte Fingerprint mit dem eines Ursprungstieres in einem System vollkommen identisch, sämtliche Allele stimmen überein. Abbildung 4 zeigt das Prinzip dieses direkten Abgleichs.

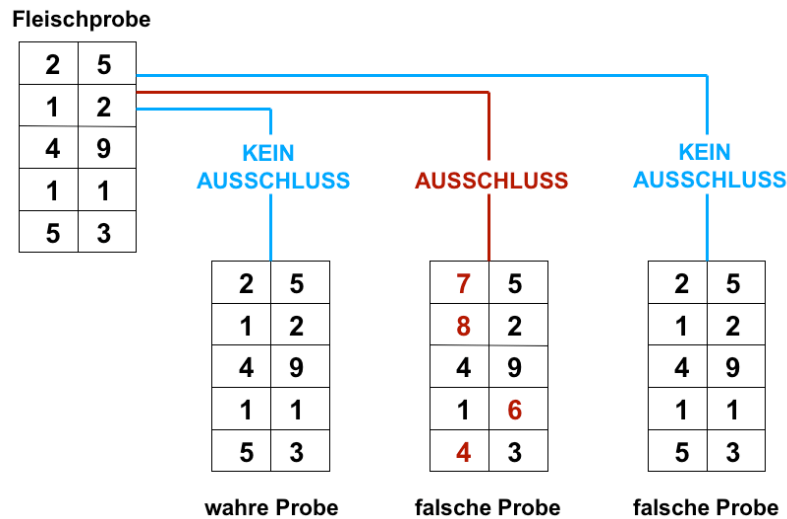


Abbildung 4: Prinzip des direkten Ausschlusses

Für jedes in ein System geborene Ferkel wird ein Genotyp erstellt und mit Hilfe einer Rückstellprobe (der Genotyp dieser Probe mit sämtlichen Angaben) gespeichert. Zur Rückverfolgung einer Fleischprobe wird diese typisiert und der erstellte Genotyp wird mit denen sämtlicher Rückstellproben abgeglichen.

Die in Abbildung 4 dargestellte falsche Probe (Mitte) stimmt an vier Loci nicht mit der zu untersuchenden Probe überein, jedoch führt bereits eine Unstimmigkeit zwischen dem Genotyp der Fleischprobe und dem einer Rückstellprobe unter Annahme keiner sonstigen Fehler (z.B. Typisierungsfehler) zum Ausschluss dieses Tieres. Weist eines der im Vorfeld typisierten Tiere durch Zufall einen der Probe identischen Genotyp auf, welcher aber gar nicht dem wahren Herkunftstier entstammt, kann dieses Tier nicht ausgeschlossen werden und es kann keine korrekte Zuordnung erfolgen. Die Probe stammt nicht aus dem betrachteten System, wenn kein absolut identischer Genotyp unter den Rückstellproben gefunden werden kann.

3.3.3.2 Indirekte Methode

Für den indirekten Abgleich von Genotypen ist keine Typisierung eines jeden in das System geborene Ferkel erforderlich. Diese indirekte Methode basiert darauf, dass ein Mastschwein über seine Muttersau dem Erzeugerbetrieb zugeordnet wird. Ein Nachkomme erhält je ein Allel an einem Locus von seiner Mutter und eines von seinem Vater. Es werden sämtliche im Produktionssystem befindliche Elterntiere beprobt, um dann eine Probe bei Herkunft aus die-



sem System den Eltern zuordnen zu können. Abbildung 5 zeigt das Prinzip des indirekten Ausschlusses.

Fleischprobe

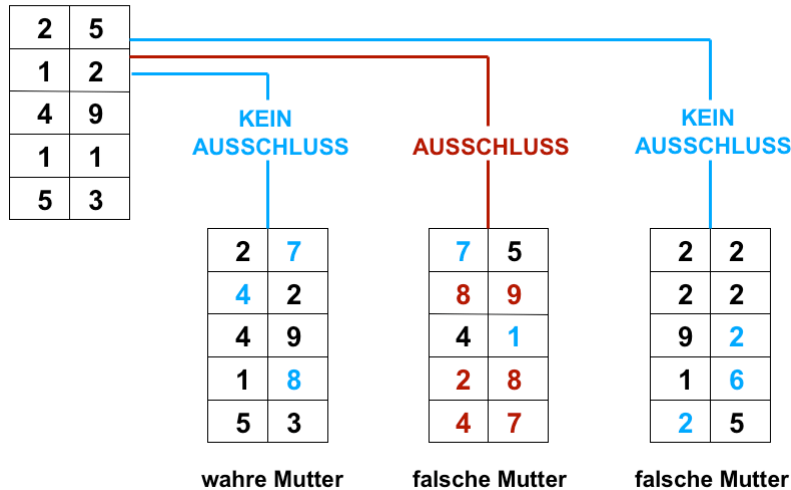


Abbildung 5: Prinzip des indirekten Ausschlusses

Der Fingerprint einer Fleischprobe wird mit den Genotypen aller möglichen Elterntiere -hier der im System eingesetzten Mütter- abgeglichen. Bei dieser indirekten Methode muss mindestens ein Allel pro Markerlocus der Probe mit einem der beiden Allele des Genotyps der Mutter übereinstimmen, wie das für die wahre Mutter (links) der Fall ist. Sobald dieses auch nur für einen betrachteten Genort nicht zutrifft, erfolgt ein Ausschluss der Sau als potentielle Mutter dieser Probe. In Abbildung 5 weist eine der falschen Mütter (Mitte) an drei Loci keines der Allele des „Schnitzels“ auf und wird so ausgeschlossen. Kommt es zu dem Fall, dass eine falsche Sau (rechts) aufgrund ihrer genetischen Konstellation als Mutter in Frage kommt, kann sie nicht ausgeschlossen werden.

Findet sich unter den typisierten Sauen im System keine, deren Genotyp an jedem betrachteten Locus mindestens ein mit der Probe identisches Allel aufweist, kann diese Probe nicht aus dem System stammen.

3.3.3.3 Anwendung des indirekten Abgleichs im Produktionssystem der IGZ GbR

Das Prinzip des unter 3.3.3.1 beschriebenen direkten Abgleichs ist durch Erfordernis der Erstellung eines Fingerprints für jedes in das System geborene Ferkel mit großem Aufwand verbunden. Der Ferkelerzeuger muss jedem Ferkel eine Haarprobe entnehmen, was neben dem zeitlichen Aufwand auch hohe Kosten für die anschließende Typisierung im Labor bedeutet.



Eine Ersparnis der Erstellung dieser Fingerprints für jedes Ferkel bietet der indirekte Abgleich der Genotypen. So kann der hohe Multiplikatoreffekt der Sauen genutzt werden, um über den indirekten Abgleich der vermarkteten Tiere mit den typisierten Eltern eine hohe Effizienz zu erreichen. Im Gegensatz zum Rind, das z.B. beim Fleckvieh bei einem mittleren Erstkalbealter von 30 Monaten und einem durchschnittlichen Abgangsalter von 5,4 Jahren im Mittel 3,6 Kälber bekommen kann (ASR, 2005), hat eine in der Interessengemeinschaft für Zertifizierung eingesetzte Zuchtsau durchschnittlich 11,1 Ferkel pro Wurf. Grundsätzlich lässt sich aufgrund verschiedener Quellen sagen, dass eine Zuchtsau bei einer mittleren Nutzungsdauer von 2,5 bis 3 Jahren und durchschnittlich 25,1 aufgezogenen Ferkeln pro Jahr (LFL, 2005) mindestens 60 Nachkommen aufweisen kann. So lassen sich für die Genotypisierung der Elterntiere vergleichsweise niedrige Kosten pro Schlachtschwein erreichen. Abbildung 6 zeigt das Schema zu der Vorgehensweise mit der indirekten Methode.

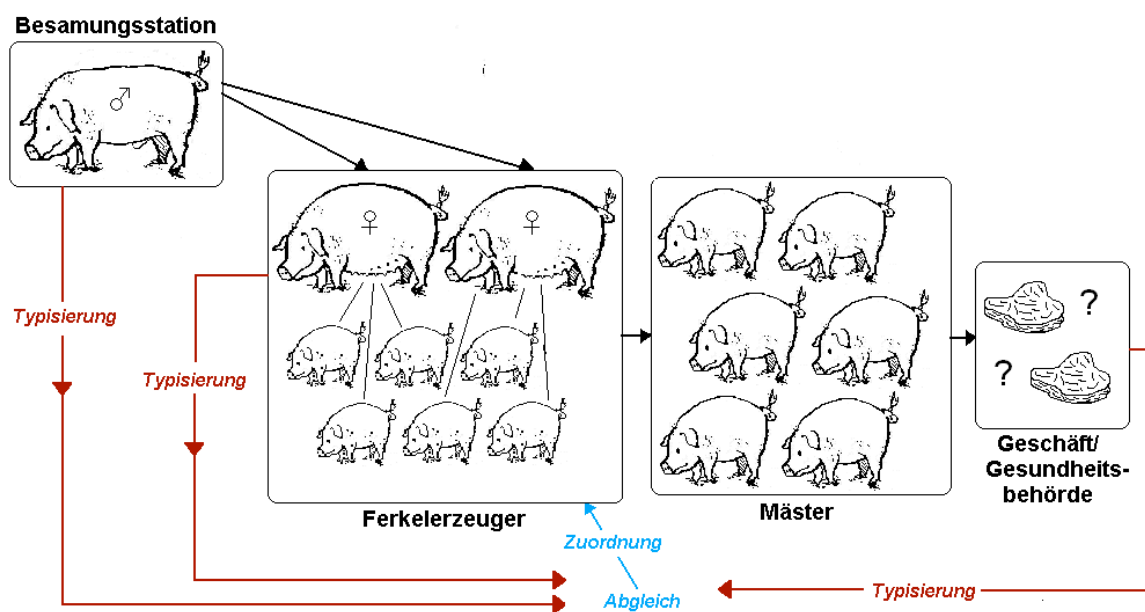


Abbildung 6: Schema Vorgehensweise indirekte Methode

Der Abgleich des Fingerprints der Probe erfolgt zunächst mit dem jeder zuvor typisierten Sau aus dem System (siehe 3.3.4.1). Da für diesen Fall mit der verwendeten Anzahl Marker eine Vielzahl von Sauen nicht als potentielle Mutter ausgeschlossen werden können, werden zusätzlich die eingesetzten Eber typisiert. So wird es möglich, den Genotyp einer Probe zunächst mit denen der Mütter, dann mit denen der potentiellen Väter abzugleichen. Im Idealfall ermöglicht diese neue Information, alle Sauen und Eber bis auf das wahre Elternpaar auszu-



schließen und eine Probe über den Standort der Muttersau auf ihren Geburtsbetrieb zurückzuverfolgen.

3.3.4 Simulationen der Szenarien zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems

Wie in Kapitel 3.3.3.3 dargestellt findet in diesem Projekt der indirekte Genotypen-Abgleich Verwendung. Ziel ist, dem Verbraucher Schweinefleisch anbieten zu können, was mit einer Sicherheit von mindestens 99,5% zurückverfolgt werden kann. Mit steigender Anzahl Marker und damit einer größeren Anzahl betrachteter Genorte erhöht sich zwar die Wahrscheinlichkeit, ein potentiell elterntier bei nicht übereinstimmenden Allelen ausschließen zu können, jedoch steigen dann auch die Kosten für die Typisierung der Sauen und Eber. Eine eindeutige Rückverfolgbarkeit ist gegeben, wenn eine Probe durch Genotypenabgleich keinem außer dem wahren Elternpaar zugeordnet werden kann. Über die Mutter lässt sich der Ferkelerzeugerbetrieb ermitteln. Auf diese Weise ist es auch möglich, ein Stück Fleisch, das nicht aus einem Erzeugerbetrieb der IGZ stammt, als solches zu identifizieren. Kann eine Probe über den indirekten Abgleich keinem Elternpaar und damit keiner Mutter zugeordnet werden, wird deren Herkunft aus dem System nicht bestätigt. Um dem Verbraucher ein wirklich sicher rückverfolgbares Produkt anbieten zu können, müssen über den Genotypenabgleich eines zu testenden Stückes Fleisch, welches im System geboren wurde, sämtliche potentiellen Elternpaare bis auf die wahren Eltern ausgeschlossen werden. Andererseits muss eine fremde Probe durch Nicht-Zuordnung auch als solche erkannt werden.

Im Folgenden sind die einzelnen Szenarien zur Entwicklung einer für das gegebene Produktionssystem fundierten und finanzierbaren eindeutigen Rückverfolgbarkeit dargestellt. Mit jedem Szenario wird es möglich, dem Ziel, ein sicheres und wirtschaftlich tragbares Verfahren zu finden, näherzukommen, denn die Anzahl der für die Rückverfolgung benötigten Marker und damit die Kosten pro Mastschwein können reduziert werden.

Um eine möglichst realistische Umsetzung für das Produktionssystem der IGZ GbR zu erreichen, werden die ermittelten Allelfrequenzen der Eber und Sauen aus der gegebenen Population übernommen. Der überwiegende Teil der Besamungen im System wird sowohl in der KB als auch im Natursprung mit Ebern der Rasse Pietrain durchgeführt, daher werden die Genotypen der Eber für die Simulationen aus Allelfrequenzen dieser Rasse simuliert. Die Genotypen der Sauen wurden aus den entsprechenden Angaben für die Rasse DL sowie der Kreu-



zungen und Hybride erstellt. Die 4.600 Sauen werden jeweils zufällig mit den 150 Ebern angepaart. Aus jeder dieser Verpaarungen fallen zehn aufgezogene Ferkel, aus denen 200 zufällig ausgewählt und anhand ihres Genotyps mit denen der Eltern im System abgeglichen und so zurückverfolgt werden.

Die Simulationen wurden für die drei folgenden Szenarien durchgeführt:

1. Rückverfolgung der Proben ausschließlich auf die potentiellen Mütter, d.h. es werden nur Genotypen der Sauen im System erstellt.
2. Rückverfolgung auf Sauen und Eber, d.h. neben dem Abgleich des Genotyps einer Probe mit denen der potentiellen Mütter erfolgt ein zusätzlicher Abgleich mit den eingesetzten Vätern.
3. zusätzliche Überprüfung der tatsächlich durchgeführten Anpaarungen

Mit diesen Simulationen soll mit der kleinstmöglichen Anzahl Mikrosatelliten und zusätzlichen Informationen die größtmögliche Sicherheit für die Rückverfolgbarkeit ermittelt werden. Diese wird erreicht, wenn für jede der Proben sämtliche potentielle Sauen bis auf die wahre Mutter bzw. in Szenario 2 und 3 alle Eltern bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen werden können. Das Simulationsprogramm ist im Anhang (9.1.6) verzeichnet. Die jeweils 200 aus dem System stammenden zurückverfolgten Proben bilden eine Stichprobe, somit stellen die aus den Ergebnissen der Simulationen ermittelten Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit nur eine approximative Annäherung dar, die im Bezug auf die jeweils 200 simulierten Proben zu betrachten ist.

3.3.4.1 Szenario 1 - Rückverfolgung anhand der Sauen-Genotypen

Neben der wahren Mutter können je nach Anzahl der eingesetzten Marker beim indirekten Abgleich mehrere Sauen als mögliche Mütter in Frage kommen, da deren Genotypformeln mit der des zu untersuchenden Probanden zufällig kompatibel sind (Kapitel 3.3.3.2).

Der Abgleich der Probe nur mit den im System befindlichen Sauen erfordert den Einsatz einer sehr hohen Anzahl Marker, um auf die richtige Mutter und damit den Herkunftsbetrieb schließen zu können. Zu dieser Situation wurden Simulationen durchgeführt, wobei die Genotypen mit einer Kombination aus Python- und R-Programmen erstellt wurden. Um für die Umsetzung in der Praxis möglichst realistische Ergebnisse zu erhalten kommen die geschätzten Allelfrequenzen in den Rassen der IGZ-Sauenpopulation an den untersuchten 14 Markern zum Einsatz. Die weiteren 16 in den Simulationsstudien verwendeten Mikrosatelliten sind



simuliert und entsprechen in der Anzahl der Allele den für die Population geschätzten Allelfrequenzen und hinsichtlich der Informativität denen des verwendeten 14-Marker-Sets.

3.3.4.2 Szenario 2 - Einbeziehung der Eber

Um eine Probe auf ihren Geburtsbetrieb zurückverfolgen zu können, müssen eindeutig alle potentiellen Mütter bis auf die wahre Mutter ausgeschlossen werden. Durch die zusätzliche Einbeziehung der im System eingesetzten Eber erfolgt ein genetischer Abgleich des Fingerprints der Probe mit dem aller möglichen Väter. Nach dem im ersten Szenario durchgeführten Abgleich mit den Genotypen der Sauen wurden die entsprechenden möglichen Mütter und Väter ermittelt. In einem weiteren Schritt können die Sauen und Eber ausgeschlossen werden, die als Elternpaar für die Probe genetisch nicht möglich sind. Das Vorgehen in diesem Schritt, in dem eine Anpaarung als ‚genetisch nicht möglich‘ bzw. ‚genetisch möglich‘ bezeichnet wird, zeigt Abbildung 7.

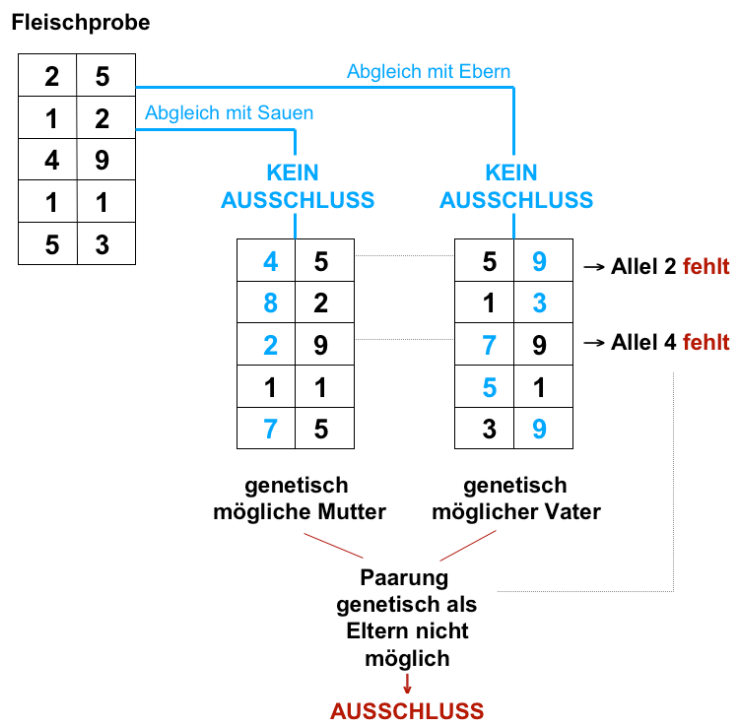


Abbildung 7: Prinzip Szenario 2 -Paarung ‚genetisch nicht möglich‘-

Der Ausschluss einer ‚genetisch nicht möglichen‘ Paarung wird auf folgende Weise durchgeführt: Neben den im ersten Szenario nicht ausgeschlossenen Sauen wird der Genotyp der Probe mit denen aller im System befindlichen Eber, das sind sowohl die Besamungs- als auch die Eigenbestandseber, abgeglichen. So werden zunächst alle bis auf die genetisch möglichen



Väter ausgeschlossen. In einem weiteren Schritt werden ausgehend von der Probe (in Abbildung 7 Fleischprobe) die Allele jedes einzelnen Locus betrachtet. Eine genetisch mögliche Mutter und ein genetisch möglicher Vater werden als Elternpaar ausgeschlossen, sobald es nicht möglich ist, dass ein Allel an einem Genort der Probe von der Mutter und das andere vom Vater stammt. In Abbildung 7 ist das für zwei Loci der Fall, die Paarung kommt als Elternpaar nicht für die Probe in Frage und wird ausgeschlossen.

In Abbildung 8 ist das Prinzip des zweiten Szenarios für den Fall dargestellt, dass die Paarung ‚genetisch möglich‘ ist.

Fleischprobe

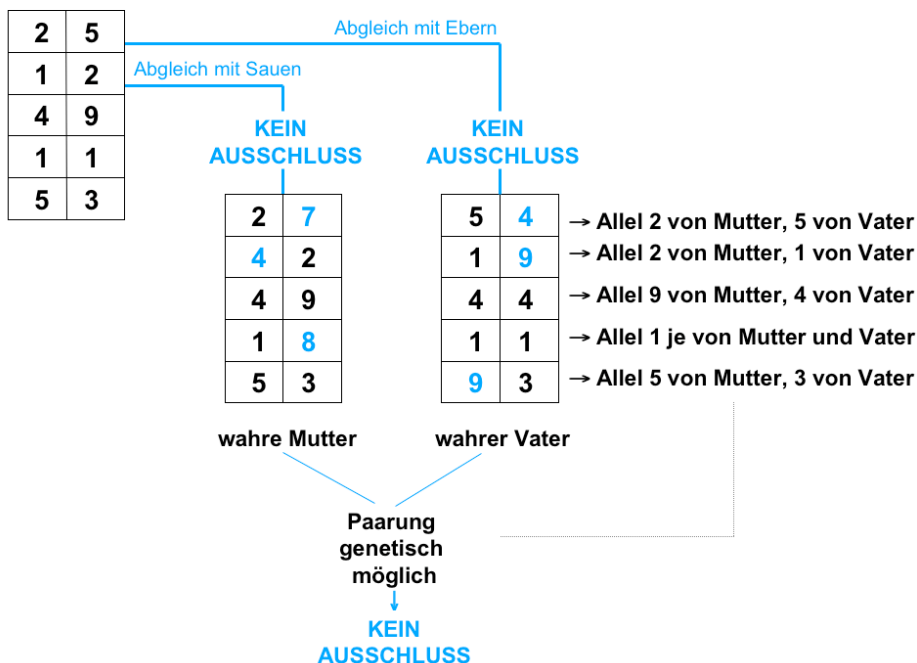


Abbildung 8: Prinzip Szenario 2 -Paarung ‚genetisch möglich‘-

Nach Abgleich mit den Sauen und auch Ebern im System können die hier dargestellten Eltern nicht ausgeschlossen werden. Im nächsten Schritt werden wieder die Allele an jedem einzelnen Genort mit denen der Probe abgeglichen. Kann die Fleischprobe an jedem Locus ein Allel von der Mutter und eins vom Vater erhalten haben, kommt diese Paarung genetisch als Elternpaar in Frage. Im Beispiel handelt es sich um die wahren Eltern, wobei auch Paarungen zufällig passende Genotypen aufweisen und somit nicht ausgeschlossen werden können. Abbildung 9 gibt eine Übersicht zur Betrachtung und Möglichkeiten der Anpaarungen.

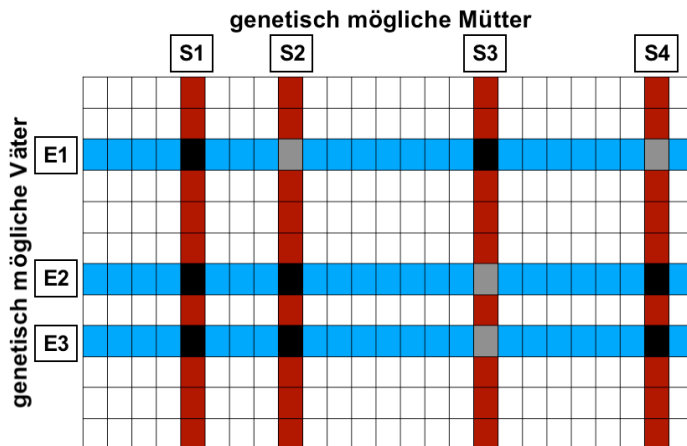


Abbildung 9: Übersicht zur Betrachtung der theoretischen Anpaarungen genetisch möglicher Elterntiere

In diesem Beispiel werden ausgehend von 25 Sauen und 12 Ebern durch den Einzeltierabgleich mit der Probe alle bis auf vier Sauen (S1 bis S4) und drei Eber (E1 bis E3) ausgeschlossen. Theoretisch wären jetzt 12 Paarungen möglich (Schnittpunkte). Durch den in Abbildung 8 dargestellten Abgleich kommen Anpaarungen genetisch nicht als Elternpaar der Probe in Frage, die hier schwarz dargestellt sind, so verbleiben vier (graue Schnittpunkte) der 12 Anpaarungen als mögliche Eltern (in Abbildung 9 skizziert). Durch diesen Schritt können Sauen, die im ersten Szenario als genetisch möglich erkannt wurden, zusätzlich ausgeschlossen werden, da ihnen kein im System eingesetzter Eber als Vater für die betrachtete Probe zugeordnet werden kann. Dies ist für die Sau S1 der Fall, Sie wäre als Mutter genetisch denkbar, doch da mit keinem Vater eine Elternschaft der Probe möglich ist, erfolgt der Ausschluss.

3.3.4.3 Szenario 3 - Erweiterung um zusätzliche Informationen

Die Aufnahme der Anpaarungen und Wurfinformationen bringt eine neue Qualität an Informationen. Anhand der Aufzeichnung der einzelnen Betriebe über die tatsächlich durchgeführten Besamungen kann ein Großteil der unter 3.3.4.2 ermittelten möglichen Elternpaare ausgeschlossen werden, da diese Anpaarungen gar nicht stattgefunden haben. Die Aufzeichnungen zu den tatsächlich durchgeführten Anpaarungen und den daraus gefallenen Würfen gelangen über die Ringassistenten von den einzelnen Betrieben zur Zentrale des LKV Bayern e.V. in München, das diese Daten zur Verfügung stellt. Ebenso wie die beschriebene Einbeziehung der Eber-Genotypen werden diese Zusatzinformationen in das Simulationsprogramm aufgenommen. Dazu war eine Verknüpfung des Programms mit der MySQL-Datenbank not-



wendig, in der die unter 3.1.2 beschriebenen monatlich aktualisierten Sauen- und Wurfdateien eingelesen werden.

3.3.4.4 Ausschluss von nicht aus dem System stammenden Fleischproben

Um die Herkunft aus dem definierten Produktionssystem zu garantieren, muss ein Ausschluss von Fleischproben, die nicht aus dem Produktionssystem der IGZ GbR stammen, gewährleistet sein. Einer von einem Tier, das in einem anderen System geboren wurde, stammenden Probe darf kein Elternpaar zugeordnet werden können.

Um zu prüfen, in wie weit dies gewährleistet werden kann wurden zunächst mit einem R-Programm Allelfrequenzen für 14 Mikrosatelliten unter Annahme der durchschnittlichen für die Population ermittelten Allelzahlen simuliert. Aus diesen erfolgte eine Erstellung von insgesamt 300 Genotypen, die nicht auf der fiktiven Anpaarung von zuvor simulierten Eltern basieren. Diese Proben wurden mit den typisierten 4.600 Sauen und 150 Ebern im Simulationsprogramm abgeglichen.

3.3.4.5 Untersuchung zum Einfluss einer variierenden Anzahl eingesetzter Eber

Die Anzahl der eingesetzten Zuchteber variiert auf den verschiedenen Ferkelerzeugerbetrieben je nach dem, ob Natursprung vorherrscht oder primär künstliche Besamung durchgeführt wird. Am betrachteten System sind sowohl Betriebe beteiligt, die ausschließlich Bestandseber verwenden, als auch solche, die alle Sauen mit KB-Ebern besamen. Für die Zucht bedeutet eine Ausweitung dieses Eber-Sauen-Verhältnisses eine schärfere Selektion, es kommen weniger Eber zum Einsatz und die Gefahr der Inzucht ist gegeben. In der Zuchtplanung beschreibt ein durchschnittliches Eber-Sauen-Verhältnis von etwa 1:20 überwiegend Natursprung, die Proportion 1:50 spiegelt verstärkten KB-Einsatz kombiniert mit Natursprung wider.

Um einen Einfluss der Anzahl eingesetzter Eber auf das betrachtete System und somit auf die benötigte Markeranzahl abschätzen zu können, werden die Simulationen zur Rückverfolgbarkeit außer mit den im Produktionssystem der IGZ GbR etwa 150 eingesetzten Ebern, was einem Eber-Sauen-Verhältnis von etwa 1:30 entspricht, auch für eine Anzahl von 100 (Verhältnis 1:46), 250 (Verhältnis 1:18) und 500 (Verhältnis 1:9) Ebern durchgeführt. Hierzu wird die Anzahl der Väter im Simulationsprogramm variiert. Die gleich bleibende Zahl von 4.600 Sauen wird dann jeweils willkürlich mit der angegebenen Anzahl Eber angepaart, um Geno-



typen von Nachkommen zu simulieren. Aus diesen wird in einem weiteren Schritt eine Stichprobe ausgewählt, die dann über den indirekten Abgleich rückverfolgt werden kann. Diese Simulationen werden für unterschiedliche Markeranzahlen durchgeführt.

3.3.5 Etablierung des Rückverfolgbarkeitssystems

3.3.5.1 Beteiligte Instanzen

IGZ- Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR

Zunächst erfordert die Rückverfolgbarkeit eine Typisierung sämtlicher im Bestand der beteiligten Ferkelerzeugerbetriebe befindlichen als Muttersauen eingesetzten Tiere. Die 22 Ferkelerzeuger mussten allen Sauen in ihrem Bestand Haarproben ziehen, wobei sichergestellt sein muss, dass sich in jeder Probenüte zur eindeutigen Zuordnung ausschließlich Haare des angegebenen Tieres befinden. Um die Haarwurzeln der Tiere zu erhalten, werden die Haare mit einer Flachzange ausgerupft. Nach dieser Bestandsaufnahme muss sichergestellt sein, dass jede Jungsau, die als Mutter in das System tritt, spätestens bei Geburt ihres ersten Wurfes beprobt wird. Diese Proben müssen zunächst durch die Betriebsleiter eindeutig über die Angabe von Betrieb, Nummer und Geschlecht zugeordnet werden. Die Tüten mit den Haaren werden zum Projektmanager der IGZ geschickt, der in der Datenbank der mais GmbH (IT-Partner im Projekt) überprüft, ob das Tier durch das LKV bereits erfasst ist. Ist dies der Fall, vergibt er diesem Elterntier einen Barcode mit dazugehöriger Nummer und sendet die Probe zur Typisierung in das Labor der GeneControl GmbH. Eine ähnliche Vorgehensweise gilt für die zum Einsatz kommenden Eigenbestandseber. Da die meisten Ferkelerzeuger Besamungseber verwenden, werden den bei der IGZ eingesetzten Ebern ebenfalls Haarproben entnommen. Zunächst wird ebenso wie bei den Sauen das Vorkommen der Eber in der Datenbank überprüft, anschließend werden die Haarproben zur Erstellung von Genotypen an das Labor gesandt.

Labor GeneControl GmbH

Die vom Projektmanager der IGZ mit einem Barcode versehenen Proben gelangen zum Labor GeneControl, wo sie zunächst mit Hilfe eines Barcodelesers registriert werden. Aus den Haarproben der Schweine wird über die Erstellung von Lysat (siehe 3.1.1.1) DNA präpariert, die dann zur Typisierung an den beschriebenen 14 Mikrosatellitenmarkern verwendet wird. Der so für jedes Tier erhaltene Genotyp wird per Email an den Lehrstuhl für Tierzucht versandt, wo er in einer MySQL-Datenbank gespeichert wird.



LKV-Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredlung e.V.

Wie bereits in Kapitel 3.1.2 geschildert gelangen die Informationen zu den einzelnen Sauen und ihren Würfen direkt vom Landwirt zu den Ringassistenten. Für die Angabe des Vaters haben die Ringberater für jeden Wurf jeweils drei Möglichkeiten, einen Eber als Vater in die Datenbank einzulesen. Da derzeit nicht mehr als diese drei Angaben erfasst werden können, kann der Landwirt somit pro Rausche maximal drei verschiedene Eber einsetzen, um für das dritte Szenario (siehe Kapitel 3.3.4.3) sicherzustellen, dass die Anpaarung in den Daten verzeichnet ist. Einmal wöchentlich laden die Ringassistenten ihre bei den einzelnen Landwirten gesammelten Informationen zur Weiterverarbeitung auf den Rechner der LKV-Zentrale. Ein Mitarbeiter des LKV München e.V. stellt die Daten der beteiligten IGZ-Betriebe zusammen und sendet sie zum Lehrstuhl für Tierzucht.

TUM- Lehrstuhl für Tierzucht

Neben den theoretischen Untersuchungen und der Optimierung des Prinzips zur Rückverfolgung beim Schwein ist der Lehrstuhl für Tierzucht auch Koordinator bei der Implementierung der praktischen Umsetzung dieser Rückverfolgbarkeit auf das Produktionssystem der IZG GbR. Sowohl die Genotypen aus dem Labor als auch die durch das LKV übermittelten Informationen über die Sauen auf den Betrieben der IGZ gelangen in unterschiedlichen Formaten zum Lehrstuhl für Tierzucht. Dort durchlaufen sie ein Programm (FRIES, PERS.MITTEILUNG), welches zunächst eine Bereinigung von eventuell auftretenden Datenfehlern vornimmt und sie anschließend in eine MySQL-Datenbank einspeist. Tabelle 3 zeigt die einzelnen Tabellen der Datenbank.

**Tabelle 3: Einzelne Tabellen der vom Lehrstuhl für Tierzucht erstellten Datenbank und ihre Inhalte**

<i>Liste</i>	<i>Inhalt</i>	<i>Zeilen (Stand 4. April 2005)</i>
fathers_to_probe	Labornummern der in Würfe auftauchenden Eber, von denen kein Genotyp vorliegt	110
gts	sämtliche Genotypen der im System befindlichen Eltern nach Marker, Zuordnung durch Labornummer	78.454
markers	Liste der verwendeten Mikrosatelliten	15
mothers_to_probe	Labornummern der in Würfe auftauchenden Sauen, von denen kein Genotyp vorliegt	668
numbers	Zuordnung von einheitlich vergebener Tiernummer (Kapitel 3.2.3) und Labornummer	5.769
proben	sämtliche Proben, zu denen ein Eintrag in der Datenbank der mais GmbH angelegt ist	6.406
probleme	Labornummern der vom Labor GeneControl aufgrund von Problemen nicht typisierte Proben	406
sauen(plus)	Bereinigte „Sauen.csv“ vom LKV e.V. (plus einheitlich vergebener Tiernummer)	8.448
wuerfe(plus)	Bereinigte „Wuerfe.csv“ vom LKV e.V. (plus einheitlich vergebener Tiernummer)	20.261

Diese Datenbank ist das zentrale Speichermedium des Projekts, hier fließen die Informationen der verschiedenen Institutionen zusammen. Jedes Tier erhält eine aus Betrieb, Saunummer und Geschlecht generierte eindeutige gemeinsame Tiernummer (Abbildung 3, S.23), über die eine Zuordnung der aus den verschiedenen Quellen stammenden Daten möglich wird. Durch das Anlegen unterschiedlicher Tabellen, z.B. der Problemproben, können verschiedenste Abfragen im Bezug auf ein Einzeltier, die Tiere eines Betriebes, einer Rasse oder eines Geschlechts durchgeführt werden. In dieser Datenbank sind alle Informationen zur Rückverfolgbarkeit einer Probe über die wahre Mutter auf den Geburtsbetrieb enthalten. Mit einem in Python und R erstellten Programm zur Abfrage der Genotypen aller im System befindlichen Mütter und Väter werden bei Eingabe des Typisierungsergebnisses einer Probe im ersten Schritt die Tiere als Eltern ausgeschlossen, bei denen nicht mindestens ein Allel pro Marker mit dem Genotyp der Probe übereinstimmt. In einem weiteren Schritt wird überprüft, welche Paarungen der potentiellen Eltern aufgrund des Genotypenabgleichs möglich sind. Der letzte Schritt inspiziert anhand der Würfe-Datei die tatsächlich durchgeführten der genetisch möglichen Paarungen. Mit dem Ausstieg des Lehrstuhls für Tierzucht am Ende der Projektlaufzeit soll die MySQL-Datenbank vollständig durch die der mais GmbH ersetzt werden.



mais- Mitteldeutsche Agentur für Informationsservice GmbH

Die Informationen, die der Lehrstuhl für Tierzucht vom LKV e.V. und der GeneControl GmbH erhält, werden an die mais GmbH weitergeleitet. Hier sollen am Projektende und dem damit verbundenen Ausstieg der TUM alle einzelnen Angaben in einer Datenbank zusammenlaufen. Die dazu benötigten Daten werden dann direkt an die mais GmbH übermittelt. Absolute Voraussetzung für das Funktionieren des gesamten Projektes ist eine beständige Datenübertragung, -bereinigung und -speicherung. Dabei sollen sowohl die Genotypen als auch die Zusatzinformationen den an die TUM gelieferten Daten entsprechen. Ähnlich der MySQL-Datenbank des Lehrstuhls für Tierzucht wurde von der mais GmbH eine Datenbank mit verschiedenen Tabellen entwickelt, in der die Informationen zusammenkommen und für die verschiedenen Institutionen wie IGZ-Manager, Landwirte, Vermarkter oder den Verbraucher mit Passwort abrufbar sind. Eine Übersicht zu dieser Datenbank und ihren Inhalten gibt Tabelle 4.

Tabelle 4: Übersicht über die mais GmbH-Datenbank und deren Inhalte

<i>Tabelle</i>	<i>Inhalt</i>
Liste bisheriger Etikettendruck	Zusammenstellung aller vom Projektmanager vergebenen Labornummern
Liste unbeprobter Sauen und Eber	Übersicht über die noch zu beprobenden Sauen und Eber auf den einzelnen Betrieben
Liste Probenerfassung Gesamt	Übersicht über die bisherige Erfüllung der zu beprobenden Tiere auf den einzelnen Betrieben
Liste Probenerfassung im Zeitraum	nach Eingabe des Zeitraums Angabe der Probenerfassung für die einzelnen Betriebe
Proben speichern	zur Eingabe der Proben und Vergabe von Labornummern durch den Projektmanager der IGZ
Liste der Betriebe mit beprobten Sauen und Ebern	nach Eingabe eines Probenahmedatums und eines Betriebes Angabe von Anzahl Proben und Anzahl typisiert
Liste Würfe der letzten 6 Monate	Nach Betrieb abrufbare Übersicht der Würfe aus der LKV- Datei „Würfe.csv“
Neue Produktprobe	Eingabe einer Produktprobe zum Test auf Rückverfolgbarkeit
Recherche Produktproben	nach Betrieb mögliche Recherche der Produktproben
Eber bearbeiten	Übersicht über die Anzahl Eber auf den Betrieben und die davon bereits beprobten



Die Eingabe des Genotypes einer Probe führt im Idealfall über die möglichen Mütter, -Väter, und -Paarungen schließlich zum korrekten Elternpaar und somit auf den Herkunftsbetrieb einer Probe.

3.3.5.2 Ablaufgeschehen

Wie bereits im Kapitel 3.3.3.3 veranschaulicht bildet bei der in diesen Untersuchungen verwendeten indirekten Methode die im System eingesetzte Elternpopulation die Grundlage zur Rückverfolgbarkeit. Abbildung 10 zeigt eine Übersicht zum Ablaufgeschehen, Proben- und Datenfluss.

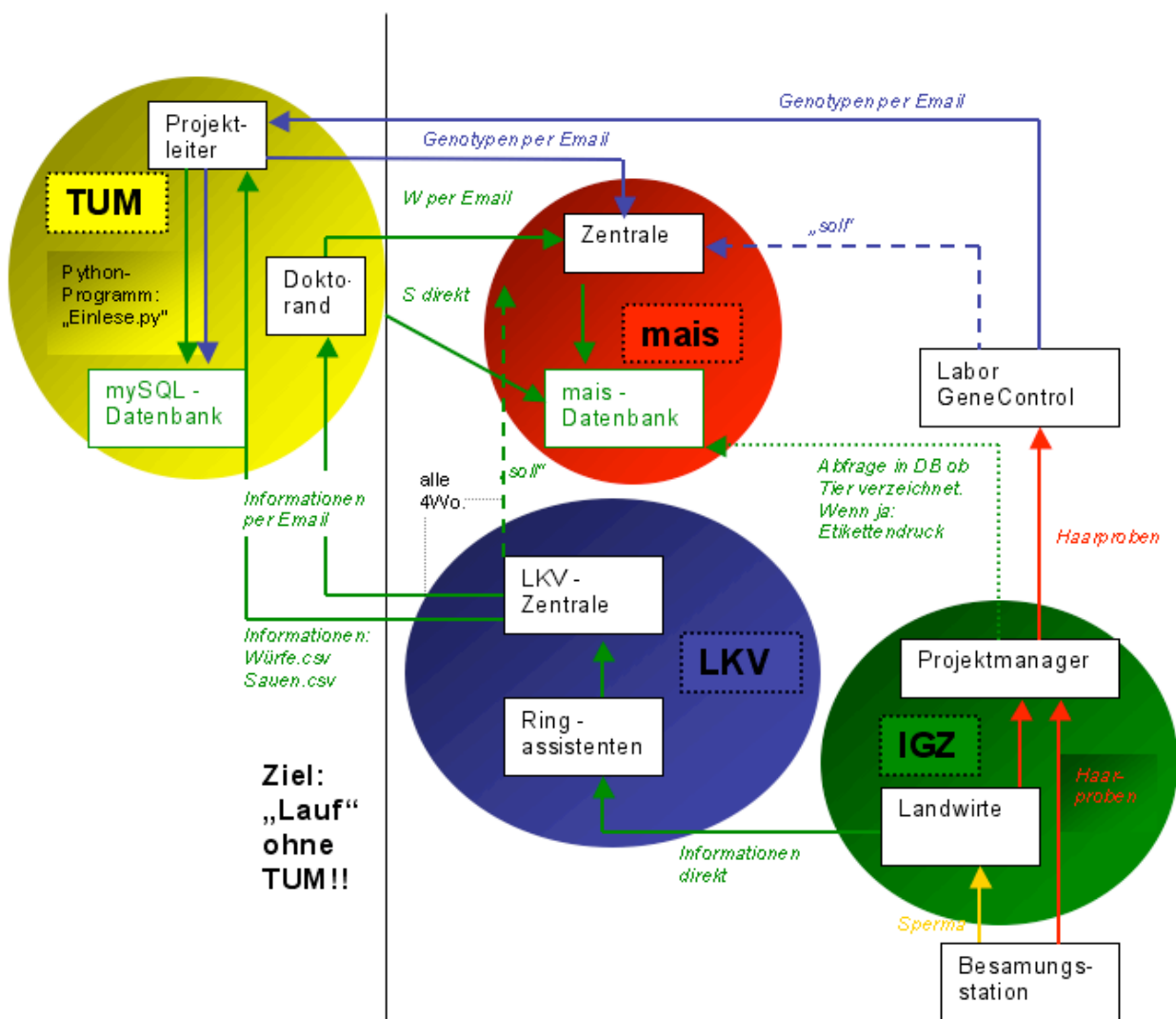


Abbildung 10: Ablaufgeschehen, Proben- und Datenfluss

Die farbigen Kreise stellen die einzelnen am Projekt beteiligten Institutionen dar, das Labor GeneControl als Auftragnehmer ist als Rechteck dargestellt. Die Pfeile stellen den Lauf der



Proben und Informationen dar. Die Informationen zu den Sauen und Würfen auf den IGZ-Mitgliedsbetrieben (grüne Pfeile) gelangen über die Ringassistenten zur Zentrale des LKV Bayern e.V. In Abständen von ca. 4 Wochen werden die aktualisierten Informationen als csv-Datei per Email an den Lehrstuhl für Tierzucht der TUM gesendet. Der Projektleiter liest diese Dateien mit einem Python-Programm in eine MySQL-Datenbank ein, die während der Projektbeteiligung der TUM zu Auswertungs- und Kontrollzwecken dient. Eine Mitarbeiterin des Lehrstuhls überträgt die Sauendatei bis zum direkten Transfer der LKV-Zentrale zur mais GmbH in die Datenbank der mais GmbH, die Würfedatei wird aufgrund ihrer Größe per Email an die mais-Zentrale gesendet und von dort aus in die Datenbank integriert.

Die Besamungsstation liefert Sperma (gelber Pfeil) zu den IGZ-Ferkelerzeugern, von den gleichen Ebern werden Haarproben (roter Pfeil) zum IGZ-Projektleiter gesandt. Auch die Ferkelerzeuger beproben ihre Zuchtsauen und schicken die Haare zum IGZ-Projektleiter. Dieser hat einen Zugang zur mais-Datenbank und überprüft dort, ob die Sauen in der Sauen- bzw. die Eber in der Würfedatei verzeichnet sind. Ist dies der Fall, gelangen die Haarproben der erfassten Tiere zur Typisierung ins Labor. Die übrigen Haare gehören entweder zu Sauen, die neu remontiert wurden und noch nicht beim LKV Bayern e.V. als aktive Zuchtsau verzeichnet sind bzw. deren Wurf noch nicht vom LKV-Ringberater aufgenommen wurde, oder zu Ebern, die auf der Liste der IGZ GbR der einzusetzenden Eber stehen, somit von der Besamungsstation beprobt, aber noch nicht im System als Väter eingesetzt wurden. Diese Proben lagert der IGZ-Projektleiter ein und überprüft in regelmäßigen Abständen das Vorhandensein dieser Tiere in der mais-Datenbank. Sobald mit einer neuen Datenübertragung des LKV Bayern e.V. Informationen zu einem dieser Tiere erscheinen, sendet er die entsprechenden Haarproben zur Typisierung in das Labor. Das Labor GeneControl GmbH versendet die fertigen Genotypen (blauer Pfeil) per Email an die TUM, wo sie in der dort angelegten MySQL-Datenbank den vorhandenen Tieren zugeordnet werden. Von hier aus versendet der Projektleiter die Genotypen an die mais GmbH.

Der schwarze Strich zeigt die Abtrennung der TUM am Ende der Projektlaufzeit. Sowohl die bis dahin vom LKV Bayern e.V. zum Lehrstuhl für Tierzucht gesendeten Informationen (grüner gestrichelter Pfeil) als auch die vom Labor GeneControl erstellten Genotypen (blauer gestrichelter Pfeil) sollen dann direkt zur mais GmbH gelangen.



3.3.6 Probelaufe zur Überprüfung des Vorgehens in der Rückverfolgung

Um den Entwicklungsstand des Projektes abprüfen und damit Ansätze zur Verbesserung der Rückverfolgbarkeit zu erhalten, wurden während der Projektlaufzeit drei Testläufe durchgeführt. Die Zeitpunkte für die Probelaufe wurden so gewählt, dass die Anforderungen an die jeweils ermittelte Sicherheit der Rückverfolgbarkeit aufgrund der zunehmenden Informationen ansteigen. So lässt sich der erste als „weicher“ und der dritte als „harter“ Probelauf bezeichnen.

Die im Labor erstellten Genotypen der mit speziellen Labornummern bezeichneten Proben aller drei Testläufe wurden mit einem Programm des Lehrstuhls für Tierzucht abgeglichen. Auf diese Weise konnte jeweils eine Momentaufnahme gegeben werden, wodurch eine Beurteilung des Projektstandes möglich wurde.

3.3.6.1 Erster Probelauf

Der erste Testlauf fand im Februar 2004 statt. Dazu waren die Ferkel aus Würfen eines Ferkelerzeugers der IGZ im Vorfeld mit zusätzlichen Ohrmarken versehen worden, auf denen die Nummern ihrer Mutter und ihres Vater festgehalten waren. Von 26 dieser inzwischen beim Mäster eingestellten Tiere wurden Haarproben entnommen und zur eindeutigen Identifizierung die Nummern der Ohrmarken notiert. Des Weiteren wurden 12 Tiere aus anderen IGZ-Betrieben und 12 Tiere aus einem der Interessengemeinschaft nicht zugehörigen Betrieb beprobt. Für diesen Probelauf erfolgte der Abgleich erst mit Eintreffen der ersten Zusatzinformationen des LKV Bayern e.V. am 8. März 2004, da diese sonst nicht hätten berücksichtigt werden können.

3.3.6.2 Zweiter Probelauf

Für den zweiten Probelauf im September 2004 wurden sowohl vor der Schlachtung Haar- als auch nachher Fleischproben von 25 im System geborenen Mastschweinen aus zwei Ferkelerzeugerbetrieben der IGZ entnommen. Auch hier waren die Nummern der Eltern im Vorfeld aufgezeichnet worden. Durch das Ziehen der Fleischproben sollte neben der Überprüfung der Genotypen auch die DNA-Gewinnung aus Fleisch im Labor GeneControl GmbH etabliert werden.



3.3.6.3 Dritter Probelauf

Im Dezember 2004 fand der dritte Probelauf statt, bei dem Haarproben von insgesamt 54 Tieren zum Typisieren in das Labor gesendet wurden. Die 45 Proben, die direkt im Abferkelstall verschiedener IGZ-Ferkelerzeuger entnommen wurden, stammten von wenigen Tagen oder Wochen alten Ferkeln. Hier musste zum einen sichergestellt sein, dass kein Ferkel ohne Information umgesetzt worden war, zum anderen erfordert dieser Testlauf eine sichere Aufzeichnung der als Väter eingesetzten Eber. Den Haarproben der 45 IGZ-Ferkel wurden zur Kontrolle Proben von neun nicht der IGZ zugehörigen Tieren zugefügt.

3.3.6.4 Überprüfung von Genotypen

Nicht eindeutig zu klärende Inkonsistenzen in der Rückverfolgbarkeit der Testläufe (Kapitel 4.2.5.1 bis 4.2.5.3) können verschiedene Ursachen haben:

- Falsche Abstammung
- Mutation
- Fehler im Labor

Das Ergebnis der Testläufe zeigte, dass die Aufzeichnungen der Eltern einiger zurückverfolgter Proben nicht korrekt waren. Auch sind Eber, die als Väter eingesetzt wurden, nicht korrekt in die Datensätze der LKV-Ringberater aufgenommen worden.

Die geschätzte Mutationsrate bei der Vererbung lag in einer Untersuchung von 62 porcinen Mikrosatelliten mit 7×10^{-5} pro Generation und Gamete etwas niedriger als für den Menschen mit 8×10^{-4} (ELLEGREN, 1995). Bei einer Typisierung der insgesamt 4.750 Elterntiere an den 14 eingesetzten Mikrosatelliten würden demnach fast zehn Mutationen erwartet, so kann der Anteil der durch Mutationen hervorgerufenen Genotypinkonsistenzen Einfluss auf die Sicherheit der Rückverfolgbarkeit nehmen.

Das in Tabelle 21 (siehe S.88) dargestellte Ergebnis für vier sicher aus dem Produktionssystem stammende Proben, denen keine Eltern zuzuordnen waren, gab den Anstoß, einen Testlauf zur Überprüfung von Genotypen durchzuführen. Dazu wurden von 97 Sauen, die sowohl in der Datenbank verzeichnet als auch sicher einen Genotyp aufweisen, nochmals Haarproben zu einer erneuten Typisierung im Labor entnommen. Es erfolgte ein Vergleich dieser zweiten Genotypen mit den bereits vorhandenen. So konnten eventuelle Verwechslungen von Haarproben oder Fehltypisierungen im Labor festgestellt werden.



3.4 Zusätzliche Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit

3.4.1 Ausweitung der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit auf größere Populationen

Um beurteilen zu können, ob das untersuchte System auf wesentlich größere Produktionssysteme übertragbar wäre, wurden ebenfalls Simulationen für verschiedene Anzahlen Sauen und Eber durchgeführt. Dies erfolgt unter den für das System der IGZ ermittelten Bedingungen.

- Typisierung der Tiere an den ausgewählten 14 Mikrosatellitenmarkern
- Annahme der Allelfrequenzen der Sauen- und Eberpopulation der IGZ GbR
- Tatsächlich durchgeführte Paarungen sind bekannt

Im Ablauf werden zunächst die erforderlichen Allelfrequenzen zur Simulation der Genotypen von Sauen und Ebern mit einem in Python erstellten Programm aus der MySQL-Datenbank exportiert. Daraus werden Genotypen für eine angegebene Anzahl Sauen und Eber erstellt. Jede Sau wird zufällig an einen der Eber angepaart. Wie in Kapitel 3.3.4 beschrieben werden aus den zehn angenommenen Nachkommen pro Paarung Genotypen ausgewählt und zurückverfolgt. Es waren absicherbare Simulationsergebnisse bis zu einer Anzahl von 46.000 Sauen möglich. Mit den Simulationen zur Erweiterung des Rückverfolgbarkeitssystems auf größere Populationen wird ausschließlich die theoretische Machbarkeit überprüft. Die praktische Umsetzung und Etablierung eines solchen Systems in einer Population mit einer großen Anzahl als Elterntiere eingesetzter Sauen und Eber wird hier nicht untersucht.

3.4.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs

3.4.2.1 Vergleich anhand der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit

Zunächst wurden anhand der Formel 8 die Ausschlusswahrscheinlichkeiten für SNPs mit unterschiedlichen Allelfrequenzen berechnet. Im nächsten Schritt erfolgte die Berechnung der theoretisch kleinsten Anzahl SNPs, mit der die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit der im Betriebssystem der IGZ GbR eingesetzten Mikrosatelliten erreicht wird. Dazu wurde ein R-Programm zur Simulation von SNP-Genotypen unter Angabe verschiedener Allelfrequenzen verwendet. Durch Festsetzen der mit den Mikrosatelliten erreichten Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit wird die Anzahl an SNPs ermittelt, die erforderlich ist, um diese Sicherheit zu erreichen.

Es wurde ein Vergleich von einem Mikrosatelliten-Set mit zwei SNP-Sets auf Basis der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten durchgeführt. Dazu erfolgte eine Erweiterung des Sets



der im Produktionssystem der IGZ verwendeten 14 Marker um simulierte Mikrosatelliten. Die beiden SNP-Sets wurden mit einem R-Programm simuliert, wobei das eine Frequenzen von 0,1 bis 0,3 und das andere von 0,3 bis 0,5 für das weniger auftretende Allel aufweist.

3.4.2.2 Einsatz von SNPs in die vorhandenen Simulationen

Durch eine Abänderung der in Kapitel 3.3.4.3 beschriebenen eingesetzten Simulationen zum dritten Szenario wurde getestet, wie im Betriebssystem der IGZ GbR eine Rückverfolgbarkeit mittels SNPs durchgeführt werden könnte. Dazu wurde eine ansteigende Anzahl SNPs anstelle der Mikrosatelliten als Marker verwendet. Die Simulation der Allelfrequenzen der eingesetzten SNPs erfolgte mit einem in R erstellten Programm, wobei das seltenere Allel eine Frequenz von mindestens 10% aufweisen musste. Es wurden Genotypen für jeweils 4.600 Sauen und 150 Eber mit einer ansteigenden Anzahl SNPs simuliert und dann zufällig verpaart. Aus den resultierenden Würfen wurden für jede Simulation 200 Proben ausgewählt und zurückverfolgt.

In einer weiteren Untersuchung wurde ebenfalls unter Verwendung des Simulationsprogramms die Anzahl SNPs ermittelt, die eingesetzt werden muss, um unter Bedingungen des Betriebssystems der IGZ GbR eine sichere Rückverfolgbarkeit für das erste Szenario, bei dem ein Abgleich der Genotypen der Proben nur mit denen der Sauen erfolgt, zu garantieren.

3.5 Untersuchung zur Ermittlung eines möglichen Einflusses des Marker-Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel

Die im Rahmen des Projektes verwendeten Sauen und Wurfdaten enthalten über die Informationen zur Rückverfolgbarkeit hinaus weitere Angaben. In der Würfedatei (3.1.2.2) sind zum Beispiel die Anzahl der lebend geborenen Ferkel einer Sau pro Wurf verzeichnet. Da von vielen Sauen außer den vom LKV Bayern e.V. zur Verfügung gestellten Datensätzen (siehe Kapitel 3.1.2) auch Genotypen (3.1.1.2) vorhanden sind, ergab sich die Möglichkeit, einen eventuell bestehenden Einfluss des Marker-Genotyps bzw. das Vorhandensein eines bestimmten Allels auf die Wurfgröße zu ermitteln. Die Wahrscheinlichkeit, dass einer der 14 Markerloci unmittelbar im Bereich des Einfluss nehmenden Gens liegt, ist eher gering. Sollte anhand der Analyse ein Effekt des Genotyps auf die Wurfgröße festgestellt werden, wären zwei Möglichkeiten denkbar. Zum einen das Vorliegen eines kausalen Effektes mit großer Wirkung, der einen großen Abstand zum Gen hat, zum anderen ein kausaler Effekt mit kleiner



Wirkung, der in der Nähe des Gens lokalisiert ist. Sowohl die Aufbereitung der Daten als auch die Varianzanalyse wurde mit dem Programm R durchgeführt.

3.5.1 Aufbereitung der Daten

Zunächst wurden die benötigten Informationen aus der Datei ‚Wuerfe‘ (siehe Kapitel 3.1.2.2) ausgelesen. Dies waren neben der gemeinsam vergebenen Saunummer die Rasse der Sau, der Betrieb, die Wurfnummer, das Wurfdatum und die Anzahl der lebend geborenen sowie der aufgezogenen Ferkel. Außerdem wurde der Vater jedes Wurfs mit Rasse verwendet. Die zu verwendenden Genotypen (Kapitel 3.1.1.2) wurden ebenso aus der Datenbank exportiert und über die gemeinsam vergabene Saunummer den aus der Würfedatei entnommenen Informationen zugeordnet.

Mit Beginn der Datenlieferung vom LKV Bayern e.V. wurde als Startzeitpunkt der 01. Januar 2003 festgelegt, somit sind im Datensatz ‚Wuerfe‘ alle Informationen ab diesem Zeitpunkt verzeichnet. Da die Daten eine Momentaufnahme der Situation der Betriebe der IGZ GbR darstellen hatten Sauen, die bereits längere Zeit auf einem Ferkelerzeugerbetrieb eingesetzt waren, bereits mehrere Würfe und sind erst ab ihrem dritten, vierten oder fünften Wurf verzeichnet. Um die Wurfleistungen der Sauen vergleichbar zu machen, wurden nur Sauen in die Untersuchung einbezogen, die mit ihrem ersten Wurf in der Datei verzeichnet sind.

Es wurde die Verteilung der Anzahl der Würfe ermittelt, um diese Angaben für den betrachteten Zeitraum zu überprüfen, da der Datenschnitt zu den Untersuchungen in dieser Arbeit zum 04. April 2005 (siehe Kapitel 3.1) erfolgte. Ebenso wurde eine Kontrolle der Angaben für die Anzahl lebend geborener und aufzogener Ferkel für den angegebenen Zeitraum durchgeführt.

Die Untersuchung der Wurfnummern zeigte eine Sau, die im betrachteten Zeitraum vom 01. Januar 2003 bis zum 04. April 2005 acht Würfe gebracht haben soll. Eine nähere Betrachtung zeigte, dass es sich um zwei Sauen handeln musste, da die Wurfdaten nicht realistisch waren. In Abbildung 11 wird durch die Angaben zur Wurfnummer und zum Wurfdatum deutlich, dass es sich bei der angegebenen Sau nicht um ein Tier handeln kann. Da der zweiten Sau weder eine Nummer noch ein Genotyp zugeordnet werden kann, werden die rot dargestellten Angaben eliminiert.



Saunummer	Betrieb	Wurfnr.	Wurfdatum	Wurfgröße
2.00.215.00102.w	215	1	2004-09-10	10
2.00.215.00102.w	215	2	2005-01-27	9
2.00.215.00102.w	215	4	2003-02-13	16
2.00.215.00102.w	215	5	2003-07-04	8
2.00.215.00102.w	215	6	2003-12-18	14
2.00.215.00102.w	215	7	2004-05-07	11
2.00.215.00102.w	215	8	2004-09-22	14

Abbildung 11: Auszug aus den Daten zur **Wurfgröße**

3.5.2 Statistisches Modell

Zur Ermittlung eines möglichen Einflusses des Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel wurden verschiedene Faktoren in das Modell aufgenommen. Dies sind die Mutterrasse (MR), der Betrieb, auf dem die entsprechende Sau steht (BE), die Wurfnummer (WN) und der Genotyp (GT). Der Effekt des Ebers bzw. seiner Rasse fiel nach anfänglichen Modellierungen aufgrund mangelnden Einflusses heraus. Das Wurfdatum, welches in der Form JJJJ-MM-TT in der Datenbank vorliegt, wurde zum Faktor ‚year-season‘ (YS), in dem nur das Jahr und der Monat berücksichtigt ist, zusammengefasst und geht ebenfalls in das Modell ein. Aus den angegebenen Faktoren ergab sich das folgende Modell, das für jeden einzelnen Markerlocus berechnet wurde:

$$Y_{ijklmn} = \mu + MR_i + BE_j + WN_k + YS_l + GT_m + e_{ijklmn}$$

mit Y_{ijklmn} : Wurfgröße einer Muttersau

μ : gemeinsamer Mittelwert

MR_i : Effekt der Rasse der Muttersau

mit $i= 1, 2, \dots, 15$ (15 Rassen bzw. Rassekombinationen)

BE_j : Effekt des Betriebes, auf dem Muttersau steht mit $j= 1, 2, \dots, 22$ (22 Betriebe)

WN_k : Effekt der Wurfnummer der Muttersau mit $k= 1, 2, \dots, 6$ (bis zu 6 Würfe pro Sau)

YS_l : Effekt der ‚year season‘ mit $l= 1, 2, \dots, 26$ (26 Angaben zu Monat-Jahr)

GT_m : Effekt des Marker-Genotyps am betrachteten Locus mit $m= 1, 2, \dots$ Anzahl GT am jeweiligen Locus (391 Genotypen auf 14 Marker verteilt)

e_{ijklmn} : zufälliger Restfehler



Nach Aufstellung des linearen Modells erfolgte eine Varianzanalyse mittels ANOVA Typ III. In einem weiteren Schritt wurden die Kontraste der einzelnen Genotypen an den Mikrosatelliten berechnet, für die ein möglicher Einfluss des Marker-Genotyps auf die Wurfgröße ermittelt wurde. Während ein signifikanter F-Test der Varianzanalyse nur aussagt, dass ein Einfluss des Faktors mit der angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit vorhanden ist, lässt sich durch Einzelvergleiche oder Kontraste herausfinden, zwischen welchen einzelnen Genotypenstufen signifikante Unterschiede bestehen. Dieses erfolgte mit der Funktion ‚Estimable‘ des Programmes R.



4 Ergebnisse

4.1 Kennzahlen zur Charakterisierung der Markerqualität

Zur Ermittlung der Aussagekraft der einzelnen Mikrosatellitenmarker erfolgte die Berechnung der Kennzahlen wie in Tabelle 2 (siehe S.27) dargestellt getrennt nach Rassen, wobei keine Rücksicht auf das Geschlecht der Tiere genommen wurde.

4.1.1 Allelzahlen und -frequenzen

Für jeden der 14 Loci wurde eine Auszählung der Allele durchgeführt. In Tabelle 5 ist jeweilige Anzahl der an den einzelnen Markern gefundenen Allele nach Teilpopulationen dargestellt. Die 230 Tiere, für die keine Rasseangabe vorhanden ist, wurden hier nicht berücksichtigt.

Tabelle 5: Allelzahlen der einzelnen Loci für jede Rasse bzw. Rassenkombination

Marker	Rasse bzw. Rassenkombination										Ø alle
	Pietrain	DL	DL x DE	DE x DL	Pig Impr.C.	Schau-mann	Bayern Hybrid	BaWue Hybrid	sonstige Hybride	Sonstige	
S0005	10	14	16	14	14	14	14	15	17	19	14,7
S0090	5	6	6	6	7	5	6	7	9	6	6,3
S0101	4	5	6	5	6	5	5	6	7	6	6,4
S0155	6	7	6	6	4	6	6	7	7	7	6,2
S0355	4	8	6	6	5	6	6	8	7	7	6,3
S0386	5	5	8	7	7	6	7	7	6	7	6,5
SW24	8	9	8	7	7	8	10	7	10	10	8,4
SW240	7	10	8	8	9	8	7	9	8	10	8,4
SW857	7	7	7	8	8	7	9	8	9	9	7,9
SW951	3	4	5	5	6	4	4	4	6	5	4,6
S0227	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
SW72	4	5	6	6	6	5	6	6	6	6	5,6
SW911	5	5	5	6	7	5	6	5	7	8	5,9
SW936	6	8	9	9	7	7	9	8	9	9	8,1
Ø Loci	5,5	6,9	7,1	6,9	6,9	6,4	7	6,6	7,9	8,0	

Für die einzelnen Loci wurden zwischen drei und 19 Allele gefunden. Es lässt sich erkennen, dass der Marker S0005 mit einem Durchschnitt von 14,7 die mit Abstand meisten Allele aller verwendeten Mikrosatelliten aufweist und damit als hochpolymorph zu bezeichnen ist. Im



mittleren Bereich liegen die Marker SW24, SW240, SW936 und SW857 mit durchschnittlichen Allelzahlen zwischen 8,4 und 7,9. Der Marker S0227 zeigt mit konstant 3 Allelen über alle Rassen die kleinste Allelzahl.

Eine Betrachtung der mittleren Anzahl Allele über alle Loci nach Rasse bzw. Rassenkombination weist die Rasse Pietrain mit durchschnittlich 5,5 Allelen pro Markerlocus die kleinste Anzahl auf. Die Gruppen sonstige Hybride und Sonstige haben durchschnittlich 7,9 bzw. 8,0 Allele an jedem Marker hohe Werte, was in der Einbeziehung der verschiedenen Rassekombinationen (siehe Kapitel 3.2) dieser beiden Teilpopulationen begründet liegt.

Die Länge der gefundenen Allele liegt zwischen 90 und 271 bp. Tabelle 6 zeigt die Fragmentlängen an den einzelnen Markern über alle Rassen bzw. Rassenkombinationen.

Tabelle 6: Fragmentlängen an den eingesetzten Mikrosatelliten, Werte in Klammern sind einmalig auftauchende Fragmentlängen bei einzelnen Rassen bzw. Rassenkombinationen

<i>Marker</i>	<i>Fragmentlänge (bp)</i>	<i>Spanne (bp)</i>
S0005	201-265	65
S0090	225-249	25
S0101	195-215 (312)	21 (118)
S0155	146-162	17
S0355	(163) 241-271	31 (109)
S0386	164-184	21
SW24	92-120	17
SW240	90-120	31
SW857	134-156	25
SW951	119-135	17
S0227	226-250	25
SW72	96-112	17
SW911	149-167	19
SW936	92-114	23

Die Marker S0101 und S0355 weisen mit 118 bzw. 109 bp auffällig große Spannen in ihren Allelgrößen auf. Eine genauere Betrachtung dieser beiden Marker ergab, dass das Allel 312 beim Marker S0101 nur einmal bei den BaWue Hybriden vorkommt, ebenso erscheint das Allel 163 am Marker S0355 nur einmal, hier bei den sonstigen Hybriden. Diese beiden Extrema könnten auf Fehltypisierungen basieren, eine Nichtbeachtung führt zu mit den übrigen Markern vergleichbaren Spannen in den Allelen von 21 und 31 bp.



Die Allelfrequenzen wurden ebenfalls für die oben genannten Rassen bzw. Rassenkombinationen nach Formel 2 ermittelt und sind im Anhang (9.2.1) aufgeführt.

Eine besondere Allelfrequenzverteilung lässt sich am Locus S0227 erkennen. Das Allel 226 ist bei sämtlichen Rassen bzw. Hybriden mit einer sehr hohen Frequenz vertreten, was besonders bei den BaWue Hybriden mit einer Frequenz von 0,94 zu erkennen ist. Ab einer Frequenz von 0,7 spricht man vom Trend eines Allels zur Fixierung (ROSSNAGEL, 1999), was im Falle dieses Allels am Marker S0227 angenommen wird. In Tabelle 7 sind alle Allele der einzelnen Marker mit einer Frequenz von 0,7 und höher verzeichnet.

Tabelle 7: Allele mit einer Frequenz von 0,7 und höher

<i>Marker</i>	<i>Allel</i>	<i>Rasse bzw. Rassenkombination</i>	<i>Frequenz</i>
S0090	239	DL	0,73
S0355	241	DL	0,86
SW951	121	DL	0,84
S0227	226	Pietrain	0,69
S0227	226	DL	0,82
S0227	226	DL x DE	0,83
S0227	226	DE x DL	0,86
S0227	226	Pig Improvement Company	0,90
S0227	226	Schaumann	0,81
S0227	226	Bay Hybrid	0,85
S0227	226	Ba Wue Hybrid	0,94
S0227	226	sonstige Hybride	0,82
S0227	226	Sonstige	0,83
SW240	94	DE x DL	0,71
SW72	96	Pietrain	0,84
SW911	155	DL	0,84
SW936	108	Pietrain	0,71

Es ist zu erkennen, dass es bei DL vermehrt zu Allelen kommt, die eine Frequenz von über 0,7 aufweisen. Die Rasse Pietrain zeigt an zwei Markern ein extrem stark vertretenes Allel. Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass diese Teilpopulationen als reine Rasse der genetischen Drift stärker unterworfen sind als die übrigen Rassenkombinationen. Weiter fällt auf, dass einige Allele nur vereinzelt bei bestimmten Rassen bzw. Rassenkombinationen auftreten, hier kann allerdings keine der Teilpopulationen als besonders auffällig bezeichnet werden.



4.1.2 Heterozygotiegrad

Der Heterozygotiegrad wurde nach der Formel 3 mit dem Paket ‚Genetics‘ des Programms R nach Rasse bzw. Rassenkombination für jeden einzelnen Locus ermittelt. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Tabelle 8: Heterozygotiegrad nach Rasse bzw. Rassenkombination und Loci

Marker	Rasse bzw. Rassenkombination										
	<i>Pietrain</i>	<i>DL</i>	<i>DL x DE</i>	<i>DE x DL</i>	<i>Pig Impr.C.</i>	<i>Schaumann</i>	<i>Bayern Hybrid</i>	<i>BaWue Hybrid</i>	<i>sonstige Hybride</i>	<i>Sonstige</i>	<i>Ø alle</i>
S0005	0,86	0,76	0,86	0,88	0,78	0,89	0,88	0,89	0,91	0,90	0,86
S0090	0,69	0,41	0,67	0,72	0,73	0,73	0,71	0,70	0,73	0,74	0,68
S0101	0,58	0,50	0,65	0,69	0,76	0,57	0,69	0,73	0,70	0,68	0,66
S0155	0,73	0,69	0,69	0,73	0,63	0,67	0,69	0,64	0,70	0,75	0,69
S0355	0,70	0,25	0,60	0,64	0,66	0,60	0,60	0,73	0,60	0,68	0,61
S0386	0,50	0,65	0,69	0,67	0,66	0,75	0,70	0,68	0,68	0,70	0,67
SW24	0,81	0,69	0,79	0,79	0,75	0,79	0,80	0,71	0,79	0,80	0,77
SW240	0,81	0,69	0,54	0,47	0,74	0,73	0,55	0,64	0,69	0,68	0,65
SW857	0,76	0,68	0,80	0,81	0,76	0,81	0,82	0,80	0,81	0,82	0,79
SW951	0,52	0,27	0,55	0,53	0,65	0,57	0,62	0,53	0,69	0,64	0,56
S0227	0,47	0,31	0,30	0,24	0,17	0,33	0,26	0,11	0,30	0,29	0,28
SW72	0,28	0,56	0,69	0,67	0,70	0,74	0,72	0,70	0,75	0,74	0,66
SW911	0,63	0,28	0,52	0,51	0,62	0,66	0,56	0,55	0,63	0,62	0,56
SW936	0,48	0,73	0,78	0,72	0,75	0,77	0,77	0,76	0,72	0,73	0,72
Ø Loci	0,63	0,53	0,65	0,65	0,67	0,68	0,71	0,66	0,69	0,70	

In der letzten Spalte sind die durchschnittlichen Heterozygotiegrade eines jeden Locus über alle Rassen bzw. Rassenkombinationen verzeichnet. Dieser bewegt sich zwischen 0,28 und 0,86 und beträgt im Mittel über alle betrachteten 14 Loci 0,65. Auffallend ist hier der Marker S0227, der in keiner Rasse bzw. Hybridkombination eine höhere Heterozygotie als 0,47 erreicht. Der Marker S0005 weist mit einem durchschnittlichen Ergebnis von 0,86 den höchsten Wert auf.

Bei Betrachtung der einzelnen Teilpopulationen fällt DL mit einer um mindestens 0,1 kleineren mittleren Heterozygotie als alle übrigen auf. Die Rasse Pietrain liegt in dieser Untersuchung leicht unter den mittleren Ergebnissen der anderen Rassenkombinationen. Diese Resultate könnten darin begründet sein, dass dieses die einzigen reinen Rassen in der betrachte-



ten Population der IGZ GbR sind. Gegenüber den Hybriden ist die Variation der Allele bei den reinrassigen Tieren eingeschränkt.

4.1.3 Polymorphism Information Content (PIC)

Tabelle 9 zeigt die aus den beobachteten Allelfrequenzen mit der Formel 4 berechneten Polymorphism Information Content Werte.

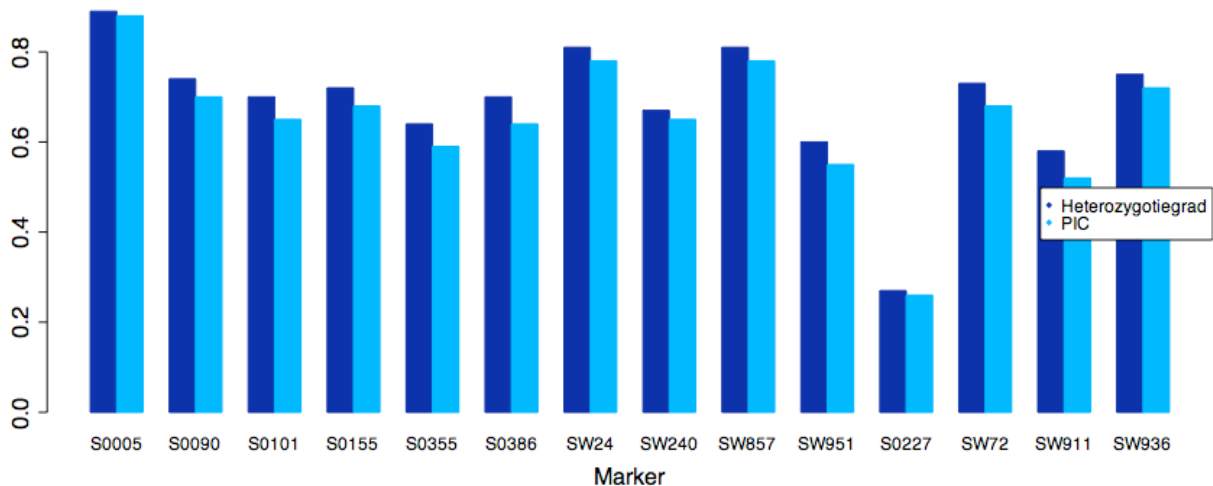
Tabelle 9: Polymorphism Information Content nach Rasse bzw. Rassenkombination und Locus

Marker	Rasse bzw. Rassenkombination										
	Pietrain	DL	DL x DE	DE x DL	Pig Impr.C.	Schaumann	Bayern Hybrid	BaWue Hybrid	sonstige Hybride	Sonstige	Ø alle
S0005	0,84	0,74	0,84	0,86	0,76	0,87	0,87	0,87	0,90	0,90	0,85
S0090	0,64	0,36	0,63	0,68	0,69	0,67	0,67	0,66	0,69	0,70	0,64
S0101	0,51	0,43	0,60	0,63	0,72	0,49	0,64	0,68	0,66	0,62	0,60
S0155	0,68	0,66	0,64	0,68	0,56	0,62	0,63	0,59	0,65	0,71	0,64
S0355	0,63	0,24	0,57	0,60	0,60	0,56	0,56	0,69	0,54	0,63	0,56
S0386	0,42	0,60	0,63	0,61	0,61	0,70	0,64	0,61	0,62	0,64	0,61
SW24	0,78	0,64	0,76	0,76	0,72	0,75	0,77	0,66	0,76	0,77	0,74
SW240	0,78	0,64	0,51	0,44	0,71	0,68	0,52	0,61	0,67	0,66	0,62
SW857	0,72	0,62	0,77	0,78	0,72	0,77	0,79	0,76	0,78	0,80	0,75
SW951	0,46	0,25	0,47	0,48	0,59	0,50	0,56	0,42	0,63	0,58	0,49
S0227	0,42	0,27	0,28	0,22	0,16	0,31	0,24	0,10	0,26	0,27	0,25
SW72	0,27	0,48	0,64	0,62	0,65	0,69	0,68	0,65	0,70	0,69	0,61
SW911	0,55	0,25	0,46	0,47	0,55	0,60	0,51	0,44	0,58	0,57	0,50
SW936	0,46	0,69	0,75	0,68	0,70	0,72	0,73	0,73	0,69	0,69	0,68
Ø Loci	0,58	0,49	0,61	0,61	0,62	0,64	0,63	0,61	0,65	0,66	

Die für die einzelnen Rassenkombinationen ermittelten Werte liegen zwischen 0,10 (BaWue Hybrid, Marker S0227) und 0,90 (Sonstige, Marker S0005). Elf Marker haben mittlere Polymorphism Information Content Werte, die größer als 0,5 sind und können nach BOTSTEIN *et al.* (1980) als hoch informativ bezeichnet werden, drei davon weisen sogar Werte zwischen 0,74 und 0,85 auf. Die Marker S0227, SW951 und SW911 mit einem PIC zwischen 0,25 und 0,5 sind als hinreichend informativ einzustufen, wobei der Marker S0227 mit einem Wert von 0,25 den mit Abstand niedrigsten PIC aufweist. Über alle 14 Loci betrachtet liegen die verwendeten Marker für neun der zehn Teilpopulationen im sehr informativen Bereich, die Rasse DL weist mit 0,49 den niedrigsten Durchschnittswert auf.



Um die Aussagekraft des Mikrosatelliten-Sets für sämtliche bis zum Datenschnitt genotypisierten Tiere zu überprüfen werden zusätzlich die Genotypen aller dieser 5.604 Schweine ohne Berücksichtigung von Rasseangaben eingesetzt, um den Heterozygotiegrad und den PIC für die einzelnen Marker zu bestimmen. In Grafik 4 sind diese Werte aufgetragen.



Grafik 4: Heterozygotiegrad und PIC der eingesetzten Marker für alle 5.604 genotypisierten Schweine

Mit Werten zwischen 0,27 (Marker S0227) und 0,89 (Marker S0005) für die Heterozygotie und PIC-Werten von 0,26 (Marker S0227) bis 0,88 (Marker S0005) weichen die für alle typisierten Tiere ermittelten Ergebnisse unwesentlich von den für die nach Rasse bzw. Rassenkombination sortierten Schweinen ab. Gegenüber den mittleren Heterozygotiegrad- bzw. Polymorphism Information Content-Werten für die nach Rasseangaben geordneten Tiere sind keine signifikanten Differenzen festzustellen, die Ergebnisse liegen um jeweils 0,03 über den zuvor für die einzelnen Rassen bzw. Rassenkombinationen berechneten Werten.

4.1.4 Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Mit Hilfe des R-Pakets ‚Genetics‘ wurde ermittelt, ob sich die beobachteten Zahlenverhältnisse der Allele im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden. Dazu wurden die zu erwartenden Frequenzen den beobachteten mittels eines χ^2 -Tests nach Formel 4 gegenübergestellt um die Testgröße g zu ermitteln.

Tabelle 10 zeigt die g - und p -Werte für die Rassen Pietrain, DL und die Rassenkombinationen DL x DE, Pig Improvement Company, Schaumann, Bayern Hybrid und BaWue Hybrid.

**Tabelle 10: Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts**

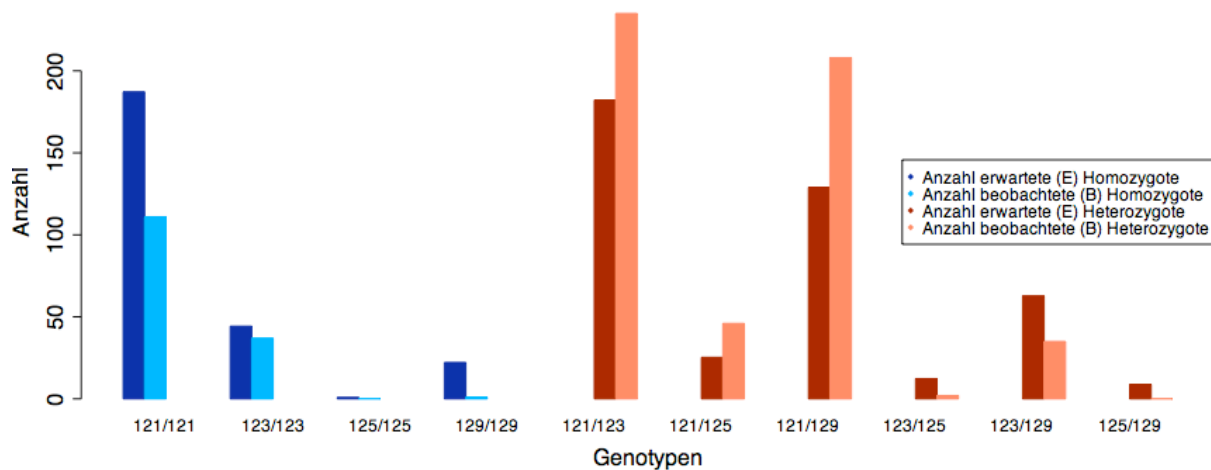
Marker	Rasse bzw. Rassenkombination													
	Pietrain		DL		DL x DE		Pig Improv. Company		Schaumann		Bayern Hybrid		Ba.Wue. Hybrid	
	g	p	g	p	g	p	g	p	g	p	g	p	g	p
S0005	73,41	1,00	118,15	1,00	151,38	1,00	210,47	0,66	121,55	1,00	347,86	0,65	183,19	1,00
S0090	11,15	0,96	12,30	1,00	35,83	0,44	22,22	0,99	42,78	0,00	193,51	0,01	61,32	0,52
S0101	4,85	1,00	21,46	0,26	20,49	0,99	23,10	1,00	11,72	0,84	82,08	0,00	79,59	0,01
S0155	19,69	0,92	31,75	0,73	55,40	0,02	2,25	0,99	8,42	1,00	61,14	0,00	28,76	0,81
S0355	6,79	0,69	329,44	0,04	35,41	0,11	27,34	0,12	30,19	0,69	144,56	0,00	57,51	0,86
S0386	2,53	1,00	10,98	0,82	50,40	0,62	62,97	0,77	11,93	0,99	99,79	0,03	21,56	1,00
SW24	38,95	0,98	60,10	0,98	150,93	0,05	44,33	0,46	28,15	0,99	251,61	0,06	77,32	0,05
SW240	15,37	0,99	50,39	1,00	163,84	0,04	109,15	0,39	35,97	0,95	36,03	0,56	37,54	1,00
SW857	9,79	1,00	41,77	0,38	51,30	0,23	100,26	0,22	57,37	0,59	209,53	0,25	43,72	0,79
SW951	2,10	0,74	9,15	0,46	26,30	0,37	18,24	0,99	5,15	0,97	163,61	0,00	14,86	0,17
S0227	6,13	0,21	0,41	1,00	2,91	0,61	4,68	0,20	2,95	0,67	5,19	0,27	1,00	0,72
SW72	7,40	0,60	13,80	0,64	41,10	0,08	56,42	0,02	24,58	0,11	47,76	0,01	53,66	0,05
SW911	5,72	0,98	36,06	0,16	21,91	0,88	14,35	0,99	16,37	0,63	57,25	0,06	5,05	1,00
SW936	28,21	0,48	42,16	0,88	58,00	0,90	41,23	1,00	31,88	0,77	80,51	0,35	49,89	0,77

Es wurden 98 Tests mit den Allelfrequenzen von sieben Rassen bzw. Rassenkombinationen an 14 Mikrosatelliten durchgeführt. Aufgrund der unterschiedlichen Anzahl Allele in den verschiedenen Populationen nimmt g sehr unterschiedliche Werte innerhalb der Betrachtung eines Markers an. Die ermittelten p -Werte liegen im Erwartungsbereich, bei der Betrachtung auf 5%-Signifikanzniveau kann bei dieser Anzahl Tests davon ausgegangen werden, dass fast fünfmal die Nullhypothese (die Population befindet sich im HWGG) fälschlicherweise abgelehnt wird. Insgesamt zeigt Tabelle 10 sieben p -Werte (blau) unter 0,05 und fünf (rot) unter 0,01, wobei kein Marker als extrem auffällig bezeichnet werden kann. Auch können Genotypisierungsfehler ausgeschlossen werden, da sich für diesen Fall eine größere Anzahl Abweichungen vom HWGG ergeben hätten.

Für die Rassenkombination Bayernhybrid kann an sieben der 14 Mikrosatelliten die Nullhypothese nicht bestätigt werden. Mögliche Ursachen für dieses Ergebnis liegen in der Kreuzungszucht und den damit verbundenen Allelfrequenzenunterschieden der eingesetzten Rassen zur Erstellung dieser Hybridrasse, wodurch ein Anstieg der Anzahl Heterozygoter gegeben sein kann. Zur näheren Untersuchung eines eventuellen Heterozygotenüberschusses soll



die Differenz von erwarteten und beobachteten Genotypen an einem Locus bei der Rassenkombination Bayernhybrid genauer betrachtet werden.



Grafik 5: Erwartete (E) und beobachtete (B) Genotypen der Rasse Bayernhybrid am Marker SW951

Grafik 5 zeigt deutliche Unterschiede der Differenz der Anzahl erwarteter und beobachteter Genotypen zwischen Homo- und Heterozygoten am Marker SW951. Insgesamt sind mehr als 100 Genotypen, die unter Annahme des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts als homozygot erwartet worden wären, heterozygot. Hier zeigt sich die Tendenz zu einem Überschuss der Heterozygoten, was als Ursache für die Ergebnisse der Tests auf HWGG bei der Rasse Bayernhybrid zu sehen ist.

Allgemein betrachtet kann eine vollständige Übertragung der Gene nach dem HWGG nur bei sehr großen (idealen) Populationen getroffen werden, die keinerlei Evolutionsfaktoren unterworfen sind und in denen unter anderem zufällige Paarung vorherrscht.

4.2 Ergebnisse zur Rückverfolgbarkeit

4.2.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten

Die unter 3.3.1 angegebenen Formeln 6, 7 und 8 zur Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeiten wurden in R-Programmen umgesetzt. So lassen sich die Ausschlusswahrscheinlichkeiten für die Situationen, in denen ein oder beide Elternteile bekannt sind, aus den Allelfrequenzen für die einzelnen Marker ermitteln.



4.2.1.1 Berechnete Ausschlusswahrscheinlichkeiten an einzelnen Mikrosatelliten

In Tabelle 11 sind die Ausschlusswahrscheinlichkeiten für den Fall, dass ein Elter bekannt ist, für die Allelfrequenzen der Rassen und Rassenkombinationen in der IGZ angegeben.

Tabelle 11: Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Marker, ein Elter bekannt

Marker	Rasse bzw. Rassenkombination									
	Pietrain	DL	DL x DE	DE x DL	Pig Imp.C.	Schau-mann	Bayern Hybrid	BaWue Hybrid	sonstige Hybride	Sonstige
S0005	0,553	0,389	0,562	0,599	0,435	0,621	0,624	0,619	0,683	0,675
S0090	0,269	0,087	0,262	0,318	0,318	0,305	0,290	0,299	0,332	0,345
S0101	0,168	0,128	0,235	0,263	0,356	0,165	0,313	0,271	0,289	0,259
S0155	0,316	0,293	0,276	0,318	0,207	0,250	0,226	0,273	0,286	0,351
S0355	0,264	0,033	0,210	0,239	0,238	0,206	0,325	0,206	0,199	0,267
S0386	0,124	0,233	0,259	0,241	0,245	0,337	0,249	0,264	0,245	0,272
SW24	0,449	0,276	0,409	0,413	0,356	0,402	0,296	0,431	0,417	0,442
SW240	0,440	0,275	0,166	0,119	0,354	0,320	0,247	0,170	0,308	0,300
SW857	0,358	0,258	0,429	0,444	0,354	0,428	0,415	0,461	0,455	0,474
SW951	0,134	0,037	0,153	0,146	0,222	0,162	0,139	0,204	0,269	0,223
S0227	0,110	0,047	0,045	0,029	0,015	0,054	0,006	0,033	0,045	0,043
SW72	0,041	0,161	0,275	0,262	0,281	0,328	0,279	0,317	0,337	0,325
SW911	0,205	0,040	0,139	0,139	0,207	0,236	0,149	0,167	0,218	0,213
SW936	0,129	0,325	0,407	0,321	0,338	0,360	0,367	0,371	0,331	0,335

Mit einem Wert von 0,675 wurde hier für den Marker S0005 in den ‚Sonstigen‘ die größte Ausschlusswahrscheinlichkeit berechnet. Das kleinste Ergebnis ist am Marker S0227 für die Bayern-Hybrid-Schweine zu erkennen, dieser Marker hat mit Angaben von 0,6% (Pig Impr.Com.) bis 11,0% (Pietrain) die niedrigsten Ausschlusswahrscheinlichkeiten aller betrachteten Mikrosatelliten. Die ermittelten Werte differieren für einzelne Rassen bzw. Rassenkombinationen, so bewegt sich die Ausschlusswahrscheinlichkeit für den Marker SW72 zwischen 16,1% (DL x DE) und 33,7% (sonstige Hybride), wobei in der Rasse Pietrain ein Ergebnis von 4,1% berechnet wurde. Die mit der Formel 8 ermittelten Ausschlusswahrscheinlichkeiten, in der davon ausgegangen wird, dass beide Eltern bekannt sind, sind in Tabelle 12 dargestellt.

**Tabelle 12: Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Marker, beide Eltern bekannt**

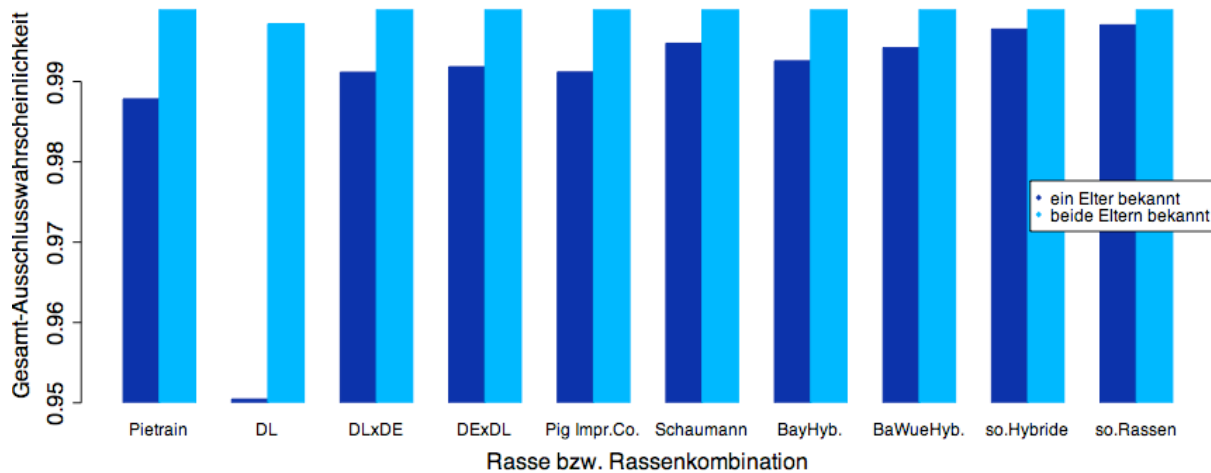
Marker	Rasse bzw. Rassenkombination									
	Pietrain	DL	DL x DE	DE x DL	Pig Imp.C.	Schaumann	Bayern Hybrid	BaWue Hybrid	sonstige Hybride	Sonstige
S0005	0,715	0,570	0,721	0,751	0,618	0,767	0,769	0,765	0,812	0,806
S0090	0,442	0,205	0,438	0,499	0,495	0,480	0,468	0,479	0,510	0,522
S0101	0,315	0,247	0,399	0,429	0,534	0,297	0,491	0,440	0,464	0,424
S0155	0,495	0,479	0,445	0,492	0,355	0,421	0,394	0,438	0,459	0,530
S0355	0,428	0,140	0,388	0,418	0,399	0,387	0,499	0,382	0,349	0,441
S0386	0,234	0,401	0,420	0,400	0,411	0,512	0,410	0,426	0,402	0,436
SW24	0,626	0,446	0,586	0,592	0,538	0,582	0,469	0,608	0,595	0,618
SW240	0,617	0,447	0,335	0,277	0,538	0,500	0,426	0,343	0,496	0,490
SW857	0,538	0,419	0,606	0,620	0,531	0,606	0,593	0,637	0,632	0,648
SW951	0,270	0,130	0,286	0,292	0,376	0,297	0,230	0,360	0,438	0,379
S0227	0,247	0,142	0,152	0,120	0,082	0,171	0,052	0,132	0,139	0,148
SW72	0,152	0,292	0,443	0,435	0,452	0,508	0,448	0,494	0,513	0,500
SW911	0,347	0,136	0,276	0,297	0,346	0,402	0,244	0,328	0,385	0,378
SW936	0,295	0,499	0,588	0,501	0,514	0,538	0,549	0,549	0,517	0,516

Ebenso wie für den Ausschluss für einen bekannten Elter (Tabelle 11) sind hier am Marker S0227 die kleinsten Ausschlusswahrscheinlichkeiten mit Werten zwischen 5,2% (Bayern Hybrid) und 24,7% (Pietrain) zu finden. Am Marker S0005 lässt sich die höchste aller betrachteten Ausschlusswahrscheinlichkeiten bei den sonstigen Hybriden mit 81,2% ermitteln.

4.2.1.2 Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten

Grafik 6 zeigt die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten für die verschiedenen Rassen bzw. Rassenkombinationen der verwendeten 14 Mikrosatelliten.

Die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten für einen bekannten Elter bewegen sich für die einzelnen Populationen von 95,05% bis 99,70%, wobei sie für DL deutlich unter dem Ergebnis der übrigen Rassen bzw. Rassenkombinationen liegt. Auch für den Fall, dass beide Eltern bekannt sind, weist die Rasse DL mit 99,71% die kleinste Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit auf.



Grafik 6: Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Rassen bzw. Rassenkombinationen

4.2.1.3 Beziehung von Ausschlusswahrscheinlichkeit und der Sicherheit der Rückverfolgbarkeit

Nach Formel 8 ergibt sich eine mittlere Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit für das eingesetzte 14-Marker-Set in der Population der IGZ GbR von 98,63% für einen bekannten Elter, somit ist die Wahrscheinlichkeit, eine Sau als potentielle Mutter unter Verwendung der 14 ausgewählten Mikrosatelliten als potentielle Mutter auszuschließen

- $0,9863 = (cExclp)^1 = (0,9863)^1$

Im Produktionssystem der IGZ GbR werden 4.600 Sauen eingesetzt, was einen Ausschluss von 4.599 Sauen erfordert, um die wahre Mutter zu finden und damit auf den Geburtsbetrieb einer Probe schließen zu können. Der Wert x_1 (Anzahl der auszuschließenden Sauen) wird somit sehr groß und die Wahrscheinlichkeit, mit dem 14-Markerset 4.599 Sauen auszuschließen (Sicherheit des Ausschlusses), sehr klein

- $(cExclp)^{4.599} = (0,9863)^{4.599} = 2,8 * 10^{-28}$

Um dem Verbraucher eine Sicherheit des Ausschlusses von 99,5% (0,995) bieten zu können, muss die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit des Markersets erhöht werden, mit ansteigendem $cExclp$ wird der Term $(cExclp)^{4.599}$ größer.

- $(cExclp)^{4.599} = (0,999)^{4.599} = 0,01$
- $(cExclp)^{4.599} = (0,9999)^{4.599} = 0,63$

$cExclp$ muss demnach so gewählt werden, dass $(cExclp)^{4.599}$ einen Wert von mindestens 0,995 erreicht

- $(cExclp)^{4.599} = (???)^{4.599} = 0,995$



Bei einer Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit des Mikrosatelliten-Sets von 0,999999 ergibt sich eine Sicherheit des Ausschlusses bei 4.600 betrachteten Sauen von 99,5%.

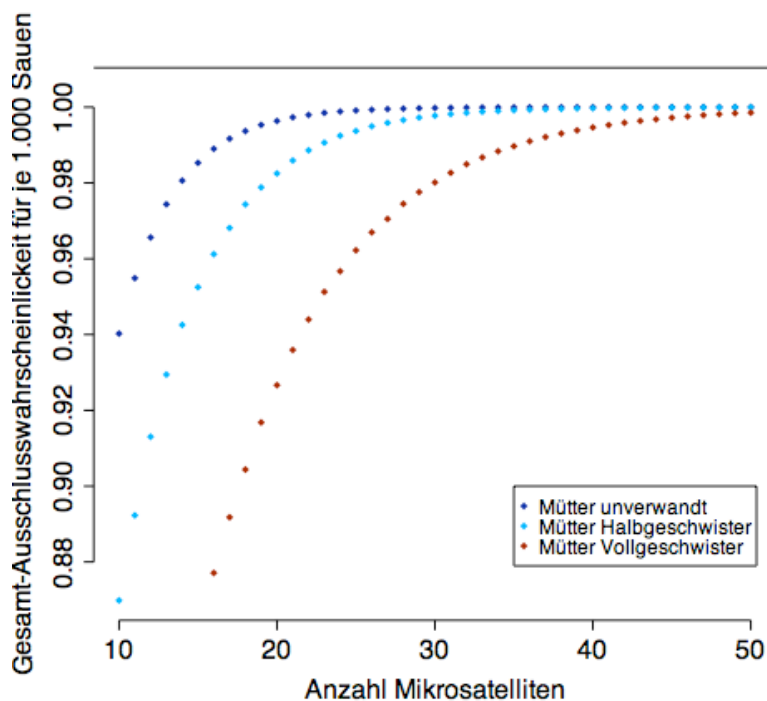
Es sind nun zwei Möglichkeiten gegeben, um diesen Wert zu erreichen. Zum einen eine Erhöhung der Anzahl der Mikrosatelliten oder eine Auswahl von polymorpheren Markern.

Diese Berechnung kann auf die Situation, dass beide Elternteile bekannt sind, übertragen werden. Für diesen Fall muss der Term $(cExclP)^{x_2}$ den Wert 0,995 annehmen, wobei $cExclP$ die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit eines Markersets und x_2 die Anzahl der möglichen Elternpaare angibt.

4.2.2 Verwandtschaft der Sauen-Population

4.2.2.1 Darstellung des möglichen Einflusses einer Verwandtschaft zwischen den Sauen

In Grafik 7 sind die Ergebnisse der die um den Faktor $(1-c)$ erweiterten Formel 9 berücksichtigenden Simulation für jeweils 1.000 unverwandte, Halbgeschwister und Vollgeschwister-sauen dargestellt. Die einzelnen Mikrosatelliten sowie die entsprechenden Einzelausschlusswahrscheinlichkeiten wurden im Programm (siehe 9.1.5.1) simuliert.



Grafik 7: Übertragung der um den Faktor $(1-c)$ erweiterten Formel zur Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit nach SHERMAN *et al.* (2004) auf die Situation beim Schwein



Die Grafik macht deutlich, dass mit steigendem Grad der Verwandtschaft eine größere Anzahl Marker zum Erreichen einer bestimmten Ausschlusswahrscheinlichkeit benötigt wird. Mit dieser Untersuchung konnte der Einfluss einer Verwandtschaft innerhalb der Sauenpopulation auf die zu einer sicheren Rückverfolgung benötigte Anzahl Mikrosatelliten gezeigt werden.

4.2.2.2 Verwandtschaftsverhältnisse der Sauen in der IGZ GbR

Zur Ermittlung der Vollgeschwister in der Sauenpopulation der IGZ werden die einzelnen Spalten ‚Mutter‘ und ‚Vater‘ der vorher nach Sauennummern sortierten Matrix zu einer Spalte ‚Eltern‘ zusammengefasst. Diese durchläuft die Funktion „summary“ wie unter 3.3.2.2 beschrieben und liefert die in Tabelle 13 dargestellte Anzahl an Vollgeschwistern.

Tabelle 13: Vollgeschwister der Sauenpopulation der IGZ

<i>Vollgeschwister</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>
Anzahl	665	78	63	48	43	18	6	11	4	1

Von den 1.701 Sauen mit vollständigen Elternangaben weisen 665 (39,1%) keine Vollgeschwister auf. Die maximale Anzahl Vollgeschwister, die auftritt, ist zehn und kommt in der betrachteten Population einmal vor, die Sauen stammen jeweils aus einem Wurf und sind auf demselben Betrieb eingesetzt.

Zur Veranschaulichung werden die Genotypen einer der größten Gruppen Vollgeschwistersauen im System dargestellt. Die Genotypen von neun Vollgeschwistersauen mit der Mutter ‚9000000465007‘ und dem Vater ‚5012660046000‘ zeigt Tabelle 14.

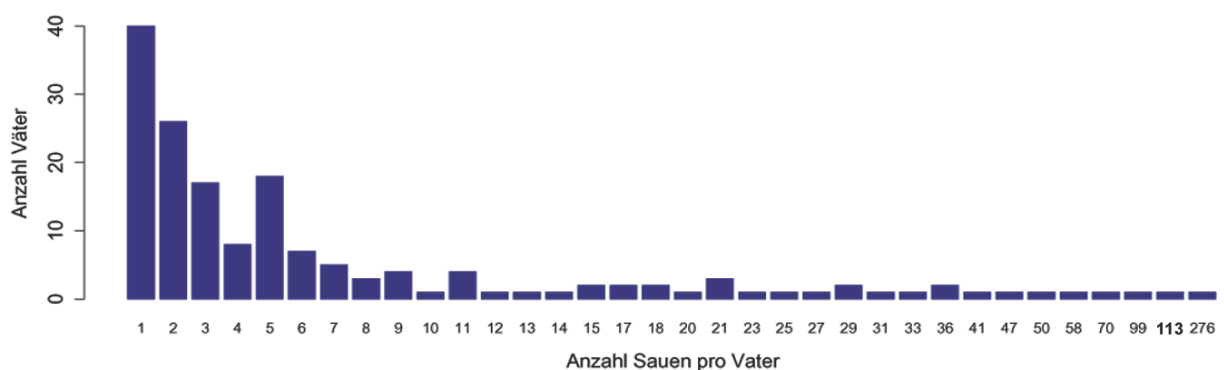
Obwohl die neun Sauen an einigen Markern die gleichen Allele aufweisen, weisen unter diesen Vollgeschwistern keine Tiere einen völlig übereinstimmenden Genotyp auf. Genotypen, die bei allen hier untersuchten Vollgeschwistersauen an einem Marker identische Allele haben, sind rot dargestellt, die Allele, die mindestens einmal bei jeder dieser Sauen auftreten, blau.

Hier zeigt sich, dass der Genotyp der neun Vollgeschwister an vier der 14 Mikrosatelliten vollkommen übereinstimmt. An weiteren acht Markern weisen sie ein identisches Allel auf. Diese Skizzierung lässt erkennen, dass bei der Rückverfolgung einer Probe nur auf die Mutter wie in Szenario 1 mehrere der neun Sauen als Mutter einer Probe in Frage kommen.

**Tabelle 14: Genotypen der neun Vollgeschwistersauen**

<i>Saunummer</i>	<i>Genotyp</i>							
2.00.309.00905.w	215/243	237/239	209/211	156/156	241/241	172/172	94/102	
	94/94	138/146	121/123	226/226	96/108	155/155	96/108	
2.00.309.00909.w	215/243	237/239	209/211	156/156	241/241	172/172	94/102	
	94/104	138/148	121/123	226/226	96/96	155/155	96/108	
2.00.309.00910.w	215/227	237/239	209/211	156/156	241/241	172/182	94/102	
	94/104	148/148	121/123	226/226	96/96	155/155	96/108	
2.00.309.00911.w	215/227	237/239	209/211	156/156	241/241	172/172	102/114	
	94/104	138/146	121/123	226/238	96/96	155/155	96/108	
2.00.309.00913.w	215/243	237/239	209/211	156/156	241/241	174/182	94/102	
	94/104	148/148	121/123	226/226	96/108	155/155	108/110	
2.00.309.00915.w	215/227	237/239	209/211	156/156	241/241	174/182	102/114	
	94/104	148/148	121/121	226/238	96/96	155/155	96/108	
2.00.309.00918.w	215/227	237/239	209/209	156/156	241/241	172/182	102/114	
	94/104	138/148	121/123	226/238	96/96	155/155	96/108	
2.00.309.00919.w	215/243	237/239	209/211	156/156	241/241	174/182	94/102	
	94/104	146/148	121/121	226/226	96/108	155/155	96/108	
2.00.309.00938.w	215/215	237/239	209/209	156/156	241/241	172/182	94/102	
	94/94	138/148	121/121	226/238	96/108	155/155	108/110	

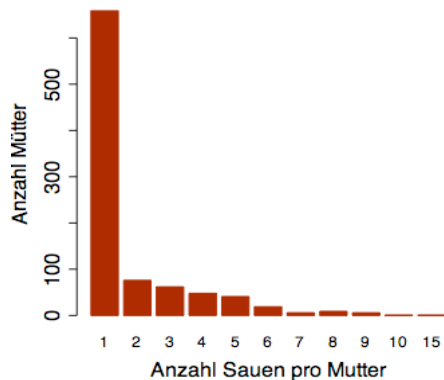
Neben der Anzahl der Vollgeschwister soll auch die der mütterlichen – bzw. väterlichen Halbgeschwister betrachtet werden. Die Ergebnisse sind in Grafik 8 bzw. 9 dargestellt.

**Grafik 8: Väterliche Halbgeschwister der Sauenpopulation der IGZ GbR**

Grafik 8 zeigt, dass die Anzahl der väterlichen Halbgeschwister deutlich höher liegt als die der Sauen mit identischen Müttern. Bei lediglich 40 der 1.701 betrachteten Sauen taucht der



Vater nur einmal auf, ein als Vater auftretender Eber hat in dieser Population 276 Töchter, was durch Einsatz der künstlichen Besamung zu erklären ist.



Grafik 9: Mütterliche Halbgeschwister der Sauenpopulation der IGZ GbR

Die Darstellung der mütterlichen Halbgeschwistersauen zeigt eine Mutter, die in der betrachteten Population 15 Sauen stellt. 659 der Sauen haben Mütter, die nur einmal erscheinen.

4.2.3 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems

Durch rückverfolgbares Schweinefleisch soll dem Konsumenten eine verlässliche Ware aus der Produktionskette der IGZ GbR angeboten werden. Dieses erfordert eine sichere Rückverfolgbarkeit von mindestens 99,5%. Eine Überprüfung der Rückverfolgbarkeit erfolgt theoretisch über die Simulationen und praktisch über die drei zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführten Testläufe. Ziel der Simulationen, in denen eindeutig aus dem System stammende Proben zurückverfolgt werden, ist der Ausschluss sämtlicher potentieller genetisch möglicher Eltern im System bis auf das wahre Elternpaar. Es sollen auch Proben, die wissenschaftlich nicht aus dem System stammen, als solche erkannt werden, ihnen darf kein genetisch mögliches Elternpaar, dessen Anpaarung tatsächlich stattgefunden hat, zugeordnet werden können. Die Simulationen werden für eine ansteigende Anzahl Mikrosatelliten für die drei in Kapitel 3.3.4 beschriebenen Szenarien durchgeführt. Hier werden jeweils 200 Proben aus dem System entnommen, die zurückverfolgt werden. Diese Anzahl stellt eine Stichprobe dar und die Ergebnisse können nur approximativ im Bezug auf die jeweilige Simulation betrachtet werden.

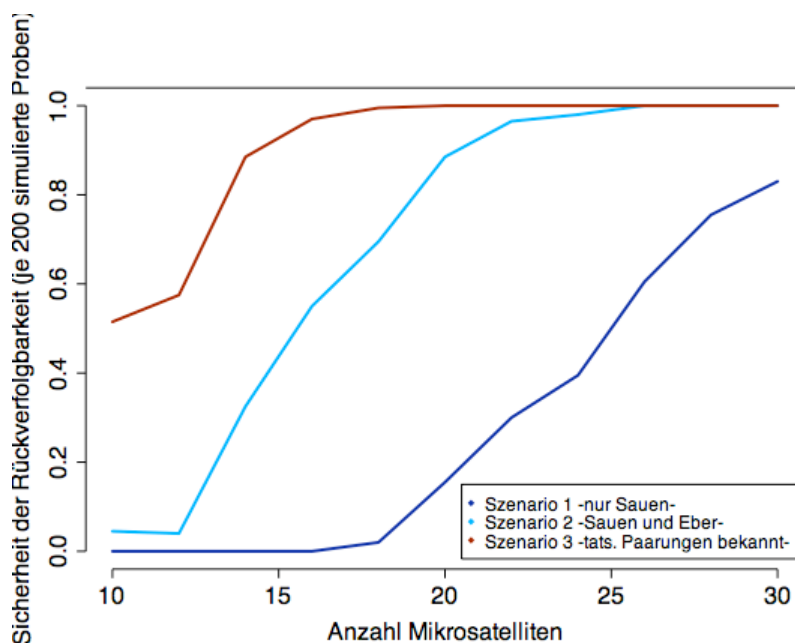
Mit der Sicherheit der Rückverfolgbarkeit wird im Folgenden der Anteil der jeweils 200 Proben angegeben, für den genau eine eindeutige Zuordnung einer Mutter bzw. eines Elternpaares ermittelt wurde.



Um die Anzahl der notwendigen Marker für eine eindeutige Rückverfolgbarkeit ermitteln zu können, wurde jedes Szenario zunächst durch Simulationen, für die folgende Annahmen festgelegt wurden, dargestellt.

- 4.600 unverwandte Sauen der Rasse DL oder einer in der IGZ verwendete Rassenkombinationen
- 150 im System eingesetzte Eber der Rasse Pietrain
- eine variierende Anzahl von 10 bis 30 Markern, von denen 14 dem verwendeten Markerset in Allelfrequenzen und PIC-Werten entsprechen, die übrigen 16 sind anhand der durchschnittlich ermittelten Allelzahlen mit einem R-Programm simuliert

Wie unter 3.1.3 beschrieben umfasst die zum Zeitpunkt des Datenschnittes in der IGZ eingesetzte aktive Sauenpopulation 4.412, die aktive Eberpopulation 189 Tiere. Die Ergebnisse der Simulationen mit 4.600 Sauen und 150 Ebern kommen somit der Situation des Systems nahe. Für jedes Szenario lässt sich ein Einsatz von weniger Markern zu einer sicheren Rückverfolgbarkeit erkennen. In Grafik 9 ist diese Sicherheit für jeweils 200 Proben bei Einsatz einer ansteigenden Anzahl Marker für die einzelnen Szenarien dargestellt



Grafik 10: Sicherheit der Rückverfolgbarkeit bei 200 Proben für Szenario 1 bis 3 bei verschiedenen Markeranzahlen

Beim Einsatz von 10 Mikrosatelliten lassen sich für die einzelnen Szenarien große Unterschiede in der Anzahl durchschnittlich gefundener möglicher Mütter (Szenario 1) bzw. El-



ternpaare (Szenario 2 und 3) erkennen. Wird für den Abgleich nur mit den Sauen noch ein Mittel von 441 potentiellen Müttern gefunden, reduziert sich dieser Wert durch Einbeziehung der Eber auf durchschnittlich 212 mögliche Elternpaare. Durch die Erweiterung um zusätzliche Informationen zu den tatsächlichen Paarungen beträgt dieser Durchschnitt vier gefundene Elternpaare.

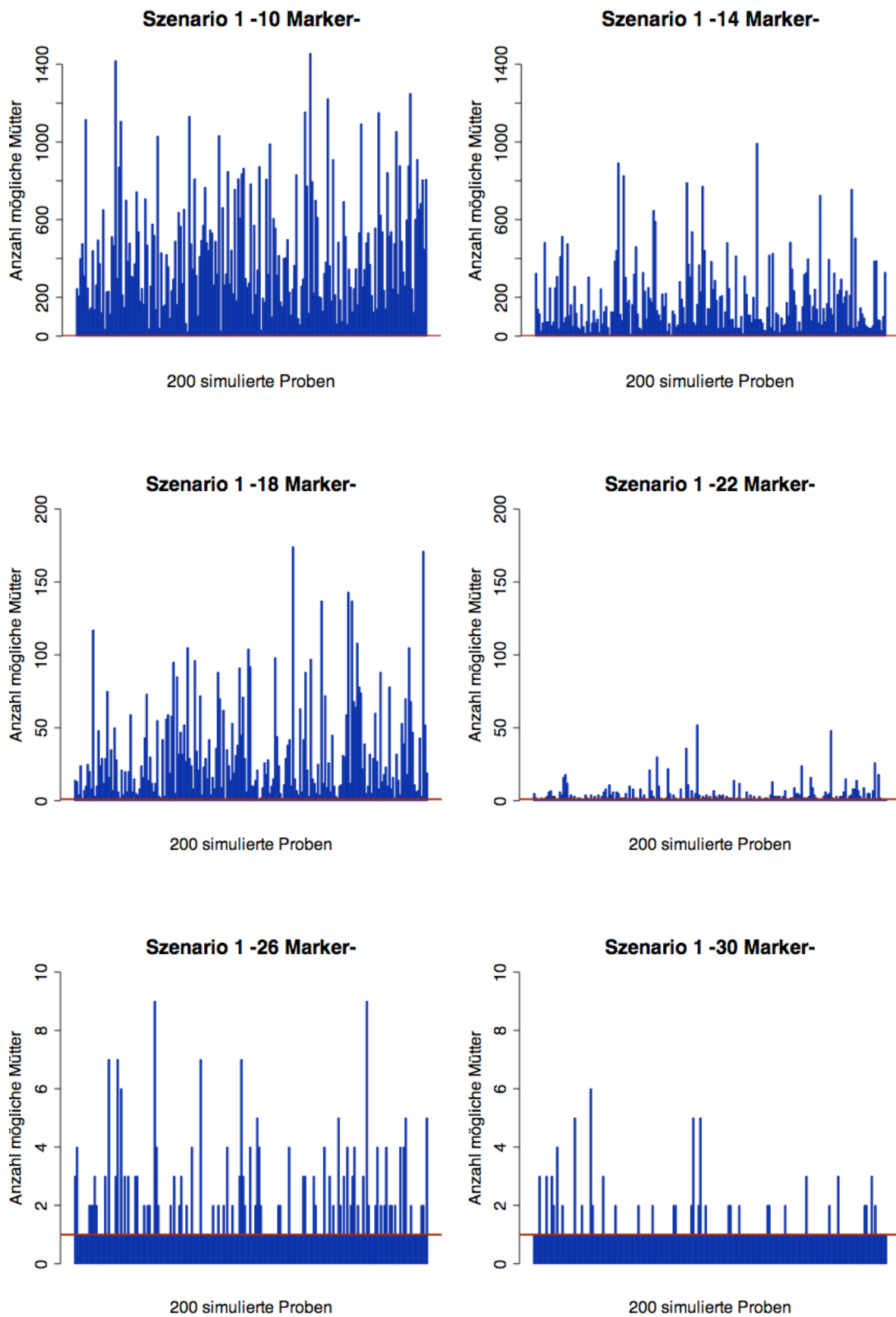
Während für das Szenario 1-Rückverfolgung anhand der Sauen-Genotypen-, selbst bei Einsatz von 30 Mikrosatelliten nur zu 80% eine eindeutige Rückverfolgbarkeit gewährleistet werden kann, erreicht die Kurve für Szenario 2- Einbeziehung der Eber- die Sicherheit der Rückverfolgbarkeit von 100% bei 26 Markern. Bei einer Erweiterung um zusätzliche Informationen (Szenario 3) wird bereits beim Einsatz von 20 Markern nur eine Paarung pro Probe gefunden. Mit jedem Szenario werden weniger Marker benötigt, um die gewünschte eine Mutter bzw. das eine Elternpaar zu ermitteln, um auf den Geburtsbetrieb schließen zu können.

Im Folgenden werden die Einzelergebnisse der Simulationen für jedes der drei Szenarien für eine Anzahl von 10 bis 30 Marker dargestellt. Hier wurde ein Anstieg pro Simulation von jeweils vier Markern gewählt. Die Ergebnisse für die Simulationen im 2-Marker-Abstand sind im Anhang (9.2.2) verzeichnet.

Die Ergebnisse der Simulationen sind als Grafiken dargestellt. Für jedes Szenario wurden an der angegebenen Anzahl Marker Genotypen für jeweils 200 Proben simuliert, die dann zurückverfolgt wurden. Jeder Balken stellt eine Probe dar, die Höhe dieses Balkens zeigt die Anzahl gefundener Mütter bzw. möglicher Paarungen. Die rote Linie stellt jeweils das Optimum dar, in diesem Fall wird für jede Probe nur eine Mutter bzw. ein Elternpaar gefunden.

4.2.3.1 Szenario 1- Rückverfolgung anhand der Sauen-Genotypen

Grafik 11 zeigt die Ergebnisse für die Simulation des ersten Szenarios, bei dem die Genotypen jeder der 200 Proben mit denen der 4.600 Sauen abgeglichen wurden unter Einsatz von 10 bis 30 Mikrosatelliten im 4-Marker-Abstand.



Grafik 11: Simulationen für je 200 Proben mit 4.600 Sauen und 150 Ebern bei einer ansteigenden Anzahl Marker -Szenario 1-



Die Simulationen für dieses erste Szenario zeigen deutlich, dass eine eindeutige Rückverfolgung eine sehr hohe Anzahl Marker erfordert. Bei 10 Mikrosatelliten werden bis zu 1.456 mögliche Mütter gefunden. Zwar ist mit steigender Anzahl eingesetzter Marker ein kontinuierliches Absinken dieser Zahl erkennbar, doch selbst bei 30 Markern werden für 34 Proben bis zu sechs genetisch mögliche Mütter gefunden, was für diese Simulation mit 200 Proben einer Rückverfolgbarkeit von lediglich 83,0% entspricht. Tabelle 15 zeigt die Sicherheit der Rückverfolgung von 200 Proben bei verschiedenen Markeranzahlen für die Simulationen des ersten Szenarios.

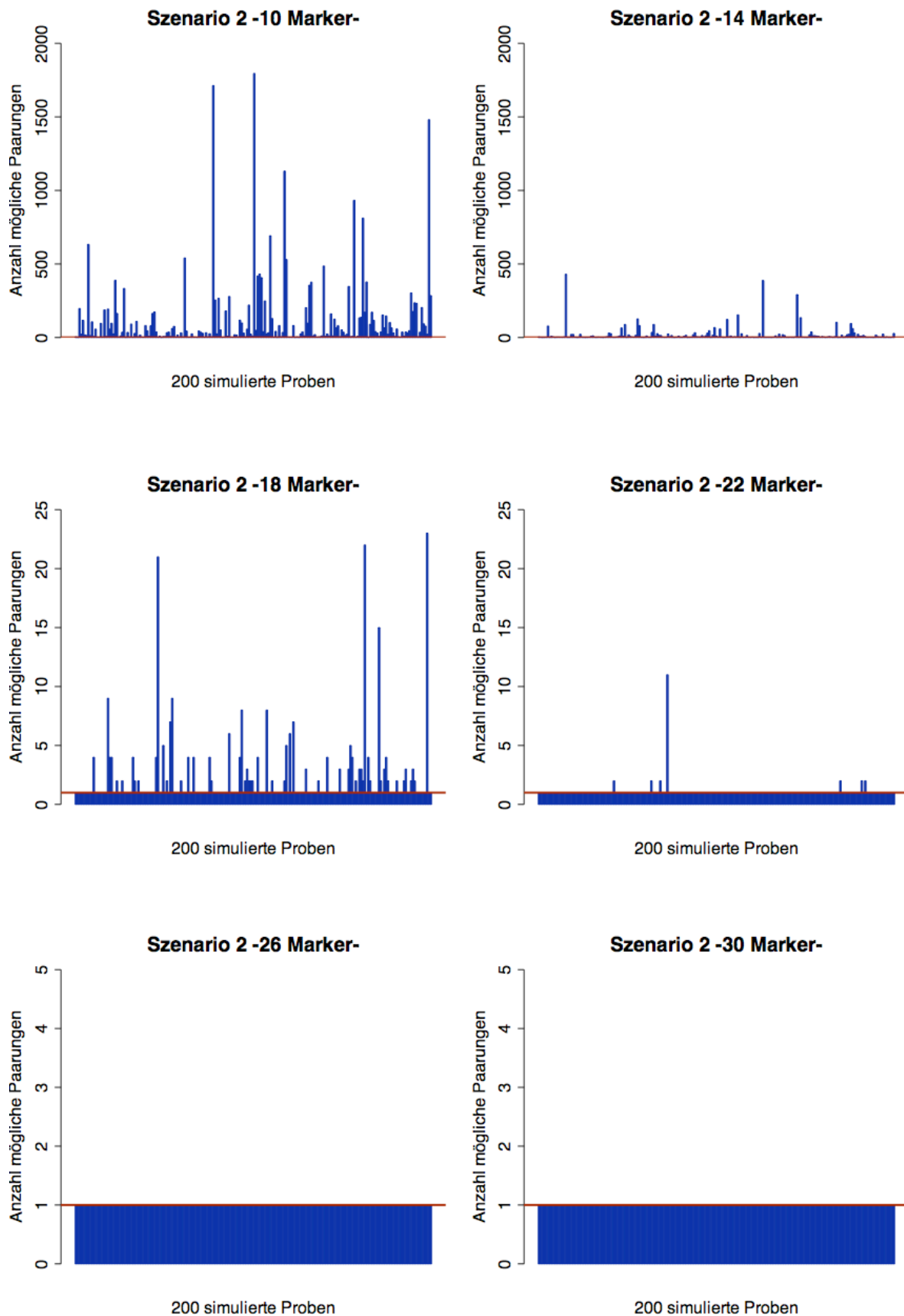
Tabelle 15: Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 1 –nur Sauen-

<i>Anzahl Marker</i>	<i>Anzahl gefundener eindeutig zurückverfolgbarer Proben</i>	<i>Sicherheit der Rückverfolgbarkeit für 200 simulierte Proben</i>
10	0	0,0%
12	0	0,0%
14	0	0,0%
16	0	0,0%
18	4	2,0%
20	31	15,5%
22	60	30,0%
24	79	39,5%
26	121	60,5%
28	151	75,5%
30	166	83,0%

Für eine Markeranzahl unter 18 kann keine der 200 Proben sicher zurückverfolgt werden. Selbst bei Einsatz von 30 Mikrosatelliten kann dem Verbraucher kein eindeutig rückverfolgbares Produkt angeboten werden. Aus der Stichprobe der 200 simulierten Proben werden für lediglich 166 alle Sauen bis auf die wahre Mutter ausgeschlossen.

4.2.3.2 Szenario 2- Einbeziehung der Eber

In Grafik 12 sind die Simulationsergebnisse für das zweite Szenario dargestellt. Hier werden die Genotypen der Proben zunächst mit denen der Sauen, dann mit denen der Eber abgeglichen. Durch die unter 3.3.4.2 in Abbildung 9 veranschaulichte Betrachtung der theoretisch möglichen Paarungen kann so eine zusätzliche Anzahl Sauen als Mütter ausgeschlossen werden.



Grafik 12: Simulationen für je 200 Proben mit 4.600 Sauen und 150 Ebern bei einer ansteigenden Anzahl Marker -Szenario 2-



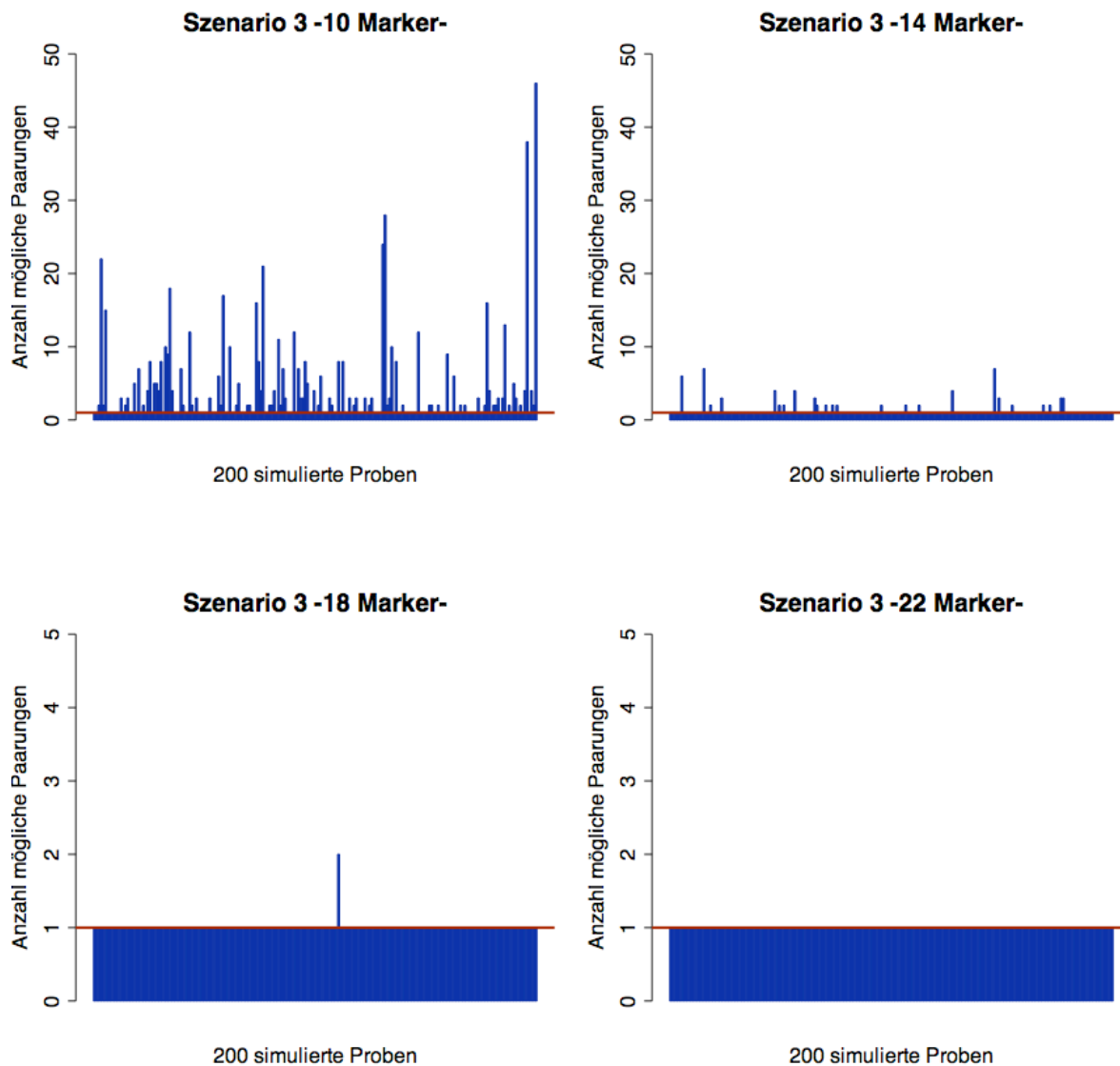
Für dieses zweite Szenario lässt sich durch die Einbeziehung der Eber eine deutlich stärkere Verminderung der gefundenen möglichen Paarungen und somit der möglichen Mütter mit steigender Anzahl Mikrosatelliten feststellen. Sind es für 10 Marker noch bis zu 1.795, ist ab einer Anzahl von 26 eingesetzten Markern konstant nur eine Paarung für jedes der simulierte Probe zu finden. Tabelle 16 zeigt die Sicherheiten des Ausschlusses der 200 betrachteten Proben für das zweite Szenario. Durch die Einbeziehung der Genotypen der Eber können mit Einsatz von 26 Mikrosatelliten 100% der 200 Proben eindeutig auf nur ein Elternpaar und damit auf den Herkunftsbetrieb zurückverfolgt werden.

Tabelle 16: Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 2 –Sauen und Eber-

<i>Anzahl Marker</i>	<i>Anzahl gefundener eindeutig zurückverfolgbarer Proben</i>	<i>Sicherheit der Rückverfolgbarkeit für 200 simulierte Proben</i>
10	9	4,5%
12	8	4,0%
14	65	32,5%
16	110	55,0%
18	139	69,5%
20	177	88,5%
22	193	96,5%
24	196	98,0%
26	200	100,0%
28	200	100,0%
30	200	100,0%

4.2.3.3 Szenario 3- Erweiterung um zusätzliche Informationen

In Grafik 13 sind die Ergebnisse der Simulationen für Szenario 3 aufgezeichnet. Neben dem Abgleich der Genotypen mit Sauen und Ebern im System sowie der Betrachtung der theoretisch möglichen Paarungen wurden hier die tatsächlich durchgeführten Anpaarungen berücksichtigt.



Grafik 13: Simulationen für je 200 Proben mit 4.600 Sauen und 150 Ebern bei einer ansteigenden Anzahl Marker -Szenario 3-

In dieser Grafik zeigt sich die deutlichste Abnahme der erforderlichen Anzahl Marker mit zunehmender Information. Ab einem Einsatz von 22 Mikrosatelliten findet sich für jede der 200 simulierten Proben genau ein Elternpaar, daher sind die Ergebnisse der Simulationen für 26 und 30 Marker hier nicht grafisch dargestellt. Bei Verwendung von 10 Mikrosatelliten liegt die größte Anzahl gefundener tatsächlich verpaarter Elternpaare für eines der 200 Proben bei 46. Für die in Tabelle 17 dargestellten Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für das dritte Szenario zeigt sich gegenüber den Ergebnissen für die Simulationen des zweiten Szenarios (Tabelle 16), dass sich für die Rückverfolgung von 200 simulierten Proben mit einer deutlich geringeren Anzahl eingesetzter Mikrosatelliten eine höhere Sicherheit der Rückverfolgbarkeit erreichen lässt.



Tabelle 17: Ermittelte Sicherheiten der Rückverfolgbarkeit für Szenario 3 –tatsächliche Paarungen bekannt-

<i>Anzahl Marker</i>	<i>Anzahl gefundener eindeutig zurückverfolgbarer Proben</i>	<i>Sicherheit der Rückverfolgbarkeit für 200 simulierte Proben</i>
10	103	51,5%
12	115	57,5%
14	177	88,5%
16	194	97,0%
18	199	99,5%
20	200	100,0%
22	200	100,0%
24	200	100,0%
26	200	100,0%
28	200	100,0%
30	200	100,0%

4.2.3.4 Ausschluss von nicht aus dem System stammenden Fleischproben

Um sicherzustellen, dass eine Probe nicht aus dem betrachteten Produktionssystem stammen kann, erfolgte die Simulation von Genotypen für die zurückzuerfolgenden Proben. Unter Annahme der in Kapitel 4.1.1 über alle Rassen mittleren Allelzahlen wurden dazu zunächst Allelfrequenzen für die 14 Marker simuliert, die in Tabelle 18 dargestellt sind.

Aus den dargestellten Allelfrequenzen wurden dreimal 100 Genotypen erstellt, die mit den Genotypen der Sauen und Eber des Systems abgeglichen wurden. Dazu kam das für die Rückverfolgbarkeit eingesetzte Programm zur Verwendung. Das Ziel war hier, alle Sauen als Mutter auszuschließen und somit sichergehen zu können, dass die Probe nicht aus dem System stammt.

Es konnte für keine der insgesamt dreihundert nicht aus dem System stammenden Proben ein genetisch mögliches Elternpaar ermittelt werden, somit wurden alle Elternpaare ausgeschlossen. Für neun Proben konnte eine mögliche Mutter, für eine Probe drei und eine weitere vier mögliche Mütter nicht ausgeschlossen werden, für zwei Proben hätte es einen potentiellen Vater gegeben, für eine andere Probe zwei. Für jede der 300 Proben konnten sämtliche im Produktionssystem befindlichen Elternpaare ausgeschlossen werden. Somit wurde keine Probe fälschlicherweise als aus dem System stammend zugeordnet, die Sicherheit des Ausschlusses beträgt für diese Situation 100%, wobei auch diese Angabe nur approximativ betrachtet werden kann.

**Tabelle 18: Allelfrequenzen von insgesamt 300 nicht aus dem System stammenden simulierten Proben**

<i>Marker</i>	<i>Anzahl Allele</i>	<i>Allelfrequenzen</i>
S0005	14	0,0012; 0,0082; 0,0284; 0,0084; 0,04; 0,031; 0,0754; 0,0755; 0,1355; 0,0955; 0,033; 0,1957; 0,2362; 0,0342
S0090	6	0,054; 0,066; 0,126; 0,138; 0,312; 0,295
S0101	6	0,0250; 0,0251; 0,1751; 0,1791; 0,3291; 0,266
S0155	6	0,107; 0,111; 0,123; 0,321; 0,139; 0,199
S0355	6	0,175; 0,179; 0,229; 0,241; 0,0642; 0,1118
S0386	7	0,031; 0,091; 0,151; 0,158; 0,165; 0,215; 0,189
SW24	8	0,0190; 0,0192; 0,1932; 0,3132; 0,046; 0,0062; 0,1947; 0,1885
SW240	8	0,084; 0,204; 0,324; 0,0053; 0,1843; 0,0063; 0,1385; 0,0536
SW857	8	0,0076; 0,0463; 0,0951; 0,097; 0,1647; 0,0694; 0,0239; 0,496
SW951	5	0,0632; 0,0634; 0,1234; 0,3234; 0,4266
S0227	3	0,179; 0,379; 0,442
SW72	6	0,201; 0,0047; 0,2481; 0,0051; 0,1431; 0,398
SW911	6	0,224; 0,2193; 0,1065; 0,1415; 0,292; 0,0167
SW936	8	0,1372; 0,0128; 0,1501; 0,0073; 0,2094; 0,0534; 0,4185; 0,0113

Für einen Ausschluss aller potentiellen Mütter bis auf die wahre nach der unter 4.2.1.3 dargestellten Berechnung wäre für eine größere Anzahl der nicht aus dem System stammenden simulierten Proben das Auffinden von mindestens einer Mutter bzw. einem Elternpaar erwartet worden. Wie diese Untersuchung zeigt, können für einzelne Proben zwar mehrere Mütter bzw. Väter nicht ausgeschlossen werden, es findet sich jedoch kein passendes Elternpaar.

Eine Interpretation des Ergebnisses dieser Stichprobe könnte sein, dass die Betrachtung der genetisch möglichen Paarungen durch den zusätzlichen Abgleich des Genotyps einer Probe mit denen der eingesetzten Eber (Szenario 2) und die Einbeziehung der tatsächlichen Anpaarungen (Szenario 3) wie bereits unter 4.2.3.2 und 4.2.3.3 dargestellt ein großes Ausmaß auf eine Verbesserung der Sicherheit der Rückverfolgbarkeit haben.

4.2.3.5 Variierende Anzahl Eber

Um festzustellen, ob sich die Ergebnisse bei ansteigender Anzahl eingesetzter Eber verändern und somit ein Einfluss auf notwendige Markeranzahl besteht, wurden die Simulationen neben den bisher verwendeten 150 Ebern auch mit 100, 250 und 500 Ebern bei gleich bleibender Anzahl Sauen durchgeführt. Die durchschnittliche Anzahl gefundener möglicher Elternpaare aus jeweils 200 Simulationen sind in Tabelle 19 dargestellt.



Tabelle 19: Durchschnittliche Anzahl ermittelter Elternpaare von je 200 simulierten Proben bei unterschiedlicher Anzahl Marker mit 4.600 Sauen und 100, 150, 250 und 500 Ebern

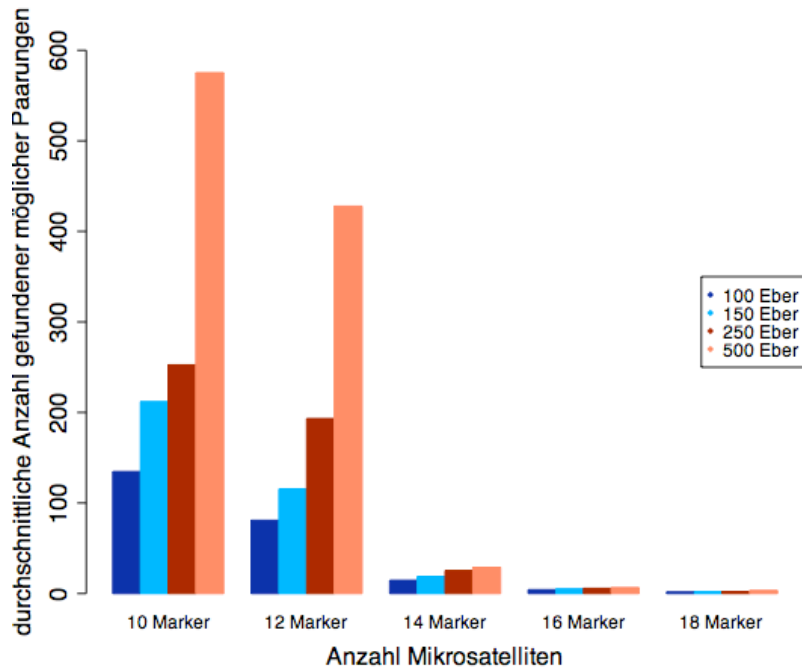
<i>Anzahl Marker</i>	<i>Anzahl Eber</i>	<i>Sauen und Eber -mögliche Paarungen-</i>	<i>tatsächliche Paarungen bekannt</i>
10 Marker	100 Eber	134,69	3,79
	150 Eber	211,98	3,76
	250 Eber	252,58	2,94
	500 Eber	575,28	3,10
12 Marker	100 Eber	80,87	2,64
	150 Eber	115,47	2,50
	250 Eber	193,26	2,67
	500 Eber	427,80	2,69
14 Marker	100 Eber	14,64	1,26
	150 Eber	18,79	1,25
	250 Eber	25,41	1,25
	500 Eber	28,86	1,12
16 Marker	100 Eber	4,26	1,07
	150 Eber	5,13	1,05
	250 Eber	5,70	1,03
	500 Eber	6,57	1,03
18 Marker	100 Eber	1,76	1,02
	150 Eber	1,90	1,01
	250 Eber	2,12	1,01
	500 Eber	3,40	1,02
20 Marker	100 Eber	1,19	1,00
	150 Eber	1,20	1,00
	250 Eber	1,19	1,00
	500 Eber	1,27	1,00
22 Marker	100 Eber	1,04	1,00
	150 Eber	1,08	1,00
	250 Eber	1,03	1,00
	500 Eber	1,08	1,00
24 Marker	100 Eber	1,02	1,00
	150 Eber	1,01	1,00
	250 Eber	1,00	1,00
	500 Eber	1,08	1,00
26 Marker	100 Eber	1,01	1,00
	150 Eber	1,00	1,00
	250 Eber	1,00	1,00
	500 Eber	1,00	1,00
28 Marker	100 Eber	1,01	1,00
	150 Eber	1,00	1,00
	250 Eber	1,01	1,00
	500 Eber	1,00	1,00
30 Marker	100 Eber	1,00	1,00
	150 Eber	1,00	1,00
	250 Eber	1,00	1,00
	500 Eber	1,00	1,00

Für das zweite Szenario (siehe Kapitel 3.3.4.2), in dem der Genotyp einer Probe zunächst mit dem sämtlicher potentieller Mütter und Väter abgeglichen wird und dann die genetisch mögli-



chen Paarungen herausgefiltert werden, lässt sich bis zu einem Einsatz von 18 Markern ein leichter Anstieg der durchschnittlich gefundenen möglichen Anpaarungen feststellen, je mehr Eber im System eingesetzt werden.

Diese Situation ist zur Verdeutlichung in Grafik 14 dargestellt.



Grafik 14: Durchschnittliche Anzahl gefundener möglicher Paarungen bei verschiedener Anzahl Marker und steigendem Sauen/ Eber-Verhältnis

Der Anstieg der durchschnittlichen Anzahl gefundener möglicher Elternpaare zeigt sich nur bei Verwendung von 10 und 12 Mikrosatelliten, ab einem Einsatz von 14 Markern sind diese Ergebnisse nicht mehr signifikant.

4.2.4 Ergebnis der praktischen Durchführung

Die praktische Umsetzung der Rückverfolgbarkeit erfolgte in Etappen, wobei die beteiligten Instanzen zu den verschiedenen Zeiten unterschiedlich involviert wurden. Nachdem der Lehrstuhl für Tierzucht eine Mindestanzahl Mikrosatelliten festgelegt hatte, mussten als Grundvoraussetzung für die DNA-basierte Rückverfolgbarkeit zunächst Genotypen der im System der IGZ befindlichen Muttersauen erstellt werden. Die 22 Ferkelerzeugerbetriebe wurden dazu in A- B- und C-Betriebe eingeteilt. Die Typisierung der A-Betriebe erfolgte zuerst, anschließend die der B-, dann die der C-Betriebe. Parallel zur Typisierung aller der auf den Betrieben stehenden Sauen konzipierte der Lehrstuhl für Tierzucht eine MySQL-Datenbank, in der sämtliche verfügbare zur Rückverfolgbarkeit benötigte Informationen eingelesen werden



können. Neben der MySQL-Datenbank der TUM wurde die mais GmbH mit der Erstellung eines Programms und einer Datenbank beauftragt, in der unter anderem der Projektmanager der IGZ überprüfen kann, ob eine Sau, deren Haarprobe er von einem Landwirt erhalten hat, bereits durch den Ringberater und damit beim LKV verzeichnet ist oder ob ein Eber, dessen Haarprobe ihm durch eine der Besamungsstationen zugesandt wurde, schon als Vater zum Einsatz gekommen ist. Durch diese parallel laufende Speicherung der Informationen soll der IGZ in Kooperation mit dem Labor GeneControl, dem LKV Bayern e.V. und der mais GmbH Schritt für Schritt die Möglichkeit gegeben werden, auch nach Ende der Projektlaufzeit und dem damit verbundenen Ausstieg des Lehrstuhls für Tierzucht als Projektleiter keine Probleme mit der Koordination der benötigten Daten zur Rückverfolgbarkeit zu haben.

4.2.5 Auswertungen der Testläufe

Die Ergebnisse der Testläufe erfolgten zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Projektlaufzeit. Sie wurden auf Basis der im dritten Szenario dargestellten Vorgehensweise (siehe Kapitel 3.3.4.3) durchgeführt, so konnten zunächst die im System befindlichen genetisch nicht passenden Sauen und Eber, dann die nicht möglichen Paarungen und anschließend die Elternpaare, deren Anpaarung nicht stattgefunden hat, ausgeschlossen werden.

4.2.5.1 Erster Probelauf

Der erste im Februar 2004 durchgeführte Testlauf zeigte folgendes Ergebnis, wobei die insgesamt 50 Proben in drei Gruppen eingeteilt wurden: ‚Abstammung bekannt‘, ‚Betrieb bekannt‘ und ‚Systemfremd‘.

1. ‚Abstammung bekannt‘ (26 Tiere): Die Eltern der Probe sind bekannt und mit Nummer verzeichnet sicher im System vorhanden. Hier sollten alle Sauen und Eber bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen werden.
 - zehn Tiere ließen sich durch Ausschluss der anderen Eltern eindeutig auf das wahre Elternpaar und somit den Herkunftsbetrieb rückverfolgen
 - für sechs Proben konnten mehr als ein Elternpaar nicht ausgeschlossen werden, wobei das wahre dabei war
 - für sechs Proben ließ sich kein Vater finden
 - einmal waren zwar die wahre Mutter und der wahre Vater zu finden, jedoch war keine Paarung dieser beiden Elternteile in den Informationen verzeichnet
 - für drei Proben waren weder die wahre Mutter noch der wahre Vater zu finden



Von den 26 Proben konnten nur zehn Tiere eindeutig zurückverfolgt werden, was in dieser Betrachtung 38,46% entspricht. Für die übrigen 16 Proben konnten nicht alle Sauen und Eber bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen werden, somit sind sie nicht klar rückverfolgbar.

2. ‚Betrieb bekannt‘ (12 Tiere): Es sind keine Eltern bekannt, lediglich der Geburtsbetrieb der betreffenden Probe ist erfasst. Hier sollte der Ausschluss aller Elternpaare bis auf eins ausgeschlossen werden, wobei die Sau auf dem betreffenden Betrieb steht.
 - für drei Proben ließen sich alle Elternpaare bis auf eins mit einer Mutter aus dem gesuchten Betrieb ausschließen
 - fünfmal ließen sich mögliche Mütter und Väter, jedoch keine Paarung finden
 - für vier Proben waren weder Mutter noch Vater zu finden

Drei der 12 Proben waren eindeutig rückverfolgbar (25%), für die übrigen neun Proben war dies nicht möglich, da kein Elternpaar gefunden werden konnte.

3. ‚Systemfremd‘ (12 Tiere): Diese Proben sollten dem System nicht zugeordnet werden können, d.h. sämtliche Elternpaare müssen ausgeschlossen werden.
 - 11 Tiere waren dem System nicht zuzuordnen, es waren zwar bei einigen Mütter, aber keine Väter oder Paarungen genetisch möglich
 - für eine Probe konnte ein Elternpaar nicht ausgeschlossen werden

Lediglich für eine der 12 Proben konnte ein Elternpaar nicht ausgeschlossen werden, obwohl die Proben systemfremd sind. Somit liegt der prozentuale Erfolg für diese Betrachtung bei 91,67%.

Dieser erste Testlauf zeigte für insgesamt 34 der 50 beprobten Tiere ein positives Ergebnis. Es wurden 23 der 38 Tiere, die aus dem Betriebssystem der IGZ GbR stammten, eindeutig zurückverfolgt, außerdem konnten 11 der 12 auswärtigen nicht aus dem System stammenden Proben ausgeschlossen werden.

4.2.5.2 Zweiter Probelauf

Dieser zweite Probelauf wurde zeitlich so gewählt, dass die Aufzeichnungen zu den Sauen und Würfen, die Genotypisierung der im System befindlichen Tiere und die Übertragung der Daten des LKV bereits einige Monate lang fortgeschritten waren. Für 22 der 25 einbezogenen Tiere, die sowohl als Mastschwein über Haarwurzeln als auch nach der Schlachtung über Fleischstücke beprobt wurden, konnten jeweils identische Genotypen erstellt werden. Mit diesem Testlauf sollte auch die DNA-Extraktion und Typisierung aus Fleisch im Labor Ge-



neControl GmbH eingeführt werden. Drei Proben konnten nur an sechs bzw. neun Markern typisiert werden und fielen aufgrund dieser Schwierigkeiten aus der Betrachtung heraus. Die Rückverfolgung der 22 in den Testlauf eingegangenen Proben ergab folgendes Ergebnis:

- für fünf Proben konnten alle bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen und die Probe damit auf den Geburtsbetrieb zurückverfolgt werden
- für vier Proben konnten alle bis auf ein mögliches Elternpaar ausgeschlossen werden, dieses stimmte allerdings nicht mit den angegebenen wahren Eltern überein
- zweimal konnte zu der wahren Mutter kein Vater und somit auch nicht das richtige Elternpaar ermittelt werden
- einmal konnte zum korrekten Vater keine Mutter gefunden werden, somit auch nicht das wahre Elternpaar
- für fünf der Proben konnten mehr als eine mögliche Paarung nicht ausgeschlossen werden, das wahre Elternpaar war dabei
- für fünf Proben konnte weder Vater noch Mutter gefunden werden

Im Gegensatz zum ersten wurden in diesem zweiten Probelauf ausschließlich Proben zurückverfolgt, die eindeutig aus einem Ferkelerzeugerbetrieb der IGZ GbR stammen. Da vorher sichergestellt wurde, dass die Mütter der Proben einen Genotyp haben, konnte davon ausgegangen werden, dass das Ergebnis eine größere Korrektheit der Rückverfolgbarkeit zeigt. Es konnten lediglich fünf der 22 Proben eindeutig zurückverfolgt werden, was für diesen zweiten Testlauf zu nur 22,73% richtigen Ergebnissen führt.

Aufgrund der im zweiten Probelauf ermittelten Ergebnisse wurde eine genaue Betrachtung der Genotypen der einzelnen Proben und der angegebenen Eltern durchgeführt. Hier zeigte sich in 12 Fällen, dass die verzeichneten Eltern ausgeschlossen wurden, da Unstimmigkeiten an mindestens einem Allel auftraten, eine Übersicht gibt Tabelle 20.



Tabelle 20: Anzahl der nicht stimmigen Allele der Genotypen der Proben des zweiten Probelaufs, für die mindestens ein angegebener Elter nicht zugeordnet werden kann

<i>Probe</i>	<i>Anzahl unstimmmige Markerloci</i>		
	<i>Mutter</i>	<i>Vater</i>	<i>gesamt</i>
6000402376	3	-	3
6000402377	5	-	5
6000402380	4	1	5
6000402379	-	1	1
6000402385	-	1	1
6000402388	1	2	3
6000402391	6	1	7
6000402394	-	1	1
6000402395	4	1	5
6000402397	7	1	8
6000402399	4	3	7
6000402400	4	-	4

Aus der Tabelle lässt sich entnehmen, dass sechs der betrachteten 12 Proben an mindestens fünf Markerloci keine Übereinstimmung mit einem der angegebenen Eltern aufweisen. Dies lässt keinen anderen Schluss als eine falsche Aufzeichnung des Elternpaars dieser betrachteten Proben zu.

4.2.5.3 Dritter Probelauf

Für diesen Probelauf, der im Dezember 2004 stattfand, wurden Haarproben von Ferkeln sicher genotypisierter Sauen im Abferkelstall entnommen, um ein Vertauschen der Muttersauen ausschließen zu können. Eine dieser Haarproben konnte nicht genotypisiert werden. Neben den 45 Proben dieser sicher aus dem System stammenden Tiere („Ferkel aus System“) wurden neun Proben aus der Schweiz, die sicher nicht der IGZ zugehörig sind („systemfremd“), untersucht und indirekt abgeglichen.

1. „Ferkel aus System“ (44 Proben): Die Mutter der Probe sind bekannt und mit Nummer des Vaters ist verzeichnet und sicher im System vorhanden. Hier sollten alle Sauen und Eber bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen werden.
 - für 29 Ferkel konnten sämtliche Sauen und Eber bis auf das wahre Elternpaar ausgeschlossen werden
 - für sieben Proben wurden die wahre Mutter und der wahre Vater gefunden, jedoch konnte diese Paarung nicht unter den tatsächlich durchgeführten gefunden werden



- für eine Probe konnten alle Anpaarungen bis auf ein mögliches Elternpaar ausgeschlossen werden, dieses stimmte jedoch nicht mit den angegebenen wahren Eltern überein
- für zwei Proben wurde ein Vater ermittelt, der nicht dem aufgezeichneten entspricht
- für eine Probe konnte mehr als ein Elternpaar nicht ausgeschlossen werden, wobei das wahre darunter war
- dreimal fand sich kein Vater, einmal keine Mutter für die Probe und somit auch kein mögliches Elternpaar

Von den insgesamt 44 Proben konnten 29 eindeutig auf das wahre Elternpaar und somit auf den Geburtsbetrieb zurückverfolgt werden. Das entspricht für diese Untersuchung einer sicheren Rückverfolgbarkeit von 65,91%. Für 15 Proben konnte aufgrund falscher oder fehlender Aufzeichnungen der Informationen kein eindeutiges Elternpaar ermittelt werden.

2. ‚systemfremd‘ (9 Tiere): Da diese Proben nicht aus dem System stammen sollten sämtliche Elternpaare als genetisch möglich ausgeschlossen werden
 - für alle neun Proben konnten keine möglichen Eltern gefunden werden

Für diese Betrachtung des Testlaufes lag der Erfolg bei 100%.

Dieser dritte aufgrund der fortgeschrittenen Projektlaufzeit und durch die Beprobung der Ferkel bei der Muttersau als ‚hart‘ bezeichneter Probelauf zeigte für 38 der insgesamt 53 Proben ein positives Ergebnis. 29 der 44 aus dem System stammenden Ferkel konnten eindeutig auf ein Elternpaar zurückverfolgt werden und für keines der systemfremden Tiere wurde ein in der IGZ GbR aktives Elternpaar gefunden.

Für vier Proben konnte entweder kein Vater oder keine Mutter gefunden werden, obwohl die verzeichneten Eltern sicher im Betriebssystem vorhanden und typisiert sein sollten. Die Genotypen dieser vier Familien wurden genauer betrachtet, das Ergebnis zeigt Tabelle 21.



Tabelle 21: Ergebnis der Untersuchung der Genotypen von vier Familien aus dem dritten Probelauf

<i>Probe</i>	<i>Ergebnis der Rückverfolgung (Probelauf)</i>	<i>Ergebnis der Betrachtung der Genotypen</i>
P040047	<ul style="list-style-type: none"> die angegebene Mutter wird gefunden es wird kein möglicher Vater gefunden 	der angegebene Vater stimmt am Marker SW24 nicht mit der Probe überein
P040048	<ul style="list-style-type: none"> die angegebene Mutter wird gefunden der angegebene Vater wird nicht gefunden 	der angegebene Vater kann genetisch nicht der Vater der Probe sein. Der einzige mögliche Vater ist ein Eigenbestandseber des Ferkelerzeugers, dieser stimmt jedoch am Marker S0386 nicht mit der Probe überein
P040051	<ul style="list-style-type: none"> die angegebene Mutter wird gefunden es wird kein möglicher Vater gefunden 	der angegebene Vater stimmt am Marker SW936 nicht mit der Probe überein
P040057	<ul style="list-style-type: none"> es wird keine mögliche Mutter gefunden der angegebene Vater wird gefunden 	die angegebene Mutter stimmt am Marker S0005 nicht mit der Probe überein

Für die Proben P040047, P040051 und P040057 wurde ein Elternteil überhaupt nicht gefunden, es gibt somit im Betriebssystem der IGZ GbR keine andere Sau bzw. keinen anderen Eber, der genetisch als Elter in Frage kommen könnte. Da die betrachteten Proben sicher aus dem System stammen, muss die bzw. der jeweils angegebene Mutter bzw. Vater als Elter angenommen werden, da nicht wie bei der Probe P040057 eine Alternative gefunden wird. Somit kann eine Fehltypisierung an einzelnen Mikrosatellitenmarkern nicht ausgeschlossen werden.

4.2.5.4 Testlauf zur Überprüfung von Genotypen

Von den insgesamt 1.358 betrachteten Genotypen (97 Sauen an jeweils 14 Markern typisiert) stimmte in 44 Fällen mindestens bei einem der beiden Allele an einem Locus die Größe nicht mit dem in der ersten Typisierung erhaltenen Ergebnis überein.

Für 78 der 97 nochmals typisierten Sauen stimmte das Ergebnis der ersten mit dem der zweiten Typisierung überein, bei 15 Sauen wich das Ergebnis an einem Marker ab, eine Sau wies zwei Unterschiede auf. Bei drei Sauen kam es zu Abweichungen an mehr als sechs Markerloci. Eine so hohe Anzahl Fehltypisierungen lässt auf eine Verwechslung der Proben im Labor bzw. der Tiere auf dem Betrieb schließen. In Tabelle 22 ist die nach Vergleich des ersten und zweiten Genotyps ermittelte Anzahl Sauen nach Anzahl nicht stimmiger Genotypen dargestellt.



Tabelle 22: Anzahl Sauen nach nicht stimmigen Genotypen

<i>Anzahl nicht stimmiger Genotypen</i>	<i>Anzahl Sauen</i>
keine Abweichung	78
eine Abweichung	15
zwei Abweichungen	1
drei Abweichungen	-
vier Abweichungen	-
fünf Abweichungen	-
sechs Abweichungen	-
sieben Abweichungen	1
acht Abweichungen	-
neun Abweichungen	-
zehn Abweichungen	2

Dieses Ergebnis zeigt, dass eine Verwechslung der Haarprobe von der Gewinnung auf dem Betrieb bis zur Typisierung im Labor nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Die drei Sauen mit sieben oder mehr Abweichungen zwischen erstem und zweitem Genotyp wurden bei der Betrachtung der Fehltypisierungen nicht berücksichtigt.

Es konnten Abweichungen der Genotypen an 6 der 14 eingesetzten Mikrosatellitenmarkern festgestellt werden, wobei mit 11 der insgesamt 17 Differenzen der Großteil der Abweichungen auf den Marker S0386 entfällt.

Eine genauere Betrachtung des Markers S0386 ergab, dass sämtliche Differenzen zwischen dem ersten und zweiten Genotyp nur am größeren Allel vorkommen und eine Größendifferenz von 8 oder 10 bp aufweisen. Durch Rücksprache mit dem Labor GeneControl GmbH zeigte sich eine falsche Einstellung des Analyseprogrammes, so dass Peaks, die eine bestimmte Höhe nicht erreichten, nicht als eigenständige Allele erkannt wurden. Durch die Umstellung auf eine höhere Empfindlichkeit konnte dieses Problem behoben werden. Diese falsch erkannten Genotypen hatten nicht das Ausmaß, dass sie Einfluss auf die Untersuchung auf Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Kapitel 4.1.4) gehabt hätten.

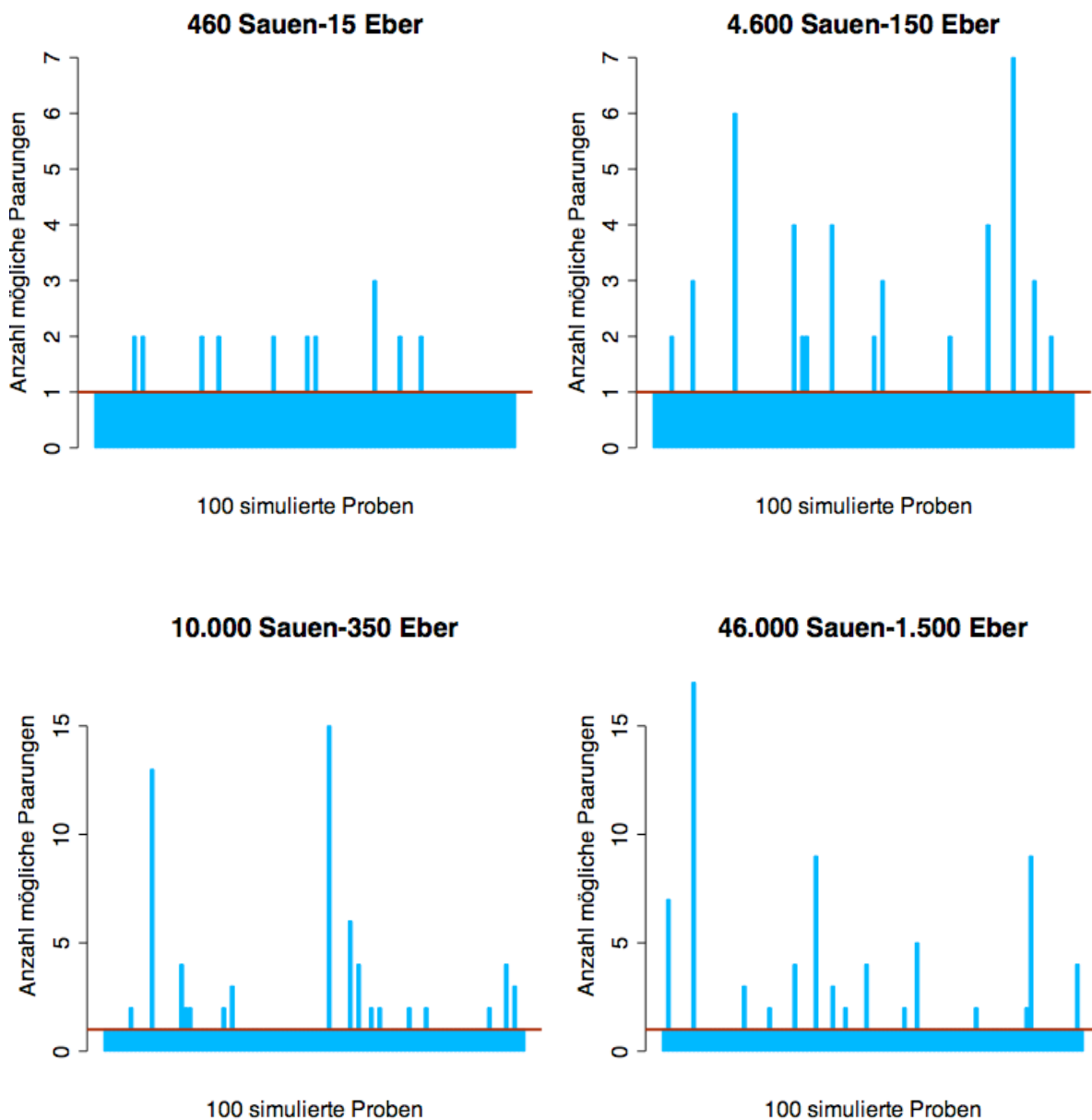
4.3 Ergebnisse zusätzlicher Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit

4.3.1 Ausweitung der Rückverfolgbarkeit auf größere Populationen

Die Ausweitung der für dieses System ermittelten DNA-basierten Rückverfolgbarkeit erfolgte aufgrund der Dauer eines Laufes des Simulationsprogramms und der beschränkten Speicher-



kapazität in mehreren Schritten. Da überprüft werden sollte, welche Anforderungen nötig waren um den ermittelten Weg zur Rückverfolgbarkeit auf größere Populationen zu übertragen, wurde das unter 4.4.3 beschriebene Simulationsprogramm, in dem die Einbeziehung der Eber und die Erweiterung um zusätzliche Informationen bereits berücksichtigt sind, auf die entsprechende Anzahl Schweine erweitert. Ebenso wie im Simulationsprogramm für das Betriebssystem der IGZ GbR kamen die 14 beschriebenen Mikrosatelliten zum Einsatz. Um eine Abstufung der Ergebnisse darstellen zu können, wurden die Simulationen mit 460, 4.600, 10.000 und 46.000 Sauen und der entsprechenden Anzahl von 15, 150, 350 und 1500 Ebern durchgeführt. In Grafik 15 sind die Ergebnisse dargestellt.



Grafik 15: Ergebnisse der Simulationen zur Auswertung des Systems auf größere Populationen



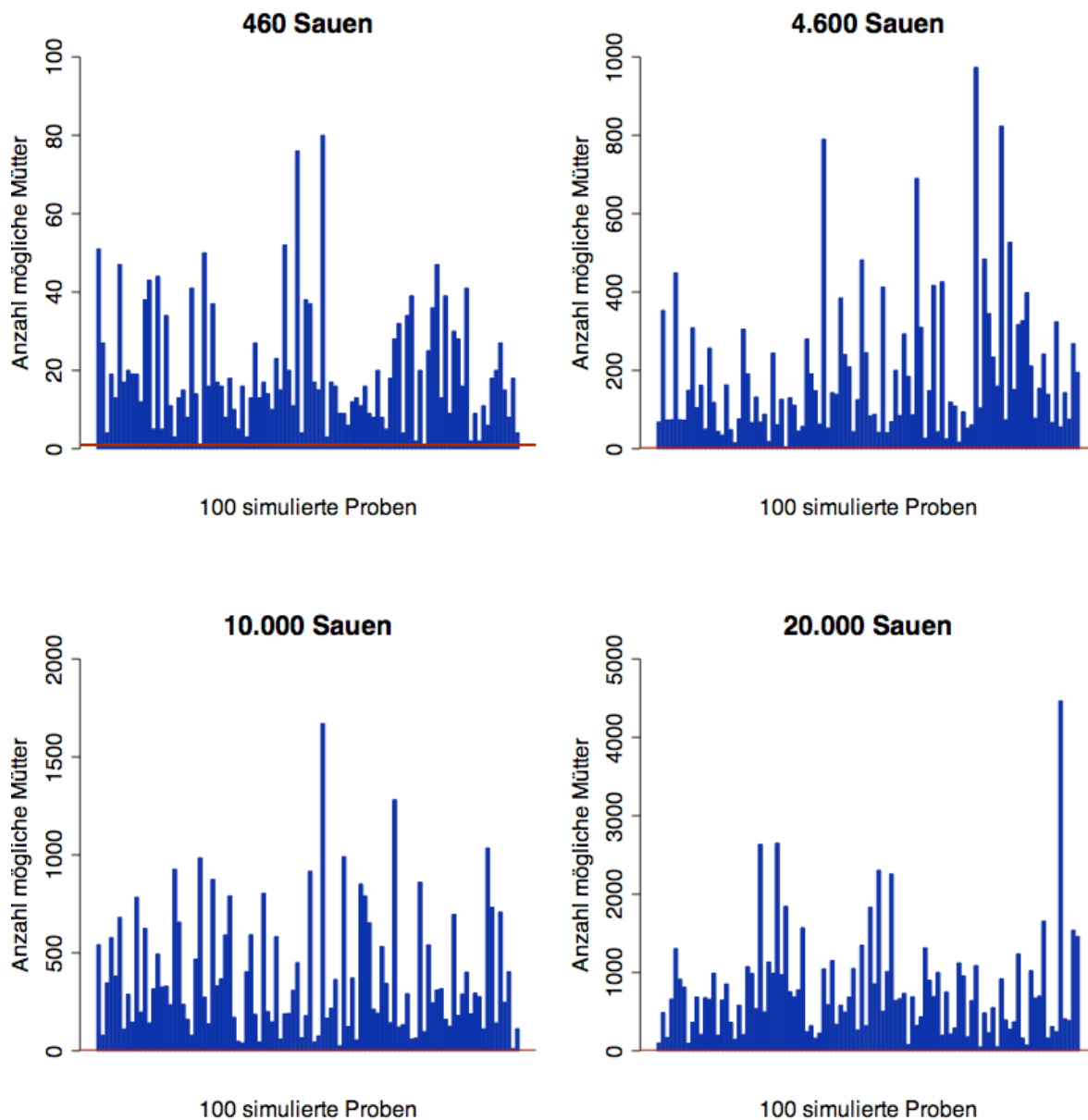
Die Grafik zeigt bei konstantem Einsatz von 14 Mikrosatelliten einen Anstieg der Proben, die nicht auf ein Elternpaar zurückverfolgt werden können, je mehr Sauen und Eber eingesetzt werden. Für eine der 100 simulierten Proben werden bei der Rückverfolgung 19 mögliche Elternpaare gefunden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 zusammengefasst. Die hier angegebene Sicherheit des Ausschlusses bezieht sich nur auf die jeweils 100 simulierten Proben und kann nicht auf die Gesamtsituation übertragen werden.

Tabelle 23: Zusammengefasstes Ergebnis der Rückverfolgbarkeit für größere Populationen

<i>Anzahl Sauen/Eber</i>	<i>Verhältnis Sauen/Eber</i>	<i>Max. Anzahl gefundener Paarungen</i>	<i>Anzahl nicht eindeutig zurückverfolgbarer Proben</i>	<i>Sicherheit des Ausschlusses für 100 simulierte Proben</i>
460/15	30,67:1	3	10	90,0%
4.600/150	30,67:1	7	14	86,0%
10.000/350	28,57:1	15	17	83,0%
46.000/1.500	30,67:1	17	15	85,0%

Die Werte zeigen, dass eine DNA-basierte Rückverfolgbarkeit unter Einsatz von 14 Mikrosatelliten für größere Populationen nicht realistisch ist. Mit der Betrachtung einer steigenden Anzahl Sauen und Eber kommt eine immer größere Anzahl Genotypen zum Abgleich einer Probe mit den potentiellen Eltern in Frage. Sollen in einem System, das die DNA-basierte Rückverfolgbarkeit anstrebt, die Genotypen größerer Tierbestände abgeglichen werden, muss die verwendete Anzahl Mikrosatelliten gesteigert werden.

Um die Auswirkung der im dritten Szenario einbezogenen Zusatzinformationen abschätzen zu können, wird die Simulation zur Ausweitung der Rückverfolgbarkeit zum Vergleich für das erste Szenario, in dem ein Abgleich der Genotypen der Proben nur mit dem im System befindlichen Sauen erfolgt, mit einer Sauenanzahl von 460 bis 20.000 durchgeführt. Hier erfolgt kein Einbezug der Genotypen der Eber und es werden keine Informationen über die tatsächlich durchgeführten Anpaarungen berücksichtigt. Die Ergebnisse der Simulationen sind in Grafik 16 dargestellt. Es zeigt sich ein deutlicher Anstieg der Anzahl möglicher Mütter je mehr Sauen sich im betrachteten System befinden.



Grafik 16: Simulation der Rückverfolgbarkeit mit 14 Markern und einer ansteigenden Anzahl Sauen

Die durchschnittliche Anzahl der Mütter, die durch einen Genotypenabgleich mit einer Probe nicht ausgeschlossen werden und die maximale Anzahl gefundener Mütter sind in Tabelle 24 verzeichnet.



Tabelle 24: Zusammengefasstes Ergebnis der Rückverfolgbarkeit für größere Populationen -nur Sauen-

<i>Anzahl Sauen</i>	<i>Durchschnittliche Anzahl gefundener Mütter</i>	<i>Max. Anzahl gefundener Mütter</i>	<i>Anzahl der eindeutig rückverfolgbaren Proben</i>
460	19,65	80	2
4.600	188,72	973	0
10.000	373,34	1670	0
20.000	765,10	4465	0

Im Vergleich zu der für das dritte Szenario durchgeführten Simulation zeigt sich der Anstieg der gefundenen Sauen wesentlich extremer als der der gefundenen möglichen Elternpaare. Die durchschnittliche Anzahl genetisch möglicher Mütter, die durch den Genotypenabgleich mit einer Probe nicht ausgeschlossen werden können, steigt nahezu linear zur Anzahl Sauen im System an. Die Einbeziehung der Eber und die Aufnahme von zusätzlichen Angaben bringt eine entscheidende Verbesserung der Information und hat somit einen entscheidenden Einfluss auf die zu verwendende Markeranzahl.

4.3.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit Single Nucleotid Polymorphisms (SNPs)

SNPs weisen im Gegensatz zu Mikrosatelliten nur zwei Allele auf, so dass die Anzahl eingesetzter SNPs aufgrund der niedrigeren erreichbaren Ausschlusswahrscheinlichkeiten höher sein muss als die der Mikrosatelliten-Marker. Sowohl den höchstmöglichen PIC von 0,375 als auch die höchste Ausschlusswahrscheinlichkeit lässt sich mit SNPs erreichen, die ein ausgeglichenes Verhältnis der Allelfrequenzen aufweisen.

4.3.2.1 Vergleich anhand der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten

Für das eingesetzte Mikrosatelliten-Set mit 14 Markern errechnet sich eine Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit von 0,9998. Tabelle 25 zeigt die benötigte Anzahl SNPs verschiedener Allelfrequenzen, die zum Erreichen dieses Wertes eingesetzt werden müssen.

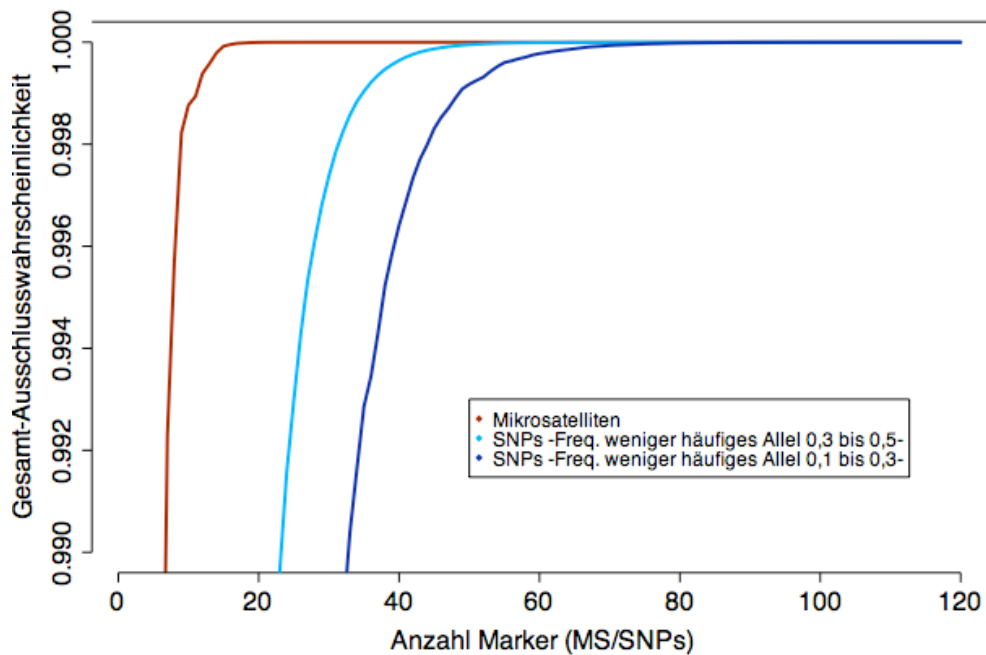


Tabelle 25: Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten mit steigender Anzahl Mikrosatelliten und benötigte Anzahl SNPs

Marker	Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit	Benötigte Anzahl SNPs zum Erreichen von <i>cExclP</i>		
		0,5/0,5	0,3/0,7	0,1/0,9
S0005	0,7294	7	8	16
S0090	0,8522	10	11	23
S0101	0,9119	12	14	29
S0155	0,9516	15	17	36
S0355	0,9702	17	20	42
S0386	0,9822	20	23	48
SW24	0,9923	24	27	57
SW240	0,9957	27	31	64
SW857	0,9982	31	35	74
SW951	0,9988	33	38	79
S0227	0,9990	34	39	81
SW72	0,9994	36	41	87
SW911	0,9996	38	44	92
SW936	0,9998	42	47	100

Die Ergebnisse zeigen, dass bei ausschließlicher Verwendung von SNPs mit der optimalen Allelfrequenz für das seltenere Allel von 0,5 mindestens 42 SNPs erforderlich sind, um die mit dem im Betriebssystem der IGZ GbR zur Rückverfolgbarkeit eingesetzten Mikrosatelliten erreichte Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit zu erlangen.

Es wurde ein Vergleich der Ausschlusswahrscheinlichkeiten, die mit einem Mikrosatelliten-Set erreicht werden können, zu zwei simulierten SNP-Sets durchgeführt. In Grafik 17 sind die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten der beiden SNP-Sets und der 14 verwendeten Mikrosatelliten sowie weiterer simulierter dargestellt. Um die Unterschiede deutlich zu machen, sind hier die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeiten zwischen 0,99 und 1 aufgetragen.

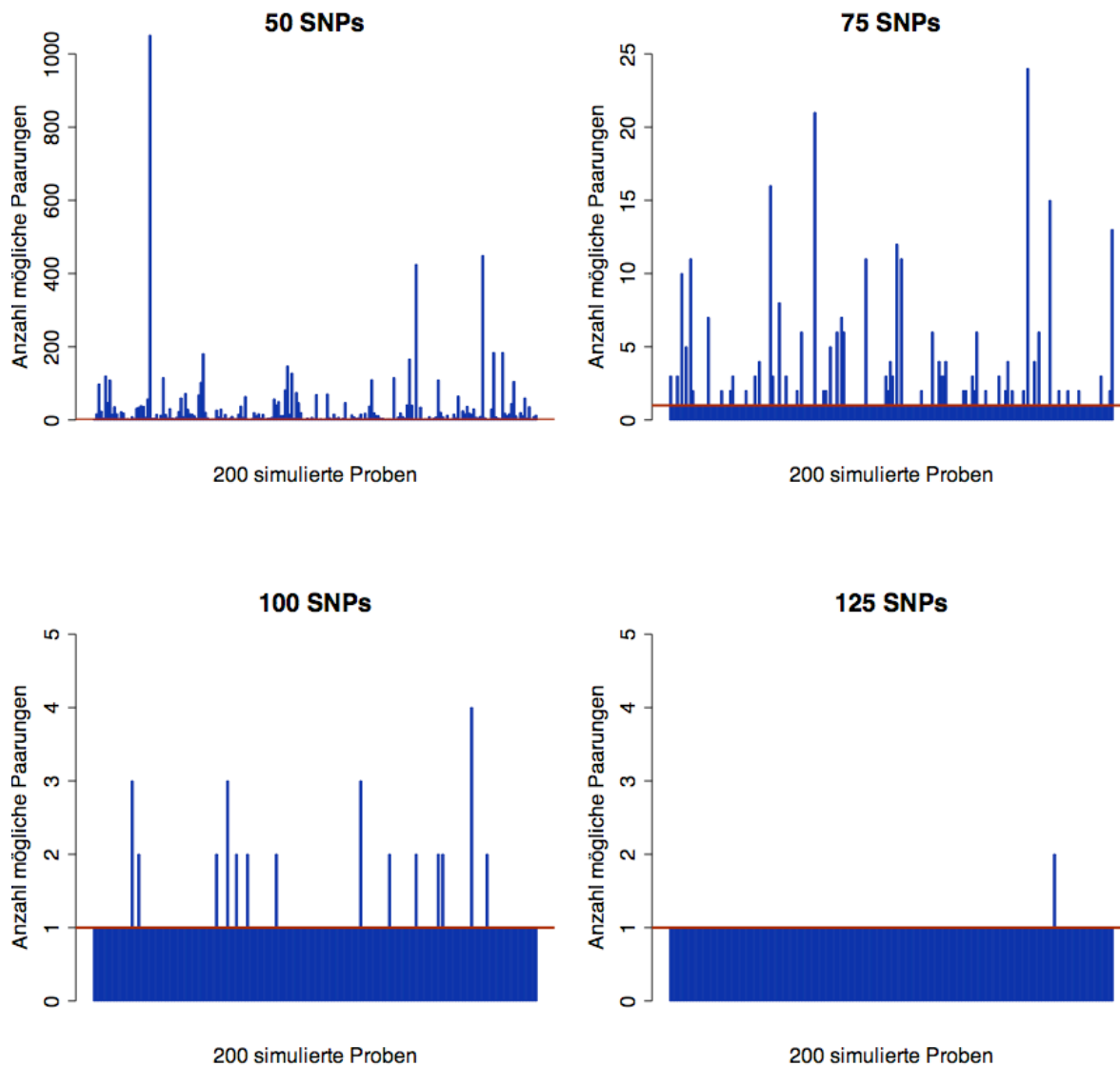


Grafik 17: Vergleich der Anzahl Mikrosatelliten und SNPs

Es lässt sich deutlich erkennen, dass sich mit einer geringen Anzahl Mikrosatelliten bereits eine Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit von 99% erreichen lässt, während dazu eine wesentlich höhere Anzahl SNPs notwendig ist. Je näher die Allelfrequenzen des SNP-Sets am Optimum von 0,5/0,5 liegen, desto größer ist die Ausschlusswahrscheinlichkeit für den einzelnen SNP und somit auch die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit. Somit wird mit dem Set, deren Allelfrequenzen für das weniger häufigere Allel zwischen 0,3 und 0,5 liegen, mit einer geringeren Anzahl SNPs eine höhere Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit erlangt als mit dem, deren Frequenzen Werte von 0,1 und 0,3 annehmen.

4.3.2.2 Einsatz von SNPs in die Simulationen zur Rückverfolgbarkeit

In Grafik 18 ist das Ergebnis der unter 4.3.3 beschriebenen Simulation für das dritte Szenario dargestellt. Es sind sowohl die Genotypen der Sauen als auch der Eber, außerdem die tatsächlich durchgeführten Anpaarungen bekannt, mit verschiedenen Anzahlen SNPs als eingesetzte Marker.



Grafik 18: Simulation des dritten Szenarios mit unterschiedlicher Anzahl eingesetzter SNPs

Bei Einsatz von 50 SNPs lassen sich 28 der 200 simulierten Proben auf das korrekte Elternpaar zurückverfolgen, hier finden sich durchschnittlich 33,7 mögliche Elternpaare pro Probe. Dieses Ergebnis verbessert sich mit Steigerung der Anzahl verwendeter SNPs, so lassen sich mit 100 SNPs 186 der simulierten Proben eindeutig zurückverfolgen, mit 125 betrachteten Markern alle Proben bis auf eine. Die Simulationen zeigen, dass die Anzahl einzusetzender SNP-Marker größer sein muss als 125, um eine sichere Rückverfolgbarkeit unter den gleichen Bedingungen wie unter Verwendung von Mikrosatelliten gewährleisten zu können.

Die zusätzlich durchgeführten Simulation zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs für das erste Szenario (3.3.4.1) ergab eine Notwendigkeit von mindestens 185 SNPs mit einer Frequenz des selteneren Allels von 0,1 bis 0,5 für die eindeutige Zuordnung der wahren Mutter.



4.4 Einfluss des Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel

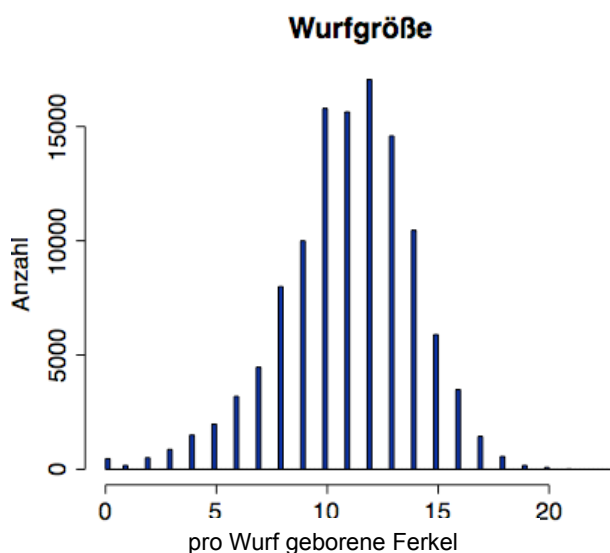
4.4.1 Aufbereitung der Daten

Von den mit einem ersten Wurf im Datensatz ‚Wuerfe‘ verzeichneten Sauen wurden alle verzeichneten Würfe ausgelesen. Die Anzahl der insgesamt aufgezeichneten Würfe dieser 3.808 Sauen beträgt 9.566.

Die Zuordnung der Genotypen-Daten erfolgte über die gemeinsam vergebene Tiernummer (siehe Abbildung 3, S.23). 3.009 der Sauen mit vorhandenem erstem Wurf haben einen Genotyp, die Anzahl der Würfe dieser typisierten Sauen ist 8.308.

Im nächsten Schritt erfolgte die Überprüfung der in die Untersuchung eingehenden Parameter. Eine Überprüfung der Wurfgröße zeigte zwischen 0 und 20 geborene Ferkel pro Wurf. Die Verteilung ist in Grafik 19 dargestellt.

Die Betrachtung der Anzahl pro Wurf aufgezogener Ferkel zeigte einen Fall, in dem eine Sau 45 Ferkel aufgezogen haben soll. Eine Anzahl von 14 aufgezogenen Ferkeln konnte aufgrund der Verteilung der Daten für diesen Parameter als obere Grenze definiert werden, da die höheren Angaben unrealistische Werte annahmen. Aus der Spalte ‚aufgezogene Ferkel‘ wurden daher alle Informationen verworfen, deren Wert größer als 14 war.



Grafik 19: Verteilung der Anzahl der lebend geborenen Ferkel (Wurfgröße)

Der so aufgearbeitete Datensatz zur Erstellung des linearen Modells umfasst nun 8.303 Würfe mit einer Anzahl von bis zu 20 geborenen Ferkeln von 3.009 genotypisierten Sauen.



4.4.2 Statistisches Modell

Um einen eventuell bestehenden Einfluss des Marker-Genotyps auf die Wurfgröße zu ermitteln, wurden die in Kapitel 3.5 beschriebenen Parameter mit Hilfe des unter 3.5.2 dargestellten statistischen Modells für jeden Marker überprüft. Es erwiesen sich die im Modell eingesetzten Faktoren Mutterrasse (MR), Betrieb (BE), Wurfnummer (WN) und year season (YS) als signifikant. In Tabelle 26 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse ANOVA Typ III für die Genotypen an den einzelnen Mikrosatelliten dargestellt.

Tabelle 26: F-Werte mit Signifikanzniveaus der Varianzursache des Genotyps auf die Wurfgröße an den einzelnen Markern

<i>Marker</i>	<i>Summenquadrate</i>	<i>Freiheitsgrade</i>	<i>F-Wert</i>	<i>Pr (>F)</i>	<i>Signifikanzniveau</i>
S0005	1.205	116	1,2270	0,05032	.
S0090	257	23	1,3128	0,1444	n.s.
S0101	231	19	1,4308	0,1008	n.s.
S0155	462	22	2,4763	0,0001461	***
S0355	280	23	1,4314	0,08286	.
S0386	402	19	2,4927	0,0003263	***
SW24	487	35	1,6417	0,009925	**
SW240	347	34	1,1994	0,1976	n.s.
SW857	403	35	1,3551	0,0789	.
SW951	397	15	3,1182	4,147e-05	***
S0227	85	5	1,9953	0,07602	.
SW72	197	19	1,2222	0,2281	n.s.
SW911	401	18	2,6300	0,0001945	***
SW936	557	33	1,9937	0,0006149	***

Die Genotypen an den vier Markern S0090, S0101, SW240 und SW72 zeigen keinen Einfluss auf die Anzahl der lebend geborenen Ferkel. An vier Markern besteht eine Tendenz zu einem Effekt, für sechs Mikrosatelliten könnte ein signifikanter bzw. hochsignifikanter Effekt bestehen.

Eine Untersuchung, welche Genotypen an den einzelnen Markerloci Einfluss auf die Wurfgröße nehmen, zeigt die Berechnung der Kontraste zwischen den verschiedenen Genotypen. Die zum Mittelwert der übrigen Genotypen berechneten Differenzen und die p-Werte der Genotypen an den in Tabelle 26 dargestellten hochsignifikanten Markern sowie die Anzahl Würfe, bei denen diese Genotypen in der betrachteten Population auftreten, zeigen Tabelle 27.


Tabelle 27: p-Werte, Differenz und Anzahl des Auftretens der Genotypen an den signifikanten Markern

<i>Marker</i>	<i>Genotyp</i>	<i>Differenz</i>	<i>p-Wert</i>	<i>Anzahl Würfe</i>
S0155	146/160	-1,613	0,00679	25
	152/160	0,919	0,02315	57
	154/156	2,617	0,00104	14
	158/160	-0,963	0,00023	154
	160/162	2,592	0,00064	16
S0386	164/168	-2,478	8,253e-03	10
	168/172	1,206	5,661e-03	52
	172/172	0,730	8,916e-05	722
	172/174	0,438	7,328e-03	1.608
	172/182	0,469	3,679e-03	1.779
	174/174	0,484	8,777e-03	669
	174/182	0,510	1,768e-03	1.622
SW911	155/165	0,442	0,00608	798
	157/159	-1,513	0,00065	48
	167/167	1,472	0,01228	26
SW936	108/110	0,250	0,03387	1.164
	108/110	0,962	0,04009	42
	92/102	-1,278	0,02304	28
	92/94	-1,104	0,02172	39
	94/106	0,961	0,00495	81
	96/102	0,513	0,03197	175
	96/110	0,427	0,00518	500
SW951	121/121	0,448	0,00073	2.454
	121/123	0,413	0,00137	2.649
	121/129	0,470	0,00130	1.170
	123/129	0,607	0,00058	482
	129/129	0,464	0,04989	207
	129/133	-1,284	0,00237	52

Die Ergebnisse zeigen, dass unter den Genotypen an den signifikanten Mikrosatelliten einzelne vorkommen, die einen bedeutenden Einfluss auf die Wurfgröße ausüben könnten. Im Rahmen dieser Untersuchungen konnte die Signifikanz einiger der zur Rückverfolgbarkeit in der IGZ GbR eingesetzten Marker festgestellt werden, auch kommen durch die Berechnung der Kontraste einzelne Genotypen als einen Effekt auswirkend in Frage.

Um einen eventuell bestehenden kausalen Effekt eines Marker-Genotyps bzw. eines bestimmten Allels auf die Anzahl der lebend geborenen Ferkel nachweisen zu können, müsste an diese Ergebnisse mit weiteren Analysen und Betrachtungen angeknüpft werden. Diese Untersuchung stellte keine ursächliche Fragestellung für die in dieser Arbeit untersuchte DNA-basierte Rückverfolgbarkeit dar sondern wurde nur aufgrund des Vorhandenseins einer so großen Menge Daten, Informationen und Genotypen durchgeführt.



5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit war es, ein System zur DNA-basierten Rückverfolgbarkeit beim Schwein zu entwickeln und dieses am Beispiel des Produktionssystems der Interessengemeinschaft für Zertifizierung zu etablieren.

Vorab erfolgte eine Betrachtung der Qualität und somit der Einsetzbarkeit der nach NECHTELBERGER *et al.* (2001) ausgewählten Mikrosatellitenmarker im Bezug auf die gegebene Population. Durch Simulationen wurde zunächst theoretisch Schritt für Schritt ein Verfahren zur Rückverfolgung entwickelt, das neben den Genotypen mit der Einbeziehung weiterer Informationen arbeitet. Dieses Rückverfolgbarkeits-System wurde dann für die Population der eingesetzten Zuchttiere der IGZ in die Praxis umgesetzt. Um einen Abgleich von Genotypen durchführen zu können wurden alle in der IGZ GbR eingesetzten Elterntiere an 14 Mikrosatelliten typisiert. Es wurden Simulationen zur Rückverfolgbarkeit mit einer steigenden Anzahl Mikrosatelliten durchgeführt, so konnte die größtmögliche Sicherheit des Ausschlusses in der gegebenen Population ermittelt werden. Um die benötigte Anzahl Marker und damit die Typisierungskosten niedrig zu halten, erfolgte die Einbeziehung zusätzlicher Informationen.

Des Weiteren wurden Untersuchungen zur variierenden Anzahl eingesetzter Eber, Ausweitung des Systems auf größere Populationen und ein Vergleich der Rückverfolgbarkeit mit SNPs durchgeführt.

Im Folgenden werden die kritischen Punkte bei der Entwicklung und der Etablierung des Systems diskutiert und die notwendigen Voraussetzungen für den praktischen Einsatz erläutert.

5.1 Tiere, Genotypen und LKV-Daten

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen basieren auf den Informationen über die Tiere der Population der IGZ GbR. Hier zeigten sich Schwierigkeiten, da diese Schweine nicht zentral auf einem Betrieb, sondern auf 22 Ferkelerzeugerbetrieben stehen, was einen kontinuierlichen Einsatz aller Betriebsleiter erfordert. Aufgrund des fortwährenden Wechsels der als Elterntiere eingesetzten Schweine müssen neu in den Einsatz kommende Sauen beprobt und typisiert werden, um die Rückverfolgung einer Probe, die aus dem Betriebssystem der IGZ GbR stammt, absichern zu können.

Wie in Kapitel 4.2.4 beschrieben erfolgte zur Grundtypisierung aller Sauen eine Einteilung der IGZ-Ferkelerzeuger in A-, B- und C-Betriebe, die jeweils zu einem bestimmten Zeitpunkt Haarproben ihres gesamten Sauenbestands an den Projektmanager der IGZ GbR senden soll-



ten, um eine Probe zuerst die A-, dann die B- und zum Schluss die C-Betriebe. Dazu erhielten die Betriebsleiter mit der Nummer (gemeinsam vergebene Tiernummer) der jeweils zu typisierenden Sau versehene Tütchen. Die Proben der A-Betriebe waren nach relativ kurzer Zeit entnommen und konnten zur Genotypisierung ins Labor geschickt werden. Es erforderte einige Erinnerungen und Aufforderungen des Projektmanagers an die B- und später die C-Betriebe, bis die Erstellung der Genotypen dieser potentiellen Mütter abgeschlossen werden konnte. Zur kontinuierlichen Typisierung der neu in das Produktionssystem eintretenden Sauen sind fortwährende Kontrollen und Erinnerungen des Projektmanagers notwendig. Die Verfügbarkeit von DNA aller im System der IGZ befindlichen Elterntiere bildet die Grundlage für den indirekten Genotypen-Abgleich. Soll eine Probe zurückverfolgt werden, die tatsächlich aus dem System stammt, für deren Mutter oder Vater aber kein Genotyp vorliegt, erfolgt fälschlicherweise keine Zuordnung der Probe.

Die DNA-Extraktion erfolgt in diesem Projekt über Haarproben. Diese Methode stellt gegenüber der Entnahme von Blutproben eine Arbeitserleichterung für die Betriebsleiter der Ferkelerzeugerbetriebe dar. Wird allerdings nicht sauber gearbeitet und die Zange, mit der die Haare entnommen werden, nicht nach jedem Tier gereinigt, ist die Gefahr gegeben, dass ein Austausch der Haare erfolgt. So kann es passieren, dass Haare eines zuvor beprobten Tieres in die Proben tüte der falschen Sau bzw. des falschen Ebers gelangen, was in der Rückverfolgbarkeit zu Unstimmigkeiten bzw. der Annahme von Fehltypisierungen führen kann. Eine Alternative wäre die Entnahme von Ohrgewebe, welches z.B. beim Einziehen der Ohrmarke automatisch entnommen wird wie beim TYPIFIX®-SYSTEM (http://www.idnostics.com/prod_system.htm) wodurch ein sicherer Schutz vor Kontamination und Verwechslung der Probe gegeben wäre. Die Entnahme einer Haarprobe eines jeden neu als Elter eingesetzten Schweins ist ebenso essentiell wie eine korrekte Typisierung dieser DNA. Selbst wenn davon ausgegangen werden kann, dass das Labor einwandfrei arbeitet, sind Typisierungsfehler im Einzelfall nicht auszuschließen, was durch die zusätzliche Untersuchung in Kapitel 4.2.5.4 festgestellt werden konnte.

Außer den beschriebenen Problemen konnten auch Fehler und Unstimmigkeiten in den zusätzlichen Informationen, den vom LKV Bayern e.V. zur Verfügung gestellten Daten über die Sauen und die Würfe, festgestellt werden. Durch die Aufnahme dieser zusätzlichen Informationen in das dritte Szenario der Rückverfolgbarkeit lässt sich die benötigte Anzahl der zu verwendender Mikrosatelliten zur Entwicklung einer sicheren Rückverfolgbarkeit reduzieren.



Im ersten Probelauf erfolgte für 13 Proben ein Ausschluss des wahren Elternpaares, da diese tatsächlich durchgeführten Anpaarungen nicht im LKV-Datensatz verzeichnet waren. Für einige Proben wurden alle drei in der Würfedatei angegebenen möglichen Väter aufgrund Unstimmigkeiten beim Abgleich der Genotypen ausgeschlossen. Eine genaue Untersuchung zeigte, dass keiner der in der Datei angegebenen Eber sondern der nicht durch den LKV-Ringberater eingetragene Eigenbestandseber der wahre Vater dieser Proben war.

Dieses Ergebnis zeigt, dass bei einer fehler- bzw. lückenhaften Datenübertragung keine sichere Rückverfolgbarkeit gewährleistet ist. Sowohl die falsche Angabe eines Ebers als auch die Nicht-Aufzeichnung eines Wurfs führt zum Ausschluss der wahren Eltern in Szenario 3 (siehe Kapitel 3.3.4.3). Zwar werden durch den Genotypen-Abgleich die wahren Eltern nicht ausgeschlossen, doch kann keine Zuordnung der Probe zum System erfolgen, da die tatsächliche Paarung in den Zusatzinformationen nicht zu finden ist. Die Aufzeichnungen des Landwirtes können genauso fehlerhaft sein wie die Übertragung der Informationen durch den LKV-Ringberater.

Ist eine dauerhafte kontinuierliche Aufzeichnung und Übertragung der Zusatzinformationen nicht möglich, muss eine Umstellung des Rückverfolgbarkeitssystems auf den im zweiten Szenario (siehe Kapitel 3.3.4.2) beschriebenen Abgleich mit Sauen und Ebern erfolgen. Durch diese Lösung würden zwar die möglichen Fehlerquellen für das Rückverfolgbarkeitssystem eingeschränkt, jedoch müsste die Anzahl der zu verwendenden Marker erhöht werden, was Mehrkosten für die Typisierung jedes einzelnen Elterntieres bedeuten und so die Gesamtkosten für die gesamte Rückverfolgbarkeit steigern würde.

5.2 Kennzahlen zur Charakterisierung der Markerqualität

Die zur DNA-basierten Rückverfolgung eingesetzten Mikrosatelliten wurden bereits von mehreren Autoren beschrieben und kommen in unterschiedlichen Untersuchungen beim Schwein zum Einsatz. Zur Überprüfung der Anwendbarkeit im Produktionssystem der IGZ GbR erfolgte die Ermittlung der Allelfrequenzen, der Heterozygotie, des PICs und ein Test auf Vorliegen des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts in der gegebenen Population.

Bei einer Betrachtung der 5.604 genotypisierten Tiere ohne Berücksichtigung der Rasseangaben mit zeigt sich mit insgesamt 20 gefundenen Allelen am Marker S0005 über alle Rassen fast die doppelte Anzahl der angegebenen 11 Allele des MEAT ANIMAL RESEARCH CENTERS (MARC). Insgesamt wiesen acht der 14 Marker bei Betrachtung aller Tiere mit Genotyp eine



Allelzahl von 10 oder mehr auf, was durch die Rassenvielfalt in der Population der IGZ (siehe Kapitel 3.1.1.2) zu erklären ist. Die Angaben des MARC zu den einzelnen Markern basieren auf Ergebnissen verschiedener Autoren, in denen Tiere unterschiedlicher Rassen zur DNA-Gewinnung dienten, jedoch lag die Anzahl dieser Schweine mit einem Maximum von 200 Tieren (ELLEGREN *et al.*, 1994) jeweils weit unter der Zahl der 5.604 in der IGZ typisierten Schweine. Durch die Einbeziehung seltener Rassen und verschiedener Hybride ist die Möglichkeit des Auftretens zusätzlicher Allele gegeben.

Die für die einzelnen Rassen bzw. Rassenkombinationen gemittelten Heterozygotiegrade über alle Loci lagen bei Werten von 0,63 bis 0,71, wobei die Rasse DL mit 0,53 um 0,1 niedriger liegt. Dieser Wert ist vergleichbar mit den Ergebnissen von LAVAL *et al.* (2000), die mit Einsatz von 18 Markern die genetische Diversität von 11 Schweinerassen aus sechs Ländern darstellten. Die zwei deutschen Rassen waren DL und das Schwäbisch Hällische Schwein. Von dem eingesetzten Mikrosatellitenset stimmten neun Marker mit dem in dieser Arbeit untersuchten überein. Die durchschnittlich über alle Marker ermittelte Heterozygotie für die Rasse DL lag auch hier unter der aller anderen Rassen und betrug 0,54.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse für die einzelnen Kennzahlen keine extremen Auffälligkeiten oder Besonderheiten für die Anwendbarkeit des Mikrosatellitensets in der Population der IGZ GbR auf. Aufgrund der schlechten Resultate für die Allelzahlen, -frequenzen und die Heterozygotie zeigt sich der Marker S0227 als wenig informativ und sollte gegen einen polymorpheren Mikrosatelliten ausgetauscht werden.

5.3 Rückverfolgbarkeit

Rückverfolgbares Fleisch hat verschiedene Vorteile, so gibt es neben der Tatsache, dem Verbraucher Produkte einer ihm bekannten und garantierten Herkunft anbieten zu können, weitere Vorteile für das Betriebssystem der IGZ. So kann z.B. jederzeit die Abstammung einzelner in das System geborener Ferkel überprüft und ein Vertauschen von Ebersperma auf diese Weise aufgedeckt werden.

Bei z.B. Feststellung einer Seuche an einigen Tieren auf einem Schlachthof sollen alle Betriebe gesperrt werden, die diesen beliefert haben, da nicht eindeutig festzustellen ist, auf welchem Betrieb die Krankheit ihren Ausgang hatte. Nun ist die IGZ in der Lage, Gewebe von diesen verseuchten Schweinen zu entnehmen und typisieren zu lassen. Stammen diese Tiere



nicht aus der IGZ GbR kann ihnen kein Elternpaar des Systems zugeordnet werden und es erfolgt keine Sperrung der beteiligten Betriebe.

5.3.1 Ausschlusswahrscheinlichkeiten nach Markern

Die Ausschlusswahrscheinlichkeiten für alle in dieser Arbeit betrachteten Rassen bzw. Rassenkombinationen liegen für 13 Mikrosatelliten im annehmbaren Bereich, mit durchschnittlichen Werten von 0,0427 für einen bekannten Elter und 0,1385 für den Fall, dass beide Elternteile bekannt sind, weist der Marker S0227 auch für die Ausschlusswahrscheinlichkeiten niedrige Werte auf.

WIMMERS *et al.* (2003) stellten in ihrem Projekt zur Abstammungskontrolle beim Schwein auch die Ausschlusswahrscheinlichkeiten für die einzelnen in dieser Untersuchung zum Einsatz kommenden Mikrosatelliten bis auf den Marker S0090 für jeweils 50 Tiere der Rassen Pietrain und DL dar. Im Schnitt liegen die für die einzelnen Mikrosatelliten ermittelten Ausschlusswahrscheinlichkeiten für die Rassen Pietrain und DL im Betriebssystem unter den Ergebnissen von WIMMERS *et al.* (2003). Hier fallen zum einen die Marker SW911 und S0227 auf, die für beide Rassen in der eigenen Untersuchung wesentlich niedrigere Werte aufweisen. Eine weitere starke Abweichung ist am Marker SW936 für die Rasse Pietrain zu erkennen. Die Differenzen könnten in der Anzahl der betrachteten Tiere begründet liegen. Die in dieser Arbeit betrachteten Teilpopulationen bestehen jeweils aus wesentlich mehr Tieren, was eine unterschiedliche Verteilung der Allelfrequenzen zur Folge haben kann. Da die Population der IGZ nicht ausschließlich aus den Rassen Pietrain und DL besteht, stellt diese Betrachtung nur einen Teilvergleich dar und kann keinesfalls auf das Gesamtsystem bezogen werden.

5.3.2 Verwandtschaft der Sauenpopulation

Die Simulation unter Einsatz der den Verwandtschaftskoeffizienten c berücksichtigenden und um den Faktor $(1-c)$ erweiterten Formel 1 (SHERMAN *et al.*, 2004) zum Berechnen der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit zeigte einen enormen Anstieg der Anzahl der zu verwendenden Mikrosatelliten in Abhängigkeit von der Verwandtschaft der Sauen. Sind sämtliche Sauen Vollgeschwister wird fast die doppelte Anzahl Marker benötigt um eine sichere Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit zu erreichen. Die Betrachtung konnte nur für das erste Szenario umgesetzt werden, so erfolgte der Abgleich einer Probe ausschließlich mit den im System als Mütter eingesetzten Sauen.



Von den Elternangaben aufweisenden Sauen der IGZ GbR haben mehr als 60% mindestens ein Vollgeschwister im System, wobei das extreme Ergebnis der Simulation nach Formel 1 (siehe Grafik 7, S.69) auf eine Population bezogen ist, die ausschließlich aus VG- bzw. HG-Sauen besteht. Aufgrund des Einsatzes der KB in der Schweinezucht weist das Betriebssystem der IGZ GbR viele väterliche HG auf, wobei die Rassenvielfalt in der aktiven Sauenpopulation (Kapitel 3.1.3.1) nicht darauf schließen lässt, dass der Anteil der HG in der betrachtete Population auf 100% ansteigen kann, dies würde den Einsatz eines einzigen Vaters für alle Sauen erfordern, was bei der Vielfalt der unterschiedlichen Rassen bzw. Rassenkombinationen nicht möglich ist.

5.3.3 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems

Die Ergebnisse der durchgeführten Simulationsstudien zeigen eine deutliche Abnahme der benötigten Anzahl Marker für jedes Szenario und eine damit verbundene Verringerung der Kosten für die Typisierung der Elterntiere. Zwar fallen Zusatzkosten für die Typisierung der Eber an, doch erspart die Erstellung einer Liste mit den im Produktionssystem einzusetzenden Besamungsebern eine Neutypisierung des eingesetzten Ebers für jeden Wurf. Dieses macht den Mehraufwand für die Ferkelerzeuger gegenüber einer Typisierung eines jeden Ferkels finanzierbar, was sich positiv auf den Kilopreis für ein vermarktetes Schwein auswirkt. Wenn der Verbraucher bereit ist, einen Aufpreis für ein sicher rückverfolgbares Produkt aufzuwenden, erhöht sich so die Gewinnspanne der Produzenten der IGZ GbR. Andererseits wäre es der Produktionsgemeinschaft möglich, dem Konsumenten für einen geringen Mehrpreis ein Stück Fleisch anzubieten, dessen Herkunftsbetrieb feststellbar ist.

Im Projekt kommen zwei Markersets mit insgesamt 15 Mikrosatelliten zum Einsatz, wobei ein Marker des 5er-Plexes aufgrund Schwierigkeiten bei der Typisierung herausfällt. Die Simulation für das Szenario 3 mit einer Anzahl von 14 Markern findet noch immer bis zu sieben mögliche Elternpaare, von den 200 simulierten Proben kann nur 176 eine einzige Elternpaarung zugeordnet werden. Aufgrund dieser theoretischen Erkenntnisse und deren Überprüfung anhand von Simulationsprogrammen ist die Erhöhung der Anzahl der Mikrosatelliten auf 18 oder 19 erforderlich, um dem Verbraucher ausreichende Sicherheit der Rückverfolgbarkeit garantieren zu können.

5.3.4 Durchführung der Rückverfolgbarkeit



Die sicherste Methode zur eindeutigen Rückverfolgung wäre der direkte Abgleich, bei dem von jedem in das System geborene Ferkel ein Genotyp erstellt und dieser in einer Datenbank gespeichert wird, um dann bei Bedarf ein Stück Fleisch typisieren und bei Zugehörigkeit zum System den exakt identischen Genotyp in dieser Datenbank finden zu können. In Grafik 1 (aktive Population Sauen) in Kapitel 3.1.3.1, S.24 ist dargestellt, wie viele Zuchtsauen zum Zeitpunkt des Datenschnittes auf den einzelnen Ferkelerzeugerbetrieben aktiv waren. Durch Multiplikation der Anzahl dieser Sauen mit der durchschnittlichen Anzahl Würfe pro Sau und Jahr von 2,33 (LFL BAYERN, 2006) ergeben sich für die einzelnen Betriebe zwischen 104 und 1.671 Würfe im Jahr. Für einen Betriebsleiter würden durch diese Typisierungen bei einem Preis von 25 Euro für die Erstellung eines Genotyps für jedes auf seinem Betrieb geborene Ferkel enorme Kosten entstehen. Für den Verbraucher hätte diese Anwendung einen übermäßigen Anstieg des Kilopreises Schweinefleisch zur Folge, um den Preis für die Typisierung abzufangen.

Für den indirekten Abgleich sind nur die Typisierung der im Betriebssystem der IGZ GbR eingesetzten Elterntiere notwendig. Dieses erfordert nach der Grundtypisierung der reproduzierenden Sauen eines jeden Betriebes nur noch die zusätzliche Erstellung eines Fingerprints für die neu auf den Betrieben eingesetzten Sauen. Durch diesen indirekten Abgleich werden zum einen Kosten für die Typisierung, zum anderen die Zeit und der Aufwand für die Entnahme der Haarprobe eines jeden Ferkels eingespart. Durch Ausnutzung des hohen Multiplikatoreffekts einer Sau, die in ihrem Leben durchschnittlich 40 bis 60 Ferkel gebärt, die als Mastschweine verkauft werden, können die Kosten für die Genotyperstellung auf diese Anzahl Schweine umgerechnet werden. Für den Konsumenten bedeutet das einen weniger enormen Anstieg für ein Kilo rückverfolgbares Schweinefleisch.

5.3.5 Testläufe

Die Ergebnisse der durchgeführten Testläufe zeigten neben dem momentanen Stand der praktischen Umsetzung der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit auch Probleme auf, die auf diese Weise untersucht und behoben werden konnten.

Mit dem ersten Testlauf, der ziemlich zu Beginn des Projektes stattfand, konnte gezeigt werden, dass noch einige Daten aufgearbeitet werden mussten. So konnte aufgrund der nicht gefundenen Väter festgestellt werden, dass eine ganze Reihe Eber, die in der IGZ GbR eingesetzt werden, noch nicht beprobt oder typisiert wurden. Die 26 Tiere, denen im Vorfeld Ohrmarken mit den Nummern ihrer Eltern eingezogen wurden, hätten durch die Sicherstellung,



dass die Mütter dieser Tiere mit Genotyp in der Datenbank verzeichnet sind, eindeutig zurückverfolgt werden müssen. Es wurde gezeigt, dass selbst auf den Betrieben, die bereits als vollständig grundtypisiert angenommen wurden, Genotypen von im Einsatz befindlichen Sauen fehlen. Da dieser Probelauf umgehend nach Eintreffen der ersten Sauen- und Würfedateien des LKV Bayern e.V. erfolgte, erklärt sich das nicht mögliche Auffinden von Paarungen durch die Unvollständigkeit der Daten. Eine Überprüfung zeigte, dass für einige Betriebe keine Eintragungen für aktive Sauen vorhanden oder einzelne Würfe nicht verzeichnet waren, für zwei Betriebe lagen zu diesem Zeitpunkt noch gar keine zusätzlichen Informationen vor. Es erfolgte eine gründliche Überarbeitung der Daten der bereits vorhandenen Genotypen und der vom LKV Bayern e.V. übertragenen Zusatzinformationen.

Mit nur knapp 23% eindeutig rückverfolgbaren Proben war das Ergebnis dieses zweiten Testlaufes, der aufgrund der nach dem ersten Testlauf durchgeführten Überarbeitung und Aktualisierung der vorhandenen Daten nicht mehr als „weich“ bezeichnet werden kann, nicht zufrieden stellend. Die nicht gefundenen Mütter, Väter oder Elternpaare weisen noch immer auf fehlende Genotypen von Elterntieren hin, was zu einer erneuten Überprüfung führte, ob die Landwirte wirklich konsequent sämtliche Remontierungstiere beproben. Die Tatsache, dass für fünf Proben mehr als eine Paarung gefunden wird, deutet ebenso wie das Ergebnis des ersten Probelaufes darauf hin, dass die Anzahl der eingesetzten Mikrosatelliten zu niedrig ist. Mit Erhöhung der zu untersuchenden Loci könnten schon vor Einbeziehung der tatsächlich durchgeführten Paarungen mehr Eltern ausgeschlossen werden. Die falsche Information über die Elternpaare ließ keine Zuordnung von aus dem Produktionssystem der IGZ GbR stammenden Proben zu und zeigte den betreffenden Betriebsleitern, dass eine korrekte Aufzeichnung der Wurfinformationen unerlässlich für eine sichere Rückverfolgbarkeit ist.

Im dritten Probelauf konnte dargestellt werden, dass die Aufzeichnung der tatsächlich durchgeführten Anpaarungen selbst im Dezember 2004 nicht ausreichend waren. Es waren noch immer Paarungen nicht in den Daten des LKV Bayern e.V. verzeichnet, obwohl beide Eltern und auch die Anpaarung als genetisch möglich herausgefiltert wurden. Wieder zeigte sich, dass schon die ungenaue Aufzeichnung eines einzigen Betriebes eine sichere Rückverfolgbarkeit nicht garantieren kann. Das Auffinden zweier möglicher Elternpaare für eine Probe zeigt wie auch schon in den anderen Probelläufen die Notwendigkeit einer Erhöhung der Markeranzahl.



Der Testlauf zur Überprüfung von Genotypen zeigte Unstimmigkeiten zwischen einigen ersten und zweiten Genotypen bei 19 der 97 doppelt typisierten Tiere. Bezogen auf die Gesamtzahl der als Elterntiere eingesetzten Schweine würde das mindestens eine Inkonsistenz bei ca. 911 Sauen bzw. Ebern bedeuten. Daraus kann ein Ausschluss, der bereits bei Nicht-Übereinstimmung eines Allels von Probe und Elter an nur einem Locus erfolgt, der wahren Mutter bzw. des wahren Vaters führen.

Diese Problematik könnte durch die Erweiterung der zulässigen Unstimmigkeiten beim Genotypenabgleich behoben werden. Durch die Akzeptanz eines unpassenden Allels an einem Locus würden einzelne Mutationen oder Typisierungsfehler toleriert, die Möglichkeit, einen durch das Auftreten dieser Probleme nicht korrekten Genotyp z.B. einer Mutter trotzdem zuzuordnen zu können, steigt an. Andererseits würde bei der Rückverfolgung eine große Anzahl Sauen und Eber, die aufgrund der Unstimmigkeit an einem Locus korrekterweise als nicht mögliche Eltern einer Probe bezeichnet wurden, nicht ausgeschlossen. Da somit die Anzahl der möglichen Eltern ansteigt, müsste in diesem Fall die Markeranzahl erhöht werden, um eine größere Sicherheit der Rückverfolgbarkeit zu erreichen. Sollte es vermehrt zu Konflikten an einem bestimmten Mikrosatelliten kommen, wäre ein Austausch dieses Markers durch einen anderen in Erwägung zu ziehen.

5.4 zusätzliche Untersuchungen zur Rückverfolgbarkeit

5.4.1 DNA-basierte Rückverfolgbarkeit in größeren Populationen

Mit den Simulationen wurde geprüft, ob sich das zur DNA-basierten Rückverfolgbarkeit erstellte System auf größere Populationen übertragen lässt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Anzahl gefundener möglicher Paarungen mit Anstieg der betrachteten Sauen und Eber größer wird. Dieses basiert auf der Tatsache, dass durch die steigende Anzahl Tiere auch die Zahl der abzugleichenden Genotypen ansteigt. Soll nun eine Probe auf ihre Abstammung aus dem System untersucht werden, steigt die Wahrscheinlichkeit, zunächst mögliche Mütter bzw. Väter mit Genotypen zu finden, die keinen Ausschluss als Eltern zulassen. Im nächsten Schritt stehen mehr genetisch mögliche Paarungen zur Verfügung als bei einer geringeren Anzahl in einem Produktionssystem eingesetzter Tiere. Allgemein lässt sich sagen, dass die Anzahl der im Rückverfolgbarkeits-System vorhandenen Elterntiere nicht der begrenzende Faktor ist. Die



theoretische Machbarkeit wurde bestätigt. Um dem Verbraucher auch für größere Systeme eine ausreichende Sicherheit bieten zu können, muss die Anzahl der Marker erhöht werden.

5.4.2 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs

Die erhaltenen Ergebnisse für den Einsatz von SNPs zeigen eine erforderliche Anzahl von mindestens 42 dieser Marker, um die mit den 14 eingesetzten Mikrosatelliten erreichte Ausschlusswahrscheinlichkeit zu erreichen. Diese SNPs müssten alle ein ausgeglichenes Allelverhältnis haben, was für in der Praxis eingesetzte Marker nicht der Fall ist.

Die Verwendung von SNPs in den zur Überprüfung der theoretischen Machbarkeit durchgeführten Simulationen zeigt eine Erfordernis von mehr als 125 Markern.

Der Vorteil des Einsatzes von SNPs zur DNA-basierten Rückverfolgbarkeit liegt in der Möglichkeit der durchsatzstarken Typisierung dieser Marker. Ein großer, auch finanzieller Aufwand ist das Auffinden und Aufstellen eines geeigneten SNP-Sets mit möglichst ausgeglichenen Allelfrequenzen. Nach Etablierung eines solchen Sets stellen SNPs eine vereinfachte Möglichkeit zu einer sicheren Rückverfolgbarkeit dar.

Für einen Einsatz von SNPs zur Rückverfolgbarkeit wäre es aufgrund der niedrigen Typisierungskosten nach Etablierung eines passenden SNP-Sets einfacher, nur die in einem System eingesetzten Sauen zu typisieren. Im Falle einer Verwendung von Mikrosatelliten sind hier mehr als 30 Marker für eine sichere Rückverfolgbarkeit erforderlich. Die Simulation mit SNPs ergab eine Anzahl von mindestens 185 Markern, wobei der zusätzliche Arbeitsaufwand für die Erstellung von Eber-Genotypen und der Aufwand durch die Einbeziehung zusätzlicher Informationen entfallen würde.

5.5 Einfluss des Genotyps auf die Anzahl lebend geborener Ferkel

Das Vorhandensein der großen Menge Genotypen-Daten und zusätzlichen Informationen, die für diese Arbeit zur Verfügung standen, erlaubte die Untersuchung eines eventuell bestehenden Einflusses des Marker-Genotyps auf die Wurfgröße. Durch die Betrachtung der Daten wurde ersichtlich, dass es in den vom LKV Bayern e. V. gelieferten Datensätzen immer wieder zu falschen oder unvollständigen Einträgen kommen kann.

Durch die Aufstellung des statistischen Modells und die Varianzanalyse konnte ein möglicher Einfluss des Genotyps an 10 der 14 zur Rückverfolgbarkeit eingesetzten Mikrosatelliten auf die Wurfgröße ermittelt werden. Mit der Betrachtung der Kontraste konnten einzelne Genotypen ermittelt werden, die größere Differenzen verursachen und in mehreren Würfen auftreten,



was einen Effekt bestätigen könnte. Da diese Untersuchung aufgrund der großen Menge vorhandener Informationen und Genotypen von Schweinen unterschiedlicher Rassen bzw. Rassenkombinationen durchgeführt wurde und keinen Bezug auf die in dieser Arbeit betrachtete Fragestellung zur Rückverfolgbarkeit hat, könnte an diese Ergebnisse mit weiteren Untersuchungen angeknüpft werden. Hier wäre eine genauere Interpretation und Vertiefung der Betrachtung der einzelnen Genotypen notwendig, die eine Differenz zum Mittelwert der Ergebnisse der betrachteten Population aufweisen. So würde es möglich, einzelne Genotypen bzw. Allele ausfindig zu machen, die einen kausalen Effekt auf ein die Wurfgröße beeinflussendes Gen oder einen QTL haben.



6 Schlussfolgerung

Mit den in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen konnte der „Proof-of-Principle“ erreicht werden, dass eine DNA-basierte Rückverfolgbarkeit auf Basis von Mikrosatelliten möglich ist, was sowohl theoretisch durch Simulationen als auch praktisch durch die Umsetzung dieses Prinzips im Betriebssystem der IGZ GbR veranschaulicht wurde.

Die zunächst durchgeführte Bestimmung der Kennzahlen zur Anwendbarkeit des von NECHTELBERGER *et al.* (2001) etablierten Marker-Sets in der Population der IGZ GbR zeigte, dass der Marker S0227 aufgrund des Auffindens von lediglich drei Allelen über alle Rassen und der damit verbundenen schlechten Ergebnisse für den Heterozygotiegrad nur eine geringe Ausschlusswahrscheinlichkeit aufweist. Durch Austausch dieses Markers mit einem polymorpheren könnte die Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit des Mikrosatelliten-Sets gesteigert und somit die Sicherheit der Rückverfolgbarkeit erhöht werden.

Die Erfordernis einer höheren Sicherheit des Rückverfolgbarkeits-Systems bestätigte sich in den Simulationen zu den einzelnen Szenarien -Abgleich nur mit den Sauen, Abgleich mit Sauen und Ebern und Einbeziehung zusätzlicher Informationen-. Hier wurde dargestellt, dass die Anzahl der zu verwendenden Mikrosatelliten zwar mit steigender Information sinkt, jedoch kann mit 14 Markern selbst unter Berücksichtigung der Daten zu den tatsächlich durchgeführten Anpaarungen (Szenario 3) keine ausreichende Sicherheit für die Rückverfolgbarkeit gewährleistet werden, zumal hier von einer Unverwandtheit der betrachteten Tiere ausgegangen wird. Um dem Verbraucher eine sichere Rückverfolgung seines Fleisches bieten zu können, muss für 99,5% der Proben eindeutig das wahre Elternpaar gefunden werden, um auf den Herkunftsbetrieb schließen zu können. Dazu werden wie in Grafik 13 (Kapitel 4.2.3.3) dargestellt mindestens 18 Mikrosatelliten benötigt.

Sowohl im Verlauf der praktischen Umsetzung des Rückverfolgbarkeitssystems als auch durch die Ergebnisse der drei Probeläufe zeigte sich weiter, dass sowohl die Einbeziehung der Eber als auch die von Zusatzinformationen Fehlerquellen mit sich bringen. Die konsequente Aufzeichnung der für einen Wurf eingesetzten Eber ist genauso eine Voraussetzung für eine eindeutige Rückverfolgbarkeit wie die fortwährende Typisierung aller eingesetzten Elterntiere. Die am System beteiligten Institutionen müssen äußerst präzise und kontinuierlich arbeiten, um falsche Aufzeichnungen von Vätern der Würfe und Fehltypisierungen an einzelnen Genorten zu vermeiden, da dies fälschlicherweise zum Ausschluss von wahren Eltern führen



kann. Auch durch Mutationen, die aufgrund der von ELLEGREN (1995) geschätzten Mutationsrate in porcinen Mikrosatelliten mit 7×10^{-5} pro Generation und Gamete bei einer großen Anzahl erstellter Genotypen denkbar sind, können richtige Eltern ausgeschlossen werden. Durch die Akzeptanz eines unpassenden Alles an einem Genort beim indirekten Abgleich würden diese Unstimmigkeiten toleriert.

Eine Vereinfachung des dargestellten Rückverfolgbarkeitssystems und damit auch eine Verminderung von Fehlerquellen bietet der Einsatz von Single Nucleotid Polymorphisms (SNPs) als genetische Marker. Aufgrund des Fortschreitens der Technologieentwicklung von SNPs stellt die Anwendung dieser Marker nach Aufstellen eines auf die Population abgestimmten Sets eine preiswerte und effiziente Alternative zur Erstellung von Genotypen dar. Da die Kosten für die Typisierung eines einzelnen SNPs im Laufe der Entwicklung sehr niedrig geworden sind, könnte die Anzahl der verwendeten SNPs dementsprechend hoch gewählt werden, um den Abgleich einer typisierten Probe ausschließlich mit dem im Betriebssystem eingesetzten Zuchtsauen durchführen zu können. Für die Population der IGZ GbR müssten das für 4.600 Sauen mindestens 185 SNPs sein, um für jede Probe sämtliche Mütter bis auf die wahre ausschließen zu können. Dies hätte sowohl einen Wegfall des zusätzlichen Aufwands für Entnahme und Typisierung von Haarproben der Eber als auch der Aufnahme und Berücksichtigung der tatsächlich durchgeführten Anpaarungen zur Folge, da nur noch das erste Szenario berücksichtigt werden müsste. Es müssten keine genauen Aufzeichnungen der eingesetzten Eber mehr durchgeführt werden, somit würde zumindest die Datenübertragung der Würfedatei (Kapitel 3.1.2.2) und damit eine mögliche Fehlerquelle entfallen.



7 Zusammenfassung

7.1 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, eine Methode zur DNA-basierten Rückverfolgbarkeit beim Schwein zu entwickeln und diese im Produktionssystem der Interessengemeinschaft für Zertifizierung (IGZ) GbR praktisch umzusetzen. Dafür wurden zunächst 14 Mikrosatelliten (MS) Marker ausgewählt und in der vorhandenen Population typisiert. Anschließend wurden die Genotypen für jeden Marker auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht getestet und die Allelanzahl, die Allelfrequenzen, der Heterozygotiegrad und der Polymorphism Information Content (PIC) bestimmt. Diese Auswertungen zeigten, dass der Marker S0227 in der untersuchten Population für eine Verwendung als MS-Marker zur Rückverfolgbarkeit nur ungenügend polymorph ist und ausgetauscht werden sollte.

Die theoretische Machbarkeit eines Rückverfolgbarkeits-Systems unter Anwendung des indirekten Genotypen-Abgleichs wurde mittels Simulationen überprüft. Die Entwicklung erfolgte in drei Szenarien: Im ersten Szenario sollte der Genotyp einer Probe ausschließlich mit denen aller als Mütter eingesetzten Sauen im Produktionssystem abgeglichen werden. Über die Mütter konnte dann der Geburtsbetrieb herausgefunden werden. Dieses Szenario erfordert eine große Anzahl Marker und ist vom zusätzlichen wirtschaftlichen Aufwand nicht realisierbar. So wurden im zweiten Szenario die im System eingesetzten Eber einbezogen. Durch den zusätzlichen Abgleich mit den Genotypen der potentiellen Väter ließ sich gegenüber dem ersten Szenario eine große Anzahl Sauen zusätzlich ausschließen und die Ermittlung der genetisch möglichen Paarungen ließ den Ausschluss weiterer Mütter zu. In einem dritten Szenario wurden zusätzliche Informationen aufgenommen um dadurch die Markeranzahl und damit auch die Kosten zu senken. Dafür wurden tatsächlich durchgeführte Anpaarungen anhand einer vom LKV Bayern e.V. zur Verfügung gestellten Würfedatei in einer Datenbank gespeichert und beim Abgleich der Genotypen mitberücksichtigt. So wurden zwar gegenüber dem zweiten Szenario weniger Mikrosatelliten benötigt, jedoch barg die Datenerhebung einen erheblichen logistischen Mehraufwand.

Die Ergebnisse der Programme, mit denen die drei Szenarien mit unterschiedlichen Markeranzahlen simuliert wurden, zeigten, dass eine DNA-basierte Rückverfolgbarkeit im Betriebssystem der IGZ GbR möglich ist. Um dem Verbraucher jedoch eine ausreichende Si-



cherheit bieten zu können, müsste die Anzahl der eingesetzten Mikrosatelliten auf mindestens 18 erhöht werden.

Die Etablierung der DNA-basierten Rückverfolgbarkeit im Produktionssystem der IGZ GbR erfolgte in mehreren Schritten. Zuerst wurden mittels Haarproben sämtliche als Mütter eingesetzte Sauen an den MS-Markern typisiert und alle zu der einzelnen Sau und ihren Würfen verfügbaren Zusatzinformationen neben den Genotypen in einer Datenbank gespeichert. Diese Datenbank wurde kontinuierlich aktualisiert. Während der Umsetzung der praktischen Rückverfolgbarkeit wurden insgesamt drei Probeläufe durchgeführt, um den Stand der Typisierung bzw. der Datenaufnahme abzurufen. Aufgrund von Indiskrepanzen mussten die Genotypen in einem Testlauf überprüft werden.

Eine weitere Untersuchung sollte zeigen, ob die hier angewendete DNA-basierte Rückverfolgbarkeit auf Systeme mit größeren Anzahlen eingesetzter Elterntiere übertragbar sei. Dies ergab, dass der theoretische Ansatz unter Verwendung zusätzlicher Mikrosatelliten durchaus in einem größeren System funktionieren kann.

Auch ein Einsatz von SNPs als genetische Marker wurde untersucht, mit dem Ergebnis, dass mindestens eine Anzahl von 125 dieser Marker erforderlich wäre, um die mit Mikrosatelliten erreichte Ausschlusswahrscheinlichkeit unter den im betrachteten System vorliegenden Gegebenheiten zu erreichen.

Am Rande dieser Arbeit wurde außerdem untersucht, ob ein eventueller Einfluss des Genotyps auf die Wurfgröße vorliegt, da sowohl die Genotypen als auch die Daten zur Anzahl geborener Ferkel eines jeden Wurfs vorlagen. Dabei konnten für einige Genotypen eine signifikante Beeinflussung festgestellt werden, die jedoch im Rahmen weiterer Projekte untersucht werden sollte.

7.2 Summary

The objective of this thesis was to develop a method for DNA based traceability in pork and to realise this method in the production system of the “Interessengemeinschaft für Zertifizierung” (IGZ) GbR. Initially, 14 microsatellite markers have been selected and genotyped in the given population. Subsequently, the genotypes of each marker have been tested for deviation from Hardy-Weinberg-Equilibrium and further, the number of alleles, allele frequen-



cies, heterozygosis and the Polymorphism Information Content (PIC) have been inferred. It has been shown that one of the microsatellite markers, marker S0227 was inappropriate for the use as a traceability marker because of low variability and should be replaced.

The theoretical feasibility of the traceability system by the application of indirect comparisons of the genotypes was reviewed by a simulation procedure, which was developed in three steps: At first, the genotype of the sample was solely compared with the genotypes of all sows of the production system. Knowing the mother's origin, the farm of birth could be determined. This scenario requires a large number of markers and is due to the additional expenses unrealisable. Therefore, in the second scenario, the boars of the production systems were included in the simulations. The additional comparison with the genotypes of the potential fathers revealed that in contrast to the first scenario, a larger number of sows could be excluded. Further, the genetic possible matings were determined with a considerable reduction of the number of potential mothers. The third scenario included additional information in order to reduce the number of markers and the expenses. Therefore, the data of the actual matings were received from the "LKV Bayern e.V.", stored in a database and subsequently considered for the genotype comparisons. With these supplementary data, the number of microsatellite markers could be reduced in contrast to the second scenario, but the data collection itself represents a considerable additional logistic effort.

Simulation of three scenarios with varying number of markers showed that DNA based traceability is realisable in the production system of the IGZ GbR. Nevertheless, the number of microsatellite markers should be increased on at least 18 in order to guarantee a distinct identification of the pork's origin and to assure safety for the consumer.

The DNA based traceability was established in the production system of the IGZ GbR in several steps. First, all microsatellite markers were genotyped in the panel of sows, which were used as mothers. Subsequently, the supplementary data of the mothers and their litter was stored beside the genotype data in a database that was continuous updated. During the realisation of the practical traceability, three trial runs were conducted to control the state of genotyping and the data collection. Due to discrepancies, the genotypes have been checked by an extra test run.



The assignability of the DNA-based traceability method to a system containing a larger number of parents was analysed, revealing that the theoretical approach could work using additional microsatellite markers in such a system.

Furthermore, the alternative use of SNPs as genetic markers was investigated, showing that at least a number of 125 SNPs would be required to reach the exclusion probability, which was archived by the use of the microsatellite markers in the examined system with the present conditions.

Finally, due to the substantial data collection including inter alia litter size and genotypes of each sow, a putative influence of the genotype on the litter size was examined, revealing significant associations for some genotypes. These findings should be scrutinised in following projects.



8 Literaturverzeichnis

- ACHMANN, R., WALLNER, B., SCHWEND, K., TRAXLER, B., MÜLLER, S., NECHTELBERGER, D., MÜLLER, M. UND BREM, G. (2000): Abstammungsüberprüfung bei Nutztieren mit Hilfe der Analyse von DNA-Mikrosatelliten-Markern. *Graduiertenkolleg molekulare Veterinärmedizin Justus- Liebig-Universität Giessen: PCR-Methoden und Anwendungen*, Fachverlag Kohler, Giessen, S. 23-33.
- AJMONE-MARSAN, P., VALENTINI, A., CASSANDRO, M., VECCHIOTTI-ANTALDI, G., BERTONI, G. UND KUIPER, M. (1997): AFLP markers for DNA fingerprinting in cattle. *Anim. Genet.* **28**: 418-426
- AKEY, J. M., ZHANG, G., ZHANG, K., JIN, L. UND SHRIVER, M. D. (2002): Interrogating a high-density SNP map for signatures of natural selection. *Genome Res.* **12**: 1805-1814
- ALFORD, R.B., HAMMOND, H.A., COTO, I. UND CASKEY, C.T. (1994): Rapid and efficient resolution of parentage by amplification of short tandem repeats. *American J Hum Genet* **55**, 190-195
- ANDERSON, E. C. UND THOMPSON, E. A. (2002): A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data. *Genetics* **160**: 1217-1229
- ASR- ARBEITSGEMEINSCHAFT SÜDDEUTSCHER RINDERZUCHT- UND BESAMUNGSORGANISATIONEN E.V. (2005): Jahresbericht 2004
- BAARS, S. (2005): Elektronische Kennzeichnung von Mastschweinen: Statt Ohrmarken Transponder-Injektate. *Aid-PressInfo* **19/05**
- BABOT, D., HERNÁNDEZ-JOVER, M., CAJA, G., SANTAMARINA, C. UND GHIRARDI, J.J. (2006): Comparison of visual and electronic identification devices in pigs: On-farm performances. *J. Anim. Sci.* **84**: 2575-2581
- BALLOUX, F. UND LUGON-MOULIN, N. (2002): The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol.* **11**: 155-165
- BARCOS, L.O. (2001): Recent developments in animal identification and the traceability of animal products in international trade. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 640-651
- BLANCOU, J. (2001): A history of the traceability of animals and animal products. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 420-425
- BOTSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNICK, M. UND DAVIS, R.W. (1980): Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* **32**: 314-331
- CAJA, G., HERNÁNDEZ-JOVER, M., GARÍN, D., CONILL, C., ALABERN, X., FARRIOL B. UND GHIRARDI, J., (2002): The use of of ear-tag and injectable transponders for the electronic identification and traceability of pigs, ADSA/ASAS/CSAS Joint Meeting, Quebec City, Canada, July 20-25, 2002



CAJA, G., (2003): Traceability in the Future. 1st International FoodTrace Conference, London (UK)

CAJA, G., HERNÁNDEZ-JOVER, M., CONILL, C., GARÍN, D., ALABERN, X., FARRIOL, B. UND GHIRARDI, J. (2005): Use of ear tags and injectable transponders for the identification and traceability of pigs from birth to the end of the slaughter line. *J. Anim. Sci.* **83**: 2215-2224

CHAKRABORTY, R., MEAGHER, T. R. UND SMOUSE, P. E. (1988): Parentage analysis with genetic markers in natural populations. I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. *Genetics* **118**: 527-537

CONILL, C., CAJA, G., NEHRING, R. UND RIBO, O. (2000): Effects of injection position and transponder size on the performances of passive injectable transponders used for the electronic identification of cattle. *J. Anim. Sci.* **78**: 3001-3009

CORNUET, J. M., PIRY, S., LUIKART, G., ESTOUP, A. UND SOLIGNAC, M. (1999): New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* **153**: 1989-2000

CUNNINGHAM, E.P. UND MEGHEN, C.M. (2001): Biological identification systems: genetic markers. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 491-499

ELLEGREN, H., CHOWDHARY, B. P., JOHANSSON, M., MARKLUND, L., FREDHOLM, M., GUSTAVSSON, I. UND ANDERSSON, L. (1994A): A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination. *Genetics* **137**: 1089-1100

ELLEGREN, H., CHOWDHARY, B. P., FREDHOLM, M., HOYHEIM, B., JOHANSSON, M., BRAUNER NIELSEN, P. B., THOMSEN, P. D. UND ANDERSSON, L. (1994B): A physically anchored linkage map of pig chromosome 1 uncovers sex- and position-specific recombination rates. *Genomics* **24**: 342-350

ELLEGREN, H. (1995): Mutation rates at porcine microsatellite loci. *Mamm. Genome* **6**, 376-377

FALCONER, D.S. UND MACKAY, T.F.C. (1996): Introduction to Quantitative Genetics, 4th Edition, Longman Scientific-Verlag, London

FAN, B., WANG, Z.-G., LI, Y.-J., ZHAO, X.-L., LIU, B., ZHAO, S.-H., YU, M., LI, M.-H., CHEN, S.-L., XIONG, T.-A. UND LI, K. (2002): Genetic variation analysis within and among Chinese indigenous swine populations using microsatellite markers. *Animal Genetics* **33**: 422-427

FRIES, R. (PERS. MITTEILUNG): Programm zum Einlesen von csv-Dateien in eine MySQL-Datenbank

FREDHOLM, M., WINTERO, A. K., CHRISTENSEN, K., KRISTENSEN, B., NIELSEN, P. B., DAVIES, W. UND ARCHIBALD, A. (1993): Characterization of 24 porcine (dA-dC)_n-(dT-dG)_n microsatellites: genotyping of unrelated animals from four breeds and linkage studies. *Mamm. Genome* **4**: 187-192



- GARCIA, D., CARLEOS, C., PARRA, D. UND CANON, J. (2002): Sib-parentage testing using molecular markers when parents are unknown. *Anim. Genet.* **33**: 364-371
- GELLIN, J., BROWN, S., MARSHALL GRAVES, J. A. , ROTHSCHILD, M., SCHOOK L. *et al.* (2000): Comparative gene mapping workshop: progress in agriculturally important animals. *Mamm. Genome* **11**: 140-4.
- GLOWATZKI-MULLIS, M.L., GAILLARD, C., WIGGER, G. UND FRIES, R. (1995): Microsatellite based parentage control in cattle. *Anim Genet* **26**: 7-12
- GOFFAUX, F., CHINA, B., DAMS, L., CLINQUART, A. UND DAUBE, G. (2005): Development of a genetic traceability test in pig based on single nucleotide polymorphism detection. *Forensic Sci. Int.* **151**: 239-247
- GOLDSTEIN, D. B. UND SCHLÖTTERER, C. (1999): Microsatellites: evolution and applications. Oxford University Press, Oxford
- GRAY, I.C., CAMPBELL, D.A. UND SPURR, N. (2000): Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics. *Hum. Mol. Genet.* **9**(16):2403-2408
- GRUYS, E., SCHAKENRAAD, J. M., KRUIT, L. K. UND BOLSCHER, J. M. (1993): Biocompatibility of glass-encapsulated electronic chips (transponders) used for the identification of pigs. *Vet. Rec.* **133**: 385-388
- HAMADA, H., PETRINO, M.G. UND KAKUNAGA, T. (1982): A novel repeated element with Z-DNA-forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**: 6465-6469
- HAMADA, H., PETRINO, M.G., KAKUNAGA, T., SEIDMAN, M. UND STOLLAR, B.D. (1984): Charakterization of poly(dT-dG).poly(dC-dA) sequences: structure, organization and conformation. *Molecular and Cellular Biology* **4** (12): 2610-2621
- HEATON, M.P., HARHAY, G.P., BENNETT, G.L., STONE, R.T., GROSSE, W.M., CASAS, E., KEELE, J.W., SMITH, T.P., CHITKO-MCKOWN, C.G. UND LAEGREID, W.W. (2002): Selection and use of SNP markers for animal identification and paternity analysis in U.S. beef cattle. *Mamm. Genome* **13**: 272-281
- HEYEN, D.W., BEEVER, J.E., DA, Y., EVERT, R.E., GREEN, C., BATES, S.R., ZIEGLE, J.S. UND LEWIN, H.A. (1997): Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing. *Anim. Genet.* **28**: 21-27
- JAMIESON, A. (1965): The genetics of transferrins in cattle. *Heredity* **20**: 419-441
- JAMIESON, A. (1994): The effectiveness of using co-dominant polymorphic allelic series for (1) checking pedigrees and (2) distinguishing full-sib pair members. *Anim. Genet.* **25** (Suppl 1): 37-44
- JAMIESON, A. UND TAYLOR, S. C. (1997): Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Anim. Genet.* **28**: 397-400



- JEFFREYS, A. J., WILSON, V. UND THEIN, S. L. (1985A): Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. *Nature* **314**: 67-73
- JEFFREYS, A.J., WILSON, V. UND THEIN, S.L. (1985B): Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature* **316**: 76-79
- KRAWCZAK, M. (1999): Informativity assessment for biallelic single nucleotide polymorphisms. *Electrophoresis* **20**: 1676-1681
- LAVAL, G., IANNUCELLI, N., LEGAULT, C., MILAN, D., GROENEN, M. A., GIUFFRA, E., ANDERSSON, L., NISSEN, P. H., JORGENSEN, C. B., BEECKMANN, P., GELDERMANN, H., FOULLEY, J. L., CHEVALET, C. UND OLLIVIER, L. (2000): Genetic diversity of eleven European pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* **32**: 187-203
- LEMUS-FLORES, C., ULLOA-ARVIZU, R., RAMOS-KURI, M., ESTRADA, F.J. UND ALONSO, R.A. (2001): Genetic analysis of Mexican hairless pig populations. *J. Anim. Sci.* **79**: 3021-3026
- LEVINSON, G. UND GUTMAN, G.A. (1987): Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 203-221
- LFL- BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT (2006): Schweinezucht und Schweineproduktion
- LOPEZ-CORRALES, N. L., BEATTIE, C. W. UND ROHRER, G. A. (1999): Cytogenetic assignment of 53 microsatellites from the USDA-MARC porcine genetic map. *Cytogenet. Cell Genet.* **84**: 140-144
- LOPEZ HERRÁEZ, D., SCHÄFER, H., MOSNER, J., FRIES, H.-R. UND WINK, M. (2005): Comparison of Microsatellite and Single Nucleotide Polymorphism Markers for the Genetic Analysis of a Galloway Cattle Population. *Z. Naturforsch.* **60 c**: 637-643
- LUIKART, G., BIJU-DUVAL, M. P., ERTUGRUL, O., ZAGDSUREN, Y., MAUDET, C. UND TABERLET, P. (1999): Power of 22 microsatellite markers in fluorescent multiplexes for parentage testing in goats (*Capra hircus*). *Anim. Genet.* **30**: 431-438
- MADEC, F., GEERS, R., VESSEUR, P., KJELDSSEN, N. UND BLAHA, T. (2001): Traceability in the pig production chain. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 523-537
- MARIAT, D. UND VERGNAUD, G. (1992): Detection of polymorphic loci in complex genomes with synthetic tandem repeats. *Genomics* **12**: 454-458
- MARKLUND, S., ELLENGREN, H., ERIKSON, S., SANDBERG, K. UND ANDERSON, L. (1994): Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Anim Genet* **25**: 19-23
- MARTINEZ, A.M., DELGADO, J.V., RODERO, A. UND VEGA-PLA, J.L. (2000): Genetic structure of the Iberian Pig breed using microsatellites. *Anim Genet* **31**: 295-301
- MARSHALL, T. C., SLATE, J., KRUK, L. E. UND PEMBERTON, J. M. (1998): Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* **7**: 639-655



- MARTÍNEZ, A.M., DELGADO, J.V., RODERO, A. UND VEGA-PLA, J.L. (2000): Genetic structure of the Iberian pig breed using microsatellites. *Animal Genetics* **31**: 295-301
- MAUDET, C., LUIKART, G. UND TABERLET, P. (2002): Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *J. Anim. Sci.* **80**: 942-950
- McKEAN, J.D. (2001): The importance of traceability for public health and consumer protection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 363-371
- MESSIER, W., LI, S.H. UND STEWART, C.B. (1996): The birth of microsatellites. *Nature* **381**: 483
- NECHTELBERGER, D., KALTWASSER, C., STUR, I., MEYER, J.N., BREM, G., MÜLLER, M. UND MÜLLER, S. (2001): DNA microsatellite analysis for parentage control in Austrian pigs. *Anim. Biotechnol.* **12**: 141-144
- NEI, M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**(3): 583-590
- NIELSEN, R. (2000): Estimation of population parameters and recombination rates from single nucleotide polymorphisms. *Genetics* **154**: 931-942
- NIELSEN, R., MATTILA, D. K., CLAPHAM, P. J. UND PALSBOELL, P. J. (2001): Statistical approaches to paternity analysis in natural populations and applications to the North Atlantic humpback whale. *Genetics* **157**: 1673-1682
- ORRU, L., NAPOLITANO, F., CATILLO, G. UND MOIOLI, B. (2004): Meat traceability using molecular markers in the Italian cattle breeds. Istituto Sperimentale per la Zootecnia, Montorotondo, Italy
- PETKOV, P. M., DING, Y., CASSELL, M. A., ZHANG, W., WAGNER, G., SARGENT, E. E., ASQUITH, S., CREW, V., JOHNSON, K. A., ROBINSON, P., SCOTT, V. E. UND WILES, M. V. (2004): An efficient SNP system for mouse genome scanning and elucidating strain relationships. *Genome Res.* **14**: 1806-1811
- PETTITT, R.G. (2001): Traceability in the food animal industry and supermarket chains. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **20** (2): 584-597
- QUINTANILLA, R., VARONA, L., PUJOL, M. R. UND PIEDRAFITA, J. (1999): Maternal animal model with correlation between maternal environmental effects of related dams. *Anim. Sci.* **77**: 2904-2917
- RIQUET, J., MILAN, D., WOLOSZYN, N., SCHMITZ, A., PITEL, F., FRELAT, G. UND GELLIN, J. (1995): A linkage map with microsatellites isolated from swine flow-sorted chromosome 11. *Mamm. Genome* **6**: 623-628
- ROBIC, A., DALENS, M., WOLOSZYN, N., MILAN, D., RIQUET, J. UND GELLIN, J. (1994): Isolation of 28 new porcine microsatellites revealing polymorphism. *Mamm. Genome* **5**, 580-583



- ROHRER, G. A., ALEXANDER, L. J., KEELE, J. W., SMITH, T. P. UND BEATTIE, C. W. (1994): A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* **136**: 231-245
- ROHRER, G. A., ALEXANDER, L. J., HU, Z., SMITH, T. P., KEELE, J. W. UND BEATTIE, C. W. (1996): A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Res.* **6**: 371-391
- ROSENBERG, N. A., LI, L. M., WARD, R. UND PRITCHARD, J. K. (2003): Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *Am. J. Hum. Genet.* **73**: 1402-1422
- ROSSNAGEL, I. (1999): Untersuchungen zur Biodiversität verschiedener Kaltblut- und Primitivpferderassen. *Dissertation*, Lehrstuhl für Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
- SCHELLANDER, K. UND WIMMERS, K. (1999): Stand und Perspektiven der Genomanalytik in der Tierzucht. 51. Hochschultagung, Universität Bonn
- SCHNABEL, R. D., WARD, T. J. UND DERR, J. N. (2000): Validation of 15 microsatellites for parentage testing in North American bison, *Bison bison* and domestic cattle. *Anim. Genet.* **31**: 360-366
- SEICHTER, D. (2005): Persönliche Mitteilung
- SHERMAN, G.B., KACHMAN, S.D., HUNGERFORD, L.L., RUPP, G.P., FOX, C.P., BROWN, M.D., FEUZ, B.M. UND HOLM, T.R. (2004): Impact of candidate sire number and sire relatedness on DNA polymorphism-based measures of exclusion probability and probability of unambiguous parentage. *Anim. Genet.* **35**: 220-226
- SOBRINO, B., BRION, M. UND CARRACEDO, A. (2005): SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci. Int.* **154** (2-3):181-194
- STALLINGS, R.L., FORD, A.F., NELSON, D., TORNEY, D.C., HILDEBRAND, C.E. UND MOYZIS, R.K. (1991): Evolution and distribution of (GT)_n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics* **10**: 807-815
- STANFORD, K., STITT, J., KELLAR, J.A. UND MCALLISTER, T.A. (2001): Traceability in cattle and small ruminants in Canada. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* **20** (2): 510-522
- STAUN, H. (2002): Food safety regulation applied to production of quality pork in denmark. Proc. International Ensminger Ag-Tech School. P. 111. Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Thailand
- STMLF- BAYERISCHES STAATSMINISTERIUM FÜR LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN (2005): Bayerischer Agrarbericht 2004
- TAUTZ, D. UND RENZ, M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res.* **12**: 4127-4138
- TAUTZ, D., TRICK, M. UND DOVER, G.A. (1986): Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature* **322**: 652-656



- TAUTZ, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* **17**: 6463-6471
- TAUTZ, D. (1990): Genomic Finger Printing Goes Simple. *BioEssays* **12**: 44-46
- TOPEL, D.G. (2003): Traceability for the pork industry: challenges and opportunities. *Facts, National pork board*, American Meat Science Association
- VERORDNUNG (EG) NR. 178/2002 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES (2002): Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit. *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften*, Brüssel, Belgien
- WAGNER, V. (2001): Anwendung des Genetischen Fingerabdruckes. Generatio GmbH.
- WEBB, J. (2005): Traceability implications for genetic improvement and consumers DNA-based tracking opportunities. Maple Leaf Foods Inc., Toronto, Ontario, Canada
- WEBER, J.L. UND WONG, C. (1993): Mutation of human short tandem repeats. *Hum. Mol. Genet.* **2**: 1123-1128
- WEIßBUCH ZUR LEBENSMITTELSICHERHEIT (2000), Kommission der Europäischen Gemeinschaften, KOM (1999) 719 endg., 12. Januar 2000, Brüssel
- WERNER, F. A., DURSTEWITZ, G., HABERMANN, F. A., THALLER, G., KRAMER, W., KOLLERS, S., BUITKAMP, J., GEORGES, M., BREM, G., MOSNER, J. UND FRIES, R. (2004): Detection and characterization of SNPs useful for identity control and parentage testing in major European dairy breeds. *Anim. Genet.* **35**: 44-49
- WEIR, B.S. (1996): Genetic Data Analysis II, 2nd Edition, Sinauer Associates Inc., U.S.
- WILKE, K., JUNG, M., CHEN, Y. UND GELDERMANN, H. (1994): Porcine (GT)_n sequences: structure and association with dispersed and tandem repeats. *Genomics* **21**: 63-70
- WIMMERS, K., PONSUKSILI, S., RADAD, S.-D., THOLEN, E. UND SCHELLANDER, K. (2003): Abstammungskontrolle beim Schwein nach tierschonender Probenentnahme. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, *Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL* **98**, 56 Seiten
- WINTERO, A.K., FREDHOLM, M. UND THOMSEN, P.D. (1992): Variable (dG-dT)_n.(dC-dA)_n sequences in the porcine genome. *Genomics* **12**: 281-288
- YANG, S.-L., WANG, Z.-G., LIU, B., ZHANG, S.-H., YU, M., FAN, B., LI, M.-H., XIONG, T.-A. UND LI, K. (2003): Genetic variation and relationships of eighteen Chinese indigenous pig breeds. *Genet. Sel. Evol.* **35**: 657-671



Internetseiten:

ANIMAL HEALTH ONLINE- Informationen zum Thema Tiermedizin und Tiergesundheit:

<http://www.animal-health-online.de>

EID+DNA TRACING: Electronic Identification and Molecular Markers for improving the Traceability of Livestock and Meat:

<http://www.uab.es/tracing/>

IDNOSTICS: The TypiFix®-System

http://www.idnostics.com/prod_system.htm

INSTITUT FÜR RECHTSMEDIZIN DER UNIVERSITÄT LEIPZIG: Der Genetische Fingerabdruck:

<http://rechtsmedizin.uni-leipzig.de>

INRA- INSTITUTE NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE: Panel of markers for diversity studies:

<http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/panel.htm>

PIGBASE 2006: Genomkarte Schwein:

<http://iowa.threarkdb.org/>

PORTAL FÜR RÜCKVERFOLGBARKEIT IN DER NAHRUNGSMITTELINDUSTRIE:

<http://www.rueckverfolgbarkeit.de>

U.S. ANIMAL RESEARCH CENTER (MARC):

<http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html>



9 Anhang

9.1 Zusatz zu Tiere, Material und Methoden

9.1.1 Mikrosatellitenmarker

Hier eine Beschreibung der verwendeten Mikrosatelliten nach Angaben des U.S. Animal Research Centers (MARC) (<http://www.marc.usda.gov/genome/genome.html>).

9.1.1.1 10er-Plex

Marker S0005

- Swine Marker S0005 (10184)
- Chromosome: 5²²
- Locus: S0005
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: M97232

- Heterozygosity: 100
- Informative Meioses: 233

- Number of Alleles: 11
- Minimum Allele Size: 203 (bp)
- Maximum Allele Size: 243 (bp)

- Annealing Temperature: 60°C
- Forward Primer Sequence: TCCTTCCCTCCTGGTAACTA
- Reverse Primer Sequence: GCACTTCCTGATTCTGGGTA
- Linkage Group Assignment:²²

- Relative Position: 88.2cm

Marker S0090

- Swine Marker S0090 (10210)
- Chromosome: 12²²
- Locus: S0090
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: M95002
- Heterozygosity: 70



- Informative Meioses: 2393
- Number of Alleles: 12
- Minimum Allele Size: 240 (bp)
- Maximum Allele Size: 253 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: CCAAGACTGCCTTGTAGGTGAATA
- Reverse Primer Sequence: GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG
- Linkage Group Assignment: 22

- Relative Position: 80.2cm

Marker S0101

- Swine Marker S0101 (10824)
- Chromosome: 7²²
- Locus: S0101
- Marker Type: microsatellite
- Heterozygosity: 100
- Informative Meioses: 2287

- Number of Alleles: 13
- Minimum Allele Size: 196 (bp)
- Maximum Allele Size: 224 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: GAATGCAAAGAGTTCAGTGTAGG
- Reverse Primer Sequence: GTCTCCCTCACACTTACCGCAG
- Linkage Group Assignment: 22

- Relative Position: 134.9cm

Marker S0155

- Swine Marker S0155 (10832)
- Chromosome: 1²²
- Locus: S0155
- Marker Type: microsatellite
- Heterozygosity: 80
- Informative Meioses: 87

- Number of Alleles: 7



- Minimum Allele Size: 148 (bp)
- Maximum Allele Size: 164 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG
- Reverse Primer Sequence: AAAGTGGAAAGAGTCAATGGCTAT
- Linkage Group Assignment:²²

- Relative Position: 93.9cm

Marker S0355

- Swine Marker S0355 (11259)
- Chromosome: 15²²
- Locus: S0355
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: L29049

- Heterozygosity: 70
- Informative Meioses: 1876

- Number of Alleles: 11
- Minimum Allele Size: 244 (bp)
- Maximum Allele Size: 271 (bp)

- Annealing Temperature: 55°C
- Forward Primer Sequence: TCTGGCTCCTACACTCCTTCTTGATG
- Reverse Primer Sequence: TTGGGTGGGTGCTGAAAAATAGGA
- Linkage Group Assignment:²²

- Relative Position: 13.8cm

Marker S0386

- Swine Marker S0386 (11305)
- Chromosome: 11²²
- Locus: S0386
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: U78012

- Heterozygosity: 60



- Informative Meioses: 1014
 - Number of Alleles: 9
 - Minimum Allele Size: 154 (bp)
 - Maximum Allele Size: 174 (bp)
 - Null Alleles: At least one allele identified does not amplify
 - Annealing Temperature: 55°C
 - Forward Primer Sequence: TCCTGGGTCTTATTTTCTA
 - Reverse Primer Sequence: TTTTATCTCCAACAGTAT
 - Linkage Group Assignment: ²²
-
- Relative Position: 60.3cm

Marker SW24

- Swine Marker SW24 (10371)
 - Chromosome: 17 ²²
 - Locus: SW24
 - Marker Type: microsatellite
 - Database Name: GENBANK
 - Accession Number: AF235245
-
- Heterozygosity: 90
 - Informative Meioses: 727
-
- Number of Alleles: 8
 - Minimum Allele Size: 92 (bp)
 - Maximum Allele Size: 116 (bp)
-
- Annealing Temperature: 58°C
 - Forward Primer Sequence: CTTTGGGTGGAGTGTGTGC
 - Reverse Primer Sequence: ATCCAAATGCTGCAAGCG
 - Linkage Group Assignment: ²²
-
- Relative Position: 23.3cm

Marker SW240

- Swine Marker SW240 (10027)
- Chromosome: 2 ²²
- Locus: SW240
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK



- Accession Number: AF235246
- Heterozygosity: 100
- Informative Meioses: 3173

- Number of Alleles: 20
- Minimum Allele Size: 91 (bp)
- Maximum Allele Size: 114 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG
- Reverse Primer Sequence: AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA
- Linkage Group Assignment: ²²

- Relative Position: 42cm

Marker SW857

- Swine Marker SW857 (10365)
- Chromosome: 14 ²²
- Locus: SW857
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: AF225105

- Heterozygosity: 80
- Informative Meioses: 162

- Number of Alleles: 7
- Minimum Allele Size: 145 (bp)
- Maximum Allele Size: 159 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC
- Reverse Primer Sequence: GATCCTCCTCCAAATCCCAT
- Linkage Group Assignment: ²²

- Relative Position: 7.4cm

Marker SW951

- Swine Marker SW951 (10430)
- Chromosome: 10 ²²
- Locus: SW951
- Marker Type: microsatellite



- Database Name: GENBANK
- Accession Number: AF235412
- Heterozygosity: 90
- Informative Meioses: 3208
- Number of Alleles: 13
- Minimum Allele Size: 120 (bp)
- Maximum Allele Size: 136 (bp)
- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: TTTCACAACCTCTGGCACCAG
- Reverse Primer Sequence: GATCGTGCCCAAATGGAC
- Linkage Group Assignment: ²²
- Relative Position: 101cm

9.1.1.2 5er-Plex ohne Marker S0228

Marker S0227

- Swine Marker S0227 (10996)
- Chromosome: 4 ²²
- Locus: S0227
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: L29196
- Heterozygosity: 60
- Informative Meioses: 69
- Number of Alleles: 5
- Minimum Allele Size: 230 (bp)
- Maximum Allele Size: 254 (bp)
- Annealing Temperature: 60°C
- Forward Primer Sequence: GATCCATTTATAATTTTAGCACAAAGT
- Reverse Primer Sequence: GCATGGTGTGATGCTATGTCAAGC
- Linkage Group Assignment: ²²
- Relative Position: 4.1cm

Marker SW72

- Swine Marker SW72 (10378)



-
- Chromosome: 3²²
 - Locus: SW72
 - Marker Type: microsatellite
 - Database Name: GENBANK
 - Accession Number: AF235346

 - Heterozygosity: 100
 - Informative Meioses: 1895

 - Number of Alleles: 6
 - Minimum Allele Size: 101 (bp)
 - Maximum Allele Size: 115 (bp)

 - Annealing Temperature: 58°C
 - Forward Primer Sequence: ATCAGAACAGTGCGCCGT
 - Reverse Primer Sequence: TTTGAAAATGGGGTGTTC
 - Linkage Group Assignment:²²

 - Relative Position: 17.8cm

Marker SW911

- Swine Marker SW911 (10400)
- Chromosome: 9²²
- Locus: SW911
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: AF225106

- Heterozygosity: 80
- Informative Meioses: 2491

- Number of Alleles: 14
- Minimum Allele Size: 151 (bp)
- Maximum Allele Size: 175 (bp)

- Annealing Temperature: 60°C
- Forward Primer Sequence: CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC
- Reverse Primer Sequence: CATCTGTGGAAAAAAAAAAGCC
- Linkage Group Assignment:²²

- Relative Position: 36.8cm
- Physical Assignment: 122



- Start Band: p2.2
- End Band: p2.2

Marker SW936

- Swine Marker SW936 (10170)
- Chromosome: 15²²
- Locus: SW936
- Marker Type: microsatellite
- Database Name: GENBANK
- Accession Number: AF225107

- Heterozygosity: 70
- Informative Meioses: 989

- Number of Alleles: 7
- Minimum Allele Size: 92 (bp)
- Maximum Allele Size: 112 (bp)

- Annealing Temperature: 58°C
- Forward Primer Sequence: TCTGGAGCTAGCATAAGTGCC
- Reverse Primer Sequence: GTGCAAGTACACATGCAGGG
- Linkage Group Assignment:²²

- Relative Position: 88.5cm
- Physical Assignment: 122
- Start Band: q2.5

- End Band: q2.5

9.1.2 Dateien vom LKV Bayern e.V.

9.1.2.1 Sauendatei

Sauen.csv

Dieser Datensatz enthält 28 Spalten mit folgender Einteilung:

- Verwaltungsstelle, unter der Betrieb erfasst ist
- LKV-Betriebsnummer, auf dem die Sau eingesetzt wird
- Saunummer, Nummer der Sau auf dem Betrieb
- Rasse Sau
- Mutter der Sau



-
- Vater1, erster eingesetzter Eber für den Wurf, aus dem die Sau stammt
 - Vater2, erster eingesetzter Eber für den Wurf, aus dem die Sau stammt
 - Geburtsdatum der betreffenden Sau
 - Zugangsdatum auf dem Betrieb
 - Herkunft
 - Züchter
 - Status
 - Abgang
 - Abgangsursache
 - Halothantest
 - erstes Deckdatum
 - letztes Verwerfdatum
 - Verwerfen gesamt
 - letzte Wurfnummer
 - Würfe gesamt
 - Würfe mit lebenden Ferkeln
 - geborene Ferkel, insgesamt über alle Würfe der betreffenden Sau
 - tote Ferkel, insgesamt über alle Würfe der betreffenden Sau
 - zugesetzte Ferkel, insgesamt über alle Würfe der betreffenden Sau
 - weggesetzte Ferkel, insgesamt über alle Würfe der betreffenden Sau
 - aufgezogene Ferkel, insgesamt über alle Würfe der betreffenden Sau

9.1.2.2 Wuerfedatei

Wuerfe.csv

Hier besteht der Datensatz aus 21 Spalten, die folgende Überschriften tragen:

- Verwaltungsstelle, unter der Betrieb erfasst ist
- LKV-Betriebsnummer, auf dem der Wurf geboren wurde
- Saunummer, Nummer der Sau auf dem Betrieb
- Wurfnummer der betreffenden Sau
- Wurfdatum des betreffenden Wurfes
- lebend geborene Ferkel des betreffenden Wurfes



- tot geborene Ferkel des betreffenden Wurfes
- zugesetzte Ferkel zu dem betreffenden Wurf der Sau
- weggesetzte Ferkel zu dem betreffenden Wurf der Sau
- aufgezogene Ferkel des betreffenden Wurfes der Sau
- Vater1, erster eingesetzter Eber und somit möglicher Vater für den betreffenden Wurf
- Vater2, zweiter eingesetzter Eber und somit möglicher Vater für den betreffenden Wurf
- Vater3, dritter eingesetzter Eber und somit möglicher Vater für den betreffenden Wurf
- abgesetzte Ferkel gesamt über alle Würfe der betreffenden Sau
- Rasse Vater
- Rasse Mutter
- Anomalien der Ferkel des betreffenden Wurfes
- Wurfausgeglichenheit
- Fleischfülle des betreffenden Wurfes
- Satz vollständig erfasst
- Absetzen des betreffenden Wurfes

9.1.3 Schätzung der Allelfrequenzen

Die Allelfrequenzen wurden nach Rasse und Marker ermittelt. Hier am Beispiel der Rasse DL (,01').

```
from db import db
db = db('igz')
sql = "select locus from markers where position > 0 order by position"
db.query(sql)
ms = db.store_result()
ms = ms.fetch_row(0)
markers = []
for m in ms:
    markers.append(m[0])
```

```
from rpy import r
r.library('genetics')
r.library('mysql')
r("con = mysql('igz')")
```

```
afreqs = []
for marker in markers:
    cmd = "sql = \"select gts.gt from gts where gts.gt != '/' and gts.locus = '%s' and
gts.breed = '01'\\" % marker
    dump=r(cmd)
    dump=r("gts = dbGetQuery(con, sql)")
    dump=r("ggt = genotype(gts$gt)")
```



```

res = r("sum=summary(ggt)")
dump = r("freqs = sum$allele.freq")
dump = r("freqs = as.data.frame(freqs)")
dump = r("freqs=freqs[sort.list(freqs$Proportion, decreasing=TRUE), ]")
freqs = r("props=freqs$Proportion")
alleles = r("row.names(freqs)")
print marker
i = 0
afreq = []
for freq in freqs:
    print alleles[i], freq
    afreq.append(freq)
    i = i+1
afreqs.append(afreq)
print "#####"

```

9.1.4 Ausschlusswahrscheinlichkeiten

Die Formeln zur Berechnung der Ausschlusswahrscheinlichkeiten für den Fall, dass der Genotyp eines Elters bekannt ist und für den Fall, dass beide Eltern bekannt sind, lassen sich je nach Angabe der Allelfrequenzen für eine variable Anzahl Mikrosatelliten anwenden.

9.1.4.1 Ein Elter bekannt

```

ep.duo<- function (freqs, c = 0)
{
  i = 1
  Q = 1
  while (i <= length(freqs)) {
    freq = freqs[[i]]
    if ((sum(freq) <= 1.001) && (sum(freq) >= 0.999)) {
      freq = freq
    }
    if ((sum(freq)) <= 0.999) {
      freq = c(freq, (1 - (sum(freq))))
    }
    u = 1
    Q1 = 0
    Q2 = 0
    while (u <= length(freq)) {
      fu = freq[u]
      q1 = (fu^2) * (1 - fu)^2
      Q1 = Q1 + q1
      v = 1
      while (v <= length(freq)) {
        if (u > v) {
          fv = freq[v]
          q2 = 2 * fu * fv * ((1 - fu - fv)^2)
          Q2 = Q2 + q2

```



```

    }
    v = v + 1
  }
  u = u + 1
}
Qu = Q1 + Q2
Qu = 1 - (Qu * (1 - c))
Q = Q * Qu
i = i + 1
}
Q = 1 - Q
Q
}

```

9.1.4.2 Beide Eltern bekannt

```

ep.trio<- function (freqs)
{
  i = 1
  Q = 1
  while (i <= length(freqs)) {
    freq = freqs[[i]]
    if ((sum(freq) <= 1.001) && (sum(freq) >= 0.999)) {
      freq = freq
    }
    if ((sum(freq)) <= 0.999) {
      freq = c(freq, (1 - (sum(freq))))
    }
    u = 1
    Q1 = 0
    Q2 = 0
    while (u <= length(freq)) {
      fu = freq[u]
      q1 = fu * (1 - fu)^2
      Q1 = Q1 + q1
      v = 1
      while (v <= length(freq)) {
        if (u != v) {
          fv = freq[v]
          q2 = (fu^2) * (fv^2) * (4 - 3 * fu - 3 * fv)
          Q2 = Q2 + q2
        }
        v = v + 1
      }
      u = u + 1
    }
    Qu = Q1 - 0.5 * Q2
    Qu = 1 - Qu
    Q = Q * Qu
    i = i + 1
  }
  Q = 1 - Q
}

```



```
Q
}
```

9.1.5 Verwandtschaft der Sauenpopulation

9.1.5.1 Simulation nach der erweiterten Formel von SHERMAN *et al.* (2004)

```
frequenzen<-function (num)
{
  seeds = c(seq(0.01, 0.1, 0.005))
  incrs = c(seq(0.05, 0.2, 0.005))
  ns = c(4:14)
  n = sample(ns, 1)
  freqs = list()
  for (j in 1:num) {
    seed = sample(seeds, 1)
    incr = sample(incrs, 1)
    n = sample(ns, 1)
    alleles = c()
    s = 0
    for (i in 1:n) {
      if (s < (1 - 2 * seed)) {
        seed = seed + incr
        alleles = c(alleles, seed)
      }
      s = s + seed
    }
    freqs[[j]] = alleles
  }
  freqs
}

Unverwandt = c()
for (i in 10:50){
  pis = c()
  for (j in 1:4600){
    freqs = frequenzen(i)
    ps= ep.duo(freqs)
    pis = c(pis, ps)
  }
  Unverwandt = c(Unverwandt, mean(pis))
}

Halbschwestern = c()
for (i in 10:50){
  pis = c()
  for (j in 1:4600){
    freqs = frequenzen(i)
    ps= ep.duo(freqs, c=0.25)
    pis = c(pis, ps)
  }
  Halbschwestern = c(Halbschwestern, mean(pis))
}
```



```
Vollschwwestern = c()
for (i in 10:50){
  pis = c()
  for (j in 1:4600){
    freqs = frequenzen(i)
    ps= ep.duo(freqs, c=0.5)
    pis = c(pis, ps)
  }
  Vollschwwestern = c(Vollschwwestern, mean(pis))
}
```

9.1.5.2 Praktische Untersuchung in der Sauenpopulation der IGZ GbR

```
library(mysql)
con = mysql('igz')
sql = "select sauenplus.BETRIEB, sauenplus.RASSE, sauenplus.SNO, sauenplus.MUTTER,
sauenplus.VATER1, sauenplus.GEBDAT from sauenplus where sauenplus.MUTTER !=' '
and sau-
enplus.VATER1 !='8000000000000' and sauenplus.VATER1 !=' '"
search_ohne_GT = dbGetQuery(con,sql)
```

```
VGcheck<-array(0, dim=c(1701,5))
```

```
VGcheck[,1]<-search_ohne_GT[,1]
VGcheck[,2]<-search_ohne_GT[,2]
VGcheck[,3]<-search_ohne_GT[,3]
VGcheck[,4]<-paste(search_ohne_GT[,4], search_ohne_GT[,5])
VGcheck[,5]<-search_ohne_GT[,6]
```

```
sum=summary(factor(VGcheck[,4]),maxsum=1000)
checki<-sort(sum)
VG_ohne_GT<-summary(factor(checki))
```

#väterliche Halbgeschwister#

```
sum=summary(factor(search_ohne_GT[,5]),maxsum=1000)
checke<-sort(sum)
vHG_ohne_GT<-summary(factor(checke))
```

#mütterliche Halbgeschwister#

```
sum=summary(factor(search_ohne_GT[,4]),maxsum=1000)
checka<-sort(sum)
mHG_ohne_GT<-summary(factor(checka))
```

9.1.6 Simulationen zur Entwicklung des Rückverfolgbarkeitssystems

9.1.6.1 Abgleich von Genotypen

```
def pat_check1(parent_gts, progeny_gts):
  import string
  i = 0
```




```

j = 0
k = 0
for gt in parent_gts:
    if (gt != '/' and progeny_gts[i] != '/'):
        k = k + 1
        gt = string.split(gt, '/')
        if (gt[0] not in (string.split(progeny_gts[i], '/')) and gt[1] not in
(string.split(progeny_gts[i], '/'))):
            j = j + 1
        i = i + 1
ns = []
ns.append(j)
ns.append(k)
return ns

def pat_check2(parent1, parent2, child):
    import string
    i = 0
    j = 0
    k = 0
    for gt in child:
        p1 = parent1[i]
        p2 = parent2[i]
        if p1 != '/' and p2 != '/' and gt != '/':
            k = k + 1
            p1 = string.split(p1, '/')
            p2 = string.split(p2, '/')
            gt = string.split(gt, '/')
            p = p1 + p2
            if gt[0] and gt[1] not in p:
                j = j + 1
        i = i + 1
ns = []
ns.append(j)
ns.append(k)
return ns

```

9.1.6.2 Simulationen zur Rückverfolgbarkeit

Es werden die Allelfrequenzen sowie die Anzahl der betrachteten der Sauen und Eber eingelesen.

```

def mklitters(sow_freqs, boar_freqs, sow_n, boar_n, ln=1):
    data = {}
    from rpy import r
    from unique import unique
    import string
    r.library('simgt')
    ###
    sauen = {}
    i = 1

```



```

while i <= sow_n:
    gt = r.mkggt(sow_freqs)
    sau = "%s" % i
    sauen[sau] = gt
    i = i + 1
ebers = {}
i = 1
while i <= boar_n:
    gt = r.mkggt(boar_freqs)
    eber = "%s" % i
    ebers[eber] = gt
    i = i + 1
###
wuerfe = {}
matings = []
for sau in sauen.keys():
    i = 0
    while i < 2:
        j = 1
        eber = r.sample(ebers.keys(), 1)
        while j <= ln:
            gts = r.mate(sauen[sau], ebers[eber])
            aid = "%s.%s.%s" % (sau, eber, j)
            wuerfe[aid] = gts
            mating = "%sx%s" % (sau, eber)
            matings.append(mating)
            j = j + 1
        i = i + 1
data['animals'] = wuerfe
data['mothers'] = sauen
data['fathers'] = ebers
data['matings'] = matings
return data

def sample_children(data, j = 1, k = 10, n=100):
    out = []
    from rpy import r
    from pat_check import pat_check1
    from pat_check import pat_check2
    import string
    animals = data['animals']
    children = animals.keys()
    children = r.sample(children, n)
    mothers = data['mothers']
    fathers = data['fathers']
    matings = data['matings']
    for child in children:
        pmothers = []
        pfathers = []
        for key in mothers.keys():
            ns = pat_check1(mothers[key], animals[child])
            if ns[0] <= j and ns[1] >= k:
                pmothers.append(key)

```



```

for key in fathers.keys():
    ns = pat_check1(fathers[key], animals[child])
    if ns[0] <= j and ns[1] >= k:
        pfathers.append(key)
l = 0
l1 = 0
pmatings = []
if pmothers != [] and pfathers != []:
    for pm in pmothers:
        for pf in pfathers:
            mat= „%sx%s“ % (pm,pf)
            pmatings.append(mat)
    for pm in pmatings:
        if pm in matings:
            lpm = string.split(pm, ‚x‘)
            m = lpm[0]
            v = lpm[1]
            v = fathers[v]
            m = mothers[m]
            ns = pat_check2(v,m,animals[child])
            if ns[0] == 0:
                #print pm
                l = l1 + 1
    #print „possible matings:“
    for pm in pmatings:
        lpm = string.split(pm, ‚x‘)
        m = lpm[0]
        v = lpm[1]
        v = fathers[v]
        m = mothers[m]
        ns1 = pat_check2(v,m,animals[child])
        if ns[0] == 0:
            #print pm
            l1 = l1 + 1
#if full == 'true':
#print "Possible mothers:"
#print pmothers
#print "Possible fathers:"
#print pfathers
#print "*****"
o = len(pmothers)
p = len(pfathers)
ret = {}
ret['pmatings'] = l
ret['pmatings'] = l1
ret['pmothers'] = o
ret['pfathers'] = p
out.append(ret)
return out

```



9.1.7 Vergleich zur Rückverfolgbarkeit mit SNPs

Erstellung einer vorgegebenen Anzahl SNPs mit durch f definierte Frequenzen mit anschließender Berechnung der Gesamt-Ausschlusswahrscheinlichkeit.

```
library(simgt)
{
aussnp<-array(0, dim=c(1,120))
lotte=mkfreq(f,1)
aussnp[1,1]<-ep.trio(lotte)
  for (i in 2:120) {
    lotte=c(lotte,mkfreq(f,1))
    erg=ep.trio(lotte)
    aussnp[1,i]<-erg }
}
```

9.2 Zusatz zu den Ergebnissen

9.2.1 Allelfrequenzen nach Rasse bzw. Rassenkombination

Pietrain

S0005	245 0,339622641509	142 0,0471698113208
233 0,22641509434	255 0,185534591195	152 0,0125786163522
239 0,191823899371	269 0,0849056603774	-----
201 0,141509433962	-----	SW951
219 0,110062893082	S0386	121 0,641509433962
241 0,0943396226415	174 0,638364779874	123 0,235849056604
235 0,0691823899371	172 0,308176100629	129 0,122641509434
215 0,062893081761	182 0,0440251572327	-----
229 0,0534591194969	166 0,0062893081761	S0227
231 0,0471698113208	164 0,0031446540880	226 0,694968553459
237 0,00314465408805	SW24	250 0,179245283019
-----	100 0,295597484277	238 0,125786163522
S0090	94 0,213836477987	-----
239 0,462264150943	102 0,154088050314	SW72
243 0,220125786164	108 0,132075471698	96 0,842767295597
241 0,163522012579	96 0,100628930818	108 0,0660377358491
237 0,150943396226	114 0,0786163522013	106 0,059748427673
247 0,00314465408805	110 0,0188679245283	104 0,0314465408805
-----	104 0,0062893081761	-----
S0101	-----	SW911
211 0,581761006289	SW240	155 0,452830188679
209 0,22641509434	94 0,289308176101	159 0,383647798742
213 0,185534591195	106 0,194968553459	167 0,138364779874
195 0,0062893081761	92 0,185534591195	165 0,0188679245283
-----	108 0,14465408805	149 0,0062893081761
S0155	90 0,11320754717	-----
154 0,427672955975	104 0,062893081761	SW936
160 0,223270440252	114 0,00943396226415	108 0,707547169811
146 0,169811320755	-----	110 0,0911949685535
158 0,100628930818	SW857	96 0,0754716981132
156 0,0754716981132	148 0,383647798742	114 0,0691823899371
152 0,00314465408805	146 0,248427672956	102 0,0440251572327
-----	138 0,157232704403	94 0,012578616352
S0355	150 0,100628930818	
241 0,389937106918	154 0,0503144654088	



Deutsche Landrasse (DL)

S0005

215 0,397529069767
239 0,238372093023
229 0,101744186047
227 0,0821220930233
223 0,0603197674419
243 0,03125
233 0,0218023255814
241 0,0188953488372
219 0,015261627907
235 0,0130813953488
231 0,00872093023256
201 0,00872093023256
203 0,00145348837209
237 0,000726744186047

S0090

239 0,734738372093
237 0,21148255814
243 0,0334302325581
241 0,0181686046512
247 0,00145348837209
245 0,000726744186047

S0101

209 0,643168604651
211 0,289244186047
213 0,0443313953488
195 0,0145348837209
207 0,00872093023256

S0155

156 0,514534883721
158 0,137354651163
146 0,120639534884
152 0,0988372093023
162 0,0792151162791
160 0,0341569767442
154 0,015261627907

S0355

241 0,863372093023
255 0,0443313953488
245 0,0356104651163
269 0,0254360465116
263 0,0225290697674
259 0,00508720930233
243 0,00218023255814
247 0,00145348837209

S0386

172 0,515988372093
182 0,238372093023
174 0,164244186047
164 0,0501453488372
168 0,03125

SW24

102 0,444040697674
114 0,299418604651
94 0,133720930233
96 0,0719476744186
100 0,0254360465116
108 0,0232558139535
98 0,000726744186047
92 0,000726744186047
116 0,000726744186047

SW240

94 0,46148255814
92 0,259447674419
104 0,166424418605
108 0,0581395348837
90 0,0356104651163
106 0,0094476744186
110 0,00508720930233
96 0,00218023255814
102 0,00145348837209
114 0,000726744186047

SW857

148 0,377906976744

138 0,375
146 0,181686046512
150 0,0283430232558
154 0,0218023255814
152 0,0123546511628
142 0,00290697674419

SW951

121 0,842296511628
123 0,134447674419
129 0,0138081395349
135 0,0094476744186

S0227

226 0,815406976744
238 0,164970930233
250 0,0196220930233

SW72

96 0,578488372093
106 0,321947674419
112 0,0508720930233
108 0,0428779069767
104 0,00581395348837

SW911

155 0,83648255814
159 0,137354651163
167 0,0130813953488
161 0,00799418604651
165 0,00508720930233

SW936

108 0,363372093023
96 0,287063953488
110 0,21511627907
106 0,0515988372093
112 0,0479651162791
114 0,0268895348837
94 0,00508720930233
102 0,00290697674419

Deutsche Landrasse x Deutsches Edelschwein (DL x DE)

S0005

239 0,282918149466
241 0,128113879004
229 0,11743772242
215 0,113879003559
231 0,0943060498221
227 0,0800711743772
233 0,0427046263345
201 0,0373665480427
219 0,0320284697509
237 0,0213523131673
223 0,0160142348754
243 0,0142348754448
235 0,0142348754448
263 0,0017793594306
245 0,0017793594306

225 0,0017793594306

S0090

239 0,501779359431
243 0,20462633452
241 0,169039145907
237 0,0693950177936
247 0,0480427046263
245 0,00711743772242

S0101

209 0,496441281139
211 0,274021352313
195 0,154804270463
213 0,0498220640569
207 0,0231316725979

215 0,0017793594306

S0155

158 0,435943060498
156 0,313167259786
146 0,129893238434
152 0,0658362989324
162 0,0373665480427
160 0,017793594306

S0355

241 0,597864768683
269 0,169039145907
255 0,0747330960854
245 0,0711743772242



263 0,0551601423488
247 0,0320284697509

S0386

172 0,373665480427
182 0,290035587189
174 0,290035587189
168 0,0249110320285
164 0,0106761565836
166 0,00533807829181
178 0,00355871886121
180 0,0017793594306

SW24

114 0,300711743772
108 0,252669039146
102 0,20640569395
96 0,0960854092527
118 0,0622775800712
110 0,0498220640569
94 0,0302491103203
116 0,0017793594306

SW240

94 0,64768683274
92 0,163701067616
90 0,0836298932384

104 0,0569395017794
108 0,0284697508897
110 0,0106761565836
96 0,00533807829181
106 0,00355871886121

SW857

148 0,250889679715
146 0,233096085409
138 0,193950177936
154 0,185053380783
150 0,0818505338078
142 0,0462633451957
152 0,00889679715302

SW951

121 0,603202846975
123 0,297153024911
125 0,0498220640569
129 0,0462633451957
135 0,00355871886121

S0227

226 0,827402135231
238 0,115658362989
250 0,0569395017794

SW72

96 0,421708185053
106 0,318505338078
104 0,158362989324
98 0,0498220640569
108 0,0266903914591
112 0,0249110320285

SW911

155 0,642348754448
159 0,254448398577
165 0,0622775800712
167 0,0391459074733
163 0,0017793594306

SW936

108 0,386120996441
96 0,169039145907
110 0,165480427046
94 0,104982206406
92 0,0569395017794
106 0,0533807829181
114 0,0320284697509
102 0,0213523131673
112 0,0106761565836

Deutsches Edelschwein x Deutsche Landrasse (DE x DL)

S0005

239 0,216040462428
241 0,162572254335
215 0,125722543353
227 0,106936416185
229 0,104768786127
231 0,0802023121387
233 0,0549132947977
219 0,0325144508671
201 0,0303468208092
243 0,0281791907514
235 0,0267341040462
223 0,025289017341
237 0,00505780346821
225 0,000722543352601

S0090

239 0,446531791908
241 0,218930635838
243 0,113439306358
247 0,10549132948
237 0,0989884393064
231 0,0166184971098

S0101

209 0,436416184971
211 0,25289017341
195 0,237716763006
213 0,0455202312139
207 0,0274566473988

S0155

158 0,375722543353

156 0,328034682081
146 0,132947976879
152 0,0736994219653
160 0,0491329479769
162 0,0404624277457

S0355

241 0,553468208092
269 0,190028901734
255 0,111271676301
245 0,0700867052023
247 0,0469653179191
263 0,0281791907514

S0386

174 0,429190751445
172 0,270231213873
182 0,263005780347
164 0,0245664739884
168 0,00939306358382
184 0,0021676300578
178 0,0014450867052

SW24

114 0,298410404624
102 0,236271676301
108 0,177023121387
118 0,155346820809
96 0,0838150289017
94 0,0267341040462
110 0,0223988439306

SW240

94 0,714595375723
92 0,119219653179
90 0,0744219653179
104 0,0650289017341
108 0,0187861271676
110 0,00433526011561
114 0,0021676300578
106 0,0014450867052

SW857

148 0,247832369942
138 0,234826589595
146 0,213150289017
154 0,114161849711
150 0,110549132948
142 0,0643063583815
152 0,00867052023121
156 0,00650289017341

SW951

121 0,640173410405
123 0,23338150289
129 0,0758670520231
125 0,0491329479769
135 0,0014450867052

S0227

226 0,864884393064
238 0,100433526012
250 0,0346820809249

SW72

96 0,498554913295



106 0,254335260116
 108 0,111271676301
 104 0,0592485549133
 98 0,0498554913295
 112 0,0267341040462

SW911

155 0,673410404624

159 0,166184971098
 167 0,0939306358382
 165 0,0484104046243
 161 0,0166184971098
 163 0,0014450867052

SW936

108 0,442919075145

96 0,242774566474
 94 0,129335260116
 110 0,0794797687861
 102 0,0505780346821
 106 0,0231213872832
 112 0,0130057803468
 92 0,010838150289
 114 0,00794797687861

Pig Improvement Company**S0005**

241 0,434599156118
 239 0,106891701828
 227 0,0850914205345
 237 0,063994374121
 233 0,0583684950774
 231 0,0534458509142
 229 0,0464135021097
 243 0,0372714486639
 219 0,0372714486639
 215 0,0253164556962
 201 0,021800281294
 235 0,0147679324895
 245 0,0119549929677
 263 0,0028129395218

S0090

243 0,393108298172
 247 0,246132208158
 239 0,180028129395
 241 0,146272855134
 237 0,0253164556962
 225 0,00773558368495
 245 0,0014064697609

S0101

211 0,334036568214
 209 0,231364275668
 195 0,227144866385
 207 0,138537271449
 213 0,0682137834037
 197 0,00070323488045

S0155

156 0,483122362869
 158 0,322081575246
 146 0,172995780591
 152 0,021800281294

S0355

269 0,46905766526

241 0,313642756681
 255 0,120956399437
 245 0,0935302390999
 265 0,0028129395218

S0386

182 0,48452883263
 174 0,26511954993
 172 0,15682137834
 164 0,0850914205345
 168 0,0070323488045
 184 0,00070323488045
 176 0,00070323488045

SW24

108 0,40576652602
 110 0,169479606188
 102 0,168776371308
 96 0,126582278481
 114 0,1111111111111
 94 0,0168776371308
 100 0,0014064697609

SW240

94 0,443037974684
 110 0,179324894515
 90 0,118846694796
 104 0,112517580872
 108 0,0520393811533
 92 0,049929676512
 106 0,042194092827
 96 0,0014064697609
 114 0,00070323488045

SW857

138 0,303797468354
 146 0,303094233474
 150 0,196905766526
 148 0,135021097046
 144 0,0393811533052
 156 0,0119549929677

142 0,00914205344585
 152 0,00070323488045

SW951

121 0,463431786217
 129 0,302390998594
 123 0,204641350211
 125 0,028129395218
 133 0,00070323488045
 119 0,00070323488045

S0227

226 0,904360056259
 250 0,0893108298172
 238 0,00632911392405

SW72

104 0,42123769339
 106 0,300281293952
 96 0,132208157525
 108 0,12447257384
 98 0,0133614627286
 112 0,0084388185654

SW911

159 0,4444444444444
 155 0,424050632911
 165 0,0485232067511
 167 0,0344585091421
 157 0,0274261603376
 153 0,014064697609
 161 0,0070323488045

SW936

108 0,325597749648
 110 0,299578059072
 94 0,199015471167
 96 0,128691983122
 92 0,0344585091421
 102 0,0119549929677
 114 0,00070323488045

Schaumann**S0005**

227 0,210843373494
 263 0,186746987952
 229 0,114457831325

203 0,0903614457831
 201 0,066265060241
 223 0,0542168674699
 215 0,0481927710843

237 0,0421686746988
 243 0,0361445783133
 233 0,0361445783133
 231 0,0361445783133



239 0,0301204819277
241 0,0240963855422
235 0,0240963855422

S0090

239 0,409638554217
243 0,271084337349
245 0,156626506024
241 0,120481927711
237 0,0421686746988

S0101

209 0,572289156627
211 0,325301204819
207 0,0542168674699
213 0,0361445783133
195 0,0120481927711

S0155

158 0,5
152 0,222891566265
156 0,186746987952
146 0,0361445783133
162 0,0301204819277
160 0,0240963855422

S0355

241 0,60843373494
255 0,120481927711
243 0,114457831325
247 0,078313253012
269 0,0542168674699
263 0,0240963855422

S0386

172 0,313253012048
182 0,289156626506
174 0,253012048193
168 0,066265060241
164 0,0602409638554
178 0,0180722891566

SW24

114 0,367469879518
102 0,210843373494
96 0,168674698795
98 0,0843373493976
118 0,0722891566265
94 0,0361445783133
108 0,0361445783133
110 0,0240963855422

SW240

94 0,44578313253
92 0,210843373494
104 0,180722891566
90 0,0542168674699
96 0,0361445783133
120 0,0301204819277
106 0,0240963855422
108 0,0180722891566

SW857

148 0,277108433735
154 0,210843373494
138 0,174698795181
152 0,16265060241
146 0,138554216867
150 0,0240963855422

156 0,0120481927711

SW951

121 0,572289156627
123 0,301204819277
129 0,120481927711
125 0,00602409638554

S0227

226 0,807228915663
238 0,102409638554
250 0,0903614457831

SW72

96 0,415662650602
104 0,204819277108
106 0,16265060241
112 0,144578313253
108 0,0722891566265

SW911

155 0,506024096386
159 0,265060240964
167 0,138554216867
153 0,066265060241
165 0,0240963855422

SW936

108 0,313253012048
96 0,289156626506
102 0,204819277108
110 0,120481927711
114 0,0301204819277
106 0,0301204819277
94 0,0120481927711

Bayern Hybrid (BayHybrid)**S0005**

239 0,220740740741
241 0,165925925926
215 0,119259259259
229 0,0762962962963
227 0,07555555555556
243 0,0681481481481
231 0,06444444444444
233 0,0481481481481
235 0,04
219 0,0377777777778
223 0,0318518518519
201 0,0266666666667
237 0,02444444444444
203 0,000740740740741

S0090

239 0,462962962963
241 0,200740740741
243 0,158518518519
237 0,0948148148148
247 0,0814814814815
231 0,00148148148148

S0101

209 0,436296296296
211 0,25111111111111
195 0,225185185185
213 0,05555555555556
207 0,0318518518519

S0155

156 0,3977777777778
158 0,372592592593
146 0,0948148148148
152 0,0777777777778
162 0,03333333333333
160 0,0237037037037

S0355

241 0,599259259259
269 0,17333333333333
255 0,09333333333333
245 0,0637037037037
263 0,0385185185185
247 0,0318518518519

S0386

174 0,351851851852
182 0,30444444444444
172 0,294074074074
164 0,02
168 0,0140740740741
178 0,0103703703704
166 0,00518518518519

SW24

114 0,267407407407
102 0,251851851852
108 0,207407407407
118 0,105185185185
96 0,0896296296296
110 0,0392592592593
94 0,0325925925926
98 0,00518518518519
120 0,000740740740741
112 0,000740740740741

SW240

94 0,6488888888889
92 0,143703703704
104 0,0918518518519



90 0,0451851851852
108 0,04
110 0,0296296296296
96 0,000740740740741

SW857

138 0,2422222222222
148 0,1977777777778
146 0,182962962963
154 0,168148148148
150 0,12962962963
142 0,0674074074074
152 0,00814814814815
156 0,00296296296296
134 0,000740740740741

SW951

121 0,526666666667

123 0,256296296296
129 0,181481481481
125 0,0355555555556

S0227

226 0,854814814815
238 0,0903703703704
250 0,0548148148148

SW72

96 0,425925925926
106 0,265185185185
104 0,1333333333333
108 0,0807407407407
112 0,0525925925926
98 0,0422222222222

SW911

155 0,625925925926
159 0,1911111111111
165 0,108148148148
167 0,0688888888889
161 0,004444444444444
163 0,00148148148148

SW936

108 0,3355555555556
96 0,256296296296
110 0,2066666666667
94 0,0985185185185
102 0,0651851851852
106 0,0222222222222
112 0,00740740740741
114 0,00592592592593
92 0,0022222222222

Baden Württemberg Hybrid (Bwhybrid)**S0005**

239 0,205574912892
241 0,174216027875
215 0,109756097561
229 0,0940766550523
201 0,0871080139373
233 0,0696864111498
227 0,0592334494774
237 0,0418118466899
231 0,0418118466899
219 0,0365853658537
235 0,0313588850174
223 0,0243902439024
243 0,01393728223
203 0,00871080139373
245 0,00174216027875

S0090

239 0,468641114983
247 0,198606271777
243 0,177700348432
237 0,0923344947735
241 0,0574912891986
245 0,00348432055749
227 0,00174216027875

S0101

209 0,41637630662
213 0,196864111498
195 0,182926829268
211 0,170731707317
215 0,0209059233449
207 0,0121951219512

S0155

158 0,538327526132
156 0,236933797909
146 0,130662020906
152 0,0557491289199
162 0,0278745644599
154 0,00696864111498

160 0,00348432055749

S0355

241 0,358885017422
269 0,329268292683
263 0,146341463415
245 0,095818815331
255 0,0296167247387
247 0,0209059233449
259 0,0174216027875
163 0,00174216027875

S0386

182 0,426829268293
172 0,324041811847
174 0,189895470383
168 0,0400696864111
164 0,0104529616725
180 0,00522648083624
178 0,00348432055749

SW24

114 0,411149825784
108 0,263066202091
102 0,209059233449
96 0,0749128919861
118 0,0209059233449
94 0,0121951219512
110 0,00871080139373

SW240

94 0,552264808362
90 0,203832752613
104 0,0783972125436
92 0,0644599303136
108 0,0383275261324
106 0,0296167247387
102 0,0156794425087
96 0,0104529616725
110 0,00696864111498

SW857

146 0,250871080139
138 0,240418118467
148 0,216027874564
154 0,174216027875
150 0,0801393728223
152 0,0296167247387
142 0,00696864111498
144 0,00174216027875

SW951

121 0,547038327526
123 0,41637630662
129 0,0313588850174
125 0,00522648083624

S0227

226 0,94425087108
238 0,0487804878049
250 0,00696864111498

SW72

96 0,404181184669
106 0,299651567944
104 0,202090592334
108 0,0679442508711
98 0,0209059233449
112 0,00522648083624

SW911

155 0,480836236934
159 0,47212543554
165 0,0418118466899
167 0,00348432055749
153 0,00174216027875

SW936

108 0,407665505226
96 0,184668989547
94 0,172473867596
106 0,101045296167



110 0,0714285714286
92 0,0365853658537

114 0,0209059233449
102 0,00522648083624

sonstige Hybride

S0005

241 0,161290322581
239 0,151264167393
201 0,100261551874
227 0,0932868352223
215 0,0915431560593
233 0,0688753269398
231 0,048823016565
219 0,0470793374019
229 0,0448997384481
245 0,0405405405405
235 0,0387968613775
223 0,0353095030514
237 0,0309503051439
263 0,0292066259808
243 0,00915431560593
247 0,00784655623365
203 0,000871839581517

S0090

243 0,413251961639
239 0,267654751526
241 0,124673060157
245 0,0688753269398
247 0,0662598081953
237 0,0540540540541
231 0,00435919790759
249 0,000435919790759
225 0,000435919790759

S0101

209 0,438535309503
211 0,25850043592
195 0,153007846556
213 0,116826503923
207 0,0261551874455
215 0,00653879686138
312 0,000435919790759

S0155

158 0,438099389712
156 0,277680906713
146 0,140366172624
152 0,105056669573
160 0,0296425457716
162 0,00697471665214

154 0,00217959895379

S0355

241 0,544463818657
269 0,309503051439
255 0,0479511769834
247 0,0414123801221
245 0,0401046207498
263 0,0161290322581
271 0,000435919790759

S0386

182 0,35047951177
174 0,335222319093
172 0,285527462947
164 0,0204882301656
168 0,00784655623365
180 0,000435919790759

SW24

108 0,29293809939
114 0,275501307759
118 0,136006974717
102 0,129032258065
110 0,0954664341761
96 0,052310374891
98 0,014385353095
94 0,00348735832607
106 0,000435919790759
100 0,000435919790759

SW240

94 0,51176983435
90 0,130775937228
92 0,10941586748
96 0,0815170008718
104 0,079337401918
106 0,0462074978204
110 0,0335658238884
108 0,00741063644289

SW857

138 0,341325196164
146 0,152136006975
152 0,14385353095
154 0,116390584133

148 0,105928509154
150 0,064952048823
142 0,0640802092415
144 0,00653879686138
156 0,00479511769834

SW951

121 0,443766346992
123 0,302528334786
129 0,140802092415
125 0,0710549258936
133 0,039668700959
135 0,00217959895379

S0227

226 0,822144725371
250 0,157802964255
238 0,0200523103749

SW72

106 0,340889276373
96 0,271142109852
104 0,223626852659
108 0,113775065388
98 0,0348735832607
112 0,0156931124673

SW911

155 0,544463818657
159 0,227114210985
165 0,127724498692
167 0,0928509154316
161 0,00566695727986
153 0,00130775937228
157 0,000871839581517

SW936

108 0,469049694856
96 0,170444638187
110 0,114210985179
102 0,107236268527
94 0,0619006102877
92 0,0540540540541
106 0,014385353095
114 0,00828247602441
104 0,000435919790759

sonstige Rassen

S0005

241 0,168970814132
239 0,149769585253
227 0,0990783410138
233 0,0906298003072
229 0,0829493087558

215 0,07910906298
201 0,068356374808
231 0,0622119815668
219 0,0483870967742
237 0,0299539170507
235 0,0299539170507

263 0,0268817204301
245 0,0207373271889
223 0,0145929339478
243 0,0138248847926
247 0,00537634408602
265 0,00460829493088



203 0,00307219662058
225 0,00153609831029

S0090

243 0,347926267281
239 0,326420890937
241 0,114439324117
247 0,0913978494624
237 0,0745007680492
245 0,0453149001536

S0101

209 0,447692307692
211 0,325384615385
213 0,101538461538
195 0,0892307692308
207 0,03
215 0,00615384615385

S0155

158 0,387096774194
156 0,281105990783
146 0,111367127496
152 0,0852534562212
160 0,0622119815668
154 0,0576036866359
162 0,0153609831029

S0355

241 0,486943164363
269 0,255760368664
255 0,10291858679
245 0,102150537634
247 0,0245775729647
263 0,0222734254992
243 0,00537634408602

S0386

174 0,377692307692
172 0,316923076923
182 0,237692307692
168 0,0315384615385

164 0,0307692307692
178 0,00307692307692
166 0,00230769230769

SW24

114 0,293394777266
108 0,276497695853
102 0,13287250384
118 0,0875576036866
96 0,0698924731183
110 0,0637480798771
100 0,0360983102919
94 0,0322580645161
98 0,00537634408602
104 0,00230414746544

SW240

94 0,530721966206
92 0,109831029186
104 0,0952380952381
90 0,0883256528418
106 0,0606758832565
96 0,0545314900154
108 0,0360983102919
110 0,0207373271889
120 0,00230414746544
114 0,00153609831029

SW857

138 0,241935483871
148 0,211213517665
146 0,172043010753
154 0,168202764977
152 0,0960061443932
150 0,0645161290323
142 0,0437788018433
156 0,00153609831029
144 0,000768049155146

SW951

121 0,486943164363
123 0,323348694316

129 0,125192012289
125 0,0399385560676
133 0,0245775729647

S0227

226 0,831797235023
250 0,112903225806
238 0,0552995391705

SW72

96 0,344854070661
106 0,292626728111
104 0,221198156682
108 0,0913978494624
98 0,0253456221198
112 0,0245775729647

SW911

155 0,55069124424
159 0,246543778802
165 0,0937019969278
167 0,0898617511521
153 0,0099846390169
161 0,00691244239631
149 0,00153609831029
163 0,000768049155146

SW936

108 0,444700460829
96 0,232718894009
110 0,099846390169
102 0,0867895545315
94 0,0614439324117
114 0,0253456221198
106 0,0238095238095
92 0,0207373271889
112 0,004608294930



9.2.2 Simulationen zum Rückverfolgbarkeitssystem

Im Folgenden sind die durchschnittlichen Ergebnisse für die im Ergebnisteil grafisch dargestellten Werte im 2 Marker Abstand aufgeführt.

9.2.2.1 Szenario 1

<i>Anzahl verwendeter Mikrosatelliten</i>	<i>durchschnittliche Anzahl gefundener Mütter pro Probe</i>	<i>kleinste Anzahl gefundener Mütter pro Probe</i>	<i>größte Anzahl gefundener Mütter pro Probe</i>
10	440,96	22	1.456
12	403,97	10	1.435
14	190,21	5	993
16	68,855	2	347
18	33,01	1	174
20	12,41	1	119
22	4,83	1	52
24	3,12	1	21
26	1,88	1	9
28	1,395	1	9
30	1,28	1	6

9.2.2.2 Szenario 2

<i>Anzahl verwendeter Mikrosatelliten</i>	<i>durchschnittliche Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>	<i>kleinste Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>	<i>größte Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>
10	211,975	1	2.629
12	193,255	1	4.366
14	18,785	1	430
16	5,7	1	107
18	2,12	1	23
20	1,2	1	5
22	1,08	1	11
24	1,015	1	2
26	1	1	1
28	1	1	1
30	1	1	1



9.2.2.3 Szenario 3

<i>Anzahl verwendeter Mikrosatelliten</i>	<i>durchschnittliche Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>	<i>kleinste Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>	<i>größte Anzahl gefundener Elternpaare pro Probe</i>
10	3,755	1	46
12	2,665	1	38
14	1,245	1	7
16	1,03	1	2
18	1,005	1	2
20	1	1	1
22	1	1	1
24	1	1	1
26	1	1	1
28	1	1	1
30	1	1	1



An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. R. Fries für die Bereitstellung des Themas und die immer gewährte Unterstützung bei allen Fragen und Problemen, besonders im Datenbankmanagement, bedanken.

Dem Bayerischen Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz danke ich vielmals für die finanzielle Förderung bei der Durchführung des Projektes und damit auch dieser Arbeit (Förderkennzeichen 4.1/7122-1/106/03).

Ein ganz besonderes Dankeschön an Herrn Prof. Dr. G. Thaller für die optimale Betreuung während der gesamten Arbeit und seinen Beistand in wirklich allen erdenklichen Lebenslagen. Des Weiteren vielen Dank, dass Sie mein Zweitprüfer sind!

Weiterhin gilt mein Dank allen am Projekt Beteiligten, dem LKV Bayern e.V. für die konstante Bereitstellung der benötigten Daten, der Interessengemeinschaft für Zertifizierung GbR für ihren großartigen Einsatz, dem Labor GeneControl GmbH und dem IT Unternehmen mais GmbH für ihre schnelle und sorgsame Tätigkeit und allen Weiteren, die daran bemüht waren, zum Gelingen des Projektes beizutragen.

Danke an die Generatio vertreten durch Herrn Dr. E. Manz.

Ein herzliches Dankeschön an alle Mitarbeiter des Lehrstuhls für Tierzucht für eine wirklich schöne Zeit!

Vielen Dank an Herrn Dr. Christian Edel für die Unterstützung beim Erstellen des statistischen Modells und dessen Umsetzung in R.



Ein Dankeschön an Kati für eine Menge Tipps, Korrekturen, Rettungen und an Uli für Ihre beneidenswerten Kenntnisse der englischen Sprache.....

Petra, ich danke Dir, dass ich während meiner Reisen nach Kiel jederzeit bei Dir wohnen durfte.

Der kleinen Steffi großen Dank! Schön, dass es Dich gibt.

Nicht zuletzt danke ich meiner Mama. Das, was Du schon alles für mich und Clara Marie getan hast und immer noch tust werde ich nie wieder gut machen können, ich hab Dich lieb!

Einfach ein **ganz dickes Bussi** an alle, die mich in welcher Art auch immer unterstützt haben.....

Steffi

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE ANGABEN

Geburtstag 07. Oktober 1975
Geburtsort Hagen/ Westfalen
Staatsangehörigkeit Deutsch
Eltern Heidemarie Ostler, geb. Schmidt,
*20. August 1944,
Hausfrau
Hans Helmut Ostler,
*02. Juli 1930, †10. Oktober 2001,
Betriebs- und Produktionsleiter
Familienstand ledig, eine Tochter



SCHULAUSBILDUNG

**September 1981
bis August 1985** Katholische Overberg-Grundschule
in Hagen-Boelerheide
**September 1985
bis April 1994** Hildegardis-Schule, staatl. anerkanntes privates Gymnasium
in Hagen
15. Juni 1994 *Allgemeine Hochschulreife*

STUDIUM UND BERUF

**Juli 1994
bis Oktober 1995** Beginn einer Ausbildung zur Tierärzthelferin
in der Tierarztpraxis Winfried Budde in Witten-Bommern
**WS 1995/96
bis WS 1998/99** Beginn des Studiums der Veterinärmedizin
an der Ludwig-Maximilian-Universität München
**SS 1999
bis SS 2003** Studium der Agrarwissenschaften -Richtung Tierproduktion-
an der Technischen Universität München in Weihenstephan
01. September 2003 *Diplom-Agraringenieurin (Univ.)*
Diplomarbeit: „Untersuchung der Einflussfaktoren
auf den Zuchtfortschritt beim bayerischen Fleckvieh“
**Oktober 2003
bis Juli 2005** Wissenschaftliche Angestellte am Lehrstuhl für Tierzucht
an der Technischen Universität München in Weihenstephan
**August 2005
bis 14. Mai 2007** Elternzeit und Erstellung der Dissertationsschrift

seit 15. Mai 2007 Key Account Manager Rind -Gebiet Süd/West-
bei der Firma Essex Tierarznei in München

KURSE ZUM STUDIUM

13. bis 17. März 2000	Landtechnik I-Kurs in der Landmaschinenschule in Landshut-Schönbrunn
20. bis 31. März 2000	Tierhaltungskurs in der Lehr- und Versuchsanstalt Almesbach in Weiden in der Oberpfalz
23. bis 27. April 2001	Landtechnik II-Kurs in der DEULA in Warendorf

PRAKTIKA

01. August 1999 bis 31. Oktober 1999	Bayerisches Haupt- und Landgestüt Schwaiganger in Ohlstadt/ Kreis GAP (Pferde, Schafe, Mutterkuhhaltung)
01. August 2000 bis 31. Oktober 2000	Lehr- und Versuchsanstalt für Tierhaltung Almesbach in Weiden in der Oberpfalz (Milchvieh, Bullenmast, Mutter- kuhhaltung, Schweinezucht)
12. Februar 2001 bis 31. August 2001	Betrieb Alfons Bruns in Sendenhorst/ Kreis WAF (Ferkel- und Jungsauenerzeu- gung)
24. Juli 2006 bis 07. August 2006	Verband der Züchter des Holsteiner Pferdes e.V. –Abteilung Zucht- in Kiel (Pferdezucht)

SONSTIGES

Fremdsprachen	Englisch
EDV-Kenntnisse	Microsoft Office, Grundkenntnisse SAS, R, Python und MySQL
Hobbies	Pferdezucht, Reiten, Zeichnen, Lesen