



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



Schlussbericht zum Thema

31. Juli 2024

Evaluierung der Möglichkeit zur Zucht auf Resistenz gegenüber den Maedi-Visna-Virus bei den rauwolligen Pommerschen Landschafen

FKZ: 2821OE013, 2822OE140

Projektnehmer/Projektnehmerin:
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover,
Justus-Liebig-Universität Gießen

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft auf Grund eines Beschlusses des deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau.

Das Bundesprogramm Ökologischer Landbau (BÖL) hat sich zum Ziel gesetzt, die Rahmenbedingungen für die ökologische Landwirtschaft in Deutschland zu verbessern. Es wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) finanziert und in der BÖL-Geschäftsstelle in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) in die Praxis umgesetzt. Das Programm gliedert sich in zwei ineinandergreifende Aktionsfelder - das Forschungs- und das Informationsmanagement.

Detaillierte Informationen und aktuelle Entwicklungen finden Sie unter:

www.bundesprogramm.de
www.oekolandbau.de/forschung

Wenn Sie weitere Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
Bundesprogramm Ökologischer Landbau
Deichmanns Aue 29
53179 Bonn
Tel.: 0228-6845-3280
E-Mail: boel-forschung@ble.de

Gefördert durch



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Abschlussbericht: PoMaedi

Zuwendungsempfänger: Tierärztliche Hochschule Hannover und Justus-Liebig-Universität Gießen

Titel des Forschungsvorhabens: **PoMaedi: Evaluierung der Möglichkeit zur Zucht auf Resistenz gegenüber dem Maedi-Visna-Virus bei den Rauhwolligen Pommerschen Landschafen**

Förderkennzeichen: 2821OE013 und 2822OE140

Laufzeit des Vorhabens: 01.06.2023 – 31.07.2024

Projektbeteiligte:



Prof. Dr. Martin Ganter
Klinik für kleine Klautiere
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15,
30173 Hannover



Prof. Dr. Gesine Lühken
Institut für Tierzucht und
Haustiergenetik
Justus-Liebig-Universität Gießen
Ludwigstraße 21, 35390 Gießen



Cassandra Frölich
Klinik für kleine Klautiere
Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15,
30173 Hannover



Christoph Höller
1. Vorsitzender
IG Rauhwolliges Pommersche
Landschafe e.V.
Goldbecker Straße 29, 31737 Rinteln

Kurzfassung

PoMaedi: Evaluierung der Möglichkeit zur Zucht auf Resistenz gegenüber dem Maedi-Visna-Virus bei den Rauhwolligen Pommerschen Landschafen

Cassandra Frölich, Prof. Dr. Martin Ganter, Prof. Dr. Gesine Lühken

Klinik für kleine Klautiere, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover;
E-Mail: Cassandra.Froelich@tiho-hannover.de

Maedi-Visna (MV) ist eine meldepflichtige, nicht heilbare Schafkrankheit, welche durch die Infektion mit dem Maedi-Visna-Virus (MVV) verursacht wird und weltweit zu großen wirtschaftlichen Verlusten führt. Es wurde bereits nachgewiesen, dass manche Schafrassen, wie Texel und Ostfriesisches Milchschaaf, eine höhere Empfänglichkeit für das MVV aufweisen, während andere Rassen, wie das Merinolandschaaf und Suffolk, resistenter sind. Diese genetische Disposition wird auf das transmembrane Protein 154 (TMEM154) Gen zurückgeführt. An Position 35 des TMEM154-Proteins wirkt die Aminosäure Lysin (K-Allel) bei bestimmten Schafrassen in reinerbiger Form protektiv, während die Aminosäure Glutamat (E-Allel) mit Empfänglichkeit assoziiert ist. Das Ziel dieses Projekts war es, die Verbreitung und Empfänglichkeit gegenüber dem MVV bei der altdeutschen, vom Aussterben bedrohten Rasse 'Rauhwolliges Pommersches Landschaaf' (RPL) zu untersuchen und die Möglichkeit zur Zucht auf MVV-Resistenz anhand molekulargenetischen Daten zu evaluieren.

Im Rahmen dieses Projekts wurden insgesamt 849 RPL-Schafe aus 35 Herden in 9 deutschen Bundesländern auf MVV-Antikörper untersucht. Davon zeigten 30 Einzeltiere (3,5%) und 6 Herden (17,1%) MVV-positive Ergebnisse, wobei nur 4 der infizierten Tiere auch klinische Symptome zeigten, die auf MV hindeuteten. Da der Zukauf neuer Tiere als Hauptrisikofaktor für die Einschleppung dieser Krankheit in eine MVV-negative Herde identifiziert wurde, sollten Tiere vor dem Zukauf auf das Virus getestet werden.

Die niedrigen MVV-Prävalenzen bei den RPL bieten eine gute Ausgangslage, um das Virus vollständig aus dieser Rasse zu eliminieren. Die Sanierung MVV-positiver Herden basiert derzeit auf regelmäßigen serologischen Untersuchungen der gesamten Herde und Merzung positiver Schafe und/oder mutterloser Aufzucht. Da die genotypisierten RPL-Schafe mit dem TMEM154 E35K-Genotyp KK seltener (statistisch nur tendenziell signifikant) mit dem MVV infiziert waren, könnte die Selektion auf diesen Genotyp in MVV-positiven Herden eine weitere Sanierungsoption darstellen. Auch wenn der als protektiv geltende Genotyp KK bei den RPL keine absolute Resistenz vermittelt, wird zumindest der Einsatz von Böcken mit diesem Genotyp in MVV-positiven Herden empfohlen.

Die berechneten genetischen Diversitätsparameter deuten darauf hin, dass die genetische Vielfalt innerhalb der Rasse RPL nicht gefährdet ist. Somit wäre, auch aufgrund der recht hohen K-Allel-Frequenz (53%), eine Zucht auf MVV-Resistenz ohne großen Verlust der genetischen Diversität durchaus möglich. Allerdings ist eine Selektion der gesamten Rasse auf den Genotyp KK aktuell nicht anzuraten, da der Effekt auf die MVV-Empfänglichkeit beim RPL noch nicht statistisch signifikant nachgewiesen wurde. Hierfür besteht weiterer Forschungsbedarf mit einer größeren Anzahl MVV-positiver RPL-Schafe.

Summary

PoMaedi: Evaluation of the possibility of breeding for resistance to the maedi-visna virus in the Pomeranian Coarsewool sheep

Cassandra Frölich, Prof. Dr. Martin Ganter, Prof. Dr. Gesine Lühken

Clinic for Swine and Small Ruminants, University of Veterinary Medicine Hannover (Foundation),
Bischofsholer Damm 15, 30173 Hannover; Email: Cassandra.Froelich@tiho-hannover.de

Maedi-visna (MV) is a notifiable, incurable sheep disease caused by infection with the maedi-visna virus (MVV), which leads to major economic losses worldwide. It has already been proven that some sheep breeds, such as Texel and East Frisian milk sheep, are more susceptible to MVV, while other breeds, such as Merinoland sheep and Suffolk, are more resistant. This genetic disposition is associated with the transmembrane protein 154 (TMEM154) gene. At position 35 of the TMEM154 protein, the amino acid lysine (allele K) in a homozygous form acts protectively in certain sheep breeds, while the amino acid glutamate (allele E) is associated with susceptibility. The aim of this project was to investigate the prevalence and susceptibility to MVV in the old, endangered German sheep breed 'Pomeranian Coarsewool sheep' (in German 'Rauhwolliges Pommersches Landschaf' RPL) and to evaluate the possibility of breeding for MVV resistance based on molecular genetic data.

In this project, a total of 849 RPL sheep from 35 flocks in 9 German federal states were tested for MVV antibodies. Of these, 30 individual animals (3.5%) and 6 flocks (17.1%) showed MVV-seropositive results, with only 4 of the seropositive animals showing MV-symptoms. As the purchase of new animals has been identified as the main risk factor for introducing this disease into a MVV-negative flock, animals should be tested for the virus before purchase.

The low MVV prevalence in the RPL breed offers a good opportunity to eliminate the virus from this breed completely. The sanitation of MVV-positive flocks is currently based on regular serological monitoring of the entire flock and culling of positive sheep and/or motherless rearing of lambs. Since genotyped RPL sheep with the TMEM154 E35K genotype KK were less frequently infected with MVV (with only a tendency towards significance), selection for this genotype in MVV-positive flocks could be a further sanitation option. Although the genotype KK, which is considered protective, did not provide absolute resistance in the RPL, the use of rams with this genotype in MVV-positive flocks should at least be considered.

The calculated genetic diversity parameters indicate that the diversity of the RPL breed is not at risk. Thus, breeding for MVV resistance would be possible without a major loss of genetic diversity due to the relatively high frequency of the allele K (53%). However, selecting the entire breed for the TMEM154 genotype KK is currently not recommended, as the effect on MVV susceptibility in RPL was not yet statistically significant. Further research with a larger number of MVV-positive RPL sheep is needed to confirm a statistical significance of the observed TMEM154 E35K genotype effects.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	6
1. Einführung	7
1.1 Gegenstand des Vorhabens.....	7
1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts	7
1.3 Planung und Ablauf des Projektes.....	7
2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	8
3. Tiere, Material und Methoden	9
3.1 Probensammlung und Datenerfassung.....	9
3.2 MVV-Serologie.....	11
3.3 TMEM154-Genotypisierung	11
3.4 SNP-Chip-Genotypisierung	11
3.5 Diversitätsanalyse.....	11
4. Ergebnisse.....	12
4.1 MVV-Prävalenzen und Risikofaktoren.....	12
4.2 Zirkulierende Virusstämme	13
4.3 TMEM154 E35K	13
4.4 Diversitätsanalyse.....	13
4.4.1 Principal Component Analysis (PCA)	13
4.4.2 Effektive Populationsgröße (N_e)	14
4.4.3 Heterozygotie und Wright Heterozygotiekoeffizient (F_{is})	15
4.4.4 Inzuchtkoeffizienten.....	15
5. Diskussion	18
5.1 Prävalenz des Maedi-Visna-Virus in der Rasse RPL.....	18
5.2 TMEM154 E35K-Frequenzen und Zusammenhang mit MV-Empfänglichkeit beim RPL.....	19
5.3 Genetische Diversität beim RPL	19
5.4 Möglichkeit der MVV-Resistenzzucht beim RPL.....	21
6. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	22
7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen	23
8. Zusammenfassung der Ergebnisse	23
9. Literaturverzeichnis	24
10. Veröffentlichungen zum Projekt	26

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Bzw.	beziehungsweise
CAE	Caprine Arthritis und Encephalitis
EDTA	Ethylendiamintetraazetat
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Evtl.	eventuell
Fis	Wright Heterozygotiekoeffizient
FPED	Pedigree-basierter Inzuchtkoeffizient
FROH	Genomischer Inzuchtkoeffizient
GEH	Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V.
He	erwartete Heterozygotie
Ho	beobachtete Heterozygotie
IGRPL	Interessengemeinschaft Rauhwolliges Pommersches Landschaf e.V.
KASP	Kompetitive Allele Specific Polymerase Chain Reaction
LD	Linkage Disequilibrium
ml	Milliliter
MV	Maedi-Visna
MVV	Maedi-Visna-Virus
Ne	effektive Populationsgröße
PCA	Principal Component Analysis
QC	Quality Control
RNA	Ribonukleinsäure
ROH	Runs of homozygosity
RPL	Rauhwolliges Pommersches Landschaf
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SRLV	Small Ruminant Lentivirus
Tab.	Tabelle
TGRDEU	Zentrale Dokumentation Tiergenetischer Ressourcen in Deutschland
TMEM154	ovines Transmembranes Protein 154
UK	United Kingdom
USA	United States of America
vit	Vereinigte Informationssysteme Tierhaltung w.V.
z.B.	zum Beispiel

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Darstellung des monatlichen Zeitplans der einzelnen Arbeitsschritte (Jahr 2023-2024)

Tabelle 2: Auswahl unverwandter RPL-Schafe für die SNP-Chip-Genotypisierung aufgeteilt nach Linie und Geschlecht

Tabelle 3: MVV-Prävalenzen und klinische MV-Inzidenz bei der Rasse RPL

Tabelle 4: Effektive Populationsgröße (N_e) basierend auf Bestandszahlen verglichen zu N_e basierend auf SNP-Daten der ganzen Rasse RPL und nur der RPL mit den TMEM154 E35K-Genotypen KK und EK

Tabelle 5: Beobachtete (H_o), erwartete (H_e) Heterozygotie und Wright Heterozygotiekoeffizient (F_{is}) Werte der gesamten Rasse RPL, der einzelnen Bocklinien und von RPL mit bestimmten TMEM154 E35K-Genotypen

Tabelle 6: Genomischer (FROH) und Pedigree-basierter (FPED) Inzuchtkoeffizient von 27 RPL-Einzeltieren

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl genetisch (und serologisch) untersuchter RPL-Herden

Abbildung 2: Ausschnitt aus dem Projekt-Fragebogen für die RPL-Züchterinnen und Züchter

Abbildung 3: Darstellung folgender Risikofaktoren für eine MVV-Infektion: Standort in Deutschland (Nordwesten, Osten, Süden); Herdengröße (klein (1-30 Schafe), mittel (31-100 Schafe), groß (>100 Schafe)); Zukauf neuer Tiere (nur männliche Tiere, (auch) weibliche Tiere, kein Zukauf)

Abbildung 4: PCA-Analyse bezüglich der 8 Bocklinien (links) und der TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Abbildung 5: Frequenz von langen (>10Mb), mittellangen (>5 to 10 Mb) und kurzen (1 to 5 Mb) runs of homozygosity (ROH) in den verschiedenen Bocklinien (links) bzw. den verschiedenen TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Abbildung 6: Box-Plot der genomischen Inzuchtkoeffizienten (FROH) aller untersuchten RPL (links), sowie nach Linien (Mitte) bzw. TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Abbildung 7: Korrelation zwischen genomischen (FROH) und Pedigree-basierten (FPED) Inzuchtkoeffizient, jeweils in Prozent, von 27 RPL-Einzeltieren

1. Einführung

1.1 Gegenstand des Vorhabens

Gegenstand dieses Projekts war die Evaluierung der MVV-Prävalenz und die Überprüfung des Effekts des TMEM154 E35K-Genotypes auf die MVV-Empfänglichkeit bei der Schafrasse RPL. Dabei sollte die Möglichkeit der Zucht auf MVV-Resistenz unter Berücksichtigung der Erhaltung der genetischen Diversität dieser gefährdeten Rasse evaluiert werden.

1.2 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Dieses Projekt sollte die Frage beantworten, ob es bei der Schafrasse RPL notwendig und möglich ist, gezielt auf Resistenz gegen die Infektion und evtl. auch Erkrankungen durch das MVV zu züchten, indem die für Empfänglichkeit stehenden Genotypen an Position 35 im TMEM154-Gen ermittelt und in der Folge züchterisch eliminiert werden. Bei Betrieben, die zu diesen Untersuchungen bereit sind, sollte zusätzlich anhand der serologischen und klinischen Untersuchungen der Schafe festgestellt werden, ob die jeweiligen Herden und Einzeltiere mit dem MVV infiziert und evtl. auch klinisch erkrankt sind. Durch die TMEM154-Genotypisierung solcher Proben sollte geklärt werden, inwiefern auch bei den RPL eine Beziehung zwischen dem TMEM154-Genotyp und dem serologischen MVV-Status besteht.

Eine mögliche Zucht auf Resistenz gegen das MVV sollte jedoch so gesteuert werden, dass eine möglichst hohe genetische Vielfalt in der Population erhalten bleibt, insbesondere alle 8 derzeit noch vorhandenen Bocklinien, sofern sich diese als genetisch voneinander abgegrenzte Gruppen darstellen lassen. Daher sollte die genetische Diversität der Rasse RPL im Zusammenhang mit einer eventuellen Selektion auf das TMEM154 Allel K molekulargenetisch analysiert werden. Die Ergebnisse sollen den Züchterinnen und Züchtern dieser Rasse als Entscheidungshilfe für eine zukünftige Zuchtstrategie auf MVV-Resistenz bei gleichzeitiger Erhaltung der genetischen Diversität dienen. Bei Erfolg könnte dieses Vorgehen auch auf andere Schafrassen übertragen werden.

1.3 Planung und Ablauf des Projektes

Das Projekt wurde entsprechend dem geplanten Zeitpunkt im Juni 2023 gestartet. Durch die Notwendigkeit der Beantragung von genehmigungspflichtigen Tierversuchen in 9 verschiedenen Bundesländern war die Blutentnahme der Schafe erst ab August 2023 möglich. Aufgrund dessen und durch Verzögerungen im Labor wurde eine kostenneutrale Projektverlängerung für 2 Monate beantragt und genehmigt (bis 31.07.2024). Somit betrug die gesamte Projektlaufzeit 14 Monate. In Tabelle 1 ist der tatsächlich durchgeführte Zeitplan dargestellt. Die Publikation der Ergebnisse in wissenschaftlichen Fachjournalen konnte bis zum Projektende noch nicht abgeschlossen werden. Dies wird im Rahmen einer kumulativen Dissertation nach Projektabschluss fortgeführt.

Tabelle 1: Darstellung des monatlichen Zeitplans der einzelnen Arbeitsschritte (Jahr 2023-2024)

Arbeitsschritt (Meilenstein)	Projektmonat													
	Juni	Juli	Aug	Sept	Okt	Nov	Dez	Jan	Feb	März	April	Mai	Juni	Juli
Auswahl RPL- Betriebe	■													
Stellung von Tierversuchsanträgen	■	■	■											
Probenentnahme/ Datenerhebung			■	■	■	■	■							
Serologische Untersuchung (MVV)			■	■	■	■	■				■			
TMEM154 E/K- Genotypisierung						■	■	■	■	■	■			
SNP-Chip- Genotypisierung								■	■	■				
Berechnung der Beziehungen zwischen Genotyp und MVV-Infektion											■	■		
Berechnung der genetischen Diversität der Rasse											■	■	■	■
Publikation der Ergebnisse (noch nicht abgeschlossen)													■	■

2. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Im Jahre 1982 traten engagierte Züchterinnen und Züchter auf Rügen für den Erhalt der fast ausgestorbenen Rasse Rauwollige Pommerschen Landschaft (RPL) ein. Mit 46 Mutterschafen, 4 weiblichen Jährlingen und 7 Böcken wurde die Erhaltungszucht begonnen. Etwas später kam zu den bereits 7 vorhandenen Bocklinien (Linien 1-7) dann noch die Linie S aus dem Süden Deutschlands hinzu (*Interessengemeinschaft Rauwollige Pommersche Landschaft e.V.*). Das RPL ist eine altdeutsche Rasse, welche nach der Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V. (GEH) als gefährdet eingestuft wird (*Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V. (GEH)*). Die Zahl der im Herdbuch gezüchteten RPL steigt seit Beginn der Erhaltungszucht an und zählte im Jahr 2022 knapp 3200 Tiere (*Zentrale Dokumentation Tiergenetischer Ressourcen in Deutschland (TGRDEU)*).

Im Rahmen der Prävalenzstudie von Hüttner et al. (Hüttner et al., 2010) wurde in einigen der größten Zuchtbetriebe der RPL in Mecklenburg-Vorpommern Antikörper gegen das Maedi-Visna-Virus (MVV) nachgewiesen. Die Erkrankung Maedi-Visna (MV) wird durch die gleichnamigen RNA-Viren (MVV) verursacht und ist nicht heilbar. Es handelt sich um eine meldepflichtige Erkrankung und es besteht auch keine Möglichkeit, durch Impfen einer Infektion vorzubeugen (Minguijon et al., 2015; Reina et al., 2013). Um eine Verbreitung des Virus in dieser Rasse zu verhindern, sind regelmäßige MVV-Antikörpertests notwendig und zur Sanierung positiver Herden besteht lediglich die Möglichkeit der Merzung positiv getesteter Schafe und/oder die mutterlose Lämmeraufzucht, da das Virus vor allem vertikal von der Mutter auf das Lamm via Kolostrum übertragen wird (Reina et al., 2009). Allerdings sind die derzeitigen rechtlichen Regelungen nicht dazu geeignet, zu einer Verringerung der Verbreitung von MVV-Infektionen beizutragen. Wird in einem Herdbuchbetrieb das MVV nachgewiesen, so wird dieser Betrieb je nach Bundesland bis für drei Jahre für sämtliche Auktionen gesperrt und somit stigmatisiert und finanziell geschädigt, eine Sanierung ist jedoch nicht vorgeschrieben. Da kein aktives Monitoring vorgeschrieben ist, sind alle Betriebe, die keinerlei Untersuchungen auf das Vorliegen der Infektion durchführen im Vorteil und brauchen keinerlei

Konsequenzen zu fürchten. Aus diesen Gründen führen die RPL-Herdbuchbetriebe kaum Untersuchungen auf MV durch, um keinen Sperrungen zu unterliegen. Aufgrund der Größe der bereits positiv getesteten Herden werden aus Kostengründen in diesen Betrieben keine Sanierungen durchgeführt. Diese Situation kann eine Ausbreitung des MVV befördern.

In den USA (Heaton et al., 2012) und nun auch in Deutschland (Molae et al., 2018; Molae et al., 2019) konnte nachgewiesen werden, dass verschiedene Varianten an der Position 35 des transmembranen Protein 154 (TMEM154) Gens einen starken Einfluss auf die MVV-Empfänglichkeit beim Schaf haben. Bestimmte Schafrassen, wie das Texelschaf und das Ostfriesische Milchschaaf, sind besonders empfänglich für das MVV und wiesen eine sehr niedrige Frequenz des als protektiv geltenden K-Allels des TMEM154-Gens auf. Über den Zusammenhang zwischen dem Genotyp an Position 35 des TMEM154 Gens und der MVV-Empfänglichkeit ist bei der Rasse RPL nichts bekannt und somit auch nichts über die Frequenz des protektiven K-Allels. Insbesondere kann nicht abgeschätzt werden, ob auf Basis der Selektion auf dieses Allel eine Zucht auf MVV-Resistenz bei den RPL möglich ist, ohne die genetische Diversität der Rasse zu stark zu gefährden.

Bei einer züchterischen Selektion auf Einzelgene ist es besonders wichtig, die genetische Diversität der betroffenen Population zu berücksichtigen. Insbesondere im Fall einer niedrigen Frequenz des K-Allels sollten Allel-Träger nicht nur untereinander, sondern auch weiterhin mit Zuchttieren, die das Allel nicht tragen, angepaart werden, um die Diversität nicht zu verringern (DGfZ, 2020). Sowohl die Diversität innerhalb einer Rasse oder verschiedenen Linien, als auch der Inzucht-Grad von Einzeltieren und die genetische Distanz zwischen ihnen können heute durch die Verfügbarkeit von genomweiten Markern genau untersucht werden. Üblicherweise werden hierzu aktuell Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) verwendet, die genomweit und in großer Anzahl mittels SNP-Chips genotypisiert werden (Adeniyi et al., 2022; Burren et al., 2016; Meyermans et al., 2020; Sveistiene & Tapio, 2021). Es ist davon auszugehen, dass mittel- bis langfristig auch beim Schaf SNP-Chip-Daten in das Herdbuchprogramm serv.it OVICAP eingespeist und sowohl zur Abstammungskontrolle als auch für die exaktere Berechnung von Inzuchtkoeffizienten verwendet werden können. Die in diesem Projekt verwendete, von der Firma Illumina produzierte SNP-Chip-Version für das Schaf enthält auch die Variante TMEM154 E35K. Allerdings wurde der zuverlässige Nachweis der entsprechenden TMEM154-Genotypen anhand SNP-Chip-Daten bisher nicht verifiziert. Daher soll im Rahmen dieses Projektes auch ein Vergleich der SNP-Chip-Daten von 192 Schafen an dieser Position mit den Ergebnissen des TMEM154 E35K-Einzelgentest dieser Tiere durchgeführt werden. Dieser Vergleich soll zeigen, ob zukünftig der TMEM154 E35K-Genotyp auch zuverlässig aus SNP-Chip-Daten herausgelesen werden kann.

3. Tiere, Material und Methoden

3.1 Probensammlung und Datenerfassung

Insgesamt haben 54 RPL-Herden aus 9 deutschen Bundesländern (Baden-Württemberg, Brandenburg, Hessen, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Nord-Rhein-Westfalen, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Schleswig-Holstein) freiwillig an dem Projekt „PoMaedi“ teilgenommen. In jeder Herde wurde allen Zuchtböcken und je nach Herdengröße 1-10 Muttertiere pro Linie 9ml EDTA-Blut für die TMEM154-Genotypisierung abgenommen. Falls eine freiwillige MVV-Untersuchung der gesamten Herde von den Züchterinnen und Züchtern gewünscht wurde, wurde zusätzlich allen Tieren der Herde über 1 Jahr Blut entnommen. Die Blutentnahme wurde von Tierärztinnen und Tierärzten aus der Vena cava cranialis oder der Vena jugularis vor Ort durchgeführt. In Abbildung 1 ist dargestellt, aus welchen Bundesländern die teilnehmenden Herden stammten.

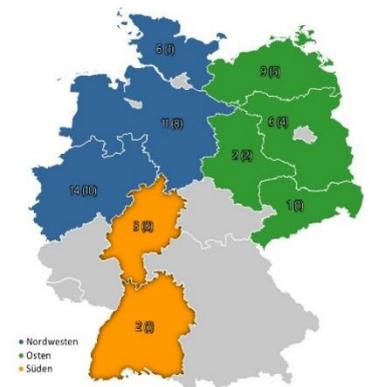


Abbildung 1: : Anzahl genetisch (und serologisch) untersuchter RPL-Herden

ohne Klammer: TMEM154 E35K-genotypisierte Herden; mit Klammer: TMEM154 E35K-genotypisierte und MVV-untersuchte Herden

Für die Erfassung von Daten über die Herdengesundheit und das Herdenmanagement wurden Fragebögen von den Züchterinnen und Züchtern ausgefüllt. Exemplarisch ist ein Ausschnitt dieses Fragebogens in Abbildung 2 zu sehen.



Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Projekt „PoMaedi“ - Fragebogen





Bundesministerium
für Ernährung
und Landwirtschaft

Projekt „PoMaedi“ - Fragebogen



Angaben zum Bestand

Geben Sie bitte die Größe Ihres RPL-Betriebs an:

Verfügbare Weidefläche (ha): _____ Verfügbare Stallfläche (m²): _____

Wie viele Rauhwollige Pommersche Landschafe haben Sie insgesamt?
Gesamtzahl: _____

davon

Mutterschafe: _____ Böcke: _____
Zutreter (aus 2022): _____ Lämmer (aus 2023): _____

Welche Bocklinien sind bei Ihnen vertreten?

Linie 1 Linie 2 Linie 3
 Linie 4 Linie 5 Linie 6
 Linie 7 Linie S

Wie viele Zukäufe an RPL hatten Sie im vergangenen Jahr?
Gesamtzahl: _____ keine
davon

Mutterschafe: _____ Böcke: _____
Zutreter (aus 2022): _____ Lämmer (aus 2023): _____

Wie ist die Nutzungsrichtung Ihrer RPL-Herde?

Wolle Milch
 Fleisch Zucht
 Landschaftspflege Hobbyhaltung
 Freizeitangebot sonstiges: _____

Haben Sie andere Schaffrasen auf dem Betrieb?
 Ja, folgende Rasse/n: _____
 Nein

davon

Mutterschafe: _____ Böcke: _____
Zutreter (aus 2022): _____ Lämmer (aus 2023): _____

Gibt es weitere Tiere auf dem Betrieb?

Rinder Schweine Geflügel
 Ziegen Gatterwild Pferde
 Hunde Katzen

Gibt es im Wildtierbestand Tierarten mit hoher Populationsdichte in der Nähe der Herde/n?

Wildschweine Rot-/ Dam-/ Rehwild
 Mufflon Füchse
 Wildgänse Kollkraben
 sonstiges Wild: _____

Angaben zur Lämmeraufzucht

Wie erfolgt die Lämmeraufzucht?

muttergebundene Aufzucht mutterlose Aufzucht

Wenn mutterlose Aufzucht: Mit welchem Kolostrum wird die Aufzucht durchgeführt?

Kolostrum der eigenen Mutter Rinderkolostrum
 Kolostrum von Maedi-freien Kolostrum-Ersatzpräparat
Schafen

Wenn mutterlose Aufzucht: Wie erfolgt die Milchversorgung?

jedes Lamm eine eigene Flasche Tränkeautomat
 eine Flasche für mehrere/alle Nuckeleimer für mehrere Lämmer
Lämmer gleichzeitig

Angaben zum Maedi-Visna-Status

Wurde in Ihrer Herde bereits auf das Maedi-Visna-Virus untersucht? Wenn ja, wann war das letzte Mal?

Ja, Monat/Jahr: _____ Nein

Wenn ja: Was war das Ergebnis der Untersuchung?

positiv negativ

Wenn positiv: Welche Maßnahmen wurden dagegen unternommen?

Wenn positiv: Ist Ihre Herde inzwischen wieder Maedi-Visna-frei? Wenn ja, seit wann?
 Ja, seit (Monat/Jahr): _____ Nein

Abbildung 2: Ausschnitt aus dem Projekt-Fragebogen für die RPL-Züchterinnen und Züchter

3.2 MVV-Serologie

Die 849 EDTA-Blutproben für die MVV-Untersuchung wurden zentrifugiert und das Plasma wurde mittels VMRD ELISA (VMRD Inc., Pullman, Washington, USA) auf MVV-Antikörper untersucht. Bei 29 der 30 positiven Proben wurde dann zusätzlich der Eradikit ELISA (Eradikit™ SRLV Genotyping IN3 Diagnostic, Torino, Italien) angewendet, um die vorhandenen Virusstämme zu genotypisieren. Die MVV-Serologie wurde im Labor der Klinik für kleine Klautiere, Tierärztliche Hochschule Hannover, durchgeführt.

3.3 TMEM154-Genotypisierung

Insgesamt 530 Blutproben wurden am Institut für Tierzucht und Haustiergenetik an der Justus-Liebig-Universität Gießen auf Position 35 des TMEM154-Gens mittels der KASP Technologie (LGC, Hoddesdon, UK) genotypisiert (Molae et al., 2018). Somit wurden 395 Proben sowohl auf das MVV als auch auf die Genvariante untersucht und es konnte mittels Chi-Quadrat-Tests eine statistische Assoziationsanalyse durchgeführt werden.

3.4 SNP-Chip-Genotypisierung

Anhand von Pedigree-Daten, welche durch das Vereinigte Informationssystem Tierhaltung w.V. (vit) aus serv.it OVICAP ausgelesen und bereitgestellt wurden, wurden 192 möglichst nicht verwandte RPL-Schafe für den OvineSNP50K BeadChip (Illumina, San Diego, CA, USA) ausgewählt. Bei der Auswahl wurde darauf geachtet, dass alle Linien und Betriebe möglichst gleichmäßig vertreten sind, keine Verwandtschaft 1. Grades auftritt und möglichst viele männliche Zuchttiere ausgesucht werden. Die finale Auswahl ist in Tabelle 2 dargestellt. Die SNP-Chip-Genotypisierung wurde durch ein externes Servicelabor durchgeführt. Da diese SNP-Chip-Version auch die Variante TMEM154 E35K enthält, konnten 192 Proben mit zwei verschiedenen Methoden auf das TMEM154-Gen genotypisiert werden.

Tabelle 2: Auswahl unverwandter RPL-Schafe für die SNP-Chip-Genotypisierung, aufgeteilt nach Linie und Geschlecht

Linie	weiblich	männlich	gesamt
Linie 1	3	13	16
Linie 2	7	10	17
Linie 3	3	16	19
Linie 4	9	20	29
Linie 5	10	20	30
Linie 6	7	10	17
Linie 7	10	20	30
Linie S	5	6	11
keine Angabe	4	19	23
Total	58	134	192

3.5 Diversitätsanalyse

Für die statistische Berechnung der genetischen Diversitätsparameter anhand der SNP-Daten wurden folgende Programme und Software-Pakete benutzt: R Version 4.4.0 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Österreich); R-Pakete: Adegenet, Hierfstat, Ggplot2, GGpubr; Plink; King software; SNePv1. Außerdem wurden aus Pedigreedaten Inzuchtkoeffizienten über simulierte Anpaarung der Elterntiere in dem Herdbuchsystem serv.it OVICAP durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 MVV-Prävalenzen und Risikofaktoren

Die ermittelte MVV-Prävalenz bei den untersuchten RPL ist in Tabelle 3 aufgeführt. Innerhalb der MVV-positiven Herden lag die Prävalenz zwischen 5,3% und 37,5%. Von den getesteten 30 seropositiven Schafen zeigten nur vier Tiere MVV typische Symptome wie Husten, Abmagerung oder Lahmheit. Das Risiko für eine MVV-Infektion war signifikant höher bei Schafen über drei Jahren ($p=0.01$), bei Herden im Osten von Deutschland ($p=0.03$) und bei Herden mit Zukauf von vor allem weiblichen Schafen ($p=0.02$) (Abbildung 3). Große Herden (über 100 Schafe) wiesen ein tendenziell höheres Risiko einer MVV-Infektion auf ($p=0.06$). Das Geschlecht, die Bocklinie, die Präsenz von Ziegen oder anderer Schafrassen auf dem Betrieb stellten keine signifikanten Risikofaktoren dar ($p>0.5$).

Tabelle 3: MVV-Prävalenzen und klinische MV-Inzidenz bei der Rasse RPL

	Anzahl (n)	Seroprävalenz (%)
Einzeltier-Prävalenz	negativ (819)	3,5
	positiv (30)	
Herden-Prävalenz	negativ (29)	17,1
	positiv (6)	
Klinische Inzidenz bei seropositiven Schafen	keine Symptome (26)	13,3
	MVV Symptome (4)	

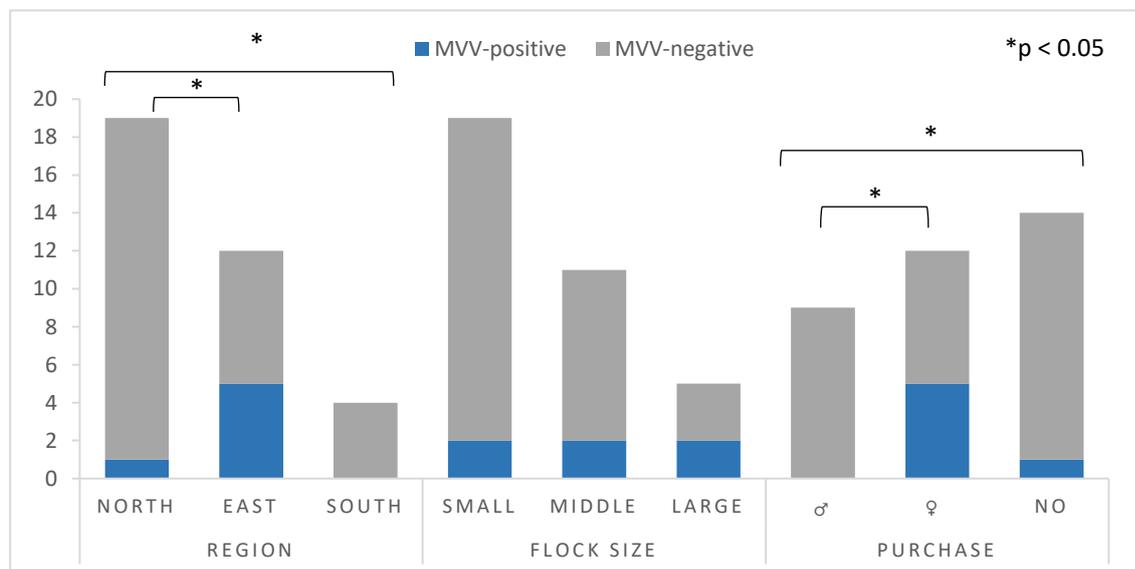


Abbildung 3: Darstellung folgender Risikofaktoren für eine MVV-Infektion: Standort in Deutschland (Nordwesten, Osten, Süden); Herdengröße (klein (1-30 Schafe), mittel (31-100 Schafe), groß (>100 Schafe)); Zukauf neuer Tiere (nur männliche Tiere, (auch) weibliche Tiere, kein Zukauf)

4.2 Zirkulierende Virusstämme

Alle mit dem Eradikit ELISA ermittelbaren Virusstämme (Genotyp A, B und E) waren in den MVV-positiven Tieren vertreten. 3 Tiere (10,3%) wiesen den Genotyp A auf, 8 (27,6%) den Genotyp B und 2 Tiere zeigten eine mögliche Co-Infektion mit den Genotypen A/B und A/E. Bei 16 Tieren (55,2%) konnte kein eindeutiger Genotyp zugeordnet werden und somit gelten diese Ergebnisse als unbestimmt.

4.3 TMEM154 E35K

Der Zusammenhang zwischen dem Genotyp an Position 35 des TMEM154 Gens und der MVV-Empfänglichkeit war bei den 395 diesbezüglich untersuchten RPL nur tendenziell signifikant ($p=0.09$). Während 101 von 365 (28%) MVV-negativ getesteten RPL-Schafen den als protektiv geltenden Genotyp KK aufwiesen, zeigten 4 der 30 (13%) MVV-positiven Tiere diesen Genotyp.

Die 530 genotypisierten RPL-Schafe wiesen den TMEM154 E35K-Genotyp KK zu 28% auf, den Genotyp EK zu 49% und EE zu 23%. Somit ist das 'protektive' K-Allel zu 53% vertreten und das mit Empfänglichkeit assoziierte E-Allel zu 47%. Die K-Allel-Frequenz zwischen den acht RPL-Bocklinien lag zwischen 45% und 64% und wies keinen wesentlichen Unterschied auf.

Von den 192 doppelt-genotypisierten Proben zeigten 94,3% (181 Proben) den gleichen TMEM154 Genotyp. Die restlichen 11 Proben (5,7%), welche kein eindeutiges Ergebnis mit der KASP-Technologie aufwiesen, konnten über den SNP-Chip genotypisiert werden.

4.4 Diversitätsanalyse

Zur Vorbereitung der genetischen Diversitätsanalyse wurden die SNP-Datensätze basierend auf der Verwandtschaft (kinship coefficient, Software KING) und den Quality Control (QC) Parametern ($maf=0,05$, $geno=0,05$, $mind=0,05$) mittels der Software PLINK bereinigt.

4.4.1 Principal Component Analysis (PCA)

Für die Durchführung der Principal Component Analysis wurden die Datensätze zusätzlich noch mit dem linkage disequilibrium (LD-based SNP pruning) der SNPs bereinigt. Somit verblieben final 41.517 Varianten und 185 Proben für die PCA Analyse. Die 185 Proben setzten sich aus 181 reinrassigen RPL-Schafen und 4 RPL-Kreuzungstieren (Kamerun, Schwarzkopf, Ostfriesisches Milchschaaf, Merinolandschaaf) zusammen. In Abbildung 4 werden die PCA-Plots mit PC 1 (1,9%) und PC 3 (1,39%) gezeigt.

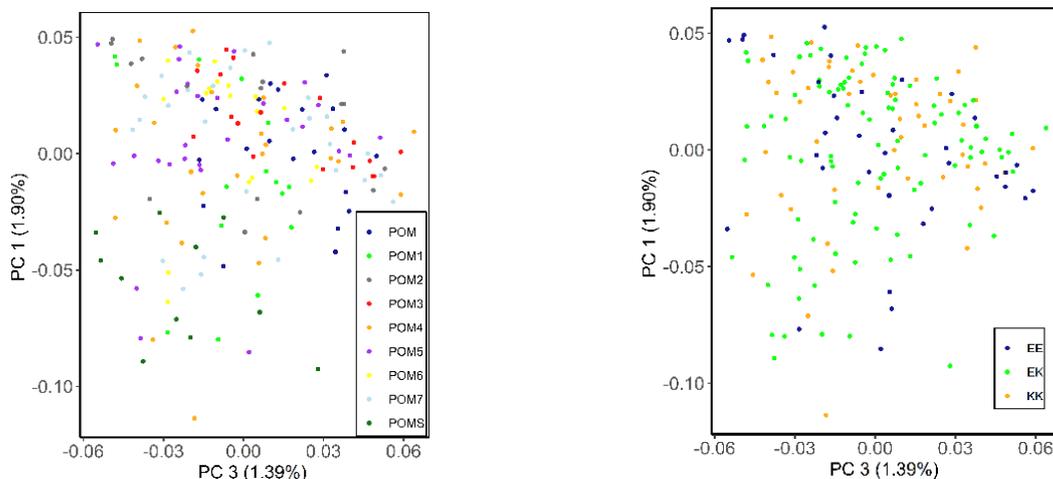


Abbildung 4: PCA-Analyse bezüglich der 8 Bocklinien (links) und der TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass es innerhalb der RPL-Population keine genetisch abgrenzbaren Subgruppen gibt. Das bedeutet, dass seit dem Beginn der Erhaltungszucht eine gute Durchmischung der ursprünglichen 8 Linien stattgefunden hat. Das Fehlen von genetischen Subgruppen bezüglich des TMEM154 E35K-Genotyps hat den Vorteil, dass bei einer Selektion auf das Allel K nicht einseitig Tiere aus einer bestimmten genetischen Subgruppe bevorzugt werden würden.

4.4.2 Effektive Populationsgröße (Ne)

Die Einstufung des Gefährdungsgrades einer Rasse von in Deutschland heimischen Nutztierassen erfolgt primär über die errechnete effektive Populationsgröße (Ne). Die Berechnung anhand realer Herdbuchzahlen erfolgt in der TGRDEU und GEH nach folgender Formel:

$$Ne = \frac{4x \text{ Anzahl männlicher Tiere} \times \text{Anzahl weiblicher Tiere}}{\text{Anzahl männlicher} + \text{weiblicher Tiere}}$$

Basierend auf den aktuellsten Bestandszahlen des RPL ergibt sich eine effektive Populationsgröße für das Jahr 2022 von

$$Ne = \frac{4x186x2979}{186 + 2979} = 700$$

Die Rasse wird somit offiziell als Beobachtungspopulation (Ne zwischen 200 – 1000) geführt (*Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V. (GEH); Zentrale Dokumentation Tiergenetischer Ressourcen in Deutschland (TGRDEU)*).

Für die Berechnung der effektiven Populationsgröße anhand des SNP-Chips werden die Daten verwendet, die QC-bereinigt aber nicht LD-pruned sind. Mit Hilfe des Tools SNePv1 wurde Ne für verschiedene Generationen (5, 13, 26, 50) berechnet (Tab. 4). Insgesamt wurden die Daten von 185 Schafen und 52.016 SNPs mit einbezogen. Anhand der genomisch berechneten effektiven Populationsgröße ist die Rasse RPL als Erhaltungspopulation einzustufen. Dabei besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen RPL jedes TMEM154-Genotyps und Tieren mit den Genotypen KK oder EK.

Tabelle 4: Effektive Populationsgröße (Ne) basierend auf Bestandszahlen verglichen zu Ne basierend auf SNP-Daten der ganzen Rasse RPL und nur der RPL mit den TMEM154 E35K-Genotypen KK und EK

Effektive Populationsgröße vor x Generationen	Basierend auf Bestandszahlen	Basierend auf SNP-Daten	
		Ganze Rasse	Genotyp KK/EK
Ne ₅	852	75	72
Ne ₁₃	896	116	113
Ne ₂₆	647	188	183
Ne ₅₀	k/A	677	650

4.4.3 Heterozygotie und Wright Heterozygotiekoeffizient (*F_{is}*)

Eine hohe Heterozygotie (Mischerbigkeit) spricht für einen niedrigeren Inzuchtgrad. Für die Berechnung der beobachteten (*H_o*) und der erwarteten (*H_e*) Heterozygotie wurde der gleiche Datensatz wie für die PCA-Analyse verwendet.

Der Wright Heterozygotiekoeffizient (*F_{is}*) wird auf Basis von *H_o* und *H_e* wie folgt berechnet (Nei & Chesser, 1983):

$$F_{is} = \frac{H_e - H_o}{H_e}$$

Ein negativer Wert spricht für eine steigende Heterozygotie und somit für eine sinkende Inzucht. Auf der anderen Seite zeigt ein positiver Wert eine niedrigere Heterozygotie und eine höhere Inzucht an.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt. Zwischen den einzelnen Tiergruppen finden sich keine nennenswerten Unterschiede.

Tabelle 5: Beobachtete (*H_o*), erwartete (*H_e*) Heterozygotie und Wright Heterozygotiekoeffizient (*F_{is}*) Werte der gesamten Rasse RPL, der einzelnen Bocklinien und von RPL mit bestimmten TMEM154 E35K-Genotypen

	H_o	H_e	F_{is}
Linie 1	0,3806	0,3803	-0,0009
Linie 2	0,3648	0,3719	0,0192
Linie 3	0,3797	0,3781	-0,0042
Linie 4	0,3729	0,3789	0,0156
Linie 5	0,3731	0,3772	0,0108
Linie 6	0,3742	0,3749	0,0019
Linie 7	0,3737	0,3786	0,128
Linie S	0,3952	0,3819	-0,0349
Genotyp EE	0,3781	0,3808	0,0073
Genotyp EK	0,3741	0,3817	0,0199
Genotyp KK	0,3757	0,3802	0,0118
Genotyp KK/EK	0,3746	0,3811	0,0171
Total	0,3766	0,3786	0,0053

4.4.4 Inzuchtkoeffizienten

Runs of homozygosity (ROH) sind lange Bereiche des Genoms, die reinerbig (homozygot) vorkommen. Während lange ROH auf einen hohen Inzuchtgrad und eine niedrige genetische Vielfalt hindeuten, sprechen kurze ROH für niedrige Inzucht und große Vielfalt. Für die ROH-Analyse wurde der QC-bereinigte Datensatz verwendet, ohne die Verwendung des QC-Parameters 'maf'. Somit wurden in dieser Analyse 185 Schafe und 60.409 SNPs berücksichtigt. Wie in Abbildung 5 ersichtlich, ist die Häufigkeit der kurzen ROH am höchsten, was für eine geringe Inzucht und eine hohe genetische Vielfalt der Rasse spricht.

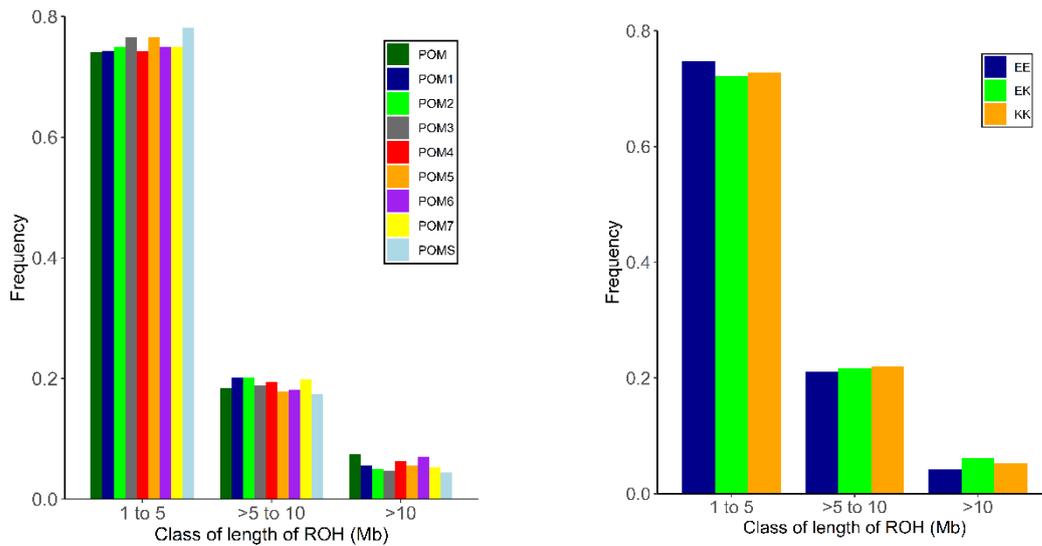


Abbildung 5: Frequenz von langen (>10Mb), mittellangen (>5 to 10 Mb) und kurzen (1 to 5 Mb) runs of homozygosity (ROH) in den verschiedenen Bocklinien (links) bzw. den verschiedenen TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Außerdem kann durch ROH der genomische Inzuchtkoeffizient (FROH) berechnet werden (McQuillan et al., 2008). Abbildung 7 zeigt die Verteilung der FROH-basierten Inzuchtkoeffizienten von allen untersuchten RPL sowie aufgeteilt nach Linien und TMEM154-Genotypen. Der mittlere genomische Inzuchtkoeffizient FROH der gesamten Rasse RPL lag bei 6,2%. Einzelne Tiere wiesen Werte von über 10% bis zu fast 26% auf. Die Linie S hatte den niedrigsten Wert mit 0,4% und die Linie 2 mit 9% den höchsten. Schafe mit den verschiedenen TMEM154-Genotypen zeigten alle einen ähnlichen Wert um die 6% (EE: 5,8%, EK: 6,5%, KK: 6,1%, EK/KK: 6,3%).

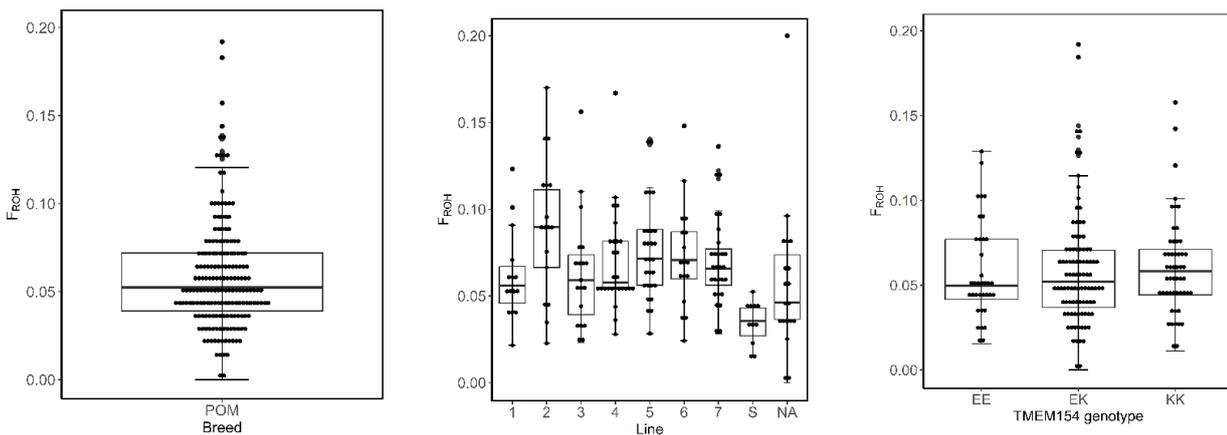


Abbildung 6: Box-Plot der genomischen Inzuchtkoeffizienten (FROH) aller untersuchten RPL (links), sowie nach Linien (Mitte) bzw. TMEM154 E35K-Genotypen (rechts)

Weitergehend wurde der Inzuchtkoeffizient für insgesamt 27 RPL-Einzeltiere basierend auf Pedigreedaten (FPED) durch die Züchterinnen und Züchter in der serv.it OVICAP-Datenbank ermittelt und zur Verfügung gestellt. In Tabelle 6 und Abbildung 7 sind die FROH und FPED Werte dieser Einzeltiere gegenübergestellt. Die Pedigree-basierten Inzuchtkoeffizienten (FPED) sind mit einem Mittelwert von 0,4% um etwa den Faktor 10 niedriger als der Mittelwert des genomischen Inzuchtkoeffizienten (FROH) dieser 27 Schafe (5,5%). Die Übereinstimmung beim paarweisen Vergleich für die einzelnen Tiere liegt bei 42%.

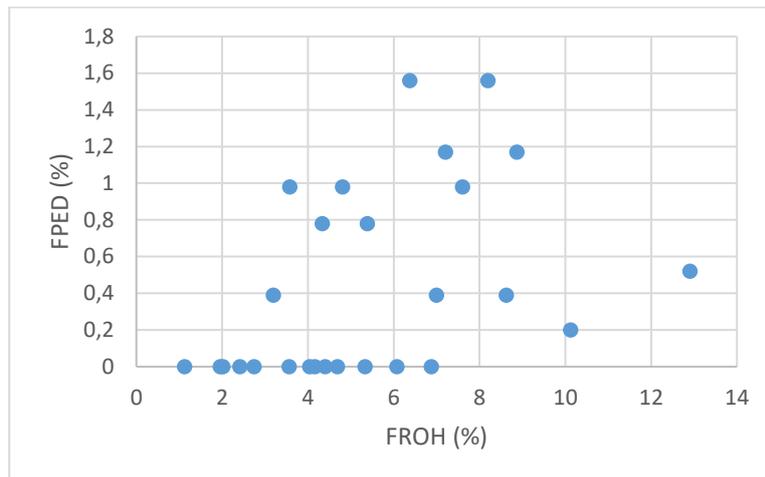


Abbildung 7: Korrelation zwischen genomischen (FROH) und Pedigree-basierten (FPED) Inzuchtkoeffizient, jeweils in Prozent, von 27 RPL-Einzeltieren

Tabelle 6: Genomischer (FROH) und Pedigree-basierter (FPED) Inzuchtkoeffizient von 27 RPL-Einzeltieren

Einzeltier	FROH (%)	FPED (%)
1	4,04	0,00
2	6,37	1,56
3	2,41	0,00
4	3,56	0,00
5	5,38	0,78
6	2,74	0,00
7	7,20	1,17
8	3,57	0,98
9	3,19	0,39
10	6,07	0,00
11	7,60	0,98
12	10,12	0,20
13	6,99	0,39
14	2,01	0,00
15	8,19	1,56
16	5,33	0,00
17	4,80	0,98
18	6,87	0,00
19	4,40	0,00
20	8,62	0,39
21	12,90	0,52
22	8,87	1,17
23	4,33	0,78
24	1,95	0,00
25	1,12	0,00
26	4,16	0,00
27	4,68	0,00

5. Diskussion

5.1 Prävalenz des Maedi-Visna-Virus in der Rasse RPL

Die ermittelten MVV-Prävalenzen (Einzeltier: 3,5%; Herde: 17,1%) bei den RPL liegen deutlich unter der von Hüttner et al. (Hüttner et al., 2010) berichteten Herdenprävalenz über alle Schafe von 51,1% in Mecklenburg-Vorpommern. Auch im europäischen und internationalen Vergleich, wurden nur in Brasilien und Costa Rica niedrigere Einzeltierprävalenzen veröffentlicht (Da Costa, 2022; Villagra-Blanco et al., 2015). Die Tatsache, dass nur 4 der 30 MVV-positiv getesteten Tiere auch klinische MV-Symptome zeigten, macht deutlich, dass die Infektion einer Herde nicht unbedingt durch Symptome zu erkennen ist. Daher ist eine regelmäßige serologische Überwachung der RPL-Herden dringend notwendig, um positive Herden frühzeitig erkennen und sanieren zu können und somit eine weitere Verbreitung dieser Krankheit zu verhindern. Vor allem zugekaufte weibliche Tiere sollten vor der Integration in die neue Herde auf das MVV untersucht werden, da sie den Hauptrisikofaktor für die Einschleppung des Virus in MVV-negative Herden darstellten. Auch Auktionen und Veranstaltungen mit RPL sollten in Zukunft nur mit negativ getesteten Tieren stattfinden, damit es erst gar nicht zur Virusverbreitung kommen kann.

Die Beobachtung, dass sich die positiven Herden hauptsächlich im Osten Deutschlands befinden, könnte dadurch erklärt werden, dass sich die größten RPL-Herden in ostdeutschen Bundesländern befinden. Wie in der vorliegenden und bereits anderen Studien gezeigt wurde (Hüttner et al., 2010; Lago et al., 2012), haben größere Herden ein höheres Risiko für eine MVV-Infektion. Tiere über 3 Jahre zeigten ebenfalls ein höheres Risiko für eine MVV-Infektion. Das liegt daran, dass mit zunehmendem Alter die Wahrscheinlichkeit einer Virusexposition, einer Infektion mit dem Virus und der Bildung von Antikörpern gegen das Virus steigt. Außerdem dauert die Inkubationszeit mehrere Monate bis Jahre (Christodoulopoulos, 2006; Narayan & Clements, 1989).

Da die Prävalenz von MVV in der Rasse RPL also insgesamt recht niedrig ist, ist es sehr wahrscheinlich, dass das MVV über den Kontakt mit Schafen anderer, möglicherweise häufiger von MV betroffenen Rassen bzw. mit CAE-positiven Ziegen in die Rasse RPL eingetragen wird. Diese Vermutung konnte im Rahmen dieser Studie allerdings nicht eindeutig bestätigt werden, da die Präsenz von Schafen anderer Rassen bzw. Ziegen keinen statistisch signifikanten Risikofaktor für eine Infektion darstellte. Es wurde zwar in einer positiven RPL-Herde auch Schafe anderer Rassen auf das Virus getestet, allerdings waren diese serologisch MVV-negativ. Bei den anderen „gemischten“ Herden ist leider nichts über den MV-Status der anderen Schafrassen bzw. Ziegen bekannt. Aufgrund der verschiedenen zirkulierenden Virusgenotypen kann jedoch geschlossen werden, dass das Virus über verschiedene Quellen in diese Rasse eingetragen wurde. In einer Herde wiesen ein Mutterschaf und dessen Nachkomme verschiedene Virusgenotypen auf (A und B), was für verschiedene Einschleppungswege in die betroffene Herde spricht. Während Genotyp A (MVV-Stämme) bereits in Deutschland nachgewiesen wurde (Molae et al., 2020), beschreibt diese Studie zum ersten Mal die Präsenz von Genotyp B in der deutschen Schafpopulation. Der Genotyp B umfasst hauptsächlich die Caprinen Arthritis und Encephalitis (CAE)-Virusstämme, welche erstmals bei Ziegen beschrieben wurden, aber auch Schafe befallen können (Pisoni et al., 2005). Der Genotyp E wurde allerdings bisher nur bei einer italienischen Ziegenrasse nachgewiesen (Grego et al., 2009). Daher ist die nachgewiesene Co-Infektion mit den Genotypen E und A bei einem RPL-Schaf überraschend. Generell ist es wichtig, bei der Interpretation dieser Ergebnisse die Sensitivität des Eradikit-ELISA zu berücksichtigen. In der Studie von Jimenez et al. (Acevedo Jimenez et al., 2021) stimmten nur 25,7% der Serotypisierungsergebnisse des Eradikit-ELISA mit den Ergebnissen der PCR-Sequenzierung überein, wobei fast alle unbestimmten Ergebnisse einen spezifischen Genotyp in der PCR-Analyse zeigten. Eine weitere Studie (Colitti et al., 2024) bestätigte diese Ergebnisse und wies eine Übereinstimmung von unter 40% nach. Andererseits wurde in einer anderen Studie

(Nogarol et al., 2019) eine Übereinstimmung von über 97% zwischen Serotypisierung und Genotypisierung festgestellt. Aufgrund dieser Widersprüche sollten die Ergebnisse des Eradikit-ELISAs mit Vorsicht betrachtet werden und in weiteren Untersuchungen überprüft werden.

5.2 TMEM154 E35K-Frequenzen und Zusammenhang mit MV-Empfänglichkeit beim RPL

Der Zusammenhang zwischen dem TMEM154 E35K Genotyp und der MVV-Empfänglichkeit war bei der Rasse RPL nur tendenziell signifikant. Die fehlende Signifikanz könnte durch die niedrige Anzahl MVV-positiver Schafe erklärt werden. Es gibt aber auch andere Schafrassen, bei denen dieser Zusammenhang nicht statistisch nachweisbar war, wie z.B. bei dem Merinolandschaf (Molae et al., 2018).

In dieser Studie trugen insgesamt 4 serologisch MV-positiv RPL den Genotyp KK. Dieser Genotyp vermittelt also bei der Rasse RPL keine absolute MV-Resistenz, was jedoch auch bei Schafrassen mit einem statistisch hoch- bis höchst-signifikanten Effekt des Genotyps KK auf den MV-Status zu beobachten ist (z.B. Molae et al., 2019).

Interessanterweise wurden bei den RPL 12 MVV-negative Nachkommen von MVV-positiven Mutterschafen festgestellt. Zehn dieser Nachkommen wurden nach 2020 geboren und könnten aufgrund der langen Inkubationszeit noch positiv werden. Die verbleibenden zwei Nachkommen, beide über 3 Jahre alt (vor 2020 geboren), hatten den TMEM154-Genotyp KK, was wiederum auf eine schützende Wirkung schließen lässt. Es ist also nicht auszuschließen, dass sich eine Selektion auf den Genotyp KK in MVV-positiven Herden günstig auf den Infektionsdruck auswirken kann. Daher sollten Böcke mit diesem Genotyp in seropositiven Herden im Rahmen der Sanierung gemeinsam mit anderen oben genannten Maßnahmen eingesetzt werden.

Bei den meisten bisher untersuchten Schafrassen ist der Zusammenhang zwischen der MVV-Empfänglichkeit und dem TMEM154-Genotyp signifikant (Heaton et al., 2013). In einer deutschen Studie wiesen die hoch MVV-anfälligen Schafrassen Texel, Ostfriesisches Milchschaaf und Kamerun niedrige Häufigkeiten des schützenden Genotyps KK auf (0-10 %), während die nicht als MVV-empfindlichen geltenden Merinoland- und Deutschen Heidschnucken 75 % bzw. fast 100 % des KK-Genotyps aufwiesen (Lühken & Simon, 2022). Das RPL liegt mit seiner Frequenz von 28% im mittleren Bereich und sogar über der Rasse Suffolk (20%), welche auch als eher unempfindlich gegenüber dem MVV gilt.

5.3 Genetische Diversität beim RPL

Durch die Visualisierung der genetischen Struktur anhand der PCA-Plots konnte gezeigt werden, dass die Anwendung des 'Linienrotationsverfahrens' bei der Rasse RPL erfolgreich war (*Interessengemeinschaft Rauhwollige Pommersche Landschaft e.V.*). Die einzelnen Bocklinien sind gut durchmischt und es sind keine Subgruppen vorhanden. Sogar die Linie S, welche einen anderen geographischen Ursprung als die anderen Linien hat, grenzt sich genetisch nicht sonderlich ab.

Der Unterschied zwischen der effektiven Populationsgröße (N_e) basierend auf Bestandsdaten und SNP-Daten war groß. Während die Rasse RPL nach Bestandsdaten als Beobachtungspopulation eingeordnet wird, muss sie anhand der genomischen Daten als Erhaltungspopulation, also in eine höhere Gefährdungskategorie, eingeordnet werden (*Zentrale Dokumentation Tiergenetischer Ressourcen in Deutschland (TGRDEU)*). Da man bei der Berechnung anhand der Bestandsdaten von einer idealen Population ausgeht und einige vereinfachte Annahmen, wie z.B. einer zufälligen Verpaarung und einer gleichen Anzahl von Nachkommen pro Elternteil, verwendet, sind die

genomischen Daten natürlich genauer. Im Vergleich zu anderen gefährdeten Schafrassen aus Belgien oder dem Kosovo ist der genomische Ne-Wert beim RPL deutlich höher und in einem guten Bereich (Adeniyi et al., 2022; Meyermans et al., 2020).

Die Heterozygotiewerte (H_o und H_e) sind für eine Nutztier rasse im üblichen, unbedenklichen Bereich. Die Fis-Werte liegen um Null herum, es besteht also keine Tendenz zur Inzucht. Andere deutsche Schafrassen wie Texel und Schwarzkopf, welche als nicht gefährdet eingestuft sind, wiesen Fis-Werte im knapp negativen Bereich auf (Sveistiene & Tapio, 2021). Somit sind auch diese Werte beim RPL zufriedenstellend.

Da die Frequenz der kurzen ROH im Vergleich zu längeren ROH in allen Linien deutlich am höchsten ist, spricht auch dies für eine hohe genetische Vielfalt in der Rasse RPL. Der mittlere genomische Inzuchtkoeffizient (FROH) von 6,17% liegt deutlich unter dem Wert von 10%, der im Nutztierbereich als obere Grenze empfohlen wird. Einzelne Schafe hatten deutlich höhere genomische Inzuchtkoeffizienten zwischen 10% bis über 25%. Bei diesen Tieren ist zu empfehlen, dass sie mit Schafen angepaart werden sollten, die einen unterdurchschnittlichen Inzuchtkoeffizienten aufweisen.

Um hohe Inzuchtwerte in der Zucht zu vermeiden, nutzen manche RPL-Züchterinnen und Züchter die Anpaarungsplanung bei serv.it OVICAP. Hier können Anpaarungen simuliert werden und die erwarteten Inzuchtgrade der Nachkommen anhand der Pedigree-Informationen ausgegeben werden. Vorhandene Abstammungsinformationen können aber auch falsch sein. Gerade bei Schafen, die häufig in der Herde und nachts ablammen, kommt es immer wieder zu fehlerhaften Zuordnungen von Lämmern zu ihren Müttern. Außerdem ist die Genauigkeit von Pedigree-Informationen auch aufgrund bestimmter vereinfachter Annahmen im Vergleich zu molekulargenetischen Daten ungenauer. Beispielsweise wird von sogenannten Gründertieren (Founder, letzte Ahnen im Pedigree, von denen selbst keine Ahnen mehr bekannt sind) angenommen, dass sie unverwandt und nicht ingezüchtet sind. Dabei kann man davon ausgehen, dass in der Vergangenheit Rassen in kleinen Populationsgrößen gehalten wurden oder durch sogenannte „genetische Flaschenhälse“ gegangen sind, so dass solche vereinfachten Annahmen bezüglich der Founder zu falschen Managemententscheidungen führen können (Fernandez & Bennewitz, 2017). Auch eine Differenzierung der Inzucht zwischen Vollgeschwistern anhand von Pedigree-Informationen ist nicht möglich, durchaus aber mithilfe von genomischen Informationen.

Bei einem direkten Vergleich der genomischen (FROH) und Pedigree-basierten (FPED) Inzuchtkoeffizienten von 27 Schafen ergab sich in dieser Studie nur eine Übereinstimmung von 42%. Die FPED-Werte waren durchweg niedriger als die berechneten FROH-Werte. Niedrige Korrelationen zwischen FPED und FROH wurden auch bei einigen untersuchten Schweizer Ziegenrassen festgestellt (Burren et al., 2016). Somit wurde gezeigt, dass die in serv.it OVICAP zu berechnenden FPED-Werte (aus nicht dem Programm anzulastenden Gründen) nicht verlässlich sind. Daher sollten in Zukunft für Zuchttiere routinemäßig genomische Daten erzeugt und zur Berechnung herangezogen werden, um die Inzucht innerhalb der Rasse RPL und auch in anderen, möglicherweise sogar bezüglich ihrer Diversität gefährdeter Rassen, effizienter reduzieren zu können.

5.4 Möglichkeit der MVV-Resistenzucht beim RPL

Die anhand der molekulargenetischen Daten berechneten Diversitätsparameter deuten darauf hin, dass die Diversität der Rasse RPL nicht gefährdet ist. Durch die recht hohe K-Allel-Frequenz (53%), welche in allen Linien gleichmäßig verteilt ist, wäre eine MVV-Resistenzucht ohne Ausschluss gewisser Linien durchaus möglich. Die TMEM154-Genotypen KK und EK zeigten eine gleichmäßige Verteilung im PCA-Plot und eine vergleichbare effektive Populationsgröße wie die gesamte Rasse RPL. Auch der genomische Inzuchtkoeffizient (FROH) war mit 6,3% sehr nah am Mittelwert der Rasse. Somit würde sich die genetische Vielfalt der RPL durch züchterischen Selektion auf den TMEM154-Genotyp KK kaum verändern, so lange die Selektion behutsam und unter Berücksichtigung auch anderer Zuchtziele vorgenommen wird.

Allerdings kann trotz diesen günstigen Bedingungen eine Selektion der gesamten Rasse auf den Genotyp KK aktuell noch nicht empfohlen werden, da ein Effekt auf die MVV-Empfänglichkeit beim RPL noch nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte. Hierzu besteht weiterer Forschungsbedarf. Trotzdem sollten in MVV-seropositiven Betrieben möglichst nur Böcke mit den Genotypen KK und EK eingesetzt werden, um damit möglicherweise den Infektionsdruck innerhalb der Herde zu senken. Dies könnte in Zukunft MVV-Sanierungsbemühungen ergänzen und erleichtern.

6. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die in diesem Projekt erzielten Ergebnisse sind sowohl für Tierärztinnen und Tierärzte als auch für RPL-Schafhalterinnen und Schafhalter, aber auch Züchterinnen und Züchtern von anderen, vor allem MVV-hochempfindlichen Schafrassen nutzbar.

Dieses Projekt stellt die zweite deutschlandweite MVV-Prävalenzstudie dar. Die Erkenntnis, dass nur vereinzelt MVV-positive Tiere auch Symptomatik zeigten, hat eine hohe Praxisrelevanz. Dies macht nämlich die Notwendigkeit des regelmäßigen MVV-Monitorings der gesamten Herde deutlich, da die Infektion einer Herde gerade bei niedrigen Seroprävalenzen nicht unbedingt durch eine klinische Symptomatik erkennbar ist. Auch die Erkenntnis, dass der Zukauf von weiblichen Tieren der Hauptrisikofaktor für die Einschleppung des Virus in eine negative Herde ist, ist praxisrelevant. Durch die Testung der Tiere vor dem Zukauf kann dies verhindert werden und sollte in Zukunft auch durchgeführt werden, um eine weitere Verbreitung des MVV zu verhindern. Als Konsequenz aus der niedrigen MVV-Seroprävalenz ist den RPL-Züchtern zu empfehlen, Ausstellungen und Auktionen nur noch mit negativ getesteten Tieren oder sogar nur mit Tieren aus anerkannt MVV-unverdächtigen Herden durchzuführen. Dies würde den Druck zu Handeln auf noch positive Zuchtherden erhöhen und die mögliche Sanierung der gesamten Rasse beschleunigen.

Für hoch MVV empfindliche Rassen, wie z.B. Texel, könnte das vorliegende Ergebnis noch bedeutender sein. Je nach Bundesland wird in der Texelzucht zum Beispiel bereits (zumindest in geringem Umfang) gegen MVV selektiert, wie in Nordrhein-Westfalen, oder es finden keinerlei Untersuchungen statt, wie z.B. in Schleswig-Holstein mit der größten deutschen Texelzuchtpopulation. Die Zucht auf Resistenz mit Hilfe des TMEM154 Gens böte die Möglichkeit, das Risiko der Virusausbreitung innerhalb der MVV-positiven Herden zu senken, ohne tierseuchenrechtliche Konsequenzen befürchten zu müssen.

Auch wenn der Zusammenhang zwischen dem TMEM154-Genotyp und der MVV-Empfänglichkeit bei den RPL nur tendenziell signifikant war, könnte die Berücksichtigung des TMEM154-Genotyps für große, MVV-positive Herden eine Hilfe in der MVV-Sanierung darstellen. Wenn für betroffene Herden KK-Böcke zur Verfügung stehen, sollten diese auch eingesetzt werden, um den Infektionsdruck in der Nachkommenschaft der Böcke zu senken. Darüber hinaus ergeben sich durch die fehlende Signifikanz Anschlussmöglichkeiten für weitere wissenschaftliche Untersuchungen mit einer höheren Anzahl MVV-positiver RPL-Schafe. Auch die zirkulierenden MVV-Virusstämme bei den RPL sollten in weiteren Untersuchungen mit Hilfe der Sequenzierungen der Virusgenome nochmals analysiert werden. Dies ist bereits in Zusammenarbeit mit einer italienischen Arbeitsgruppe angelaufen.

Die berechneten Diversitätsparameter und der Nachweis, dass die genetische Diversität der Rasse RPL derzeit nicht gefährdet ist, ist vor allem für die RPL-Züchterinnen und Züchter selbst relevant. Dies deutet auf eine gute Arbeit der Erhaltungszucht in den vergangenen Jahren hin. Trotzdem sollte auch in Zukunft Inzucht in dieser Rasse vermieden werden. Der Fakt, dass die genomischen Inzuchtwerte zuverlässiger sind als die Pedigree-basierten, ist hierbei besonders zu beachten. Anders als z.B. in der Rinderzucht oder auch in der Zucht der kleinen Wiederkäuer in anderen Ländern können derzeit keine SNP-Daten oder andere genomische Daten in serv.it OVICAP eingepflegt und genutzt werden. Es sollte daher in Betracht gezogen werden, diese Möglichkeit zu etablieren. Die in diesem Projekt generierten Daten sowie die weiterer Zuchttier-Generationen könnten dann genutzt werden, um in serv.it OVICAP genauere Inzuchtwerte berechnen sowie Anpaarungsplanungen durchführen zu können. Dies wäre nicht nur für RPL-Züchterinnen und Züchter interessant, sondern für alle Ziegen- und Schafzüchterinnen und -züchter in Deutschland. Die in diesem Projekt generierten TMEM154 E35K-Genotypen werden dagegen zeitnah in serv.it OVICAP eingelezen und stehen damit allen RPL-Herdbuchzüchterinnen und Züchtern zur Verfügung.

7. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Das Ziel dieses Projektes war es, zu untersuchen ob es bei der Schafrasse RPL sinnvoll und möglich ist, gezielt auf Resistenz gegen eine MVV-Infektion zu züchten. Dieses Ziel wurde durch die kostenneutrale Projektverlängerung von 2 Monaten vollumfänglich erreicht. Da sich zum einen die MVV-Prävalenz bei der Rasse als sehr niedrig herausgestellt hat und zum anderen der Zusammenhang zwischen dem TMEM154-Genotyp KK und dem serologischen MVV-Status nur tendenziell signifikant war, wird aktuell noch von einer allgemeinen MVV-Resistenzzucht der gesamten Rasse abgeraten und daher auch kein Zuchtplan, wie ursprünglich geplant, erstellt. Die berechneten Diversitätsparameter deuten aber darauf hin, dass solch eine Zucht ohne großen Verlust der genetischen Vielfalt durchaus möglich wäre. Lediglich für MVV seropositive Herden wird eine MVV-Resistenzzucht empfohlen.

Insgesamt haben 35 RPL-Betriebe aus 9 Bundesländern an der freiwilligen MVV-Untersuchung teilgenommen. Somit wurden deutlich mehr RPL-Schafe aus allen 8 Bocklinien auf das Virus untersucht als ursprünglich geplant (200 waren geplant, 849 wurden untersucht). Da die Prävalenz jedoch so niedrig war, waren für die Assoziationsanalyse des TMEM154-Gens und der MVV-Empfänglichkeit statt 50 benötigten MVV-positiven Schafen nur 30 positive Tiere vorhanden. Diese geringe Anzahl MVV-positiver Tiere könnte die fehlende statistische Signifikanz des deskriptiv durchaus festgestellten Unterschieds der Genotypfrequenzen zwischen MVV-positiven und –negativen Schafen erklären. Daher sollte dieser Zusammenhang in weiteren Untersuchungen mit einer höheren Anzahl MVV-positiver RPL-Schafe überprüft werden.

8. Zusammenfassung der Ergebnisse

Die niedrige ermittelte MVV-Seroprävalenz bei den RPL bietet eine gute Ausgangslage, um das Virus vollständig aus dieser Rasse zu eliminieren. Dafür sind regelmäßige serologische Untersuchungen der gesamten Herde (alle Tiere über ein Jahr) notwendig und vor allem die Testung zugekaufter Tiere, bevor diese in die Herde integriert werden. Auch Auktionen sollten ausschließlich mit negativ getesteten Tieren stattfinden, um eine Verbreitung des Virus in dieser Rasse zu verhindern.

Die Sanierung MVV-positiver Herden basiert derzeit auf der Merzung MVV-positiver Schafe und/oder mutterloser Aufzucht. Eine Selektion auf den als protektiv geltenden TMEM154-Genotyp KK in MVV-positiven Herden könnte in Zukunft eine weitere Sanierungsoption darstellen, da KK-Tiere tendenziell signifikant seltener mit dem Virus infiziert waren. Zumindest in MVV-positiven Herden sollten Böcke mit diesem Genotyp eingesetzt werden. Es ist durchaus wahrscheinlich, dass der Zusammenhang zwischen dem TMEM154 E35K-Genotyp und der MVV-Empfänglichkeit mit einer größeren Anzahl an MVV-positiven RPL-Schafen ein signifikantes Ergebnis zeigt. Hierfür sind jedoch weitere Untersuchungen notwendig.

Die anhand der molekulargenetischen Daten berechneten Diversitätsparameter deuten darauf hin, dass die Diversität der Rasse RPL nicht gefährdet ist und in der Erhaltungszucht in den vergangenen Jahren gute Arbeit geleistet wurde. Trotzdem sollten weiterhin Maßnahmen ergriffen werden, um die genetische Diversität stabil zu halten und weiter zu erhöhen. Hierfür ist vor allem die Berechnung der Inzuchtwerte der Nachkommen im Sinne einer Anpaarungsplanung sinnvoll. Allerdings wies diese Studie nach, dass auf den Pedigree-basierten Inzuchtwert (FPED) aus serv.it OVICAP aus nicht dem Programm anzulastenden Gründen nur bedingt Verlass ist. Daher sollte hierfür in Zukunft auf genomische Inzuchtkoeffizienten (FROH) zurückgegriffen werden, da diese genauer sind. Dies würde jedoch die Einrichtung einer entsprechenden Infrastruktur in der deutschen Schaf (und Ziegen) -Zucht benötigen.

9. Literaturverzeichnis

- Acevedo Jimenez, G. E., Tortora Perez, J. L., Rodriguez Murillo, C., Arellano Reynoso, B., & Ramirez Alvarez, H. (2021). Serotyping versus genotyping in infected sheep and goats with small ruminant lentiviruses. *Vet Microbiol*, 252, 108931. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108931>
- Adeniyi, O. O., Simon, R., Bytyqi, H., Kugler, W., Mehmeti, H., Berisha, K., Simcic, M., Magdy, M., & Luhken, G. (2022). Capturing Genetic Diversity and Selection Signatures of the Endangered Kosovar Balusha Sheep Breed. *Genes (Basel)*, 13. <https://doi.org/10.3390/genes13050866>
- Burren, A., Neuditschko, M., Signer-Hasler, H., Frischknecht, M., Reber, I., Menzi, F., Drögemüller, C., & Flury, C. (2016). Genetic diversity analyses reveal first insights into breed-specific selection signatures within Swiss goat breeds. *Animal Genetics*, 47, 727-739. <https://doi.org/10.1111/age.12476>
- Christodoulouopoulos, G. (2006). Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. *Small Ruminant Research*, 62, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.046>
- Colitti, B., Daif, S., Choukri, I., Scalas, D., Jerre, A., El Berbri, I., Fassi Fihri, O., & Rosati, S. (2024). Serological and Molecular Characterization of Small Ruminant Lentiviruses in Morocco. *Animals (Basel)*, 14. <https://doi.org/10.3390/ani14040550>
- Da Costa, L. S. P. d. L., P.P.; Callado, A.K.C.; do Nascimento, S.A.; de Castro, R.S. (2022). Lentivírus de pequenos ruminantes em ovinos Santa Inês: isolamento, identificação pela PCR e inquérito sorológico no estado de Pernambuco. *Arq. Inst. Biol.*, 74, 11-16.
- DGfZ, F. T. R. d. D. G. f. Z. (2020). *Empfehlung zum Umgang mit Einzelgeneffekten in kleinen Populationen*
- Fernandez, J., & Bennewitz, J. (2017). Defining genetic diversity based on genomic tools. In *Genomic management of animal genetic diversity* (pp. 49-76). Wageningen Academic.
- Gesellschaft zur Erhaltung alter und gefährdeter Haustierrassen e.V. (GEH). Retrieved 23.07.2024 from <https://www.g-e-h.de/rote-liste-menu/rote-liste>
- Grego, E., Lacerenza, D., Arias, R. R., Profiti, M., & Rosati, S. (2009). Serological characterization of the new genotype E of small ruminant lentivirus in roccaverano goat flocks. *Veterinary Research Communications*, 33, S137-S140. <https://doi.org/10.1007/s11259-009-9266-8>
- Heaton, M. P., Clawson, M. L., Chitko-Mckown, C. G., Leymaster, K. A., Smith, T. P., Harhay, G. P., White, S. N., Herrmann-Hoesing, L. M., Mousel, M. R., Lewis, G. S., Kalbfleisch, T. S., Keen, J. E., & Laegreid, W. W. (2012). Reduced lentivirus susceptibility in sheep with TMEM154 mutations. *PLoS Genet*, 8, e1002467. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002467>
- Heaton, M. P., Kalbfleisch, T. S., Petrik, D. T., Simpson, B., Kijas, J. W., Clawson, M. L., Chitko-Mckown, C. G., Harhay, G. P., Leymaster, K. A., & Consortium, I. S. G. (2013). Genetic Testing for Mutations Associated with Lentivirus Susceptibility in Sheep. *Plos One*, 8. <https://doi.org/ARTN e55490>
10.1371/journal.pone.0055490
- Hüttner, K., Seelmann, M., & Feldhusen, F. (2010). Prevalence and risk factors for Maedi-Visna in sheep farms in Mecklenburg-Western-Pomerania. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 123, 463-467. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21141275>
- Interessengemeinschaft Rauhwollige Pommersche Landschaft e.V. <https://www.ig-pommernschafe.de/historisches/historie-1982-2002.html>
- Lago, N., Lopez, C., Panadero, R., Cienfuegos, S., Pato, J., Prieto, A., Diaz, P., Mourazos, N., & Fernandez, G. (2012). Seroprevalence and risk factors associated with Visna/Maedi virus in semi-intensive lamb-producing flocks in northwestern Spain. *Prev Vet Med*, 103, 163-169. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.09.019>
- Lühken, G., & Simon, R. (2022). Maedi-Visna-Empfänglichkeit beim Schaf. *Schafzucht*, 20-21.

- McQuillan, R., Leutenegger, A. L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C. S., Pericic, M., Barac-Lauc, L., Smolej-Narancic, N., Janicijevic, B., Polasek, O., Tenesa, A., Macleod, A. K., Farrington, S. M., Rudan, P., Hayward, C., Vitart, V., Rudan, I., Wild, S. H., Dunlop, M. G., Wright, A. F., . . . Wilson, J. F. (2008). Runs of homozygosity in European populations. *Am J Hum Genet*, *83*, 359-372. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.08.007>
- Meyermans, R., Gorssen, W., Wijnrocx, K., Lenstra, J. A., Vellema, P., Buys, N., & Janssens, S. (2020). Unraveling the genetic diversity of Belgian Milk Sheep using medium-density SNP genotypes. *Anim Genet*, *51*, 258-265. <https://doi.org/10.1111/age.12891>
- Minguijon, E., Reina, R., Perez, M., Polledo, L., Villoria, M., Ramirez, H., Leginagoikoa, I., Badiola, J. J., Garcia-Marin, J. F., de Andres, D., Lujan, L., Amorena, B., & Juste, R. A. (2015). Small ruminant lentivirus infections and diseases. *Vet Microbiol*, *181*, 75-89. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.08.007>
- Molae, V., Bazzucchi, M., De Mia, G. M., Otarod, V., Abdollahi, D., Rosati, S., & Lühken, G. (2020). Phylogenetic analysis of small ruminant lentiviruses in Germany and Iran suggests their expansion with domestic sheep. *Scientific Reports*, *10*. <https://doi.org/ARTN 2243>
10.1038/s41598-020-58990-9
- Molae, V., Eltanany, M., & Lühken, G. (2018). First survey on association of TMEM154 and CCR5 variants with serological maedi-visna status of sheep in German flocks. *Vet Res*, *49*, 36. <https://doi.org/10.1186/s13567-018-0533-y>
- Molae, V., Otarod, V., Abdollahi, D., & Lühken, G. (2019). Lentivirus Susceptibility in Iranian and German Sheep Assessed by Determination of TMEM154 E35K. *Animals (Basel)*, *9*. <https://doi.org/10.3390/ani9090685>
- Narayan, O., & Clements, J. E. (1989). Biology and pathogenesis of lentiviruses. *J Gen Virol*, *70* 1617-1639. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-7-1617>
- Nei, M., & Chesser, R. K. (1983). Estimation of Fixation Indexes and Gene Diversities. *Annals of Human Genetics*, *47*, 253-259. <https://doi.org/DOI 10.1111/j.1469-1809.1983.tb00993.x>
- Nogarol, C., Bertolotti, L., Klevar, S., Profiti, M., Gjerset, B., & Rosati, S. (2019). Serological characterization of small ruminant lentiviruses: A complete tool for serotyping lentivirus infection in goat. *Small Ruminant Research*, *176*, 42-46. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.05.010>
- Pisoni, G., Quasso, A., & Moroni, P. (2005). Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: Evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*, *339*, 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.06.013>
- Reina, R., Berriatua, E., Lujan, L., Juste, R., Sanchez, A., de Andres, D., & Amorena, B. (2009). Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: an update. *Vet J*, *182*, 31-37. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.05.008>
- Reina, R., de Andres, D., & Amorena, B. (2013). Immunization against small ruminant lentiviruses. *Viruses*, *5*, 1948-1963. <https://doi.org/10.3390/v5081948>
- Sveistiene, R., & Tapio, M. (2021). SNPs in Sheep: Characterization of Lithuanian Sheep Populations. *Animals*, *11*. <https://doi.org/ARTN 2651>
10.3390/ani11092651
- Villagra-Blanco, R., Dolz, G., Solórzano-Morales, A., Alfaro, A., Montero-Caballero, D., & Romero-Zúñiga, J. J. (2015). Presence of Maedi-Visna in Costa Rican sheep flocks. *Small Ruminant Research*, *124*, 132-136. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.01.010>
- Zentrale Dokumentation Tiergenetischer Ressourcen in Deutschland (TGRDEU). Retrieved 23.07.2024 from https://tgrdeu.genres.de/en/livestock-animals/search-for-animal-species/genetic-resource-details?tx_sttgrdeu_nutztier%5Baction%5D=genetikDetail&tx_sttgrdeu_nutztier%5Bcontroller%5D=Nutztier&tx_sttgrdeu_nutztier%5Bg_id%5D=530&cHash=11308349533043f66ae a37d4dc466c18

10. Veröffentlichungen zum Projekt

Wissenschaftliche Fachzeitschriften

1. Frölich, C., Lühken, G., Ganter, M.: *Maedi-visna in Pomeranian Coarsewool sheep in Germany: Seroprevalence, environmental and genetic risk factors.* Im Juli 2024 bei dem Journal „Veterinary Research“ eingereicht, derzeit ‘Under Review`.
2. Frölich, C., Adeniyi, O. O., Ganter, M., Lühken, G.: *Genetic Diversity of the endangered German Pomeranian Coarsewool sheep and the possibility of breeding for maedi-visna resistance.*
Das Manuskript ist derzeit noch in Bearbeitung. Einreichung im August 2024 bei dem Journal „Archives Animal Breeding“ geplant.

Vorträge

1. *Mitgliederversammlung der Interessengemeinschaft-RPL am 11. Mai 2024 in 29640 Schneverdingen:* Vortrag der bisherigen Ergebnisse des Projekts „PoMaedi“ vor RPL-Züchter*innen
2. *Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) Tagung für kleine Wiederkäuer und Neuweltkameliden am 12. September 2024 in 30173 Hannover:* Vortrag „Maedi-Visna bei Rauwolligen Pommerschen Landschafen – Prävalenz und Resistenzgen-Untersuchungen“ vor Tierärzt*innen

Dissertation

1. Frölich, C.: *"Pomaedi" - Evalierung der Möglichkeit zur Zucht auf Resistenz gegenüber Maedi-Visna-Virus bei den rauwolligen Pommerschen Landschafen.*
Die Dissertation ist derzeit noch in Bearbeitung. Einreichung ist im September/Okttober 2024 bei der Tierärztlichen Hochschule Hannover vorgesehen.