

Schlussbericht

zu IGF-Vorhaben Nr. 19368 BR

Thema

Bestimmung rassespezifischer genetischer Marker in kommerziellen Rohhäuten und deren Korrelation zu den physikalischen Eigenschaften von Leder

Berichtszeitraum

01.03.2017 - 31.12.2019

Forschungsvereinigung

Forschungsgemeinschaft Leder e. V.

Forschungseinrichtung(en)

FE 1: Forschungsinstitut für Leder und Kunststoffbahnen gGmbH

Freiberg, 29.06.2020

Ort, Datum

Dr. Sandra Stenzel



Name und Unterschrift aller Projektleiterinnen und Projektleiter der
Forschungseinrichtung(en)



Forschungsnetzwerk
Mittelstand

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht

zu IGF-Vorhaben Nr. 19368 BR

Thema

Bestimmung rassespezifischer genetischer Marker in kommerziellen Rohhäuten und deren Korrelation zu den physikalischen Eigenschaften von Leder

Berichtszeitraum

01.03.2017 - 31.12.2019

Forschungsvereinigung

Forschungsgemeinschaft Leder e. V.

Forschungseinrichtung(en)

FE 2: Hochschule Mittweida, Bioinformatik Gruppe Mittweida (bigM)

Mittweida, 29.06.2020

Ort, Datum

Prof. Dr. Dirk Labudde



Name und Unterschrift aller Projektleiterinnen und Projektleiter der
Forschungseinrichtung(en)

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Dank

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Das IGF-Vorhaben 19368 BR der Forschungsvereinigung „Forschungsgemeinschaft Leder e.V.“, Mainzer Landstr. 55, 60329 Frankfurt/Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung und –entwicklung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

Der ausführliche Abschlussbericht liegt im Forschungsinstitut für Leder und Kunststoffbahnen, Meißner Ring 1 – 5, 09599 Freiberg vor.

Inhaltsverzeichnis

1	Zielstellung des Vorhabens	2
2	Darstellung der erzielten Ergebnisse.....	2
2.1	Auswahl und Beschaffung geeigneter Rohhäute (Bearbeitung: FILK)	2
2.2	Untersuchungsparameter für alle Crusts (Bearbeitung: FILK)	3
2.3	Ergebnisse der chemischen Messungen (Bearbeitung: FILK).....	5
2.4	Rassendiskriminierung für unbekannte Proben (Bearbeitung: FILK)	5
2.5	Korrelation der Rasse mit den physikalischen Eigenschaften (Bearbeitung: Hochschule Mittweida, FILK)	10
2.6	Korrelation der Marker mit den Eigenschaften (Bearbeitung: Hochschule Mittweida, FILK).....	19
2.7	Zusammenfassung.....	21
3	Erzielte Ergebnisse im Vergleich zu den angestrebten Projektzielen	22
4	Bezugnahme auf die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit	22
5	Darstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen Nutzens.....	22
6	Verwendung der Zuwendung.....	24
7	Aktualisierter Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft	24
8	Literaturverzeichnis.....	26

1 Zielstellung des Vorhabens

Ausgangspunkt des abgeschlossenen Forschungsprojektes war die Annahme, dass die Lederqualität, neben anderen Faktoren wie der Gerbart, entscheidend von der Rinderrasse der Rohhaut abhängt, was Befragungen verschiedener Gerber mit langjähriger Berufserfahrung und einige Veröffentlichungen zu diesem Thema (Hausam, 1952; Herfeld, 1990) zeigten. Besonders deutlich sollte dieser Unterschied zwischen süddeutschen (Doppelnutzung) und norddeutschen (Hochleistung) Rassen ausgeprägt sein. Falls die Rinderrasse die Eigenschaften des Leders also entscheidend beeinflusst, müssen die Ledereigenschaften auch mit rassespezifischen genetischen Markern korrelieren.

Wichtigstes Ziel des Projektes war daher die Erbringung eines wissenschaftlichen Nachweises zur Korrelation der Lederqualität mit rassespezifischen genetischen Markern der Rohhaut. Dazu wurden Rohhäute gleichen Alters und Geschlechts denselben Vorbehandlungen und derselben Gerbung unterzogen, um sicherzustellen, dass signifikant abweichende Ledereigenschaften nur auf die Rasse zurückzuführen sind. Die gemessenen Ledereigenschaften wurden anschließend mit den gemessenen rassespezifischen Markern aus der Rohhaut korreliert. Es sollte gezeigt werden, dass bestimmte Markerkombinationen bestimmte Ledereigenschaften bedingen. Das abgeschlossene Forschungsvorhaben beinhaltet daher im Wesentlichen 2 Schwerpunkte:

1. Aufbau eines Datenpools von Lederqualitäten bestimmter Rindsleder, die sich in der Rasse der Rohhäute und der genetischen Marker unterscheiden.
2. Ausarbeitung einer wissenschaftlichen Studie zur Korrelation der Lederqualität mit rassespezifischen genetischen Markern (Mikrosatelliten).

Es existiert noch keine geeignete Methode, zukünftige Ledereigenschaften anhand der Rohhaut abzulesen. Daher sollte mittels eines molekularbiologischen Tests eine Messung genetischer Marker etabliert werden. Dazu sollte eine Methodik am FILK aufgebaut werden, die auf der Untersuchung von bis zu 30 rassespezifischen Mikrosatelliten in der Rohhaut beruhte. Durch geeignetes authentisches Referenzmaterial wäre es somit möglich, die gemessenen Parameter in bestimmte eigenschaftsspezifische Cluster einzuteilen und so eine Datenbank für wirtschaftlich relevante Zuchtlinien aufzubauen. Mithilfe dieser Datenbank sollten anschließend auch unbekannte Proben aufgrund ihrer Mikrosatelliten in die einzelnen betrachteten Cluster eingeordnet werden können.

Mithilfe des innerhalb des Forschungsvorhabens aufgebauten Datenpools sollten wissenschaftlich fundierte Aussagen getroffen werden, inwieweit die Lederqualität mit bestimmten Mikrosatelliten zusammenhängt. Dadurch sollte ein Informationspool entstehen, der vor allem wichtig für deutsche Gerbereien ist, die an den Preisdruck der größeren Häutehändler gebunden sind. Durch diese Studie wäre es für die Gerbereien möglich, auch alternative Rohware zur „süddeutschen Rohware“ für bestimmte Einsatzgebiete zu verwenden, wenn diese die gleichen Lederqualitäten wie die „süddeutsche Rohware“ zeigen.

2 Darstellung der erzielten Ergebnisse

2.1 Auswahl und Beschaffung geeigneter Rohhäute (Bearbeitung: FILK)

Die häufigsten Rinderrassen in Deutschland sind: Holstein-Schwarzbunt (59,5 %), Simmentaler (25,5 %), Holstein-Rotbunt (5,6 %), Braunvieh (5,4 %), Limousin (0,5 %), Charolais (0,4 %) und Angus (0,4 %) (Sambras, 2011). Aus diesen wurden 6 Rassen ausgewählt, die in der Region Sachsen auffindbar waren: Limousin, Charolais, Angus, Fleckvieh, Schwarzbunt und Braunvieh. Dabei sind die

Rassen Fleckvieh und Braunvieh den „süddeutschen Rassen“ zuzuordnen, die Schwarzbunten gehören zur „norddeutschen Rasse“, Limousin, Angus und Charolais sind den „sonstigen Rassen“ zugeordnet.

Von jeder Rasse wurden 10 Rohhäute beschafft, es wurden 5 Häute von männlichen und 5 Häute von weiblichen Tieren gesammelt. Das Alter der Individuen lag zwischen ein und drei Jahren. Zu jedem am FILK hergestellten Crust lag ein Rinderpass der Rohhaut vor.

Da im Laufe des Projektes absehbar wurde, dass 10 Häute jeder Rasse für statistische Auswertungen zu wenig sind, wurde bei 2 verschiedenen Gerbereien nach Crustmustern angefragt. Von beiden Gerbereien wurden je 100 A4-große Cruststücke zur Verfügung gestellt. Dabei zählen jeweils 100 Proben zur selben Hautcharge, die von der Gerberei beim Häutehändler eingekauft wurde. Es lagen keine Informationen zur Rasse, zum Alter, zur Herkunft und zum Geschlecht vor. Zu jeder Crustprobe gehörte eine kleinere Rohhautprobe, anhand derer die Mikrosatelliten bestimmt werden konnten. Die erste Gerberei bevorzugt beim Häuteeinkauf männliche süddeutsche Rohware, die zweite favorisiert männliche norddeutsche Rohware. Eine Übersicht über alle Datensätze zeigt Tabelle 1. Es standen demnach insgesamt 260 Rohhäute für alle Untersuchungen zur Verfügung.

Tabelle 1. Übersicht über die verfügbaren Datensätze

Name des Datensatzes	Rassen (Anzahl der Häute)	Gemessene Parameter
FILK-Datensatz*	Angus (10) Limousin (10) Charolais (10) Fleckvieh** (10) Schwarzbunt*** (10) Braunvieh** (10)	Rohhaut: 18 Mikrosatelliten Crust: Zugfestigkeit Höchstdehnung Stichausreißkraft Chemische Parameter
Gerberei-Datensatz 1	1 Charge vom Häutehändler mit 100 Häuten, bevorzugt männliche süddeutsche Rohware	Rohhaut: 18 Mikrosatelliten Geschlechtsbestimmung Crust: Zugfestigkeit Höchstdehnung Stichausreißkraft
Gerberei-Datensatz 2	1 Charge vom Häutehändler mit 100 Häuten, bevorzugt männliche norddeutsche Rohware	Rohhaut: 18 Mikrosatelliten Geschlechtsbestimmung Crust: Zugfestigkeit Höchstdehnung Stichausreißkraft

*... je Rasse: Häute von 5 männlichen und 5 weiblichen Tieren

**... Süddeutsche Rasse

***... Norddeutsche Rasse

2.2 Untersuchungsparameter für alle Crusts (Bearbeitung: FILK)

a. Genetischer Fingerabdruck

Begriffserläuterung

Genlokus. Die physische Position eines Gens auf einem Chromosom wird Genlokus oder nur Lokus genannt. Viele Organismen besitzen mehrere Chromosomen (z. B. Rind: 29 Chromosomen plus zwei

Geschlechtschromosomen). Meistens sind diese Chromosomen in Pärchen angeordnet, welche dieselben Gene tragen (homologe Chromosomen). Die Variante eines Gens an einem bestimmten Locus wird Allel genannt. Homologe Chromosomen, die am gleichen Genlocus das gleiche Allel aufweisen, werden als homozygot bezeichnet. Liegen verschiedene Allele am gleichen Genlocus vor, spricht man von heterozygoten Chromosomen.

Mikrosatelliten sind kurze, repetitive Sequenzen (*Short Tandem Repeats*, STRs) auf verschiedenen Chromosomen in einem Genom. Diese STRs sind aus kurzen Wiederholungseinheiten aufgebaut, in denen ein Grundmuster bestehend aus 1 bis 5 Nukleotiden 10 bis 50 fach wiederholt wird (Jouquand et al., 2000). Eine bestimmte Verteilung von Allelen in diesen Mikrosatelliten kann auf eine bestimmte Rasse hinweisen, d. h., je mehr gleiche Allele zwei Individuen aufweisen, desto wahrscheinlicher ist eine Verwandtschaft zwischen beiden Individuen.

Ein **genetischer Fingerabdruck** ist ein z. B. mit Mikrosatelliten erstelltes DNA-Profil, das wie bei einem normalen Fingerabdruck in hohem Maße charakteristisch für ein Individuum ist.

Methodik Mikrosatelliten. Nach umfangreicher Prüfung der vorhandenen Daten in öffentlichen Datenbanken und der bereits etablierten genetischen Marker für Rinder wurde entschieden, welche genetischen Marker zur Festlegung des Genotypes der Rinderhäute verwendet werden. Da laut Erfahrungsschatz aller befragten Gerber die Rasse einen entscheidenden Einfluss auf die Rohhautqualität hat und dies in der Literatur bestätigt ist (Hausam, 1952; Schroer, 1989), wurden rassespezifische Marker zur Eigenschaftskorrelation gewählt. Es wurden 18 Mikrosatelliten verwendet, die von der FAO (Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen) vorgeschlagen wurden. Der Begriff „Genetischer Fingerabdruck“ bezieht sich innerhalb dieses Berichtes auf die Gesamtheit der 18 Mikrosatelliten.

12 dieser Mikrosatelliten entsprechen den empfohlenen Mikrosatelliten für Verwandtschaftstests und Individuenidentifikation (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA126, INRA23, TGLA122, ETH3, ETH225, BM1824 und BM1818). Die restlichen 6 Mikrosatelliten werden bei genetischen Studien für Nutztiere verwendet (SPS113, RM067, CSRM60, MGTG4B, CSSM66 und ILST006). Alle 18 Mikrosatelliten sind Bestandteil des Kits „Bovine Genotypes Panel 3.1“ von Thermo Fisher. Laut der Arbeitsgruppe um van de Goor (Van de Goor et al., 2011) sind 16 dieser Mikrosatelliten ausreichend für einen Rassenachweis. Diese Arbeitsgruppe untersuchte erfolgreich ca. 4000 Rinder, die 20 verschiedenen europäischen Rassen angehörig waren.

b. Herstellung der Crusts

Es wurden am FILK insgesamt 61 Rohhäute von 6 unterschiedlichen Rinderrassen zu Crusts nach einer Standardgerbung für Möbelleder hergestellt. Alle Häute wurden entlang der Rückenlinie in zwei Teile geteilt. Beide Hälften wurden gleichbehandelt. Aufgeteilt in 6 Chargen, wurden alle Häute in einem haarzerstörenden Äscher in Kombination mit Kalk und Natriumsulfid behandelt. Anschließend wurde noch anhaftendes Fleisch mechanisch entfernt. Es folgte ein Pickel auf Basis von Ameisen- und Schwefelsäure und eine Chromgerbung. Alle Crusts wurden gefettet, gefärbt und getrocknet.

Die Proben für die physikalischen Messungen wurden aus demselben Bereich im hinteren Drittel der Rückenlinie entnommen (DIN-Entnahmestelle).

c. Chemische Untersuchungsparameter der Crusts

Zur Analyse der chemischen Zusammensetzung der am FILK hergestellten Crusts wurde deren Mineralstoffgehalt (Glührückstand), Fettgehalt (Extraktion mit Dichlormethan), Gesamtproteingehalt (Stickstoffgehalt) und Kollagengehalt (Hydroxyprolinegehalt) bestimmt.

d. Physikalische Untersuchungsparameter aller Crusts

Zur Charakterisierung der Crust-Qualität wurden folgende physikalische Parameter gemessen: Zugfestigkeit, Dicke, Höchstdehnung (nach DIN EN ISO 3376) und Stichausreißkraft (DIN EN ISO 23910, Einkantenriss). Alle Werte wurden an den getrockneten Crusts gemessen.

Statistische Auswertungen wurden mit dem Statistikprogramm R (RStudio, 2012) durchgeführt. Ein Anovatest zur Überprüfung der Signifikanz wurde mittels Tukey's Test (Steel and Torrie, 1960) mit einem Signifikanzniveau von 5 % durchgeführt.

2.3 Ergebnisse der chemischen Messungen (Bearbeitung: FILK)

Die 60 am FILK hergestellten Crusts wurden auf ihre chemische Zusammensetzung untersucht. Dabei wurden der Mineralstoffgehalt, der Fettgehalt, der Gesamtproteingehalt und der Kollagengehalt untersucht. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der chemischen Analysen.

Tabelle 2. Chemische Zusammensetzung der 60 am FILK hergestellten Crustproben

	Angus	Charolais	Limousin	Fleckvieh	Schwarzbunt	Braunvieh
Mineralstoffgehalt^a [% TS]	5,2 ± 0,2	5,8 ± 0,1	5,2 ± 0,1	4,2 ± 0,1	4,5 ± 0,1	3,6 ± 0,2
Fettgehalt^b [% TS]	9,9 ± 0,7	11,4 ± 0,7	14,0 ± 0,8	10,8 ± 0,9	10,2 ± 0,7	13,0 ± 0,8
Gesamtproteingehalt^c [% TS]	59,8 ± 1,5	61,3 ± 1,8	59,9 ± 1,6	63,6 ± 1,6	61,7 ± 1,6	57,6 ± 1,6
Kollagengehalt^d [% TS]	58,4 ± 2,4	56,1 ± 2,3	54,1 ± 1,8	57,3 ± 3,0	58,0 ± 2,6	50,8 ± 3,3

a Glührückstand, 10 Proben je Rasse in Doppelbestimmung

b Extraktion mit Dichlormethan, 10 Proben je Rasse in Doppelbestimmung

c Stickstoffgehalt, 10 Proben je Rasse in Doppelbestimmung

d Bestimmung des Hydroxyprolingehaltes, 10 Proben je Rasse in Doppelbestimmung

TS Trockensubstanz

Alle Rassen zeigen eine weitestgehend einheitliche Zusammensetzung der hergestellten Crusts, tendenziell zeigen Crusts der Rasse Braunvieh geringere Gesamtproteingehalte und Kollagengehalte als Crusts anderer Rassen. Damit einher geht ein höherer Fettgehalt bei den Braunviehcrusts als im Vergleich zu den Crusts anderer Rasse, nur die Limousincrusts zeigen einen ähnlich hohen Fettgehalt. Auch zeigen Crusts der Rasse Braunvieh den geringsten Mineralstoffgehalt.

2.4 Rassendiskriminierung für unbekannte Proben (Bearbeitung: FILK)

Um den unbekanntem Gerbereiprobe aus den Gerbereidatensätzen 1 und 2 eine Rasse zuzuordnen zu können, wurde für jedes Crust ein molekularbiologischer Rassetest basierend auf den 18 gemessenen Mikrosatelliten durchgeführt. Zur Rassendiskriminierung wurde ein Modelldatensatz aus dem europäischen Konsortium „Towards a strategy for the conservation of the genetic diversity of European Cattle“ (Resgen-Projekt CT98-118) verwendet.

Der Modelldatensatz wurde mithilfe des Programms Structure 2.3.4 (Porras-Hurtado et al., 2013; Pritchard and Donnelly, 2001; Pritchard and Rosenberg, 1999) in Cluster eingeteilt. Die unbekanntenen Proben wurden im Anschluss mit Structure in die vorgegebenen Cluster des Modelldatensatzes einsortiert. Es ist zu beachten, dass mit einer solchen Methode keine Rassen definiert werden, sondern nur molekularbiologisch unterschiedliche Gruppen, die sich in der Art ihrer Mikrosatelliten voneinander unterscheiden.

Die folgenden Tabellen (Tabelle 3 bis 8) zeigen eine Gegenüberstellung der molekularbiologisch bestimmten Population mit der angegebenen Rasse im Rinderpass für die 60 Rohhautproben, die am FILK gesammelt wurden. Eine Zuordnung zu einer Gruppe mit über 50 % Wahrscheinlichkeit kann als eine zuverlässige Zuordnung gelten, während Mischtiere und Kreuzungstiere geringere Wahrscheinlichkeiten in mehreren Gruppen (oder Clustern) aufweisen.

Tabelle 3 zeigt die Zuordnungen für die Angushäute aus dem FILK-Datensatz. Alle 10 Angushäute werden keinem vorgegebenen Angus-Cluster zugeordnet, obwohl zwei Angusgruppen im Modelldatensatz existieren (Angus Großbritannien und Deutsch-Angus). Beide Angusmodellgruppen sind genetisch so unterschiedlich zu den restlichen Gruppen aus dem Modelldatensatz, dass für beide Gruppen ein sehr homogenes Bild ohne Vermischung mit einer anderen Rasse entsteht. Die Angushäute aus dem FILK-Datensatz fallen mit obiger Auswertemethode in die Fleckvieh-, Rotbunt/Schwarzbunt- oder Limousingruppe, wobei ersichtlich ist, dass 5 der 10 Häute von Kreuzungstieren stammen (A2, A4, A5, A7, A9), obwohl auf dem Rassepass die Rasse „Angus“ angegeben ist. Diese 5 Häute sind entweder reale Kreuzungstiere, oder das Programm Structure deklariert diese als Kreuzungstiere, weil deren wahre Gruppe nicht als Standard im Modelldatensatz enthalten ist.

Tabelle 3. Molekularbiologische Zuordnung der Angushäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)		
A1	Angus	55 % Fleckvieh		
A2	Angus	27 % Fleckvieh	12 % Braunvieh	11 % Angler/ Rotvieh
A3	Angus	65 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt	16 % Charolais	
A4	Angus	25 % Fleckvieh	23 % Braunvieh	10 % Deutsch- Shorthorn
A5	Angus	28 % Limousin	18 % Fleckvieh	
A6	Angus	76 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt		
A7	Angus	29 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt	17 % Fleckvieh	10 % Limousin
A8	Angus	74 % Fleckvieh		
A9	Angus	25 % Angler/ Rotvieh	21 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt	12 % Fleckvieh
A10	Angus	54 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt		

Bei den Limousinhäuten (Tabelle 4) ist ein Individuum eindeutig der Rasse Limousin zuzuordnen (L3), bei 4 Individuen liegt die höchste Wahrscheinlichkeit ebenfalls bei Limousin, aber mit weniger als 50 % Wahrscheinlichkeit (L1, L6, L7, L9). Zwei Individuen waren Mischindividuen (L4, L8). Insgesamt drei der 10 Limousinhäute wurden anderen Clustern zugeordnet.

Tabelle 4. Molekularbiologische Zuordnung der Limousinhäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)		
L1	Limousin	41 % Limousin	14 % Fleckvieh	13 % Charolais
L2	Limousin	42 % Braunvieh	15 % Limousin	8 % Murnau-Werdenfelder und 8 % Rotvieh
L3	Limousin	68 % Limousin	10 % Fleckvieh	
L4	Limousin	22 % Limousin	22 % Braunvieh	19 % / Angler/ Rotvieh
L5	Limousin	23 % Rotbunt/ Schwarzbunt	21 % Limousin	8 % Rotbunt/ Holstein-Frisian
L6	Limousin	35 % Limousin	31 % Fleckvieh	
L7	Limousin	33 % Limousin	13 % Fleckvieh	11 % Vogelsberger Rind
L8	Limousin	21 % Charolais	16 % Deutsch-Shorthorn	13 % Rotbunt/ Holstein-Frisian
L9	Limousin	31 % Limousin	14 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	8 % Rotvieh
L10	Limousin	55 % Deutsch Shorthorn		

Bei der Rasse Charolais (Tabelle 5) sind die Häute bereits homogener, es waren nur vier Mischindividuen (C2, C4, C6, C8) unter den Häuten. Die 6 restlichen Häute wurden dem Cluster Charolais zugewiesen.

Tabelle 5. Molekularbiologische Zuordnung der Charolaishäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)		
C1	Charolais	57 % Charolais	17 % Limousin	
C2	Charolais	19 % Rotvieh	17 % Charolais	7 % Rotbunt/ Holstein-Frisian
C3	Charolais	59 % Charolais	17 % Limousin	
C4	Charolais	32 % Rotvieh	22 % Braunvieh	14 % Limousin
C5	Charolais	63 % Charolais	12 % Limousin	
C6	Charolais	24 % Charolais	23 % Fleckvieh	20 % Murnau-Werdenfelser
C7	Charolais	60 % Charolais		
C8	Charolais	36 % Charolais	23 % Angler/Rotvieh	
C9	Charolais	69 % Charolais	13 % Limousin	
C10	Charolais	62 % Charolais		

In der Gruppe der Fleckviecher (Tabelle 6) waren drei Mischindividuen (F1, F2, F3) enthalten. Fünf Häute wurden eindeutig dem Fleckvieh-Cluster zugewiesen.

Tabelle 6. Molekularbiologische Zuordnung der Fleckviehhäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)		
F1	Fleckvieh	34 % Limousin	17 % Fleckvieh	
F2	Fleckvieh	27 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt	16 % Limousin	
F3	Fleckvieh	48 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	30 % Fleckvieh	
F4	Fleckvieh	50 % Fleckvieh	14 % Gelbvieh	
F5	Fleckvieh	53 % Fleckvieh	11 % Charolais	
F6	Fleckvieh	72 % Fleckvieh		
F7	Fleckvieh	55 % Fleckvieh	13 % Braunvieh	
F8	Fleckvieh	35 % Fleckvieh	19 % Limousin	12 % Braunvieh
F9	Fleckvieh	57 % Fleckvieh	16 % Glan/Limpurger	
F10	Fleckvieh	51 % Charolais	16 % Limousin	

Die Schwarzbunt-Gruppe (Tabelle 7) zeigt eine relativ eindeutige Zuordnung der einzelnen Individuen zum Rotbunt/ Holstein-Frisian-Cluster. Auch die Häute mit einem Braunvieh-Vermerk im Rinderpass konnten mit sehr hohen Wahrscheinlichkeiten dem Braunviehcluster zugeordnet werden (siehe Tabelle 8).

Tabelle 7. Molekularbiologische Zuordnung der Schwarzbunthäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)	
S1	Schwarzbunt	86 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	
S2	Schwarzbunt	29 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	17 % Rotvieh
S3	Schwarzbunt	62 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	9 % Fleckvieh
S4	Schwarzbunt	40 % Rotbunt (Zweifach)/ Schwarzbunt	9 % Murnau-Werdenfelser
S5	Schwarzbunt	86 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	
S6	Schwarzbunt	33 % Deutsch-Shorthorn	29 % Rotbunt/ Holstein-Frisian
S7	Schwarzbunt	34 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	23 % Murnau-Werdenfelser
S8	Schwarzbunt	61 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	
S9	Schwarzbunt	35 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	11 % Rotvieh
S10	Schwarzbunt	59 % Rotbunt/ Holstein-Frisian	13 % Deutsches Shorthorn

Tabelle 8. Molekularbiologische Zuordnung der Braunviehhäute aus dem FILK-Datensatz.

	Rinderpass	Structure (Wahrscheinlichkeit, mit der ein Tier zu einer Subpopulation gehört)	
BV1	Braunvieh	74 % Braunvieh	
BV2	Braunvieh	66 % Braunvieh	
BV3	Braunvieh	25 % Braunvieh	
BV4	Braunvieh	51 % Braunvieh	13 % Limousin
BV5	Braunvieh	81 % Braunvieh	
BV6	Braunvieh	77 % Braunvieh	
BV7	Braunvieh	59 % Braunvieh	
BV8	Braunvieh	81 % Braunvieh	
BV9	Braunvieh	41 % Fleckvieh	
BV10	Braunvieh	32 % Angler/ Rotvieh	15 % Braunvieh 14 % Limousin

Auch die Rohhautproben der Gerbereien wurden molekularbiologisch einer Rinderpopulation zugeordnet. Dabei wurde die Rasse mit der höchsten Wahrscheinlichkeit als Hauptrasse gewählt.

Die genetische Variabilität in allen bestimmten Rinderpopulationen wurde mithilfe des Programms ARLEQUIN 3.5 (Excoffier and Lischer, 2010) untersucht. Dabei wurden die aufgrund der HARDY-WEINBERG-Verteilung zu erwartende (HE) und die beobachtete (HO) Heterozygotität bestimmt. Die bestimmten Werte weisen auf eine hohe genetische Variabilität in den verwendeten

Rinderpopulationen hin und die bestimmten Mikrosatelliten sind demnach geeignet für weitere Untersuchungen.

2.5 Korrelation der Rasse mit den physikalischen Eigenschaften (Bearbeitung: Hochschule Mittweida, FILK)

a. FILK-Datensatz (Bearbeitung: FILK)

Aufgrund der Vielzahl an Messungen wurde die Auswertung des FILK-Datensatzes beschränkt auf die Zugfestigkeit, die Höchstdehnung und die Stichausreißkraft der Crusts. Dabei wurden die genannten physikalischen Eigenschaften erstens in Abhängigkeit der eingetragenen Rasse auf dem Rinderpass und zweitens in Abhängigkeit der bestimmten molekularbiologischen Rasse ausgewertet. Alle Ergebnisse wurden in Boxplots eingetragen. Innerhalb der Box liegen 50 % der Daten, die Linie innerhalb der Box stellt den Median dar, der kein gemittelter Wert wie der Mittelwert ist, sondern auf einem real gemessenen Wert beruht und der den Messwert darstellt, der in der Mitte der Datenreihe liegt. Signifikanztests zwischen den einzelnen Boxplots wurden mit dem Tukey-Test durchgeführt. Der Tukey-Test ist ein post-hoc-Signifikanztest, der mit paarweisen Mittelwertabgleichen Auskunft darüber gibt, welche Mittelwerte sich signifikant voneinander unterscheiden. Dabei werden die überspannten Mittelwerte der einzelnen Gruppen genutzt, Varianzhomogenität vorausgesetzt.

In Abb. 1 ist die Zugfestigkeit der hergestellten Crusts in Abhängigkeit der Rasse dargestellt. Hier zeigen sich nur minimale bis keine Unterschiede. Es gibt nur einen signifikanten Unterschied zwischen den Rassen Angus und Schwarzbunt, wenn die Zugfestigkeit nach den molekularbiologisch bestimmten Populationen aufgetrennt wird, entstehen keine signifikanten Unterschiede. Es ist deutlich erkennbar, dass es innerhalb der Rassen viel größere Unterschiede existieren als zwischen den einzelnen Rassen.

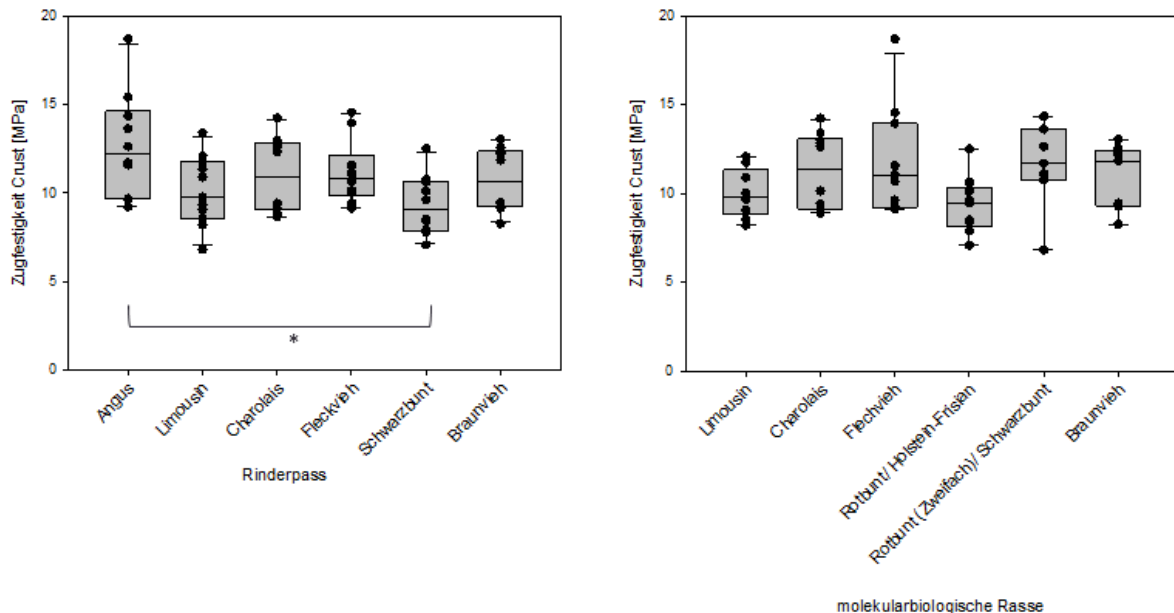


Abb. 1. Die Zugfestigkeit der Crusts in Abhängigkeit der Rasse (links: Rassepass, rechts: molekularbiologisch bestimmt). * signifikanter Unterschied mit einem Signifikanzniveau von 0,05.

Da es technisch nicht möglich war, alle Crusts auf die gleiche Dicke zu falzen, wurden Höchstdehnung und Stichausreißkraft zur Dicke normiert. Die physikalische Korrektheit dieses Vorgehens wurde überprüft, indem die gemessene Höchstdehnung und Stichausreißkraft gegen die Dicke der Crusts in einem Koordinatensystem dargestellt wurden (siehe Abb. 2 und Abb. 3). Bei beiden Messwerten zeigte sich eine lineare Abhängigkeit im gegebenen Messbereich, auch wenn bekannt ist, dass sowohl die

Höchstdehnung als auch die Stichausreißkraft eine lineare Abhängigkeit nur in einem sehr kleinen und stark begrenzten Dickenbereich aufweisen.

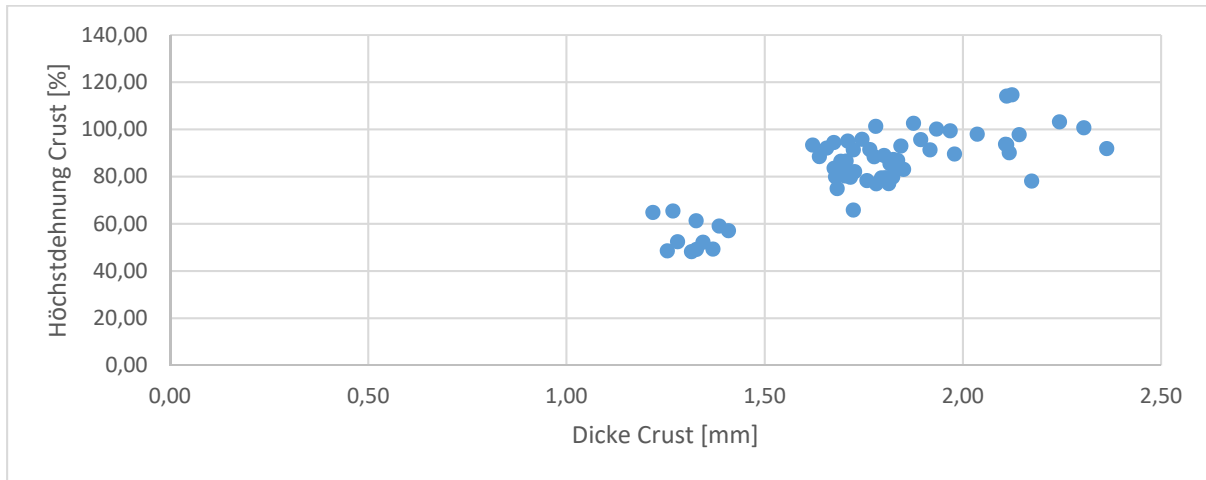


Abb. 2. Höchstdehnung der Crusts in Abhängigkeit der Crustdicke.

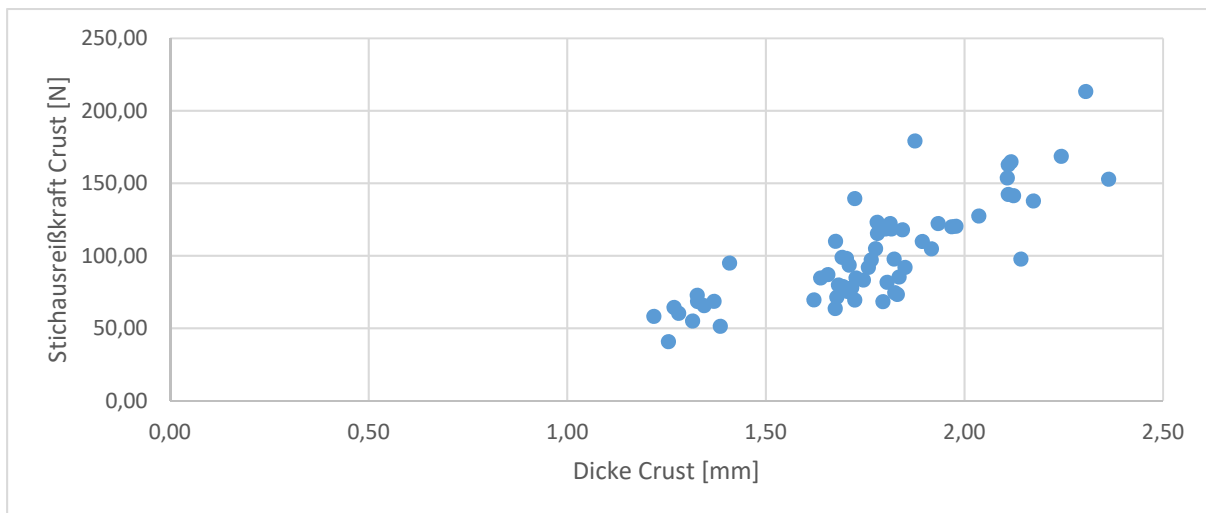


Abb. 3. Stichausreißkraft der Crusts in Abhängigkeit der Crustdicke.

Bei der Höchstdehnung (siehe Abb. 4) und der Stichausreißkraft (siehe Abb. 5) zeigen sich Unterschiede zwischen den Rassen. Signifikante Unterschiede zeigen sich aber nur zwischen den süddeutschen Rassen (Fleckvieh, Braunvieh) und den sonstigen Rassen (Charolais, Angus, Limousin). Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den süddeutschen (Fleckvieh und Braunvieh) und norddeutschen Rassen (Schwarzbunt) detektiert werden. Auch bei der Höchstdehnung und Stichausreißkraft zeigen sich größere Streuungen innerhalb der Rassen als zwischen den einzelnen Populationen.

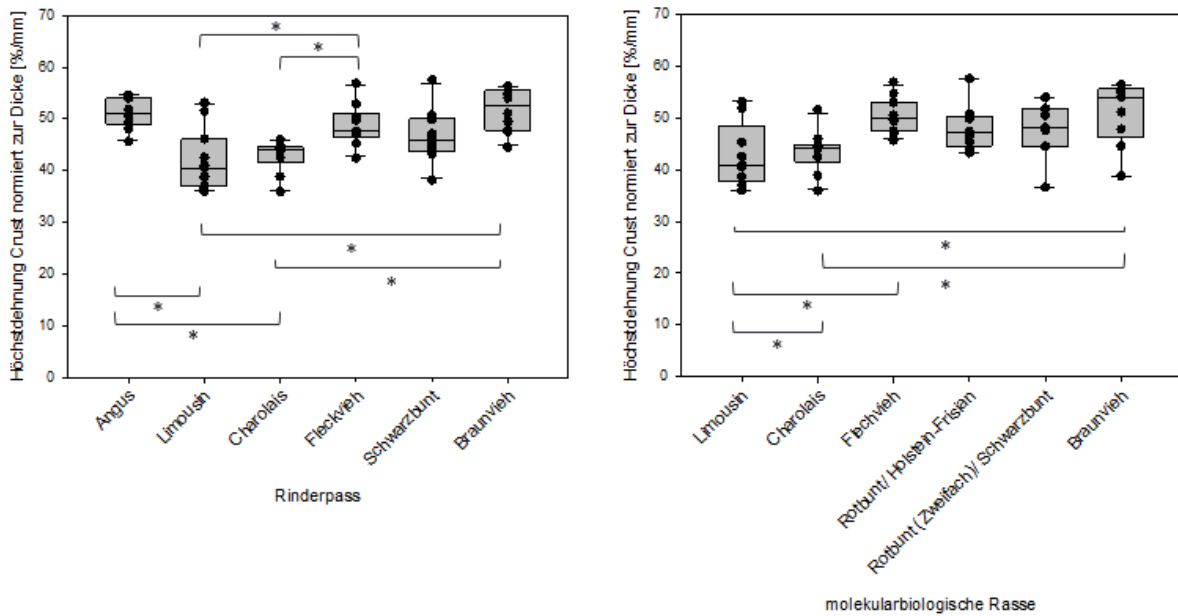


Abb. 4. Die normierte Höchstdehnung der Crusts in Abhängigkeit der Rasse (links: Rassepass, rechts: molekularbiologisch bestimmt). * signifikanter Unterschied mit einem Signifikanzniveau von 0,05.

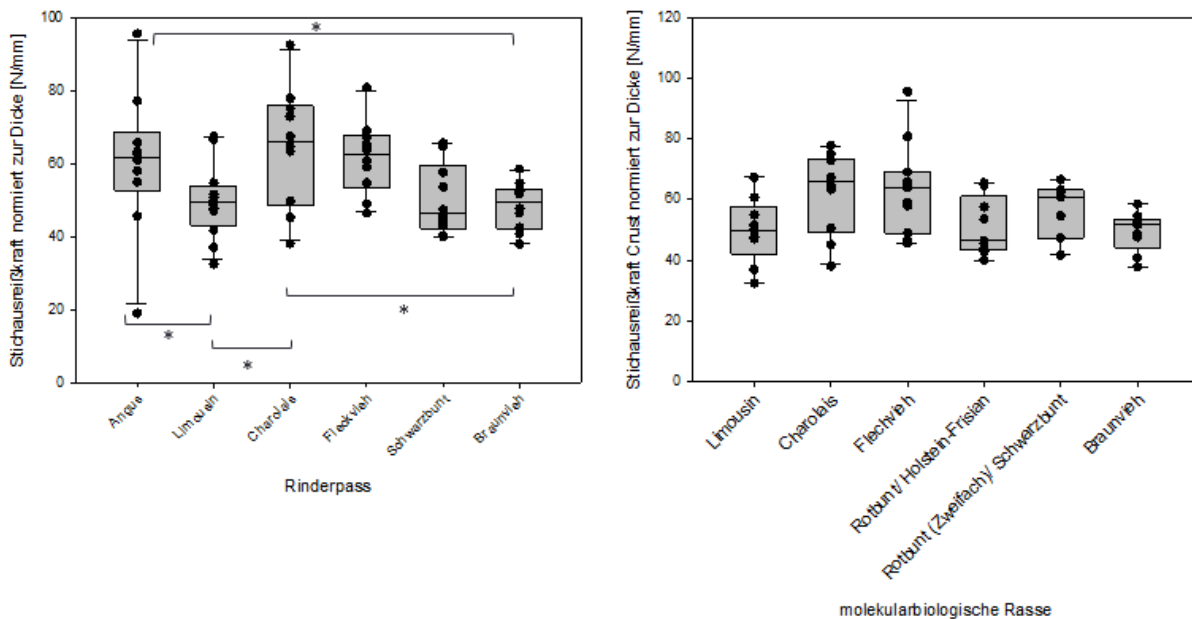


Abb. 5. Die normierte Stichausreißkraft der Crusts in Abhängigkeit der Rasse (links: Rassepass, rechts: molekularbiologisch bestimmt). * signifikanter Unterschied mit einem Signifikanzniveau von 0,05.

Es konnte bei allen physikalischen Messungen kein signifikanter Unterschied zwischen den süddeutschen und den norddeutschen Rassen detektiert werden.

Daraufhin wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen den physikalischen Messgrößen und der molekularbiologisch bestimmten Rasse aufzustellen. Da auch Crusts im Datensatz enthalten sind, die geringe Wahrscheinlichkeiten für eine bestimmte Rasse zeigen (Mischindividuen), könnten diese Crusts die Diagramme mit der molekularbiologisch bestimmten Rasse verfälschen. Beispielhaft wurde die Zugfestigkeit der Fleckvieh-Crusts zur weiteren Analyse herangezogen (siehe Abb. 6). Falls die Zugfestigkeit von der Rasse abhängt, müssten Crusts mit hohen Wahrscheinlichkeiten für Fleckvieh signifikant unterschiedliche Zugfestigkeiten im Vergleich zu den Mischindividuen aufweisen. Auch in dieser Darstellung zeigen sich keinerlei Abhängigkeiten.

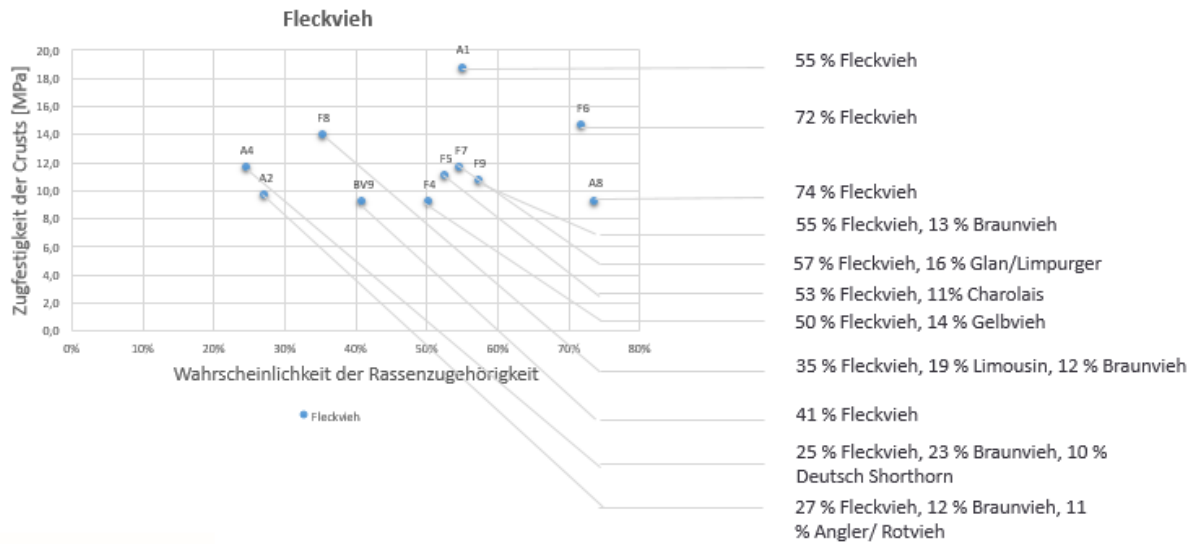


Abb. 6. Zugfestigkeit der Fleckvieh-Crusts in Abhängigkeit der Wahrscheinlichkeit der Zugehörigkeit zur Rasse Fleckvieh

Da im FILK-Datensatz ebenfalls die Information des Geschlechts und des Alters enthalten war, wurden alle physikalischen Parameter gegen Geschlecht und Alter aufgetragen. Dabei ist die Zugfestigkeit nicht vom Geschlecht abhängig (siehe Abb. 7).

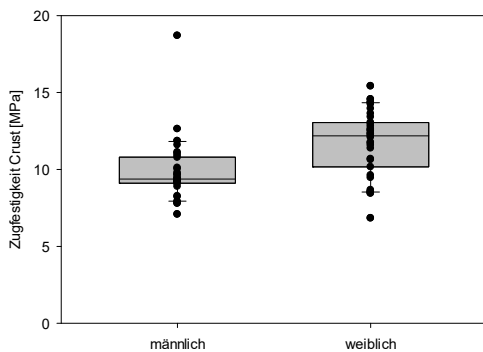


Abb. 7. Zugfestigkeit aller am FILK hergestellten Crustproben. kein signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau 0,05).

Sowohl bei der Höchstdehnung als auch bei der Stichausreißkraft zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Geschlechtern. Dabei weisen Crusts von weiblichen Tieren eine signifikant höhere Höchstdehnung auf als Crusts von männlichen Tieren (Abb. 8). Zu beachten ist, dass alle weiblichen Tiere Färsen sind und demnach noch nicht gekalbt haben. Auch weisen Crusts von weiblichen Tieren eine signifikant höhere Stichausreißkraft auf als die Crusts von männlichen Tieren (siehe Abb. 9).

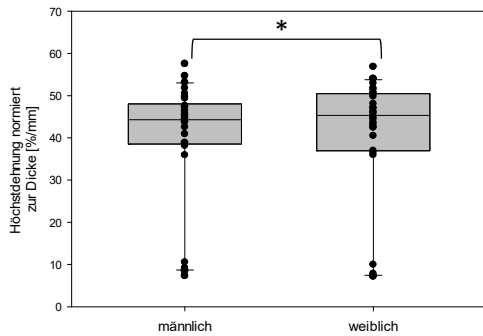


Abb. 8. Höchstdehnung aller am FILK hergestellten Crustproben. * signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau 0,05).

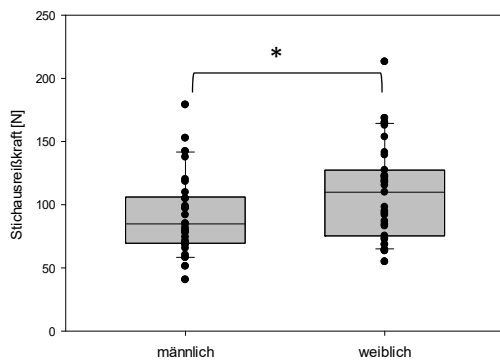


Abb. 9. Stichausreißkraft aller am FILK hergestellten Crustproben. * signifikanter Unterschied (Signifikanzniveau 0,05).

Wird die Zugfestigkeit, Höchstdehnung oder Stichausreißkraft der Crusts gegen das Alter der Tiere aufgetragen, ergeben sich keine Abhängigkeiten (siehe Abb. 10 und Abb. 11). Für eine bessere Übersichtlichkeit wurden die Standardabweichungen der einzelnen Messwerte entfernt. Es muss darauf hingewiesen werden, dass innerhalb dieses Datensatzes natürlich Unterstrukturen durch das Geschlecht existieren. Trägt man alle physikalischen Parameter gegen das Alter auf und trennt den Datensatz in Crusts von männlichen und weiblichen Tieren auf, entstehen ebenso keinerlei Abhängigkeiten (Diagramme nicht dargestellt).

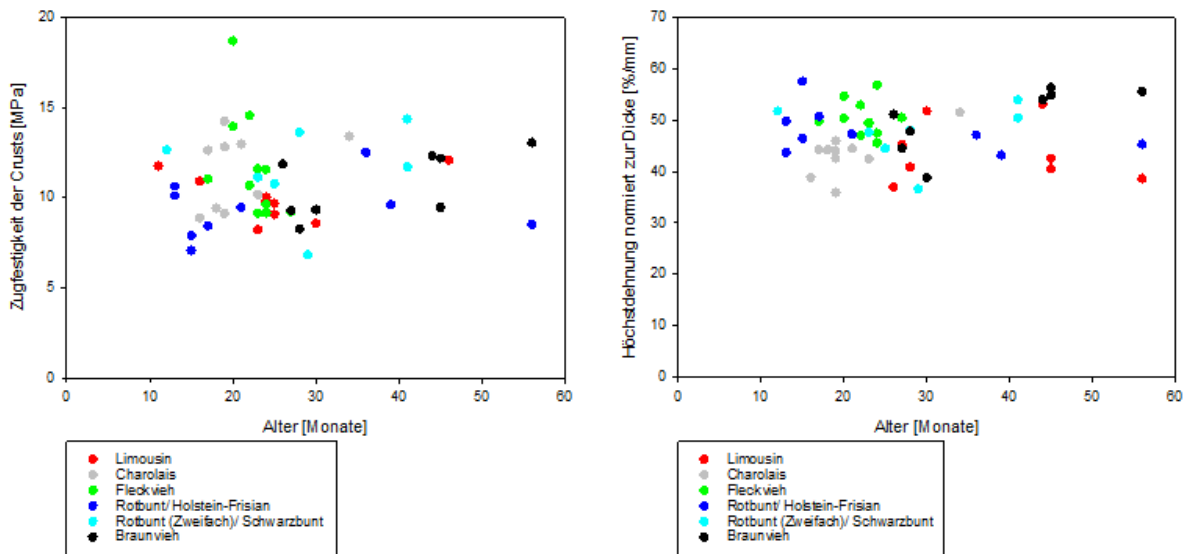


Abb. 10. Zugfestigkeit und Höchstdehnung der Crusts des FILK-Datensatzes in Abhängigkeit vom Alter der Tiere.

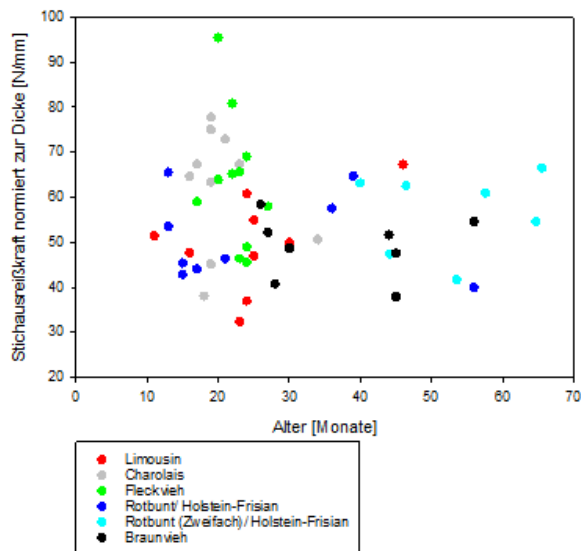


Abb. 11. Stichausreißkraft der Crusts des FILK-Datensatzes in Abhängigkeit vom Alter der Tiere.

b. Kombination aller Datensätze (Bearbeitung: Hochschule Mittweida, FILK)

Die Auswertung des FILK-Datensatzes, bei dem die Rinderpässe zu jedem Crust vorlagen, zeigte, dass für jede Rasse zu wenig Crusts für eine solide statistische Auswertung vorhanden waren. Daher wurden noch insgesamt 200 Crustproben bei zwei unterschiedlichen Gerbereien organisiert.

Zugfestigkeit, Höchstdehnung und Stichausreißfestigkeit gegen molekularbiologisch bestimmte Rasse.

Durch die Herstellung der Crusts in unterschiedlichen Gerbereien und am FILK ergab sich das Problem, dass sich zwischen den Gerbereien und den FILK-Crusts die Gerbart unterschied und damit die Crusts untereinander nicht vergleichbar sind. Daher wurden die absoluten Werte der physikalischen Messgrößen in Kategorien umgerechnet, was einen Vergleich aller Daten möglich macht.

Zuallererst wurden die unbekanntes Gerberei-Crusts nach der beschriebenen Methodik einer Rasse zugeordnet. Dazu wurde nach der Zuordnung der unbekanntes Gerberei-Proben zu den 18 Rinder-Clustern für jede Crustprobe die Hauptrasse herausgefiltert, d. h. die Rasse mit der höchsten Wahrscheinlichkeit bei der molekularbiologischen Rassenbestimmung mittels Structure. Dabei wurden Populationen, zu denen nur wenige Individuen zählten, vernachlässigt und nicht in die weitere Auswertung mit einbezogen. Dazu zählen die Populationen Murnau-Werdenfelser, Gelbvieh, Glan, Murnau/Angler/Rotvieh, Rotvieh und Vogelsberger Rind.

Für die drei Messgrößen (Zugfestigkeit, Höchstdehnung und Stichausreißfestigkeit) wurde für jeden Datensatz ein Mittelwert gebildet, mit dessen Hilfe die einzelnen Crusts in die Kategorien hoch, mittel und niedrig eingeteilt werden konnten. Beispielhaft wird hier die Vorgehensweise für die Zugfestigkeit gezeigt. Die Kategorien der niedrigen, mittleren und hohen Zugfestigkeiten wurden wie folgt definiert:

- niedrige Zugfestigkeit $< \text{Mittelwert} - (\text{Standardabweichung}/2)$,
- mittlere Zugfestigkeit: liegt im Bereich $\text{Mittelwert} - (\text{Standardabweichung}/2)$ bis $\text{Mittelwert} + (\text{Standardabweichung}/2)$,
- hohe Zugfestigkeit $> \text{Mittelwert} + (\text{Standardabweichung}/2)$.

Die Bildung der einzelnen Kategorien zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9. Berechnung der einzelnen Kategorien der Zugfestigkeit für alle Crusts.

	Mittelwert	Standard- abweichung	niedrig	mittel	hoch
Zugfestigkeit FILK	10,83 MPa	2,26 MPa	< 9,70 MPa	$\geq 9,70 \text{ MPa}$ $\leq 11,96 \text{ MPa}$	> 11,96 MPa
Zugfestigkeit Gerberei 1	22,34 MPa	3,08 MPa	< 20,80 MPa	$\geq 20,80 \text{ MPa}$ $\leq 23,88 \text{ MPa}$	> 23,88 MPa
Zugfestigkeit Gerberei 2	15,41 MPa	2,97 MPa	< 13,92 MPa	$\geq 13,92 \text{ MPa}$ $\leq 16,89 \text{ MPa}$	> 16,89 MPa

Abb. 12, Abb. 13 und Abb. 14 zeigen die Zugfestigkeit, die Höchstdehnung und die Stichausreißfestigkeit aller betrachteten 189 Crusts, aufgeteilt in molekularbiologisch bestimmte Rassen, und die drei gebildeten Kategorien für die physikalischen Parameter. Ein Test auf statistische Signifikanz der einzelnen Gruppen wurde mit dem Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Dieser bietet sich bei einer Individuenzahl über 50 an. Der Chi-Quadrat-Test zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Rassen in Bezug auf die Zugfestigkeit, die Höchstdehnung und die Stichausreißfestigkeit der Crusts. Bei den Zugfestigkeiten zeigen folgende Rassen interessante Differenzen: Braunvieh (mit Tendenz zur Zugfestigkeitskategorie niedrig), Limousin (mit mittleren Zugfestigkeiten), und beide Schwarzbuntgruppen (Tendenz zu mittleren und hohen Zugfestigkeiten). Bei der Höchstdehnung zeigt die Gruppe der Fleckvieher eine Tendenz zu mittleren und höheren Höchstdehnungen.

Auch bei der Stichausreißfestigkeit zeigen sich Tendenzen, die mit höheren Individuenzahlen weiter untersucht werden könnten. Hier zeigt z. B. die Rasse Braunvieh eine Tendenz zu niedrigen und mittleren Stichausreißfestigkeiten (Individuenzahl: 27).

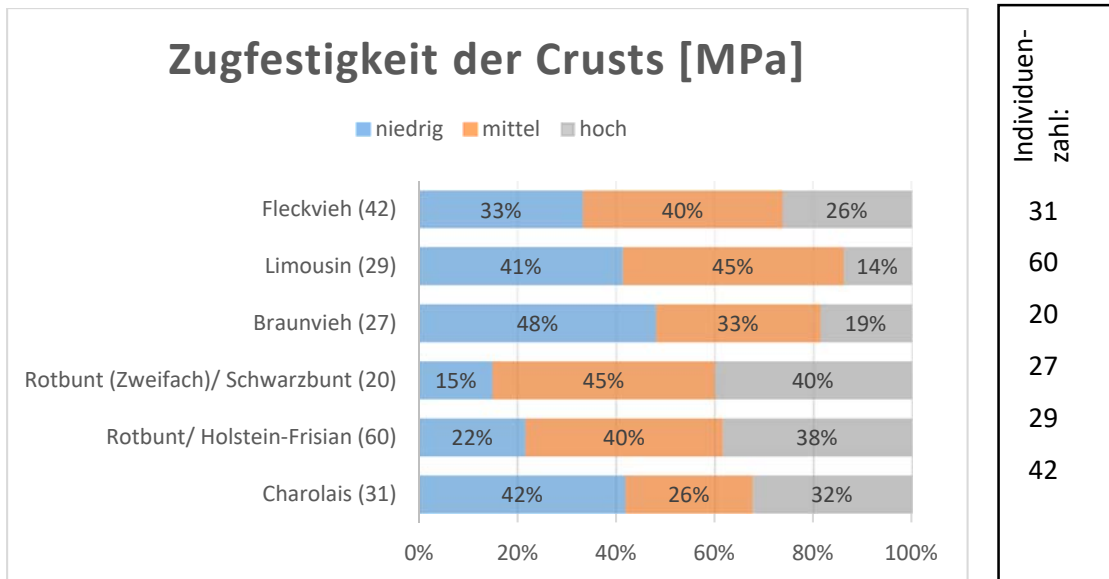


Abb. 12. Zugfestigkeit aller 189 Crusts, eingeteilt in 3 Kategorien und 6 Rassen (molekularbiologische Bestimmung).

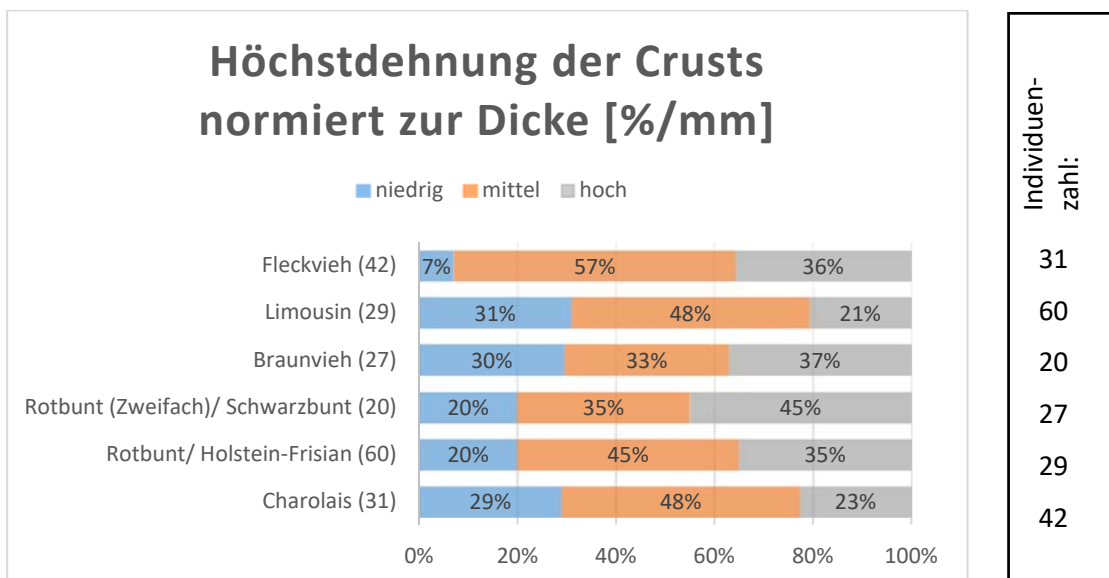


Abb. 13. Höchstdehnung aller 189 Crusts, eingeteilt in 3 Kategorien und 6 Rassen (molekularbiologische Bestimmung).

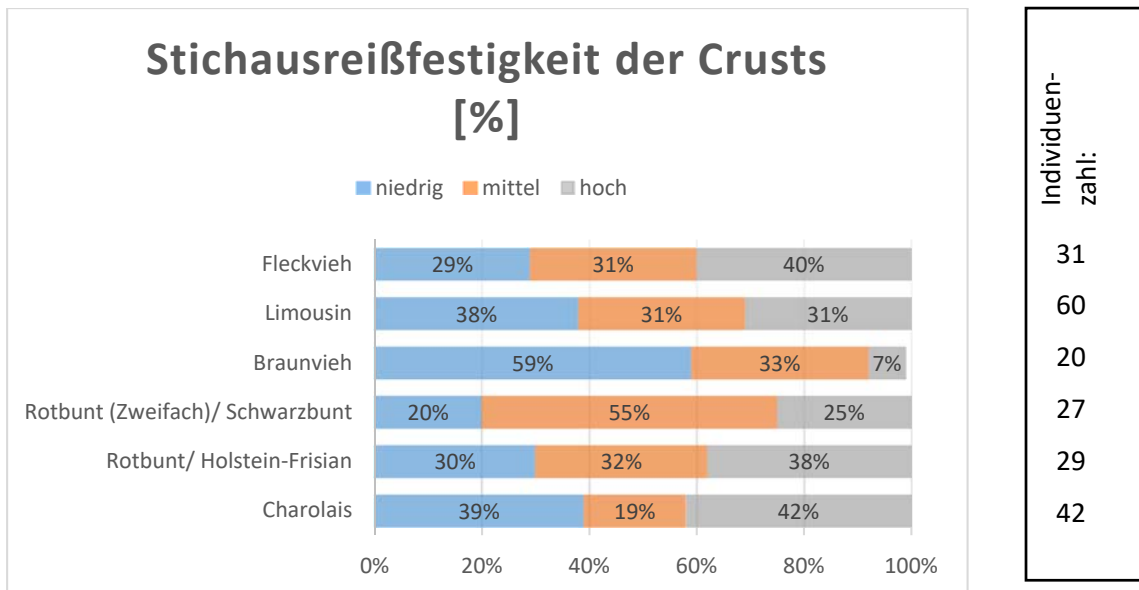


Abb. 14. Stichausreißfestigkeit aller 189 Crusts, eingeteilt in 3 Kategorien und 6 Rassen (molekularbiologische Bestimmung).

Zugfestigkeitskategorien gegen Alter und Geschlecht. Für die Korrelationsanalyse für die Zugfestigkeit und das Geschlecht wurde ebenfalls ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang für die Zugfestigkeit und das Geschlecht (Boxplot nicht abgebildet).

Auch aus dem Vergleich der Zugfestigkeit und dem Alter der Individuen lässt sich kein Trend erkennen (siehe Abb. 15). Ein Welch-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den Zugfestigkeitskategorien und dem Alter der Individuen. In diese Betrachtung wurden nur die FILK-Crusts mit einbezogen, da von diesen das Alter der Tiere über den Rinderpass bekannt war. Für die erstellte Rassenteilmenge stellten sich sehr ähnliche Ergebnisse ein.

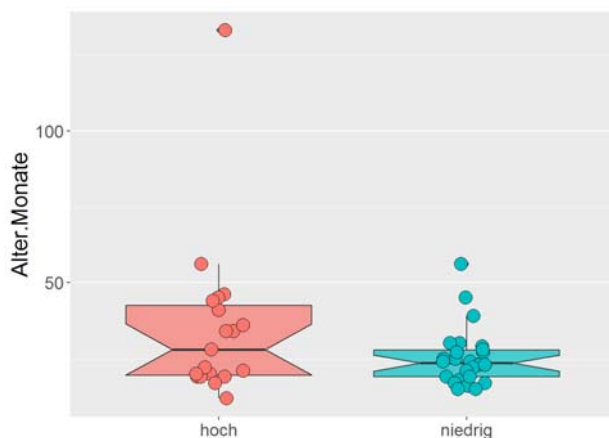


Abb. 15. Boxplot des Vergleichs der Zugfestigkeit mit dem Alter der Individuen (in Monaten).

Höchstdehnungskategorien gegen Alter und Geschlecht. Für die Korrelationsanalyse für die Höchstdehnung und das Geschlecht wurde ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang für die Höchstdehnung und das Geschlecht.

Aus dem Vergleich der Höchstdehnungskategorie und dem Alter der Individuen lässt sich kein Trend erkennen (siehe Abb. 16). Ein Welch-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen der Höchstdehnung und dem Alter der Individuen.

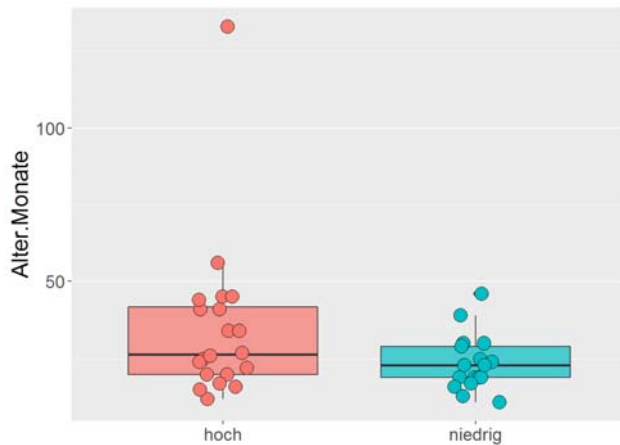


Abb. 16. Boxplot des Vergleichs der Höchstdehnungskategorien zum Alter (in Monaten).

Stichausreißfestigkeit in Abhängigkeit des Alters und des Geschlechts. Die Abhängigkeit der Stichausreißfestigkeit vom Alter und Geschlecht der Tiere wurde ebenfalls mit einem Chi-Quadrat-Test geprüft. Auch hier ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang für die Stichausreißkraft und das Geschlecht oder das Alter der Tiere (Daten nicht gezeigt).

2.6 Korrelation der Marker mit den Eigenschaften (Bearbeitung: Hochschule Mittweida, FILK)

Assoziationsanalysen zu Zugfestigkeit, Höchstdehnungen und Stichausreißfestigkeit. Zum Abschluss wurden Assoziationsanalysen durchgeführt, um zu überprüfen, ob bestimmte Marker, unabhängig von der Rasse, mit den physikalischen Eigenschaften korrelieren. In den vorliegenden Untersuchungen wurden Merkmalsausprägungen gewählt, die sich markant unterschieden (hohe und niedrige Zugfestigkeit oder Höchstdehnung) und die dazugehörigen Individuen entsprechend in zwei Untersuchungsgruppen unterteilt. Für jede Gruppe wurde die Anzahl aller Allele eines Markers bestimmt. Wenn ein Marker in keiner Beziehung zum untersuchten kategorialen Merkmal steht, ist die Verteilung aller Allele in beiden Untersuchungsgruppen gleich. Eine unterschiedliche Allelverteilung eines Markers in den unterschiedlichen Gruppen deutet auf eine Assoziation dieses Markers zum untersuchten Merkmal hin. Die Allelverteilung ist dann nicht mehr zufällig und wäre mit der Merkmalsausprägung assoziiert (van der Werf et al., 2007).

Für die Assoziationsanalyse wurden alle drei verfügbaren Datensätze herangezogen, da mit einer höheren Individuenzahl eine bessere Statistik gewährleistet ist. Eine höhere Stichprobengröße lässt eine geringere Konfidenzbreite bezüglich der untersuchten Punktschätzungen und demzufolge der daraus abgeleiteten Testgröße zu.

Bei den Hautproben aus den Gerbereien wurde molekularbiologisch das Geschlecht bestimmt, es handelt sich fast ausschließlich um Rohhäute männlicher Individuen. Bei männlichen Rindern ist bekannt, dass diese meist in einem Alter von ca. 2 Jahren geschlachtet werden. D. h., bei beiden Datensätzen der Gerbereien waren die Individuen im Geschlecht und Alter fast identisch.

Alle zur Verfügung stehenden Crusts wurden in hohe, mittlere und niedrige Zugfestigkeiten, Höchstdehnungen und Stichausreißfestigkeiten eingeteilt. Proben mit mittleren Zugfestigkeiten, mittleren Höchstdehnungen und mittleren Stichausreißfestigkeiten gingen nicht in die Untersuchung mit ein. Da nicht von allen Individuen ein vollständiges genetisches Profil erstellt werden konnte und von einigen Proben keine Zugfestigkeiten gemessen werden konnten, reduzierte sich die Individuenzahl der Untersuchungsgruppe von 260 möglichen Individuen auf 151 Individuen.

Tabelle 10 zeigt exemplarisch die Allelverteilung des Markers TGLA227 für die beiden Untersuchungsgruppen „hohe Zugfestigkeit“ und „niedrige Zugfestigkeit“.

Tabelle 10: Tabelle der Verteilung der Allelausprägungen der Zugfestigkeitskategorien (hoch, niedrig) für den Marker TGLA227.

TGLA227 Allele	Anzahl der Allele in der Zugfestigkeitskategorie hoch	Anzahl der Allele in der Zugfestigkeitskategorie niedrig
77	4	3
79	3	9
81	30	43
83	28	14
85	0	3
87	8	9
89	27	38
91	19	27
93	5	2
95	2	0
97	14	12
99	3	2
103	3	2

Zur Untersuchung der statistischen Signifikanz wurden Chi-Quadrat-Tests herangezogen. Die Tests wurden für jedes STR-System ausgeführt. Erfasst wurden die Häufigkeiten übergreifend für Allel 1 und 2. Die Zugfestigkeits-, Höchstdehnungs- und Stichausreißfestigkeitskategorien galten als der zu testende Faktor.

Da es sich hier um ein multiples Testverfahren bestehend aus 17 unabhängigen Einzeltests handelt, muss eine Signifikanzniveauadjustierung zur Minimierung der Alphafehlerkumulierung vorgenommen werden. Da die allgemeine statistische Hypothese, dass ein signifikanter statistischer Unterschied bezüglich der STR-Ausprägungen zwischen den Zugfestigkeitskategorien besteht, hohe Teststärke erfordert, wurde das konservative Bonferroni-Korrekturverfahren zur Adjustierung gewählt. Demnach entspricht das adjustierte Signifikanzniveau dem Wert 0,0029.

Tabelle 11 zeigt die Signifikanzbewertung der unterschiedlichen Häufigkeiten der Allele der verschiedenen STR-Marker am Beispiel der Zugfestigkeit und der Höchstdehnung. Es wurde für kein STR-System ein statistisch signifikanter Zusammenhang detektiert, weder zu einer Zugfestigkeits- noch zu einer Höchstdehnungskategorie. Die Signifikanzbewertung der Allele für die Stichausreißfestigkeit zeigt ebenso keine signifikanten Unterschiede in der Allelverteilung zwischen den beiden Kategorien hoch und niedrig (Daten nicht gezeigt). Dabei ist hervorzuheben, dass die Approximation der Testgröße durch geringe Randhäufigkeiten verfälscht werden kann und somit Aussagen zur statistischen Signifikanz kritisch zu betrachten sind. Für tiefergehende Analysen mit robustem statistischen Hintergrund ist eine größere Datenmenge nötig. Typische Assoziationsstudien haben mindestens 200 bis 400 Individuen in einer Kategorie.

Tabelle 11: p-Werte und Signifikanzbewertung für die Korrelation der STR-Marker zu den Zugfestigkeitskategorien hoch und niedrig (links) und zu den Höchstdehnungskategorien hoch und niedrig (rechts).

Zugfestigkeit			Höchstdehnung		
STR-Marker	p-Wert	Signifikanz	STR-Marker	p-Wert	Signifikanz
<i>TGLA227</i>	0,082	keine	<i>TGLA227</i>	0,082	keine
<i>BM2113</i>	0,160	keine	<i>BM2113</i>	0,160	keine
<i>ETH10</i>	0,116	keine	<i>ETH10</i>	0,116	keine
<i>SPS115</i>	0,473	keine	<i>SPS115</i>	0,473	keine
<i>SPS113</i>	0,039	keine	<i>SPS113</i>	0,039	keine
<i>RM067</i>	0,036	keine	<i>RM067</i>	0,036	keine
<i>TGLA126</i>	0,208	keine	<i>TGLA126</i>	0,208	keine
<i>TGLA122</i>	0,160	keine	<i>TGLA122</i>	0,160	keine
<i>INRA23</i>	0,167	keine	<i>INRA23</i>	0,167	keine
<i>BM1818</i>	0,039	keine	<i>BM1818</i>	0,039	keine
<i>ETH3</i>	0,024	keine	<i>ETH3</i>	0,024	keine
<i>ETH225</i>	0,746	keine	<i>ETH225</i>	0,746	keine
<i>BM1824</i>	0,391	keine	<i>BM1824</i>	0,391	keine
<i>CSRM60</i>	0,091	keine	<i>CSRM60</i>	0,091	keine
<i>MGTG4B</i>	0,035	keine	<i>MGTG4B</i>	0,035	keine
<i>CSSM66</i>	0,108	keine	<i>CSSM66</i>	0,108	keine
<i>ILSTS006</i>	0,176	keine	<i>ILSTS006</i>	0,176	keine

2.7 Zusammenfassung

Zusammenfassend zeigen Crusts von süddeutschen Rassen wie Fleckvieh und Braunvieh keine signifikant höheren oder niedrigeren Zugfestigkeiten, Höchstdehnungen oder Stichtausreißkräfte im Vergleich zu norddeutschen Rassen (z. B. Schwarzbunt). Dies wurde sowohl mit den 60 FILK-Crusts mit vorhandenem Rassepass gezeigt als auch mit dem in der Probenanzahl höher liegenden Crust-Pool aller Gerbereien und FILK-Proben zusammen. Werden alle Rassen im Vergleich betrachtet, wird deutlich erkennbar, dass die gemessenen physikalischen Eigenschaften der Crusts kaum von der Rinderrasse abhängen. Besonders deutlich wird dies im vereinigten Gerberei- und FILK-Datensatz mit insgesamt 260 Individuen, obwohl dieser eine homogene Alters- und Geschlechtsverteilung aufweist. Auch die gewählten rassespezifischen Mikrosatelliten korrelieren nicht mit den gemessenen Eigenschaften. Das erhaltene Ergebnis sollte aber vorsichtig interpretiert werden, da für eine aussagekräftige Statistik die Probenanzahl auch mit 260 Individuen zu gering ist. Es existieren für kleine Datensätze zwar gute statistische Tests, die auch angewendet wurden (Welch-Test, Chi-Quadrat-Test). Aber selbst der Chi-Quadrat-Test verliert an Aussagekraft bei Gruppengrößen, die weniger als 5 Proben aufweisen, was bei der vorliegenden Datenmenge der Fall war.

Die Tendenz einer Rassenunabhängigkeit der physikalischen Crustparameter ist aber durchaus annehmbar, da die heutigen Rinder meist zu Mischrassen gehören. Bei reinrassigen Tieren werden immer wieder andere Rassen eingekreuzt, um bessere Ausbeuten bei den Tieren zu erzielen (z. B. höhere Milchleistung, bessere Fleischqualität usw.). Der Test zur Rassediskriminierung, der im Projekt etabliert wurde, bestätigt diese Annahme, denn die Zuordnung zu einer Rasse basierte teilweise auf Wahrscheinlichkeiten von unter 40 %.

3 Erzielte Ergebnisse im Vergleich zu den angestrebten Projektzielen

Im Forschungsvorhaben sollten im Wesentlichen zwei Ziele erreicht werden. Zuerst sollte ein umfangreicher Datenpool unterschiedlicher Crust-Qualitäten aufgebaut werden. Dabei sollten unterschiedliche Rassen und unterschiedliche Qualitäten zum Tragen kommen. Die Crust-Qualität wurde dabei an den physikalisch messbaren Parametern der Zugfestigkeit, der Höchstdehnung und der Stichausreißfestigkeit festgemacht. Im Projekt konnte ein umfangreicher Datenpool aufgesetzt werden, während der Projektlaufzeit konnten 6 Rassen zu je 10 Crusts auf ihre molekularbiologischen Marker, ihre Zugfestigkeit, Höchstdehnung und ihre Stichausreißfestigkeit untersucht werden. Zusätzlich wurden am FILK von 200 unbekanntenen Crusts die gleichen Parameter bestimmt, dabei wurden die genetischen Marker an der Rohhaut bestimmt.

Auch das zweite Ziel im Projekt, die Ausarbeitung einer wissenschaftlichen Studie zur Korrelation der Crust-Qualität mit rassespezifischen genetischen Markern konnte erreicht werden. Diese Studie zeigt keine signifikanten Abhängigkeiten zwischen der Rinderrasse und den gemessenen physikalischen Eigenschaften. Dadurch kann vorerst kein molekularbiologischer Test schon vor Produktionsbeginn der Leder etabliert werden, mit dem eine Poolbildung zur besseren Einstellung der Produkteigenschaften möglich wäre. Es wurde aber eine Methodik etabliert, mit der unbekannte Rohhautproben ihrer Hauptrasse zugeordnet werden können. Werden Rohhäute nach ihrer molekularbiologisch bestimmten Rasse sortiert, entstehen ebenfalls keine relevanten Signifikanzunterschiede in den Crusteigenschaften.

Da die Rasse nicht mit den Crust-Eigenschaften korrelierte, wurde überprüft, ob einzelne rassespezifische Marker mit den Crust-Eigenschaften korrelieren. Auch die einzelnen gewählten Marker korrelieren nicht mit den Crust-Eigenschaften. Grundlage des Projektes war die Annahme, dass die Rinderrasse einen entscheidenden Einfluss auf die Crust-Qualität hat, was durch die Literatur (Schroer, 1989) und die subjektive Einschätzung vieler Gerber bestätigt schien. Seit 1989 finden zunehmend Einkreuzungen von anderen Rassen statt, um die Ausbeute und die Qualität an Fleisch und Milch zu maximieren. Dadurch gibt es kaum noch reinrassige Tiere, die meisten Rinder sind Kreuzungstiere. Der Test zur Rassediskriminierung, der im Projekt etabliert wurde, bestätigt diese Annahme, denn die Zuordnung zu einer Rasse basierte teilweise auf Wahrscheinlichkeiten von unter 40 %. Mit rassespezifischen Markern sollte das Problem der Kreuzungstiere umgangen werden, denn in diesen Markern ist die Information gespeichert, zu welchem Anteil ein Individuum zu welcher Rasse gehört. Da es aber nur geringfügige Unterschiede in den Crust-Eigenschaften der unterschiedlichen Rassen gibt, kann diese Information kaum von den rassespezifischen Markern abgebildet werden.

4 Bezugnahme auf die Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Ein Großteil der geleisteten Arbeit umfasste anspruchsvolle Laborversuche sowie eine intensive theoretische Auseinandersetzung mit der Thematik. Auch wurde das Forschungsprojekt von umfangreichen und tiefgehenden statistischen Auswertungen begleitet. Die Arbeiten wurden wie im Antrag beschrieben durchgeführt und sind im Hinblick auf die Zielsetzung des Projektes als angemessen und notwendig zu betrachten.

5 Darstellung des wissenschaftlich-technischen und wirtschaftlichen Nutzens

Die Zielstellungen des Forschungsvorhabens wurden teilweise erreicht. Es wurde ein umfangreicher Datenpool aufgebaut, in dem 260 Crusts mit ihren rassespezifischen Mikrosatelliten (gemessen an der

Rohhaut), mit ihren Zugfestigkeiten, ihren Höchstdehnungen und ihren gemessenen Stichausreißkräften enthalten sind. Dabei wurden 60 dieser Crusts am FILK und jeweils 100 in zwei unterschiedlichen Gerbereien hergestellt. Es wurde eine wissenschaftliche Studie zur Korrelation der physikalischen Parameter mit den rassespezifischen genetischen Markern aufgesetzt, da laut Literatur und der subjektiven Meinung vieler Gerber süddeutsche Rohware der Norddeutschen überlegen ist. Dies konnte nicht wissenschaftlich belegt werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den untersuchten Crust-Eigenschaften zwischen den betrachteten süddeutschen Rassen (Fleckvieh und Braunvieh) und den norddeutschen Rassen (Schwarzbunt) gefunden werden. Es zeigten sich nur geringe signifikante Unterschiede in Bezug auf wenige Crust-Merkmale zwischen den süddeutschen Rassen und den sonstigen Rassen (Limousin, Charolais, Angus).

Dadurch kann kein molekularbiologischer Test schon vor der Lederherstellung etabliert werden, mit dem eine Poolbildung zur besseren Einstellung der Produkteigenschaften möglich wäre. Für kmUs ergibt sich aber die Möglichkeit, neben den teuren süddeutschen Rohhäuten auch andere Rohhäute einzukaufen, da die erzielten Crusteigenschaften nicht von der sichtbaren Rinderrasse abhängen. Es muss darauf hingewiesen werden, dass wirtschaftliche Gesichtspunkte wie Abfälligkeit und Losnarbigkeit im Projekt nicht beurteilt wurden. Eine Vorsortierung der Rohhäute nach äußeren Gesichtspunkten wie der Rasse ist aber nur bedingt sinnvoll. Sinnvoller ist eine Einteilung in Ausnutzungsfläche und äußeres Erscheinungsbild (Beschädigungen oder Narben).

Ein wichtiges Ergebnis im Projekt ist die Unabhängigkeit der physikalischen Eigenschaften der Crusts von rassespezifischen Markern. Neben rassespezifischen Markern existieren aber auch phänotypisch assoziierte Marker, wie die Einzelnukleotidpolymorphismen (single nucleotide polymorphism, SNP). Seit 2010 hat sich in Deutschland insbesondere bei den Holsteinrindern die genomische Zuchtwertschätzung etabliert. Dabei werden über 50000 SNPs mittels Chips an einer einzigen Ohrstanzprobe gemessen. Diese Marker sind spezifisch für phänotypische Ausprägungen wie Milchleistung, Fleischqualität usw. (Brade and Brade, 2013). Für die Hautqualität sind zwar keine Marker erforscht, doch bieten sich bekannte Marker für die Milchleistung, Wachstum, Fettgehalt, Fleischqualität und z. B. Körpergröße an. Denn diese Faktoren sind zwangsläufig an die Hautqualität gekoppelt. Eine hohe Milchleistung ist meist an schlechte Fleisch- und damit auch Hautqualität gekoppelt (persönliche Aussage Professor Sundrum, Fachgebietsleiter Tierernährung und Tiergesundheit, Universität Kassel, 15.2.2020). Auf Grundlage der Ergebnisse dieses Forschungsprojektes sind demnach weitere Forschungen in Richtung von phänotypisch assoziierten SNPs möglich und notwendig. Dazu ist aber ein Häutepool von Individuen gleicher Rasse, gleichem Geschlecht und gleichem Alter notwendig, um Scheinkorrelationen und Unterstrukturen zu umgehen. Eine solche Untersuchungsgruppe ist bei Häuten schwer auffindbar, da sofort nach dem Eintreffen der Haut beim Häutehändler die Ohrmarke (Information über die Rasse) entfernt wird. Eine wahllose Sammlung der Häute und anschließende molekularbiologische Bestimmung der Rasse bietet sich ebenso nicht an, da dann die Untersuchungsgruppe durch die verschiedenen Rassen kleiner wird und von z. B. 300 gesammelten Rohhäuten nur 100 Simmentaler Rohhäute übrigbleiben, die im schlechtesten Fall die gleichen Zugfestigkeiten aufweisen und somit keine Einteilung in hohe und niedrige Zugfestigkeit mehr stattfinden kann.

Wenn für weitere Forschungen eine geeignete Individuengruppe gefunden werden kann, ist eine Poolbildung von Rohhäuten nach ihren zu erwartenden Crusteigenschaften über SNP-Detektion möglich. Damit ergibt sich eine bessere Ausgangsposition für das Erreichen bestimmter Ledereigenschaften.

6 Verwendung der Zuwendung

-wissenschaftlich-technisches Personal (Einzelansatz A1 des Finanzierungsplans:

FILK: 27,17 PM

Hochschule Mittweida: 8,4 PM

7 Aktualisierter Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft

Der detaillierte Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft ist Tabelle 12 zu entnehmen.

Während der Projektlaufzeit wurde eine Posterpräsentation auf dem IULTCS-Kongress in Dresden (2019) durchgeführt. Zusätzlich wurde im Rahmen der Angewandten Kollagenforschung am FILK am 05.12.2019 ein Vortrag zum Thema des Forschungsprojektes gehalten. Des Weiteren ist ein zusammenfassender Artikel in den Zeitschriften Biomaterials und JALCA geplant.

Obwohl das Ziel des Projektes bezüglich der Vorsortierung von Rohhäuten auf Basis molekularbiologisch bestimmter Rassemerkmale zur Erzielung bestimmter physikalischer Eigenschaften der aus den Rohhäuten hergestellten Leder nicht erreicht werden konnte, sind die Ergebnisse für die Lederindustrie so interessant, dass der Ergebnistransfer wie geplant durchgeführt werden kann.

Tabelle 12. Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft (während der Projektlaufzeit)

Maßnahme	Ziel	Rahmen	Zeitraum
A Projektbegleitender Ausschuss im Rahmen der Sitzungen der Forschungsgemeinschaft Leder			
PA-Sitzungen (min. 3 mal während der Laufzeit des Projektes)	Diskussion der Forschungsergebnisse, Abstimmung der weiteren Vorgehensweise	A1 Projektvorstellung und Diskussion zu den geplanten Arbeiten	11.10.2017
		A2 Darstellung der Ergebnisse, Diskussion zum weiteren Vorgehen	9.10. 2018
		A3 Präsentation und Diskussion der erzielten Ergebnisse, Abstimmung über die Verwertung	24.10.2019
B Aus- und Weiterbildung			
	Verwendung der Ergebnisse in Lehrveranstaltungen	Verwendung der Ergebnisse für die Vorlesungstätigkeit an der TU BA Freiberg, Fak. Werkstoffwissenschaften und in der Ausbildung zum Industriemeister Chemie (Ledertechnik)	
C Publikation auf Fachtagungen			
Projektergebnisse	Ergebnistransfer in die Wirtschaft	IULTCS Congress (Posterpräsentation)	Juni 2019
		Vortrag im Rahmen der Angewandten Kollagenforschung am FILK	Dez. 2019

Tabelle 13. Plan zum Ergebnistransfer in die Wirtschaft nach der Projektlaufzeit.

Publikation in Printmedien			
Berichte	Ergebnistransfer in die Wirtschaft	Abschlussbericht zum Projekt	2020
		Darstellung im Tätigkeitsbericht des FILK	2020
Publikation in Fachzeitschriften	Ergebnistransfer in Wirtschaft und Wissenschaft	World leather, PRO-LEDER, Leder und Häutemarkt, leather international, Journal of molecular biology, Journal of the American Leather Chemists Association	ab 2020
Aus- und Weiterbildung			
	interessante Ergebnisse werden in Lehrveranstaltungen verwendet	Verwendung der Ergebnisse für die Vorlesungstätigkeit an der TU BA Freiberg, Fak. Werkstoffwissenschaften und in der Ausbildung zum Industriemeister Chemie (Ledertechnik)	

8 Literaturverzeichnis

- Brade, P.D.W., Brade, D.E., 2013. Zuchtgeschichte der Deutschen Holsteinrinder. Berichte über Landwirtschaft - Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft 91. <https://doi.org/10.12767/buel.v91i2.25>
- Earl, D.A., vonHoldt, B.M., 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genet Resour 4, 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Excoffier, L., Lischer, H.E., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular ecology resources 10, 564–567.
- Hausam, W., 1952. Die Bedeutung der Rinderrassen für die Lederherstellung. Wissenschaftl. Verl.-Ges. Herfeld, H. (Ed.), 1990. Bibliothek des Leders. Band 1- Die tierische Haut. Frankfurt am Main.
- Jouquand, S., Priat, C., Hitte, C., Lachaume, P., Andre, C., Galibert, F., 2000. Identification and characterization of a set of 100 tri- and dinucleotide microsatellites in the canine genome. Animal Genetics 31, 266–272.
- Porrás-Hurtado, L., Ruiz, Y., Santos, C., Phillips, C., Carracedo, Á., Lareu, M., 2013. An overview of STRUCTURE: applications, parameter settings, and supporting software. Frontiers in genetics 4, 98.
- Pritchard, J.K., Donnelly, P., 2001. Case–Control Studies of Association in Structured or Admixed Populations. Theoretical Population Biology 60, 227–237. <https://doi.org/10.1006/tpbi.2001.1543>
- Pritchard, J.K., Rosenberg, N.A., 1999. Use of Unlinked Genetic Markers to Detect Population Stratification in Association Studies. The American Journal of Human Genetics 65, 220–228. <https://doi.org/10.1086/302449>
- RStudio, 2012. RStudio: Integrated development environment for R (Version 1.2.1335) [Computer software]. Boston, MA.
- Sambraus, H.H. (Ed.), 2011. Atlas der Nutztierassen, 7. Auflage. ed. Eugen Ulmer KG, Stuttgart.
- Schroer, T., 1989. Zur Hautproduktivität der einheimischen Rinder und der Einfluss der Rinderproduktion auf die Rohwarenqualität. Leder- und Häutemarkt 16, 86–113.
- Steel, R.G., Torrie, J., 1960. Principles And Procedures Of Statistics. Mcgraw-Hill Book Company, Inc., New York; Toronto; London.
- Van de Goor, L.H.P., Koskinen, M.T., Van Haeringen, W.A., 2011. Population studies of 16 bovine STR loci for forensic purposes. International journal of legal medicine 125, 111–119.
- van der Werf, J.H.J., Marshall, K., Lee, S., 2007. Methods and experimental designs for detection of QTL in sheep and goats. Small Ruminant Research, Special Issue: The Outlook of Quantitative and Molecular Genetics Applications in Improving Sheep and Goats 70, 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.01.005>