

Salma Faroug Hussain Elzaki

**Improvement of mastitis resistance and
milk production in Sudanese dairy cattle breeds
using genetic association information**



**Verlag Dr. Köster
Berlin**

Humboldt-Universität zu Berlin

Improvement of mastitis resistance and milk production in Sudanese dairy cattle breeds using genetic association information

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum agriculturalarum“ (Dr. rer. agr.)

eingereicht an der

Lebenswissenschaftlichen Fakultät

der Humboldt-Universität zu Berlin

eingereicht von

Salma Faroug Hussain Elzaki

M. Sc. Animal Production

Präsidentin der Humboldt-Universität zu Berlin: Prof. Dr. Julia von Blumenthal

Dekan der Lebenswissenschaftlichen Fakultät: Prof. Dr. Dr. Christian Ulrichs

Gutachter/Gutachterinnen: 1. Prof. Dr. Gudrun Brockmann

2. Prof. Dr. Arne Ludwig

3. PD Dr. Jens Vanselow

Tag der mündlichen Prüfung: 09.12.2022

Summary

The improvement of milk production is a major goal of the Sudanese government to ensure sufficient and healthy nutrition and to increase the income in rural areas. To reach the goal, it is necessary to improve the herd management and feeding practices in the short-term and to establish an effective long-term animal breeding strategy. This can be achieved through improving the performance of indigenous breeds and its crosses. Among the indigenous breeds in Sudan, the *Bos indicus* Zebu cattle Butana is the most-widely used breed for milk production. Butana is known for its adoption to the extreme environmental conditions in Sudan, such as hot climate, low feed availability, lack of water, and tropical diseases and parasites. To increase the productivity of Butana cattle, they were crossed with the high-yielding dairy breed Holstein Friesian. Further, their productivity could be improved by genetic selection for higher milk yield or decreasing susceptibility to mastitis, the main dairy disease affecting milk production worldwide. Therefore, this thesis aimed at contributing to develop such breeding programs for Sudan. The specific aims were (1) the evaluation of the productivity of Sudanese purebred Butana and Butana × Holstein crossbred cattle reared under different management conditions and feeding systems, (2) the analysis of the incidence of mastitis and testing its linkage to known genetic markers in purebred Butana and in Butana × Holstein crossbred cattle as well as in a German Holstein population, and (3) the investigation of the genetic effects of the diacylglycerol acyl transferase 1 (*DGAT1*) gene as the major gene affecting milk yield and composition in Holstein cattle on the milk yield, fat and protein content in purebred Butana and Butana × Holstein crossbred cattle in Sudan.

We tested 10 single nucleotide polymorphisms (SNPs) which have previously been associated with somatic cell score and clinical mastitis in Holstein cattle as well as the well-known *DGAT1* K232A polymorphism for suitability as genetic markers in Butana and Butana × Holstein crossbred cattle. To achieve these goals phenotypic data and blood samples were collected and the genomic DNA was isolated from 93 Butana, 203 Butana × Holstein cattle from Sudan and 437 Holstein cows from a dairy cattle farm in Germany. Animals were genotyped by competitive allele specific PCR assays for those SNPs. Allele frequencies were calculated, and association analysis were performed using linear mixed models in R.

The association analysis with the 10 mastitis SNPs identified two SNPs associated with somatic cell score (SCS) and clinical mastitis (CM) in Holstein cows. One SNP on the X chromosome (rs41629005:30,341,984) was significantly associated with SCS and CM and one SNP on

chromosome 13 (rs109441194:79,365,467) was suggestively associated with CM. In both cases, the minor allele C of each associated SNP was favourable for lower SCS and CM. In contrast, a SNP on chromosome 13 (rs109441194:79,365,467) was suggestively associated with SCS in the Butana × Holstein crossbred population and a SNP on chromosome 19 (rs41257403:50,027,458) was significantly associated with SCS in Butana and in Butana × Holstein crossbred cattle. The minor allele of the two SNPs on chromosomes 13 and 19 showed an increase in SCS in the Sudanese population. We showed that the confirmed SNPs influence SCS and clinical mastitis in multiple breeds, and thus they are good markers for genetic selection against mastitis. Therefore, selection for the favourite allele or against the unfavourable allele could be used for genetic improvement of mastitis resistance in the studied populations and very likely in Butana and Butana × Holstein cattle in general.

Concerning *DGATI*, we observed a very high frequency of the lysine *DGATI* protein variant K232 (rs109234250, Chr14:611,019 G/A) in purebred Butana cattle (0.929) and a lower frequency in Butana × Holstein crossbred cattle (0.394). The association tests showed that *DGATI* influences milk performance traits in Butana × Holstein crossbred cattle by decreasing milk, protein, and lactose yields if the A allele is present. Those results confirm previous studies and show that the investigated *DGATI* marker can be used as a genetic marker in Sudanese Butana × Holstein crossbred cattle and that selection based on this marker should lead to improved milk production. In Butana cattle, the frequency of the high fat content and yield but lower milk yield allele is high.

Zusammenfassung

Die Verbesserung der Milchproduktion ist ein wichtiges Ziel der sudanesischen Regierung, um eine ausreichende und gesunde Ernährung sicherzustellen und das Einkommen vor allem in ländlichen Gebieten zu steigern. Um das Ziel zu erreichen, ist es notwendig, das Herdenmanagement und die Fütterungspraktiken kurzfristig zu verbessern und eine effektive langfristige Tierzuchtstrategie sicherzustellen. Dies kann durch die Verbesserung der Leistung einheimischer Rassen und ihrer Kreuzungen erreicht werden. Unter den einheimischen Rassen in Sudan ist das *Bos indicus* Zebu-Rind Butana die am weitesten verbreitete Rasse für die Milchproduktion und bekannt für seine Anpassung an die extremen Umweltbedingungen in Sudan wie heißes Klima, geringe Futterverfügbarkeit, Wassermangel sowie Tropenkrankheiten und Parasiten. Um ihre Produktivität zu steigern, wurden sie mit der leistungsstarken Milchrasse Holstein Friesian gekreuzt. Darüber hinaus könnte ihre Produktivität durch genetische Selektion für eine höhere Milchleistung oder eine verringerte Anfälligkeit für Mastitis, die häufigsten Milchkrankheiten, die Rinderpopulationen weltweit betreffen, verbessert werden. Um solche Zuchtprogramme zu entwickeln, zielen wir daher darauf ab, (1) die Produktivität von reinrassigen sudanesischen Butana- und Butana x Holstein-Kreuzungsrindern zu bewerten, die unter unterschiedlichen Haltungsbedingungen und Fütterungssystemen aufgezogen und mit Holstein-Kühen zu vergleichen, (2) das Auftreten von Mastitis in Holstein-, Butana- und Butana x Holstein- Rindern zu untersuchen und Testassoziation zwischen identifizierten genetischen Markern, von denen bekannt ist, dass sie mit dem somatischen Zellwert und der klinischen Mastitis bei Holstein-Rindern assoziiert sind, durchzuführen. Darüber hinaus wollen wir die genetischen Wirkungen der Diacylglycerol-Acyl-Transferase 1 (*DGAT1*) als Hauptkandidatengen für Milchleistung, Fettgehalt und Proteingehalt, in Butana- und Butana x Holstein- Rindern untersuchen.

Wir haben 10 Einzelnukleotid-Polymorphismen, die zuvor mit somatischem Zellscore und klinischer Mastitis bei Holstein-Rindern in Verbindung gebracht wurden, und den bekannten *DGAT1*-K232A-Polymorphismus auf ihre Eignung als genetische Marker bei Butana- und Butana x Holstein-Kreuzungsrindern getestet. Um diese Ziele zu erreichen, wurden phänotypische Daten und Blutproben gesammelt und die genomische DNA von 93 Butana, 203 Butana x Holstein-Rindern aus dem Sudan und 437 Holstein-Kühen aus einem Milchviehbetrieb in Deutschland isoliert. Die Tiere wurden durch kompetitive allelspezifische PCR-Assays für diese SNPs genotypisiert, Allelhäufigkeiten berechnet und eine Assoziationsanalyse wurde unter Verwendung linearer gemischter Modelle in R durchgeführt.

Die Assoziationsanalyse mit den 10 Mastitis-SNPs identifizierte, dass zwei SNPs mit dem somatischen Zellwert und der klinischen Mastitis bei Holstein-Kühen assoziiert waren. Ein SNP auf dem X-Chromosom (rs41629005,30,341,984) war signifikant mit SCS und CM assoziiert und einer auf Chromosom 13 (rs109441194,79,365,467) war suggestiv mit CM assoziiert. In beiden Fällen war das Minderheitenallel C jedes assoziierten SNPs günstig für einen niedrigeren SCS und CM. Während der SNP auf Chromosom 13 (rs109441194,79,365,467) in der Butana x Holstein-Kreuzungspopulation suggestiv mit SCS assoziiert war, war das SNP auf Chromosom 19 (rs41257403, 50,027,458) signifikant mit SCS in Butana und in Butana x Holstein-Kreuzungsrindern assoziiert. Das Minderheitenallel beider SNPs auf Chromosom 13 und 19 zeigte eine Zunahme von SCS in der sudanesischen Bevölkerung. Wir haben gezeigt, dass die bestätigten SNPs SCS und CM bei mehreren Rassen beeinflussen und somit gute Marker für die genetische Selektion gegen Mastitis sind. Daher könnte die Selektion auf das bevorzugte Allel oder gegen das ungünstige Allel zur genetischen Verbesserung der Mastitisresistenz in den untersuchten Populationen verwendet werden.

Wir beobachteten eine sehr hohe Frequenz der Lysin-*DGAT1*-Proteinvariante K232 (rs109234250, Chr14:611,019 G/A) bei reinrassigen Butana-Rindern (0,929) und eine geringere Häufigkeit bei Butana x Holstein-Kreuzungsrindern (0,394). Die durchgeführte Assoziationsstudie zeigte, dass *DGAT1* die Milchleistungsmerkmale bei Butana x Holstein-Kreuzungsrindern beeinflusst, indem es die Milch-, Protein- und Laktoseerträge verringert wenn das A-Allel vorhanden ist. Diese Ergebnisse bestätigten frühere Studien und zeigten, dass der untersuchte *DGAT1*-Marker als genetischer Marker bei sudanesischen Butana x Holstein-Kreuzungsrindern verwendet werden kann und dass die Selektion auf der Grundlage dieses Markers zu einer verbesserten Milchproduktion führen sollte.

List of publications

This dissertation is based on the following manuscripts:

1. Validation of somatic cell score-associated SNPs from Holstein cattle in Sudanese Butana and Butana × Holstein crossbred cattle. Elzaki S, Korkuc P, Arends D, Reissmann M, Rahmatalla SA, Brockmann GA. *Tropical Animal Health Production*. 2022;54(50). doi: 10.1007/s11250-022-03048-3.
2. Effects of DGAT1 on milk performance in Sudanese Butana × Holstein crossbred cattle. Elzaki S, Korkuc P, Arends D, Reissmann M, Brockmann GA. *Tropical Animal Health Production*. 2022;54(142). doi: 10.1007/s11250-022-03141-7.
3. Validation of genomic loci affecting somatic cell score and clinical mastitis in German Holstein cattle. Elzaki S, Korkuc P, Brockmann GA. This paper will be submitted shortly.