

5 DISKUSSION

Der Inzuchtkoeffizient nach Wright (1921) quantifiziert als Maß für den Inzuchtgrad eines Individuums oder einer Population den erwarteten Anteil von Genorten mit herkunftsgleichen Allelen. Ein Anstieg des Inzuchtkoeffizienten ist deshalb gleichbedeutend mit einer Homozygotiezunahme bezogen auf zuvor heterozygote Genorte. Die erwartete Homozygotiezunahme bezieht sich dabei auf den Gesamtgenotyp eines Individuums bzw. alle Genorte innerhalb einer Population.

Neben dieser Schätzung ist es seit rund 10 Jahren durch die Entwicklung molekulargenetischer Marker möglich, die Homozygotiezunahme direkt auf der Ebene der DNA zu verfolgen. Neben Multilocus-DNA-Fingerprints (DFPs), Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismen (RFLPs) und zufällig amplifizierter polymorpher DNA (RAPDs) haben Mikrosatelliten die größte Bedeutung erlangt und stellen die am häufigsten kartierten Marker in den Genomkartierungsprojekten bei Nutztieren, insbesondere beim Geflügel, dar (Cheng, 1997).

Auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern konnten Christensen et al. (1996) die Homozygotiezunahme beim Schwein unter enger Inzucht (Anpaarung des Vaters an 4 Töchter einer Sau) beobachten. Eine individuelle Variation des Anteils identisch homozygoter (herkunftsgleicher) Eberallele von 7 bis 47% wurde bei den Nachkommen mit gleichem Inzuchtgrad deutlich. Im Mittel über alle 37 Nachkommen entsprach die realisierte Inzucht mit 25,4% der Erwartung von 25%.

In der vorliegenden Arbeit stand der Vergleich der Entwicklung von Inzucht und Homozygotie in einer seit 1955 nahezu vollständig geschlossenen New Hampshire Linie im Mittelpunkt. In kleinen geschlossenen Populationen nimmt aufgrund der geringen Anzahl an Vorfahren auch bei Zufallspaarung die Wahrscheinlichkeit von Paarungen zwischen verwandten Tieren zu. Ein Anstieg des Inzuchtgrades bei den Nachkommen ist die Folge, der oft mit Inzuchtdepressionen, besonders in frühesten Lebensstadien, verbunden ist. Ingezüchtete Eltern tragen deshalb mit weniger Nachkommen zur nächsten Generation bei. Im Mittel wurde aus diesem Grund eine Überschätzung der Homozygotiezunahme durch den Inzuchtkoeffizienten erwartet, zumal die Zuchttierauswahl nicht zufällig war.

Zur Vermeidung enger Inzucht wurde zur Erhaltung der Linie ein Rotationssystem bei der Anpaarung eingesetzt. Die New Hampshire Linie besteht inzwischen aus 15 Stämmen zu je 9 bis 15 Hennen, die an möglichst entfernt verwandte Hähne angepaart wurden. Das Generationsintervall betrug ein Jahr. Aus den Generationen 1982 und 1994 wurde für eine Stichprobe von 58 bzw. 79 Tieren anhand von Mikrosatelliten-Markern der Homozygotiestatus bestimmt. Die Marker waren hauptsächlich auf den Makrochromosomen lokalisiert ohne Berücksichtigung der Geschlechtschromosomen, ungekoppelt und lagen sowohl in kodierenden als auch in nichtkodierenden Genomabschnitten. Die meisten Marker werden außerdem von der FAO zur Schätzung genetischer Distanzen empfohlen. Zusätzlich wurden Verpaarungen von Vollgeschwistern bis zu 3 Generationen als Tastversuch durchgeführt und analysiert.

Die mit Hilfe der Marker beobachtete Homozygotiezunahme konnte nun mit der auf der Basis der Inzuchtkoeffizienten erwarteten Homozygotiezunahme bei verschiedenen Inzuchtraten verglichen werden.

5.1 Entwicklung der Inzucht in der New Hampshire Linie

Auf der Grundlage des seit 1955 rund 8100 Zuchttiere umfassenden Pedigrees wurden unter Verwendung der Verwandtschaftsmatrix individuelle Inzuchtkoeffizienten berechnet, aus denen der mittlere Inzuchtgrad je Generation abgeleitet werden konnte. Nach 43 Generationen betrug der mittlere Inzuchtgrad 26,6% in der New Hampshire Linie, der für eine kleine, fast vollständig geschlossene Linie als gering einzustufen ist.

Ursächlich wird dieser geringe Anstieg vor allem auf die Vermeidung der Anpaarung eng verwandter Tiere (Rotation der Hähne) zurückgeführt. Die Wirksamkeit des eingesetzten Rotationssystems in der zwischen 145 und 284 Zuchttiere umfassenden Linie konnte mit einem Vergleich effektiver Populationsgrößen gezeigt werden, die zum einen nur anhand der Zuchttieranzahl und zum anderen über den Inzuchtanstieg auf der Basis des Pedigrees geschätzt wurden. Die Berücksichtigung der Paarungsstruktur führte zu einer deutlich höheren effektiven Populationsgröße als die Einbeziehung ausschließlich der Zuchttieranzahlen. Ein ähnliches Ergebnis allerdings im Vergleich des Inzuchtanstiegs aus der Familienvarianz (Gowe et al., 1959) gegenüber der Zuchttieranzahl (Wright, 1931) resultierte aus restriktiver Zufallspaarung bei der Regional Cornell Linie (RCC) (Lowe und

Garwood, 1974). Die Vermeidung enger Verwandtenpaarungen führte hier zu einem 40% geringeren Inzuchtgrad nach 16 Generationen.

Einen weiteren Grund für den geringen Inzuchtanstieg bei den New Hampshire stellt die Anpaarung von 23 fremden Tieren zwischen 1964 und 1975 dar. Dieser Migration ist aber in Relation zur Zuchttieranzahl insgesamt und durch ihren Einfluß auf nur wenige Stämme eine geringere Bedeutung beizumessen.

Die aus der Anzahl der Zuchttiere resultierende effektive Populationsgröße wurde in der New Hampshire Linie für eine weitere Schätzung des Inzuchtanstiegs herangezogen. Der Inzuchtgrad nach 43 Generationen betrug nach Einsatz dieser Methode 43,7%. Diese Differenz zu 26,6% mittlerer Inzucht, die unter Einbeziehung des Stammbaums ermittelt wurde, verdeutlicht den Einfluß der Anpaarungsstrategie, der bei dieser zweiten Schätzung nicht berücksichtigt wird. Während Ameli et al. (1991) sowie Wang und Pirchner (1992) eine tendenziell gute Übereinstimmung von kumulativer Inzucht aus Pedigreedaten und aus der Varianz der Familiengröße bzw. aus der Populationsgröße beobachteten, werteten Gavora et al. (1979) den Inzuchtgrad anhand des Stammbaums von 39% in dem 35-jährigen Cornell S Selektionsversuch sogar als Unterschätzung im Vergleich zu 46% Inzucht, die aus der Zahl der Zuchttiere ermittelt wurde. Als Gründe für die Abweichung werden ebenfalls Import von Zuchttieren, Vermeidung von enger Verwandtenpaarung und Selektion von den Autoren diskutiert.

5.2 Beobachtete Homozygotiezunahme

Die zur Feststellung der Homozygotiezunahme verwendeten Mikrosatelliten-Marker weisen gegenüber anderen molekulargenetischen Markersystemen wesentliche Vorteile auf, die z.B. im Rahmen der Untersuchung genetischer Variabilität von 13 Inzuchtlinien von Zhou und Lamont (1999) deutlich wurden. Beim Vergleich von Mikrosatelliten, RFLPs, DFPs und RAPDs bewerten die Autoren positiv, daß

- Mikrosatelliten im Vergleich zu RFLPs eine größere Variabilität detektieren
- der kodominante Vererbungsmodus im Vergleich zu DFPs eine direkte Beobachtung heterozygoter Genotypen zuläßt
- Mikrosatelliten labortechnisch weniger störanfällig sind als RAPDs.

Wimmers et al. (2000) gruppieren Mikrosatelliten sogar als die zur Zeit beste verfügbare Methode zur Schätzung genetischer Variabilität ein.

Die große Polymorphie dieser Marker kommt in der Anzahl der Allele je Locus und in dem für die Variabilität jeder Population bzw. Linie charakteristischen Heterozygotiegrad zum Ausdruck. Da Inzucht mit einer Abnahme genetischer Variabilität verbunden ist, sind bei den New Hampshire im Vergleich zu kommerziellen und lokalen Linien geringere Allelanzahlen und niedrigere Heterozygotiegrade bei Verwendung gleicher Marker zu erwarten.

Eine Übersicht von Allelanzahlen der verwendeten 23 Mikrosatelliten bei verschiedenen Studien zeigt Tabelle 5.1. Im Vergleich zu den Referenzfamilien (Crooijmans et al., 1996b, Cheng and Crittenden, 1994, Cheng et al., 1995, Khatib et al., 1993), selektierten Broiler- und Legelinien (Crooijmans et al., 1996a), Tieren aus Nigeria ebenso wie zu Lokalrassen dreier Kontinente (Wimmers et al., 1999 und 2000) und einer finnischen Studie (Vanhala et al., 1998) fallen bei den New Hampshire durchgehend geringe Allelanzahlen auf. Nur die Untersuchung von ausschließlich Inzuchtlinien (Zhou and Lamont, 1999) zeigt eine gewisse Übereinstimmung. Diese Ergebnisse können jedoch nur als grobe Orientierung dienen, da sie jeweils Zusammenfassungen der verschiedenen Linien einer Studie darstellen. Darunter fallen auch die Angaben aus den Referenzfamilien, die aus möglichst divergenten Ausgangslinien zur Detektion einer großen Polymorphie entwickelt wurden.

Die Anzahl der bei den verschiedenen Studien zur Schätzung der genetischen Variabilität eingesetzten Mikrosatelliten-Marker variiert zwischen 9 (Vanhala et al., 1998) und 42 (Zhou and Lamont, 1999), wobei die Untersuchungen von Wimmers et al. (1999, 2000) auf 20 bis 22 Markern, die Analyse bei den New Hampshire auf 23 und diejenigen von Crooijmans et al. (1996a) auf 17 Markern basieren. Die Anzahl der zu untersuchenden Loci für eine für das Genom repräsentative Schätzung ist dabei immer in Abhängigkeit vom Stichprobenumfang zu sehen. Je kleiner die Anzahl an Individuen ist, desto mehr Loci sollten untersucht werden. Nei (1978) fordert für 50 Individuen mindestens 25 (Protein-) Loci.

Tabelle 5.1:

Übersicht von Allelanzahlen bei den 23 verwendeten Mikrosatelliten der New Hampshire Linie im Vergleich zu anderen Studien

Mikrosatellit	FAO-Empfehlung	Lage in kodierender Region	Referenzfamilien EL (USA), C (UK) [1] - [4]	9 kommerzielle Broilerlinien (60 Tiere) [5]	6 kommerzielle Legelinien (60 Tiere) [5]	60 Tiere aus Nigeria, an 6 Orten gesammelt [6]	22 Tiergruppen zu 4 bis 20 Tieren lokaler Rassen aus Afrika, Asien und Südamerika, $\Sigma=405$ Tiere [7]	8 Linien zu 13 bis 31 Tieren, $\Sigma=207$ Tiere [8]	23 Inzuchtlinien ($F>0,65$) [9]	New Hampshire Linie 1994, 79 Tiere (Humboldt-Universität zu Berlin)
MCW 1	+		3	4	4	3	5		1	2
MCW 2	+		2	2	2					2
MCW 4	+		4	7	3	5	7			2
MCW 5	+		4	10	8			12		2
MCW 14	+		4	4	2			4		3
MCW 16	+		4	9	2			7		3
MCW 41	+	+	4	3	3					3
MCW 43	+	+	5							3
MCW 49	+	+	5							3
MCW 51	+	+	5							2
MCW 59	+	+	3							2
MCW 75	+	+	5							2
ADL 158	+		6			2	4			2
ADL 176	+		9			3	3			3
ADL 210	+		9			5	5		4	2
ADL 267	+		6			4	4			2
ADL 20			p			5	7		4	3
ADL 39			p			3	3		2	3
ADL 44			p			6	6		2	2
HUJ 2			2			11	8			3
HUJ 6			2			4	5			2
HUJ 7			2			10	7			2
HUJ 8			2				3			1

p: polymorph

[1] Crooijmanns et al., 1996b (MCW 1 - MCW 75)

[2] Cheng et al., 1995 (ADL 158 - ADL 267)

[3] Cheng et al., 1994 (ADL 20 - ADL 44)

[4] Khatib et al., 1993 (HUJ 2 - HUJ 8)

[5] Crooijmanns et al., 1996a

[6] Wimmers et al., 1999

[7] Wimmers et al., 2000

[8] Vanhala et al. 1998 (3 White Leghorn Linien, 3 Linien Finnische Landrasse, 1 Rhode Island Red, 1 Broiler-Hybriden)

[9] Zhou and Lamont, 1999

In der Literatur wird die Tendenz geringerer Variabilität von Mikrosatelliten-Markern bei Inzucht im Vergleich zu kommerziellen oder lokalen Linien nicht nur für die Anzahl Allele je Marker, sondern auch für die Werte der Heterozygotie (Tabelle 5.2) bestätigt.

Bei kommerziellen Broilerlinien wurde ein mittlerer Heterozygotiegrad von 52,7%, bei Legelinien 26,9% (Crooijmans et al., 1996a) und bei kommerziellen und lokalen finnischen Linien zwischen 29,3% und 67,0% (Vanhala et al., 1998) ermittelt. In einer Studie zur Schätzung genetischer Distanzen von 12 kommerziellen, exotischen und ingezüchteten Hühnerlinien mit 15 Mikrosatelliten fanden Ponsuksili et al. (1999) mittlere Heterozygotiegrade zwischen 12,1% und 56,8%. Demgegenüber zeigten die Inzuchtlinien von Zhou und Lamont (1999) bei einem Inzuchtgrad von 65% mit bis zu 12,3% und bei einem Inzuchtgrad von 99% mit maximal 8% Heterozygotie eine deutlich geringere Variabilität. Die untersuchte New Hampshire Linie läßt sich mit im Mittel 38,4% Heterozygotie deutlich unter den kommerziellen und den meisten lokalen Linien, jedoch über der seit 1950 geschlossenen White Leghorn Linie aus Mäkelä mit 29,3% mittlerer Heterozygotie (Vanhala et al., 1998) einordnen.

Tabelle 5.2:

Übersicht der Heterozygotie bei den 23 verwendeten Mikrosatelliten der New Hampshire Linie im Vergleich zu anderen Studien

Mikrosatellit	FAO-Empfehlung	Lage in kodierender Region	9 kommerzielle Broilerlinien (60 Tiere) [1]*	6 kommerzielle Legelinien (60 Tiere) [1]*	8 Linien zu 13 bis 31 Tieren, $\Sigma=207$ Tiere [2]	23 Inzuchtlinien ($F>0,65$) [3]	New Hampshire Linie 1994, 79 Tiere (Humboldt- Universität zu Berlin)
MCW 1	+		0,52	0,33			0,22
MCW 2	+		0,38	0,43			0,30
MCW 4	+		0,63	0,21			0,32
MCW 5	+		0,67	0,55	0,65		0,22
MCW 14	+		0,57	0,26	0,46		0,01
MCW 16	+		0,68	0,16	0,46		0,47
MCW 41	+	+	0,34	0,26			0,62
MCW 43	+	+					0,22
MCW 49	+	+					0,70
MCW 51	+	+					0,71
MCW 59	+	+					0,27
MCW 75	+	+					0,06
ADL 158	+						0,32
ADL 176	+						0,65
ADL 210	+					0,58	0,52
ADL 267	+						0,27
ADL 20						0,40	0,52
ADL 39						0,41	0,89
ADL 44						0,47	0,62
HUJ 2							0,49
HUJ 6							0,28
HUJ 7							0,18
HUJ 8							0,00

* $HE = [2n/2n-1][1-\sum(p_i^2)]$, mit n=Probenumfang, ml=Anzahl Allele am Locus I, pli=Frequenz des i-ten Alleles am Locus I (Nei, 1987)

[1] Crooijmanns et al., 1996a

[2] Vanhala et al. 1998 (3 White Leghorn Linien, 3 Linien Finnische Landrasse, 1 Rhode Island Red, 1 Broiler-Hybriden)

[3] Zhou and Lamont, 1999

Im Vergleich zu Mikrosatellitenanalysen anderer Tierarten und dem Menschen liegen die genannten nicht ingezüchteten Hühnerlinien jedoch im unteren Bereich der ermittelten Heterozygotiegrade (Tabelle 5.3).

Tabelle 5.3:

Übersicht mittlerer Heterozygotiegrade auf der Basis von Mikrosatelliten-Markern bei verschiedenen Tierarten und dem Menschen

Untersuchte Art	Anzahl Mikrosatelliten*	mittlere Heterozygotie	Autor
4 Belgische Schweinerassen	7 (8,4 - 9,7)	0,54 - 0,63	Van Zeveren et al., 1995
Katalonischer Esel	3 (2,0 - 4,0)	0,60	Jordana et al., 1999
Noriker (Tschech. Kaltblut)	5 (3,0 - 8,0)	0,63	Hamanova et al., 1999
7 Keltische Pferderassen	13 (5,4 - 7,8)	0,71 - 0,77	Cañon et al., 2000
5 Spanische Hunderassen	4 (5,0 - 7,0)	0,70 - 0,77	Morera et al., 1999
5 Chinesische Ziegenrassen	6 (7,3 - 8,2)	0,78 - 0,82	Yang et al., 1999
Mensch	30 (6,1-8,9)	0,59 - 0,81	Bowcock et al., 1994

* (mittlere Anzahl Allele je Locus)

Diesem Niveau lassen sich auch die Belgischen Schweinerassen zuordnen (Van Zeveren et al., 1995). Crooijmans et al. (1996a) vermuten, daß diese gegenüber anderen Tierarten und dem Menschen geringeren Heterozygotiegrade landwirtschaftlicher Nutztiere aus starker Selektion und geringen effektiven Populationsgrößen resultieren. Letzteres trifft vor allem bei den katalonischen Eseln zu, die mit einem Populationsumfang von rund 100 Tieren eine gefährdete Rasse darstellen und deren Heterozygotiegrad von 59,5% nun die Grundlage zur Entwicklung von Erhaltungsstrategien bildet (Jordana et al., 1999). Höhere Heterozygotiegrade sind hingegen oft mit einer großen Anzahl Allele je Mikrosatellit verbunden (Bowcock et al., 1994, Yang et al., 1999). Die bedingte Vergleichbarkeit muß hier noch einmal wegen des unterschiedlichen Probenumfangs, den verschiedenen Anpaarungssystemen und den unterschiedlichen Markeranzahlen in den Studien betont werden. Wimmers et al. (2000) weisen zusätzlich daraufhin, daß die ausschließliche Verwendung hochvariabler Loci zu einer Überschätzung genetischer Variabilität führen kann.

Der Informationsgehalt eines Markers (PIC) wird durch die Anzahl Allele und den Heterozygotiegrad an einem Genort bestimmt. Da unter Inzucht tendenziell weniger Allele je Mikrosatellit und geringere Heterozygotiegrade auftreten, werden in diesen Linien geringere PIC-Werte erwartet als in nicht ingezüchteten Linien. Im Vergleich mit Lokalrassen aus 3 Kontinenten (Wimmers et al., 2000), lokalen Hühnerlinien aus Nigeria (Wimmers et al.,

1999) sowie kommerziellen, exotischen und ingezüchteten Linien von Ponsuksili et al. (1999) bestätigen die PIC-Werte der New Hampshire überwiegend diese Erwartung (Tabelle 5.4).

Tabelle 5.4:

Übersicht der PIC-Werte bei den 23 verwendeten Mikrosatelliten der New Hampshire Linie im Vergleich zu anderen Studien

Mikrosatellit	FAO-Empfehlung	Lage in kodierender Region	22 Tiergruppen zu 4 bis 20 Tieren lokaler Rassen aus Afrika, Asien und Südamerika, $\Sigma=405$ Tiere [1]	60 Tiere aus Nigeria, an 6 Orten gesammelt [2]	12 Linien zu 7 - 15 Tieren von Inzucht-, Kommerziellen und Exotischen Linien, $\Sigma=153$ Tiere [3]	New Hampshire Linie 1994, 79 Tiere (Humboldt-Universität zu Berlin)
MCW 1	+		0,20	0,20	0,35	0,19
MCW 2	+					0,27
MCW 4	+		0,60	0,60	0,38	0,25
MCW 5	+					0,18
MCW 14	+					0,39
MCW 16	+					0,55
MCW 41	+	+				0,52
MCW 43	+	+				0,22
MCW 49	+	+				0,59
MCW 51	+	+				0,37
MCW 59	+	+				0,20
MCW 75	+	+				0,11
ADL 158	+		0,36	0,36		0,28
ADL 176	+		0,36	0,36		0,44
ADL 210	+		0,47	0,47		0,32
ADL 267	+		0,50	0,50		0,27
ADL 20			0,54	0,46	0,51	0,55
ADL 39			0,48	0,48	0,34	0,50
ADL 44			0,63	0,63	0,47	0,37
HUJ 2			0,31	0,31	0,34	0,49
HUJ 6			0,60	0,60	0,25	0,33
HUJ 7			0,28	0,28	0,37	0,15
HUJ 8			0,22		0,22	0,00

[1] Wimmers et al., 2000

[2] Wimmers et al., 1999

[3] Ponsuksili et al., 1999

Im Vergleich verschiedener Linien erlaubten die Mikrosatelliten über die Allelanzahl je Marker, den Heterozygotiegrad und den PIC eine grobe Klassifizierung dieser Linien, die im Wesentlichen mit der Zuchtgeschichte harmoniert. Aber nicht nur im Vergleich mit anderen Linien, auch innerhalb der New Hampshire Linie konnte mit Hilfe dieser Marker eine für kleine, geschlossene Populationen charakteristische Entwicklung der Homozygotie beobachtet werden.

In der New Hampshire Linie stieg die anhand von 23 Mikrosatelliten ermittelte Homozygotie von 56,4% in der Generation 1982 auf 61,6% in der Generation 1994 an. Jedoch konnte in Abhängigkeit von der Lage der Marker in kodierenden und nichtkodierenden Genomabschnitten ein Unterschied hinsichtlich der Entwicklung der Homozygotie beobachtet werden. Bei den 6 Markern in kodierenden DNA-Bereichen trat mit zunehmendem Inzuchtgrad eine Abnahme der Homozygotie auf, während die Mehrheit von 17 Markern in nichtkodierenden Bereichen eine deutliche Homozygotiezunahme zeigte und damit das Gesamtergebnis beeinflusste. Mögliche Einflüsse der niedrigen Inzuchtrate und der durchgeführten Selektion zur Erhaltung der New Hampshire Linie sowie die Bedeutung der 6 Gene werden im folgenden Abschnitt 5.3 diskutiert.

Ein Vergleich der beobachteten mit der im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht erwarteten Heterozygotie je Locus in der New Hampshire Linie ergab eine überwiegend größere beobachtete als erwartete Heterozygotie. Als Gründe für Abweichungen von der Erwartung werden in vergleichbaren Studien (Vanhala et al., 1998, Wimmers et al., 2000) Inzucht, Selektion und Substrukturierung der Linien als Ausdruck der Diskrepanz zur idealen Population und Null-Allele, fehlerhafte Genotypisierung oder Assoziation von Markern mit Genen als methodische Argumente angeführt.

Wenn die Abweichungen, wie auch bei den New Hampshire, nicht systematisch (nur in eine Richtung positiv oder negativ) auftreten, können Inzucht und Selektion als alleinige Ursachen ausgeschlossen werden (Wimmers et al., 2000). Die Berechnung des Erwartungswertes wurde zudem dem Inzuchtgrad angepaßt. Mit der Teilung der Linie in Stämme war eine Substrukturierung bereits vorgegeben. Null-Allele würden verstärkt zu homozygoten Genotyp-Interpretationen führen (Callen et al., 1993, Pemberton et al., 1995) und wurden von Vanhala und Mitarbeitern (1998) als eine mögliche Ursache für die geringere beobachtete als erwartete Heterozygotie in

ihrer Untersuchung angeführt. Für die verwendeten Mikrosatelliten bei den New Hampshire wurden keine Null-Allele beschrieben. Alle Allele waren durch mindestens 2 Nucleotide voneinander getrennt, so daß die Schwierigkeiten bei der Typisierung, die Vanhala et al. (1998) mit Allelen hatten, die sich nur durch ein Mononucleotid unterschieden, methodisch nicht auftraten.

Der Aspekt einer von Vanhala et al. (1998) vermuteten Assoziation von Markern mit ökonomisch bedeutsamen Merkmalen erscheint in diesem Zusammenhang aber durchaus bemerkenswert, denn einerseits liegen 6 der 23 verwendeten Mikrosatelliten innerhalb kodierender DNA-Regionen und unterscheiden sich in ihrer Homozygotieentwicklung von den übrigen 17 Markern, andererseits waren die Selektionsmaßnahmen zur Erhaltung der Linie so wirkungsvoll, daß Inzuchtdepressionen bei geringer Inzuchtrate kompensiert werden konnten. Einen ebenfalls erhöhten Heterozygotiegrad und eine größere Allelzahl bei Mikrosatelliten innerhalb oder nahe der MHC-Region des Chromosoms 20 konnten Bruzzone et al. (2000) unter künstlicher Selektion der Merkmale Milch und Wolle bei Schafen beobachten. Ein ähnliches Ergebnis resultierte auch aus der Analyse von 4 Mikrosatelliten bei Larven der Speiseauster von Bierne et al. (1998). Diese Arbeitsgruppe fand nach der Paarung von Vollgeschwistern aus 2 Familien einen Heterozygotenüberschuß, der zum einen auf Selektion hinsichtlich Vitalität in frühen Larvenstadien hindeutet und zum anderen unter der Annahme der Neutralität der Mikrosatelliten-Marker eine Kosegregation mit Fitness-assoziierten Genen nahelegt. Das unterschiedliche Verhalten der Mikrosatelliten in kodierenden und nichtkodierenden DNA-Bereichen bei den New Hampshire bei einer geringen Inzuchtrate mit Selektion scheint deshalb nicht zufällig zu sein.

5.3 Interpretation von Inzucht- und Homozygotieentwicklung unter Berücksichtigung von Inzuchtrate und Selektion

In der Literatur wurden zur Beobachtung der Homozygotiezunahme bei steigendem Inzuchtgrad sowohl Proteinpolymorphismen als auch hypervariable DNA-Abschnitte verwendet. Jedoch erfolgte ein Vergleich genetischer Variabilität häufig zwischen diversen Linien

- unter Inzucht (z.B. mit DFP und RAPD beim Huhn, Plotsky et al., 1995, oder mit 42 Mikrosatelliten beim Huhn, Zhou and Lamont, 1999),
- unter Inzucht und Selektion (z.B. anhand von 16 Enzymloci bei *Drosophila melanogaster*, Frankham et al., 1993),
- oder unter Inzucht und verschiedenen Paarungsstrategien (z.B. mit 7 Mikrosatelliten bei der Maus, Brockmann und Langhammer, 1998)

ohne einen direkten Vergleich mit der erwarteten Homozygotiezunahme aus Inzuchtschätzungen. Beim direkten Vergleich der Erwartung aus Pedigreeinformationen und 6 Proteinloci beobachteten Mina et al. (1991) bei Hühnern mit einem Inzuchtgrad zwischen 95 und 99% und Rumball et al. (1994) bei Vollgeschwister- bzw. doppelter Erstcousinverpaarung von *Drosophila melanogaster* übereinstimmend einen Heterozygotieüberschuß. Im Gegensatz dazu konnten Kuhnlein et al. (1990) beim Huhn, Pitra et al. (1996) beim Pferd und Zhu et al. (1996a) bei der Pute eine lineare Beziehung zwischen Inzuchtkoeffizienten und Parametern des DFP herstellen. Unter Einbeziehung von überwiegend Mikrosatelliten gelang es Christensen und Mitarbeitern (1996) beim Schwein nach Vater-Tochter-Paarung ($F=0,25$) einen realisierten Inzuchtgrad von 25,4% mit einer erwarteten individuellen Variationsbreite von 7 bis 47% nachzuweisen. Sie werteten dabei das identisch homozygote Auftreten der Eberallele aus.

In der New Hampshire Linie steht dem Inzuchtanstieg von 18,8% in der Generation 1982 auf 24,3% in der Generation 1994 eine Homozygotiezunahme von 56,4% auf 61,6% gegenüber. Die erwartete Homozygotiezunahme aus dem mittleren Inzuchtanstieg für die Generation 1994 bezieht sich dabei auf die vorhandene Restheterozygotie von 43,6% in der Generation 1982. Im Vergleich steigt die anhand von 23 Mikrosatelliten beobachtete Homozygotie damit stärker an als durch den Anstieg des mittleren Inzuchtkoeffizienten zu erwarten wäre. Die gleiche Tendenz ist in den 3 Familien unter Vollgeschwisterpaarung zu beobachten.

Eigentlich wäre das Gegenteil zu erwarten, nämlich eine Überschätzung der Homozygotiezunahme durch den Inzuchtkoeffizienten, weil neben natürlicher Selektion bei den New Hampshire künstliche Selektion zur Erhaltung der Linie gewirkt hat und nach der Theorie vermehrt heterozygote Tiere überleben würden (Pirchner, 1983).

Bei der Interpretation der Ergebnisse sind einerseits bezüglich der Beobachtung des Homozygotiestatus mit Mikrosatelliten-Markern und andererseits auch hinsichtlich der Paarungsstrategie in der New Hampshire Linie einige Charakteristika zu berücksichtigen.

Die Auswahl der Marker aus kodierenden und nichtkodierenden Genombereichen hatte eine unterschiedliche Entwicklung der Homozygotie bei verschiedenen Inzuchtraten mit und ohne Selektion zur Folge.

Während bei geringer Inzuchtrate in der New Hampshire Linie bei den 6 Markern in kodierenden Bereichen eine Homozygotieabnahme auftrat, die von der Homozygotiezunahme der 17 Mikrosatelliten in nichtkodierenden Bereichen insgesamt überdeckt wurde, war unter Vollgeschwisterpaarung eine stärkere Homozygotiezunahme der 6 Marker in kodierenden Bereichen im Vergleich zu den 17 Mikrosatelliten in nichtkodierenden Bereichen zu beobachten. Allerdings sind bei der gesamten Interpretation der Ergebnisse aus Vollgeschwisterpaarung die geringen Tieranzahlen zu berücksichtigen, bei denen die individuelle Variation des Homozygotiegrades bei gleichem Inzuchtgrad, die bereits Christensen et al. (1996) zeigen konnten, verstärkt zum Ausdruck kommt. Insgesamt sind sich die Tiere ähnlicher als Vollgeschwister aufgrund der Inzuchtsteigerung in der geschlossenen Linie bis 1996. Hervorzuheben bleibt, daß unter Vollgeschwisterverpaarung keine Zuchttierauswahl, wie zur Erhaltung der Linie üblich, stattfand. Die Reproduktionsleistung war hier durch Inzuchtdepressionen so stark beeinträchtigt, daß der Versuch nach der 3. Generation nicht fortgesetzt werden konnte.

Unter Provokation höchster Inzuchtraten treten diese und ähnliche Leistungseinbußen vor allem in den ersten Nachkommengenerationen auf (Woodard et al., 1983). Wenn dabei nicht selektiert wird, können der Abfall reproduktiver Fitneß und mangelnde Vitalität ursächlich für das Aussterben nicht nur von Familien sondern von kompletten Linien verantwortlich sein (Abplanalp and Woodard, 1967, Kulenkamp et al., 1973, Sittmann et al., 1966,

Woodard et al., 1982 und 1983). Kulenkamp et al. (1973) und Woodard et al. (1983) schlagen deshalb zur Erhaltung der Inzuchtlinien Selektion während der engen Inzucht, besonders nach der ersten Vollgeschwisterpaarung, vor.

Auf natürliche Selektion wird die individuelle Variation des Homozygotiestatus bei gleichem Inzuchtkoeffizienten von Rumball et al. (1994) zurückgeführt. Natürliche Selektion favorisiert heterozygote Tiere mit dem Ziel, die genetische Anpassungsfähigkeit zu erhalten. Unter verschiedenen zumeist extremen Inzuchtraten bei Hühnern und *Drosophila* konnten Mina et al. (1991) und Rumball et al. (1994) anhand der Variabilität von 6 Proteinloci einen Heterozygotieüberschuß gegenüber der Erwartung aus der Inzuchttheorie und damit eine Verzögerung von Fixation feststellen. Eine andere Form natürlicher Selektion gegen Inzucht konnten Coltman et al. (1999) bei einer kleinen Inselformation von Schafen auf der Ebene der DNA mit Hilfe von 14 Mikrosatelliten beobachten. Heterozygote Tiere zeigten sich widerstandsfähiger gegen gastrointestinale Nematoden als vermehrt ingezüchtete Tiere und trugen damit zur Erhaltung genetischer Variabilität bei. Selbst bei der Erstellung von Hühner-Inzuchtlinien zu Forschungszwecken konnten Zhou und Lamont (1999) nach fast 100 Generationen Vollgeschwisterpaarung mit Mikrosatelliten und Plotsky et al. (1995) mit Hilfe von DFPs bzw. RAPDs noch eine Restvariabilität feststellen, die nach der Theorie nicht mehr vorhanden sein dürfte. Diese Beobachtung der verzögerten Fixation konnte, allerdings nur unter geringer Inzuchtzunahme je Generation in der New Hampshire Linie, durch die Marker in kodierenden Bereichen bestätigt werden. Die bei Vollgeschwisterpaarung stärkere Homozygotiezunahme in kodierenden Bereichen ohne Selektion könnte ein Anzeichen dafür sein, daß die Familie vom Aussterben bedroht ist, denn der Heterozygotieüberschuß der Proteinloci wurde ebenso wie die Restvariabilität auf der Ebene der DNA bei überlebenden Linien festgestellt.

Neben natürlicher Selektion läßt die Entwicklung der Leistungsmerkmale Gewicht, Eizahl und Reproduktion in der New Hampshire Linie auf eine zur Erhaltung der Linie ausgerichtete, wirksame Zuchttierauswahl schließen. Die Leistungssteigerungen bei diesen Merkmalen können als Kompensation von Inzuchtdepressionen durch künstliche Selektion bei geringem Inzuchtzuwachs je Generation interpretiert werden (Pirchner, 1983). Im Vergleich zu einer an der Universität von California Davis gehaltenen New Hampshire Langzeit-Inzuchtlinie mit einem mittleren Inzuchtgrad von rund 80% (Abplanalp, 1992) ist die untersuchte New Hampshire Linie vor allem in der Legeleistung und

dem Merkmal Eigewicht weit überlegen. Die Reproduktionsleistungen sind trotz des großen Inzuchtunterschieds in etwa vergleichbar.

Doch nicht nur bei geringen Inzuchtraten, selbst bei engster Inzucht stellte sich z.B. die künstliche Selektion auf reproduktive Fitneß (Frankham et al., 1993, *Drosophila*), Lebensfähigkeit (Garcia et al., 1994, *Drosophila*), verschiedene Eiproduktionsmerkmale (Ibe et al., 1983, Sewalem et al., 1999) oder Körpergewicht (Cahaner, 1984) bezogen auf das Selektionskriterium als effektiv heraus. Diese Effektivität kann damit erklärt werden, daß unter Inzucht auch die schädlichen Allele der Homozygotiezunahme unterliegen und die Tiere aufgrund schwächerer Leistungen nicht zur Zucht ausgewählt werden. Auf diese Weise können Linien von Inzuchtdepressionen „gereinigt“ werden (Hedrick, 1994, Latter et al., 1995), vor allem wenn es sich um schädliche Gene mit großem Einfluß (z.B. Lethalgene) handelt. Vor diesem Hintergrund wurde in der New Hampshire Linie unter Berücksichtigung der beobachteten Leistungssteigerungen eine gewisse Inzuchtresistenz vermutet, die sich jedoch nach der Vollgeschwisterpaarung als Tastversuch als nicht zutreffend herausstellte.

Die kleinen Vorteile im Selektionskriterium können allerdings in Abhängigkeit von der Inzuchtrate durch unerwünschte Veränderungen in nicht selektierten Merkmalen überschattet werden (Ibe et al., 1983). Zusätzlich besteht die Gefahr, vermehrt Tiere aus leistungsstarken Familien auszuwählen, so daß die Nachkommen größtenteils aus eng verwandten Tieren bestehen. Damit kann Selektion ohne Berücksichtigung von Familienstrukturen auch in entgegengesetzter Richtung wirken und Inzucht fördern (Brockmann und Langhammer, 1998, Krieter, 1995). Neben dem Selektionskriterium und der Anpaarungsstruktur spielt auch die Anzahl der selektierten Nachkommen in der nächsten Generation eine entscheidende Rolle (Fernández and Toro, 1999).

Mit genetischen Markern konnte sowohl die Homozygotieförderung durch künstliche Selektion als auch die Verzögerung von Fixation nachgewiesen werden. Brockmann und Langhammer (1998) gelang mit Mikrosatelliten-Markern der Nachweis, daß künstliche Selektion auf Körpergewicht bei Mäusen mit einem stärkeren Inzuchtzuwachs und größeren Allelverlusten einher geht als bei Anpaarungen unter Vermeidung enger Inzucht bei gleicher effektiver Populationsgröße. Eine Verlangsamung der Fixationsrate konnten Frankham und Mitarbeiter (1993) durch künstliche Selektion auf reproduktive

Fitneß unter enger Inzucht anhand von 2 Proteinloci bei *Drosophila* feststellen. Ähnliche Ergebnisse lieferten auch Mikrosatelliten (Bierne et al., 1998) und DFPs (Signer et al., 1999). Als Ursache für den Heterozygotieüberschuß werden entweder Vorteile an den untersuchten Orten selbst (Überdominanz, Mina et al., 1991, Wang and Hill, 1999) oder eine Kopplung des Markers zu einem für die Lebensfähigkeit wichtigen Locus (assoziative Überdominanz) diskutiert (Mina et al., 1991, Rumball et al., 1994, Bierne et al., 1998, Signer et al., 1999, Wang and Hill, 1999). In der untersuchten New Hampshire Linie bezog sich die Heterozygotiezunahme auf 4 von 6 Markern innerhalb von Genen. Die Überdominanztheorie könnte hier vor allem

- für den Marker MCW 41 im Ovalbumin, das in der Embryonalentwicklung in Organe und das Zentrale Nervensystem migriert (Sugimoto et al., 1999),
- den Marker MCW 49 im lysosomalen Membranglycoprotein, das diese Membranstruktur und -funktion schützt (Hauck and Meyer, 1997) und Abwehraufgaben übernimmt (Karlsson et al., 1996)
- und den Marker MCW 59 im Herz-Phosphopholamban als Schlüssel-Regulator der Herzfunktion in der Diastole (McTiernan et al., 1999)

gelten, wenn Kopplung mit den Allelen dieser Gene vorausgesetzt wird. Ein Heterozygotenvorteil vor dem Hintergrund der beobachteten Leistungssteigerung bei geringer Inzuchtrate und Zuchttierauswahl ist denkbar, denn bei hoher Inzuchtrate ohne Selektion werden Inzuchtdepressionen und vor allem bei diesen 3 Loci Tendenzen der Heterozygotieabnahme in den einzelnen Familien der Vollgeschwisterpaarung deutlich.

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß Selektion einen Eingriff in das Gleichgewicht der Gen- und Genotypenfrequenzen einer Population bedeutet, so daß Abweichungen in der Vorhersage der Homozygotiezunahme durch den Inzuchtkoeffizienten wahrscheinlich werden (Groen et al., 1995). Vermutlich wird die Vorhersage zusätzlich durch ihre Abhängigkeit von der Ausgangsheterozygotie, die Lage der Mikrosatelliten-Marker in kodierenden und nichtkodierenden Genomabschnitten und die Anpaarungsstrategie in der New Hampshire Linie beeinflusst.