Charakterisierung von Heterosiseffekten für Wurfgröße bei der Maus durch DNA-Marker-Analysen

Digitale Dissertation

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum agriculturarum

(Dr. rer. agr.)

eingereicht an der

Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät

der Humboldt-Universität zu Berlin

von Dipl.-Agr.-Ing. Ute Philipp

19.09.1969 in Potsdam

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Dr. h. c. H. Meyer

Dekan der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät

Prof. Dr. Dr. h. c. E. Lindemann

Berlin, im Dezember 1997

Gutachter

1. Prof. Dr. G. Leuthold
2. Prof. Dr. H. Geldermann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1997

Für meine Eltern

Rita und Eckhard Kienitz

Charakterisierung von Heterosiseffekten für Wurfgröße bei der Maus durch DNA-Marker-Analysen

Langjährige Forschungsarbeiten konnten die genetische, biochemische und physiologische Basis der Heterosis bis heute nicht klären. Das Promotionsprojekt ist Bestandteil eines längerfristigen Heterosisforschungsprojektes zur molekulargenetischen Charakterisierung der Ursachen von Heterosis. Ziel der Dissertation ist die Analyse von Chromosomenregionen bei der Maus, von denen ein Einfluß auf die Entstehung von Heterosis für Fruchtbarkeit ausgeht. Dabei wurde sowohl die Superdominanz- als auch die Dominanztheorie der Heterosis berücksichtigt. Es wurde eine reziproke Kreuzung der Inzuchtstämme C57BL/6J und Balb/cJ mit anschließendem F_1-Interkross zur Erzeugung einer F_2-Generation durchgeführt. Von den 948 weiblichen F_2-Tieren sind Leistungsgruppen mit extrem hoher und niedriger Wurfgröße gebildet worden, um an diesen Tieren 56 Mikrosatelliten zu analysieren. Die Mikrosatelliten sind im Genom der Maus in einem durchschnittlichen Abstand von 32 cM lokalisiert. 12 von diesen Mikrosatelliten charakterisieren DNA-Loci mit Assoziationen zur Fruchtbarkeit. Entsprechend den Analysen nach der Superdominanztheorie der Heterosis konnte für sechs Mikrosatelliten eine signifikante Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße nachgewiesen werden. Die Mikrosatelliten charakterisieren Regionen auf den Chromosomen 17 (18,2 - 22,3 cM), 18 (50 cM) und 19 (8 - 12 cM). Auf Chromosom 17 befinden sich in diesem Bereich die mit Fruchtbarkeit assoziierenden Gene Ped (Preimplantation embryonic development, 19,5 cM), Cyp21a1 (Cytochrome P450, 21, steroid 21 hydroxylase, 18,7 cM) und H2 (Histocompatibility-2, MHC, 23 cM). Nach dem Dominanzmodell zur Erklärung von Heterosis konnte für zwei Mikrosatelliten eine signifikante Beziehung zwischen dem Anteil Genotypen mit dominantem Leistungsallel und der Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Die Mikrosatelliten sind auf Chromosom 5 (72 und 88 cM) lokalisiert. In diesen chromosomalen Regionen befinden sich die mit Fruchtbarkeit assoziierten DNA-Loci Pdgfa (Plateled derived growth faktor alpha, 77 cM) und Pmv12 (Polytropic murine leucemia virus-12, 88 cM).

Schlagwörter: Heterosis, DNA-Marker, Fruchtbarkeit, Maus

Characterization of heterotic effects in litter size using DNA marker analyses in mice

Long dated research could not explain the genetic, biochemical and physiological base of heterosis up to date. The dissertation project is a part of a long term heterosis research project concerning the molecular genetic characterization of the reasons of heterosis. The objective of the dissertation was to find out chromosomal regions of the mouse with a presumable influence on the rise of heterosis in fertility. Both the overdominance and the dominance theory of heterosis have been considered. A reciprocal cross of inbred strains C57BL/6J and Balb/cJ with following F_1 intercross was accomplished to establish a F_2 generation. From the 948 female F_2 animals were formed performance groups with extreme high and low litter sizes to analyse 56 microsatellites on these animals. The microsatellites are located in an average distance of 32 cM in the mouse genome. Twelve of these microsatellites characterize DNA loci with associations to fertility. Corresponding to the analyses based on the overdominance theory of heterosis a significant correlation between the degree of heterozygosity and heterosis in litter size have been demonstrated for six microsatellites. The microsatellites characterize regions on the chromosomes 17 (18.2 - 22.3 cM), 18 (50 cM), and 19 (8 - 12 cM). The DNA loci Ped (Preimplantation embryonic development, 19,5 cM), Cyp21a1 (Cytochrome P450, 21, hydroxylase, 18,7 cM) and H2 (Histocompatibility-2, MHC, 23 cM) showing associations to fertility are located on chromosome 17 in these region. On the base of dominance theory as the reason of heterosis a significant relation between the portion of genotypes with dominant performance allel and heterosis in litter size have been found for two microsatellites. The microsatellites are located on chromosome 5 (72 and 88 cM). The DNA loci Pdgfa (Plateled derived growth factor alpha, 77 cM) and Pmv12 (Polytropic murine leucemia viruses 12, 88 cM) with known associations to fertility are located on these chromosomal regions.

Keywords: heterosis, DNA marker, fertility, mouse

Inhaltsverzeichnis

1	**Einleitung**	**7**
2	**Literaturübersicht**	**8**
2.1	Heterosis	8
2.1.1	Hypothesen über die Ursachen der Heterosis	9
2.1.1.1	Superdominanzhypothese	9
2.1.1.2	Dominanzhypothese	10
2.1.1.3	Epistasiehypothese	10
2.1.2	Bedeutung verschiedener Heterosishypothesen	11
2.1.3	Formen der Heterosis	13
2.2	Stand der Heterosisforschung	15
2.2.1	Heterosisforschung in der Pflanzenzucht	16
2.2.2	Heterosisforschung in der Tierzucht	20
2.2.3	Bedeutung und Nutzung der Heterosis in der Landwirtschaft	22
2.3	Die Wurfgröße als quantitatives Merkmal	23
2.4	DNA-Loci mit Assoziationen zur Fruchtbarkeit	26
3	**Material und Methoden**	**30**
3.1	Material	30
3.1.1	Tiere	30
3.1.2	Labormaterialien	30
3.1.3	Puffer und Lösungen	31
3.1.4	Geräte	32

3.2 Methoden 33
3.2.1 Zuchtversuch 33
3.2.2 Bildung von Tiergruppen mit unterschiedlicher Wurfgröße 34
3.2.3 Recherchen in der Datenbank Mouse Genome Database zur Auswahl von Mikrosatelliten 35
3.2.4 Auswahl von Mikrosatelliten 36
3.2.5 Isolierung genomischer DNA aus Gewebe 43
3.2.6 Kontrolle der DNA 43
3.2.7 Analyse von Mikrosatelliten mit Hilfe der Silbernitratfärbung 44
3.2.7.1 Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern 44
3.2.7.2 Polyacrylamidgel-Elektrophorese zur Auftrennung unmarkierter Mikrosatelliten 47
3.2.8 Analyse von Mikrosatelliten mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten 48
3.2.8.1 Amplifizierung von Mikrosatelliten mit fluoreszenzmarkierten Primern 48
3.2.8.2 Polyacrylamidgel-Elektrophorese zur Auftrennung von Mikrosatelliten im A.L.F.-Sequenzierautomaten 49
3.2.9 Schätzung des Dominanzgrades 51
3.2.10 Statistische Auswertung der Ergebnisse 51
3.2.10.1 Statistische Analyse von Geneffekten 52
3.2.10.2 Berechnung der Allelfrequenzen für Mikrosatellitenloci 52

4 Ergebnisse 54

4.1 Zuchtversuch 54
4.1.1 Wurfgrößen der Tiere der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ 54
4.1.2 Heterosiseffekte für das Leistungsmerkmal Wurfgröße 55
4.1.3 Wurfgrößen von Tieren verschiedener Leistungsgruppen 56

4.2 DNA-Analytik zur Typisierung von Mikrosatelliten 58
4.2.1 Isolierung genomischer DNA aus Gewebe 58
4.2.2 Darstellung der Mikrosatelliten im Polyacrylamidgel 59
4.2.3 Schätzung des Dominanzgrades 60

4.2.4 Ergebnisse der statistischen Analyse von Geneffekten 64
4.2.5 Heterozygotiegrad von F_2-Tieren verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße 69
4.2.6 Allelfrequenzen von Mikrosatellitenloci 71
4.2.7 Vergleichende Analyse von zwei eng gekoppelten Mikrosatellitenloci 72

5 Diskussion 74

5.1 Beiträge experimenteller Arbeiten zur Heterosisforschung am Tier 74
5.2 Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ 74
5.3 Auswahl verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2 75
5.4 Stichprobengröße von Leistungsgruppen ausgewählter F_2-Tiere 76
5.5 Mikrosatelliten zur Charakterisierung von F_2-Tieren verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße 77
5.6 DNA-Analytik zur Typisierung von Mikrosatelliten 78
5.7 Analyse von Heterosiseffekten mit Hilfe von Markerloci 80
5.7.1 Statistische Analyse von Mikrosatelliten auf der Grundlage des Superdominanzmodells der Heterosis 80
5.7.2 Statistische Analyse von Mikrosatelliten auf der Grundlage des Dominanzmodells der Heterosis 82
5.8 Allelfrequenzen und Heterozygotiegrade von Mikrosatelliten in den Leistungsgruppen 83
5.9 Schlußfolgerungen und Ausblick 84

6 Zusammenfassung 86

7 Literaturverzeichnis 88

Abkürzungsverzeichnis

A.L.F.	Automatic Laser Fluoreszenz
APS	Ammoniumpersulfat
ATP	Adenosintriphosphat
bp	Basenpaare
cM	centi Morgen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	2’-Desoxynukleosid-5’-triphosphat
E_{260}	Extinktion bei 260 nm
E_{280}	Extinktion bei 280 nm
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
F_1	erste Kreuzungsgeneration
F_2	zweite Kreuzungsgeneration
LG	Leistungsgruppe
MGD	Mouse Genome Database
Mit	Massachusetts Institute of Technology
MHS	Malignes Hyperthermie-Syndrom
P	Parentalgeneration
PAA-Gel	Polyacrylamidgel
QTL	Quantitative Trait Loci
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RRS	Reziprok Rekurrente Selektion
OD	Optische Dichte
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoff-Ionen-Konzentration
PCR	Polymerase Chain Reaktion
SSLP	Simple Sequence Length Polymorphism
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris-Borat-EDTA
TEMED	N,N,N’,N’-Tetramethylethylendiamid
UV	Ultraviolett
x g	x Erdbeschleunigung

1 Einleitung

Die erfolgreiche Nutzung der Heterosis in der Tierzüchtung setzt eine wirksame Selektion von zwei oder mehreren Populationen auf ihre spezielle Kombinationseignung voraus. Dies führt in der Nutztierzüchtung aufgrund der geringen Vermehrungsraten und des großen Generationsintervalls landwirtschaftlicher Nutztiere zu erheblichen organisatorischen und finanziellen Aufwendungen. Nach LEUTHOLD (1972) sollte somit versucht werden, mit Hilfe von biochemischen und genphysiologischen Kennwerten Hinweise auf Loci zu gewinnen, die für die wiederholte Auslösung von Heterosis bei ökonomisch relevanten Merkmalen von Interesse sind.

Zahlreiche Forschungsprogramme konnten die genetische, biochemische und physiologische Basis der Heterosis nicht ausreichend klären (z.B. SAX, 1923; HIERL, 1976; STUBER, 1986; MENG et al., 1996) . Eine exakte Vorhersage der Heterosis aus der phänotypischen Leistung der Elterntiere scheint nicht möglich (MOSER und LEE, 1994; GAVORA et al., 1996), so daß die Feststellung der speziellen Kombinationseignung über Testanpaarungen weiterhin notwendig ist. Die Auswahl der günstigsten Paarungspartner anhand eines molekulargenetischen Tests zur Marker-gestützten Vorhersage von Heterosis wäre von großem Interesse. In der Tierzüchtung wird zur Charakterisierung der Ursachen der Heterosis mittels DNA-Markern von BRUNSCH et al. (1994, 1995, 1997) ein Forschungsansatz beschrieben, der sich auf die zahlreichen verfügbaren Inzuchtlinien des Modelltieres Maus stützt.

Die vorliegende Arbeit ist Bestandteil eines längerfristigen Forschungsprojektes, das sich mit der molekulargenetischen Charakterisierung von unter Fruchtbarkeitsselektion stehenden Genloci am Modelltier Maus beschäftigt. Das Heterosisprojekt verfolgt das Ziel, geeignete Paarungspartner für Hybridzuchtprogramme mit Hilfe einer molekulargenetischen Analyse auszuwählen, d.h. Heterosiseffekte auf der Basis von Markergenen vorhersagen zu können (LEUTHOLD, 1993). Dazu werden DNA-Marker (Mikrosatelliten), die in zahlreichen Inzuchtlinien polymorph sind, an F_2-Tieren verschiedener Inzuchtlinienkreuzungen typisiert. Das Promotionsprojekt beinhaltet die Auswertung der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ mit dem Ziel, für Fruchtbarkeits-Heterosis relevante Chromosomenregionen zu ermitteln.

2 Literaturübersicht

2.1 Heterosis

Heterosiserscheinungen wurden bereits 1766 von KÖLREUTER an Pflanzenkreuzungen beschrieben. 1868 erkannte DARWIN, daß Kreuzungen von genetisch unterschiedlichen Eltern oft Nachkommen mit stark überlegener Leistung hervorbringen, dagegen Kreuzungen eng verwandter Individuen (Inzucht) besonders unterlegene Leistungen zeigen (in FISCHER, 1978). 1914 wurde von SHULL der Heterosisbegriff geprägt. Er stellte fest, daß Heterosis und Inzuchtdepression als zwei Aspekte desselben Phänomens betrachtet werden können.

Das Streben nach einer möglichst genauen Definition bei bisher ungeklärter genetischer Ursache führte zu vielfältigen Begriffsbezeichnungen wie z.B. „Hybridvigor", „Bastardwüchsigkeit", „Luxurieren" sowie „Kombinationseffekt" und „Hybrideffekt". Die Begriffe „Kombinations- und Hybrideffekt“ wurden bereits als nicht korrekt interpretiert, da Heterosis als positiver Leistungszuwachs eines quantitativen Merkmals definiert ist und Kombinations- und Hybrideffekte auch negativ bzw. an qualitativen, für den Züchter ökonomisch uninteressanten Merkmalen, auftreten können. SCHNELL (1961) stellte folgende Definition der Heterosis auf: „Mit Bezug auf eine quantitative Manifestation (der physiologischen Kraft) eines heterozygoten Organismus ist Heterosis der Überschuß dieser Manifestation über das Mittel derjenigen entsprechenden Manifestationen, die die elterlichen Gameten des Organismus in der Form von homozygoten Individuen unter gleichen Umweltbedingungen zeigen würden". In der Haustierzucht läßt sich nach dieser Definition die eigentliche Heterosis nicht ermitteln, da es nicht möglich ist, bezüglich der Leistungsmerkmale homozygote Ausgangslinien zu erzeugen. In diesem Fall geht man davon aus, daß die Eltern bereits einen bestimmten Heterozygotiegrad aufweisen und dieser von den Nachkommen überschritten wird (LEUTHOLD, 1968). Für die Belange der Tierzucht sollte daher die Differenz zwischen der Nachkommenleistung und dem Elternmittel nicht als Heterosiseffekt sondern als Heterosiszuwachs bezeichnet werden (STAHL et al., 1969).

Aus einer Fülle von Erklärungsversuchen zur Ursache der Heterosis werden nachfolgend die Superdominanz- und Dominanzhypothese, bekannt als die klassischen Heterosishypothesen, besonders berücksichtigt. Weiterhin wird die Epistasiehypothese diskutiert.

2.1.1 Hypothesen über die Ursachen der Heterosis

2.1.1.1 Superdominanzhypothese

SHULL und EAST stellten 1908 unabhängig voneinander fest, daß die Heterozygotie einen physiologischen Stimulus auf den Organismus ausübt, d.h. daß der stärkere Wuchs von Hybriden im Vergleich zu den Eltern auf Heterozygotie zurückzuführen ist (Heterozygotiehypothese). Weiterhin gehen SHULL und EAST (1908) davon aus, daß die Heterosis durch zwei verschiedene Allele des gleichen Gens verursacht wird und daß sich mit zunehmendem Strukturunterschied der beiden Allele der Heterosiseffekt verstärkt. Die Überschreitung der Leistung von Trägern des heterozygoten Genotyps gegenüber denen mit homozygoten Genotypen wird von HULL (1946) als Superdominanz definiert. Die Begriffe Heterozygotie-, Überdominanz- bzw. Stimulationshypothese gelten im gleichen Sinne wie der Ausdruck Superdominanzhypothese, der im folgenden Verwendung findet.

BREWBAKER (1967) gab vier Antworten auf die Frage nach den Ursachen des Auftretens von Superdominanz, die von FISCHER (1978) durch zwei weitere ergänzt wurden.

- Supplementäre Allelwirkung: Jedes Allel besitzt eine unabhängige Wirkung und ist für seine eigene Aufgabe dominant (komplementäre Dominanz oder Mosaikdominanz), die Heterozygoten sind zu beiden Funktionen befähigt.

- Alternative Syntheseabläufe: Die beiden Allele führen zu unterschiedlichen umweltbedingten Leistungsoptima, so daß der heterozygote Genotyp bei wechselnden Umweltbedingungen Leistungsvorteile bedingt.

- Hybridsubstanzen: Jedes homozygote Allel produziert eine eigene Substanz (X bzw. Y). Die beiden unterschiedlichen Allele des Heterozygoten produzieren zusätzlich eine Hybridsubstanz Z.

- Balancehypothese: Der homozygote Genotyp codiert zu viel oder zu wenig einer bestimmten Substanz, während der Heterozygote zur optimalen Menge führt.

- Jedes Allel übt eine unabhängige Primärfunktion aus, die zu vorteilhaften Interaktionen führt. Der Heterosiseffekt entsteht durch die Kombination der Funktionen beider Allele.

- Ein Defektallel codiert eine schädigende Substanz, die jedoch im heterozygoten Organismus eine stimulierende Funktion auf bestimmte Prozesse ausübt.

2.1.1.2 Dominanzhypothese

Das Auftreten von Heterosis ist an das Zusammenwirken mehrerer Gene gebunden, bei denen das jeweils günstigere Allel partiell oder vollständig dominant ist. Die dominanten Allele für die verschiedenen Leistungsparameter werden im heterozygoten Organismus vereinigt. Dieser heterozygote Zustand hat jedoch keinen positiven Einfluß auf die Leistungsfähigkeit des Organismus, d.h. zwischen den Genotypen mit dominanten Allelen in homozygoter bzw. heterozygoter Form treten keine Leistungsunterschiede auf. Begründer dieser Dominanzhypothese sind DAVENPORT (1908), KEEBLE und PELLEW (1910), BRUCE (1910) sowie JONES (1917).

2.1.1.3 Epistasiehypothese

MINVIELLE (1987) zeigte, daß Heterosis vorwiegend durch multiplikative epistatische Interaktionen entsteht und Dominanz für die Entstehung von Heterosis nicht notwendig ist. Nach WILLIAMS (1959) kann Heterosis auf epistatische Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Genen zurückgeführt werden. Dabei kann die Epistasie sowohl das Resultat unterschiedlicher Gene zweier parentaler Linien sein, die im Heterozygoten Interaktionen zeigen, als auch auf unterschiedlichen homozygoten epistatischen Genkombinationen der Elternlinien beruhen, die, ähnlich dem Dominanzmodell, im Heterozygoten vereinigt werden (SHERIDAN, 1981). Diese Formen wurden von SHERIDAN (1980) „F_1-Epistasie" und „Parentale Epistasie" genannt, wobei er darauf hinwies, daß die parentale Epistasie für die Ausbildung von Heterosis weniger von Bedeutung ist.

2.1.2 Bedeutung verschiedener Heterosishypothesen

Welche Hypothese zur Deutung des jeweiligen Phänomens im Vordergrund steht, hängt vorwiegend von den zu beurteilenden Eigenschaften ab. Die Steigerung der Fruchtgröße ließ sich z.B. besonders gut mit der Addition von Dominanzeffekten erklären. Im Mittelpunkt stand hier vor allem die Kompensation letaler bzw. subletaler, leistungsschwacher Allele durch dominante, intakte Allele. Jedes „positive" Allel, welches ein subletales Allel nicht zur Wirkung kommen läßt, beseitigt einen Engpaß und trägt zur Normalisierung des biologischen Systems bei (FISCHER, 1978). Darüber hinaus wurde die Steigerung der Leistung durch die Kombination bestimmter leistungsstarker Allele, als Grundgedanke verschiedener erfolgreicher Zuchtverfahren, ebenfalls vor allem mit der Dominanzhypothese interpretiert. HULL (1945) führte zugunsten der Superdominanzhypothese folgende Überlegung an: Nach der Dominanzhypothese resultiert die hohe Leistung der Hybriden aus der Addition der günstigen Geneffekte der jeweiligen Ausgangslinien. Die Leistung der Hybriden dürfte somit die Summe der Leistung beider Eltern nicht übersteigen. Da in zahlreichen Untersuchungen dieses theoretische Leistungsmaximum von den Hybriden übertroffen wurde, schlußfolgerte HULL, daß die Superdominanz eine bedeutende Rolle spielt. Die Steigerung der Vitalität und Anpassungsfähigkeit an verschiedene Umweltbedingungen ließen sich ebenfalls gut mit der Superdominanzhypothese erklären.

Ausgehend von der Superdominanzhypothese wurde für Pflanzen die Hypothese der „Maximalen Heterozygotie" beschrieben (BONIERBALE et al., 1993). Die Theorie besagt, daß die Leistung autopolyploider Pflanzen stark von der Intra-Locus-Diversität abhängig ist. Eine tetraploide Pflanze kann bis zu vier unterschiedliche Allele pro Locus aufweisen, wobei eine positive Beziehung zwischen der Intra-Locus-Heterogenität und der Heterosis besteht (KIDWELL et al., 1994).

Die anfangs starken Gegensätze in der Interpretation der Dominanz- und Superdominanzhypothese verloren mit zunehmendem Erkenntnisstand immer mehr an Bedeutung. Obwohl jede Theorie durch zahlreiche Versuchsergebnisse untermauert wurde, hat sich vielfach gezeigt, daß mit zunehmenden Erkenntnissen die Phänomene mit beiden Hypothesen erklärt werden konnten. Erscheinungen, die ursprünglich der Superdominanz

zugeordnet wurden, sind später mit dem Auftreten von Gen-Interaktionen in Verbindung gebracht worden.

MOLL et al. (1965) und FALCONER (1980) wiesen darauf hin, daß die Kreuzung stark differenzierter Populationen keine Heterosis zeigte und in der F_2-Generation sogar eine reduzierte Fitness auftrat. Dieses Phänomen kann auf epistatische Wechselwirkungen zurückgeführt werden. Die Populationen sind an die jeweiligen lokalen Bedingungen stark adaptiert, so daß bei den Hybriden in der F_2-Generation die günstigen epistatischen Genkombinationen durch Segregation verlorengehen. Demgegenüber konnten SCHNELL et al. (1992), POONI et al. (1994), POONI und TREHARNE (1994) sowie LI und WU (1996) eine begünstigende Wirkung der Interaktionen auf die Heterosis nachweisen. HILL (1982) unterstrich die Notwendigkeit des Vorhandenseins von Dominanz und Epistasie und wies darauf hin, daß bei der Wirkung ausschließlich dominanter Effekte, d.h. ohne Epistasie, eine absolute Proportionalität zwischen Heterosis und Heterozygotie bestehen müßte. Die Bedeutung der Epistasie ist nach GEIGER (1987) vom reproduktiven System der Spezies, vom Ursprung des Zuchtmaterials und vom betrachteten Merkmal abhängig. Der Einfluß der Epistasie scheint zwar sekundär sollte aber nicht vernachlässigt werden.

Berücksichtigt man, daß zwei Gene eng aneinander gekoppelt vorliegen, so kann durch die Kopplung von vorteilhaften Genen bzw. durch Gen-Interaktionen auch Superdominanz vorgetäuscht werden (Pseudo-Superdominanz). Die Unterscheidung von Pseudo-Superdominanz und echter Superdominanz ist nach STUBER (1994) nahezu unmöglich.

Ein weiteres 1966 von Mc DANIEL und SARKISSIAN beschriebenes Heterosisphänomen ist die mitochondriale Heterosis. Erkannt wurde sie durch die unterschiedliche Effizienz der oxidativen Phosphorylierung bei der Synthese von ATP. Hybriden wiesen eine intensivere Atmung und eine höhere enzymatische Aktivität als homozygote Individuen auf. Nach ENGEL und NEBIOLO-LINDGREN (1991) und COINTRY et al. (1994) ist sowohl das Kern- als auch das Motochondrien-Genom für die Ausprägung von Heterosis verantwortlich. Ein weiteres Phänomen ist die Chloroplastenheterosis, die sich in einer erhöhten Photosyntheserate der Hybriden äußert. Untersuchungen dieser Erscheinungen erfolgten ausschließlich auf physiologischer Ebene mit Hilfe von Enzymparametern als biochemische Marker. Der Einfluß auf die Gesamtheterosis wird allgemein als gering eingeschätzt (FRANKEL, 1983).

Die zahlreichen Hypothesen verdeutlichen die Komplexität des Heterosis-Phänomens und führten immer mehr zu der Erkenntnis, daß die Existenz balancierter Systeme und das Vorhandensein harmonisch aufeinander abgestimmter Genkomplexe bedeutsam sind (LEWIS, 1955; FISCHER, 1978; BORGHI und PERENZIN, 1994).

2.1.3 Formen der Heterosis

Analog zur Vielfalt der Interpretationen und Begriffsbestimmungen der Heterosis wurden im Verlaufe langjähriger Studien für ein besseres Verständnis und eine genauere Beschreibung des Phänomens unterschiedliche Formen und Einteilungen beschrieben. Auf einige dieser Begriffe wird im folgenden eingegangen.

- Individuelle Heterosis: Die individuelle Heterosis umfaßt eine höhere Überlebensfähigkeit, beginnend im pränatalen Lebensabschnitt, durch die Fitneßüberlegenheit der heterozygoten Individuen.

- Maternale Heterosis: Sie beinhaltet die Fruchtbarkeitsüberlegenheit des heterozygoten Muttertieres und begünstigt Zyklusablauf, Ovulation, Nidation, Plazentation, Ernährung des Fetus, Erhaltung der Trächtigkeit sowie Abwehr von Genitalinfektionen.

- Paternale Heterosis: Die paternale Heterosis bezieht sich vor allem auf die Samenqualität und Samenfunktion.

Um das Maß der Höhe der Heterosis zu verdeutlichen, wurden die Begriffe „absolute- und relative Heterosis" geprägt (FISCHER, 1978). Bei der absoluten Heterosis handelt es sich um die gesamte absolute Leistung bzw. um den Ertrag der Hybriden, wogegen die relative Heterosis nur den Ertrags- bzw. Leistungszuwachs gegenüber dem Elternmittel beschreibt. Das Elternmittel als Bezugsbasis wurde in diesem Zusammenhang oft diskutiert (SCHNELL, 1961). WHALEY (1944) geht davon aus, daß der Mittelwert der jeweiligen Ausgangspopulationen den Maßstab für die Höhe der Heterosis bilden sollte. Dies ist vor allem in der Tierzucht sinnvoll, da es hier unmöglich ist, homozygote Ausgangspopulationen als

Bezugsbasis zu erzeugen. Auffassungen von MATHER und JINKS (1971) orientierten sich an der Differenz zwischen dem Mittel der F_1-Generation und dem besseren Elternpartner.

Im allgemeinen kann davon ausgegangen werden, daß mit einer Steigerung der Leistung der Eltern die durchschnittliche relative Heterosis der Hybriden sinkt, d.h. wenn die Leistung der Eltern relativ hoch ist, kann in der Kreuzungsgeneration nur noch ein geringer Leistungszuwachs erwartet werden. In diesem Fall wird bereits für die Elterngeneration ein bestimmter Heterosiseffekt angenommen, den HIORTH (1963) als „Cisheterosis", d.h. die „bloße Aufhebung der Inzuchtdepression”, definiert. Demgegenüber bezeichnete er die durch Kreuzung darüber hinaus zusätzlich erzielte Wüchsigkeit als „Transheterosis".

Von MALINOWSKI (1952) wurden die Begriffe hypothetische- und echte Heterosis eingeführt. Die hypothetische Heterosis bezeichnet den Leistungszuwachs, der das Elternmittel, jedoch nicht den besseren Elternpartner übersteigt. Die echte Heterosis dagegen definiert den Zuwachs gegenüber dem besseren Elternpartner.

Eine weitere Unterteilung der Heterosis wurde von GUSTAFSSON (1951) in somatische, reproduktive und adaptive Heterosis vorgenommen. Die reproduktive Heterosis äußert sich in einer erhöhten Fruchtbarkeit, die adaptive Heterosis tritt bei Organismen auf, die gut an ihre Umwelt angepaßt sind (Anpassungsheterosis, Euheterosis) und die somatische Heterosis führt zu einem verstärkten vegetativen Wuchs (vegetative Heterosis).

2.2 Stand der Heterosisforschung

Klassische Studien zur Analyse von Heterosis beschäftigten sich mit Korrelationsanalysen zwischen Leistungseigenschaften und ausschließlich morphologischen Merkmalen (SAX, 1923). Es wurde erkannt, daß die Leistung von Einzelkreuzungshybriden mit der morphologischen Merkmalsdifferenzierung der Ausgangspopulationen positiv korreliert (EAST, 1936; PATERIANI and LONNQUIST, 1963). Die positive Beziehung zwischen der Heterosis und der genetischen Distanz zweier Kreuzungspartner führte zu der Bestrebung, die genetische Distanz zwischen den Ausgangspopulationen anhand ihrer individuellen Leistungsdifferenzen sowie anhand morphologischer Merkmalsunterschiede zu bestimmen. Darüber hinaus wurde jedoch auch festgestellt, daß die Heterosis zwischen extrem divergenten Kreuzungen sinkt (MOLL, 1965; PRASAD und SINGH, 1986). Als Ursache wird die unverträgliche Genkombination der Hybriden angeführt, die eine Störung der allgemeinen genetischen Balance bewirkt.

In weiteren Untersuchungen wurden Enzyme und Proteine als biochemische Marker geprüft (z.B. HUNTER und KANNENBERG, 1971; HIERL, 1976; SCHLEGER et al., 1978; TANKSLEY et al., 1982; KAHLER und WEHRHAHN, 1986; GLODEK et al., 1993); CAMERON und CLIENFUEGROS-RIVAS, 1994; CEPICA et al., 1995). Überwiegend konnte festgestellt werden, daß die spezifische Kombinationseignung mit der Anzahl heterozygoter Isozymloci korreliert (HEIDRICH-SOBRINHO und CORDEIRO, 1975), daß Proteinpolymorphismen jedoch nicht dazu geeignet sind, Aussagen über das gesamte Genom zu treffen (MITTON und PIERCE, 1980). Obwohl STUBER (1986) am Mais die weitaus höhere Heterosis bei Inzuchtlinienkreuzungen differenzierter Ausgangslinien gegenüber der Kreuzung verwandter Ausgangslinien fand, wies er darauf hin, daß die Vorhersage der Hybridleistung anhand biochemischer Marker als sehr fragwürdig einzuschätzen ist. HADJINOV (1982) konnte keine positive Beziehung zwischen der Isozymdiversität und der spezifischen Kombinationseignung nachweisen. Die relativ geringe Polymorphie dieser biochemischen Marker ließ sie mit der zunehmenden Verfügbarkeit von DNA-Markern für Projekte der Heterosisforschung bzw. Marker-gestützten Selektion an Bedeutung verlieren. Mit Hilfe der DNA-Analytik standen seit den 80er Jahren zunehmende Zahlen hoch informativer genetischer Marker zur Verfügung. Bei der Analyse der Heterosis rückt die chromosomale Lokalisation der für die betreffenden Merkmale verantwortlichen Gene immer

mehr in den Vordergrund wissenschaftlicher Studien. Im Mittelpunkt stehen QTL-Analysen (Qantitative Trait Loci) mit Hilfe von genetischen Markern (z.B. GELDERMANN, 1975; BECKMANN und SOLLER, 1978, SIMPSON, 1989; EDWARDS et al., 1987, 1992; HALEY und KNOTT, 1992; AJMONE-MARSAN et al., 1995; HU et al., 1995).

2.2.1 Heterosisforschung in der Pflanzenzucht

SINGH und ZOUROS (1978), PIRCHNER (1979), TURELLI und GINZBURG (1983), MITTON und GRANT (1984), SMOUSE (1986) und BUSH et al. (1987) schlußfolgerten aufgrund der starken positiven Beziehung zwischen der Leistungshöhe quantitativer Merkmale und dem Heterozygotiegrad, daß die Heterosis eng mit der Anzahl heterozygoter Loci der entsprechenden Merkmale korreliert. Dies führte zu dem Ansatz, die Ermittlung des Anteils heterozygoter Loci mit Hilfe molekulargenetischer Marker zu realisieren, um damit eine Vorhersage der Hybridleistung zu ermöglichen (HALLAUER und MIRANDA, 1988; BOPPENMEIER et al., 1992; BERNARDO, 1992, 1994). BURR et al. (1983) schlugen erstmals die Nutzung von RFLPs zur Schätzung der genetischen Divergenz und zur Ermittlung des Heterozygotiegrades von Genloci vor. In kürzester Zeit waren zahlreiche RFLPs bekannt, die, gleichmäßig über das gesamte Genom verteilt, eine repräsentative Aussage ermöglichten (z.B. NIENHIUS et al., 1987; PATERSON et al., 1988; LANDER und BOTSTEIN, 1989; PLASCHKE et al., 1993; REDONA und MACKILL, 1996).

LEE et al. (1989) stellten anhand von RFLP-Analysen am Mais eine positive Beziehung zwischen der genetischen Distanz von Inzuchtlinien und dem Kornertrag sowie der spezifischen Kombinationseignung fest. Aufgrund dieser Beziehung wurden Mais-Inzuchtlinien in genetische Gruppen eingeteilt. Der Pflanzenzüchter könnte somit Maislinien unbekannter genetischer Herkunft testen und eine Anpaarung verwandter Inzuchtlinien im Vorfeld vermeiden. MELCHINGER et al. (1990) konnten für den Mais zwar eine positive Beziehung zwischen der genetischen Distanz, gemessen anhand zufällig ausgewählter Marker, verteilt über das gesamte Genom, und der Ertragsleistung sowie der Heterosis nachweisen, jedoch mit einem geringen Korrelationskoeffizienten, der eine Vorhersage der Heterosis ausschließt. Es wird darauf hingewiesen, daß bedeutende Loci für quantitative Merkmale nur auf bestimmten Chromosomen lokalisiert sind und sich die Untersuchungen auf die jeweiligen Regionen mit

Hilfe von spezifischen Markern reduzieren sollten. Auf die Nutzung von „effizienten Markern" wird in weiteren Untersuchungen ebenfalls hingewiesen (CHARCOSSET et al., 1991 und 1994; TERSAC et al., 1994). MELCHINGER et al. (1991) stimmten jedoch dahingehend mit den Untersuchungen von LEE et al. (1989) überein, daß sie ebenfalls mittels RFLP-Markern die Möglichkeit der Einteilung unbekannter Maislinien in heterogene Gruppen sowie die Quantifizierung der genetischen Ähnlichkeit zwischen verwandten Linien bewiesen. Darüber hinaus ist in Verbindung mit den Ergebnissen aus der QTL-Forschung nach SMITH et al. (1990) eine Vorhersage der Hybridleistung durch RFLP-Analysen prinzipiell möglich.

Mit 76 Markern konnten STUBER et al. (1992) eine positive Beziehung zwischen dem Anteil heterozygoter Loci und dem Kornertrag mit einer Korrelation von 0,68 nachweisen. Sechs bis acht QTLs wurden an verschiedenen Kreuzungsvarianten für 60 % der phänotypischen Varianz verantwortlich gemacht. Es wurde geschlußfolgert, daß ein Merkmal, welches durch ein Majorgen kontrolliert wird, eine geringe Korrelation zwischen dem Phänotyp und der durchschnittlichen Heterozygotie des Gesamtgenoms aufweist und ein Merkmal, welches durch viele Loci kontrolliert wird, eine hohe Korrelation zwischen der allgemeinen Heterozygotie und dem Phänotyp zeigt.

ZHANG et al. (1994) wiesen anhand von RFLP- und Mikrosatellitenanalysen am Reis nach, daß eine Vorhersage der Heterosis auf der Basis einer geringen Zahl an informativen Markern sinnvoller ist, als die Nutzung von vielen Markern, verteilt über das gesamte Genom. Die Korrelation zwischen der Heterosis und der allgemeinen Heterozygotie war gering, wogegen eine hohe Korrelation zwischen der Heterosis und der spezifischen Heterozygotie festgestellt wurde. In weiteren Untersuchungen wiesen ZHANG et al. (1996) jedoch darauf hin, daß der Informationsgehalt spezifischer Marker zwischen verschiedenen Linien oder Familien schwankt. Die Beziehungen zwischen der Heterozygotie molekularer Marker und der Heterosis variiert und scheint sehr komplex zu sein. Bei der Kreuzung von Reis-Subspezies konnten die höchsten Korrelationen zwischen Heterosis und Heterozygotie für die Pflanzenhöhe festgestellt werden, teilweise jedoch nur geringe Korrelationen für Ertragsmerkmale.

In Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen konnten MOSER und LEE (1994) anhand von RFLPs an Elite-Haferlinien verdeutlichen, daß eine genaue Schätzung der genetischen

Divergenz zwischen den Linien möglich, jedoch eine Vorhersage der Heterosis und der genetischen Varianz in der Population nicht realisierbar ist. Die Autoren stellten fest, daß möglichst viele Elternlinien und eine möglichst große Anzahl von Markern sowie mehr Informationen über die Kopplungsbeziehungen zwischen RFLP-Markern und QTL in die Untersuchungen einbezogen werden sollten.

CHARCOSSET et al. (1991) wiesen für ein quantitatives Merkmal eine lineare Beziehung zwischen einem genetischen Abstandsindex zweier Elternlinien, gemessen anhand von Markeranalysen, und der Heterosis der F_1-Hybriden nach. Der Korrelationskoeffizient wurde geschätzt und daraus geschlußfolgert, daß bei einer gleichmäßigen Markerabdeckung des Genoms diejenigen QTL, die nicht durch einen Marker gekennzeichnet sind, und die Marker, die keinen QTL beschreiben, den Korrelationskoeffizienten stark vermindern. Auf eine merkmalsbezogene Auswahl der Marker wird hier ebenfalls hingewiesen.

KIDWELL et al. (1994) verglichen mit Hilfe von RFLP-Analysen isogene diploide und tetraploide Luzernepopulationen. Es wurde festgestellt, daß die genetische Distanz mehr mit dem Ertrag der tetraploiden als mit dem Ertrag der diploiden Populationen korreliert. Ursachen sehen die Autoren vor allem im Vorhandensein rezessiver Allele, die in den Diploiden zur Geltung kommen und in den Tetraploiden maskiert sind, d.h. nicht in Erscheinung treten. Weiterhin wiesen tetraploide Familien mit der höchsten Heterozygotie auch den höchsten Ertrag auf.

KATO et al. (1994) konnten bei der Kreuzung verschiedener Reisspezies signifikante Beziehungen zwischen der Heterosis und der genetischen Distanz, gemessen anhand von Isozym- und RFLP-Markern, feststellen. Obwohl die Korrelation signifikant war, wurde sie als nicht sehr eng interpretiert. Die Messung der genetischen Distanz mit nicht-morphologischen Markern zur Vorhersage der Heterosis wird als nicht effektiv eingeschätzt. Als ein weiteres Ergebnis dieser Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß mehr als 10 Gene, verteilt über das gesamte Genom, für die Ausbildung von Heterosis für Biomasse verantwortlich sind.

Resultate von XIAO et al. (1996 a, b) zeigen an Kreuzungsanalysen beim Reis, daß die Beziehung zwischen der genetischen Distanz, gemessen anhand genetischer Marker (RAPDs und Mikrosatelliten), und der Hybridleistung bzw. der Heterosis vom Typ der Hybriden

abhängig ist. Es wurden Reishybriden von Intra-Subspezies und Inter-Subspezies verglichen und gravierende Unterschiede festgestellt. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen dem Ertrag bzw. der Heterosis von Intra-Subspezies-Hybriden und der genetischen Distanz. Analog zu den Aussagen von ZHANG et al. (1994, 1996) wird unterstrichen, daß eine Vorhersage der Heterosis für Intra-Subspezies-Hybriden möglich ist. LI und WU (1996) ermittelten an Kreuzungsanalysen zwischen verschiedenen Espenspezies eine höhere Heterosis bei der Kreuzung von Interspezies als bei der Kreuzung von Intraspezies und stimmten damit mit den Untersuchungen von ALI et al. (1995) überein. Es wurde darauf hingewiesen, daß die Heterosis für das Espenwachstum einer multigenen Kontrolle unterliegt. Für den Stammdurchmesser bzw. das Volumen scheinen 9 bis 10 Loci verantwortlich zu sein, für das Höhenwachstum dagegen nur 6 bis 8 Loci. Weiterhin wurde in Übereinstimmung mit ARCADE et al. (1996) postuliert, daß Merkmale, die keine signifikante Heterosis zeigen, durch weniger Gene beeinflußt werden, als Merkmale mit signifikanter Heterosis (z.B. Kornertrag bei Mais).

ARCADE et al. (1996) bestätigten ebenfalls, daß mit einer Erhöhung der genetischen Distanz die Wachstumsleistung der Hybriden steigt. Er führte diese Untersuchungen mit RAPD-Analysen an europäischen und japanischen Lärchen durch. Analog zu den Ergebnissen von JAIN et al. (1994) und VAILLANCOURT et al. (1995) wird diese Technik, gegenüber den RFLP-Analysen, als effektiver sowie kosten- und zeitsparender eingeschätzt.

Trotz der zahlreichen nachgewiesenen positiven Beziehungen zwischen Heterosis und Heterozygotie bzw. Heterosis und genetischer Distanz wurden auch gegenteilige Aussagen bekannt. GODSHALK et al. (1990) erkannten keine Zusammenhänge zwischen der genetischen Distanz, basierend auf 47 RFLP-Analysen, und dem Kornertrag von 47 Kreuzungen aus Linien unterschiedlicher heterotischer Gruppen. PENG et al. (1991) ermittelten eine negative Korrelation zwischen der Heterosis und der genetischen Divergenz innerhalb von Reisspezies. Ähnliche Aussagen wurden von DUDLEY et al. (1991) getroffen, die mit Hilfe von RFLP-Untersuchungen keine Korrelation zwischen der genetischen Distanz und dem Hybridertrag beim Mais feststellen konnten. Clusteranalysen stimmten mit den Abstammungsinformationen überein, jedoch nicht mit den Ertragswerten.

2.2.2 Heterosisforschung in der Tierzucht

Forschungsansätze zur Untersuchung der Heterosis in der Tierproduktion sind zahlreich, beziehen sich jedoch vorwiegend auf phänotypische und biochemische Ergebnisse. Die Tabelle 1 gibt anhand einiger Beispiele einen Überblick über Heterosis-Forschungsprojekte in der Tierzucht.

Tab. 1: Beispiele für Heterosisprojekte bei Nutztieren

Nutztier	Untersuchtes Merkmal	Literaturquellen
Rind	Besamungsindex	CUNDIFF et al. (1974)
	Abkalberate	GAINES (1966)
	Wachstumsintensität	LEUTHOLD (1966), BROWN et al. (1997), RODRIGUEZALMEIDA et al.(1997)
	Milchleistung	LEUTHOLD (1974), BROWN et al. (1996), KRESS et al. (1996)
	Fleischleistung	MASON (1966)
Schwein	Wurfgröße	SELLIER (1976), FU et al. (1995), HALEY et al. (1995)
	Samenqualität, Testisgewicht	BUCHANAN (1987)
	Wachstumsintensität	SILVA et al. (1994)
Schaf	Befruchtung, Lebensfähigkeit	SIDWELL et al. (1962)
	Wurfgröße, Wolleistung	NITTER (1978), ALNAKIB et al. (1997), BITTANTE et al. (1996), RATHIE et al. (1994)
Geflügel	Schlupf, Legeleistung	NORDSKOG et al. (1954)
	Eigewicht	MERRIT und GLOWE (1960), MORITSU et al. (1997), ZEMAN et al. (1997), BRENOE (1996), VELEZ et al. (1996), LIU et al. (1995)
	Sterblichkeit, Körpergewicht	
Kaninchen	Wachstumsintensität	NOTFAL et al. (1997), AFIFI et al. (1994), NOFAL und TOTH (1996), AFIFI et al. (1994)
	Wurfgröße	
Ziege	Wachstumsintensität	HIROOKA et al. (1997)

Bereits PLUM (1959) bezogen Enzyme und Proteine als Marker ein und stellten mit der Analyse von 20 Blutgruppenfaktoren eine positive Korrelation zwischen der Abkalberate und der Anzahl unterschiedlicher parentaler Blutgruppenfaktoren fest. Ähnliche Untersuchungen wurden von CONNEALLY et al. (1963) durchgeführt, die 35 Blutgruppenfaktoren analysierten und mit einer Steigerung der durchschnittlichen Heterozygotie eine Verringerung im Prozentsatz umrindernder Tiere nachwiesen.

HIERL (1976 a, b) schätzte den Heterozygotiegrad verschiedener Rinderrassen mittels neun Blutgruppenfaktoren und vier biochemischen Markern, um diesen mit der Fruchtbarkeitsleistung, gemessen anhand der Zwischenkalbezeit und der Anzahl notwendiger Besamungen pro Konzeption, zu vergleichen. In Abhängigkeit des untersuchten Tiermaterials konnte teilweise ein nur lockerer Zusammenhang zwischen Heterozygotiegrad und Besamungserfolg festgestellt werden. Es wird darauf hingewiesen, daß die Zahl der untersuchten Marker sehr gering ist und der Heterozygotiegrad nur indirekt geschätzt werden konnte. SCHLEGER et al. (1978) fanden wiederum eine positive, lineare Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad, ermittelt mit 13 genetischen Systemen, und der Fruchtbarkeit beim Rind. Weitere Autoren fanden positive Beziehungen zwischen Fitneßeigenschaften und der durchschnittlichen Heterozygotie weniger polymorpher Enzymsysteme.

Die vielfach in der Pflanzenzucht nachgewiesene positive Beziehung zwischen der genetischen Distanz von Individuen und deren Heterozygotiegrad sowie den Leistungseigenschaften war auch Ausgangspunkt entsprechender Untersuchungen in der Tierzucht. WOLF et al. (1995) schätzten die genetische Distanz zwischen sechs Schweinerassen und ermittelten mit 38 polymorphen Systemen (Blutgruppenfaktoren, Enzym- und Proteinpolymorphismen) die durchschnittliche Heterozygotie der Schweinerassen und deren Kreuzungsnachkommen. Erste Ergebnisse zeigten, daß mit einer Steigerung der genetischen Distanz zwischen den einzelnen Rassen der Heterozygotiegrad der Kreuzungsnachkommen im Durchschnitt um 10 % steigt.

Bei Untersuchungen am Geflügel wurden DNA-Fingerprint-Muster erstellt, wobei die Anzahl vorhandener Banden Auskunft über die Diversität der jeweils untersuchten Linie bzw. Gruppe gibt (KUHNLEIN et al., 1989; HABERFELD et al., 1992; DUNNINGTON et al., 1993, 1994 a, b). Die Vorteile von DNA-Fingerprints liegen vor allem in der Untersuchung einer großen Anzahl variabler Regionen pro Analyse und in der Einbeziehung und Repräsentation

vieler Loci. MENG et al. (1996) untersuchten für die Linien der Beijing White Leghorn die Variabilität innerhalb und zwischen parentalen Linien durch DNA-Fingerprint-Muster und verglichen diese mit Produktionsmerkmalen der Legehennen und deren F_1-Hybriden. Es konnte eine signifikante Beziehung zwischen der Inter-Linien-Variabilität, als Ausdruck der genetischen Distanz, und der Eizahl, Eimasse sowie der Überlebensrate festgestellt werden. Weiterhin wurde nachgewiesen, daß die Kreuzung innerhalb zweier Mutter- bzw. Vaterlinien bei den Hybriden zwar zu einer Steigerung der Eizahl und Eimasse führte, jedoch auch zu einer Verringerung der Überlebensrate. GAVORA et al. (1996) diskutierten die Eignung des DNA-Fingerprinting zur Vorhersage von Heterosis, wenn multiple Proben verwendet werden, d.h. die DNA von 10-15 Tieren in einem DNA-Mix, die das Genom einer Gruppe bzw. einer Linie repräsentieren. Es wird darauf hingewiesen, daß mit der Bandenzahl die Genauigkeit der Messung der genetischen Distanz steigt.

2.2.3 Bedeutung und Nutzung der Heterosis in der Landwirtschaft

Ein Problem der praktischen Nutzung der Heterosis liegt in ihrer Reproduzierbarkeit. Die Abhängigkeit der Heterosis vom Dominanzgrad, der genetischen Divergenz der Kreuzungspartner und dem Anteil heterozygoter Loci bei den Kreuzungsnachkommen setzt einen bestimmten Anteil komplementär homozygoter DNA-Loci und damit einen gewissen Inzuchtgrad bei den Elternlinien voraus (LEUTHOLD, 1966). Die Eignung landwirtschaftlicher Nutztiere für die Nutzung von Heterosiseffekten kann in folgender Reihenfolge angegeben werden (SCHÖNMUTH et al., 1986):

Huhn > Schwein > Schaf > Rind > Pferd.

Die Nutzung der Heterosis erfolgt über Hybridzuchtprogramme, d.h. über eine systematische Erzeugung von Kreuzungsprodukten, die von der Zucht ausgeschlossen sind. Hybridzuchtprogramme umfassen die Bildung von Zucht- bzw. Inzuchtlinien, den Test auf Kombinationseignung mit anschließender Selektion der besten Kreuzungspartner sowie das Kreuzungsverfahren zur Erzeugung der Hybriden. SCHÖNMUTH (1966) weist darauf hin, daß jedoch nicht nur Heterosiseffekte genutzt werden, sondern vor allem auch günstige Kreuzungs- und Kombinationseffekte, wie z.B. die Neukombination epistatisch und additiv

wirkender Gene, die ökonomisch, aber nicht genetisch, der Heterosis gleichzusetzen sind. Ein Verfahren, welches die nicht-additiv genetischen Varianzanteile ausnutzt, ist das Verfahren der gezielten Selektion auf Kombinationseignung, von COMSTOCK et al. (1949) als „reciprocal recurrent selection RRS" bezeichnet (COMBERG, 1980). Das Ziel ist vor allem die Weiterentwicklung hoch selektierter Eltern- und Großelternpopulationen zur Verbesserung heterotischer Merkmale wie Fruchtbarkeit und Vitalität. Aufgrund der hohen Kosten der RRS gewann deren Anwendung nur in der Geflügelzucht an Bedeutung.

2.3 Die Wurfgröße als quantitatives Merkmal

Die Fruchtbarkeit ist eines der bedeutendsten quantitativen Leistungsmerkmale bei den Nutztieren. Bis heute existieren nur vage Vorstellungen über die Anzahl, Lokalisation und die Effekte der an der Ausprägung eines quantitativen Merkmals beteiligten Gene. Bisher wurden verschiedene statistische Methoden zur Schätzung der effektiven oder minimalen Zahl verantwortlicher Gene entwickelt. Das Basismodell entwarf WRIGHT bereits 1921, welches 1968 vervollständigt wurde (in ZENG et al. 1990) und dem weitere Modelle folgten (LANDE, 1981; COCKERHAM, 1986; ZENG et al., 1992).

Für eine Schätzung der Anzahl an Genorten, die an der Ausprägung des Merkmals Wurfgröße bei der Maus beteiligt sind, stellte FALCONER (1980) folgende „Theorie der Selektionsgrenzen" auf:
Die Grundelemente der Tierzucht bestehen aus einer gezielten Selektion und Anpaarung. Voraussetzung für die Verbesserung eines Leistungsmerkmals und damit des Zuchtfortschritts ist eine möglichst große genetische und phänotypische Varianz des zu verbessernden Merkmals, die in positiver Beziehung zu der Anzahl an Genen steht, die an der Ausprägung dieses Merkmals beteiligt sind. Bei einer großen Anzahl von Genorten sind extreme Genotypen in der Basispopulation selten und die Selektionsgrenzen von dem ursprünglichen Populationsmittel weit entfernt. Es besteht somit eine positive Beziehung zwischen der Anzahl an Genen und den Selektionsgrenzen eines Merkmals. Da weder die Anzahl der Gene noch ihre Effekte bekannt sind, ist es jedoch nicht möglich, die Selektionsgrenzen exakt vorauszuschätzen.

An einem Modellversuch mit Mäusen ermittelte FALCONER für die Merkmale Sechs-Wochen-Gewicht und Wurfgröße durch scharfe, einseitige Selektion die theoretischen Selektionsgrenzen dieser Merkmale (Tab. 2). Die Anzahl an Genorten wurde nach folgender Formel geschätzt:

$$n = R^2 / 8v^2_A$$

mit n: Anzahl effektiver Faktoren (Genorte),

R^2: quadrierte Differenz zwischen der oberen und unteren Selektionsgrenze,

v^2_A: additiv genetische Varianz.

Tab. 2: Zuchtversuch zur Ermittlung der Anzahl von Genorten für die Ausprägung der Merkmale Sechs-Wochen-Gewicht und Wurfgröße bei der Maus

	Sechs-Wochen-Gewicht	Wurfgröße
Effektive Populationsgröße	15	22
Anzahl selektierter Generationen	25	20
Anzahl Loci	32	2

Die mit dieser Gleichung erhaltenen Schätzwerte für die Anzahl Loci gelten unter drei Bedingungen:

(1) an beiden Selektionsgrenzen sind alle jeweils erwünschten Allele fixiert,

(2) alle Gene haben gleiche Effekte,

(3) alle Gene haben Ausgangseffekte von 0,5.

FALCONER (1980) wies jedoch darauf hin, daß, sobald eine Bedingung nicht zutrifft, der für n geschätzte Wert zu niedrig oder zu hoch ist. Nach FALCONER belegt der geschätzte Wert von nur zwei Loci für die Wurfgröße der Maus, daß die Bedingungen nicht erfüllt waren.

Die Wurfgröße als ein Fruchtbarkeitsmerkmal ist im allgemeinen gering erblich, d.h. der Heritabilitätswert liegt unter 0,2 (FALCONER, 1980). Die Tabelle 3 enthält genetische und phänotypische Korrelationskoeffizienten für das Merkmal Wurfgröße bei der Labormaus (HERRENDÖRFER und SCHÜLER, 1987).

Tab. 3: Phänotypische und genetische Korrelationskoeffizienten für das Merkmal Wurfgröße bei der Labormaus

Merkmal 1	Merkmal 2	Korrelationskoeffizienten	
		phänotypisch	genetisch
Wurfgröße	Wurfmasse 1. Tag	0,88	1,00
Wurfgröße	Ovulationsrate	0,20	0,21
Wurfgröße	Implantationsrate	0,28	0,69
Wurfgröße	Embryonale Mortalität	-0,09	-0,41

Mc GLOUGHLIN (1980) nahm zur Ermittlung der Wurfgröße eine gezielte Verpaarung ingezüchteter Labormäuse vor. Ausgehend von Inzuchtlinien mit einem theoretischen Heterozygotiegrad von annähernd 0% wurden diese mit einer zu erwartenden durchschnittlichen Heterozygotie von annähernd 100% untereinander verpaart. Kreuzt man wiederum die Individuen der F_1, entsteht eine F_2 mit einem Heterozygotiegrad von 50%. Anhand dieses Zuchtversuches ermittelte Mc GLOUGHLIN eine nahezu perfekte lineare Beziehung zwischen der Heterosis für Wurfgröße und dem Heterozygotiegrad am Modelltier Maus:

Heterozygotie (%)	0	25	50	75	100
Heterosis (%)	(0,0)	5,6	16,2	22,0	30,8

Da für viele Fruchtbarkeitsmerkmale die nicht-additiven Effekte eine große Rolle spielen (FU et al., 1995), sind diese Merkmale für die Nutzung von Heterosis besonders relevant (BIDANEL, 1993). NIEUWENHUIZEN et al. (1982) haben z.B. für die Wurfgröße der Maus heterotische Effekte von ca. 22 % festgestellt, NAGAI et al. (1984) von bis zu 33 %, GÖTZ et al. (1991 a, b) sogar bis zu 38 %. Das Merkmal Wurfgröße ist leicht bestimmbar und für Modellversuche hinsichtlich der Übertragbarkeit auf Nutztierpopulationen am besten geeignet.

2.4 DNA-Loci mit Assoziationen zur Fruchtbarkeit

Für die Maus wurden mehrere Loci beschrieben, bei deren Genotypen Assoziationen zur Fruchtbarkeit bestehen. Zusätzlich wurden solche Gene betrachtet, die einen physiologischen Einfluß auf das Fruchtbarkeitsgeschehen ausüben. Die Tabelle 4 führt DNA-Loci auf, die im Anschluß näher beschrieben werden.

Tab. 4: DNA-Loci mit Einfluß auf das Fruchtbarkeitsgeschehen und deren Lokalisation im Genom der Maus

DNA-Locus	Bezeichnung	Chromosom	Lokalisation (cM)
Inha	Inhibin alpha	1	41,6
Inhbb	Inhibin beta B		64,1
Fshb	Follicle-stimulating hormone-beta	2	60,0
Cga	Glycoprotein hormones, alpha subunit	4	9,5
Pmv12	Polytropic murine leucemia virus-12	5	77,0
Pdgfa	Plateled derived growth factor, alpha		88,0
Ryr1	Ryanodine receptor 1, skeletal muscle	7	10,0
Lhb	Luteinizing hormone, beta		22,0
Jdf	Juvenile development and fertility		46,1
Cyp19	Cytochrome P450, 19, aromatase	9	31,0
Estr	Estrogen receptor	10	9,5
Igf1	Insulin-like growth factor-1		46,0
Pmv2	Polytropic murine leucemia virus-2	11	5,0
Shbg	Sex hormone binding globulin		35,0
Inhba	Inhibin beta A	13	10,0
Prl	Prolactin		14,0
Pl1	Placental lactogen-1		17,0
Pdgfb	Plateled derived growth factor, beta	15	43,3
Cyp21a1	Cytochrome P450, 21, steroid 21 hydroxylase	17	18,7
Ped	Preimplantation embryonic development		19,5
H2	Histocompatibility-2, MHC		23,0

Inha und Inhba/-b: Die Gene bilden Untereinheiten des gonadalen Glykoprotein-Hormons Inhibin, welches eine hemmende Wirkung auf das Follikelstimulierende Hormon ausübt (DE KRETSER und ROBERTSON, 1989). Bei Booroola-Merinos wurde eine geringere Inhibinkonzentration gegenüber Kontrollmerinos nachgewiesen (CUMMINS et al., 1983).

Fshb: Das Gen bildet eine Untereinheit des Follikelstimulierenden Hormons FSH (GLASER et al., 1985), welches für die Entwicklung und Funktion der Gonaden verantwortlich ist. Es regt im Hoden die Spermatogenese an, wirkt auf die Reifung des Follikels im Zyklus weiblicher Tiere und bewirkt, im Zusammenspiel mit Progesteron, die hormonale Regulation des Genitalzyklus.

Cga: Das Gen bildet eine gemeinsame Untereinheit für das Glykoprotein-Hormon Gonadotropin, das Luteinisierende Hormon und das Follikelstimulierende Hormon (NAYLOR et al., 1983).

Pmv2 und Pmv12: Pmv-Loci werden durch ihre hohe Polymorphie für genetische Analyseverfahren genutzt (JOHNSON, 1991). Mit Hilfe von RFLP-Analysen wurden Allele in der Nähe dieser Loci lokalisiert, die eine positive Assoziation mit einer bis zu sechsfachen Steigerung der Ovulationsrate nach hormoneller Induktion aufwiesen (SPEAROW et al., 1992).

Pdgfa/-b: Als Wachstumsfaktor erfolgt die Expression der Gene im frühen embryonalen Stadium. Die Gene sind für die Entwicklung spezifischer Gewebe notwendig, fördern die LH-Rezeptorenbildung und stimulieren die Östrogensynthese im Ovar (SCHATTEMANN et al.,1992),

Ryr1: Ryr1 bezeichnet das Gen für ein Protein, das als Ryanodinrezeptor die Ausschüttung von Ca^{2+}-Ionen im sarkoplasmatischen Retikulum der Skelettmuskelzellen beeinflußt (Mc KENZIE et al., 1990). Eine Mutation innerhalb des Gens ist Hauptursache für das Maligne Hyperthermie Syndrom (MHS) beim Schwein (TAKESHIMA et al., 1989). Für spezifische Ryr1-Genotypen konnte eine Assoziation zu besseren Fruchtbarkeits- und Fleischbeschaffenheitsparametern nachgewiesen werden (REINER et al., 1993).

Lhb: Das Gen codiert für das Luteinisierungshormon, welches zyklisch sezerniert wird und im Ovar die Interstitiellen- und Theka-Zellen stimuliert. Der präovulatorische Anstieg im Blut führt zur Ovulation. Bei Rind, Schaf und Schwein ist das Hormon weitestgehend für die Progesteronproduktion verantwortlich (RAPOPORT, 1977).

Jdf: Der Locus ist verantwortlich für den normalen Verlauf der Spermiogenese und der Trächtigkeit. Weiterhin besitzt er einen Einfluß auf die allgemeine Fitness der Tiere (LEWIS et al., 1978; KLEBIG et al., 1992; BAUMRUCKER und BLUM, 1993).

Cyp19: Hierbei handelt es sich um ein Gen, das zur Codierung des Aromatase Enzym $P450_{arom}$ führt. Dieses Enzym ist die terminale Oxidase bei der Synthese von Östrogenen aus Androgenen. In Verbindung mit dem glatten endoplasmatischen Retikulum kommt es u.a. in den Granulosazellen der Ovarien, den Leydig- und Sertolizellen und in der Plazenta vor. Bestimmte Allele in der Nähe von Cyp19 sind mittels RFLP-Analysen in Verbindung mit einer gesteigerten hormoninduzierten Ovulationsrate nachgewiesen worden (SPEAROW et al., 1992).

Estr: Es handelt sich um das Gen für Östrogen, das für die Oozytenreifung wesentlich ist und dessen Bildung vom Östrogenrezeptor vermittelt wird (WU et al., 1992). Ein Allel dieses Gens der Rasse Meishan steht in signifikanter Beziehung zu einer Steigerung der Wurfgröße um 1,5 Nachkommen (ROTHSHILD et al., 1995).

Igf1: Das Gen codiert ein Peptidhormon, welches während der Trächtigkeit vom Embryo und dem maternalen reproduktiven Trakt gebildet wird und das lineare Wachstum, den Glukosestoffwechsel, die Organhomeostase und die Entwicklung des Immun- und neurologischen Systems beeinflußt (KIRKPATRICK, 1992; POWELL-BRAXTON et al., 1993).

Shbg: Shbg ist das Gen für ein extrazelluläres Hormon-Transportprotein, welches ein weiteres Protein, das ABP (androgen binding protein), synthetisiert (JOSEPH et al., 1991).

Prl: Das Gen Prl codiert das Proteohormon, welches zu den Gonadotropinen gehört und für die Initialisierung und Aufrechterhaltung der Laktation verantwortlich ist (RAPOPORT, 1977). Pl1: Pl1 gehört zur Prolaktin-Wachstumshormon-Genfamilie. Die davon codierten Proteine werden in der Plazenta als Vorstufen synthetisiert und anschließend zu funktionsfähigen Produkten gespalten (JACKSON-GRUSBY et al., 1988).

Cyp21a1: Es wird vermutet, daß das Gen eine immunmodulatorische Rolle bei der Regulation der Glukokortikoid-Biosynthese spielt (WHITE et al., 1984). Bestimmte Allele in der Nähe dieses Gens stehen mit einer gesteigerten hormoninduzierten Ovulation in Verbindung (SPEAROW et al., 1992).

Ped: SPEAROW (1988 a, b) und SPEAROW et al. (1983, 1992) nehmen an, daß dieses Gen die Ovulationsrate kontrolliert. Weiterhin vermutet SPEAROW (1988), daß eine gewisse Analogie zur Wirkung des Booroola-Fruchtbarkeitsgens beim Schaf besteht. WARNER et al. (1991) wiesen einen Vorteil auf die reproduktive Leistung nach.

H2: Das Gen liegt im H2 Komplex, der eine Vielzahl an Aktivitäten kontrolliert (WARNER, 1986, 1987; WILLER et al., 1989), u.a. Transplantationsreaktivität, Regulation der T- und B-Lymphozyten-Differenzierung, Interaktionen immunkompetenter Zellen, aber auch Nicht-Immunphänomene wie z.B. Fruchtbarkeitsmerkmale (WILLER et al., 1989). GOLDBARD et al. (1982 a, b) konnten bei der Maus nachweisen, daß Gene des H2-Komplexes den Zeitpunkt der ersten Zellteilung und auch die Geschwindigkeit der nachfolgenden präimplantären Entwicklung bestimmen.

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Tiere

Für den Inzuchtlinien-Kreuzungsversuch zur Erzeugung von F_2-Tieren nach F_1-Intercross wurden die Stämme C57BL/6J und Balb/cJ verwendet. Sie sind wie folgt charakterisiert (Firmenunterlagen Bomholtgard Breeding and Research Centre, Dänemark, 1995):

C57BL/6JBom: Der Inzuchtstamm wurde vom Bomholtgard Breeding and Research Centre Ltd. in der ca. 145. Inzuchtgeneration bezogen. Der Ausgangsstamm ist 1921 aus dem Substamm C57BL/6 hervorgegangen, der zu den am meisten verwendeten Inzuchtstämmen zählt. Er zeichnet sich durch eine gute Zuchtleistung und eine mittlere Lebenserwartung von 700-800 Tagen unter normalen Haltungsbedingungen und 1200 Tagen unter SPF-Bedingungen aus.

Balb/cJBom: Der Inzuchtstamm wurde vom Bomholtgard Breeding and Research Centre Ltd. in der ca. 72. Inzuchtgeneration bezogen. Der Ausgangsstamm wurde 1913 von H. Bagg und nach 1940 vom Jackson Laboratorium über 150 Generationen ingezüchtet und besitzt eine gute und lange reproduktive Leistung.

3.1.2 Labormaterialien

SIGMA, Deisenhofen:	3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan (haftendes Silan), Bromphenolblau, Mineralöl, HCL, Dithioeritrithol (DTE)
Roth, Karlsruhe:	TEMED, Natriumacetat, Borsäure, Formaldehyd, NaCl, Ammoniumperoxodisulfat (APS), Agarose, Lauryl Sulfate (SDS), 100 % Essigsäure, Proteinase K, NaOH, Rotiphorese Gel 40, $NaBH_4$, Methanol, Na_2CO_3, Ethanol
Merck, Darmstadt:	Titriplex (EDTA), Tris-hydroxymethyl-aminomethan
Research Genetics, Kanada:	fluoreszenzmarkierte und unmarkierte Primer (MapPairs)
Fluka, Buchs:	Fluka Gel Repel I (nicht haftendes Silan)
INVITEK, Berlin:	Taq-Polymerase, dNTP-Mix

3.1.3 Puffer und Lösungen

Alle Lösungen wurden mit bidestilliertem Wasser angesetzt und anschließend autoklaviert.

- Lösungen für die DNA-Isolierung

Tris- Puffer:	50 mmol/l Tris-hydroxymethyl-aminomethan
	100 mmol/l EDTA
	1 mmol/l DTE
	1 % (w/v) SDS
	pH-Wert 8,0 eingestellt und mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt
NaCl-Lösung:	für 500 ml 6 mol/l NaCl
	175.32 g NaCl mit Wasser aufgefüllt
10 x TE- Puffer:	100 mmol/l Tris-hydroxymethyl-aminomethan
	10 mmol/l EDTA
	mit 32 % HCl auf pH-Wert 8,0 eingestellt

- Lösungen für die Polyacrylamidgel-Elektrophorese

12 % iges PAA-Gel	30,0 ml Rotiphorese Gel 40
für Silbernitratfärbung:	10,0 ml 10 x TBE-Puffer
	mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt
	0,5 ml 10 % APS
	40 µl TEMED
10 x TBE- Puffer:	890 mmol/l Tris-hydroxymethyl-aminomethan
	890 mmol/l Borsäure
	25 mmol/l EDTA, pH 8,3
10 % APS-Lösung:	1 g Ammoniumperoxodisulfat auf 10 ml Wasser aufgefüllt

Silanlösung (haftend):	50 µl 3-Methacryloxypropyltrimethoxysilan
	30 µl 100 % Essigsäure
	300 µl Wasser
	9.62 ml 98 % Ethanol

- Lösungen für die Silbernitratfärbung

Lösung 1:	100 ml Methanol
	5 ml 100 % Essigsäure
	auf 1000 ml mit Wasser aufgefüllt
Lösung 2:	15 g NaOH
	0,1 g $NaBH_4$
	4 ml Formaldehyd
	auf 1000 ml mit Wasser aufgefüllt

3.1.4 Geräte

Sequenzieranlage:	SS 1000, Fröbel, Wasserburg
Elektrophorese-Doppelkammer:	Blue Vertical 160/C, Serva, Heidelberg
A.L.F.-Sequenzierautomat:	Pharmacia, Biotech, Freiburg
Horizontalelektrophorese-Apparatur:	Standard-device A5 ISS, UniEquip, Martinsried
Thermocycler:	Omnigene, MWG Biotech, Ebersberg
	Crocodile, Appligene, Heidelberg
Gleichstromspannungsquellen:	E 452 und E 734 Consort, Fröbel, Wasserburg
Hybridisierungsofen:	7601, GFL Hannover
Magnetrührwerk mit Heizplatte:	MR 3001, Heidolph, Kelheim
Spektralphotometer:	Ultrospec 3, Pharmacia, Schweden
Tischzentrifuge:	Universal 30 RF, Hettich, Tuttlingen
Transilluminator:	TVR 312, Schubert, Schwandorf
Mikrowelle:	Siemens, Berlin

3.2 Methoden

3.2.1 Zuchtversuch

Im Kreuzungsversuch C57BL/6J x Balb/cJ wurden die Tiere der Parentalgeneration reziprok miteinander angepaart. Zur Erzeugung der F_2 erfolgte innerhalb der reziproken Varianten ein Intercross der gesamten F_1. Diese wurden anschließend für die Ermittlung der Wurfgrößen der F_2-Tiere mit männlichen Tieren der F_1 verpaart. Die F_2-Tiere mit einer hohen Wurfleistung von ≥ 11 Nachkommen pro Wurf wurden getötet und Ohren, Schwanz, Leber, Nieren und Milz bei -80 °C gelagert. F_2-Tiere mit einer Wurfleistung von ≤ 10 Nachkommen pro Wurf wurden erneut mit männlichen F_1-Tieren angepaart, um die Genauigkeit bei der Ermittlung der geringen Wurfleistung durch die Erfassung eines zweiten Wurfes zu erhöhen. Ein Überblick über den Zuchtversuch ist in Abbildung 1 dargestellt.

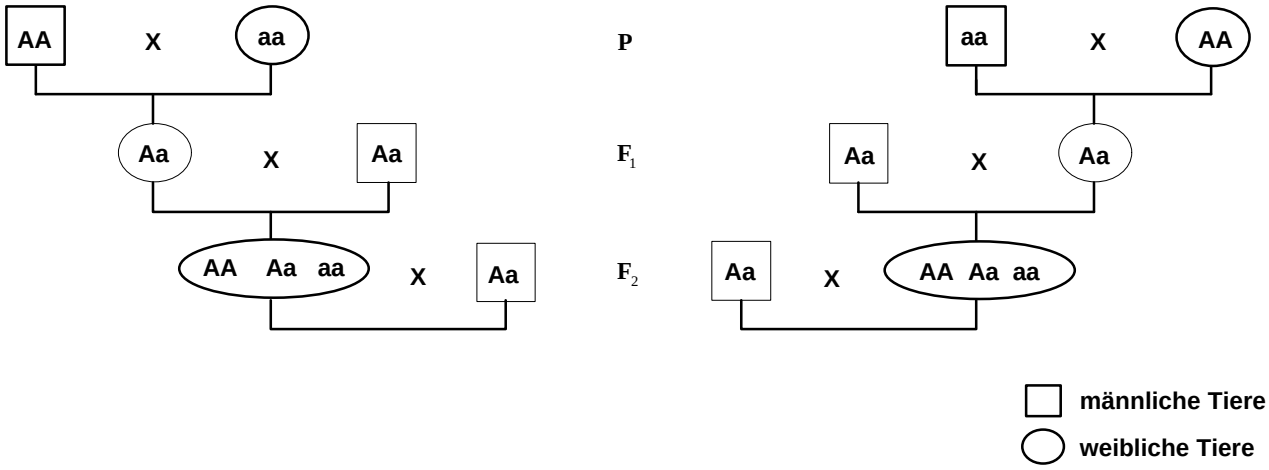


Abb. 1: Zuchtschema der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ

Die Heterosis- (h) und Maternaleffekte (m) für Wurfgröße wurden nach (BOUJENANE, 1990) ermittelt:

$$h\,(F_1) = 0{,}5\,(F_1\,CB + F_1\,BC) - 0{,}5\,(C + B)$$

$$h\,(F_2) = 0{,}5\,(F_2\,CB + F_2\,BC) - 0{,}5\,(C + B)$$

$m(F_1) = F_1 BC - F_1 CB$

$m(F_2) = F_2 BC - F_2 CB$

Hierbei bedeuten:

C:	Inzuchtstamm C57BL/6J
B:	Inzuchtstamm Balb/cJ
$h(F_1)$:	Heterosiseffekt h in der ersten Kreuzungsgeneration
$h(F_2)$:	Heterosiseffekt h in der zweiten Kreuzungsgeneration
$m(F_1)$:	Maternaleffekt m in der ersten Kreuzungsgeneration
$m(F_2)$:	Maternaleffekt m in der zweiten Kreuzungsgeneration
F_1 CB, F_1 BC:	F_1 aus der Kreuzung C57BL/6J x Balb/cJ (F_1 CB) bzw. Balb/cJ x C57/BL/6J (F_1 BC)
F_2 CB, F_2 BC:	F_2 aus der Kreuzung F_1 CB x F_1 CB (F_2 CB) bzw F_1 BC x F_1 BC (F_2 BC)

3.2.2 Bildung von Tiergruppen mit unterschiedlicher Wurfgröße

- Bildung extremer Leistungsgruppen für Wurfgröße

Als Leistungsmerkmal für die Fruchtbarkeit wurde die Wurfgröße gewählt, die als Merkmal mit hohen heterotischen Effekten bekannt ist. Selektionskriterium war die Anzahl geborener Tiere je Wurf (insgesamt Geborene). Die Merkmalserfassung erfolgte täglich, bei stündlicher Kontrolle werfender Weibchen.

Aus der F_2-Gesamtpopulation wurden extreme Leistungsgruppen mit hohen und niedrigen Wurfgrößen gebildet. Ziel war eine möglichst hohe Spannweite der Wurfgrößen zwischen den Gruppen. Die Größen der Leistungsgruppen richteten sich nach der Tierzahl, welche die geforderten Leistungen erbrachten. F_2-Tiere mit folgenden Wurfgrößen bildeten die extremen Leistungsgruppen:

Hochleistungsgruppe 1 (HLG 1):	≥ 13 Nachkommen in einem Wurf
Niedrigleistungsgruppe 1 (NLG 1):	≤ 5 Nachkommen in jedem von zwei aufeinanderfolgenden Würfen

- Bildung erweiterter Leistungsgruppen für Wurfgröße

Spezifische Mikrosatellitenloci, die in Chromosomenregionen mit Fruchtbarkeit assoziierten DNA-Loci liegen (Tab. 4, S. 26), wurden an F_2-Tieren einer größeren Stichprobe getestet. Dazu erfolgte eine zusätzliche Selektion von F_2-Tieren, um die Hoch- und Niedrigleistungsgruppe zu vergrößern und eine Mittelleistungsgruppe zu bilden. Die Leistungen der Tiere der Mittelleistungsgruppe entsprachen der durchschnittlichen Leistung der F_2-Gesamtpopulation des ersten bzw. zweiten Wurfes. Tiere der F_2 mit folgenden Leistungswerten wurden zusätzlich berücksichtigt:

Hochleistungsgruppe 2 (HLG 2):	≥ 11 Nachkommen in einem Wurf
Niedrigleistungsgruppe 2 (NLG 2):	≤ 6 Nachkommen in jedem von zwei aufeinanderfolgenden Würfen
Mittelleistungsgruppe (MLG):	im ersten Wurf 8 Nachkommen, im zweiten Wurf 9 Nachkommen

3.2.3 Recherchen in der Datenbank Mouse Genome Database zur Auswahl von Mikrosatelliten

Die Arbeitsgruppe um E. Lander am Whitehead Institute/Mit Center for Genome Research in Cambridge, Massachusetts erstellte eine Kopplungskarte mit 6183 SSLP-Markern (Simple Sequence Length Polymorphism, Stand Mai 1996). Die Fragmentlängen der Mikrosatelliten wurden an 12 Mäusestämmen geprüft. Die notwendigen Vorinformationen über die Lokalisation und Polymorphie zwischen den getesteten Inzuchtstämmen der Maus standen für die Auswahl von Mikrosatelliten durch die Datenbank Mouse Genome Database (MGD) zur Verfügung.

3.2.4 Auswahl von Mikrosatelliten

Die Auswahl der Mikrosatelliten erfolgte zunächst in Abhängigkeit der aus der Literatur ermittelten DNA-Loci mit Beziehung zur Fruchtbarkeit. Hierbei wurden solche Mikrosatelliten berücksichtigt, die sich anhand der in der Datenbank MGD angegebenen Lokalisation am selben Locus befanden wie Loci, die für Fruchtbarkeit bedeutungsvoll sind, bzw. in einem minimalen Abstand von diesen entfernt lagen. Darüber hinaus wurden Mikrosatelliten gewählt, die als Marker eine gleichmäßige Abdeckung des Genoms realisierten. Ein Abstand von 30-35 cM zum benachbarten Mikrosatelliten bzw. zum Randbereich des Chromosoms und die Verfügbarkeit verschiedener Allele zwischen den beiden zu untersuchenden Stämmen C57BL/6J und Balb/cJ galten als Voraussetzung. Bei Vorhandensein mehrerer polymorpher Mikrosatelliten für einen Locus sind solche gewählt worden, deren Fragmentlängen nicht über 200 bp liegen, da die Optimierung und Darstellung langer Fragmente sehr aufwendig ist. Die Tabelle 5 enthält die Lokalisationen der mit Fruchtbarkeit assoziierten DNA-Loci und die Zusammenstellung der diese Loci repräsentierenden Mikrosatelliten.

Tab. 5: Zusammenstellung von Mikrosatelliten, die mit Fruchtbarkeit assoziierte Loci der Maus charakterisieren (Datenbank MGD, Stand Mai 1996)

Locus *	Chromosom	Lokalisation (cM)	Mikrosatellit	Lokalisation (cM)
Inha	1	41,6	D1Mit23	41,0
Inhbb		64,1	D1Mit91	64,0
Fshb	2	60,0	D2Mit58	60,0
Cga	4	9,5	D4Mit193	12,3
Pmv12	5	77,0	D5Mit30 **	72,0
Pdgfa		88,0	D5Mit101	88,0
Ryr1	7	10,0	D7Mit22 **	8,0
Lhb		22,0	D7Mit158	23,0
Jdf		46,1	D7Mit301	46,4
Cyp19	9	31,0	D9Mit162	30,0
Estr	10	9,5	D10Mit2	9,0
Igf1		46,0	D10Mit117	45,4
Pmv2	11	5,0	D11Mit162	8,0
Shbg		35,0	D11Mit339	35,0
Inhba	13	10,0	D13Mit115	10,0
Prl		14,0	D13Mit136 **	15,0
Pl1		17,0		
Pdgfb	15	43,3	D15Mit158	41,8
Cyp21a1	17	18,8	D17Mit16 **	18,2
Ped		19,5		
H2		23,0	D17Mit52 **	22,3

* Legende zu den Abkürzungen siehe Tab. 4, S. 26
** Genotypisierung der Mikrosatelliten an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen

Zusätzlich zu den in Tabelle 5 genannten 19 Mikrosatelliten wurden weitere 37 Mikrosatelliten ausgewählt, die, gleichmäßig verteilt, das gesamte Genom der Maus charakterisieren. Einige der Loci (D2Mit368, D5Mit229, D13Mit76, D17Mit11 und D19Mit61) wurden zu einem späteren Zeitpunkt in die Untersuchungen einbezogen, um diese Chromosomenregionen genauer als andere untersuchen zu können (Wiederholungsmarker). Die angegebenen

Lokalisationen wurden der Datenbank MGD entnommen (Stand Mai 1996). Die Abbildungen 2 und 3 zeigen alle 56 typisierten Mikrosatelliten.

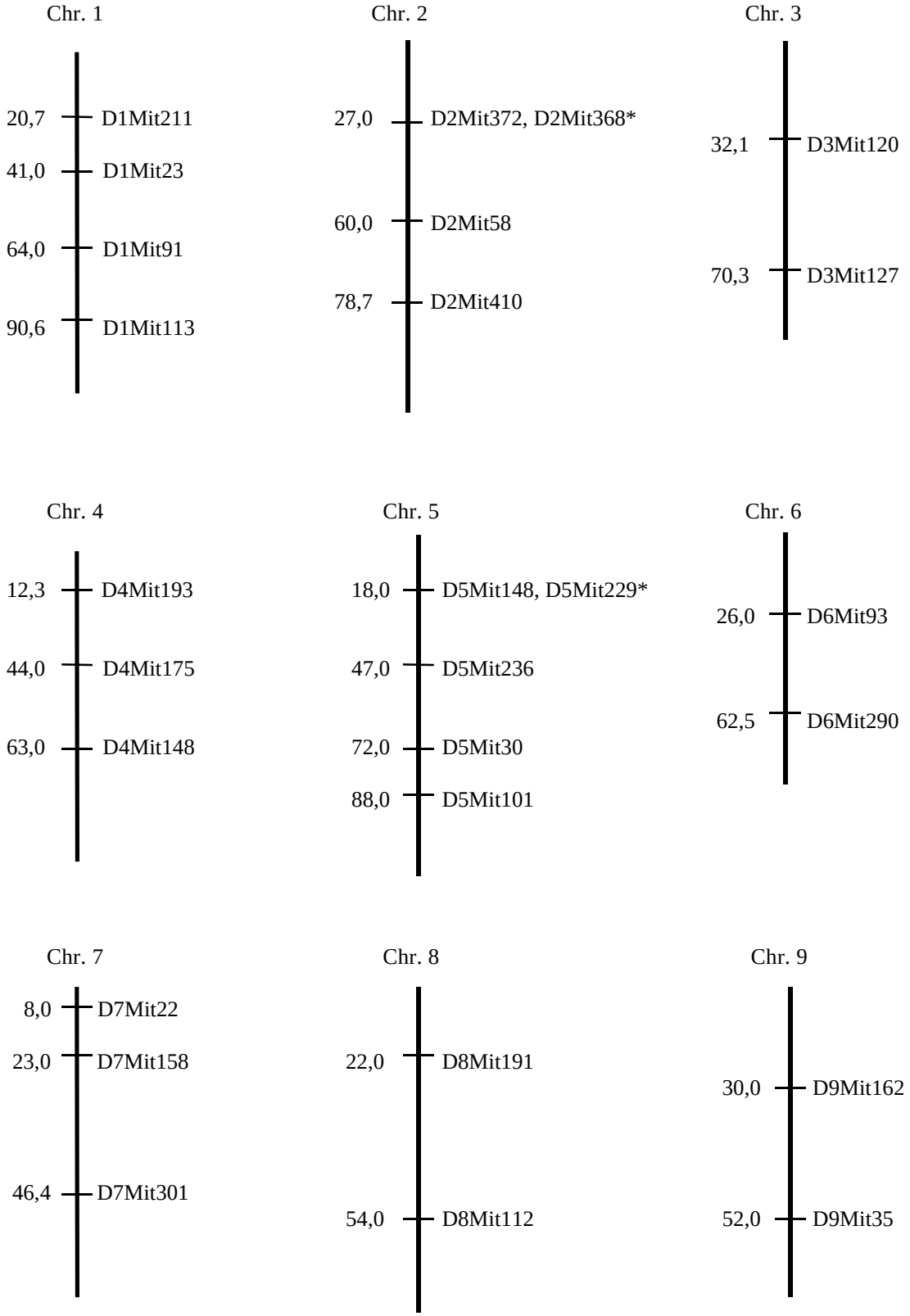


Abb. 2: Verteilung der insgesamt berücksichtigten Mikrosatelliten auf den Chromosomen 1 - 9 (* Mikrosatelliten als Wiederholungsmarker typisiert)

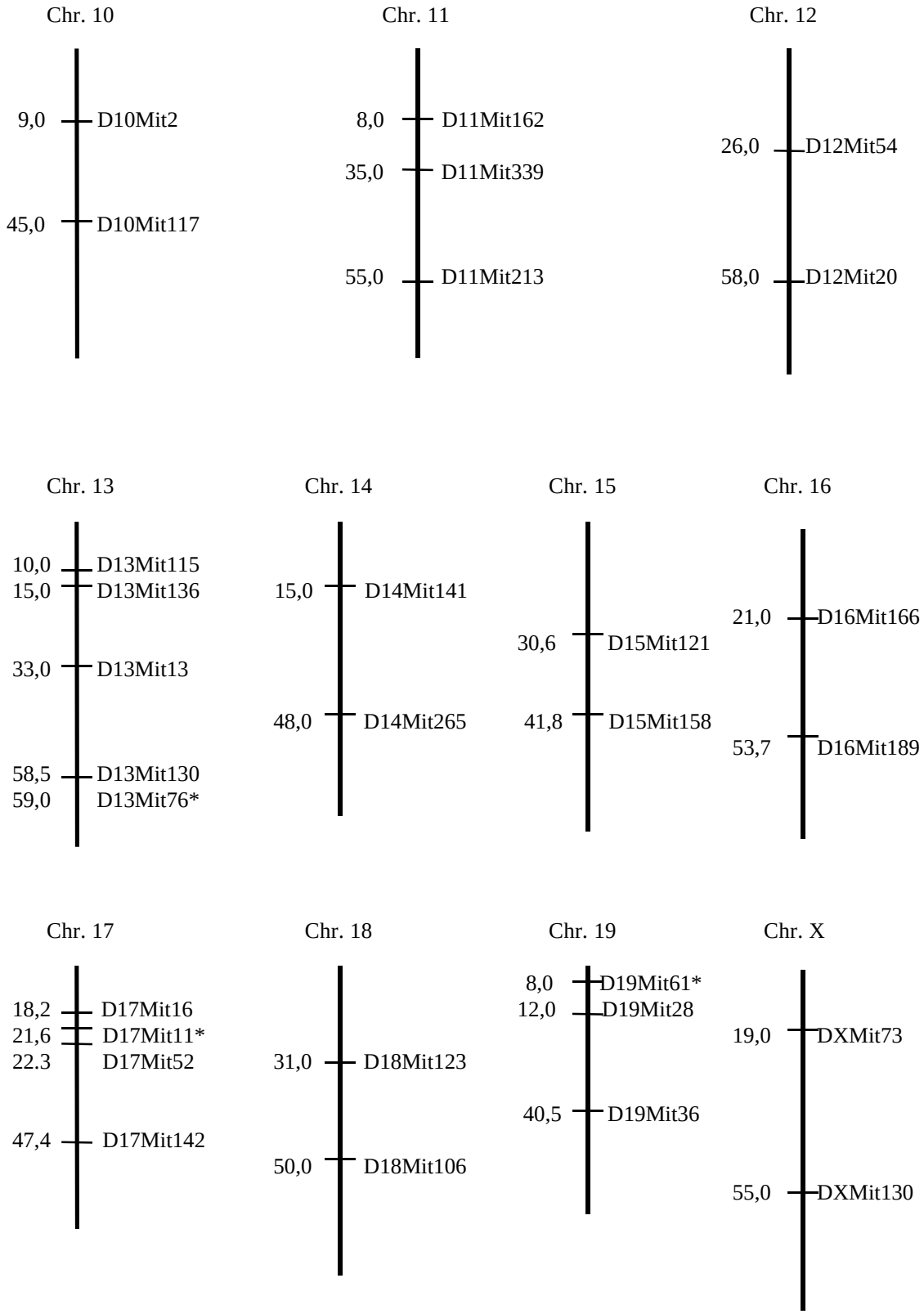


Abb. 3: Verteilung der insgesamt berücksichtigten Mikrosatelliten auf den Chromosomen 10 - X (* Mikrosatelliten als Wiederholungsmarker typisiert)

Die Fragmentlängen der getesteten 56 Mikrosatelliten sowie deren Auswahlkriterien sind in der Tabelle 6 enthalten.

Tab. 6: Zusammenstellung ausgewählter Mikrosatelliten, ihre Lokalisationen und Fragmentlängen für die Mäuse-Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ (Datenbank MGD, Stand Mai 1996)

Chromosom/ Gesamtlänge	Mikrosatellit	Lokalisation (cM)	Allele, Fragmentlängen C57BL/6J	Balb/cJ	Art der Auswahl
	D1Mit211	20,7	139	149	1
1/	D1Mit23	41,0	134	130	2
112,19 cM	D1Mit91	64,0	148	142	2
	D1Mit113	90,6	206	224	1
2/	D2Mit372	27,0	123	127	1
114,5 cM	D2Mit368	27,0	100	98	1, 3
	D2Mit58	60,0	134	168	2
	D2Mit410	78,7	116	121	1
3/	D3Mit120	32,1	148	160	1
95 cM	D3Mit127	70,3	176	168	1
4/	D4Mit193	12,3	138	123	2
81 cM	D4Mit175	44,0	110	126	1
	D4Mit148	63,0	128	140	1
	D5Mit148	18,0	149	135	1
5/	D5Mit229	18,0	150	154	1, 3
102 cM	D5Mit236	47,0	192	188	1
	D5Mit30	72,0	144	140	2, 4
	D5Mit101	88,0	130	118	2
6/	D6Mit93	26,0	140	152	1
85 cM	D6Mit290	62,5	127	117	1
7/	D7Mit22	8,0	220	222	2, 4
79 cM	D7Mit158	23,0	151	159	2
	D7Mit301	46,4	115	131	2

Forts. Tab. 6: Zusammenstellung ausgewählter Mikrosatelliten, ihre Lokalisationen und Fragmentlängen für die Mäuse-Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ (Datenbank MGD, Stand Mai 1996)

Chromosom/ Gesamtlänge	Mikrosatellit	Lokalisation (cM)	Allele, Fragmentlängen C57BL/6J	Balb/cJ	Art der Auswahl
8/	D8Mit191	22,0	144	132	1, 4
84 cM	D8Mit112	54,0	122	128	1
9/	D9Mit162	30,0	140	122	2
74 cM	D9Mit35	52,0	124	112	1
10/	D10Mit2	9,0	124	132	2
80,5 cM	D10Mit117	45,4	142	126	2
11/	D11Mit162	8,0	123	131	2
80 cM	D11Mit339	35,0	127	175	2
	D11Mit213	55,0	141	143	1, 4
12/	D12Mit54	26,0	154	146	1
86,6 cM	D12Mit20	58,0	200	208	1
13/	D13Mit115	10,0	151	141	2
78 cM	D13Mit136	15,0	97	101	2, 4
	D13Mit13	33,0	148	138	1
	D13Mit130	58,5	143	117	1
	D13Mit76	59,0	106	98	1, 3
14/	D14Mit141	15,0	141	125	1
69 cM	D14Mit265	48,0	148	178	1
15/	D15Mit121	30,6	148	163	1
72,5 cM	D15Mit158	41,8	152	170	2
16/	D16Mit166	21,0	149	155	1
71,9 cM	D16Mit189	53,7	199	185	1
17/	D17Mit16	18,2	118	106	2, 4
60 cM	D17Mit11	21,6	174	150	2, 3
	D17Mit52	22,3	154	156	2, 4
	D17Mit142	47,4	147	123	1

Forts. Tab. 6: Zusammenstellung ausgewählter Mikrosatelliten, ihre Lokalisationen und Fragmentlängen für die Mäuse-Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ (Datenbank MGD, Stand Mai 1996)

Chromosom/ Gesamtlänge	Mikrosatellit	Lokalisation (cM)	Allele, Fragmentlängen C57BL/6J	Balb/cJ	Art der Auswahl
18/	D18Mit123	31,0	116	125	1
74,95 cM	D18Mit106	50,0	115	135	1
19/	D19Mit61	8,0	131	149	1, 3
57,32 cM	D19Mit28	12,0	148	154	1
	D19Mit36	40,5	164	174	1
X/	DXMit73	19,0	113	125	1
82,2 cM	DXMit130	55,0	168	146	1

1) Mikrosatelliten zur gleichmäßigen Abdeckung des Genoms
2) Mikrosatelliten zur Charakterisierung von DNA-Loci mit Assoziation zur Fruchtbarkeit
3) Zusätzlich als Wiederholungsmarker ausgewählte Mikrosatelliten
4) Genotypisierung der Mikrosatelliten an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen

Von den in Tabelle 6 aufgeführten 56 Mikrosatelliten wurden sieben für die Untersuchung an einer größeren Stichprobe von F_2-Tieren mittels A.L.F.-Sequenzierautomat verwendet. Die Auswahl dieser Mikrosatelliten erfolgte unter folgenden Gesichtspunkten:

- fünf Mikrosatelliten zur Charakterisierung der DNA-Loci Ped, Cyp21a1, H2, Pmv12, Ryr1, Prl und Pl1 als Gene mit Assoziation zur Fruchtbarkeit (Tab. 5, S. 37) sowie

- zwei Mikrosatelliten (D8Mit191, D11Mit213), welche der gleichmäßigen Abdeckung des Genoms dienten und mit der Methode der Silbernitratfärbung schwer nachzuweisen waren.

Die Mikrosatelliten wurden mit fluoreszenzmarkierten Primern amplifiziert und mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten dargestellt.

3.2.5 Isolierung genomischer DNA aus Gewebe

Zur Isolierung der DNA aus Knorpelgewebe wurde eine Kurzmethode angewandt (Zentralinstitut für Versuchstierkunde Hannover, Dr. Prokop), die sich bereits mehrfach in Voruntersuchungen durch eine ausreichende DNA-Menge und DNA-Qualität bewährte. Es fand ein Verdau des Materials in 1 ml Tris-Puffer über Nacht auf dem Überkopfschüttler im Hybridisierungsofen bei 55°C durch 60 µl Proteinase K (10 mg/ml) statt. Bis dahin ungelöste Zellsubstanzen wurden mittels Zentrifugation (11.400 x g, 10 min) von der freigesetzten DNA im Überstand getrennt. Das Aussalzen noch vorhandener Restproteine aus dem Überstand erfolgte mit 500 µl NaCl-Lösung (6 mol/l) und anschließender Zentrifugation (11.400 x g, 10 min). Die im Überstand enthaltene DNA wurde mit 96% Ethanol (2 Volumen pro 1 Volumen Überstand) präzipitiert und nachfolgend zweifach in jeweils 1 ml 70%-igem Ethanol gewaschen. Nach Zentrifugation wurde der Überstand verworfen, um das DNA-Pellet über Nacht zu trocknen. Die abschließende Hinzugabe von 200 µl TE-Puffer ohne zusätzliche Phenol-Chloroform-Extraktion führte zu einer qualitativ und quantitativ guten DNA-Ausbeute.

3.2.6 Kontrolle der DNA

Für die Kontrolle der DNA-Reinheit und zur Bestimmung ihrer Konzentration wurde am Spektralphotometer die optische Dichte bei 260 nm und 280 nm gemessen. Die DNA hat ein Absorbtionsmaximum von 260 nm, Proteine bei 280 nm. Die DNA-Konzentration und der Reinheitsgrad wurden mit folgender Formel berechnet:

DNA-Konzentration (µg/µl): $(OD_{260} \times 47{,}5 \times 100) \times 1000^{-1}$

Reinheitsgrad: $(OD_{260} \times 50) \times (OD_{280} \times 40)^{-1}$

Der Quotient der Absorbtion von 260 nm und 280 nm sollte etwa zwischen 1,6 und 1,8 liegen. Er spiegelt den Reinheitsgrad der DNA wider. Niedrigere Werte weisen auf Proteinverunreinigungen hin. Der strukturelle Zustand der DNA wurde über ein Testgel kontrolliert. Dabei erfolgte die Auftrennung der isolierten DNA in einem 0,8%-igem Agarosegel in TBE-Puffer bei einer Feldstärke von 3 V/cm. Zur anschließenden optischen Erkennung auf dem Transilluminator wurde dem Gel 0,05 µg/ml Ethidiumbromid hinzugesetzt.

3.2.7 Analyse von Mikrosatelliten mit Hilfe der Silbernitratfärbung

3.2.7.1 Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern

Die Amplifizierung der Mikrosatelliten erfolgte mittels PCR im Thermocycler Omnigene der Firma MWG Biotech. Die in Tabelle 7 dargestellten Programmvarianten fanden Anwendung.

Tab. 7: Programmvarianten der PCR zur Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern

Zahl der Zyklen		Programm 1		Programm 2	
		Temp. (°C)	Zeit (s)	Temp. (°C)	Zeit (s)
	Denaturieren	94	180	94	180
1	Annaeling	56-58	30	-	-
	Synthese	72	40	-	-
	Denaturieren	94	120	94	15
30	Annealing	56-58	120	56-58	120
	Synthese	72	60	72	120
	Denaturieren	94	60	-	-
1	Annealing	56-58	30	-	-
	Synthese	72	300	72	350

Die Einsatzmengen an $MgCl_2$, Primer und Taq-Polymerase wurden optimiert und anschließend weitestgehend standardisiert verwendet. Ein Einfluß der DNA-Konzentration hat sich in früheren Untersuchungen als sehr gering herausgestellt, so daß die präparierte DNA-Lösung nicht standardisiert eingesetzt wurde. Die Optimierung der PCR-Bedingungen erfolgte an Tieren der beiden Inzuchtstämme C57BL/6J und Balb/cJ und an F_1-Nachkommen. Ziel war die eindeutige Analyse der Allele der Inzuchtstämme und der heterozygoten Genotypen der jeweiligen F_1-Nachkommen. Folgende PCR-Optimierungsparameter wurden für die Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern mittels Silbernitratfärbung ermittelt:

DNA-Konzentration: 200 - 1000 ng,

Primer-Konzentration: 0,13 µM,

Taq-Polymerase: 1 U.

Die Angaben beziehen sich auf einen PCR-Ansatz von 30 µl. Bei den Reihenuntersuchungen wurden Stammansätze für 30-40 Tiere pipettiert. Primerspezifische Optimierungsparameter werden in der Tabelle 8 zusammengefaßt.

Tab. 8: PCR-Bedingungen zur Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern

Mikrosatellit	$MgCl_2$-Konzentration (mM)	Annealing-Temperatur (°C)	PCR-Programm (vgl. Tab. 7)
D1Mit211	1,2	58	1
D1Mit23	1,2	56	2
D1Mit91	1,2	56	2
D1Mit113	1,1	56	2
D2Mit372	1,2	58	1
D2Mit368	1,2	56	1
D2Mit58	1,2	58	1
D2Mit410	1,2	58	1
D3Mit120	1,2	58	1
D3Mit127	1,2	56	2
D4Mit193	1,2	58	1
D4Mit175	1,2	58	1
D4Mit148	1,2	56	2
D5Mit148	1,2	58	1
D5Mit229	1,2	56	1
D5Mit236	1,1	56	2
D5Mit101	1,2	58	1
D6Mit93	1,2	58	1
D6Mit290	1,2	56	2
D7Mit158	1,2	58	1
D7Mit301	1,2	56	2

Forts. Tab. 8: PCR-Bedingungen zur Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern

Mikrosatellit	$MgCl_2$-Konzentration (mM)	Annealing-Temperatur (°C)	PCR-Programm (vgl. Tab. 7)
D8Mit112	1,2	56	2
D9Mit162	1,2	58	1
D9Mit35	1,2	58	1
D10Mit2	1,2	58	1
D10Mit117	1,1	56	2
D11Mit162	1,2	58	1
D11Mit339	1,2	58	1
D12Mit54	1,2	56	2
D12Mit20	1,2	56	2
D13Mit115	1,2	58	1
D13Mit13	1,2	56	2
D13Mit130	1,2	56	2
D13Mit76	1,2	56	1
D14Mit141	1,2	58	1
D14Mit265	1,2	58	1
D15Mit121	1,2	58	1
D15Mit158	1,2	58	1
D16Mit166	1,2	56	2
D16Mit189	1,2	56	2
D17Mit142	1,2	58	1
D17Mit11	1,2	56	1
D18Mit123	1,2	58	1
D18Mit106	1,2	58	1
D19Mit28	1,2	58	1
D19Mit61	1,2	58	1
D19Mit36	1,2	58	1
DXMit73	1,2	56	2
DXMit130	1,2	56	2

3.2.7.2 Polyacrylamidgel-Elektrophorese zur Auftrennung unmarkierter Mikrosatelliten

Die Auftrennung der Mikrosatelliten erfolgte in einem 12%-igem Polyacrylamidgel mit einem Anteil von 2% Bisacrylamid. Die Polyacrylamidgele hatten eine Dicke von 0,4 mm. Als Puffer wurde 0,6 x TBE verwendet. Die jeweiligen Laufbedingungen sind in Tabelle 9 angegeben. Die Elektrophoresen erfolgten ungekühlt bei Raumtemperatur.

Tab. 9: Bedingungen für die Polyacrylamidgel-Elektrophorese zur Auftrennung unmarkierter Mikrosatelliten

		Elektrophorese-Apparatur	
		SS-1000 Sequencer	Blue Vertical 160/C
Probenanzahl pro Gel		36	2 x 25
Gellänge		43 cm	18 cm
Bedingungen:	Tageslauf	1500 V, 50 mA, 30 W	300 V, 50 mA
	Nachtlauf	500 V, 25 mA, 30 W	100 V, 25 mA
Laufzeit:	Tageslauf	5 h	5 h
	Nachtlauf	17 h	17 h
Auftragsvolumen (µl) *		12	9

* Zwei Volumen PCR-Produkt und ein Volumen Bromphenolblaulösung

Für die Auftrennung unmarkierter Mikrosatelliten fanden zwei unterschiedliche Elektrophorese-Apparaturen mit einer Kapazität von 36 Proben und 2 x 25 Proben Anwendung. Pro Polyacrylamidgel wurde ein Mikrosatellit für alle 32 zu testenden Tiere der beiden extremen Leistungsgruppen (HLG 1 und NLG 1) analysiert. Weiterhin sind auf das Gel zusätzlich die Inzuchttiere und ein F_1-Tier aufgetragen worden, um durch den unmittelbaren Vergleich zu einem homozygoten bzw. heterozygoten Genotyp, die Tiere der F_2 typisieren zu können. Nach der Elektrophorese erfolgte die Färbung der PCR-Fragmente direkt im Polyacrylamidgel, welches einer Glasplatte als Trägermaterial anhaftete. Die Färbung begann mit der Fixierung der Mikrosatelliten im Gel durch Eisessig für 10 min in Lösung 1 (S. 32). Anschließend wurde das Gel für 14 min in Silbernitratlösung (1g/l) gefärbt und darauffolgend zweimal kurz in Wasser abgespült. Die eigentliche Farbfällung erfolgte in Lösung 2 (S. 32) für ca. 20 min Die abschließende Inkubation in Na_2CO_3 (7,5 g/l) für ca. 2 min ermöglichte eine

Haltbarkeit des Geles über mehrere Tage. Das noch feuchte Polyacrylamidgel wurde mit einer Folie abgedeckt und nach kurzem Trocknen fotokopiert. Außer der unmittelbar vor Gebrauch angesetzten Lösung 2 wurden alle Lösungen der Silbernitratfärbung dreimal verwendet. Die Genotypen der Mikrosatellitenloci wurden anhand der Bandenmuster ohne weitere Hilfsmittel erfaßt.

3.2.8 Analyse von Mikrosatelliten mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten

3.2.8.1 Amplifizierung von Mikrosatelliten mit fluoreszensmarkierten Primern

Mit dem Ziel der Untersuchung von sieben spezifischen Mikrosatelliten an einer größeren Stichprobe von F_2 -Tieren wurden während eines Aufenthaltes an der Universität Hohenheim (Fachgebiet Tierzüchtung, Leitung Prof. Dr. H. Geldermann) für einen hohen Probendurchsatz Multiplex-Ansätze etabliert. Die Amplifizierung der Mikrosatelliten erfolgte im Thermocycler Crocodile der Firma Appligene (Tab. 10).

Tab. 10: PCR-Programm für die Amplifizierung von Mikrosatelliten mit fluoreszenzmarkierten Primern

Zahl der Zyklen		Temp. (°C)	Zeit (s)
1	Denaturieren	94	180
	Denaturieren	94	15
25	Annealing	56	120
	Synthese	72	120
1	Synthese	72	300

Für sechs der sieben Mikrosatelliten wurden zwei Multiplex-Ansätze mit je drei Mikrosatelliten etabliert. Ein Mikrosatellit konnte in keinen der beiden Multiplex-Ansätze eingehen, da sich seine Fragmentlängen mit denen von anderen Mikrosatelliten überlagerten. Alle drei PCR-Ansätze hatten ein Volumen von je 30 µl. Die Reaktionen verliefen unter folgenden Bedingungen:

$MgCl_2$-Konzentration: 1,1 mM,
DNA-Konzentration: 200 - 1000 ng,
Taq-Polymerase: 3 U für Multiplex-Ansätze, 1 U für Einzelansatz.

Die Tabelle 11 zeigt die eingesetzten Primerkonzentrationen für die PCR-Reaktionen.

Tab. 11: PCR-Bedingungen für die Amplifizierung von Mikrosatelliten mit fluoreszenzmarkierten Primern

PCR-Ansatz	Mikrosatellit	Konzentration je Primer (µM)
Multiplex-Ansatz 1	D17Mit16	0,16
	D8Mit191	0,08
	D17Mit52	0,16
Multiplex-Ansatz 2	D13Mit136	0,13
	D5Mit30	0,16
	D7Mit22	0,16
Einzelansatz	D11Mit213	0,08

3.2.8.2 Polyacrylamidgel-Elektrophorese zur Auftrennung von Mikrosatelliten im A.L.F.-Sequenzierautomaten

Das Arbeiten mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten setzt die Markierung der Fragmente mit Fluorescein voraus. Die Fragmentanalyse erfolgt durch einen im unteren Teil des Geles fixierten Laserstrahl, der das Gel in der gesamten Breite durchdringt. In dieser Höhe befindet sich hinter der Glasplatte an jeder Trennspur eine Photozelle. Wenn eine Bande diese Stelle erreicht, werden die fluoreszierenden DNA-Fragmente durch das Laserlicht angeregt und emittieren Lichtsignale. Eine Registrierung dieser Lichtsignale im Computer schließt sich an.

Die Lösungen mit den PCR-Produkten wurden 10-fach verdünnt und anschließend in einem Volumenverhältnis mit der Bromphenolblaulösung von 2:1 aufgetragen. Außerdem wurden den Ansätzen jeweils ein interner Standard (95 und 216 bp bzw. 110 und 274 bp) zugesetzt. Die Auftrennung erfolgte unter denaturierenden Bedingungen, d.h. die Proben wurden unmittelbar vor dem Auftragen für 1,5 min einer Temperatur von 90 °C ausgesetzt und sofort auf Eis gestellt, um den denaturierten Zustand zu erhalten. Folgende Elektrophoresebedingungen wurden verwendet (Tab. 12).

Tab. 12: Laufbedingungen für die Polyacrylamidgel-Elektrophorese mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten

		A.L.F.-Sequenzierautomat
Probenanzahl pro Gel		40
Gellänge		40 cm
Laufzeit		100 min
Bedingungen		1500 V, 45 mA, 34 W
Temperatur		50 °C
Laser:	Leistung	3 mW
	Sampling Intervall	1,25 s
Auftragsvolumen (µl)*		3

* Zwei Volumen PCR-Produkt und ein Volumen Bromphenolblaulösung

Zur Sicherung gleichbleibender, genauer Untersuchungsbedingungen wurden die Reagenzien standardisiert. Den Vergleichen der Fragmentlängen standen während der Optimierung der PCR die Genotypen jeweils mehrerer Tiere der beiden Inzuchtstämme und die entsprechenden F_1-Nachkommen zur Verfügung, mit denen auch die Wiederholbarkeit der Genotypenbestimmungen überprüft werden konnte. Im Verlaufe der Reihenuntersuchungen wurden bei den PCR-Reaktionsansätzen für jeden Mikrosatellitenlocus Stammansätze hergestellt, so daß nachfolgend nur noch die DNA der einzelnen Tiere hinzugegeben werden mußte. Aufgrund der genauen Fragmentlängenanalyse mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten und der Möglichkeit der computergestützten Auswertung war bei der fluoreszenzmarkierten Darstellung der Mikrosatelliten eine genaue Erfassung der Fragmentlängen möglich. Auf dieser Datenbasis ließen sich direkt die homozygoten bzw. heterozygoten Genotypen der F_2-Tiere

ablesen. Die Gelkapazität von 40 Proben konnte voll ausgenutzt werden, da interne Standards verwendet wurden.

3.2.9 Schätzung des Dominanzgrades

Bei den F_2-Tieren markiert der Besitz verschiedener elterlicher Allele an Mikrosatellitenloci zugleich die Vererbung der betreffenden Chromosomenabschnitte. Von den so als Markerloci verwendeten Mikrosatelliten wurde der Dominanzgrad (für den damit markierten Chromosomenabschnitt) nach folgender Formel berechnet (FALCONER, 1980):

Dominanzgrad = $^{d}/_{a}$

d: Dominanzabweichung, Differenz zwischen dem Merkmalswert der heterozygoten Tiere und dem Merkmalsmittel der Tiere mit verschiedenen homozygoten Genotypen,

a: Additive Genwirkung, halbe Differenz zwischen Merkmalswerten von Tieren mit den verschiedenen homozygoten Genotypen.

Dabei wurden alle für den jeweils betrachteten Mikrosatellitenlocus untersuchten Tiere in die Berechnung einbezogen. In Abhängigkeit der Werte des Dominanzgrades wurden die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Mikrosatellitenloci daraufhin statistisch überprüft, ob sie mit Superdominanz oder Dominanz assoziiert waren.

3.2.10 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS Version 6.1 für Windows. Die Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad verschiedener Leistungsgruppen bzw. dem Anteil Genotypen, die mit Dominanz assoziiert auftraten, und der Heterosis für Wurfgröße wurde anhand einer 2 x 2 Kontingenztafel mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson untersucht. Im Falle erwarteter Häufigkeiten unter 5 wurde der Exakte Test nach Fisher genutzt. Als Signifikanzniveau galt der für biologische Systeme übliche Wert von $\alpha = 0{,}05$.

3.2.10.1 Statistische Analyse von Geneffekten

Mikrosatelliten-Genotypen, die im Zusammenhang mit einer superdominanten Genwirkung auftraten, wurden, ausgehend von folgendem Modell, statistisch geprüft:

$$AA < Aa > aa.$$

Nach der Superdominanztheorie ist Heterosis an das Auftreten heterozygoter Genotypen gebunden. Es wurde geprüft, ob die für Fruchtbarkeits-Heterosis relevanten Markerloci in der Hochleistungsgruppe gegenüber der Niedrigleistungsgruppe einen signifikant erhöhten Anteil heterozygoter Genotypen aufwiesen.

Mikrosatelliten-Genotypen, die im Zusammenhang mit einer dominanten Genwirkung auftraten, wurden, ausgehend von folgendem Modell, statistisch geprüft:

$$AA = Aa > aa.$$

Nach der Dominanztheorie ist Heterosis an das Vorhandensein dominanter Leistungsallele gebunden. Es wurde geprüft, ob die für Fruchtbarkeits-Heterosis relevanten Markerloci in der Hochleistungsgruppe gegenüber der Niedrigleistungsgruppe einen signifikant erhöhten Anteil Genotypen mit Dominanz assoziiertem Allel aufwiesen.

3.2.10.2 Berechnung der Allelfrequenzen für Mikrosatellitenloci

Ausgehend von der Kreuzung zweier, in bezug auf die betrachteten Markerloci, genetisch divergenter Inzuchtstämme ist bei Zufallspaarung eine F_1 mit einem Heterozygotiegrad von 100 % und in der F_2 ein Heterozygotiegrad von 50 % zu erwarten. In der F_2 sollten somit die beiden Allele A und a in einem Verhältnis von 1 : 1 auftreten. Für Mikrosatellitenloci, die an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen typisiert wurden, erfolgte die Berechnung der Allelfrequenzen nach folgenden Formeln:

$q = (0{,}5\ H + Q) / N,$

$p = 1-q.$

Hierbei bedeuten:

q	Frequenz für das Allel A,
p	Frequenz für das Allel a,
Q	Anzahl homozygoter Genotypen für das Allel A,
H	Anzahl heterozygoter Genotypen,
N	Stichprobenumfang.

Signifikante Abweichungen der beobachteten von den zu erwartenden Allelfrequenzen wurden mit dem Chi-Quadrat-Wert nach Pearson ($p \leq 0{,}05$) berechnet.

4 Ergebnisse

4.1 Zuchtversuch

4.1.1 Wurfgrößen der Tiere der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ

Die Fruchtbarkeitsleistungen in den verschiedenen Generationen der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ, gemessen anhand der Wurfgröße, werden in Tabelle 13 aufgeführt. Die Wurfgrößen von F_2-Tieren mit zweifacher Anpaarung wurden zu einem Durchschnittswert zusammengefaßt.

Tab. 13: Wurfgrößen in verschiedenen Generationen der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ

Inzuchtstamm/ Generation	n männlich	n weiblich	Mittelwert ± s	Median	Min	Max
C57BL/6J (C)	30	50	7,2 ± 2,13	7	1	11
Balb/cJ (B)	31	42	6,7 ± 2,78	7	2	11
F_1 (CB)	135	135	9,8 ± 3,06	10	1	16
F_1 (BC)	138	169	10,3 ± 2,57	10	1	14
F_1-Gesamtpopulation		304	10,1 ± 2,82	10	1	16
F_2 (F_1 CB x F_1 CB)	135	398	8,3 ± 2,51	8	1	18
F_2 (F_1 BC x F_1 BC)	185	550	7,8 ± 2,64	8	1	15
F_2-Gesamtpopulation		948	8,0 ± 2,60	8	1	18

C: Inzuchtstamm C57BL/6J CB: C57BL/6J x Balb/cJ s: Standardabweichung
B: Inzuchtstamm Balb/cJ BC: Balb/cJ x C57BL/6J

4.1.2 Heterosiseffekte für das Leistungsmerkmal Wurfgröße

Die Tabelle 14 enthält die ermittelten Heterosiseffekte für die Wurfgröße sowie die Höhe der Maternaleffekte in den Kreuzungsgenerationen.

Tab. 14: Heterosis für Wurfgröße der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ

Inzuchtstamm/ Generation	Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf)	Heterosiseffekte absolut	Heterosiseffekte %	Maternaleffekte absolut	Maternaleffekte %
C57BL/6J	7,2	-	-	-	-
Balb/cJ	6,7	-	-	-	-
F_1	10,1	3,2	45,3	0,5	4,9
F_2	8,0	1,1	15,1	0,5	6,2

Die Abbildung 6 zeigt die durchschnittlichen Wurfgrößen der F_1 und der F_2 gegenüber den jeweiligen Mittelwerten der Wurfgrößen beider Inzuchtstämme.

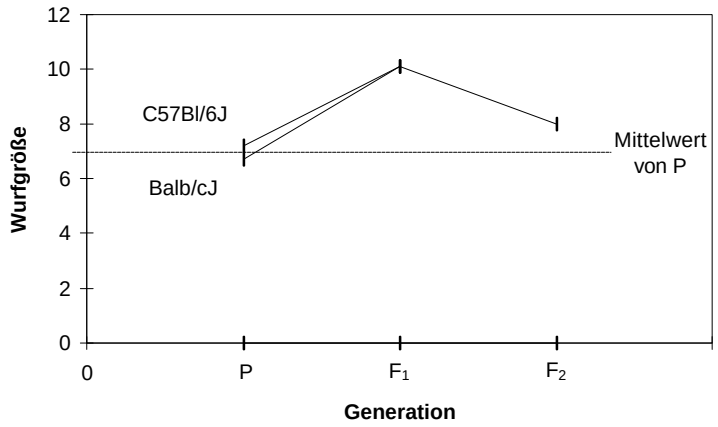


Abb. 4: Ermittelte Wurfgrößen in den verschiedenen Generationen (P, F_1, F_2)

4.1.3 Wurfgrößen von Tieren verschiedener Leistungsgruppen

Für die Bildung von Leistungsgruppen mit Tieren extrem hoher und niedriger Wurfgröße standen 948 F_2-Tiere zur Verfügung. Für die Hochleistungsgruppe 1 mit einer Mindestleistung von 13 Nachkommen ergaben sich die in Tabelle 15 aufgeführten Wurfgrößen.

Tab. 15: Zusammensetzung der Hochleistungsgruppe 1 bezüglich Tierzahlen und Wurfgrößen

Anzahl der F_2-Tiere	Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf)
11	13
4	14
2	15
1	18
Gesamttierzahl: 18	Durchschnittliche Wurfgröße: 13,7

Für die Tiere der Niedrigleistungsgruppe 1, die in zwei aufeinanderfolgenden Würfen eine Wurfgröße jeweils von ≤ 5 Nachkommen aufwiesen, wurden die Ergebnisse in Tabelle 16 zusammengefaßt.

Tab. 16: Zusammensetzung der Niedrigleistungsgruppe 1 bezüglich Tierzahlen und Wurfgrößen

Anzahl der F_2-Tiere	Wurfgröße in zwei Würfen (geborene Tiere/Wurf)
14	≤ 5
davon: 9	≤ 4
4	≤ 3
1	≤ 2
Gesamttierzahl: 14	Durchschnittliche Wurfgröße: 3,3

Bei den 18 Tieren mit extrem hoher Leistung und 14 Tieren mit extrem niedriger Leistung handelte es sich um 3,38% der Tiere der F_2-Gesamtpopulation (Abb. 5). Die Leistungsdifferenz zwischen den extremen Leistungsgruppen betrug 10,4 Nachkommen.

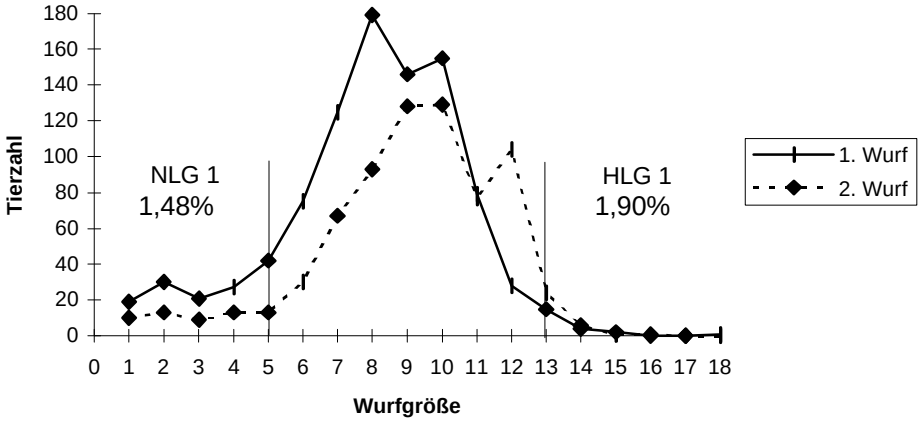


Abb. 5: Darstellung der extremen Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2 (HLG 1: Hochleistungsgruppe 1, NLG 1: Niedrigleistungsgruppe 1)

Spezifische Mikrosatelliten, die die mit Fruchtbarkeit assoziierten DNA-Loci Cyp21a1, Ped, H2, Pmv12, Ryr1, Prl und Pl1 charakterisieren, wurden an einer größeren Stichprobe von F_2-Tieren getestet. Durch die Vergrößerung der Tierzahl der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe verringerte sich die Leistungsdifferenz zwischen den beiden Gruppen von 10,4 Nachkommen auf 7,6 Nachkommen. Zusätzlich erfolgte die Bildung einer Mittelleistungsgruppe, deren Tiere Wurfgrößen von 8 Nachkommen im ersten Wurf und 9 Nachkommen im zweiten Wurf aufwiesen. Die F_2-Tiere der erweiterten Leistungsgruppen, die mit spezifischen Mikrosatelliten untersucht wurden, sind in der Tabelle 17 dargestellt.

Tab. 17: Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2 zur Untersuchung spezifischer Mikrosatelliten

	Leistungsgruppen		
	Hoch (HLG 2)	Niedrig (NLG 2)	Mittel (MLG)
Tierzahlen	100	33	30
Auswahlkriterium für die Wurfgröße	≥ 11	≤ 6	1. Wurf 8
(geborene Tiere/Wurf)		(in 2 Würfen)	2. Wurf 9
∅ Wurfgröße in den Leistungsgruppen	11,7	4,1	8,5

Die Abbildung 6 zeigt die erweiterten Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2.

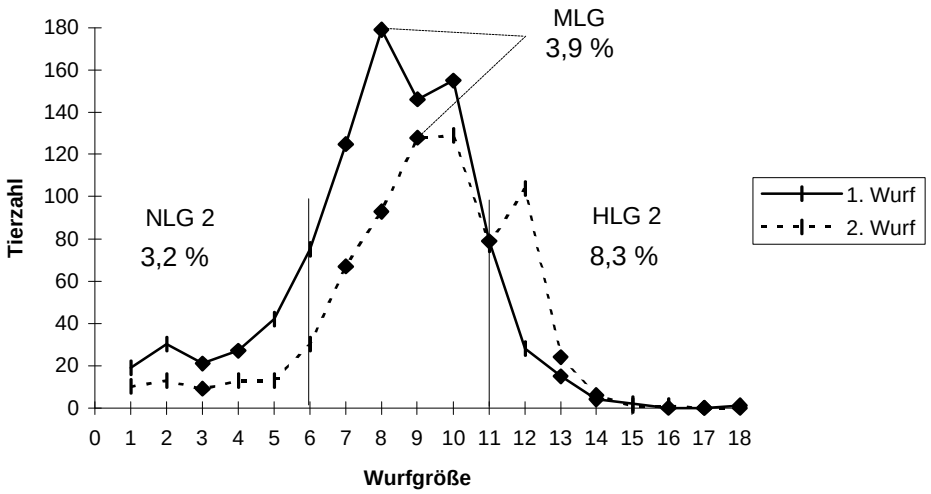


Abb. 6: Darstellung der erweiterten Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2 (HLG 2: Hochleistungsgruppe 2, NLG 2: Niedrigleistungsgruppe 2, MLG: Mittelleistungsgruppe)

4.2 DNA-Analytik zur Typisierung von Mikrosatelliten

4.2.1 Isolierung genomischer DNA aus Gewebe

Bei der DNA-Isolierung aus einem Ohr bzw. Schwanzstück konnten 40 - 150 µg DNA pro Tier gewonnen werden. Die DNA-Qualität ist sowohl spektralphotometrisch als auch über ein 0,8%-iges Agarosegel kontrolliert worden. Das Extinktionsverhältnis von $E_{260/280}$ als Maß für Proteinverunreinigungen lag im Durchschnitt bei 1,8. Dabei konnte festgestellt werden, daß die aus einem Schwanzstück extrahierte DNA, gegenüber der DNA aus einem Ohr, in einem höheren Reinheitsgrad vorlag.

4.2.2 Darstellung der Mikrosatelliten im Polyacrylamidgel

Mit unmarkierten Primern amplifizierte Mikrosatelliten wurden mit der Silbernitratfärbung im Polyacrylamidgel nachgewiesen. Abbildung 7 stellt als Beispiel den Mikrosatelliten DXMit130 dar.

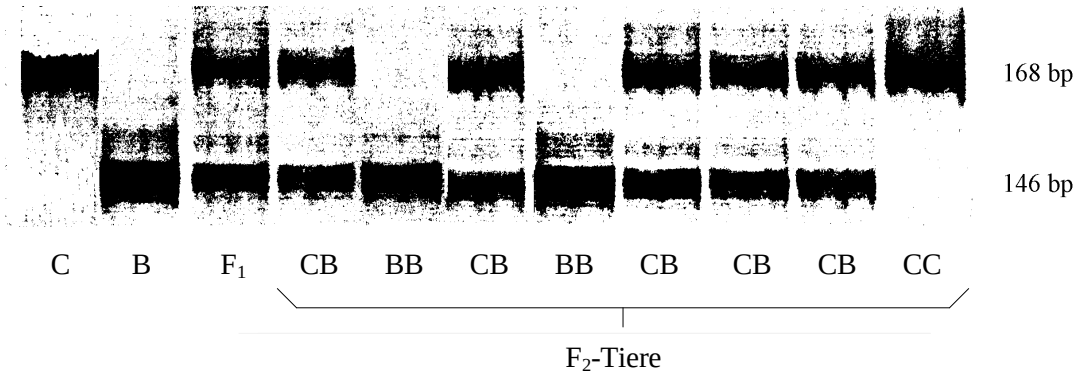


Abb. 7: Mikrosatellit DXMit130 nach Silbernitratfärbung im Polyacrylamidgel
(Nach Einscannen vergrößerte, nicht nachbehandelte Fragmentlängenmuster
C: C57BL/6J, B: Balb/cJ, F_1: C57BL/6J x Balb/cJ
CC: Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm C57BL/6J
BB: Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm Balb/cJ
CB: Heterozygoter Genotyp)

Mit fluoreszenzmarkierten Primern amplifizierte Mikrosatelliten wurden durch die Laserdetektion nachgewiesen. Die Abbildung 8 stellt als Beispiel für den Multiplex-Ansatz 1 (Tab. 11, S. 49) für drei Mikrosatelliten jeweils die Genotypen eines Tieres der Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ sowie eines heterozygoten F_1-Tieres dar. Dabei zeigte sich für den Locus D17Mit52, daß bei heterozygoten Genotypen stets ein Allel stärker als das andere amplifiziert wurde. Dies beeinflußte jedoch nicht die Differenzierbarkeit der Genotypen, wie anhand umfangreicher Wiederholungsanalysen zu erkennen war.

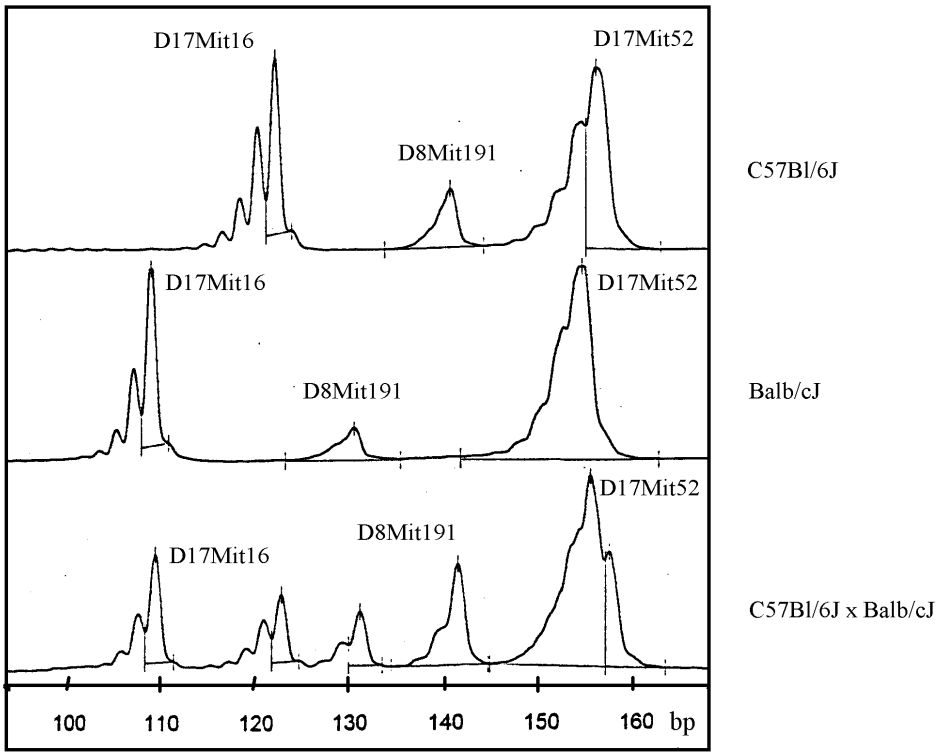


Abb. 8: Multiplex-Darstellung von drei Mikrosatelliten

4.2.3 Schätzung des Dominanzgrades

Um sowohl Superdominanz als auch Dominanz als Erklärung für Heterosiseffekte bei der Auswertung der Ergebnisse der DNA-Marker-Analysen zu berücksichtigen, wurde der Dominanzgrad anhand der Mikrosatellitenloci geschätzt. Die Tabelle 18 beinhaltet Mikrosatelliten-Genotypen, die mit einem Dominanzgrad von > 1 assoziiert auftraten.

Tab. 18: Mikrosatelliten-Genotypen, die mit einem Dominanzgrad > 1 assoziiert auftraten

Mikrosatelliten-locus	Durchschnittliche Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf) bei Tieren mit den Genotypen			Dominanzgrad
	CC	CB	BB	
D1Mit211	7,70	11,14	8,00	21,90
D1Mit23	7,16	10,75	9,87	1,65
D1Mit192	7,82	10,46	8,50	6,76
D1Mit113	7,26	9,81	9,80	1,01
D2Mit372	2,50	10,45	7,20	2,38
D2Mit410	8,23	10,59	5,62	2,81
D5Mit236	5,20	10,83	8,56	2,35
D7Mit22	9,68	10,12	9,03	2,35
D7Mit301	9,22	10,56	5,25	1,67
D8Mit112	8,60	10,18	7,50	3,87
D9Mit162	9,15	10,00	7,50	2,03
D9Mit35	6,77	10,78	9,11	2,42
D11Mit339	7,64	10,12	8,56	4,39
D13Mit13	8,78	9,50	8,87	15,00
D13Mit130	6,66	10,00	8,50	2,63
D16Mit189	7,66	9,71	8,16	7,20
D17Mit16	8,99	10,33	9,56	3,70
D17Mit52	9,10	11,70	8,40	8,43
D17Mit142	8,28	9,71	9,50	1,34
D18Mit106	4,83	10,89	8,28	2,50
D19Mit28	8,19	10,90	8,36	30,88
D19Mit36	8,68	9,03	8,50	4,88
DXMit73	4,93	10,55	9,83	1,29

CC Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm C57BL/6J
CB Heterozygoter Genotyp der Kreuzung C57BL/6J x Balb/cJ
BB Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm Balb/cJ

Die Tabelle 19 beinhaltet Mikrosatelliten-Genotypen, die in Verbindung mit einem

Dominanzgrad von > 0 < 1 assoziiert auftraten.

Tab. 19: Mikrosatelliten-Genotypen, die mit einem Dominanzgrad zwischen 0 und 1 assoziiert auftraten

Mikrosatelliten-locus	Durchschnittliche Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf) bei Tieren mit den Genotypen			Dominanzgrad
	CC	CB	BB	
D2Mit58	6,66	10,16	10,20	0,98
D4Mit175	11,72	9,64	6,87	0,14
D4Mit148	10,55	10,43	8,30	0,89
D5Mit30	8,30	9,90	10,30	0,60
D5Mit101	5,40	10,53	11,00	0,83
D7Mit158	10,55	8,84	5,33	0,34
D11Mit162	9,83	9,25	8,33	0,23
D11Mit213	8,91	10,07	10,87	0,18
D12Mit54	7,64	9,41	10,00	0,50
D13Mit136	10,29	9,84	8,56	0,48
D14Mit141	4,92	9,50	11,09	0,48
D14Mit265	5,87	9,00	12,10	0,01
D15Mit121	6,00	9,88	10,90	0,58

CC Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm C57BL/6J
CB Heterozygoter Genotyp der Kreuzung C57BL/6J x Balb/cJ
BB Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm Balb/cJ

Die Mikrosatellitenloci aus den Tabellen 18 und 19 wurden hinsichtlich ihrer Assoziation zu Superdominanz- bzw. Dominanzwirkung statistisch geprüft.

Die Tabelle 20 beinhaltet Mikrosatelliten-Genotypen, die in Verbindung mit einem negativen Dominanzgrad erschienen.

Tab. 20: Mikrosatelliten-Genotypen, die mit einem negativen Dominanzgrad assoziiert auftraten

Mikrosatelliten-locus	Durchschnittliche Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf) bei Tieren mit den Genotypen			
	CC	CB	BB	Dominanzgrad
D3Mit120	10,78	8,40	7,35	-0,38
D3Mit127	12,75	9,53	6,95	-0,11
D4Mit193	11,83	9,31	7,83	-0,26
D5Mit148	11,40	8,60	9,00	-1,37
D6Mit93	9,44	8,66	10,00	-3,78
D6Mit290	7,64	8,67	13,40	-0,64
D8Mit191	9,77	8,44	8,77	-1,66
D10Mit2	10,57	9,00	8,25	-0,35
D10Mit117	13,20	8,95	7,00	-0,37
D12Mit20	13,00	9,11	8,94	-0,92
D13Mit115	9,50	7,33	11,25	-3,48
D15Mit158	10,08	8,29	10,27	-19,48
D16Mit166	10,33	9,03	8,75	-0,65
D18Mit123	7,6	8,55	10,93	-0,43
DXMit130	9,2	8,81	10,50	-1,60

CC Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm C57BL/6J
CB Heterozygoter Genotyp der Kreuzung C57BL/6J x Balb/cJ
BB Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm Balb/cJ

Für Mikrosatelliten, die an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen getestet wurden, erfolgte die Schätzung des Dominanzgrades vergleichend mit Tieren extremer bzw. erweiterter Leistungsgruppen (Tab. 21).

Tab. 21: Schätzung des Dominanzgrades vergleichend mit F_2-Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen

Mikrosatelliten-locus	Dominanzgrad: extreme Leistungsgruppen (HLG 1 und NLG 1)	Dominanzgrad: erweiterte Leistungsgruppen (HLG 2, NLG 2 und MLG)
D5Mit30	0,19	0,46
D7Mit22	1,31	2,35
D8Mit191	-16,73	-1,66
D11Mit213	0,68	0,18
D13Mit136	0,89	0,48
D17Mit52	24,02	11,14
D17Mit16	2,36	3,7

HLG 1/-2 Hochleistungsgruppe 1/-2
NLG 1/-2 Niedrigleistungsgruppe 1/-2
MLG Mittelleistungsgruppe

4.2.4 Ergebnisse der statistischen Analyse von Geneffekten

Mikrosatellitenloci, deren Genotypen mit unterschiedlicher Genwirkung assoziiert auftraten (Tab. 18 und 19), wurden mit dem für die betreffende Genwirkung entsprechenden Modell (vgl. S. 52) ausgewertet. Die Anzahl bestimmter Genotypen pro Mikrosatellit und Leistungsgruppe und die Ergebnisse der statistischen Analyse wurden, getrennt nach Genwirkungsmodell, in den Tabellen 22 bis 25 dargestellt.

- Mikrosatellitenloci, deren Genotypen mit superdominanter Genwirkung assoziiert auftraten

Mikrosatelliten, die mit superdominanter Genwirkung assoziiert auftraten, wurden auf der Grundlage des Superdominanzmodells auf signifikante Abweichungen im Heterozygotiegrad zwischen den Leistungsgruppen mit hoher und niedriger Wurfgröße geprüft (Tab. 22).

Tab. 22: Mikrosatellitenloci, deren Genotypen mit superdominanter Genwirkung assoziiert auftraten

-Superdominanzmodell-

Mikrosatelliten-locus	F_2-Tiere mit heterozygotem Genotyp Aa Hochleistungsgruppe Anzahl	%	Niedrigleistungsgruppe Anzahl	%	p
D1Mit211	11	61	4	29	0,08
D1Mit23	9	50	3	21	0,15
D1Mit192	10	56	5	36	0,31
D1Mit113	13	72	8	57	0,37
D2Mit372	14	78	7	50	0,14
D2Mit410	12	67	5	36	0,15
D5Mit236	13	72	5	36	0,07
D7Mit22 **F**	54	54	13	42	0,24
D7Mit301	12	67	5	36	0,15
D8Mit112	10	56	6	43	0,48
D9Mit162	9	50	6	43	0,69
D9Mit35	10	56	4	29	0,16
D11Mit339	11	61	6	43	0,30
D13Mit13	10	56	7	50	1,00
D13Mit130	14	78	8	57	0,27
D16Mit189	12	67	7	50	0,34
D17Mit16 **F**	76	63	16	50	0,19
D17Mit52 **F**	45	62	9	35	0,01*
D17Mit142	11	61	6	43	0,30
D18Mit106	14	78	5	36	0,03*
D19Mit28	16	89	6	43	0,008*
D19Mit36	11	61	7	50	0,53
DXMit73	13	72	6	43	0,15

F Genotypisierung der Mikrosatelliten an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen
p Wahrscheinlichkeit nach Pearson bzw. Fisher
* Signifikant ($p \leq 0,05$)

Wie aus der Tabelle 22 hervorgeht, waren drei der 23 berücksichtigten Markerloci signifikant mit Superdominanz assoziiert. Die durchschnittlichen Wurfgrößen der F_2-Tiere mit den Genotypen AA, Aa und aa sind für diese Mikrosatelliten in Abbildung 9 dargestellt.

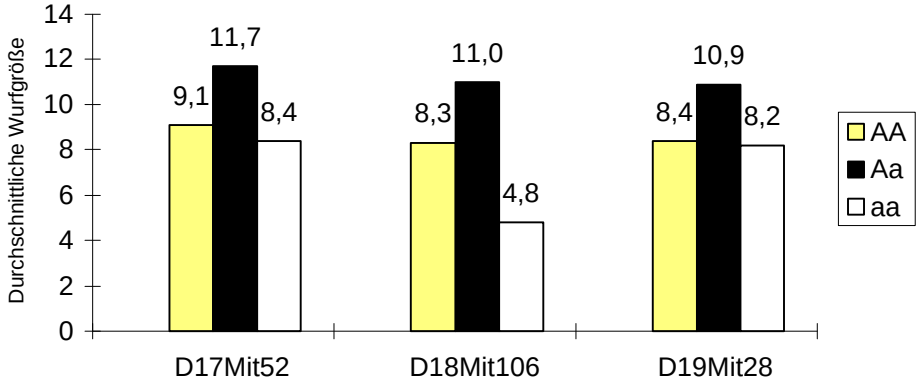


Abb. 9: Durchschnittliche Wurfgrößen (geborene Tiere/Wurf) der F_2-Tiere mit den Genotypen AA, Aa und aa für Mikrosatelliten mit signifikanter Beziehung zwischen Heterozygotiegrad und Heterosis für Wurfgröße

Für Mikrosatelliten, die mit fluoreszenzmarkierten Primern amplifiziert und an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen getestet wurden, erfolgte zusätzlich ein Vergleich der Ergebnisse unter Einbeziehung von Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen (Tab. 23). Aufgrund der hochsignifikanten Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße für den Mikrosatelliten D19Mit28, wurden für diesen Mikrosatellitenlocus zusätzlich Tiere der erweiterten Leistungsgruppen typisiert.

Tab. 23: Vergleich der Wahrscheinlichkeit p unter Einbeziehung von F_2-Tieren verschiedener Wurfgrößen

Mikrosatelliten-locus	Wahrscheinlichkeit p unter Einbeziehung von F_2-Tieren verschiedener Wurfgrößen (geborene Tiere/Wurf)			
	$\leq 5 \leftrightarrow \geq 11$	$\leq 6 \leftrightarrow \geq 11$	$\leq 5 \leftrightarrow \geq 13$	$\leq 6 \leftrightarrow \geq 13$
D7Mit22	0,25	0,24	0,18	0,13
D17Mit16	0,68	0,19	0,13	0,016*
D17Mit52	0,38	0,01*	0,02*	0,0005*
D19Mit28	0,086	0,003*	0,008*	0,0002*

* Signifikant ($p \leq 0,05$)

- Mikrosatellitenloci, deren Genotypen mit dominanter Genwirkung assoziiert auftraten

Mikrosatelliten der Tabelle 24 wurden auf der Grundlage des Dominanzmodells auf signifikante Abweichungen im Anteil Genotypen mit Dominanz assoziirtem Allel zwischen den Leistungsgruppen mit hoher und niedriger Wurfgröße geprüft. Zu diesem Zweck erfolgte ein statistischer Vergleich der Tiere mit verschiedenen Mikrosatelliten-Genotypen innerhalb der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe. Die Genotypen von zwei Mikrosatellitenloci traten signifikant mit dominanter Genwirkung assoziiert auf.

Tab. 24: Mikrosatellitenloci, deren Genotypen mit dominanter Genwirkung assoziiert auftraten

- Dominanzmodell -

	Anzahl an Genotypen				
Mikrosatelliten-	Hochleistungsgruppe		Niedrigleistungsgruppe		p
locus	AA + Aa	aa	AA + Aa	aa	
D2Mit58	15	3	8	6	0,13
D4Mit175	14	4	6	8	0,06
D4Mit148	11	7	5	8	0,28
D5Mit30 **F**	83	16	19	13	0,004*
D5Mit101	16	2	7	7	0,02*
D7Mit158	17	1	9	5	0,06
D11Mit162	15	3	11	3	1,00
D11Mit213 **F**	46	8	16	5	0,49
D12Mit54	15	3	10	4	0,67
D13Mit136 **F**	35	19	12	8	0,70
D14Mit141	10	8	11	3	0,06
D14Mit265	10	8	12	2	0,12
D15Mit121	17	1	9	3	0,27

F Genotypisierung der Mikrosatelliten an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen
p Wahrscheinlichkeit nach Pearson bzw. Fisher
* Signifikant ($p \leq 0,05$)

Zusätzlich erfolgte der Vergleich der Wahrscheinlichkeit p unter Berücksichtigung von F_2-Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen (Tab. 25). Für den Mikrosatelliten D5Mit30, der an Tieren extremer Leistungsgruppen signifikant mit dominanter Genwirkung assoziiert auftrat, galt dies in ähnlicher Weise auch unter Berücksichtigung von Tieren erweiterter Leistungsgruppen.

Tab. 25: Vergleich der Wahrscheinlichkeit p unter Einbeziehung von F_2-Tieren verschiedener Wurfgrößen

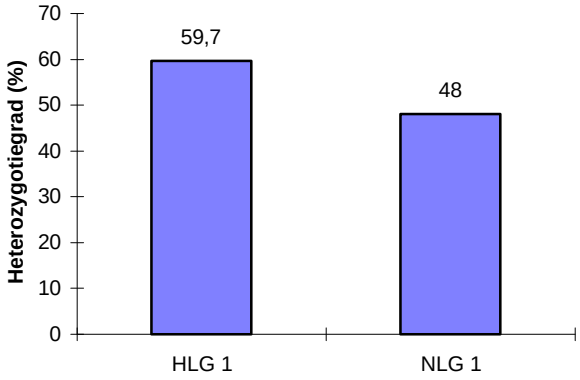
- Dominanzmodell -

Mikrosatelliten locus	Wahrscheinlichkeit p unter Einbeziehung von F_2-Tieren verschiedener Wurfgrößen (geborene Tiere/Wurf)	
	$\leq 5 \leftrightarrow \geq 13$	$\leq 6 \leftrightarrow \geq 11$
D5Mit30	0,02*	0,004*
D11Mit213	0,33	0,49
D13Mit136	0,44	0,70

* Signifikant ($p \leq 0,05$)

4.2.5 Heterozygotiegrad von F_2-Tieren verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße

Der durchschnittliche Heterozygotiegrad von F_2-Tieren der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) und der Niedrigleistungsgruppe 1 (≤ 5 Nachkommen) wurde anhand von 56 Mikrosatelliten berechnet und signifikante Abweichungen von den zu erwartenden 50 % statistisch geprüft (Abb. 10).



p = 0,00006 p = 0,33

Abb. 10: Durchschnittlicher Heterozygotiegrad von F_2-Tieren der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe 1 (HLG 1 und NLG 1)

Sieben mit fluoreszenzmarkierten Primern amplifizierte Mikrosatelliten wurden an F_2-Tieren einer größeren Stichprobe untersucht, von denen sich entsprechend der Werte des Dominanzgrades drei (D7Mit22, D17Mit16 und D17Mit52) in das Modell der Superdominanz und drei (D5Mit30, D11Mit213 und D13Mit136) in das Modell der Dominanz einordnen ließen (vgl. Tab. 22 u. 24, S. 65 u. 67). Für diese sechs Mikrosatelliten wurden die Heterozygotiegrade an Tieren der erweiterten Leistungsgruppen (HLG 2, NLG 2 und MLG) ermittelt und in Abbildung 11 dargestellt.

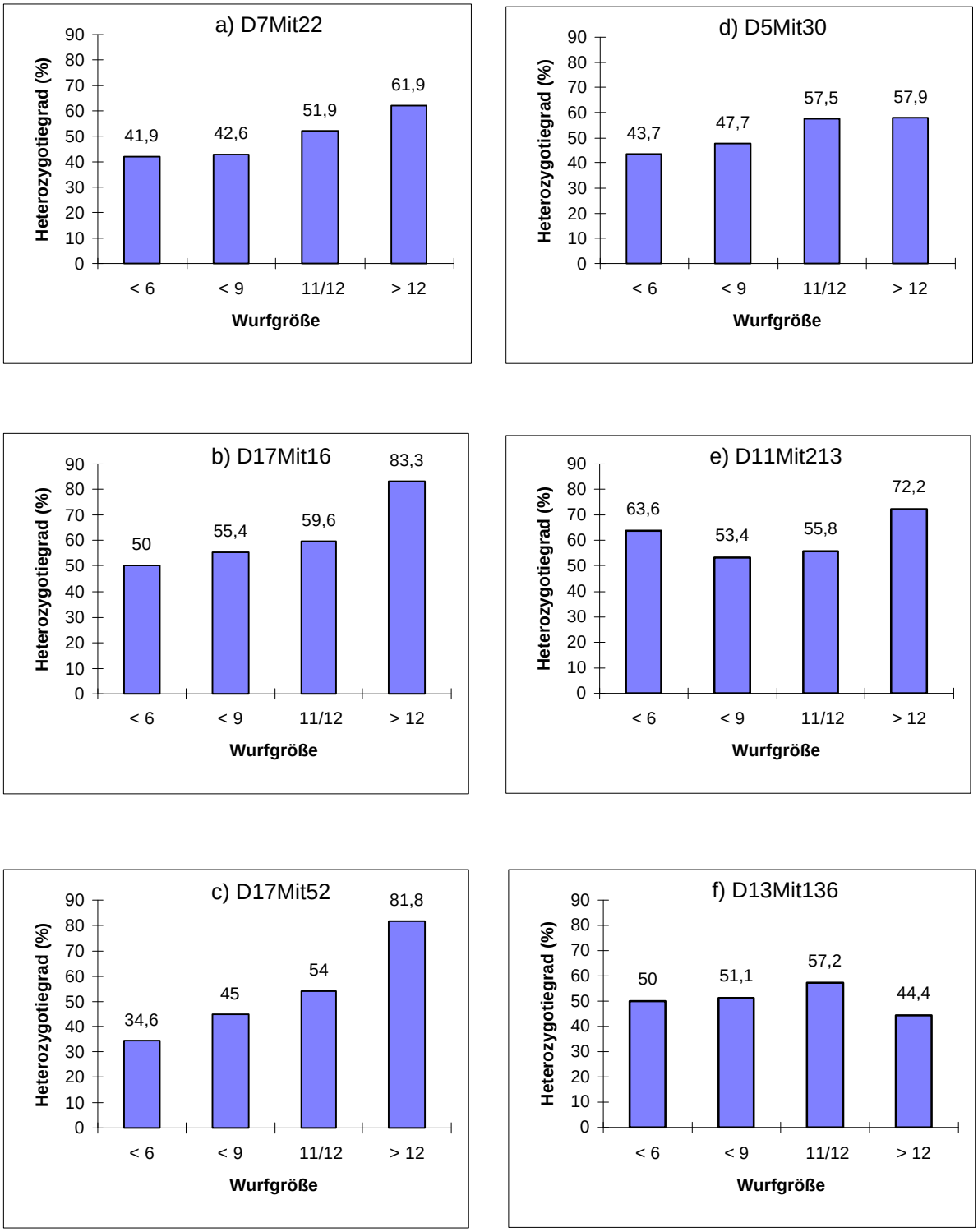


Abb. 11: Heterozygotiegrade für Mikrosatellitenloci, vergleichend an F_2-Tieren verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf)

a) Locus D7Mit22
b) Locus D17Mit16
c) Locus D17Mit52
d) Locus D5Mit30
e) Locus D11Mit213
f) Locus D13Mit136

4.2.6 Allelfrequenzen von Mikrosatellitenloci

Durch die Kreuzung zweier Inzuchtlinien und den anschließenden Intercross der F_1-Tiere wurde eine F_2 mit einer für jeden Locus zu erwartenden Allelfrequenz von 0,5 erzeugt. Für Mikrosatelliten, die mit fluoreszenzmarkierten Primern amplifiziert und an einer größeren Stichprobe von F_2-Tieren untersucht wurden, sind die Allelfrequenzen bestimmt und auf signifikante Abweichungen statistisch geprüft worden (Tab. 26).

Tab. 26: Allelfrequenzen von Mikrosatellitenloci, die an F_2-Tieren erweiterter Leistungsgruppen typisiert wurden

Mikrosatelliten-locus	Allelfrequenzen C	B	p
D5Mit30	0,50	0,50	1,00
D7Mit22	0,52	0,48	0,65
D8Mit191	0,58	0,42	0,15
D11Mit213	0,50	0,50	1,00
D13Mit136	0,60	0,40	0,10
D17Mit16	0,52	0,48	0,68
D17Mit52	0,53	0,47	0,59

C Allel vom Inzuchtstamm C57BL/6J
B Allel vom Inzuchtstamm Balb/cJ
p Wahrscheinlichkeit nach Pearson für ein Abweichen der Allelfrequenzen von 0,5

Die zu erwartenden Allelfrequenzen eines Locus von 0,5 treffen auch für die Allele aller Loci zu. Eine für alle 56 Mikrosatelliten zusammengefaßte Auswertung der Allelfrequenzen erfolgte für die Hoch- bzw. Niedrigleistungsgruppe 1. Die Ergebnisse gehen aus Tabelle 27 hervor.

Tab. 27: Allelfrequenzen von 56 Mikrosatellitenloci der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe 1

	Allelfrequenzen		
	C	B	p
Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen)	0,47	0,53	0,25
Niedrigleistungsgruppe 1 (≤ 5 Nachkommen)	0,49	0,51	0,75

C: Allele vom Inzuchtstamm C57BL/6J
B: Allele vom Inzuchtstamm Balb/cJ
p: Wahrscheinlichkeit p nach Pearson für ein Abweichen der Allelfrequenzen von 0,5

4.2.7 Vergleichende Analyse von zwei eng gekoppelten Mikrosatellitenloci

Der Dominanzgrad zweier eng gekoppelter Mikrosatellitenloci wurde vergleichend mit den F_2-Tieren extremer Leistungsgruppen (HLG 1 und NLG 1) geschätzt (Tab. 28).

Tab. 28: Genotypen von zwei Mikrosatellitenloci, die einen Chromosomenbereich charakterisieren, und dazugehörige Dominanzgrade

Mikrosatelliten-locus	Chromosom/ cM	Durchschnittliche Wurfgröße von F_2-Tieren mit den Genotypen CC	CB	BB	Dominanzgrad
D2Mit372	2 / 27,0	2,5	10,4	7,2	2,38
D2Mit368	2 / 27,0	7,3	10,4	2,5	2,29
D5Mit148	5 / 18,0	11,4	8,6	9,0	-1,37
D5Mit229	5 / 18,0	11,4	8,7	9,1	-1,34
D13Mit130	13 / 58,5	6,7	10,0	8,5	2,63
D13Mit76	13 / 59,0	6,7	10,0	8,5	2,63
D17Mit52	17 / 22,3	5,4	10,8	4,9	24,02
D17Mit11	17 / 21,6	5,6	10,4	5,5	80,50
D19Mit28	19 / 12,0	3,3	11,0	6,8	30,88
D19Mit61	19 / 8,0	3,3	10,4	6,8	3,07

CC Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm C57BL/6J

CB Heterozygoter Genotyp der Kreuzung C57BL/6J x Balb/cJ
BB Homozygoter Genotyp vom Inzuchtstamm Balb/cJ

Mit Ausnahme der Mikrosatelliten D5Mit148 und D5Mit229 konnte bei den übrigen Loci aus den berechneten Dominanzgraden eine mit Superdominanz assoziierte Genwirkung festgestellt werden. Entsprechend des Modellansatzes der Superdominanztheorie der Heterosis (vgl. S. 52) wurde die Wahrscheinlichkeit berechnet, mit der die Anteile heterozygoter Genotypen zwischen den Tieren extremer Leistungsgruppen (HLG 1 und NLG 1) differieren. Die Ergebnisse sind in Tabelle 29 enthalten. Wie zu erkennen ist, entsprachen sich die Ergebnisse bei Analyse von zwei eng gekoppelten Markerloci durchgehend.

Tab. 29: Heterozygotiegrade für jeweils zwei eng gekoppelte Mikrosatellitenloci von F_2-Tieren der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe 1

- Superdominanzmodell -

	F_2-Tiere mit heterozygotem Genotyp Aa				
Mikrosatelliten-	Hochleistungsgruppe 1		Niedrigleistungsgruppe 1		
locus	Anzahl	%	Anzahl	%	p
D2Mit372	14	78	7	50	0,14
D2Mit368	14	78	7	50	0,14
D13Mit130	14	78	8	57	0,27
D13Mit76	14	78	8	57	0,27
D17Mit52	16	89	7	50	0,02*
D17Mit11	16	89	8	57	0,045*
D19Mit28	16	89	6	43	0,008*
D19Mit61	16	89	6	43	0,008*

* Signifikant ($p \leq 0,05$)
p Wahrscheinlichkeit nach Pearson bzw. Fisher

5 Diskussion

5.1 Beiträge experimenteller Arbeiten zur Heterosisforschung am Tier

Für Pflanzen existiert eine umfangreiche Literatur zur Heterosisforschung. Dies gilt für Tiere in eingeschränktem Maße, wobei insbesondere experimentelle Beiträge zu molekulargenetischen Analysen von Heterosiseffekten nur in geringem Umfang vorhanden sind. Heterosis-Forschungsprojekte an Nutztieren sind außerordentlich aufwendig und langwierig, so daß in den durchgeführten Arbeiten im Rahmen der vorliegenden Dissertation die Maus als Modelltier gewählt wurde. Vorteile der Maus sind neben der physiologischen Verwandtschaft mit den Nutztieren und dem kurzen Generationsintervall die Verfügbarkeit von Inzuchtstämmen, die bei einer strikten Bruder-Schwester-Verpaarung nach mindestens 20 Generationen eine Heterozygotie von nur 1,6 % besitzen. Die Maus ist eines der bedeutendsten Versuchstiere und spielt in zahlreichen Forschungsbereichen eine vordergründige Rolle. Bei der Vielfalt der heute existierenden Mäusestämme ist eine Auswahl des für die Untersuchungszwecke am besten geeigneten Stammes möglich. Von der Maus existieren genaue Kenntnisse auf morphologischer, biochemischer und molekulargenetischer Basis. So wurde das Maus-Genom, abgesehen vom menschlichen Genom, am eingehendsten untersucht.

Die für das Heterosisprojekt verwendeten Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ gehören zu den bekanntesten Linien, die sich durch Langlebigkeit, gute Vitalität und eine konstante Fruchtbarkeitsleistung auszeichnen. Beide Linien wurden völlig unabhängig voneinander gezüchtet, so daß in beiden Linien unterschiedlich positive Allele fruchtbarkeitsrelevanter Gene erwartet wurden.

5.2 Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ

Die durchschnittlichen Wurfgrößen der F_1- und F_2-Tiere lagen mit 10,1 Nachkommen bzw. mit 8,0 Nachkommen weit über der mittleren Leistung der Inzuchtstämme von 6,95 Nachkommen, so daß Heterosiseffekte in der Größenordnung von 45 % in der F_1 und 15 % in der F_2 auftraten (Tab. 14, S. 55). Aus der Literatur sind von Kreuzungsversuchen mit Mäusen in der F_1 Heterosiseffekte für Wurfgröße zwischen 20 und 40 % bekannt (NIEUWENHUIZEN et al.,

1982; NAGAI et al., 1984; GÖTZ et al., 1991 a, b). Die Werte liegen damit über den aus der Literatur bekannten Heterosiseffekten für Wurfgröße.

Voraussetzung für die Entstehung von Heterosis ist das Vorhandensein komplementär homozygoter DNA-Loci bei den Elterntieren. Je größer die genetische Divergenz, desto höher sind die zu erwartenden Heterosiseffekte (SCHNELL, 1961; LEE et al., 1989; MELCHINGER et al., 1990). Aus der Datenbank MGD (Mouse Genome Database) waren für die ausgewählten Inzuchtlinien die Fragmentlängen von mehr als 6000 Mikrosatellitenloci bekannt (Stand Mai 1996), so daß Aussagen über die genetische Ähnlichkeit der beiden berücksichtigten Inzuchtlinien getroffen werden können. Die Inzuchtlinien C57BL/6J und Balb/cJ wiesen, gemessen anhand dieser Mikrosatelliten-Marker, divergente Allele im Umfang von 51 % auf.

5.3 Auswahl verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße in der F_2

Bei der Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ wurde als Merkmal die Wurfgröße (geborene Tiere/Wurf) betrachtet. Mit 948 F_2-Tieren wurden Leistungsgruppen hoher und niedriger Wurfgröße gebildet, um nachfolgend DNA-Marker-Analysen an vergleichenden Tiergruppen der F_2 mit extremer Leistungsdifferenz für das Merkmal Wurfgröße durchführen zu können.

Eine besondere Bedeutung kam der Auswahl der Tiere der extremen Leistungsgruppen zu, da an diesen Tieren die Beziehung zwischen Genotypen und Heterosis für Wurfgröße erfolgte. In die Hochleistungsgruppe 1 (HLG 1) wurden Tiere selektiert, die eine Wurfgröße von ≥ 13 Nachkommen aufwiesen (∅ 13,7) und damit 5,7 Nachkommen über der durchschnittlichen Leistung der gesamten F_2, 3,5 Nachkommen über der durchschnittlichen Wurfgröße der F_1 und 6,75 Nachkommen über dem Mittelwert der Inzuchtlinien lagen (vgl. Tab. 15, S. 56). Neben der Verfügbarkeit von Tieren, die Heterosis zeigten, wurden im Vergleich dazu Tiere benötigt, die keine Heterosis aufwiesen. Die Niedrigleistungsgruppe 1 (NLG 1) mit einer extrem geringen Wurfgröße erfüllte diese Voraussetzung, da pro Tier zwei Würfe für die Leistungsgruppenbildung zugrunde lagen. Tiere der Niedrigleistungsgruppe 1 wiesen in beiden Würfen ≤ 5 Nachkommen auf. Mit einem Durchschnitt von 3,3 Nachkommen

lagen diese Tiere 4,7 Nachkommen unter der durchschnittlichen Leistung der gesamten F_2, 6,9 Nachkommen unter der durchschnittlichen Wurfgröße der F_1 und 3,65 Nachkommen unter dem Mittelwert der Ausgangspopulation (vgl. Tab. 16, S. 56).

Die Anzahl von 18 bzw. 14 ausgewählten Tieren der F_2 für die jeweiligen extremen Leistungsgruppen HLG 1 und NLG 1 mit hoher und niedriger Wurfgröße ergab sich aus der vorhandenen Tierzahl mit den festgelegten extrem hohen bzw. extrem niedrigen Leistungswerten. Die Selektion von nur 3,38 % der Tiere der F_2-Gesamtpopulation, mit dem Ziel der Gewährleistung einer extremen Leistungsdifferenz zwischen den Tiergruppen, sicherte eine ausreichende Genauigkeit bei der Bildung der Leistungsgruppen und minimierte den Aufwand bei den molekulargenetischen Untersuchungen.

Um bestimmte, mit Fruchtbarkeit assoziierte DNA-Loci umfassender zu charakterisieren, wurden für eine Hochleistungsgruppe 2 (HLG 2) zusätzlich F_2-Tiere mit einer Wurfgröße von 11 und 12 Nachkommen, für eine Niedrigleistungsgruppe 2 (NLG 2) zusätzlich F_2-Tiere mit $\leq$ 6 Nachkommen in jedem von zwei aufeinanderfolgenden Würfen und für eine Mittelleistungsgruppe (MLG) F_2-Tiere mit acht Nachkommen im ersten Wurf und neun Nachkommen im zweiten Wurf ausgewählt. Der Anteil selektierter Tiere der F_2-Gesamtpopulation erhöhte sich damit von 3,38 % auf 15,4 %, wodurch die Leistungsdifferenz der Wurfgröße zwischen den Hoch- und Niedrigleistungsgruppen der extremen bzw. erweiterten Leistungsgruppen von 10,4 auf 7,6 Nachkommen sank. Die Gesamttierzahl erhöhte sich von 32 Tieren für die extremen Leistungsgruppen HLG 1 und NLG 1 auf 163 Tiere für die erweiterten Leistungsgruppen HLG 2, NLG 2 und MLG (Tab. 17, S. 57). Die zusätzlich analysierten F_2-Tiere erhöhten den experimentellen Aufwand, ergaben jedoch eine zusätzliche Signifikanz für den Mikrosatellitenlocus D17Mit16.

5.4 Stichprobengröße von Leistungsgruppen ausgewählter F_2-Tiere

Für 8 von 56 getesteten DNA-Loci konnten entsprechend dem jeweiligen Heterosismodell, zwischen den Hoch- und Niedrigleistungsgruppen signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) im Anteil bestimmter Genotypen nachgewiesen werden. Bei der gewählten Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05 sind also 5 % der geprüften Differenzen zufallsmäßig

signifikant, d.h. etwa 3 der gefundenen Signifikanzen haben eventuell keine biologische Ursache. Hervorzuheben ist aber auch, daß die Mehrzahl der gefundenen Assoziationen zwischen bestimmten Genotypen und der Heterosis für Fruchtbarkeit genetisch determiniert ist. Stärkere Effekte konnten in dem Experiment erkannt werden.

Aus der Zahl der in diesem Versuch einbezogenen Tiere ergibt sich auch die Frage, wie groß ein Genotypenunterschied zwischen den betrachteten Tiergruppen mit differenten Leistungen sein müßte, um statistisch signifikant zu sein. Unter Voraussetzung gleicher Stichprobengrößen und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,05 läßt sich nach HASEMANN (1978) ableiten, daß bei einem Anteil heterozygoter Genotypen von 90 % in der Hochleistungsgruppe und 40 % in der Niedrigleistungsgruppe in den beiden Gruppen jeweils 13 Tiere bei einer Power von 0,8 (bzw. jeweils 17 Tiere bei einer Power von 0,9) benötigt werden (Superdominanzmodell). Diese Gruppengrößen konnten in diesem Versuch realisiert werden. Auf der Basis der vorliegenden Daten konnten jedoch nur sehr große Genotypdifferenzen abgesichert werden. In bezug auf die Analyse von Heterosiseffekten wäre jedoch weiterhin interessant, Unterschiede im Anteil heterozygoter Genotypen von 20 % zwischen Gruppen mit extrem unterschiedlichen Leistungen erkennen zu können. Es müßte jedoch eine Stichprobengröße von jeweils ca. 85 F_2-Tieren (bei Heterozygotiegraden von 60 % in der Hochleistungsgruppe und 40 % in der Niedrigleistungsgruppe) getestet werden, zu deren Erstellung ca. 5000 F_2-Tiere nötig wären. Ein Experiment mit diesem Umfang wäre unter entsprechenden Voraussetzungen durchaus realisierbar (größere Räumlichkeiten, ausreichend Personal), da sowohl bei der Gestaltung der Tierexperimente (z.B. Messung der Nachkommen vor der Geburt) als auch im Bereich der Laborarbeiten (z.B. Multiplex-PCR, automatisierte Genotypisierung) vielfältige Möglichkeiten für Aufwandssenkungen bestehen.

5.5 Mikrosatelliten zur Charakterisierung von F_2-Tieren verschiedener Leistungsgruppen für Wurfgröße

Mikrosatelliten als genetische Marker sind für die Identifizierung und Kartierung quantitativer Merkmale von großer Bedeutung. Für die Maus existieren bereits eine große Anzahl von Mikrosatelliten, die über die Datenbank MGD dem Nutzer zugänglich sind. Mit der Auswahl

von 56 Mikrosatelliten, davon fünf als Wiederholungsmarker, konnte eine durchschnittliche Distanz zwischen den Markern von 32 cM realisiert werden.

BOTSTEIN et al. (1980) schlugen vor, über die Genkopplung unbekannte Gene mit Hilfe polymorpher Marker zu charakterisieren. Für eine Untersuchung des gesamten Genoms ist eine gleichmäßige Markerverteilung in einem möglichst geringen Abstand entscheidend. SOLLER et al. (1976) und GELDERMANN (1988) empfehlen bei einer gleichmäßigen Abdeckung des Genoms mit polymorphen DNA-Markern einen Abstand von 40 cM zwischen den Markern und damit eine maximale Distanz von 20 cM zwischen Marker und Gen. BECKMANN und SOLLER (1983) simulierten die zufällige und gleichmäßige Abdeckung eines Genoms mit Markern und die damit mögliche Beurteilung von QTLs in F_2-Populationen. Sie stellten fest, daß bei Abständen von ca. 20 cM zwischen den Markerloci noch QTLs mit Effekten zu analysieren sind. In weiterführenden Projekten sollten für Regionen, die in dieser Arbeit einen Einfluß auf Heterosiseffekte zeigten, zusätzliche Markerloci Verwendung finden.

Mit dem Ziel der Charakterisierung ausgewählter DNA-Loci an einer größeren Stichprobe von F_2-Tieren wurden von den 56 Mikrosatelliten fünf Mikrosatelliten ausgewählt, mit denen die DNA-Loci Ped (Preimplantation embryonic development), Cyp21a1 (Cytochrome P450, 21, steroid 21 hydroxylase), H2 (Histicompatibility-2, MHC), Pmv12 (Polytropic murine leucemia virus 12), Ryr1 (Ryanodine receptor 1, skeletal muscle), Prl (Prolactin) und Pl1 (Placental lactogen 1) mit besonderer Assoziation zur Fruchtbarkeit charakterisiert wurden. Für zwei damit markierte Chromosomenabschnitte ließen sich signifikante Effekte auf die Heterosis erfassen.

5.6 DNA-Analytik zur Typisierung von Mikrosatelliten

Mit dem Ziel eines sparsamen Umganges mit Arbeitszeit und Material wurde die Eignung einer Kurzpräparation der DNA-Isolierung hinsichtlich ihrer qualitativen und quantitativen DNA-Ausbeute getestet. Dazu ist Knorpelgewebe (Ohr und Schwanz) der Maus genutzt worden. Aufgrund des sehr feinen Hautgewebes von Mäuseohren ließen sich diese im Vergleich zum Knorpelgewebe des Schwanzes sehr leicht manuell zerkleinern. Schwanzgewebe führte jedoch im Vergleich zum Ohrgewebe zu einer höheren DNA-Ausbeute mit einem besseren

Extinktionsverhältnis von $E_{260/280}$ als Maß für Proteinverunreinigungen. Die DNA-Extraktion ohne Phenol-Chlorophorm-Aufbereitung ist eine arbeitszeit- und materialsparende Präparationsmethode, die für die Fragmentlängendarstellung von Mikrosatelliten zu qualitativ und quantitativ guten Ergebnissen führte. Eine Langzeitlagerung gelöster DNA als Referenzmaterial ist wahrscheinlich, aufgrund verbleibender Proteinreste, nur bedingt möglich.

Für die Amplifizierung von Mikrosatelliten mit unmarkierten Primern konnten die Einflußgrößen Annealing-Temperatur, Zykluszahl im PCR-Ablauf, Taq-Polymerase-, dNTP- und $MgCl_2$-Konzentration so optimiert werden (EHRLICH et al., 1991; ROLFS et al., 1991; NADEAU et al., 1992), daß nur zwei PCR-Varianten und zwei $MgCl_2$-Konzentrationen für den Nachweis aller Mikrosatelliten ausreichten. Dies wurde genutzt, um für die Analyse weiterer Versuchstiere im Rahmen des Heterosis-Forschungsprojektes den Optimierungs- und Pipettieraufwand zu minimieren.

Die Darstellung unmarkierter Mikrosatelliten erfolgte nach der Elektrophorese direkt im Polyacrylamidgel durch die Färbung der Fragmente mit Silbernitrat. Die Sensitivität war für die Analyse des Homo- bzw. Heterozygotiestatus von Mikrosatelliten ausreichend. Die Vorteile der Silbernitratfärbung gegenüber der Fluoreszenzdetektion lagen vor allem in einem finanziell nicht sehr aufwendigen Material- und Gerätebedarf. Durch den nichtautomatisierbaren Nachweis und die Einmalnutzung der Gele entstand jedoch ein relativ hoher Zeitaufwand für die Genotypisierung, d.h. es konnten bei optimalem Verlauf maximal 80 Proben pro Tag, einschließlich aller Nebenarbeiten, analysiert werden.

Sieben Mikrosatelliten wurden für die Analyse einer größeren Anzahl F_2-Tiere ausgewählt und mit dem A.L.F.-Sequenzierautomaten durch die Laserfluoreszenzdetektion nachgewiesen. Als Vorteil des Sequenzierautomaten ist ein hoher Probendurchsatz, verbunden mit der Möglichkeit einer exakten computergestützten Auswertung, hervorzuheben. Pro Tag wurden bei vierfacher Verwendung eines Geles und Multiplex-PCR mit drei Loci ca. 300 Genotypisierungen erreicht. Die Nutzung dieser Technik ist daher für die zukünftigen Analysen von DNA-Markern in Hinblick auf weiterführende Heterosis-Untersuchungen interessant. Die Chemikalienaufwendungen sind für beide Nachweisverfahren ähnlich.

5.7 Analyse von Heterosiseffekten mit Hilfe von Markerloci

Bei der Auswertung wurde sowohl die Superdominanz- als auch die Dominanzhypothese der Heterosis betrachtet, obwohl in Hinblick auf ökonomisch relevante Merkmale die Superdominanz im Vordergrund steht (z.B. STUBER et al., 1992; ZHANG et al., 1994; MITCHELL-OLDS, 1995). In Abhängigkeit des geschätzten Dominanzgrades wurde geprüft, ob Superdominanz oder Dominanz zu den Heterosiseffekten führte. Hohe Heterosiseffekte für Wurfgröße der Hochleistungsgruppe sind stets an das Auftreten dominanter Leistungsallele gebunden. Ergab die Schätzung des Dominanzgrades einen negativen Wert, sind die Voraussetzungen für das Auftreten von Heterosiseffekten als nicht gegeben betrachtet worden, so daß diese Mikrosatelliten in die anschließenden Analysen nicht einbezogen wurden.

Die Genauigkeit der Schätzung des Dominanzgrades konnte überprüft werden, indem für sieben Mikrosatelliten der Dominanzgrad erst ausschließlich mit den 32 Tieren der extremen Leistungsgruppen und anschließend zusätzlich mit den Tieren der erweiterten Leistungsgruppen (80 - 163 Tiere) ermittelt wurde. Als Ergebnis dieses Vergleiches konnte der Dominanzgrad, basierend auf den Tieren der extremen Leistungsgruppen, durch die Einbeziehung von Tieren erweiterter Leistungsgruppen in jedem Fall bestätigt werden (Tab. 21, S. 64).

5.7.1 Statistische Analyse von Mikrosatelliten auf der Grundlage des Superdominanzmodells der Heterosis

Mit dem Ziel des Auffindens von Chromosomenregionen, die nach dem Modell der Superdominanztheorie einen Einfluß auf die Entstehung von Heterosiseffekten für das Merkmal Wurfgröße ausüben, wurde der Heterozygotiegrad von 27 Mikrosatelliten an F_2-Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen untersucht. Vier dieser Mikrosatelliten wurden als eng gekoppelte Wiederholungsmarker einbezogen.

In Auswertung der Ergebnisse des Heterozygotiegrades von 27 Mikrosatelliten an F_2-Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen konnten für die sechs Mikrosatelliten D17Mit16 (p=0,016), D17Mit52 (p=0,02), D17Mit11 (p=0,045), D18Mit106 (p=0,03), D19Mit28

(p=0,008) und D19Mit61 (p=0,008) signifikante Beziehungen zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße festgestellt werden. Unter der Berücksichtigung, daß die Mikrosatelliten D19Mit28 und D19Mit61 (Abstand 4 cM) sowie D17Mit52, D17Mit11 und D17Mit16 (Abstand 4 cM) im Genom eng nebeneinander liegen, charakterisieren diese sechs Mikrosatelliten insgesamt drei Chromosomenregionen mit Relevanz für Heterosis der Wurfgröße. Es handelt sich hierbei um Regionen auf dem Chromosom 17 (18,2, 21,6 und 22,3 cM), dem Chromosom 18 (50 cM) und dem Chromosom 19 (8 und 12 cM). Die Mikrosatelliten D17Mit16, D17Mit52 und D17Mit11 charakterisierten die besonders fruchtbarkeitsrelevanten Gene Ped (Preimplantation embryonic development), Cyp21a1 (Cytochrome P450, 21, steroid 21 hydroxylase) und H2 (Histocompatibility-2, MHC). Die Mikrosatelliten D18Mit106, D19Mit28 und D19Mit61 dienten der gleichmäßigen Abdeckung des Genoms mit DNA-Markern. Benachbart zu diesen Loci sind keine Gene bekannt, für die ein Einfluß auf die Fruchtbarkeit nachgewiesen wurde bzw. schlüssig zu vermuten ist.

Die signifikante Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße, die für die Mikrosatelliten D17Mit52 und D19Mit28 ermittelt wurde, blieb bei der Auswertung der Genotypen der Tiere der erweiterten Leistungsgruppen bestehen (Tab. 23, S. 66). Lediglich für den Mikrosatelliten D17Mit16 konnte ausschließlich durch die Analyse der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) und der Niedrigleistungsgruppe 2 (≤ 6 Nachkommen) eine signifikante Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Die Gegenüberstellung extremer Leistungsgruppen (HLG 1 und NLG 1) bzw. erweiterter Leistungsgruppen (HLG 2 und NLG 2) lieferte keinen signifikanten p-Wert. Die Bestätigung der Signifikanz für die Mikrosatelliten D17Mit52 und D19Mit28 läßt die Schlußfolgerung zu, daß die Analyse von F_2-Tieren mit ≥ 13 Nachkommen und ≤ 5 Nachkommen die Erkennung relevanter Chromosomenregionen für Heterosis der Wurfgröße ermöglicht. Die Analyse einer größeren Stichprobe durch die Tiere der Niedrigleistungsgruppe 2 (≤ 6 Nachkommen) kann dabei, wie für den Mikrosatelliten D17Mit16 dargestellt, zusätzliche Ergebnisse liefern. Aus diesem Grunde ist für die Auswertung weiterer Mikrosatellitenloci eine Erhöhung der Tierzahl der Niedrigleistungsgruppe zu empfehlen. Die Einbeziehung von F_2-Tieren der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) und der Niedrigleistungsgruppe 2 (≤ 6

Nachkommen) ergab für die drei Mikrosatelliten D17Mit16, D17Mit52 und D19Mit28 den niedrigsten p-Wert und damit die höchste Signifikanz. Eine generelle Erhöhung der Tierzahlen beider Leistungsgruppen erscheint dagegen nicht notwendig.

5.7.2 Statistische Analyse von Mikrosatelliten auf der Grundlage des Dominanzmodells der Heterosis

Mikrosatelliten, deren Genotypen mit dominanter Genwirkung assoziiert auftraten, wurden auf der Grundlage des Dominanzmodells der Heterosis statistisch geprüft. In das Modell der Dominanztheorie ließen sich 13 Mikrosatelliten einordnen. Nach dem Dominanzmodell wurde davon ausgegangen, daß der leistungsstärkere homozygote Genotyp dominant über den leistungsschwächeren homozygoten Genotyp ist. Entsprechend dieser Voraussetzung sollte in Verbindung mit Markerloci in der Hochleistungsgruppe gegenüber der Niedrigleistungsgruppe ein signifikant erhöhter Anteil Genotypen, die mit dem dominanten Leistungsallel assoziiert sind, vorhanden sein. Dies gilt für die auf Chromosom 5 lokalisierten Mikrosatelliten D5Mit30 (p=0,004) und D5Mit101 (p=0,02). Der Mikrosatellit D5Mit30 befindet sich auf Chromosom 5 im Bereich 72 cM. Der Mikrosatellit D5Mit101 ist im Bereich 88 cM lokalisiert und charakterisiert damit das mit Fruchtbarkeit assoziierte Gen Pdgfa (Plateled derived growth factor, alpha, 88,0 cM). Zwischen diesen Mikrosatelliten befindet sich der Locus Pmv12 (Polytropic murine leucemia virus 12) im Bereich 77 cM. Durch RFLP-Analysen konnte SPEAROW (1992) für bestimmte Allele in der Nähe dieses Locus einen Einfluß auf die Ovarfunktion nachweisen.

Für den Mikrosatelliten D5Mit30 konnte nach dem Dominanzmodell der Heterosis mit den Tieren der extremen Leistungsgruppen ein signifikanter Einfluß auf die Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Auch in diesem Fall blieb bei einer Erhöhung der Tierzahl die signifikante Beziehung bestehen (Tab. 25, S. 68).

5.8 Allelfrequenzen und Heterozygotiegrade von Mikrosatelliten in den Leistungsgruppen

Die Berechnung der Allelfrequenzen wurde ausschließlich für solche Mikrosatelliten durchgeführt, deren Typisierung an F_2-Tieren einer erweiterten Stichprobe, d.h. an F_2-Tieren der Hoch- und Niedrigleistungsgruppe 2 und der Mittelleistungsgruppe, erfolgte. Für diese Mikrosatelliten konnten keine signifikanten Abweichungen von der zu erwartenden Allelfrequenz von 0,5 : 0,5 (A : a) festgestellt werden (Tab. 26, S. 71). Die Berechnung der Allelfrequenzen über alle Mikrosatelliten ergab ebenfalls keine signifikanten Abweichungen (Tab. 27, S. 72). Es kann geschlußfolgert werden, daß bestimmte Allele in den untersuchten Leistungsgruppen nicht bevorzugt auftraten.

Für die an F_2-Tieren einer größeren Stichprobe untersuchten Mikrosatelliten wurden die Heterozygotiegrade für verschiedene Leistungsgruppen berechnet. Für die Mikrosatelliten D7Mit22, D17Mit16 und D17Mit52, die bei der Schätzung des Dominanzgrades Superdominanz zeigten, konnten in der Tendenz positive Beziehungen zwischen den Heterozygotiegraden und der Heterosis für Wurfgröße dargestellt werden (Abb. 11, S. 70). Tiere mit extrem hoher Wurfgröße (> 12 Nachkommen) wiesen einen sehr hohen Heterozygotiegrad auf. Für die Mikrosatelliten D5Mit30, D11Mit213 und D13Mit136, die bei der Schätzung des Dominanzgrades der Dominanztheorie der Heterosis entsprachen, waren die Heterozygotiegrade in den verschiedenen Leistungsgruppen für Wurfgröße uneinheitlich.

Anhand von 56 Mikrosatelliten, die durch ihre gleichmäßige Verteilung das gesamte Genom der Maus charakterisierten, wurde der durchschnittliche Heterozygotiegrad von F_2-Tieren extremer Leistungsgruppen berechnet (Abb. 10, S. 69). Berücksichtigt man entsprechend der Superdominanztheorie der Heterosis, daß eine positive Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis besteht, erscheint der Heterozygotiegrad der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) von 59,7 % bei einer extrem hohen durchschnittlichen Wurfgröße von 13,7 Nachkommen als niedrig, obwohl eine signifikante Abweichung von den zu erwartenden 50 % besteht (vgl. Abb. 10, S. 69). Der in dieser Arbeit an Tieren der Niedrigleistungsgruppe 1 (≤ 5 Nachkommen) ermittelte Heterozygotiegrad von 48,0 % (Abweichung von 50 % nicht signifikant) erscheint bei der sehr geringen durchschnittlichen Wurfgröße von 3,3 Nachkommen als relativ hoch. Dabei sollte jedoch nach

PIRCHNER (1979) und BUSH (1987) berücksichtigt werden, daß lediglich zwischen der Heterosis eines Merkmals und der Anzahl heterozygoter Loci, die dieses Merkmal ausprägen, eine enge Korrelation zu erwarten ist. Auch ZHANG et al. (1994) und CHARCOSSET et al. (1991) schlußfolgerten anhand von RFLP-Analysen, daß eine nur geringe Korrelation zwischen der Heterosis und der Heterozygotie aller Loci, jedoch eine starke Korrelation zwischen der Heterosis und der Heterozygotie spezifischer Loci besteht. Der Einfluß der wenigen für Fruchtbarkeits-Heterosis relevant erkannten Bereiche auf den Gesamtheterozygotiegrad des Genoms ist sehr gering, so daß es nur zu geringen Abweichungen in den Leistungsgruppen kam.

5.9 Schlußfolgerungen und Ausblick

Die im Fachbereich Züchtungsbiologie und Molekulare Tierzüchtung der Humboldt-Universität durchgeführten Experimente zur Heterosisforschung sind in mehrere Phasen gegliedert (BRUNSCH et al., 1995). Die erste Phase beinhaltete die Ermittlung der Höhe der Heterosiseffekte für Wurfgröße verschiedener Inzuchtlinienkreuzungen. Als Ergebnis dieser ersten Projektphase wurde die Kreuzungsvariante C57BL/6J x Balb/cJ mit der höchsten Heterosis für Wurfgröße ausgewählt. Im Promotionsvorhaben, als zweite Projektphase, wird auf das Auffinden von Chromosomenregionen mit Relevanz für Heterosis des Merkmals Wurfgröße orientiert. Aus den Ergebnissen der vorliegenden Dissertation lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

- Mit der Genotypisierung von 18 Tieren der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) und 14 Tieren der Niedrigleistungsgruppe 1 (≤ 5 Nachkommen) konnte für sieben Mikrosatelliten eine signifikante Beziehung zwischen dem Anteil bestimmter Genotypen und der Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Die Anzahl von 32 F_2-Tieren mit extremer Leistungsdifferenz, selektiert aus einer Gesamtpopulation von 948 F_2-Tieren, war damit ausreichend, um Chromosomenregionen mit einem Einfluß auf die Heterosis für Wurfgröße zu erkennen.

- Für einen Mikrosatelliten (D17Mit16) konnte durch die Analyse einer größeren Anzahl von F_2-Tieren, d.h. durch die Einbeziehung von Tieren der erweiterten Leistungsgruppen, eine zusätzliche Signifikanz zwischen dem Anteil heterozygoter Genotypen und der Heterosis für Wurfgröße nachgewiesen werden. Weiterhin wurde festgestellt, daß sich für vier Mikrosatelliten (D7Mit22, D17Mit16, D17Mit52 und D19Mit28) bei der statistischen Auswertung unter Einbeziehung der Tiere der Hochleistungsgruppe 1 (≥ 13 Nachkommen) und der Niedrigleistungsgruppe 2 (≤ 6 Nachkommen) die geringsten p-Werte ergaben, d.h. die höchste Signifikanz. Für die Auswertung weiterer Mikrosatellitenloci sollte, bei gleichbleibender Selektionsgrenze für Tiere der Hochleistungsgruppe von ≥ 13 Nachkommen, die Anzahl der Tiere der Niedrigleistungsgruppe durch die Veränderung der Selektionsgrenze von ≤ 5 Nachkommen auf ≤ 6 Nachkommen erhöht werden, um weitere Chromosomenregionen mit Relevanz für Heterosis der Wurfgöße erkennen zu können.

- Die Regionen auf Chromosom 5 (72 und 88 cM), Chromosom 17 (18,2 bis 22,3 cM), Chromosom 18 (50 cM) und Chromosom 19 (8 und 12 cM), die nach den vorliegenden Ergebnissen einen entscheidenden Einfluß auf die Heterosis für Wurfgröße ausüben, sollten in weiterführenden Untersuchungen mittels Intervallkartierung auf das Vorhandensein von QTLs überprüft werden.

- Die Mikrosatellitenloci der für Heterosis der Wurfgröße relevanten Chromosomenbereiche sollten auch in nachfolgenden Projektphasen mit Reziproker Rekurrenter Selektion genutzt werden. Durch die wiederholte Selektion nach der Wurfgröße im Rahmen der RRS wird dabei erwartet, daß die unter Selektion stehenden Genloci zweier Linien komplementär homozygot werden.

- Die Ergebnisse der Charakterisierung von Chromosomenregionen mit Relevanz für Fruchtbarkeits-Heterosis sollten auf Schweine übertragen werden. Hierfür bestehen aufgrund der Homologien zwischen den Säugetierspezies viele Ansatzpunkte. Es wäre das Ziel anzustreben, mit Hilfe von Markerloci einen Teil der bisher notwendigen Testkreuzungen zur Ermittlung der speziellen Kombinationseignung zu ersetzen.

6 Zusammenfassung

Mit Hilfe von DNA-Markern wurden in einem Modellversuch mit Mäusen Chromosomenregionen analysiert, die Beziehungen zur Heterosis der Wurfgröße aufwiesen. Den Literaturrecherchen zur Heterosis war zu entnehmen, daß Projekte der Heterosisforschung am Modelltier Maus und an anderen Säugetierspezies mit DNA-Markern nicht bekannt waren.

Als Material standen aus einem Zuchtversuch mit Mäusen die F_2-Tiere der reziproken Inzuchtlinienkreuzung C57BL/6J x Balb/cJ zur Verfügung. Von den 948 weiblichen Tieren der F_2 ist die Fruchtbarkeitsleistung anhand der Wurfgröße ermittelt worden, um mit ca. 3 % der F_2-Tiere extreme Leistungsgruppen und mit ca. 15 % der F_2-Tiere erweiterte Leistungsgruppen zu bilden. Die Markerloci betrafen insgesamt 56 Mikrosatelliten (∅ Abstand 32 cM). 32 Loci waren aufgrund einer gleichmäßigen Abdeckung des Genoms ausgewählt worden. Weiterhin wurden 19 Loci einbezogen, die mit Fruchtbarkeit assoziierte DNA-Loci markierten und 5 Loci, die als Wiederholungsmarker eine enge Kopplung zu bereits gewählten Loci aufwiesen. Bei den Markerloci handelt es sich um Mikrosatelliten, die nach Auswahl der Primer mit der PCR amplifiziert wurden. Die PCR-Produkte sind elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend mit Silbernitrat gefärbt worden, um aus den Mustern direkt die Genotypen zu erfassen. Für bestimmte Mikrosatelliten erfolgte die Genotypenerfassung nach Fluoreszenzmarkierung in einem DNA-Sequenzierautomaten. Unter Berücksichtigung von Superdominanz und Dominanz als Ursachen von Heterosis wurden die Daten des Versuches an einer größeren Tierzahl statistisch ausgewertet.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt gliedern:

- In der F_1 traten Heterosiseffekte für Wurfgröße in Höhe von 45,3 % und in der F_2 in Höhe von 15,1% auf. Die extremen Leistungsgruppen unterschieden sich in den durchschnittlichen Wurfgrößen um 10,4 Nachkommen (HLG 1 mit ≥ 13 Nachkommen und NLG 1 mit ≤ 5 Nachkommen), die erweiterten Leistungsgruppen um 7,6 Nachkommen (HLG 2 mit ≥ 11 Nachkommen und NLG 2 mit ≤ 6 Nachkommen).

- Bei Annahme von Superdominanz zur Erklärung von Heterosiseffekten konnte für die Mikrosatelliten D17Mit16, D17Mit52, D17Mit11, D18Mit106, D19Mit28 und D19Mit61 eine signifikante Beziehung zwischen dem Heterozygotiegrad und der Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Die Mikrosatelliten D17Mit16, D17Mit52 und D17Mit11 sind auf Chromosom 17 im Bereich von 18,2 - 22,3 cM lokalisiert. In dieser Region befinden sich die fruchtbarkeitsrelevanten Gene Ped (Preimplantation embryonic development), Cyp21a1 (Cytocrome P450, 21, steroid 21 hydroxylase) und H2 (Histocompatibility-2, MHC). Die Mikrosatelliten D18Mit106, D19Mit28 und D19Mit61 liegen auf Chromosom 18 (50 cM) und Chromosom 19 (8 und 12 cM).

- Nach dem Dominanzmodell zur Erklärung von Heterosiseffekten konnte für die Mikrosatelliten D5Mit30 und D5Mit101 eine signifikante Beziehung zwischen dem Anteil Genotypen mit Dominanz assoziiertem Allel und der Heterosis für Wurfgröße ermittelt werden. Beide Mikrosatelliten sind auf Chromosom 5 im Bereich von 72 cM und 88 cM lokalisiert, in denen sich auch die mit Fruchtbarkeit assoziierten DNA-Loci Pdgfa (Plateled derived growth factor, alpha, 88,0 cM) und Pmv12 (Polytropic murine leucemia virus-12, 77 cM) befinden.

- Die für Heterosis der Wurfgröße relevanten Mikrosatelliten D17Mit52, D19Mit28 und D5Mit30 wurden an F_2-Tieren extremer und erweiterter Leistungsgruppen typisiert. Durch die Einbeziehung von F_2-Tieren der erweiterten Leistungsgruppen konnte für alle drei Mikrosatelliten die signifikante Beziehung zwischen dem Anteil bestimmter Genotypen und der Heterosis für Wurfgröße bestätigt werden.

Aus den Ergebnissen ist zu erkennen, daß Mikrosatelliten als optimale Marker zur Charakterisierung der Segregation von Chromosomen in F_2-Generationen gelten können. Die Inzuchtlinienkreuzung der Maus erwies sich für die Analyse von Heterosiseffekten als besonders geeignet. Mit dem Promotionsprojekt konnten Chromosomenregionen erkannt werden, die hohe Effekte auf die Heterosis für Wurfgröße zeigten.

7 Literaturverzeichnis

AFIFI, E.A.; KHALILI, M.H.; KHADR, A.F.; YOUSSEF, Y.M.K. (1994)
Heterosis, maternal and direct effects for postweaning growth traits and carcass performance in rabbit crosses
Journal of Animal Breeding and Genetics 111 (2), 138-147

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W.F.; MELCHINGER, A.E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G.; MOTTO, M. (1995)
In elite cross of mice a major quantitative trait locus controls one-fourth of genetic variation for grain yield
Theor. Appl. Genet. 90, 415-424

ALI, M.; COPELAND, L.O.; ELIAS, S.G. (1995)
Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in winter canola (Brassica napus L.)
Theor. Appl. Genet. 91, 118-121

ALNAKIB, F.M.S.; BATEMAN, N.; FINDLAY, R.H.; SMITH, C.; THOMPSON, R. (1997)
Comparative performance of british hill sheep breeds and crosses
Journal of Agricultural Science 128 (2), 199-206

ANDERSSON, L.; HALEY, C.S.; ELLEGREN, H.; KNOTT, S.A.; JOHANSSON, M.; ANDERSSON, K.; ANDERSSON-EKLUND, L.; EDFORS-LILIJA, I.; FREDHOLM, M.; HANSSON, I.; HAKANSSON, J.; LUNDSTRÖM, K. (1994)
Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs
Science 263, 1771-1774

ARCADE, A.; FAIVRE-RAMPANT, P.; LE GUERROUE, B.; PAQUES, L.E.; PRAT, D. (1996)
Heterozygoty and hybrid performance in larch
Theor. Appl. Genet. 93, 1274-1281

ASINS, M.J.; MESTRE, P.; GARCIA, J.E.; DICENTA, F.; CARBONELL, E.A. (1994)
Genotype x environment interaction in QTL analysis of an interval almond cross by means of genetic markers
Theor. Appl. Genet. 89, 358-364

BAUMRUCKER, C.R.; BLUM, J.R. (1993)
Secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate
Livestock Produktion Science 35, 49-72

BAUMUNG, A. (1982)
Probleme der Fitness in der Tierzüchtung und Möglichkeiten ihrer Beeinflussung
Arch. Tierz. 5 (25), 389- 398

BEAVIS, W.D.; GRANT, D.; ALBERTSEN, M.; FINCHER, R. (1991)
Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci
Theor. Appl. Genet. 83, 141-145

BECKER, H.C. (1984)
Theoretische Überlegungen und experimentelle Untersuchungen zur genetischen Basis der Heterosis
Vortr. Pflanzenzüchtung 5, 23-42

BECKMANN, J.S.; SOLLER, M. (1983)
Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs
Theor. Appl. Genet. 67, 35-43

BECKMANN, J.S.; SOLLER, M. (1986)
Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species
Euphytica 35, 111-124

BERNARDO, R. (1992)
Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity
Theor. Appl. Genet. 83, 628-634

BERNARDO, R. (1994)
Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids
Crop Sci. 34, 20-25

BIDANEL, J.P. (1993)
Estimation of crossbreeding parameters between Large White and Meishan porcine breeds
III Dominance and epistatic components of heterosis on reproductive traits
Genet. Sel. Evol. 25, 263-281

BITTANTE, G.; GALLO, L.; CARNIER, P.; CASSANDRO, M.; MANTOVANI, R.; PASTORE, E. (1996)
Effects on fertility and litter traits under accelerated lambing scheme in crossbreeding between Finnsheep and an Alpine Sheep breed
Small Ruminant Research 23 (1), 43-50

BONIERBALE, M.W.; PLAISTED, R.L.; TANKSLEY, S.D. (1993)
A test of the maximum heterozygoty hypothesis using molecular markers in tetraploid potatoes
Theor. Appl. Genet. 86, 481-491

BOPPENMEIER, J.; MELCHINGER, A.E.; BRUNKLAUS-JUNG, E.; GEIGER, H.H.; HERRMANN, R.G. (1992)
Genetic diversity for RFLPs in European maize inbreds: I. relation to performance of Flint x Dent crosses for forage traits
Crop Sci. 32, 895-902

BORGHI, B.; PERENZIN, M. (1994)
Diallel analysis to predict heterosis and combining ability for grain yield, yield components and bread-making quality in bread wheat (T. aestivum)
Theor. Appl. Genet. 89, 975-981

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNIK, M.; WILLIAMSON, J.A. (1980)
Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms
Am. J. Hum. Genet. 32, 314-331

BOUJENANE, I. (1990)
Methods of estimation of genetic effects from two breeds crossing system with an application to litter size in sheep
J. Anim. Breed. Genet. 107, 431-436

BRENOE, U.T. (1996)
Food efficiency in pure strains and hybrids of laying hens analysed in a diallel cross. 2. Comparisons of food consumption corrected for body weight, weight gain and egg mass
Acta Agriculturae Scandinavica Selection A Animal Science 46 (4), 210-218

BREWBAKER, J.L. (1967)
Angewandte Genetik
Gustav Fischer Verlag Jena

BROWN, M.A.; BROWN, A.H.; JACKSON, W.G.; MIESNER, J.R. (1997)
Genotype x environment interactions in Angus, Brahman, and reciprocal cross cows and their calves grazing common bermudagrass and endophyte-infected tall fescue pastures
Journal of Animal Science 75 (4), 920-925

BROWN, M.A.; BROWN, A.H.; JACKSON, W.G.; MIESNER, J.R. (1996)
Milk production in Angus, Brahman and reciprocal-cross cows grazing common bermudagrass or endophyte-infected tall fescue
Journal of Animal Science 74 (9), 2058-2066

BRUCE A.B. (1910)
The mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor
Science 32, 627-628

BRUNSCH (1994)
Forschungskonzeption zur Heterosis, unveröffentlicht, Humboldt-Universität zu Berlin

BRUNSCH, C.; LEUTHOLD, G. (1994)
Molekulargenetische Charakterisierung des Homozygotiestatus von unter Fruchtbarkeitsselektion stehenden Genloci
Vortragstagung der DGfZ und GfT, Halle

BRUNSCH, C.; LEUTHOLD, G.; STARKE, M.; KÖPKE, K.; REINECKE, P.; MÜLLER, U. (1995)
Moleculargenetic analysis of heterosis - aims, methods, first results
46th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Septembre, 4-7, Prague, Czech Republic

BRUNSCH, C.; PHILIPP, U.; HORNER, S.; LEUTHOLD, G.; REINECKE, P.; KÖPKE, K.; FRIEDEL, E.; LOOK, C.; GREIFENBERG, I.; SCHIEFLER, R.; STIER, H.; LEUCHT, W. (1997)
Associations between DNA-Markers and heterosis in litter size in different mice inbred line crosses
Beijing International Conference on Animal Biotechnology, Peoples Republic of China, June 11-14

BUCHANAN, D.S. (1987)
The crossbred sire experimental results for swine
J. Animal Sci. 65 (1), 117-127

BUSH, R.; SMOUSE, P.E.; LEDIG, F.T. (1987)
The fitness consequences of multiple locus heterozygosity: The relationship between heterozygosity and growth rate in pitchpine (Pinus Rigida Mill)
Evolution 41 (4), 787-798

CAMERON, N.D.; CIENFUEGOS-RIVAS, E. (1994)
Genetic and phenotypic relationships between physiological traits and performance test traits in sheep
Genet. Sel. Evol. 26, 137-150

CEPICA, S.; WOLF, J.; HOJNY, J.; VACKOVA, I.; SCHRÖFFEL Jr, J. (1995)
Relations between genetic distance of parental pig breeds and heterozygosity of their F_1 crosses measured by genetic markers
Animal Genetics 26, 135-140

CHARCOSSET, A.; LEFORT-BUSON, M.; GALLAIS, A. (1991)
Relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci: a theoretical computation
Theor. Appl. Genet. 81, 571-575

CHARCOSSET, A.; ESSIOUX, L. (1994)
The effect of population structure on the relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci
Theor. Appl. Genet. 89, 336-343

COCKERHAM, C.C. (1986)
Modifications in estimating the number of genes for quantitative character
Genetics 114, 659-664

COMBERG, G. (1980)
Züchtungslehre
Verlag Eugen Ullmer Stuttgart

COMSTOCK, R.E.; ROBINSON, H.F.; HARVEY, P.H. (1949)
A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability
Agron. J. 41, 360-367

CONNEALLY, P.M.; STONE, W.H.; TYLER, W.J.; CASIDA, L.E.; MORTON, N.E.; (1963)
Genetic load expressed a fetal death in cattle
J. Dairy Sci. 46, 232-236

CUMMINS, L.J. (1983)
Ovarian inhibin content and sensitivity to inhibin in booroola and control merino ewes
Journal of Reproduction and Fertility 67, 1-7

CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; KOCH, R.M. (1974)
Effects of heterosis on reproduction in Hereford, Angus and Shorthorn cattle
J. Anim. Sci. 38, 711-727

DAVENPORT, C.B. (1908)
Degeneration, albinism and inbreeding
Science 28, 454-455

DE KRETSER, D.M.; ROBERTSON, D.M. (1989)
The isolation and physiology of inhibin and related proteins
Biology of Reproduction 40, 33-47

DUDLEY, J.W.; SAGHAI MAROOF, M.A.; RUFENER, G.K. (1991)
Molecular markers and grouping of parents in maize breeding programs
Crop Sci. 31, 718-723

DUNNINGTON, E.A.; HABERFELD, A.; STALLARD, L.C.; SIEGEL, P.B.; HILLEL, J.; (1994)
Deoxiribonucleic acid fingerprint bands linked to loci coding for quantitative traits in chickens
Poultry Sci. 71, 1251-1258

DUNNINGTON, E.A.; STALLARD, L.C.; SIEGEL, P.B. (1993)
Evaluating linkage between DNA fingerprint bands and quantitative traits in chickens
Poultry Sci. 72, 1000-1004

DUNNINGTON, E.A.; STALLARD, L.C.; HILLEL, J.; SIEGEL, P.B. (1994)
Genetic diversity among commercial chicken populations estimated from DNA-fingerprints
Poultry Sci. 73, 1218-1225

EAST, E. (1908)
Inbreeding in corn
Rept. Connecticut Agric. Experim. St. for 1907, 419-428

EAST, E. (1936)
Heterosis
Genetics 21, 375-397

EDWARDS, M.D.; STUBER, C.W.; WENDEL, J.F. (1987)
Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. numbers, genomic distribution and types of gene action
Genetics 116, 113-125

EDWARDS, M.D.; HELENTJARIS, T.; WRIGHT, S.; STUBER, C.W. (1992)
Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. IV. Analysis bases on genome saturation with isozyme and RFLPs
Theor. Appl. Genet. 83, 765-774

EHRLICH, H.A.; GELFAND, D.; SNINSKY, J.J. (1991)
Recent advances in the polymerase chain reaction
Science 25, 1643-1651

ELO, K.; VELMALA, R.; VILKKI, J.; MÄKI-TANILA, A. (1995)
Mapping quantitative trait loci affecting economic traits in the Finnish Ayrshire dairy cattle
46th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Septembre, 4-7, Prague, Czech Republic

FAIRFULL, R.W.; GOWE, R.S.; NAGAI, J. (1987)
Dominance and epistasis in heterosis of White Leghorn strain crosses
Can. J. Anim. Sci. 67, 663-680

FALCONER, D.S. (1965)
Maternal effects and selection response
Proceedings Xth International Congress of Genetics 3, 763-774

FALCONER, D.S. (1971)
Improvement of litter size in a strain of mice at a selection limit
Genet. Res. Camb. 17, 215-135

FALCONER, D.S. (1980)
Quantitative Genetics
Oliver and Boyd, Edinburgh and London

FISCHER, H.E. (1978)
Heterosis
Gustav Fischer Verlag Jena

FRANKEL, R. (1983)
Heterosis
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo

FU, Y.; HORST, P.; ZARATE, A.V. (1995)
Auswirkungen einer Rotationskreuzung beim Schwein mit zwei komplementär veranlagten Rassen auf Fruchtbarkeitsmerkmale
Arch. Tierz. Dummerstorf 38 (3), 305-317

GAINES, J.A.; Mc Clare, W.H.; VOGT, E.W.; CARTER, R.C.; KINCAID, C.M. (1966)
Heterosis from crosses among British breeds of beef cattle: Fertility and calf performance at weaning

J. Anim. Sci. 25, 5-13
GAVORA, J.S.; FAIRFULL, R.W.; BENKEL, B.F.; CANTWELL, W.J.; CHAMBERS, J.R. (1996)
Prediction of heterosis from DNA fingerprints in chickens
Genetics 144, 777-784

GEIGER, H.H. (1987)
Epistasis and heterosis
2nd Int. Conf. Quantitative Genetics, Sinauer Associates Inc., Sunderland, USA

GELDERMANN, H. (1975)
Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers
Theor. Appl. Genet. 46, 319-330

GELDERMANN, H. (1988)
Genomanalyse bei Nutztieren
Züchtungskunde 60 (3), 232-247

GILLOIS, M. (1991)
Gene mapping today: applications to farm animals
Genet. Sel. Evol. 23 (Suppl. 1), 19-48

GIMELFARB, A.; LANDE, R. (1995)
Marker-assisted selection and marker-QTL associations in hybrid populations
Theor. Appl. Genet. 91, 522-528

GLASER, T.; GERHARD, D.; JONES, C.; ALBRITTON, L.; LALLEY, P.; HOUSMAN, D. (1985)
A fine structure deletion map of chromosome 11p
Cytogenet. Cell Genet. 40, 643

GLODEK, P.; MEYER, J.; BRANDT, H.; PFEIFER, H. (1993)
Die genetische Distanz zwischen ost- und westdeutschen Schweinerassen, 1. Mitteilung : Die Eigenständigkeit und der Heterozygotiegrad der Rassen
Arch. Tierz. 36 (6), 621-630

GODSHALK, E.B.; LEE, M.; LAMKEY, K.R. (1990)
Analysis of the relationship of restriction fragment length polymorphism to maize single-cross hybrid performance
Theor. Appl. Genet. 80, 273-280

GOLDBARD, S.B.; VERBANEC, K.M.; WARNER, C.M. (1982 a)
Genetic analysis of H-2 linked genes affecting early mouse embryo development
J. Immunogenet. 9, 77

GOLDBARD, S.B.; VERBANEC, K.M.; WARNER, C.M. (1982 b)
Role of the H-2-complex in preimplantation mouse embryo development
Biol. Reprod. 26, 591

GOLDSTEIN, D.B.; LINARES, A.S.; CAVALLI-SFORZA, L.L.; FELDMANN, M.W. (1995)
An evaluation of genetic distances for use with microsatellite loci
Genetics 139, 463-471

GÖTZ, K.U.; GLODEK, P.; RAPP, K. (1991 a)
Crossbreeding effects after long-term selection for purebred performance: a model experiment with mice
Theor. Appl. Genet. 81, 720-728

GÖTZ, K.U.; GLODEK, P.; RAPP, K. (1991 b)
Crossbreeding effects after long-term selection for purebred performance: a model experiment with mice
Theor. Appl. Genet. 82, 65-73

GUSTAFFSON, A. (1951)
Induction of changes in genes and chromosomes. II. Mutations, environment and evolution
Cold Spring Habor Sympos. quant. Biol. 16, 263-281

HABERFELD, A.; DUNNINGTON, E.A.; SIEGEL, P.B. (1992)
Genetic distances estimated from DNA fingerprints in crosses of White Plymouth Rock chickens
Anim. Genet. 23, 167-173

HADJINOV, M.I.; SCHERBAK, V.S.; BENKO, N.I.; GUSEV, V.P.;
SUKHORZHEUSKAYA, T.B.; VORONOVA, L.P. (1982)
Interrelationships between isozyme diversity and combining ability in maize lines
Maydica 27, 135-149

HALEY, C.S.; KNOTT, S.A. (1992)
A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers
Heredity 69, 315-324

HALEY, C.S.; LEE, G.J.; RITCHIE, M. (1995)
Comparative reproductive performance in Maishan and Large White pigs and their crosses
Animal Science 60 (2), 259-267

HALL, J.G.; WILLS, C. (1987)
Conditional overdominance at an alcohol dehydrogenase locuc in yeast
Genetics 117, 421-427

HALLAUER, A.R.; MIRANDA, J.B. (1988)
Quantitative genetics in maize breeding
2nd Edn. Iowa State University Press

HEIDRICH-SOBRINHO, E.; CORDEIRO, A.R. (1975)
Codominant isozymic alleles as markers of genetic diversity correlated with heterosis in maize
Theor. Appl. Genet. 46, 197-199

HERRENDÖRFER, G.; SCHÜLER, L. (1987)
Populationsgenetische Grundlagen der gerichteten Selektion
VEB Gustav Fischer Verlag Jena

HERRENDÖRFER, G. (1995)
Die Nutzung von 2 x 2 Kontingenztafeln zum Test auf Kopplungsgleichgewicht zwischen zwei Genen mit je zwei Allelen
Arch. Tierz. Dummerstorf 38 (1), 135-145

HASEMANN, J.K. (1978)
Exact sample size for use with the Fisher-Irwin-Test for 2 x 2 tables

Biometrics 34, 106-109
HIERL, H.F. (1976 a)
Beziehungen zwischen dem Heterozygotiegrad, geschätzt aus Markergenen und der Fruchtbarkeit beim Rind. 1) Schätzung und Ausmaß der Heterozygotie in deutschen Rinderrassen
Theor. Appl. Genet. 47, 69-75

HIERL, H.F. (1976 b)
Beziehungen zwischen dem Heterozygotiegrad, geschätzt aus Markergenen und der Fruchtbarkeit beim Rind. 2) Heterozygotie und Fruchtbarkeit
Theor. Appl. Genet. 47, 77-84

HILL, W.G. (1982)
Dominance and epistasis as components of heterosis
Z. Tierzüchtg. Züchtungsbiol. 99, 161-168

HIORTH, G.E. (1963)
Quantitative Genetic
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg

HIROOKA, H.; MUKHERJEE, T.K.; PANANDAM, J.M.; HORST, P. (1997)
Genetic parameters for growth performance of the malaysian local goats and their crossbreds with the german (improved) fawn goats
Journal of Animal Breeding and Genetics 114 (3), 191-199

HOULE, D. (1989)
Allozyme-associated heterosis in Drosophila melanogaster
Genetics 123, 789-801

HOULE, D. (1994)
Adaptive Distance and the genetic basis of heterosis
Evolution 48 (4), 1410-1417

HU, Z.; ZHANG, X.; XIE, C.; Mc DANIEL, G.R. (1995)
A correlation method for detecting and estimating linkage between a marker locus and quantitative trait locus using inbred lines
Theor. Appl. Genet. 90, 1074-1078

HULL, F.H. (1945)
Recurrent selection for specific combining ability in corn
J. Amer. Soc. Agron. 37, 134-145

HULL, F.H. (1946)
Overdominance and corn breeding where hybrid seed is not feasible
J. American Soc. Agron. 38, 1100-1103

HULL, F.H. (1952)
Recurrent selection and overdominance. In growen: Heterosis
Iowa State College Press, Amer., 451-473

HUNTER, R.B.; KANNENBERG, L.W. (1971)
Isozyme characterization of corn (Zea mays) inbreds and its relationship to single cross hybrid performance
Can. J. Genet. Cytol. 13, 649-655

JACKSON-GRUSBY, L.L.; PRAVTCHEVA, D.; RUDDLE, F.H.; LINZER, D. (1988)
Chromosomal mapping of the prolactin/growth hormone gene family in the mouse
Endocrinology 122 (6), 2462-2466

JAIN, A.; BHATIA, S.; BANGA, S.S.; PRAKASH, S.; LAKSHMIKUMARAN, M. (1994)
Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard and its relationship to heterosis
Theor. Appl. Genet. 88, 116-122

JOAKIMSEN, O.; BAKER, R.L. (1977)
Selection for litter size in mice
Acta Agric. Scand. 27, 301-318

JOHNSON, K.R. (1991)
Improved oligonucleotide labeling and hybridization assay for endogenous nonecotropic murine leukemia proviruses
Mammalian Genome 1, 260-262

JONES, D.F. (1917)
Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis

Genetics 2, 466-479
JONES, D.F. (1952)
Plasmagenes and chromogenes in heterosis
In Gowen: Heterosis, Iowa State College Press, Ames , 224-235

JOSEPH, D.R.; ADAMSON, M.C.; KOZAK, C.A. (1991)
Genetic mapping of the gene for androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin to mouse chromosome 11
Cytogenet. Cell Genet. 56, 122-124

KAHLER, A.L.; WEHRHAHN, C.F. (1986)
Association between quantitative traits and enzyme loci in the F_2 population of a maize hybrid
Theor. Appl. Genet. 121, 185-199

KATO, H.; TANAKA, K.; NAKAZUMI, H.; ARAKI, H.; YOSHIDA, T.; OGI, Y.; YANAGIHARA, S.; KISHIMOTO, N.; MARUYAMA, K. (1994)
Heterosis of biomass among rice ecospecies and isozyme polymorphism and RFLP
Breeding Science 44, 271-277

KEEBLE, F.C.; PELLEW, C. (1910)
The mode of inheritance of stature and of time of flowering in peas
J. Genetics 1, 47-56

KIDWELL, K.K.; BINGHAM, E.T.; WOODFIELD, D.R. (1994)
Relationships among genetic distance, forage yield and heterozygosity in isogenic diploid and tetraploid alfalfa populations
Theor. Appl. Genet. 89, 323-328

KIMPTON, C.P.; GILL, P.; WALTON, A.; URQUHART, A.; MILLICAN, E.S.; ADAMS, M. (1993)
Automated DNA profiling employing multiplex amplification of short tandem repeat loci
PCR Methods and Applications, Cold Spring Harbor Laboratory 3, 13-22

KIRKPATRICK, B.W. (1992)
Identification of a conserved microsatellite site in the porcine and bovine insulin-like growth factor-1 gene 5’ flank
Animal Genetics 23, 543-548

KIRKPATRICK, B.W.; HART, G.L. (1994)
Conformation polymorphisms and targed marker development
Animal Genetics 25, 77-82

KLEBIG, M.L.; KWON, B.S.; RINCHIK, E.M. (1992)
Physical analysis of murine albino deletions that disrupt liver specific gene regulation or mesoderm development
Mammalian Genome 2, 51-63

KLUGE, R.; GELDERMANN, H. (1982)
Effects of marked chromosome sections on quantitative traits in the mouse
Theor. Appl. Genet. 62, 1-4

KNAPP, S.J.; BRIDGES, W.C.; BIRKES, Jr. and D. (1990)
Mapping quantitative trait loci using molecular marker linkage maps
Theor. Appl. Genet. 79, 583-592

KNORR, C. (1996)
QTL-Effekte im Chromosom 6 und von Wachstumshormon-Genvarianten auf Merkmale der Mastleistung, des Schlachtkörperwertes und der Streßresistenz in F_2-Familien beim Schwein
Verlag Ulrich E. Grauer, Stuttgart, Dissertation Universität Hohenheim, Fachgebiet Tierzüchtung

KRESS, D.D.; DOORNBOS, D.E.; ANDERSON, D.C.; DAVIS, K.E. (1996)
Genetic components for milk production of Tarentaise, Hereford and Tarentaise x Hereford cows
Journal of Animal Science 74 (10), 2344-2348

KUHNLEIN, U.; DAWE, Y.; ZADWORNY, D.; GAVORA, J.S. (1989)
DNA fingerprinting: a tool for determining genetic distances between strains of poultry
Theor. Appl. Genet. 77, 669-672

LANDE, R. (1981)
The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations
Genetics 99, 541-553

LANDE, R.; THOMPSON, R. (1990)
Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits
Genetics 124, 743-756

LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. (1989)
Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps
Genetics 121, 185-199

LEBOWITZ, R.J.; SOLLER, M.; BECKMANN, J.S. (1987)
Trait-based analyses for the detection of linkage between marker loci and quantitative trait loci in crosses between inbred lines
Theor. Appl. Genet. 73, 556-562

LEDIG, F.T. (1987)
The fitness consequences of multiple-locus heterozygosity: The relationship between heterozygosity and growth rate in pitch pine
Evolution 41 (4), 787-798

LEE, M.; GODSHALK, E.B.; LAMKEY, K.R.; WOODMAN, W.W. (1989)
Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses
Crop Sci. 29, 1067-1071

LEUTHOLD, G. (1966)
Ergebnis vergleichender Wachstums- und Entwicklungsstudien an weiblichen F_1 - und Deutschen Schwarzbunten Jungrindern bei unterschiedlichem Aufzuchtniveau
Arch. Tierz. 10 (3), 165-192

LEUTHOLD, G. (1968)
Genetische Grundlagen moderner Züchtungsverfahren in der Haustierzucht
Arch. Tierz. 11 (1), 3-25

LEUTHOLD, G. (1972)
Aspekte der Nutzanwendung von Erkenntnissen der biochemisch-physiologischen Genetik in der Tierzüchtung
Arch. Tierz. 15 (3), 143-161

LEUTHOLD, G.; SCHÖNMUTH, G. (1974)
Studie zum Auftreten heterotischer Effekte bei Rind nach extremen Rassenkreuzungen
2. Mitt. spezielle Leistungen und Diskussion
Arch. Tierz. 17 (3), 159-172

LEUTHOLD, G. (1993)
Nutzung von Informationen aus der molekularen Ebene in der Tierzüchtung
Vortrag zu Ehren des 65. Geburtstages von Prof. Dr. G. Schönmuth am 27.5.1993

LEWIS, D. (1955)
Gene interaction, environment and hybrid vigour
Proc. Royal Soc. London, Ser. B 144, 178-185

LEWIS, S.E.; TURCHIN, H.A.; WOJTOWICZ, T.H. (1978)
Fertility studies of complementing genotypes at the albino locus of the mouse
J. Reprod. Fert. 53, 197-202

LEYHE, B.; HIENDLEDER, S.; WASSMUTH, R. (1991)
RFLP-Analyse der Inhibin α- und β-Loci bei Schafrassen unterschiedlicher Fruchtbarkeit
Vortragstagung der DGfZ und GfT am 23./24. 9. 1991 in Kiel

LI, B.; WU, R. (1996)
Genetic causes of heterosis in juvenile aspen: a quantitative comparison across intra- and interspecific hybrids
Theor. Appl. Genet. 93, 380-391

LIU, G.; DUNNINGTON, E.A.; SIEGEL, P.B. (1995)
Growth related traits in body weight selected lines and their crosses reared under different nutritional regimes
British Poultry Science 36 (2), 209-219

LONG, C.R.; LAMBERSON, W.R.; BATES, R.O. (1991)
Genetic correlations among reproductive traits and uterine dimensions in mice
Journal Animal Science 69, 99-103

LOOFT, C.; KALM, E. (1996)
Lohmann Information 1, 23-25

MALINOWSKI, E. (1952)
The problem of heterosis. IV. different shapes of the F_2 frequency distributions
Bull. Acad. Polon. Sci. et Lettr. Ser. B, I, Cracovie 1951, 41-76

MARTIN, B.; NIENHIUS, J.; KING, G.; SCHAEFER, A. (1989)
Restriction fragment length polymorphism associated to water usage efficiency in tomato
Science 243, 1725-1728

MASON, I.L. (1966)
Hybrid vigour in beef cattle
Anim. Breed. Abstr. 34 (4), 453-473

MATHER, K.; JINKS, J.L. (1971)
Biometrical Genetics. The study of continuous variation
2. Aufl. Chapman and Hall, London

Mc DANIEL, R.G.; SARKISSIAN, I.V. (1966)
Heterosis: complementation by mitochondria
Science 152, 1640-1642

Mc GLOUGHLIN, P. (1980)
The relationship between heterozygosity and heterosis in reproductive traits in mice
Anim. Prod. 30, 69-77

Mc KENZIE, A.E.; KORNELUK, R.G.; ZORZATO, F.; FUJII, J.; PHILIPS, M.; ILES, D.; WIERINGA, B.; LEBLOND, S.; BAILLY, J.; WILLARD, H.F.; DUFF, C.; WORTON, R.G.; Mc LENNAN, D.H. (1990)
The human ryanodine receptor gene: Ist mapping to 19q13.1, placement in a chromosome 19 linkage group, and exclusion as the gene causing myotonic dystrophy
Am. J. Hum. Genet. 46, 1082-1089

MELCHINGER, A.E.; LEE, M.; LAMKEY, K.R.; WOODMAN, W.L. (1990)
Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms: relation to estimated genetic effects in maize inbreds
Crop Sci. 30, 1033-1040

MELCHINGER, A.E.; MESSMER, M.M.; LEE, M.; WOODMAN, W.L.; LAMKEY, K.R. (1991)
Diversity and relationships among U.S. maize inbreds revealed by restriction fragment length polymorphisms
Crop Sci. 31, 669-678

MENG, A.; GONG, G.; CHEN, D.; ZHANG, H.; QI, S.; TANG, H.; GAO, Z. (1996)
DNA-fingerprint variability within and among parental lines and its correlation with performance of F_1 laying hens
Theor. Appl. Genet. 92, 769-776

MERRITT, E.S.; GOWE, R.S. (1960)
Combining ability among breeds and strains of meat type fowl
Can. J. Gen. Cyt. 2, 286

MINVIELLE, F. (1987)
Dominance is not necessary for heterosis: a two-locus model
Genet. Res. Camb. 49, 245-247

MITCHELL-OLDS, T. (1995)
Intervall mapping of viability loci causing heterosis in Arabidopsis
Genetics 140, 1105-1109

MITTON, J.B.; PIERCE, B.A. (1980)
The distribution of individual heterozygoty in natural populations
Genetics 95, 1043-1054

MITTON, J.B.; GRANT, M.C. (1984)
Association among heterozygosity, growth rate and developmental homeostasis
Ann. Rev. Ecol. Syst. 15, 479-499

MOLL, R.H.; LONNQUIST, J.H.; VELEZ FORTUNO, J.; JOHNSON, E.C. (1965)
The relationship of heterosis and genetic divergence in maize
Genetics 52, 139-144

MORITSU, Y.; NESTOR, K.E.; NOBLE, D.O.; ANTHONY, N.B.; BACON, W.L. (1997)
Divergent selection for body weight and yolk precursor in coturnix coturnix japonica. 12. heterosis in reciprocal crosses between divergently selected lines
Poultry Science 76 (3), 437-444

MOSER, G. (1994)
Untersuchung von Einflüssen auf die Kartierung von Markergenen und Genen für quantitative Merkmale beim Schwein mit Hilfe der Simulation
Dissertation Universität Hohenheim, Fachgebiet Tierzüchtung

MOSER, H., LEE, M. (1994)
RFLP variation and genealogical distance, multivariate distance, heterosis and genetic variance in oats
Theor. Appl. Genet. 87, 947-956

NADEAU, J.H.; BEDIGIAN, H.G.; BOUCHARD, G.; DENIAL, T.; KOSOWSKY, M.; NORBERG, R.; PUGH, S.; SARGEANT, E.; TURNER, R.; PAIGEN, B. (1992)
Multilocus markers of mouse genome analysis: PCR amplification based on single primers of arbitrary nucleotide sequence
Mammalian Genome 3, 55-64

NAGAI, J.; Mc ALLISTER, A.J.; CHESNAIS, J.P. (1984)
Male and female contributions to heterosis in lifetime performance of mice
Theor. Appl. Genet. 67, 479-484

NAYLOR, S.L.; CHIN, W.W.; GOODMAN, H.M.; LALLEY, P.A.; GRZESCHIK, K.H.; SAKAGUCHI, A.Y. (1983)
Chromosome assignment of genes encoding the alpha and beta subunit of glucoprotein hormones in man and mouse
Somatic Cell Genet. 9 (6), 757-770

NIENHIUS, J.; HELENTJARIS, T.; SLOCUM, M.; RUGGERO, B.; SCAEFER, A. (1987)
Restriction fragment length polymorphism analysis of loci associated with insect resistance in tomato
Crop Sci. 27, 797-803

NIEUWENHUIZEN, J.; BAKKER, H.; BUIS. R.C. (1982)
Genetic differences in reproduction and growth rate between two lines of mice selected for litter size
Z. Tierzüchtg. Züchtgbiol. 99, 292-307

NITTER, G. (1978)
Breed utilisation for meat production in sheep
Animal Breeding Abstracts 46 (3), 131-143

NOFAL, R.Y.; TOTH, S. (1996)
Evaluation of seven genetic groups of rabbits for some reproductive traits in the dirst three perities
Archiv für Tierzucht 39 (6), 623-631

NOFAL, R.Y.; TOTH, S.; VIRAG, G. (1997)
Evaluation of seven genetic groups of rabbits for carcass traits
Archiv für Tierzucht 40 (1), 61-67

NORDSKOG, A.W.; GHOSTLEY, F.J. (1954)
Heterosis in poultry
Poultry Sci. 33, 704

OBER, C. (1995)
HLA and Fertility
Am. J. Hum. Genet. 57, 1242-1243

PATERNIANI, E.; LONQUIST, J.H. (1963)
Heterosis in interracial crosses of corn
Crop Sci. 3; 504-507

PATERSON, A.H.; LANDER, E.S; HEWITT, J.D.; PETERSON, S.E.; LINCOLN, S.E.; TANKSLEY, S.D. (1988)
Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms
Nature 335, 721-726

PENG, J.Y.; VIRMANI, S.S.; JULIFIQUAR, A.W. (1991)
Relationship between heterosis and genetic divergence in rice
Oryza 28, 129-133

PIEPER, L.R.; BINDON, B.M.; DAVIS, G.H. (1985)
The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino
Genetics of reproduction in sheep, 115-125

PIRCHNER, F. (1979)
Populationsgenetik in der Tierzucht
2. Auflage, Paul Parey, Hamburg und Berlin

PLASCHKE, J.; BÖRNER, A.; XIE, D.X.; KOEBNER, M.D.; SCHLEGEL, R.; GALE, M.D. (1993)
RFLP mapping of genes affecting plant height and growth habit in rye
Theor. Appl. Genet. 85, 1049-1054

PLOTSKY, Y.; CAHANER, A.; HABERFELD, A.; LAVI, U.; LAMONT, S.J.; HILLEL, J. (1993)
DNA-fingerprint bands applied to linkage analysis with quantitative trait loci in chickens
Animal Genetics 24, 105-110

PLUM, M. (1959)
Hetero blood types and breeding performance
Science 129, 781-782

POONI, H.S.; TREHARNE, A.J. (1994)
The role of epistasis and background genotype in the expression of heterosis
Heredity 72, 628-635

POONI, H.S.; VIRK, P.S.; COOMBS, D.T. (1994)
The genetical basis of hybrid vigour in a highly heterotic cross of Nicotiana tabacum
Theor. Appl. Genet. 89, 1027-1031

POWELL-BRAXTON, L.; HOLLINGSHEAD, P.; WARBURTON, C.; DOWD, M.; PITTS-MEEK, S.; DALTON, D.; GILLETT, N.; STEWARD, T.A. (1993)
IGF-1 is required for normal embryonic growth in mice

Genes Dev. 7 (12B), 2609-2617
PRASAD, S.K.; SINGH, T.P. (1986)
Heterosis in relation to genetic divergence in maize
Euphytica 35, 919-924

RAPOPORT, S.M. (1977)
Medizinische Biochemie
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin

RATHIE, K.A.; TIERNEY, M.L.; MULDER, J.C. (1994)
Assessing Wiltshire Horn Merino crosses. 2. Reproductive traits
Australian Journal of Experimental Agriculture 34 (6), 729-732

REDONA, E.D.; MACKILL, D.J. (1996)
Mapping quantitative trait loci for seedling vigour in rice using RFLPs
Theor. Appl. Genet. 92, 395-402

REINER, G.; HECHT, W.; HERZOG, A.; DZAPO, V. (1993)
Die Reproduktionsleistung von Sauen mit unterschiedlichem MHS-Status
Dt. tierärztliche Wochenschrift 100, 144-146

RENNE, U.; SUMPF, D.; HERRENDÖRFER, G. (1995)
Reproductive performance in a complete diallel cross among long-term-selected mouse lines
Arch. Tierz. Dummerstorf 38 (2), 235-244

RODRIGUEZALMEIDA, F.A.; VANVLECK, L.D.; GREGORY, K.E. (1997)
Estimation of direct and maternal breed effects for prediction of expected progeny differences for birth and weaning weights in three multibreed populations
Journal of Animal Science 75 (5), 1203-1212

ROLFS, A.; SCHUMACHER, H.; MARX, P. (1991)
PCR Topics
Springer Verlag

ROTHSCHILD, M.F.; VASKE, D.A.; TUGGLE, C.K.; MESSER, D.G.; Mc LAREN, L.A.; SHORT, T.H.; ECKARDT, G.R.; MILEHAM, A.J.; PLASTOW, G.S. (1995)
Estrogen receptor locus is a major gene for litter size in the pig
EAAP-Meeting, Prag, G5.2, 53

SAX, K. (1923)
The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in Phaseolus vulgaris
Genetics 8, 552-560

SCHATTEMANN, G.C.; MORRISON-GRAHAM, K.; VAN KOPPEN, A.; WESTON, J.A.; BOWEN-POPE, D.F. (1992)
Regulation and role of PDGF receptor alpha-subunit expression during embryogenesis
Development 115, 123-131

SCHLEGER, W.; MAYRHOFER, G.; STUR, I. (1978)
Relationship between marker heterozygosity and fitness in cattle
Z. Tierzücht. Biol. 94, 296-301

SCHNELL, F.W. (1961)
Heterosis und Inzuchtwirkung
Schriftenreihe Max Planck Institut für Tierzucht u. Tierernährung, Sonderb. 251-272, 291-314

SCHNELL, F.W.; COCKERHAM, C.C. (1992)
Multiplicative vs. arbitrary gene action in heterosis
Genetics 131, 461-469

SCHÖNMUTH, G. (1966)
Heterosis in der Rinderzucht
Wiss. Zschr. Humboldt-Univ. Berlin, Math.-Nat. R. 15, 369-376

SCHÖNMUTH, G.; FLADE, D.; SEELAND, G. (1984)
Genetische und phylogenetische Grundlagen
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin

SCHÖNMUTH, G.; FLADE, D.; SEELAND, G. (1986)
Züchterische und ökologische Grundlagen
VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin

SCHÜLER, L. (1982)
Untersuchungen mit Modelltieren zu den Wechselbeziehungen der Fitnesskomponenten Fruchtbarkeit, Wachstum und Belastbarkeit

Achiv für Tierzucht, 25 (5), 477-485
SCHÜLER, L.; BÜNGER, L. (1982)
Die reproduktive Lebensleistung auf Fruchtbarkeit selektierter Labormauslinien
Archiv für Tierzucht 3 (25), 275-281

SELLIER, P. (1976)
The basis of crossbreeding in pigs: a review
Livest. Prod. Sci. 3, 203-226

SHERIDAN, A.K. (1980)
A new explanation for egg production heterosis in cross between White Leghorns and Australorps
British Poultry Science 21, 85-88

SHERIDAN, A.K. (1981)
Crossbreeding and Heterosis
Animal Breeding Abstracts 49 (3), 131-144

SHULL, G.H. (1908)
The composition of a field of maize
Rept. Amer. Breeders' Assoc. 4, 296-301

SHULL, G.H. (1914)
Duplicate genes for capsule form in BURSA bursa Bastoris
J. Ind. Abst. Vererb. 12, 97-149

SIDWELL, G.M.; EVERSON, D.O.; TERRILL, C.E. (1962)
Fertility, prolificacy and lamb livability of some pure breeds and their crosses
J. Anim. Sci. 21, 875-879

SILVA, M.A.; SANCEVERO, A.B.; ALVES, R.O.; OLIVEIRA, A.; LOPES, P.S.; TORRES, R.A.; De OLIVEIRA, A.I.G.; De ALVES, R.G. (1994)
Performance of purebred and crossbred pigs from birth to the end of the growing period
Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia 23 (2), 197-204

SIMPSON, S.P. (1989)
Detection of linkage between quantitative trait loci and restriction fragment length polymorphisms using inbred lines

Theor. Appl. Genet. 77, 815-819
SINGH, S.M.; ZOUROS, E. (1978)
Genetic variation associated with growth rate in the American oyster (Crassostrea virginica)
Evolution 32, 342-353

SMITH, O.S.; SMITH, J.S.C.; BOWEN, S.L.; TENBORG, R.A.; WALL, S.J. (1990)
Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F_1 grain yield, heterosis and RFLPs
Theor. Appl. Genet. 80, 833-840

SMOUSE, P.E. (1986)
The fitness consequences of multiple-locus heterozygosity under the multiplicative overdominance and inbreeding depression models
Evolution 40 (5), 946-957

SNAPE, J.W.; LAW, C.N.; WORLAND, A.J.; PARKER, B.B. (1991)
Targeting genes for genetic manipulation in crop species
Gene manipulation in plant improvement II: 19th Stadler Genetics Symposium, 55-76

SOLLER, M.; GENIZI, A.; BRODY, T. (1976)
On the power of experimental designs for the detection of linkage between inbred lines
Theor. Appl. Genet. 47, 35-39

SPEAROW, J.L.; ERICKSON, R.P.; MIDGLEY, A.R.; HERBON, L.; FIELDS, S.; MALONE, E. (1983)
Effect of H-2 on hormone induced ovulation rate and LH receptor induction
Endocrinology 112 (Suppl.), Abstr. 47

SPEAROW, J.L. (1988a)
Major genes control hormone-induced ovulation rate in mice
J. Reprod. Fert. 82, 787-797

SPEAROW, J.L. (1988b)
Characterisation of genetic differences in hormone-induced ovulation rate in mice
J. Reprod. Fert. 82, 799-806

SPEAROW, J.L.; NUTSON, P.; MAILLIARD, W.; THOMASSIAN, C.; BARKLEY, M. (1992)
Mapping genes controlling hormone-induced ovulation rate in mice
Dept. Animal Physiology, University of California, DAVIS, C.A.

STAHL, W.; RASCH, D.; SILER, R.; VACHAL, J. (1969)
Populationsgenetik für Tierzüchter
VEB Dt. Landwirtsch.-Verl., Prag, Landwirtschaftl. Staatsverl.

STUBER, C.W.; EDWARDS, M.D. (1986)
Genotypic selection for improvement of quantitative traits in corn using molecular marker loci
Proc. 41 st Annu. Corn and Sorghum Industry Res. Conf., Chicago, IL., 70-83

STUBER, C.W.; EDWARDS, M.D.; WENDEL, J.F. (1987)
Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. factors influencing yield and its component traits
Crop Science 27, 639-648

STUBER, C.W. (1989)
Molecular markers in the manipulation of quantitative characters
Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources, 334-350

STUBER, C.W.; LINCOLN, S.E.; WOLFF, D.W.; HELENTJARIS, T.; LANDER, E.S. (1992)
Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers
Genetics 132, 823-839

STUBER, C.W. (1994)
Heterosis in plant breeding
Plant Breeding Reviews, 227-251

STUR, I. (1986)
Heterosiszucht bei Haustieren
Wien tierärztl. Mschr. 73, 222-279

TAKESHIMA, H.; NISHIMURA, S.; MATSUMOTO, T.; ISHIDA, H.; KANKAWA, K.; MINAMINO, N.; MATSUO, H.; UEDA, M.; HANAOKA, M.; HIROSE, T.; NUMA, S. (1989)
Primary structure and expression from complementary DNA of skeletal muscle ryanodine receptor
Nature 339, 439-445

TANKSLEY, S.D.; MEDINO-FILHO, H.; RICK, C.M. (1982)
Use of naturally occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an inter-specific backcross of tomato
Heredity 49, 11-25

TANKSLEY, S.D.; YOUNG, N.D.; PATERSON, A.H.; BONIERBALE, M.W. (1989)
RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science
Biol. Technol. 7 (3) 257-264

TERSAC, M.; BLANCHARD, P.; BRUNEL, D.; VINCOURT, P. (1994)
Relations between heterosis and enzymatic polymorphism in populations of cultivated sunflowers
Theor. Appl. Genet. 88, 49-55

TSAFTARIS, S.A. (1995)
Molecular aspects of heterosis in plants
Physiologia Plantarium 94, 362-370

TURELLI, M.; GINZBURG, L. (1983)
Should individual fitness increase with heterozygosity ?
Genetics 104, 191-209

VAILLANCOURT, R.E.; POTTS, B.M.; WATSON, M.; VOLKER, P.W.; HODGE, G.R.; REID, J.B.; WEST, A.K. (1995)
Detection and prediction of heterosis in Eucalyptus globulus
For Genet. 2, 11-19

VELEZ, A.; BRUN, J.M.; ROUVIER, R. (1996)
Crossbreeding effects on reproductive traits in two strains of duck (anas platyrhynchos) brown tsaya and pekin
British Poultry Sci. 37 (3), 571-577

WAGNER, E. (1993)
Simulationsstudie zur Kopplungsanalyse von molekularen Markern und komplexen Merkmalen
Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen, Fachbereich Agrarwissenschaften, Biometrie und Populationsgenetik

WARNER, C.M. (1986)
Genetic manipulation of the major histocompatibility complex
J. Anim. Sci. 63, 270

WARNER, C.M.; GOLLNICK, S.; GOLDBARD, S.B. (1987)
Linkage of the preimplantation-embryo-development (Ped) gene to the mouse major histocompatibility complex (MHC)
Biol. Reprod. 36, 606-610

WARNER, C.M.; BROWNELL, M.S.; ROTHSCHILD, M.F. (1991)
Analysis of litter size and weight in mice differing in Ped gene phenotype and the Q-region of the H-2 complex
J. Reprod. Immunol. 19 (3), 303-313

WHALEY, W.G. (1944)
Heterosis
Biol. Rev. 10, 461-498

WHITE, P.C.; CHAPLIN, D.D.; WEIS, J.H.; DUPONT, B.; NEW, M.I.; SEIDMANN, J.G. (1984)
Two steroid 21-hydroxylase genes are located in the murine S region
Nature 312, 465-467

WILLER, S.; WILLER, H.; BUSCH, W. (1989)
Kontrolle weiblicher Fruchtbarkeitsmerkmale durch Gene des Haupthistikompatibilitäts-komplexes und benachbarter Genloci
Mh. Vet. Med. 44, 540-543

WILLIAMS, W. (1959)
Heterosis and the genetics of complex characters
Nature 184, 527-530

WOLF, J.; KRATOSKA, J.; VACKOVA, I.; CEPICA, ST. (1995)
Measures of genetic diversity and genetic distance and their application to Czech pig populations
2nd European Workshop on Advanced Methods in Animal Breeding, Salzburg

WU, T.C.; WANG, L.; WAN, Y.J. (1992)
Expression of estrogen receptor gene in mouse oocyte and during embryogenesis
Mol. Reprod. Dev. 33 (4), 407-412

WU, W.R.; LI, W.M. (1994)
A new approache for mapping quantitative trait loci using complete genetic marker linkage maps
Theor. Appl. Genet. 89, 535-539

XIAO, J.; LI, J.; YUAN, L.; Mc COUCH, S.R.; TANKSLEY, S.D. (1996 a)
Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers
Theor. Appl. Genet. 92, 637-643

XIAO, J.; LI, J.; YUAN, L.; TANKSLEY, S.D. (1996 b)
Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross
Theor. Appl. Genet. 92, 230-244

ZEMAN, M.; BUYSE, J.; MINVIELLE, F.; BORDAS, A.; MERAT, P.; DECUYPERE, E. (1997)
Effects of sex-linked dwarf gene on plasma somatotrophic and thyroid hormone levels and on energy metabolism of leghorn and brown egg-type laying hens and their reciprocal crosses
Archiv für Geflügelkunde 61 (2), 66-71

ZENG, Z.B.; HOULE, D.; COCKERHAM, C.C. (1990)
How informative is WRIGHTs estimator of the number of genes affecting a quantitative character ?
Genetics 126, 235-247

ZENG, Z.B. (1992)
Correcting the bias of WRIGHTs estimates of the number of genes affecting a quantitative character: a further improved method
Genetics 131, 987-1001

ZHANG, Q.; GAO, Y.J.; YANG, S.H.; RAGAB, R.A.; SAGHAI MAROOF, M.A.; LI, Z.B. (1994)
A diallel analysis of heterosis in elite hybrid rice based on RFLPs and microsatellites
Theor. Appl. Genet. 89, 185-192

ZHANG, Q.; ZHOU, Z.Q.; YANG, G.P.; WU, C.G.; LIU, K.D.; SAGHAI MAROOF, M.A. (1996)
Molecular marker heterozygosity and hybrid performance in indica and japonica rice
Theor. Appl. Genet. 93, 1218-1224

Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Leuthold danke ich für die Überlassung des Themas und für die vielseitigen Anregungen bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Geldermann danke ich für die umfangreiche Unterstützung, die zahlreichen wissenschaftlichen Hinweise sowie die Möglichkeit der Nutzung des A.L.F.-Sequenzierautomaten am Fachgebiet Tierzüchtung der Universität Hohenheim.

Für die sehr gute Zusammenarbeit und wissenschaftliche Betreuung der Arbeit bedanke ich mich bei Frau Dr. Brunsch. Frau Dr. Köpke möchte ich für die Unterstützung bei allen statistischen Fragestellungen danken.

Mein herzlicher Dank gilt weiterhin Frau Look, Frau Greifenberg und Frau Friedel für die Unterstützung im labortechnischen Bereich. Ebenfalls bedanke ich mich bei Herrn Dr. Reinecke, Herrn Dr. Leucht und Herrn Dr. Stier† sowie Herrn Schiefler, Frau Neumann, Herrn Piepke und Herrn Höft für die gute Zusammenarbeit und die Betreuung des Tierversuches.

Der Humboldt-Universität sowie der FAZIT-Stiftung habe ich für die finanzielle Unterstützung zu danken.

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, daß ich die vorgelegte Arbeit selbständig und ohne unerlaubte Hilfe verfaßt und andere als die angegebenen Hilfsmittel nicht benutzt habe.

Berlin, den 19.12.1997

Unterschrift