

Aus dem Fachgebiet Züchtungsmethodik und Züchtungsplanung
des Instituts für Nutztierwissenschaften
der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin
und dem
Institut für Veterinär-Biochemie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Vergleich von Inzucht- und Homozygotieentwicklung
anhand molekulargenetischer Marker in einer
geschlossenen New Hampshire Linie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Kathrin Irgang
Tierärztin aus Berlin
Berlin 2001

Journal Nr. 2535

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M.F.G. Schmidt

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. S. Risse

Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. G. Seeland

Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. H. M. Hafez

Tag der Promotion: 01.02.2002

Die Arbeit wurde dankenswerter Weise von der Hans Wilhelm Schaumann
Stiftung gefördert.

Meinen Eltern
mit Dank gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Entstehung und Bedeutung genetischer Variabilität	3
2.1.1	Genomaufbau beim Geflügel	4
2.1.1.1	Struktur der Chromosomen	4
2.1.1.2	Molekulare Strukturen des Genoms	5
2.1.2	Molekulargenetische Marker	13
2.1.2.1	Marker in kodierenden DNA-Bereichen	13
2.1.2.2	Marker in nichtkodierenden DNA-Bereichen	14
2.1.2.3	Eigenschaften ausgewählter molekulargenetischer Marker	16
2.1.3	Anwendungen molekulargenetischer Marker beim Geflügel	19
2.1.3.1	Genomkartierung	19
2.1.3.2	Identitäts- und Abstammungsnachweise	23
2.1.3.3	Populationsgenetische Studien	24
2.2	Einfluß von Inzucht auf die genotypische Variabilität	27
2.2.1	Schätzung der Homozygotiezunahme anhand des Inzuchtanstiegs	29
2.2.2	Nutzung genetischer Marker zur Bestimmung des Homozygotiegrades beim Geflügel	33
2.2.2.1	Proteinpolymorphismen	33
2.2.2.2	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismen (RFLPs)	35
2.2.2.3	DNA-Fingerprints (DFPs)	36
2.2.2.4	Mikrosatelliten	38
2.3	Auswirkungen von Inzucht auf Leistungsmerkmale beim Geflügel	42
3	Material und Methoden	48
3.1	Charakterisierung der New Hampshire Linie	48
3.1.1	Struktur und Umfang	48
3.1.2	Elterntierauswahl und Anpaarungsschema	50

Inhaltsverzeichnis

3.1.3	Haltung und Management	51
3.1.4	Auswahl der Tiere für die Markeranalysen und Entnahme von Blutproben	52
3.1.5	Erfassung der Leistungsmerkmale	54
3.2	Molekulargenetische Methoden	54
3.2.1	Auswahl der Mikrosatelliten-Marker	54
3.2.2	Chemikalien, Enzyme und Geräte	57
3.2.3	Isolierung von genomischer DNA	59
3.2.3.1	Isolierung genomischer DNA aus Blutplasma	59
3.2.3.2	Isolierung genomischer DNA aus Vollblut	60
3.2.4	Amplifikation der Markerfragmente mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	62
3.2.5	Längendetektion der Markerfragmente	67
3.2.5.1	Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	67
3.2.5.2	Bestimmung der Markergenotypen	68
3.3	Statistische Methoden	69
3.3.1	Schätzung der Inzuchtkoeffizienten	69
3.3.1.1	Schätzung der Inzuchtkoeffizienten anhand der Verwandtschaftsmatrix	69
3.3.1.2	Bestimmung des Inzuchtgrades anhand der effektiven Populationsgröße	70
3.3.2	Analyse der genetischen Variabilität	71
3.3.2.1	Homozygotiestatus	72
3.3.2.2	Beobachtete und erwartete Heterozygotie	72
3.3.2.3	Informationsgehalt der Marker (PIC)	73
3.3.3	Vergleich der erwarteten mit der realisierten Homozygotie	73
4	Ergebnisse	75
4.1	Entwicklung des mittleren Inzuchtgrades in der New Hampshire Linie	75
4.1.1	Schätzung über die Verwandtschaftsmatrix	75
4.1.2	Bestimmung über die effektive Populationsgröße	77
4.2	Analyse der genetischen Variabilität mit Mikrosatelliten-Markern anhand von Stichproben in der New Hampshire Linie	79

Inhaltsverzeichnis

4.2.1	Polymorphie der Mikrosatelliten-Marker	79
4.2.2	Analyse des Homozygotiestatus	81
4.2.3	Entwicklung der beobachteten und der erwarteten Heterozygotie	90
4.2.4	Untersuchung des Informationsgehaltes der Mikrosatelliten (PIC)	94
4.3	Vergleich von Inzucht- und Homozygotieentwicklung	96
4.3.1	Schätzung der Homozygotiezunahme anhand des mittleren Inzuchtanstiegs je Jahr	96
4.3.2	Korrelationen zwischen individuellem Inzuchtkoeffizienten und Homozygotiegrad	98
4.4	Phänotypische Merkmale	99
4.4.1	Wachstum	99
4.4.2	Legeleistung	101
4.4.3	Einzeleimasse	102
4.4.4	Reproduktion	103
4.5	Entwicklung von Inzucht, Homozygotiestatus und Leistungsmerkmalen unter Vollgeschwisterpaarung	106
5	Diskussion	114
5.1	Entwicklung der Inzucht in der New Hampshire Linie	115
5.2	Beobachtete Homozygotiezunahme	116
5.3	Interpretation von Inzucht- und Homozygotieentwicklung unter Berücksichtigung von Inzuchtrate und Selektion	125
6	Zusammenfassung/Summary	130
7	Literaturverzeichnis	134
8	Verzeichnis der Tabellen	152
9	Verzeichnis der Abbildungen	154

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

A	Adenin
APS	Ammoniumpersulfat
aqua dest.	destilliertes Wasser (aqua destillata)
bp	Basenpaare
BS	Bandenübereinstimmungsgrad (bandsharing)
BSA	Bovines Serumalbumin
C	Cytosin
cM	Centimorgan
DFP	Multilocus-DNA-Fingerprint
DNA	Desoxyribonucleinsäure
dNTP	Desoxyribonucleosidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
F	Inzuchtkoeffizient
FAO	Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (Food and Agriculture Organization)
FISH	Fluoreszent In-Situ-Hybridisierung
G	Guanin
HCl	Salzsäure
k	Marker in kodierender DNA-Region
kb	Kilobasenpaare (1 kb = 1000 bp)
KH ₂ PO ₄	Kaliumhydrogenphosphat
KCl	Kaliumchlorid
KM	Kükenmarke
LINEs	lange eingestreute repetitive Elemente (long interspersed repetitive elements)
Mb	Megabasenpaare (1 Mb = 1000 kb)
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	Natriumhydrogenphosphat
NaOH	Natronlauge
N _e	effektive Populationsgröße
nk	Marker in nichtkodierender DNA-Region
OD	optische Dichte
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
PBS	Phosphatpuffer (phosphate-buffered saline)
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction)

Verzeichnis der Abkürzungen

PCR-RFLP	labortechnische Verbindung der PCR mit der RFLP-Analyse
pH	pH-Wert
PIC	Informationsgehalt (Polymorphic Information Content)
QTL	Loci für quantitative Merkmale (Quantitative Trait Loci)
R	Verwandtschaftskoeffizient
RAPD	zufällig amplifizierte polymorphe DNA (random amplified polymorphic DNA)
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RNA	Ribonucleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute (rounds per minute)
SDS	Natriumdodecylsulfat
SINEs	kurze eingestreute repetitive Elemente (short interspersed repetitive elements)
T	Thymin
TAE	Tris-Essigsäure-EDTA
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris-Borsäure-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethyldiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Einheiten (Units)
v/v	Volumen/Volumen
w/v	Gewicht/Volumen

Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht:

K. Irgang, B. Röder, T. Hardge, S. Risse, G. Seeland (1999):

Development of estimated and realized inbreeding in a flock of hens over 40 generations. Proceedings of the Poultry Genetics Symposium Mariensee, Germany, 06 – 08 October 1999, p. 121.

K. Irgang, B. Röder, T. Hardge, S. Risse, G. Seeland (2000):

Development of inbreeding and homozygosity based on genetic markers in a closed New Hampshire population. Proceedings of the XXI World's Poultry Congress, Montréal, Canada, 20 – 24 August 2000.

Danksagung

DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. Dr. G. Seeland, Leiter des Fachgebietes Züchtungsmethodik und Züchtungsplanung am Institut für Nutztierwissenschaften der Humboldt-Universität zu Berlin, der diese Arbeit angeregt hat, herzlich für seine Betreuung und die ständige Diskussionsbereitschaft während der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. S. Risse vom Institut für Veterinär-Biochemie danke ich für die Übernahme der Betreuung der Dissertation seitens der Freien Universität Berlin.

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. H. M. Hafez vom Institut für Geflügelkrankheiten der Freien Universität Berlin bedanke ich mich für die Bereitschaft, die Arbeit zu begutachten.

Ich bedanke mich ferner bei Herrn PD Dr. T. Hardge für seine freundschaftliche Unterstützung und seinen fachlichen Rat bei der Auswertung und Interpretation der molekulargenetischen Analysen.

Frau Dr. S. Müller danke ich für die Nutzung des DNA-Sequencers in ihrem Labor im Institut für Chemie der Humboldt-Universität zu Berlin.

Bei den Mitarbeitern der Versuchsstation in Blumberg bedanke ich mich für die gewissenhafte Dokumentation, ohne die die Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Dr. Röder für ihre sachkundige Hilfe bei der Berechnung der Inzuchtkoeffizienten und der statistischen Auswertung der erhobenen Daten.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern am Institut danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und Anregungen bei der Durchführung der Untersuchungen, insbesondere Frau A. Ackermann, Frau A. Schröder, Frau K. Peschel, Frau A. Schwiering, Frau P. Brödemann, Frau S. Käsler, Frau I. Koernicke, Frau C. Hoffmann und Herrn M. Kluge.

Meinen Verwandten und Freunden, insbesondere Herrn S. Beyer und Frau K. Siebel danke ich für ihre Hilfe und konstruktiven Korrekturen dieser Arbeit.

Die Arbeit wurde dankenswerter Weise nach dem Gesetz zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses des Landes Berlin (Nafög) und von der Hans Wilhelm Schaumann Stiftung gefördert.

Lebenslauf

LEBENS LAUF

Name: Kathrin Irgang

Geburtsdatum: 15.09.1971

Geburtsort: Berlin

Ausbildung:

1978 – 1984 Grundschule am Ritterfeld, Berlin

1984 – 1991 Kant-Gymnasium, Berlin

1991 Abitur

1991 – 1997 Studium der Veterinärmedizin, Humboldt-Universität zu Berlin und Freie Universität Berlin, Standort Mitte

1997 Staatsexamen und Approbation als Tierarzt

Dissertation:

1997 – 2001 Institut für Nutztierwissenschaften, Fachgebiet Züchtungsmethodik und Züchtungsplanung, Humboldt-Universität zu Berlin

07/1998 – 06/1999 Stipendium nach dem Gesetz zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses des Landes Berlin (Nafög)

11/1999 – 05/2000 Stipendium der Hans Wilhelm Schaumann Stiftung

Beruf:

seit 2/2001 Teilzeitassistenz in der Tierärztlichen Praxis für Pferde, Dr. Dr. C. K. Becker, Schenefeld

ERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, die vorliegende Promotionsarbeit mit dem Titel: „Vergleich von Inzucht- und Homozygotieentwicklung anhand molekulargenetischer Marker in einer geschlossenen New Hampshire Linie“ selbständig verfaßt und keine weiteren als die angegebenen Hilfsmittel dazu verwendet zu haben.

Kathrin Irgang

Hamburg, den 22.05.2001