

Aus dem Institut für Tierzucht und Tierhaltung
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

KARTIERUNG VON LOCI FÜR KONGENITALES
AUSGRÄTSCHEN BEIM NEUGEBORENEN FERKEL

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

SEBASTEAN SCHWARZ

aus Bremerhaven

Dekan:	Prof. Dr. F. Taube
Erster Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. Kalm
Zweiter Berichterstatter:	Prof. Dr. J. Krieter

Tag der mündlichen Prüfung: 7. November 2002

Die Studie wurde mit dankenswerter finanzieller Unterstützung des Fördervereins
Biotechnologieforschung der Deutschen Schweineproduktion e. V. (FBF) durchgeführt.

Schriftenreihe des Instituts Tierzucht und Tierhaltung der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel; Heft 135, 2003

© 2003 Selbstverlag des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-
Albrechts-Universität zu Kiel
Olshausenstraße 40, 24098 Kiel
Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. Kalm

ISSN: 0720-4272

Gedruckt mit Genehmigung des Dekans der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen
Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Tabellen
 Verzeichnis der Übersichten
 Verzeichnis der Abbildungen
 Verzeichnis der Abkürzungen

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Begriffsbestimmung	3
2.2	Symptome und Behandlungsformen	4
2.3	Häufigkeiten und nicht-genetische Einflüsse	5
2.3.1	Frequenzen des Merkmals und Verlustraten	6
2.3.2	Haltungsbedingte und saisonale Einflüsse	13
2.3.3	Zusammenhang mit Reproduktionsparametern der Sauen	15
2.3.4	Geschlechtsdisposition der Spreizferkel	18
2.3.5	Ernährungsbedingte Einflußfaktoren und experimentell ausgelöste Formen des Merkmals	20
2.4	Histologische und biochemische Untersuchungen des Merkmals	24
2.4.1	Histologische und strukturelle Veränderungen der Muskulatur	24
2.4.2	Biochemische Analysen	27
2.4.3	Befunde am Nervensystem	30
2.4.4	Befunde der Aktivitätsmessungen muskelspezifischer Enzyme	31
2.4.5	Befunde zum Cholinmetabolismus	32
2.5	Myopathien anderer Spezies	33
2.6	Genetik des Merkmals	36
2.6.1	Rassendisposition	36
2.6.2	Erbgang	38
2.6.3	Molekulargenetische Untersuchungen	41
2.7	Abschließende Betrachtung der Literatur	42
3	Material und Methoden	44
3.1	Tiere und Familienstruktur	44
3.2	Material für Laboruntersuchungen	48
3.3	Molekulargenetische Untersuchungen	50
3.3.1	Extraktion der DNA aus Gewebeproben	50

3.3.2	Extraktion der DNA aus Sperma	51
3.3.3	Qualitätsbeurteilung und Konzentrationsbestimmung der extrahierten DNA	51
3.3.4	Geschlechtsbestimmung	52
3.3.5	Ausgewählte Mikrosatelliten-Marker	53
3.3.6	Optimierung der Polymerase-Kettenreaktion	54
3.3.7	Darstellung der Mikrosatelliten in der automatischen Sequenzierereinrichtung	61
3.4	Verwaltung der Typisierungsergebnisse	64
3.5	Statistische Methoden	64
3.5.1	Markerkarten	64
3.5.2	Merkmalsgestützte Mehrpunkt-Kopplungsanalyse	66
4	Ergebnisse	69
4.1	Resultat der Geschlechtsbestimmung	69
4.2	Typisierungsergebnisse der Mikrosatelliten	69
4.3	Markerkarten und Informationsgehalt der Markerloci	76
4.3.1	Markerkarten	76
4.3.2	Informationsgehalt der Markerloci	86
4.4	Ergebnisse der merkmalsgestützten Mehrpunkt-Kopplungsanalyse	89
5	Diskussion	94
5.1	Tiere und Familien	94
5.1.1	Auswahl der Rasse	94
5.1.2	Einfluß des Geschlechts	95
5.2	Die Möglichkeit des Auftretens von Phänokopien	96
5.3	Bestimmung der Genotypen	97
5.3.1	Erstellung der DNA-Fragmente	98
5.3.2	Informationsgehalt der Markerloci	99
5.3.3	Abstammungskontrolle	101
5.4	Markerkarten	102
5.5	Statistische Auswertung	104
5.6	Kartierung von Spreizer-Loci	105
5.6.1	Chromosom Sscr 3	106
5.6.2	Chromosom Sscr 5	107
5.6.3	Chromosom Sscr 11	109
5.7	Perspektiven für die Entwicklung eines Gentests	110

6	Zusammenfassung	112
7	Summary	113
8	Literaturverzeichnis	114
9	Anhang	134

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1:	Anteil des extramyofibrillären Raums in % bei Spreizferkeln sowie bei nicht betroffenen Ferkeln (nach CURVERS et al., 1989)	27
Tabelle 2:	Bekannte Varianten der Gliedergürteldystrophien (LGMD), Erbgang, Genlokalisierung, Gen-Produkt und Zugangsnummer der Datenbank „Online Mendelian Inheritance in Man“	36
Tabelle 3:	Anzahl lebend geborener, tot geborener, männlicher und weiblicher abgesetzter Ferkel sowie Anzahl und Anteil der Spreizferkel in den untersuchten Familien	45
Tabelle 4:	Anzahl und Geschlecht betroffener Nachkommen sowie Anzahl der Würfe der untersuchten Familien	46
Tabelle 5:	Wurfnummer, Anzahl und Anteil in % der Sauen, Anzahl und Anteil in % der Spreizernachkommen innerhalb der Wurfnummer	47
Tabelle 6:	Primersequenzen für die Geschlechtsbestimmung	52
Tabelle 7:	Multiplex-Gruppen und PCR-Bedingungen der verwendeten Mikrosatelliten-Loci	56
Tabelle 8:	PCR-Bedingungen separat amplifizierter Mikrosatelliten-Loci	60
Tabelle 9:	Wahrscheinlichkeiten verschiedener väterlicher Haplotypen in den Typen betroffener Nachkommen (h_{1-6})	67
Tabelle 10:	Anzahl typisierter Mikrosatelliten und heterozygoter Loci je Familie	70
Tabelle 11:	Locus, Anzahl typisierter Elterntiere (n), Anzahl Allele und beobachteter Heterozygotiegrad (H_b) (H_b -Gesamt, -Eber, -Sauen) der untersuchten Mikrosatelliten-Loci	71

Tabelle 12: Positionen (cM) der Mikrosatelliten auf der kombinierten (komb.), der weiblichen (weibl.) und männlichen (männl.) Kopplungskarte (Multipoint), LOD-Score und Rekombinationsrate (θ) (Twopoint) und Anzahl informativer Meiosen unbekannter Phase der Marker sowie der co-informativen Meiosen 77

Tabelle 13: Chromosomenweiter Mittelwert, Minimum und Maximum des Informationsgehaltes auf der Markerkarte 87

Tabelle 14: Chromosom, Maximum der Teststatistik (χ^2), punktweise Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise), Position (cM-Kosambi) und abgeleiteter LOD-Score 90

Tabellen des Anhangs

Tabelle A1: Primersequenzen und Fluoreszenzmarkierung (Dye) der untersuchten Mikrosatelliten-Loci 158

Tabelle A2: Fragmentlängen (bp) der Allele der untersuchten Mikrosatelliten-Loci 162

Tabelle A3: Allele frequencies of observed microsatellites, chromosomal assignment, map position, member of amplification group, range of allele size, number of detected alleles and allele frequencies, degree of heterozygosity and number of informative meioses. 166

Tabelle A4: Kombinationen der Monoplex- und Multiplex-Reaktionen in den jeweiligen Elektrophoresen 173

Verzeichnis der Übersichten

Übersicht 1:	Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen aus einzelnen Beständen betroffener und nicht betroffener Würfe –	9
Übersicht 2:	Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen bestandsübergreifend aus betroffenen und nicht betroffenen Würfen –	10
Übersicht 3:	Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen nur aus betroffenen Würfen –	10
Übersicht 4:	Mortalitätsrate aufgrund der Stellungsanomalie (in %) innerhalb der vom Spreizersyndrom betroffenen und unter leb. geb. Ferkeln	12
Übersicht 5:	Geschlechtsverhältnis innerhalb Würfe mit Spreizferkeln, Anzahl Spreizferkel und Anzahl männlicher und weiblicher leb. geb. Ferkel	19
Übersicht 6:	Experimentell ausgelöste Formen des Spreizersyndroms	23
Übersicht 7:	Häufigkeiten des Spreizersyndroms in ausgewählten Schweinerassen	38
Übersicht 8:	In der Literatur diskutierte Hypothesen zum Erbgang des Merkmals Spreizer	41

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Kombination von fünf väterlichen Halbgeschwisterfamilien in einem Pedigree über zweifach angepaarte Sauen	46
Abbildung 2: Fragmentmuster der Amplifikationsprodukte vom <i>SRYB</i> - und <i>ZFX/ZFY</i> -Gen	53
Abbildung 3: Testschema zur Erstellung von Multiplex-Gruppen	56
Abbildung 4: Schematische Vorgehensweise zur Anordnung der Marker-Loci für Chromosom Sscr 7 und 16	65
Abbildung 5: Darstellung sechs verschiedener Nachkommentypen unter den Spreizernachkommen	66
Abbildung 6: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 3. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.	83
Abbildung 7: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 5. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.	84
Abbildung 8: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 11. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.	85
Abbildung 9: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 3	88
Abbildung 10: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 5	88
Abbildung 11: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 11	89
Abbildung 12: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise) entlang der Positionen in cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 3	91

Abbildung 13: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α-comparisonwise) entlang der Positionen 25 bis 95 cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 5 92

Abbildung 14: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α-comparisonwise) entlang der Positionen in cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 11 93

Abbildungen des Anhangs

Abbildung A1: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 1 134

Abbildung A2: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 2 135

Abbildung A3: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 4 136

Abbildung A4: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 6 137

Abbildung A5: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 7 138

Abbildung A6: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 8 139

Abbildung A7: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 9 140

Abbildung A8: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 10 141

Abbildung A9: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 12 142

Abbildung A10:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 13	143
Abbildung A11:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 14	144
Abbildung A12:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 15	145
Abbildung A13:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 16	146
Abbildung A14:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 17	147
Abbildung A15:	Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 18	148
Abbildung A16:	Weibliche und männliche Markerkarte der Chromosomen XY	149
Abbildung A17:	Informationsgehalt der Mikrosatelliten auf den Chromosomen Sscr 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 und XY	150-157

Verzeichnis der Abkürzungen

AChE	Acetylcholinesterase
ALAT	Alanin-Aminotransferase
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ATPase	Adenosin-5'-triphosphatase
bidest.	bidestillatus
bp	Basenpaar
Ca	Kalzium
ChAT	Cholinacetyltransferase
Chr.	Chromosom
cM	Centimorgan
CPK	Kreatinphosphokinase
Cu	Kupfer
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	2'-Desoxynucleosid-5'-Triphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Fe	Eisen
H _b	Heterozygotiegrad
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
Hsap	Homo sapiens
i. m.	intra muskulär
K	Kalium
LDH	Laktatdehydrogenase
LOD	Logarithm of the odds
LR	Landrasse
M	Musculus
ME	metabolic energie (umsetzbare Energie)
Mg	Magnesium
MJ	Megajoule
n	Anzahl
N	Stickstoff
Na	Natrium
OD	optische Dichte
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
PCR	polymerase-chain-reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
p. p.	post partum

ppm	parts per million
QTL	quantitative trait loci
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
RT	Raumtemperatur
SDS	Natriumdodecylsulfat
Sscr	Sus scrofa
TBE	Tris-Borat-EDTA
TE	Tris-EDTA
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
U	Unit
USDA	United States Department of Agriculture
UV-Licht	ultraviolette Licht
vs.	versus
w/w	Gewicht pro Gewicht
Zn	Zink

1 Einleitung

Erblich bedingte Anomalien stellen einen ökonomischen Verlust bei der Produktion von Zuchtschweinen sowie bei der Ferkelproduktion dar. Der ökonomische Schaden einzelner Geburtsfehler ist abhängig von der Häufigkeit der Merkmalsträger in der Population sowie den durch Erbfehler entstehenden Behandlungskosten und geringeren Zunahmen (STIGLER et al., 1991). Innerhalb der Gruppe der Geburtsfehler und erblichen Anomalien wird das kongenitale Ausgrätschen beim neugeborenen Ferkel (nachfolgend als *Spreizersyndrom* bezeichnet) als die am häufigsten auftretende Funktionsstörung beschrieben (PARTLOW et al., 1993). Die Anomalie äußert sich über eine eingeschränkte Beweglichkeit der betroffenen Tiere und einer charakteristischen gespreizten Stellung zumeist der Hinterextremitäten, was dazu führt, daß die Ferkel die Zitzen nur schwer erreichen können und Fluchtreaktionen verzögert sind.

Eine Methode zur Sammlung von Informationen verschiedener Anomalien ist die Erstellung eines Index. Versuche, die Erkrankung mittels eines seit 1986 in Bayern verwendeten Anomalienindex züchterisch zu bearbeiten, blieben bislang erfolglos. Mit diesem System werden die in künstlicher Besamung stehenden Eber auf Anomalien ihrer Nachkommen überprüft, basierend auf diesen Informationen wird für jeden Eber ein Index erstellt und bei der Erteilung der Besamungserlaubnis berücksichtigt (PESCHKE et al., 1987). Um das Problem der erblich bedingten Anomalien einzudämmen, hat der Förderverein Biotechnologieforschung der Deutschen Schweineproduktion e. V. (FBF) vier Projekte initiiert, die die genetischen Ursachen für Gesäugeanomalien, Afterlosigkeit, Hoden- und Leistenbrüche sowie des angeborenen Spreizens untersucht haben. Das Nahziel der Untersuchungen besteht darin, eine markergestützte Selektion im Hinblick auf die genannten Erbdefekte zu etablieren. Das Fernziel besteht in der Identifizierung kausaler Gene und der Entwicklung entsprechender Gentests.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, im Rahmen des vom FBF geförderten Verbundprojektes chromosomale Regionen zu identifizieren, die im Zusammenhang mit dem Syndrom Spreizer stehen. In Zusammenarbeit mit der Firma Schaumann Besitz-Hülseberg GmbH & Co. KG wurden Gewebeproben von betroffenen Ferkeln gesammelt, zudem wurden routinemäßig Gewebeproben der Sauen und Spermaproben von den Ebern erhoben.

Der Aufbau der vorliegenden Arbeit gliedert sich in zwei Teile. Im ersten Teil werden, basierend auf der publizierten Literatur, zunächst die der Erkrankung zugrundeliegenden Häufigkeiten dargestellt. Im weiteren wird auf die Bedeutung nicht-genetischer Faktoren eingegangen. Histologische und biochemische Befunde werden gegenübergestellt, um eine Abgrenzung von Ferkeln, die aufgrund von Phänokopien klinisch betroffenen Ferkeln gleichen, herauszuarbeiten. Abschließend werden die publizierten Hypothesen über den Erbgang besprochen.

Im zweiten Teil wird anhand der eigenen Ergebnisse die Suche nach Risikogenen auf allen Autosomen und auf dem pseudoautosomalen Bereich der Geschlechtschromosomen beschrieben. Es standen acht väterliche Halbgeschwisterfamilien aus einer Reinzuchtpopulation der Deutschen Landrasse zur Verfügung, zum Auffinden putativer Spreizer-Loci wurden die Tiere für 142 Mikrosatelliten typisiert.

2 Literaturübersicht

2.1 Begriffsbestimmung

Die ersten Beobachtungen, in denen eine Paralyse der Hintergliedmaßen geschildert wurde und damit vermutlich das Spreizersyndrom erwähnt war, stammen von MOHR (1929). Er berichtete von einem erblichen, subletalen Defekt, bei welchem homozygote Ferkel eine komplette Paralyse der Beckenextremitäten zeigten. Im Jahr 1967 wurde das Syndrom Spreizer in England erstmals von THURLEY et al. (1967) klinisch und histologisch definiert und unter dem Namen *congenital splayleg* publiziert. In rascher Folge erschienen aus verschiedenen Ländern und Zuchtpopulationen weitere Berichte, welche dieses Krankheitsbild beschrieben (DOBSON, 1968; OLSON und PRANGE, 1968; BOLLWAHN und PFEIFFER, 1969; MEHLHORN et al., 1970; LAX, 1971). Im gleichen Maße entwickelten sich verschiedene Synonyme des Syndroms wie myofibrilläre Hypoplasie, congenitale Muskelhypoplasie, angeborenes Beinspreizen, Grätscher, Stehunvermögen neugeborener Ferkel und Spreizer im deutschen Sprachraum sowie *spraddle leg*, *spraddle-legged baby pigs* und *congenital myofibrillar hypoplasia* im englischen. Eine schwedische Arbeitsgruppe nahm eine weitere Differenzierung der betroffenen Ferkel in *splayweak* vor (BJÖRKLUND et al., 1987). Die *splayweak*-Gruppe beinhaltete Ferkel, die zusätzlich ein apathisches Verhalten zeigten und alle vier Gliedmaßen abspreizten, sie waren generell unfähig, das Gesäuge zu erreichen, und starben spätestens 30–40 h nach der Geburt. In der Literatur hat sich diese Unterteilung jedoch nicht durchgesetzt.

Die Bezeichnung „Spreizferkel“ beschreibt die Unfähigkeit neugeborener Ferkel, stehen und laufen zu können. Das Spreizen neugeborener Ferkel manifestiert sich als eine graduell unterschiedliche, zeitlich begrenzte Parese der Extremitäten, zumeist der Hinterextremitäten mit Adduktionsschwäche, die zum seitlichen Abspreizen führt. Aufstehen und Laufen ist somit bei den betroffenen Tieren erschwert oder nicht möglich. Von der Krankheit sind ausschließlich neugeborene Ferkel betroffen. Die Symptome dieser Stellungsanomalie zeigen sich während des ersten Lebensstages bzw. die betroffenen Ferkel werden hiermit geboren (BOLLWAHN und KRUEWIG, 1972). Die in der Literatur angeführten Häufigkeiten reichen bis zu 25 % der lebend geborenen Ferkel (TOMKO, 1993). Verluste resultieren aus einer Unterernährung, Verkümmern und Sekundärinfektionen an Haut und Gelenken sowie aus traumatischen Schädigungen an Muskeln und Gelenken (DOBSON, 1968; BOLLWAHN und PFEIFFER, 1969; KOHLER et al., 1969; KÖHLER und SEFFNER, 1975). Direkte Ferkelverluste ergeben sich aus dem Erdrücken durch die Sau, da die Fluchtreaktionen der betroffenen Ferkeln verringert sind (OLSON und PRANGE, 1968). In weiter Übereinstimmung berichten die

Autoren bei einer geringen Ausprägung des Krankheitsbildes von einer Selbstheilung innerhalb der ersten Lebenswochen, wenn die Milchaufnahme gesichert war.

2.2 Symptome und Behandlungsformen

Betroffene Tiere zeigen als Leitsymptom eine sitzende Haltung. Von den Ferkeln wird eine charakteristische zehenweite Stellung der Hintergliedmaßen eingenommen, wobei die Tiere in schweren Fällen auf dem Beckenboden sitzen (BOLLWAHN und PFEIFFER, 1969). Die Gliedmaßen werden seitwärts oder vorwärts des Körpers ausgebreitet (THURLEY et al., 1967). Innerhalb des ersten Lebenstages entwickelt sich eine im Ausprägungsgrad variable Grätschstellung, die Tiere sind nicht in der Lage, die Gliedmaßen an den Körper heranzuführen, und bewegen sich rutschend vorwärts. OLSON und PRANGE (1968) sowie MEHLHORN et al. (1970) stellten eine Grätschstellung, verursacht durch eine Muskelschwäche der Hinterhand, direkt im Anschluß an die Geburt fest. In selteneren Fällen wird auch von einer entsprechenden Veränderung in den Vordergliedmaßen berichtet, eine oder beide Gliedmaßen werden dann nach hinten oder seitlich abgespreizt. Beispiele hierfür sind bei THURLEY et al. (1967) zu finden. Sie machten bei 50 % der betroffenen Ferkel (n = 31) eine Grätschstellung der Vorderextremitäten aus. BOLLWAHN und KRUEWIG (1972) wiesen in ihrem Untersuchungsmaterial rund 7 % (n = 102) und SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) rund 29 % (n = 691) Ferkel nach, bei denen auch die Vordergliedmaßen betroffen waren. SELLIER et al. (1999) erwähnten 15 % (n = 888) Ferkel mit der Stellungsanomalie in allen vier Gliedmaßen. Sind auch die Vorderextremitäten betroffen, ist eine selbständige Fortbewegung der Tiere ausgeschlossen (KÖHLER und SEFFNER, 1975). Diesen Tieren werden keine Überlebenschancen eingeräumt bzw. es wird empfohlen, diese zu euthanasieren (PRANGE et al., 2001).

Seit BOLLWAHN und PFEIFFER (1969) als Behandlungsmethode die Fesselung der Hintergliedmaßen vorgeschlagen haben, wird diese Methode nahezu unverändert angewandt. Hierzu werden die Hintergliedmaßen im Abstand von 4 bis 6 cm oberhalb der Sprunggelenke während der ersten Lebensstage durch ein Klebeband fixiert. Auf diese Weise sind die Ferkel in der Lage, sich mittels eines hüpfenden Ganges fortzubewegen. In einem einjährigen Zeitraum konnten BOLLWAHN und KRUEWIG (1972) an 102 Spreizferkeln aus 46 Würfen nachweisen, daß signifikant bessere Heilungsergebnisse durch eine Fixation der Gliedmaßen (12 Std. p. p.) zu erreichen waren. Die Verluste unter den erkrankten, bandagierten Ferkeln wurden auf weniger als 18 % gesenkt im Gegensatz zu den unbehandelten Kontrolltieren, von denen rund 47 % aufgrund der Grätschstellung verendeten.

CUNHA (1968) führte das Grätschen neugeborener Ferkel auf einen Cholinmangel im Futter trächtiger Sauen zurück. Dieser soll durch eine Gabe von 3 bis 4,5 g pro Sau und Tag vermieden werden. In einer Untersuchung von DOBSON (1971) wurden gravide Sauen mit einer Zugabe von je 3 g Cholin und 5 g Methionin zur täglichen Ration gefüttert (Versuchsgruppe). Alle Sauen wiesen in vorhergehenden Würfen Spreizferkel auf. Obwohl somit weit über dem Bedarf der Föten gefüttert wurde, wiesen die Sauen der Versuchsgruppe prozentual mehr betroffene Ferkel auf als die Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis wird durch Studien von STOCKLAND und BLAYLOCK (1974), GRANDHI und STRAIN (1981), LUCE et al. (1986) sowie MAXWELL et al. (1987) gestützt. Sie konnten keine Beziehung zwischen dem Auftreten des Spreizersyndroms und der Höhe der Cholingabe herstellen. IBEN (1989) konnte ebenfalls das Vorkommen des Syndroms nicht ausschließlich in einer mangelnden oder ungenügenden Substitution der Ration mit Cholin begründen.

ZRUNEK et al. (1977, zitiert nach SCHNAPPERELLE und KOCH, 1980) nahmen eine neuromuskuläre Entwicklungsstörung, ähnlich der myasthenischen Reaktion beim Menschen, als auslösenden Faktor des Spreizersyndroms an. Hierbei kommt es zu einer gestörten Erregungsübertragung auf die Muskelfasern, welche unter Beteiligung von Acetylcholin in den motorischen Endplatten stattfindet. Durch Verabreichung von Cholinesteraseinhibitoren mittels des Wirkstoffs Neostigminmethylsulfat in Gaben von 0,05 bis 0,15 mg/Tier in Kombination mit Zusammenbinden der Hinterbeine soll es gelungen sein, 88,4 % (n = 147) der Ferkel erfolgreich zu behandeln. SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) knüpften an dieses Experiment an und injizierten den gleichen Wirkstoff in einer Konzentration von 0,05 mg/ml in einer einmaligen Gabe von 2 ml i. m. an Ferkel mit der Stellungsanomalie, wodurch eine längere Wirksamkeit des Acetylcholins an den Synapsen bewirkt wurde. Es gelang ihnen bei 81 % (n = 741) der Spreizferkel, die Symptome der Stellungsanomalie zu unterdrücken. Gleichzeitig wurden die behandelten Ferkel nach BOLLWAHN und PFEIFFER (1969) bandagiert. Somit ist ein therapeutischer Effekt nicht eindeutig zuzuordnen.

2.3 Häufigkeiten und nicht-genetische Einflüsse

In einer Vielzahl der nachfolgend aufgeführten Studien wurden als Grundlage zur Feststellung der Frequenzen und weiterer nicht-genetischer Einflüsse verschiedene Rassen und deren Kreuzungsprodukte verwendet. Da der Effekt der Rasse in Kapitel 2.6 dargestellt wird, sind in den folgenden Abschnitten nur dann Rassen aufgeführt, wenn von den Autoren der zitierten Literatur eine eindeutige Zuordnung gegeben ist.

2.3.1 Frequenzen des Merkmals und Verlustraten

Frequenzen des Merkmals

Die in der Literatur dargestellten Häufigkeiten des Spreizersyndroms variieren je nach erfaßten Rassen, Zeitraum der Studie und Grundlage der Untersuchung wie postalische Befragung, Rückmeldekarten des Züchters oder direkte Beobachtung in einem sehr breiten Spektrum. Es läßt sich nicht immer eindeutig klären, ob nur betroffene Würfe als Grundlage für die Schätzung von Frequenzen zugrunde gelegt wurden oder der gesamte Sauenbestand innerhalb eines definierten Zeitraums. Vergleichbares gilt für den Anteil betroffener Ferkel. Hier ist es teilweise unklar, ob die Häufigkeiten auf lebend geborene (leb. geb.) Ferkel oder gesamt geborene Ferkel bezogen sind. Dies erscheint vor dem Hintergrund bemerkenswert, da als Parameter für die Zuchtleistung der Sauen die Angaben der leb. geb. und aufgezogenen (abgesetzten) Ferkel dienen.

Viele Untersuchungen, in denen verschiedene Geburtsfehler und Anomalien des Schweines erfaßt wurden, beschrieben das Syndrom Spreizer als die am häufigsten auftretende Funktionsstörung (WELLS, 1986; THALLER, 1992; PARTLOW et al., 1993). Im folgenden sind die in der Literatur dargestellten Häufigkeiten, gegliedert nach dem Publikationsjahr aufgeführt. Zu Beginn sind die Frequenzen wiedergegeben, die aus einzelnen Beständen berichtet wurden, nachfolgend die Häufigkeiten, welche aus bestandsübergreifenden Beobachtungen stammen. Im Anschluß an die Wiedergabe der in der Literatur vorgefundenen Frequenzen ist eine Darstellung in den Übersichten 1, 2 und 3 gegeben.

Frequenzen einzelner Bestände

THURLEY et al. (1967) beschrieben zwei englische Bestände, in denen die Frequenz in einem Bestand bei 53 % ($n = 30$) der Würfe mit Spreizferkeln lag. In den betroffenen Würfen wurden 184 Ferkel geboren, von denen 31 (17 %) klinisch erkrankt waren, daraus ergaben sich 1,9 erkrankte Tiere pro Wurf. In einem weiteren Bestand wurden 215 Würfe untersucht, hier lag der Anteil an Würfen mit Spreizferkeln bei rund 37 %. In dieser Herde wurden 2,2 vom Spreizersyndrom betroffene Ferkel pro Wurf ermittelt. Aus den in Bestand zwei dargestellten Würfen resultierten 2.486 leb. geb. Ferkel und 182 Ferkel mit dem Spreizersyndrom (7,3 %). Einen durchschnittlichen Anteil von 3,3 Spreizferkeln pro betroffenem Wurf beobachtete DOBSON (1968) in Australien. Seiner Studie lagen die Daten eines Beobachtungszeitraums von dreieinhalb Jahren zugrunde basierend auf Kreuzungen zwischen Landrasse und Large White. Insgesamt wurden hierbei 116 Würfe verzeichnet mit einem Anteil von 38 % Spreizerwürfen. Die Anzahl geborener Ferkel wurde mit 1.285 Stück angegeben. Ferkel mit dem Syndrom Spreizer erreichten einen Anteil von 11 %. Abgesetzt

wurden 1.040 Tiere (8,9 pro Wurf) mit dem Hinweis, daß viele vom Spreizersyndrom betroffene Tiere aufgezogen wurden. Unter Berücksichtigung, daß BOLLWAHN und KRUEWIG (1972) nur betroffene Würfe betrachteten, ermittelten sie während eines einjährigen Zeitraums, in einem holsteinischen Praxisbezirk innerhalb von 46 Würfen aus 33 Beständen, einen Anteil von 2,2 (19,4 %) erkrankten Ferkeln pro Wurf und je Wurf mit mindestens einem Spreizferkel. Mit einem Anteil von 22 % Spreizferkeln eines Betriebes aus der DDR, die unter 19.800 leb. geb. Ferkeln auftraten, stellten die Autoren KÖHLER und SEFFNER (1975) innerhalb der Untersuchungen, denen betroffene wie nicht erkrankte Würfe zugrunde liegen, die höchste Frequenz des Syndroms dar. Einen entsprechend hohen Anteil an Spreizferkeln erreichten MAASS und SCHULZE (1979). Diese Ergebnisse sind jedoch vor dem Hintergrund zu sehen, daß eine gezielte Anpaarung von Jungsauen stattgefunden hat, die als Ferkel selber das Syndrom Spreizer gezeigt haben, parallel zu einer Kontrollgruppe ehemals nicht spreizender Sauen. Die dargestellten Häufigkeiten lagen für die Versuchsgruppe bei 33 % und für die Kontrollgruppe bei 21 % Spreizferkeln. In einer Studie von HÖRÜGEL und LORENZ (1979) wurde eine Frequenz des Syndroms für das Jahr 1973 anhand von 23.888 leb. geb. Ferkeln von 6,2 % für einen Betrieb der DDR angeführt. Sie erwähnten, daß insgesamt 634 Würfe gefallen sind mit einem Anteil von 29,5 % Würfen mit Spreizern. SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) berichteten von einem Bestand, in dem während eines Zeitraums von sieben Monaten innerhalb von 942 Würfen und 9.201 leb. geb. Ferkeln eine Frequenz von 7,5 % Spreizferkeln, gemessen an leb. geb. Ferkeln, auftrat. Basierend auf 1.086 Würfen und 9754 leb. geb. Ferkeln der Rassen Large White und Piétrain sowie deren Kreuzungen eines französischen Versuchsbetriebes beobachteten SELLIER und OLLIVIER (1982) einen Anteil von 3,9 % Ferkeln mit der Stellungsanomalie. MULLEY und EDWARDS (1984) ermittelten einen Anteil von 1 % Spreizferkeln anhand von 14.535 klinisch untersuchten Ferkeln in Australien. Datengrundlage bildeten Kreuzungssauen (Landrasse und Large White) und Eber der gleichen Kreuzungskombination sowie reinrassige Eber der zwei genannten Rassen eines Bestandes. Anomalien im Muskel-Skelett-Bereich machten hierbei einen Anteil von 54 % der erblichen Defekte aus, worunter das Spreizersyndrom am häufigsten gewesen ist. Basierend auf einer australischen Untersuchung von Mortalitätsursachen vor dem Absetzen (SPICER et al., 1986) wurden für 2.224 leb. geb. Ferkel aus 238 Würfen von Kreuzungssauen der Landrasse und Large White und Eber der Rassen Large White, Landrasse und Kreuzungsebern dieser Rassen eine Frequenz der Stellungsanomalie Spreizer von 5,5 % aller leb. geb. Ferkel verzeichnet. Daten eines kalifornischen Bestandes wiesen innerhalb von 3.636 leb. geb. Ferkeln einen Anteil von 0,28 % Spreizferkeln aus (GARDNER et al., 1989). Wie in der vorhergehend zitierten Untersuchung wurde auch hier nicht unmittelbar das Spreizersyndrom untersucht. Eine belgische Arbeitsgruppe (VAN DER HEYDE et al., 1989) untersuchte auf einem Versuchsbetrieb

verschiedene Einflußfaktoren explizit im Hinblick auf das Merkmal Spreizer für F1-Sauen (Belgische Landrasse x Holländische Large White). Während eines Zeitraums von 1979 bis 1986 stieg der Anteil an Würfen mit Ferkeln der Stellungsanomalie jährlich um 3 %, bis im Jahr 1986 ein Anteil von 25,5 % dargestellt wurde. Über die Jahre lag die Frequenz des Syndroms bei 3 % der gesamt geborenen Ferkel und bei 17 % betroffener Würfe.

Frequenzen bestandsübergreifender Beobachtungen

Eine Studie aus der Slowakischen Republik (TOMKO, 1993) fand innerhalb von 294 von der Stellungsanomalie betroffenen Würfen einen Anteil von 25,3 % Spreizferkeln ($n = 3.166$). In dieser Untersuchung wurden ausschließlich Würfe betrachtet, in denen Ferkel auftraten, welche das Syndrom zeigten. SMIDT (1972) ermittelte für die Holländische Landrasse unter rund 130.000 Ferkeln einen Anteil von 0,5 % Ferkeln, die eine Paralyse der Hintergliedmaßen zeigten, und bemerkte, daß dies die häufigste Erbkrankheit darstellte. Diese Daten basierten auf einem Umfrageergebnis. In einem detaillierten Übersichtsartikel verzeichnete WARD (1978) für Großbritannien eine Frequenz des Syndroms von 0,4 %. STEANE (1985) publizierte Daten von Ebern, die in England der künstlichen Besamung angeschlossen waren und auf genetisch bedingte Anomalien untersucht wurden. Unter 15.206 Ferkeln der Rasse Large White wurde für die Stellungsanomalie Spreizer eine Häufigkeit von 0,12 % aufgezeigt. Für Ferkel der Landrasse wurde eine Frequenz von 1,42 % ($n = 13.830$) ermittelt. Im weiteren stellte er Felddaten eines Untersuchungszeitraums von drei Jahren vor. Anhand von 15.230 Ferkeln verschiedener Rassen wurde eine durchschnittliche Befallsrate von 1,15 % verzeichnet. Für Kanada wurde eine Häufigkeit von 0,87 % Ferkeln, die an der Stellungsanomalie Spreizer erkrankten, angegeben (PARTLOW et al., 1993). Diese Ergebnisse resultierten aus einer Umfrage. Weiterhin vermerkten sie, daß Spreizferkel die häufigste Erkrankung darstellten.

Für die Bundesrepublik Deutschland ermittelte ALTHOFF (1985) eine Häufigkeit des Merkmals Spreizer für die Deutsche Landrasse von 0,93 %. STIGLER et al. (1991) fanden anhand von Daten aus der Anomalienprüfung in Bayern unter 46.772 Ferkeln einen Anteil von 1,3 % Ferkeln mit Anomalien inbegriffen 0,2 % Spreizferkeln. Nach dem Defekt Leisten- und Hodensackbrüche mit einer Häufigkeit über 40 % folgten Ferkel mit dem Spreizersyndrom und Kryptorchismus mit rund je 15 % ($n = 603$). Ebenfalls basierend auf Datenmaterial, zur Ermittlung eines Anomalienindex für Eber, die der künstlichen Besamung angeschlossen sind, konnte THALLER (1992) einen Anteil von 0,7 % Spreizferkeln unter 333.798 Ferkeln darstellen.

In Übersicht 1 sind die Häufigkeiten, denen Beobachtungen einzelner Bestände basierend auf betroffenen wie nicht betroffenen Würfeln zugrunde liegen, dargestellt. Die in der Literatur beschriebenen Häufigkeiten, resultierend aus bestandsübergreifenden Studien für betroffene wie nicht erkrankte Würfe, sind in Übersicht 2 zusammengefaßt. In Übersicht 3 werden die Häufigkeiten, welche aus Untersuchungen von nur betroffenen Würfeln berichtet wurden, wiedergegeben.

Übersicht 1: Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen aus einzelnen Beständen betroffener und nicht betroffener Würfe –

Ref.	Ferkel		Würfe		betroffene Ferkel/Wurf	Land
	betr. in % ^A	Anzahl	betr. in % ^A	Anzahl		
1	7,3	2.486	37	215	2,2	GB
2	11,0	1.285	38	116	3,3	AUS
3	6,2	23.888	30	634	–	DDR
4	7,5	9.201	21	942	1,4	DDR
5	3,9	9.754	–	1.086	–	F
6	1,0	14.535	–	1.443	–	AUS
7	5,5	2.224	–	238	–	AUS
8	0,3	3.636	–	–	–	USA
9	3,0	7.640	17	760	1,8	B

Ref. = Referenz: 1 = THURLEY et al. (1967); 2 = DOBSON (1968); 3 = HÖRÜGEL und LORENZ (1979); 4 = SCHNAPPERELLE und KOCH (1980); 5 = SELLIER und OLLIVIER (1982); 6 = MULLEY und EDWARDS (1984); 7 = SPICER et al. (1986); 8 = GARDNER et al. (1989); 9 = VAN DER HEYDE et al. (1989)

^A = prozentualer Anteil der vom Spreizersyndrom betroffenen Ferkel bzw. Würfe

– = keine Angaben

Übersicht 2: Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen bestandsübergreifend aus betroffenen und nicht betroffenen Würfen –

Ref.	Ferkel		Würfe		betroffene Ferkel/Wurf	Land
	betr. in % [^]	Anzahl	betr. in % [^]	Anzahl		
1	0,4	–	–	–	–	GB
2	0,9	–	–	–	–	D
3	1,2	15.230	–	–	–	GB
4	0,2	46.772	1	4.621	–	D
5	0,7	333.798	–	32.621	–	D
6	0,9	490	–	–	–	CDN

Ref. = Referenz: 1 = WARD (1978); 2 = ALTHOFF (1985); 3 = STEANE (1985); 4 = STIGLER et al. (1991); 5 = THALLER (1992); 6 = PARTLOW et al. (1993)

[^] = prozentualer Anteil der vom Spreizersyndrom betroffenen Ferkel bzw. Würfe

– = keine Angaben

Übersicht 3: Häufigkeiten des Spreizersyndroms bezogen auf Ferkel, Würfe, betroffene Ferkel pro Wurf und Land der Untersuchung. – Beobachtungen nur aus betroffenen Würfen –

Ref.	Ferkel		Würfe		betroffene Ferkel/Wurf	Land
	betr. in % [^]	Anzahl	betr. in % [^]	Anzahl		
1	19,4	–	100	46	2,2	D
2	22,0	19.800	–	–	–	DDR
3 a	32,9	246	85	27	3,0	DDR
3 b	21,2	268	56	27	2,1	DDR
4	25,3	3.166	100	294	2,7	SK

Ref. = Referenz: 1 = BOLLWAHN und KRUEWIG (1972); 2 = KÖHLER und SEFFNER (1975); 3 a + b = MAASS und SCHULZE (1979) a = Versuchsgruppe, b = Kontrollgruppe; 4 = TOMKO (1993)

[^] = prozentualer Anteil der vom Spreizersyndrom betroffenen Ferkel bzw. Würfe

– = keine Angaben

Die Frequenzen aus Beobachtungen von nur betroffenen Würfen sind mit rund 20 bis 33 % erwartungsgemäß um ein mehrfaches höher als die aus der gemeinsamen Betrachtung erkrankter sowie nicht betroffener Würfe, in denen die Häufigkeiten von 0,3 bis 11 % angegeben werden (Übersicht 1). In Übersicht 3 sind bewußt die Ergebnisse von MAASS und SCHULZE (1979) aufgenommen, da eine gezielte Anpaarung ehemals vom Spreizersyndrom betroffener Sauen stattgefunden hat. Bemerkenswert erscheint, daß in Studien über mehrere

Bestände, in denen betroffene und nicht erkrankte Würfe gemeinsam beobachtet wurden, eine Häufigkeit von 0,2 bis 1,2 % publiziert wurde und somit die niedrigsten Häufigkeiten wiedergeben werden (Übersicht 2). Da diese Daten zumeist der Auskunftsbereitschaft verschiedener Betriebsleiter unterliegen führte THALLER (1992) an, daß eine mögliche wissentliche Einflußnahme bestehen kann. Entsprechend der Angaben der meisten angeführten Autoren befinden sich innerhalb der betroffenen Würfe durchschnittlich 1,4 bis 3,3 Spreizferkel.

Direkte und indirekte Verluste unter Spreizferkeln

Die Angaben zur Mortalität und damit zu den direkten Verlusten, resultierend aus der Stellungsanomalie, variieren in einem Verhältnis von 20 bis 80 %. BOLLWAHN und KRUEWIG (1972) wiesen nach, daß eine signifikant niedrigere Verlustrate erreicht wird, wenn die Hintergliedmaßen bandagiert werden. Unbehandelte Ferkel zeigten eine Mortalität von rund 47 %, wohingegen behandelte Tiere eine Sterblichkeit von annähernd 18 % aufwiesen (n = 51 in beiden Gruppen). Neben den Verlustraten, welche aus Untersuchungen zum Merkmal Spreizer hervorgehen, existieren die schwieriger zu erfassenden und nicht eindeutig zu quantifizierenden indirekten Verluste. Im folgenden werden zuerst die direkten Verluste, nachfolgend die indirekten Verluste anhand der Literatur dargestellt.

WARD (1978) beschrieb die Verluste in Großbritannien mit etwa 50 %. Zu einem identischen Ergebnis kamen MULLEY und EDWARDS (1984) für Australien. Unter 152 betroffenen Ferkeln stellten sie eine Mortalitätsrate von 50 % fest. Nach einer Untersuchung von HÖRÜGEL und LORENZ (1979) wurde für einen betrachteten Betrieb der DDR eine Sterblichkeitsrate von 26 % beobachtet, dies machte 1,6 % der Verluste aller leb. geb. Ferkel aus. Es wurde erwähnt, daß während der Datenerhebung der Anteil p. p. gemerzter Spreizferkel von 8,1 % auf 2,9 % sank, nachdem der Belag des Fußbodens durch Verlegen von Gummimatten verändert wurde. SPICER et al. (1986) stellten einen Anteil von 24 % der Spreizferkel dar, die aufgrund des Syndroms vor dem Absetzen verendeten. Hingegen ermittelten sie unter nicht betroffenen Ferkeln eine Mortalitätsrate von 10 %. Der Anteil an Abgängen unter den leb. geb. Ferkel infolge der Spreizbeinigkeit wurde von ihnen mit 4,3 % angegeben. Nicht erwähnt wurde, ob eine unterstützende Behandlung der betroffenen Ferkel vorgenommen wurde. Anhand von Praxisdaten aus 24 holländischen Vermehrungsbetrieben mit durchschnittlich 100 Landrasse-Sauen beschrieben RAMBAGS und VAN IPEREN (1988) eine um 20 % gesteigerte Sterblichkeitsrate unter den Trägern der Stellungsanomalie gegenüber nicht betroffenen Ferkeln, wobei die Mortalitätsrate nicht erkrankter Ferkel nicht aufgeführt war. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen SVENDSEN und ANDRÉASSON (1980). Sie beschrieben, daß rund 20 % der Spreizferkel (Schwedische Landrasse) während der Aufzuchtperiode verendeten

(n = 120 Würfe). In einer Studie von MADERBACHER et al. (1993) wurden von insgesamt 18.021 auf einem Betrieb und innerhalb eines Jahres leb. geb. Ferkeln 362 Abgänge im Verlauf der ersten drei Lebenswochen infolge von Grätschbeinigkeit verzeichnet. Dies stellt einen Anteil von 2 % dar. Die Verluste unter den Spreizferkeln waren in der ersten Lebenswoche und innerhalb der ersten Woche am dritten Lebenstag am höchsten.

Eine Mortalität bis zum Zeitpunkt des Absetzens von etwa 80 % unter rund 380 Ferkeln der Rassen Piétrain und Large White mit der Stellungsanomalie im Vergleich zu einer Sterblichkeit von etwa 20 % der nicht erkrankten Tiere, resultierend aus 9.754 leb. geb. Ferkeln, beschreibt das mögliche Ausmaß der Verluste eindrucksvoll (SELLIER und OLLIVIER, 1982). In Übersicht 4 wird der Anteil der Verluste innerhalb der als Spreizferkel geborenen bzw. der Anteil an Abgängen unter den gesamt leb. geb. Ferkeln zusammengefaßt, sofern in den Quellen angegeben.

Übersicht 4: Mortalitätsrate aufgrund der Stellungsanomalie (in %) innerhalb der vom Spreizersyndrom betroffenen und unter leb. geb. Ferkeln

Ref.	Land	Mortalitätsrate in %	
		unter betroffenen Ferkel	unter leb. geb. Ferkeln
1	GB	50	–
2	DDR	26	1,6
3	S	20	–
4	F	80	3,1
5	AUS	50	–
6	AUS	24	4,3
7	NL	*20	–
8	A	–	2,0

Ref. = Referenz: 1 = WARD (1978); 2 = HÖRÜGEL und LORENZ (1979); 3 = SVENDSEN und ANDRÉASSON (1980); 4 = SELLIER und OLLIVIER (1982); 5 = MULLEY und EDWARDS (1984); 6 = SPICER et al. (1986); 7 = RAMBAGS und VAN IPEREN (1988); 8 = MADERBACHER et al. (1993)

– = keine Angaben

* = 20 % gesteigerte Mortalitätsrate gegenüber nicht betroffenen Ferkeln

GARDNER et al. (1989) ermittelten anhand der 7-Tage-Überlebensrate, daß die Stellungsanomalie Spreizer signifikant ($p < 0,0001$) mit der Überlebensrate korreliert war. Das Syndrom reduzierte ($p < 0,05$) die Wahrscheinlichkeit der Tiere zu überleben.

Nicht exakt zu quantifizieren sind die Verluste, welche indirekt wirken wie z.B. Sekundärinfektionen infolge von Hautabschürfungen am Beckenboden und an den Extremitäten (BOLLWAHN und KRUEWIG, 1972). Es wurde beschrieben, daß die Infektionsanfälligkeit erhöht ist, da bedingt durch die Motilitätsstörung weniger Kolostrum aufgenommen werden kann. Im weiteren findet ein Energieverlust sowie eine einhergehende Unterkühlung der betroffenen Ferkel statt (KÖHLER und SEFFNER, 1975; BERGMANN, 1976 b). Spreizferkel wiesen bis zum Absetzen, obwohl sie vier Tage p. p. keine Symptome der Stellungsanomalie mehr zeigten, eine signifikant niedrigere Wachstumsrate ($p < 0,05$) als nicht betroffene Ferkel auf (SPICER et al., 1986). PRANGE et al. (2001) beschrieben, daß genesene Spreizferkel bei vergleichbarem Geburtsgewicht zu gesunden Ferkeln den Entwicklungsrückstand bis zum Absetzen nur teilweise aufholen.

Unabhängig von der dargestellten Mortalität betroffener Ferkel stellen sich die nicht direkt quantifizierbaren Effekte als ein wesentlicher Faktor innerhalb des Verlustgeschehens dar. Es wurden in der Literatur keine Studien vorgefunden, welche über die Gewichtsentwicklung genesener Spreizferkel nach dem Absetzen berichteten. Nicht nur im Hinblick auf dieses einzelne Merkmal wäre eine Studie über einen längeren Zeitraum wünschenswert.

2.3.2 Haltungsbedingte und saisonale Einflüsse

Fußbodengestaltung und Haltungsformen

KÖHLER et al. (1969) variierten die Beschaffenheit des Fußbodens. Es wurden je vier Ferkel eines Wurfes für 18 h auf strohbedecktem Boden bzw. auf einem glatten Untergrund gehalten und nachfolgend histologisch untersucht. Innerhalb der auf glattem Boden gehaltenen Ferkel zeigten drei Ferkel Symptome, die denen von Spreizferkeln glichen, alle anderen entwickelten sich normal. Im histologischen Bild zeigte sich, daß diese Stellungsanomalie auf einer Streckung der Adduktoren beruhte und Blutungen im *Ligamentum teres femoris* (Band des Hüftgelenkes) auftraten. Diese Symptome wurden nicht auf das Vorliegen der myofibrillären Hypoplasie zurückgeführt. VAN DER HEYDE et al. (1989) verglichen Daten zweier Abferkelbereiche. Sie konnten signifikant ($p < 0,01$) weniger Spreizferkel auf einem zementierten Fußboden verzeichnen als auf Spaltenböden. Zwischen Betonspaltenboden und Plastikspaltenboden mit gleitsicherem Plastikbelag konnten sie keine signifikanten Unterschiede aufzeigen.

Anhand einer Untersuchung von drei verschiedenen Abferkelsystemen (Abferkelbucht mit Anbindestand, Abferkelbucht modifiziert und freilaufend) konnten SVENDSEN und ANDRÉASSON (1980) keine signifikant verschiedenen Häufigkeiten für Spreizferkel darstellen. IBEN (1989) stellte in seinem Datenmaterial einen signifikanten Einfluß ($p < 0,01$) der Gruppengröße trächtiger Sauen fest. Wurden mehr als 10 gravide Sauen ($n = 60$) in einer Gruppe gehalten, trat das Syndrom Spreizer häufiger auf als innerhalb von Betrieben, die kleinere Gruppen aufwiesen ($n = 45$).

Diese Beispiele zeigen, daß in der Literatur keine Einigkeit dahingehend herrscht, daß gleitsichere Böden und Haltungssysteme der Sauen einen signifikanten Effekt auf die Erscheinung des Syndroms haben. Es erscheint weiterhin unklar, ob bei der klinischen Diagnose tatsächlich am Spreizersyndrom erkrankte Ferkel erfaßt worden sind oder ob es sich hierbei um Tiere handelte, die traumatische Schädigungen aufgewiesen haben.

Saisonale Effekte

Der erste Bericht, in dem eine Interaktion der Saison mit dem Auftreten des Spreizersyndroms beschrieben wurde, stammt von MEHLHORN et al. (1970). Die Autoren beobachteten, daß in einen Bestand von 60 Sauen innerhalb von drei Wochen in der Periode Mai-Juni nahezu in allen Würfen Spreizferkel auftraten. Hierbei wurde jedoch deutlich hervorgehoben, daß an die Sauen in der Frühgravidität, „verschimmelte“ Silage verabreicht wurde. Zu differenzierteren Ergebnissen kamen VAN DER HEYDE et al. (1989). Basierend auf 760 Würfen, die während eines achtjährigen Zeitraums geboren wurden, zeigten sie anhand einer Zeitreihen-Analyse, daß eine jahreszeitlich bedingte Variation des Anteils an Spreizferkeln auftrat. Sie verzeichneten eine höhere Frequenz Spreizerwürfe in den Perioden Oktober-Januar und April-Mai als in den verbleibenden Monaten des Jahres. Diese Feststellung konnten sie durch einen Vergleich mit einem zweiten Betrieb mit 470 betrachteten Würfen innerhalb einer Zwei-Jahres-Periode bestätigen. Die prozentuale Häufigkeit von Würfen mit Spreizferkeln sank und stieg für aufeinanderfolgende Monate nahezu identisch auf beiden Betrieben ($p = 0,066$). SELLIER et al. (1999) stellten anhand eines zwölfjährigen Beobachtungszeitraums einen Jahr-Saison-Effekt fest, konnten aber keinen beständigen Einfluß der Saison über die Jahre nachweisen. In einer Studie von MADERBACHER et al. (1993) traten genetisch bedingte Verlustursachen, worunter Ferkel mit dem Syndrom Spreizer gezählt wurden, am häufigsten zwischen den Monaten Dezember und Februar auf.

Anhand der aufgeführten Literatur kann ein einheitliches Bild für einen saisonalen Effekt nicht dargestellt werden. Es deuten sich Hinweise dafür an, daß innerbetrieblich saisonale Effekte auftreten. Die zugrunde liegenden Ursachen können jedoch verschiedener Natur sein.

Insbesondere eine mögliche Belastung der Futtermittel mit Mykotoxinen sollte abgeklärt werden.

2.3.3 Zusammenhang mit Reproduktionsparametern der Sauen

Einfluß der Trächtigkeitsdauer und der Wurfnummer der Sau

BÖLCSKEI et al. (1996) berichteten, daß die Partusinduktion nicht vor dem 113. Trächtigkeitstag durchgeführt werden sollte. Die Autoren publizierten, daß Sauen (Edelschwein, veredeltes Landschwein und deren Kreuzungen) die am 112. Trächtigkeitstag mit einem Prostaglandin-Analogen ($\text{PGF}_{2\alpha}$, einmalige Gabe von 3 mg i. m.) behandelt wurden, signifikant ($p < 0,05$) mehr Spreizferkel gebären als Sauen, bei denen dies entsprechend am 113. sowie am 114. ($p < 0,01$) Trächtigkeitstag geschah. Eine unbehandelte Kontrollgruppe zeigte lediglich zu den am 112. Trächtigkeitstag behandelten Sauen signifikant weniger Spreizferkel ($p < 0,05$). Alle untersuchten Gruppen gebären eine annähernd gleiche Anzahl Ferkel lebend. In einer Studie von SELLIER et al. (1999) wurde die Beziehung zwischen der Trächtigkeitsdauer und dem Auftreten des Syndroms Spreizer anhand von künstlich induzierten Geburten mit $n = 209$ (mittels eines Analogon von Prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$; einmalig 150 μg i. m.) sowie Geburten ohne medikamentöse Behandlung untersucht ($n = 253$). Rund zwei Drittel der Behandlungen fanden am 111. und 112. Trächtigkeitstag statt. Ein signifikanter Einfluß zwischen behandelten und unbehandelten Sauen (Large White und Piétrain) in bezug auf das Merkmal Spreizer konnte nicht dargestellt werden. Einen signifikanten Einfluß ($p < 0,001$) hatte in beiden untersuchten Gruppen die Dauer der Trächtigkeit auf das Syndrom Spreizer, wobei Piétrain-Sauen stärker mit vermehrten Spreizerwürfen auf eine verkürzte Gravidität reagierten als Large-White-Sauen.

Eine um 0,9 Tage verkürzte Trächtigkeitsdauer ($p < 0,01$) für betroffene Würfe (Large White und Piétrain) stellten SELLIER und OLLIVIER (1982) fest. Ihre Interpretation war, daß diese verkürzte Trächtigkeitsdauer die These untermauert, daß eine neuromuskuläre Unreife der Föten mitverantwortlich für die Ausprägung der Erkrankung sei. Zu weniger deutlichen Ergebnissen kamen VAN DER HEYDE et al. (1989) auf Basis von F1-Sauen (Belgische Landrasse x Holländische Large White) ohne Angabe der Eberrasse. In ihrer Untersuchung betrug die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer betroffener Würfe ($n = 130$) 114,9 Tage und die nicht betroffener Würfe 114,5 Tage ($n = 630$). Ein signifikanter Unterschied bezogen auf die Dauer der Trächtigkeit konnte nicht dargestellt werden.

SPICER et al. (1986) führten eine Untersuchung zu Mortalitätsursachen anhand von Kreuzungssauen (Landrasse x Large White und Eber der Rassen Large White, Landrasse und Kreuzungsebern dieser Rassen) durch. Es wurde für Sauen, die sich in höheren Wurfnummern befanden, eine statistisch gesicherte ($p < 0,05$) höhere Frequenz des Syndroms (0,8 Ferkel pro Wurf) gezeigt als für Jungsauen (0,1/Wurf). Diese Unterschiede konnten nicht in Zusammenhang mit umweltbedingten Effekten gebracht werden. RAMBAGS und VAN IPEREN (1988) fanden in ihrem Datenmaterial eine Tendenz, daß Sauen in der 5. Trächtigkeit mehr Ferkel mit der Stellungsanomalie gebären als Sauen in der 6. Trächtigkeit. Signifikante Differenzen bezüglich des Anteils an Ferkeln mit dem Syndrom Spreizer zwischen Erstlings- und Altsauen wurden nach THURLEY et al. (1967), HÖRÜGEL und LORENZ (1979), VAN DER HEYDE et al. (1989) sowie IBEN (1989) nicht gefunden.

Im Gegensatz zu den genannten Studien schilderten GEIPEL et al. (2000) anhand von 152 Würfen innerhalb Primapara und 399 Würfen von Multipara ([Deutsches Edelschwein x Deutsche Landrasse] x Piétrain), daß die Jungsauen bezüglich des Anteils an Spreizerferkeln im Mittel über den Altsauen lagen. Eine ähnliche Beobachtung wurde erstmals von DOBSON (1968) erwähnt. Er beschrieb bei dem Einsatz von Erstlings-sauen der Landrasse, daß der Anteil Spreizerferkel sprunghaft anstieg und die Anzahl abgesetzter Ferkel drastisch sank.

Wurfgröße

MAASS und SCHULZE (1979) beobachteten, daß Würfe, in denen Spreizer vorkamen ($n = 416$), um 2 bis 3 leb. geb. Ferkel größer waren als Würfe ohne Spreizerferkel ($n = 140$). Basierend auf 942 Würfen konnten SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) darstellen, daß Würfe mit Trägern der Stellungsanomalie mit durchschnittlich 10,23 Ferkeln um 0,62 Ferkel größer waren als nicht betroffene Würfe. Diese Differenz erreichte jedoch nicht die Signifikanzschwelle ($\alpha = 0,05$). SELLIER und OLLIVIER (1982) wiesen eine um 1,5 Ferkel signifikant erhöhte Wurfgröße ($p < 0,01$) anhand von 1.086 beobachteten Würfen in ihrem Datenmaterial nach. Nach VAN DER HEYDE et al. (1989) traten Spreizerferkel signifikant weniger ($p < 0,05$) in Würfen mit einer Größe von ≤ 8 Ferkeln auf als in Würfen mit einer Größe von ≥ 9 Ferkeln. Die durchschnittliche Anzahl Ferkel in den betroffenen Würfen wurde mit 11 Ferkeln angegeben. Die Größe der Würfe ohne Spreizerferkel lag bei durchschnittlich 9,8 Ferkeln. Dagegen fand TOMKO (1993), daß innerhalb einer Eber-Linie signifikant ($p < 0,01$) mehr erkrankte Ferkel in kleinen Würfen als in großen Würfen auftraten. Dieser Effekt trat in einer parallel untersuchten Linie jedoch nicht auf. Insgesamt zeigten sich die betroffenen Würfe um durchschnittlich 1,5 Ferkel größer.

Aus der These, daß ein intrauterines Absterben homozygoter Föten innerhalb der Würfe mit Anomalien vorliegt (STIGLER et al., 1991), würde folgen, daß die Größe betroffener Würfe verglichen mit Würfen ohne Anomalien geringer sein müßte. Diese Beobachtung kann für das Merkmal Spreizer anhand der Literatur nicht wiedergegeben werden.

Geburtsgewicht

In einer Studie von HÖRÜGEL und LORENZ (1979) wurden 6.252 Ferkel am Tag der Geburt gewogen. Die Autoren ermittelten, daß Ferkel mit dem Syndrom Spreizer durchschnittlich 0,2 kg leichter waren als nicht spreizende Ferkel unter Berücksichtigung, daß die spreizenden Ferkel aufgrund ihrer Motilitätsstörung überwiegend nüchtern gewesen sein könnten. RAMBAGS und VAN IPEREN (1988) stellten dar, daß Ferkel, die mit einem Gewicht von weniger als 1.200 g geboren wurden, häufiger das Syndrom Spreizer zeigten als schwerere. Ein signifikant niedrigeres Geburtsgewicht ($p < 0,05$) innerhalb der Träger der Stellungsanomalie ($n = 467$) hatte auch IBEN (1989) dargestellt. Die untersuchten Tiere waren im Durchschnitt 98 g leichter als gesunde Ferkel des gleichen Wurfes, jedoch traten auch unter den Ferkeln mit normalem Gewicht Spreizferkel auf. VAN DER HEYDE et al. (1989) stellten fest, daß Spreizferkel signifikant ($p < 0,01$) 120 g leichter waren als ihre nicht betroffenen Wurfgeschwister. In erkrankten Würfen wurde ein durchschnittliches Geburtsgewicht von 1,54 kg ($n = 952$) und 1,52 kg in den nicht betroffenen Würfen ($n = 411$) festgestellt. Eine weitere Differenzierung des Geburtsgewichtes in männliche und weibliche Nachkommen wurde von VOGT et al. (1984) vorgenommen. Es konnte gezeigt werden, daß innerhalb der männlichen betroffenen ($p < 0,01$; $n = 867$) und innerhalb der weiblichen erkrankten Ferkel ($p < 0,05$; $n = 789$) signifikant niedrigere Geburtsgewichte auftraten als im Vergleich zu den nicht betroffenen Tieren.

Totgeburtenrate

Eine signifikante Differenz ($\alpha = 0,05$) im Anteil an Totgeburten zwischen Würfen mit Spreizferkeln (9,5 %, $n = 416$) und Würfen ohne Ferkel mit der Stellungsanomalie (4,5 %, $n = 140$) stellten MAASS und SCHULZE (1979) dar. Als eine mögliche Erklärung vermuteten sie, daß bei Ferkeln mit der Stellungsanomalie die Geburt durch eine verminderte Eigenbewegung langsamer verläuft als bei gesunden Tieren. SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) konnten einen geringfügig höheren, jedoch nicht signifikanten Anteil an Totgeburten in Würfen mit Spreizferkeln zeigen. Der Anteil an Totgeburten innerhalb der Würfe mit Spreizern lag bei 2,5 % ($n = 2.046$), innerhalb der nicht betroffenen Würfe bei 2,2 % ($n = 7.338$).

2.3.4 Geschlechtsdisposition der Spreizferkel

Generell können von dem Spreizersyndrom beide Geschlechter betroffen werden. Für männliche Ferkel kann anhand der Literatur ein deutlicher Effekt, daß sie überdurchschnittlich häufig betroffen sind, dargestellt werden.

LAX (1971) berichtete von einem Experiment, bei dem innerhalb von 60 Nachkommen ein ausgeglichenes Geschlechtsverhältnis unter den leb. geb. Ferkeln (30 : 30) gefunden wurde. Innerhalb der 30 männlichen Ferkel zeigten 16 (53 %) das Syndrom Spreizer, weibliche Ferkel waren nicht betroffen. Ein zugunsten der männlichen Ferkel verschobenes Verhältnis von 2 : 1 (Quotient aus Anzahl männlicher Tiere zu Anzahl weiblicher Tiere) haben SCHNAPPERELLE und KOCH (1980) mit $n = 691$, SELLIER und OLLIVIER (1982) ($n = 380$; $p < 0,001$) sowie VAN DER HEYDE et al. (1989) ($n = 163$) dargestellt. Dieses Verhältnis entspricht im wesentlichen dem von VOGT et al. (1984), welche einen signifikanten ($p < 0,001$) Frequenzunterschied von 1,74 : 1 (männlich zu weiblich) mit $n = 273$ betroffenen Ferkeln beschrieben haben. Auf gleichem Signifikanzniveau fanden SELLIER et al. (1999) eine höhere Erkrankungshäufigkeit für das männliche Geschlecht mit $n = 888$. Trotz des erhöhten Anteils männlicher betroffener Ferkel kam es jedoch nicht zu einer Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses innerhalb der betroffenen Würfe. Ein erhöhtes Verhältnis von 1,5 : 1 (männlich zu weiblich) beschrieben RAMBAGS und VAN IPEREN (1988) ohne Angabe der Tierzahlen. STIGLER (1990) konnte anhand von 10 betroffenen Würfen ein Verhältnis von 1,44 : 1 darstellen ($p < 0,001$) und nahm ein bevorzugtes Absterben weiblicher homozygoter Föten an.

Neben der weitgehenden Übereinstimmung innerhalb der Literatur konnten MAASS und SCHULZE (1979) keinen Geschlechtsunterschied feststellen ($n = 380$), wobei nicht angegeben war, wie hoch die Anzahl männlicher und weiblicher Ferkel unter den betroffenen wie auch unter den gesamt geborenen Ferkeln war. IBEN (1989) konnte in einem Fütterungsexperiment ebenfalls keine signifikante Geschlechtsdisposition darstellen. Aufgrund seiner geringen Tierzahl ($n = 223$) maß er vorhergehenden Beobachtungen anderer Autoren ein größeres Gewicht zu. Ein Verhältnis von 1,2 : 1 ($n = 802$) männlicher zu weiblicher Spreizferkel stellte TOMKO (1993) dar. Jedoch erreichte diese Differenz nicht die Signifikanzschwelle ($p > 0,05$). In Übersicht 5 ist das in der Literatur gesichtete Geschlechtsverhältnis wiedergegeben. Aufgrund der Art der Untersuchungen lagen nicht für alle Studien vergleichende Anzahlen des Geschlechtsverhältnisses der leb. geb. Ferkel vor.

Übersicht 5: Geschlechtsverhältnis innerhalb Würfe mit Spreizferkeln, Anzahl Spreizferkel und Anzahl männlicher und weiblicher leb. geb. Ferkel

Ref.	Geschlechtsverhältnis der Spreizferkel		Anzahl leb. geb. Ferkel ^A	
	männlich : weiblich	Anzahl	männlich	weiblich
1	nur männliche	16	30	30
2	2,0	691	–	–
3	2,0	380	–	–
4	1,7	273	4.411	4.148
5	1,5	–	–	–
6	2,0	163	691	645
7	1,7	888	9.849	9.463
8	1,2	223	–	–
9	1,2	802	–	–

Ref. = Referenz: 1 = LAX (1971); 2 = SCHNAPPERELLE und KOCH (1980); 3 = SELLIER und OLLIVIER (1982); 4 = VOGT et al. (1984); 5 = RAMBAGS und VAN IPEREN (1988); 6 = VAN DER HEYDE et al. (1989); 7 = SELLIER et al. (1999); 8 = IBEN (1989); 9 = TOMKO (1993)

^A = inbegriffen Würfe mit Spreizferkeln und nicht betroffene Würfe

– = keine Angaben

Auf Basis der Literaturangaben kann für die betroffenen Ferkel ein durchschnittliches Geschlechtsverhältnis von 1,5 bis 2 : 1 zugunsten des männlichen Geschlechts dargestellt werden, wenngleich einige Autoren (MAASS und SCHULZE, 1979; IBEN, 1989; TOMKO, 1993) eine ausgeglichene Verteilung vorgefunden haben.

Diese Beobachtung führt zu der Annahme, daß männliche Ferkel ein erhöhtes Risiko aufweisen, von dem Spreizersyndrom betroffen zu werden, da innerhalb der betroffenen Würfe für Spreizferkel und nicht betroffene Vollgeschwister eine annähernd gleichmäßige Geschlechtsverteilung vorgefunden wurde (SELLIER und OLLIVIER, 1982; VOGT et al., 1984; VAN DER HEYDE et al., 1989; SELLIER et al., 1999). Diese Feststellung spricht gegen die These, daß ein intrauterines Absterben homozygoter Föten, insbesondere der weiblichen, für die Anomalie Spreizer angenommen werden kann (STIGLER et al., 1991), da daraus folgen würde, daß das Geschlechtsverhältnis verändert wäre. STIGLER et al. (1991) beschrieben, daß das Geschlechtsverhältnis in Würfen mit Anomalien mit einem Anteil von 61,5 % zugunsten der männlichen Tiere verschoben ist. Innerhalb der aufgeführten Literatur konnte eine derartige Häufigkeitsverschiebung für das Syndrom Spreizer nicht festgestellt werden.

2.3.5 Ernährungsbedingte Einflußfaktoren und experimentell ausgelöste Formen des Merkmals

Ernährung der Sau während der Trächtigkeit

Wie in Abschnitt 2.2 beschrieben, wurde eine unzureichende Versorgung gravider Sauen mit Cholin als Ursache für das Auftreten der Stellungsanomalie Spreizer diskutiert (CUNHA, 1968; DOBSON, 1971; STOCKLAND und BLAYLOCK, 1974; GRANDHI und STRAIN, 1981; LUCE et al., 1986; MAXWELL et al., 1987). Einigkeit herrschte bei den Autoren, daß die Reproduktionsleistung gravider Sauen bei einer ungenügenden Versorgung mit Cholin gemindert ist. Wohingegen sich lediglich CUNHA (1968 und 1972) für einen signifikanten Zusammenhang der Cholinsupplementierung in der Ration und dem Auftreten des Syndroms aussprach, was die anderen Autoren ausdrücklich ablehnten. IBEN (1989) bestätigte eine signifikante Differenz der Cholinsupplementierung zwischen Betrieben mit Spreizerferkeln und Betrieben ohne erkrankte Tiere. In Betrieben ohne Spreizer erhielten Sauen bis 200 kg Körpergewicht 542 mg täglich. In Betrieben, in denen Spreizerferkel vorkamen, 392 mg. Jedoch erfolgte eine Supplementierung der Rationen in 76 % (n = 97) der Betriebe mit Trägern der Stellungsanomalie und nur in 44 % der spreizerferkelfreien Betriebe (n = 70). Aus dieser Tatsache heraus konnte das Vorkommen des Spreizersyndroms nicht in einer mangelnden Substitution der Ration mit Cholin begründet sein. Eine therapeutische Maßnahme durch eine Erhöhung des Cholingehaltes in der Ration kann insofern nicht begründet werden, wenngleich aber weitere Produktionsmerkmale gravider Sauen günstig beeinflußt werden können.

Im weiteren wurde ein Energiemangel in der Ration gravider Sauen als Ursache für die Stellungsanomalie Spreizer angenommen. Untersucht wurde, inwiefern sich eine Versorgung auf einem niedrigen Energieniveau (21,5 MJ/Sau und Tag) gegenüber einem höheren Niveau (28,1 MJ/Sau und Tag) während der letzten acht Wochen der Trächtigkeit auf das Symptom Spreizer in den Nachkommen auswirkt. Innerhalb der Sauen des niedrigen Energieniveaus zeigten signifikant mehr Ferkel das Symptom Spreizer ($p < 0,05$) als Ferkel der Sauen des höheren Niveaus (NABUURS und VAN DER MOLEN, 1986). In einem Fütterungsexperiment von MÜLLER und KIRCHGESSNER (1986), bei dem gravide Sauen auf einem niedrigen Energieniveau von 21,7 MJ umsetzbare Energie (ME) pro Sau und Tag sowie auf einem Niveau von 26,5 MJ ME pro Sau und Tag gehalten wurden, konnte das Auftreten von Trägern der Stellungsanomalie nicht beobachtet werden. Erst nach zwei aufeinanderfolgenden Trächtigkeiten mit niedriger Energieversorgung wurden vermehrt Totgeburten bzw. eine Verminderung der Wurf- und Einzelgewichte der gesamt geborenen Ferkel festgestellt.

In einer Untersuchung zum Einfluß der Fütterung auf das Vorkommen der Stellungsanomalie anhand von Praxisbetrieben konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der durchschnittlichen Energieaufnahme von Sauen mit Spreizferkeln vs. Sauen ohne Ferkel mit dem Syndrom festgestellt werden (IBEN, 1989). Es wurden die Sauen bis 200 kg in Betrieben mit Spreizferkeln auf einem um 0,2 MJ ME (28,1 vs. 27,9 MJ ME) höheren Energieniveau gefüttert als in Betrieben ohne Träger des Syndroms. Einen signifikanten Einfluß zeigte hier die Supplementierung der Ration mit den Vitaminen B₁, B₂ und B₆ für Sauen unter 200 kg Körpergewicht. Sauen in spreizferkelfreien Beständen erhielten 0,6 mg mehr Vitamin B₁ (4,7 mg), 1,6 mg mehr Vitamin B₂ (12,8 mg) und 0,9 mg mehr Vitamin B₆ (6,5 mg) täglich. Eine marginale Versorgung der Sauen mit diesen Vitaminen wurde als ein begünstigender Faktor für das Auftreten von Spreizferkeln angesehen.

MILLER et al. (1973) beobachteten in England zwei massive Einbrüche bezüglich der Wurfleistung gravider Sauen der Landrasse. Es traten vermehrt kleine Würfe auf mit einer Vielzahl Spreizferkeln sowie einer hohen Mortalität. Die Sauen zeigten eine Schwellung des Gesäuges und der Vulva. Zurückgeführt wurde diese Erscheinung auf Futtermittel, die mit Mykotoxinen, insbesondere Zearalenon, belastet waren. Eine histologische Untersuchung der Spreizferkel konnte nicht das von THURLEY et al. (1967) beschriebene Bild bestätigen. Diese Spreizferkel ließen keine hypoplastischen Myofibrillen erkennen. Zearalenon (Synonym: F2-Toxin) gehört zu den wichtigsten Mykotoxinen und wird im Rahmen des Sekundärstoffwechsels von verschiedenen Fusarien, hauptsächlich *Fusarium roseum*, *Fusarium graminearum* und *Fusarium roseum-graminearum* sowie *Gibberella zeae* gebildet (REICH, 1998). VÁNYI et al. (1994) beschrieben, daß Zearalenon einen maßgebenden Hemmfaktor der Ovulation, Konzeption, Implantation und der fötalen Entwicklung darstellt. Ein um 24 % signifikant verringertes Gesamtgewicht ($p < 0,001$) der Föten von Erstlingssauen, die mit Zearalenon gefüttert wurden, sowie eine sehr heterogene Gewichtsverteilung innerhalb der Föten stellten ETIENNE und JEMMALI (1982) fest. Die Wirkung des Zearalenons auf den tierischen Organismus ist der des Östrogens vergleichbar, und obwohl Zearalenon keine steroidale Struktur besitzt, kommt es zur Bindung an die Östrogenrezeptoren (GREENMAN et al., 1979). Verfüttert an trächtige Sauen steigerte es den Anteil an Aborten und Totgeburten, verringerte die Überlebensfähigkeit der Ferkel und förderte das Auftreten von Spreizferkeln signifikant (VÁNYI et al., 1994). Diese Feststellungen wurden von ALEXOPOULOS (2001) bestätigt, nachdem unter experimentellen Bedingungen mit den Mykotoxinen Deoxynivalenol (779 µg/kg) und Zearalenon (59 µg/kg) kontaminiertes Getreide an gravide Kreuzungssauen aus Large White und Landrasse verfüttert wurde. Im weiteren wurde gefolgert, daß zwischen diesen beiden Mykotoxinen eine

synergetische Wirkung stattgefunden hat, da ein derartiger Effekt für Deoxynivalenol bisher nicht beschrieben wurde.

Experimentell ausgelöste Formen des Syndroms Spreizer

Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurde bisher der Versuch unternommen, experimentell das Spreizersyndrom auszulösen. Hierbei wurden verschiedene Ansätze und Techniken gewählt, die in Übersicht 6 zusammengefaßt werden.

Wie in Abschnitt 2.3.2 dargestellt, führten KOHLER et al. (1969) ein Experiment an Ferkeln durch, bei welchem die Beschaffenheit des Fußbodens variiert wurde. Drei von vier Ferkeln, die auf glattem Untergrund gehalten wurden, zeigten Symptome, die denen von Spreizferkeln glichen. Es wurde jedoch festgestellt, daß das klinische Bild nicht auf das Vorliegen der myofibrillären Hypoplasie zurückzuführen war, bei diesen Ferkeln zeigte sich eine Streckung der Adduktoren.

In einer Studie von JIRMANOVÁ und LOJDA (1985) wurde unter experimentellen Bedingungen das synthetische Glukokortikoid Dexamethason vom ersten bis zum letzten Tag der Trächtigkeit (1,5 mg, zweimal täglich) oral an Minischweine verabreicht. Innerhalb der Versuchsgruppe zeigten 70 von 80 leb. geb. Ferkeln klinisch das Syndrom Spreizer. Morphologische Untersuchungen zeigten die typischen Veränderungen an den Muskelfasern (Abschnitt 2.4). Darüber hinaus wurden degenerative Veränderungen der Muskulatur festgestellt. Die Autoren folgerten, daß es sich bei dem Syndrom Spreizer um eine glukokortikoide Myopathie handelt, verursacht durch hormonelle Störungen. DUCATELLE et al. (1986) berichteten von einem Experiment, bei dem während der letzten sieben Tage der Gravidität je 100 mg Dexamethason (alle 24 h; i. m.) an Sauen der Belgischen Landrasse verabreicht wurde. Auf diesem Wege konnte eine Myopathie erzeugt werden, welche der myofibrillären Hypoplasie glich. Jedoch hatte keines der betroffenen Ferkel klinische Symptome des Beinspreizens gezeigt. Das Syndrom Spreizer erschien in ihrer Studie nicht identisch zu einer glukokortikoiden Myopathie, wie es von JIRMANOVÁ (1983) sowie von JIRMANOVÁ und LOJDA (1985) vorgeschlagen wurde.

Als Mittel der Wahl zur Bekämpfung der porcinen Toxoplasmose wird in Japan Pyrimethamin eingesetzt. Im humanen Bereich wird es u. a. zur Bekämpfung von Malariaerkrankungen verwendet. Eine Kontraindikation besteht während der Schwangerschaft sowie bei der megaloblastären Anämie. Es handelt dabei sich um umgewandelte Erythroblasten infolge Vitamin-B₁₂- oder Folsäuremangel (URL 1). Pyrimethamin greift in die Synthese der Folsäure ein, indem der zweite Schritt der

Folsäurebildung, nämlich die Reduktion der Dihydrofolsäure mittels des Enzyms Dihydrofolsäurereduktase zu Tetrahydrofolsäure, welches die eigentlich wirksame Form der Folsäure darstellt, gehemmt wird. YAMAMOTO et al. (1984) stellten eine hohe Neomortalität bei Göttinger Miniaturschweinen fest, nachdem ihnen Pyrimethamin verabreicht wurde. Als Todesursache nahmen sie eine muskuläre Funktionsstörung an, die dem beschriebenen Bild der Spreizferkel ähnelte. In einem Fütterungsexperiment gelang es OHNISHI et al. (1989) mittels oraler Gaben von 120 ppm (3,6 mg/kg Lebendgewicht pro Tag) dem Futter beigesetzten Pyrimethamins das Spreizersyndrom bei Göttinger Miniaturschweinen auszulösen. Histologische Parameter erschienen nicht eindeutig, da keine signifikanten Unterschiede im Ausprägungsgrad der myofibrillären Hypoplasie zwischen gesunden und betroffenen Ferkeln festgestellt werden konnten. Das Vorkommen des Spreizersyndroms sowie der Anteil an Totgeburten war in der Sauengruppe, welcher Pyrimethamin verabreicht wurde, signifikant erhöht im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Es zeigten 20 von 27 leb. geb. Ferkeln die Stellungsanomalie, hingegen trat in der Kontrollgruppe nur ein Spreizferkel unter 18 leb. geb. auf. Insgesamt wurden in der Versuchsgruppe 59 Ferkel geboren, von denen 32 Totgeburten waren. In der Kontrollgruppe gab es 3 Totgeburten bei 21 Ferkeln. Es wurde gefolgert, daß Pyrimethamin, verabreicht während der frühen Organogenese, neben Zearalenon (MILLER et al., 1973) und Dexamethason (DUCATELLE et al., 1986), verabreicht in der fötalen Periode, als Ursache des Syndroms Spreizer angesehen werden kann.

Übersicht 6: Experimentell ausgelöste Formen des Spreizersyndroms

Ref.	Verfahren/Wirkstoff	Resultat/Hypothese
1	Bodenbeschaffenheit variiert	<ul style="list-style-type: none"> • Abspreizen der Gliedmaßen trat auf • keine myofibrilläre Hypoplasie
2	Dexamethason *	<ul style="list-style-type: none"> • Erscheinungsbild gleicht dem klassischen Spreizersyndrom • bei Spreizferkeln handelt es sich um eine glukokortikoide Myopathie
3	Dexamethason *	<ul style="list-style-type: none"> • myofibrilläre Hypoplasie ohne klinische Symptome • Spreizersyndrom ist nicht identisch mit glukokortikoider Myopathie
4	Pyrimethamin *	<ul style="list-style-type: none"> • steigerte signifikant das Auftreten von Spreizferkeln ($p < 0,05$)

Ref. = Referenz: 1 = KOHLER et al. (1969); 2 = JIRMANOVÁ und LOJDA (1985); 3 = DUCATELLE et al. (1986); 4 = OHNISHI et al. (1989)

* = verabreicht an Sauen, je nach Medikament in verschiedenen Trächtigkeitsstadien

Ein Energiemangel sowie eine unzureichende Versorgung gravider Sauen mit Cholin wurde in der Literatur diskutiert. Es konnte jedoch für beide Ursachen kein einheitlicher unmittelbarer Bezug zum Merkmal aufgezeigt werden. Gesichert scheint, daß Mykotoxine und Pyrimethamin, verabreicht an Sauen in der Gravidität, ein klinisches Bild hervorrufen, welches dem des Spreizersyndroms gleicht. Bei der Verabreichung von Dexamethason ist dies nicht durchgängig bestätigt worden. Die Tatsache, daß sich das Syndrom experimentell auslösen läßt, spricht für die Existenz von Phänokopien. Dies sind exogene, nicht-erbliche Modifikationen, die zur Nachbildung des Phänotyps eines z. B. mutierten Genotyps führen.

2.4 Histologische und biochemische Untersuchungen des Merkmals

2.4.1 Histologische und strukturelle Veränderungen der Muskulatur

Als Charakteristikum für die Stellungsanomalie wurde ein im Grad variabler Mangel an Myofibrillen in den Muskelfasern der Hinterextremitäten und zum Teil in der Rumpf- und der Vorderhandmuskulatur festgestellt. Die Myofibrillen waren kleiner und innerhalb der Fasern randständig angeordnet. Dadurch resultierte eine Vergrößerung des extramyofibrillären Raumes (THURLEY et al., 1967; THURLEY und DONE, 1969). Diese Beobachtung hat zu der Bezeichnung des Syndroms mit dem Namen „*congenital myofibrillar hypoplasia*“ geführt (THURLEY et al., 1967). Basierend auf 18 untersuchten Muskeln befanden die Autoren, daß am stärksten der *Musculus semitendinosus* (Oberschenkelmuskulatur) betroffen war. Von den Muskeln der Vorderextremitäten und des Rumpfes waren am häufigsten der *M. triceps brachii* und der *M. longissimus dorsi* betroffen. Im weiteren wurde eine wäßrige und schlaffe Beschaffenheit der Extremitätenmuskeln von Spreizferkeln festgestellt. Die Muskelspindeln der Vorderhand entwickeln sich zu einem früheren Zeitpunkt als die der Hinterhand. Ätiologisch könnte dies bedeutsam sein, da das Spreizen überwiegend die Hinterextremitäten betrifft (SWATLAND, 1974). Nach elektronenmikroskopischen Befunden von DEUTSCH und DONE (1971) entsprechen die Muskelfasern von Spreizferkeln denen etwa 80 Tage alter Schweineföten. Die Myofibrillen waren kleiner als bei nicht betroffenen Ferkeln und wiesen häufiger Aufsplitterungen auf. Geschlechtsspezifische Unterschiede betroffener Ferkel im Ausprägungsgrad der myofibrillären Hypoplasie wurden nicht gefunden (WARD und BRADLEY, 1980).

Grundsätzlich weisen Skelettmuskelzellen eine Länge bis zu mehreren Zentimetern und einen Durchmesser von 9 bis 100 µm auf. Embryonal entstehen sie aus Myoblasten, die sich bei der quergestreiften Muskulatur reihenförmig hintereinander anordnen, miteinander verschmelzen

und so vielkernige, synzytiale Zellverbände bilden. Nach außen wird jede Muskelfaser von einer Einheitsmembran (Sarkolemm) begrenzt. Im Inneren, d.h. im mitochondrienreichen Sarkoplasma, enthält sie als kontraktile Elemente die Myofibrillen. Dies sind Bündel dicht gepackter Myofilamente, die in zwei Typen auftreten: als dünne Actin- und dicke Myosin-Filamente (WEHNER und GEHRING, 1990). Die dicken Filamente des A-Bandes (doppeltbrechend = anisotrop) bestehen im wesentlichen aus dem Protein Myosin. Die dünnen des I-Bandes (einfachbrechend = isotrop) aus den Proteinen Actin in Verbindung mit Tropomyosin und Troponin (LOEFFLER, 1991).

Neben den ersten Beobachtungen an Spreizferkeln wurden weitere Untersuchungen an Ferkeln mit der Stellungsanomalie durchgeführt, die eine breite Variation der strukturellen Veränderungen an der Muskulatur beschrieben. MEHLHORN et al. (1970) stellten eine Verbreiterung der Gruppen von Muskelzellen (Primärbündel) umgebenden Schicht (Perimysium) fest. Im weiteren zeigten hypoplastische Fasern eine unvollkommene Querstreifung sowie im extramyofibrillären Raum eine Anreicherung von Ribosomen (DEUTSCH und DONE, 1971; BERGMANN 1976 b; DUCATELLE et al., 1986). ZELENÁ und JIRMANOVÁ (1979) sowie COUSSEMENT et al. (1984) beobachteten eine ungenügende Bindung bzw. eine Ablösung der Zwischenscheiben (Z-Scheiben) in den Muskeln von Spreizferkeln. Diese sind Scheiben, an denen beiderseits die Actinfilamente über Strukturproteinmoleküle (α -Actinin) ansetzen. Die Z-Scheibe liegt in den I-Banden und gewährleistet die Fibrillenordnung (LOEFFLER, 1991). Es wurde von einer Reduzierung des Durchmessers der einzelnen Muskelfasern, die Fibrillen lagen als schmale lockere Stränge vor, und einem dadurch bedingten relativen Kernreichtum berichtet. Die Muskelzellkerne erschienen dabei klein und pyknotisch (MEHLHORN et al., 1970; BERGMANN, 1976 a, b). Weiterführend konnten ZELENÁ et al. (1978) darstellen, daß die Anzahl an Kernporen, die in der Kernmembran lokalisiert sind und das Karyoplasma mit dem Zytoplasma verbinden, im *M. biceps femoris* und *M. longissimus dorsi* erhöht ist. Sie bezogen diese Beobachtung darauf, daß ein erhöhter Austausch an Substanzen zwischen dem Kernkörper und dem Plasma stattfindet.

Degenerative Erscheinungen der Myofibrillen und der Skelettmuskulatur wurden in verschiedenen Studien vermehrt bei Ferkeln mit der Stellungsanomalie festgestellt (BERGMANN 1976 a, b; ZELENÁ und JIRMANOVÁ, 1979; JIRMANOVÁ und LOJDA, 1985), was jedoch nicht durchgehend bestätigt wurde (BRADLEY et al., 1980; BUČEK et al., 1982). Nicht betroffene benachbarte Gebiete zeigten eine zum Teil kompensatorisch-hyperplastische Entwicklung der Fasern (MEHLHORN et al., 1970; BERGMANN, 1976 a, b). Die Beobachtung

eines kompensatorischen Wachstums wurde jedoch auch von Autoren an nicht betroffenen Ferkeln gemacht (ZELENÁ und JIRMANOVÁ, 1979; WARD und BRADLEY, 1980).

Übereinstimmung herrscht innerhalb der Literatur dahingehend, daß betroffene Ferkel, die die Erkrankung überleben, nach einer Rekonvaleszenz von ein bis zwei Wochen keine hypoplastischen Veränderungen in der Muskulatur mehr aufweisen und somit Unterschiede im histologischen Bild im Vergleich zu gesunden Ferkeln nicht mehr darstellbar sind (THURLEY, 1967; THURLEY et al., 1967; DEUTSCH und DONE, 1971; ZELENÁ und JIRMANOVÁ, 1979; BRADLEY et al., 1980; WARD und BRADLEY, 1980; DUCATELLE et al., 1986). Diese Befunde stehen im Übereinstimmung mit einem Abklingen der klinischen Symptome im Laufe der ersten Lebenswoche.

Einige Autoren nahmen basierend auf ihren Befunden und entsprechend der ersten Beschreibung von THURLEY et al. (1967) eine Gleichstellung der myofibrillären Hypoplasie und dem Spreizersyndrom vor. Es kann aber angenommen werden, daß eine getrennte Ätiologie beider Syndrome vorliegt, da hypoplastische Myofibrillen auch bei nicht betroffenen Ferkeln dargestellt wurden (BERGMANN, 1976 a, b; COX et al., 1979; ZELENÁ und JIRMANOVÁ, 1979; WARD und BRADLEY, 1980; BRADLEY et al., 1980; LUKÁŠ et al., 1982; JIRMANOVÁ, 1983) sowie bei klinisch erkrankten Ferkeln völlig fehlten (DOBSON, 1968; OLSON und PRANGE, 1968; THURLEY und DONE, 1969; KOHLER et al., 1969; MILLER et al., 1973; BERGMANN, 1976 a, b; DUCATELLE et al., 1986).

COX et al. (1979) stellten anhand von Querschnitten durch den *M. semitendinosus* von Ferkeln der Landrasse dar, daß der Grad der myofibrillären Hypoplasie zwischen Spreizferkeln und nicht betroffenen Wurfgeschwistern gleich war, jedoch in der Anordnung der Muskelfasern signifikante Unterschiede bestanden. Muskelfasern von Spreizferkeln lagen häufiger in kleinen Gruppen und unregelmäßig verteilt vor. Die Zahl der im Verband zusammenhängenden Muskelfasern war bei Spreizferkeln mit durchschnittlich 14 Muskelfasern kleiner als bei nicht betroffenen Ferkeln, bei denen sie sich auf 21 bis 28 Muskelfasern belief. Die Kraft zur Kontraktion eines Muskels ist abhängig von der Ansammlung gesunder, kontraktionsfähiger Fasern. Bei zu geringer Dichte ist die Kraft vermindert, so daß ein Stehen nicht möglich ist.

Einen signifikanten Einfluß auf die Ausprägung des Spreizersyndroms zeigte die anteilige Größe des extramyofibrillären Raums im *M. adductor*. Wie in Tabelle 1 aufgeführt, trat zum Geburtszeitpunkt bei Tieren mit einem Anteil des extramyofibrillären Raums von 10 % und größer häufiger die Stellungsanomalie auf. In einem Zeitraum von 12 Stunden (12 bis 24 h)

nach der Geburt ist insbesondere bei Spreizferkeln eine Reduzierung des extramyofibrillären Raums beobachtet worden (Spreizferkel n = 37; nicht betroffenen Ferkel n = 59) (CURVERS et al., 1989).

Tabelle 1: Anteil des extramyofibrillären Raums (EMR) in % bei Spreizferkeln sowie bei nicht betroffenen Ferkeln (nach CURVERS et al., 1989)

EMR ¹	Spreizferkel	nicht betroffene Ferkel
< 5 %	5 %	46 %
5 – 10 %	49 %	49 %
> 10 %	46 %	5 %

¹ = extramyofibrillärer Raum

Es weisen insbesondere die Ergebnisse von COX et al. (1979) sowie CURVERS et al. (1989) darauf hin, daß die Verteilung der Muskelfasern, welche somit auch den Anteil des extramyofibrillären Raumes bedingen, einen bedeutenden Einfluß auf die Manifestation des Merkmals haben.

Eine Veränderung, die als charakteristisch für das Syndrom angesehen wird, ist eine Anreicherung des extramyofibrillären Raums mit Glykogen anstelle von kontraktiven Elementen (DEUTSCH und DONE, 1971; BERGMANN, 1976 b; ZELENÁ und JIRMANOVÁ, 1979; BRADLEY et al., 1980; BUČEK et al., 1982; DUCATELLE et al., 1986; ANTALÍKOVÁ et al., 1996). Aus dem vermehrten Vorhandensein von Glykogenpartikeln leiteten DUCATELLE et al. (1986) ab, daß in der Pathogenese des Merkmals der früh-postnatale Glykogenstoffwechsel eine Schlüsselrolle einnimmt. TUČEK und HANZLÍKOVÁ (1984) konnten einen Unterschied im Hinblick auf eine Anreicherung von Glykogenpartikeln in den Axonen betroffener Ferkel darstellen. Basierend auf der Beobachtung wurde auch von diesen Autoren angenommen, daß der Glykogenmetabolismus in den Muskeln betroffener Ferkel verändert ist.

2.4.2 Biochemische Analysen

In der Literatur wird eine Vielzahl histo- und biochemischer Befunde, erhoben an Spreizferkeln, dargestellt. Da alle Studien einen Vergleich von erkrankten zu nicht betroffenen Ferkeln aufzeigten, wird im folgenden überwiegend auf den Zusatz „verglichen mit nicht betroffenen Ferkeln“ verzichtet. Im nachstehenden Abschnitt wird zuerst auf Befunde eingegangen, die keine Unterschiede feststellen konnten bzw. in denen vorhandenen

Differenzen nicht davon ausgegangen wurde, daß sie mit dem Spreizersyndrom im Zusammenhang stehen. Im Anschluß daran werden Analysen verschiedener Parameter wiedergegeben, die direkt mit dem betrachteten Merkmal in Beziehung stehen können.

Histologische Untersuchungen von Großhirn, Kleinhirn, Mittelhirn, *Medulla oblongata* sowie von Abschnitten des Rückenmarks ließen keine Veränderungen erkennen (THURLEY et al., 1967; DOBSON, 1968; MEHLHORN et al., 1970). Auch im Gewicht des Gehirns, des Rückenmarks sowie bei Analysen des DNA- und Proteingehaltes im Zellgehalt verschiedener Hirnabschnitte waren keine Differenzen ersichtlich (HILLERT et al., 1987 a). Über den Gehalt an DNA eines Gewebes wird angegeben, wie groß die Ausstattung mit Zellkernen ist, da mehr als 99 % der DNA einer Zelle im Zellkern vorkommen (KOLB, 2002). Der RNA-Gehalt, welcher für die Proteinsynthese von Bedeutung ist, zeigte sich für die Spreizferkel in einigen Geweben des zentralen Nervensystems vermindert, was jedoch auf eine verminderte bzw. fehlende Aufnahme von Kolostrum zurückgeführt wurde (HILLERT et al., 1987 a). Keine signifikanten Unterschiede wurden im Gehalt an Spurenelementen (Fe, Cu und Zn) in verschiedenen Organen, im zentralen Nervensystem sowie in Skelettmuskeln vorgefunden (WEBER et al., 1986). Ebenfalls ohne auffälligen Befund zeigte sich der Gehalt an Gesamtprotein-N, an Myofibrillen-N, an Sarkoplasma-N, an Bindegewebe-N und an Nichtprotein-N von Spreizferkeln (KOLB et al., 1981 a). Der Elektrolytgehalt (Mg, Ca, K und Na) in den Erythrozyten war gleich dem nicht erkrankter Ferkel (KOLB et al., 1986). Als Einflußfaktor auf die Permeabilität der Zellmembran wurden von KÜHNE et al. (1986) die Peroxisomen angeführt. In einer Untersuchung der Katalase, welches ein Schlüsselenzym des Peroxidabbaus ist, verschiedener Gewebe von Spreizferkeln konnten keine Abweichungen in der Aktivität aufgezeigt werden. Daraus wurde gefolgert, daß die untersuchten Gewebe bezüglich des Gehalts an Peroxisomen als ausgereift zu betrachten sind.

HNÍK und VEJSADA (1979) führten elektromyographische Studien am *M. gastrocnemius* und *M. tibialis anterior* sowie an zwei Muskelgruppen (Kniebeuger und die Adduktoren des Oberschenkels) durch. Sie zeigten, daß sich die Muskeln der Hinterextremitäten von Spreizferkeln in gleicher Weise kontrahieren wie bei nicht betroffenen Ferkeln. Aus dieser Beobachtung wurde geschlossen, daß nicht eine gestörte Erregungsübertragung und kein Effekt vorlag, der den Formen der Myasthenie ähnelt, sondern eine Störung des kontraktile Apparates gegeben ist.

Ein signifikant niedrigerer Gehalt an Ascorbinsäure im Blutplasma von Spreizferkeln, der als Parameter für die Immunabwehr gewertet wurde, wurde mit der verringerten Milchaufnahme erklärt (KOLB et al., 1989). Eine Studie von PATTERSON et al. (1969) ergab, daß in der

Oberschenkelmuskulatur keine Veränderungen im durchschnittlichen Gehalt an Gesamtprotein vorlag. Auch im DNA-Gehalt verschiedener Muskeln wurden keine Unterschiede festgestellt (PATTERSON et al., 1969; ELSCHNER et al., 1991). Demgegenüber stellten HILLERT et al. (1987 b) bei Spreizferkeln mit geringem Gewicht (520 bis 695 g) einen signifikant niedrigeren Wert des DNA-Gehaltes im *M. semimembranosus* und im *M. semitendinosus* fest. Diese Beobachtung wurde auf das geringe Gesamtgewicht der Muskeln zurückgeführt, da schwerere Ferkel keine Abweichungen aufwiesen. Es wurde gefolgert, daß die vermeintlich geringe Ausstattung mit DNA für die Entstehung des Syndroms keine Bedeutung hat. Weiterhin zeigte sich der Gehalt an RNA nicht signifikant verschieden in den untersuchten Skelettmuskeln zwischen den Ferkelgruppen. Von ELSCHNER et al. (1991) wurde in einigen Skelettmuskeln ein niedrigerer Protein:DNA-Quotient gefunden, der von den Autoren als Anzeichen einer verzögerten Muskelausreifung interpretiert wurde. Der Quotient gibt an, wieviel Protein je DNA-Einheit (Zellkern) vorhanden ist.

In verschiedenen Muskeln der Hinterextremitäten und des Rückenmarks wurde ein zum Teil stark erhöhter Kalziumgehalt bei Trägern der Stellungsanomalie im Vergleich zu nicht betroffenen Ferkeln mit annähernd gleicher Körpermasse festgestellt. Ebenso zeigte sich der Natriumgehalt erhöht. Diese Beobachtungen wurden als Indiz einer Ausreifungshemmung der Muskeln der Hinterextremitäten gewertet, die bei der Auslösung der mangelhaften Funktionsfähigkeit der Muskeln von Bedeutung sein könnte (KOLB et al., 1987).

Eine schwedische Arbeitsgruppe (SVENDSEN et al., 1990) konnte anhand von Serumproteinen zeigen, daß leichtere Ferkel (< 1000 g), Spreizferkel sowie deren nicht betroffene Wurfgeschwister eine höhere intestinale Transportkapazität aufweisen. In einer folgenden Studie (SVENDSEN et al., 1991) wurde dargestellt, daß bei Spreizferkeln ein erhöhter Glukoselevel (6,2 nmol/l, n = 10; nicht betroffene 4,0 nmol/l, n = 86) einhergehend mit niedrigeren Hämoglobinwerten (104 g/l, n = 8; nicht betroffene 129 g/l, n = 71) dafür spricht, daß bei betroffenen Ferkeln möglicherweise eine Anämie vorliegt. Es ist zu bemerken, daß diese Beobachtung nur bei männlichen Tieren gemacht wurde. Ebenso zeigte sich der Gehalt an Albumin verringert (Spreizer 3,4 mg/ml, n = 34; nicht betroffene 3,5 mg/ml, n = 33). Eine signifikante Reduzierung lag auch hier nur bei männlichen Ferkeln vor. Im weiteren wurde bei Ferkeln mit dem Syndrom Spreizer festgestellt, daß der Gehalt an α_2 -Makroglobulin f und s erniedrigt war. Klinisch nicht betroffene Wurfgeschwister zeigten sich im Profil des Blutserums ähnlich den erkrankten. Eine Deutung im Sinne der Ätiologie des Syndroms wurde nicht gegeben. Basierend auf den Beobachtungen wurde gefolgert, daß das Spreizersyndrom den gesamten Wurf betrifft, sich aber nicht klinisch bei allen Wurfgeschwistern manifestiert.

Untersuchungen von ANTALÍKOVÁ et al. (1996) am *M. longissimus dorsi* und *M. biceps femoris* von Ferkeln mit der Stellungsanomalie sowie nicht betroffenen Ferkeln zeigten eine veränderte Verteilung der Aktivität der Glukose-6-Phosphatase (G-6-Pase) im sarkoplasmatischen Retikulum. Die peripheren Zisternen des Retikulums von Spreizferkeln waren stark erweitert. Die G-6-Pase ist ein Enzym, welches zur Glukoneogenese benötigt wird und somit auf die Glykogenreserven der Körperzellen zurückgreift (LÖFFLER, 1999). Eine im Vergleich zu nicht betroffenen Ferkeln veränderte Verteilung der G-6-Pase wurde als ein Hinweis auf eine verlangsamte Nutzung der Glykogenreserven interpretiert sowie als Ursache für einen erhöhten Anteil an diesen (ANTALÍKOVÁ et al., 1996).

2.4.3 Befunde am Nervensystem

WARD und BRADLEY (1980) konnten keine divergenten Befunde in der Ausstattung mit Nerven und neuromuskulären Spindeln zwischen erkrankten und nicht betroffenen Ferkeln feststellen. Auch bestanden keine Unterschiede in der Größe und der Verteilung der motorischen Endplatten (COUSSEMENT et al., 1984). In einer Studie von TUČEK und HANZLÍKOVÁ (1984) konnte dargestellt werden, daß die Entwicklung und der Gehalt an Nervenfasern im *Nervus peroneus* (entsteht durch Teilung des Ischiasnerven unterhalb des Gesäßes), die mit einer Markscheide aus Myelin umgeben sind, bei Spreizferkeln und nicht betroffenen Ferkeln gleichmäßig verlief.

SZALAY et al. (2001) zeigten an neugeborenen Spreizferkeln, daß Regionen, die in der weißen Substanz (*Substantia alba*) des Rückenmarks der Lendenwirbelsäule lagen und zum sensorischen System gezählt werden, eine geringe Myelinisierung aufwiesen. Außerdem besaßen die motorischen Fasern, welche die Adduktoren der Hintergliedmaßen innervieren, in weiten Teilen keine Myelinscheide. Zusätzlich lag eine Reduzierung des Durchmessers der Axone vor. Spreizferkel, die in einem Alter von 12 Tagen untersucht wurden, wiesen einen kompensatorischen Myelinisierungsprozeß im Vergleich zu den Kontrolltieren auf. Da eine intakte Myelinscheide Voraussetzung für die Nervenimpulsübertragung ist, gelangten die Autoren zu der Aussage, daß die Erkrankung auf eine defizitäre Myelinisierung der grauen Substanz (*Substantia grisea*) des Marks der Lendenwirbelsäule zurückzuführen ist. Sie stellten die Hypothese auf, daß das Syndrom selektiv das motorische System befällt, da in der weißen Substanz eine leichte Myelinisierung zu erkennen war, ungleich der irreversiblen Reduzierung von Myelin beim Vorliegen der Krankheit *congenital tremor* (LAMAR und VAN SICKLE, 1975). Als auslösender Faktor zur Entstehung des Syndroms Spreizer wurde eine unzureichende Versorgung der Sauen mit Cholin und Methionin angenommen.

In einer Untersuchung des Proteingehalts und der Aktivität der Mg-, Na-, K- und der Ca-ATPase im Nervensystem von Spreizferkeln konnte lediglich für die Ca-ATPase des Halsabschnittes des Rückenmarks bei Spreizern mit weniger als 1000 kg Körpermasse eine signifikant niedrigere Aktivität als bei nicht erkrankten Ferkeln gleicher Körpermasse dargestellt werden (LEO et al., 1986). Die Ca-ATPase ist notwendig für die Regulation des Ca-Gehalts in den Synapsen. Die erhöhte Aktivität wurde als kompensatorischer Mechanismus des unausgereiften neuromuskulären Systems gewertet.

2.4.4 Befunde der Aktivitätsmessungen muskelspezifischer Enzyme

Im humanen Bereich werden über eine Bestimmung der Enzyme Kreatinphosphokinase (CPK), Laktatdehydrogenase (LDH), Alanin-Aminotransferase (ALAT) und Aspartat-Aminotransferase (ASAT) u. a. Muskelschäden nachgewiesen. Die Schädigung der Muskelzellmembran führt zu einer zunehmenden Permeabilität. Im Blutplasma ist infolgedessen ein erhöhter Wert dieser Enzyme, welche als Marker für muskuläre Erkrankungen herangezogen werden, nachweisbar (PRANGE et al., 2000).

Konzentrations- und Aktivitätsmessungen der Enzyme CPK, das Energie für die Kontraktion von Skelettmuskeln liefert, und LDH im Blutplasma von Ferkeln zeigten keine Unterschiede zwischen den Ferkelgruppen (TUČEK et al., 1985). Aufgrund der Befunde folgerten die Autoren, daß das Syndrom Spreizer nicht einhergeht mit einer Beeinträchtigung der Muskelfasermembran, wie sie für die X-chromosomale, progressive Muskeldystrophie Duchenne beim Menschen beschrieben wurde. Dagegen befanden KOLB et al. (1981 b), daß die Aktivität der CPK, der ASAT und der ALAT im Blutplasma neugeborener, betroffener Ferkel erhöht war. Dieser Befund sprach für eine Schädigung der Muskulatur. Es zeigte sich jedoch, daß bei einem Teil der Spreizferkel keine erhöhten Aktivitäten nachzuweisen waren. Dies wurde als eine ungenügende Ausreifung des Nervensystems interpretiert. HILLERT et al. (1992) berichteten von einer gesteigerten CPK-Aktivität im geburtsnahen Zeitraum im Überstand von Homogenaten des *M. semimembranosus* und des *M. biceps femoris*. Diese Beobachtung wurde als Hinweis für einen Unterschied in der Synthese bzw. in der Geschwindigkeit des Abbaus der ASAT sowie der CPK interpretiert, die genetisch bedingt sein kann.

In einer Studie von PRANGE et al. (2000) wurden Blutproben von 225 Ferkeln (Deutsche Large White x Deutsche Landrasse) auf hämatologische Parameter, den Gehalt an Protein im Blutserum, die Kreatininkonzentration im Serum sowie auf die Plasmakonzentration der CPK,

LDH, ALAT, ASAT und γ -Glutamyltranspeptidase untersucht. Die γ -Glutamyltranspeptidase gilt als Blut-Hirn-Schrankenmarkerprotein, da das Enzym nur in cerebralen Kapillaren, nicht aber in Kapillaren peripherer Organe nachgewiesen werden konnte (BENDAYAN et al., 2002). PRANGE et al. (2000) konnten darstellen, daß die Werte der CPK, LDH, ALAT und ASAT bei nüchternen, neugeborenen Spreizferkeln nach erfolgter Bewegung signifikant höher waren als bei nicht betroffenen Ferkeln. Alle anderen erhobenen Parameter zeigten keine signifikanten Differenzen auf. Messungen am 7. sowie am 21. Lebenstag zeigten, daß zwischen den betroffenen und nicht betroffenen Ferkeln keinerlei Unterschiede im Plasmaspiegel mehr gefunden werden konnten. Die Ergebnisse wurden dahingehend interpretiert, daß bei Spreizferkeln zum Geburtszeitpunkt eine Unreife der Skelettmuskeln vorliegt und überlebende Ferkel fähig waren, diese innerhalb weniger Tage zu kompensieren (PRANGE et al., 2000 und 2001).

2.4.5 Befunde zum Cholinmetabolismus

Eine Störungen des Cholinmetabolismus kann zu einer mangelhaften Bereitstellung von Cholinphospholipiden als Membranbaustein führen. Ferner kann die Erregungsleitung durch veränderte Acetylcholin-Bereitstellung bzw. eines veränderten Abbaus des Acetylcholins beeinflusst werden (TUČEK et al., 1985). In Fütterungsexperimenten (Abschnitt 2.3.5) wurde der Versuch unternommen, die Ausprägung des Spreizersyndroms über präventive Gaben von Cholin zu unterbinden. Diesbezüglich herrschte Uneinigkeit (CUNHA, 1968; DOBSON, 1971; STOCKLAND und BLAYLOCK, 1974; GRANDHI und STRAIN, 1981; LUCE et al., 1986; MAXWELL et al., 1987).

Versuche, die klinischen Symptome der Stellungsanomalie mittels Cholinesteraseinhibitoren zu unterdrücken (Abschnitt 2.2), zeigten bei über 80 % der behandelten Ferkel Erfolg (ZRUNEK et al., 1977, zitiert nach SCHNAPPERELLE und KOCH, 1980; SCHNAPPERELLE und KOCH, 1980). Mittels dieser Therapie erscheint es möglich, die Symptome abschwächen zu können, nicht aber die kausale Ursache des Syndroms zu bekämpfen. Die Ergebnisse stützen die Theorie, daß funktionelle Störungen der Erregungsübertragung im Bereich der motorischen Endplatte, d. h. eine neuromuskuläre Beeinträchtigung, bei Spreizferkeln vorliegt.

Auf Grundlage der Homogenate von Muskeln (*M. sartorius*, *M. tibialis anterior* und *M. peroneus tertius*) waren nach TUČEK und HANZLÍKOVÁ (1984) keine Differenzen bei Spreizferkeln in der Syntheserate von Acetylcholin und der Cholinacetyltransferase (ChAT)

nachweisbar. Auch lagen keine Veränderungen in der Aktivität der ChAT im Ischiasnerv vor. Das Enzym ChAT katalysiert die Biosynthese des Neurotransmitters Acetylcholin aus Cholin und Acetylcoenzym A. Konzentrations- und Aktivitätsmessungen des Enzyms Cholinesterase im Blutserum von Ferkeln waren zwischen Spreizferkeln und nicht betroffenen Ferkeln gleich (TUČEK et al., 1985). Aus dieser Beobachtung folgerten die Autoren, daß eine Cholininsuffizienz die Entstehung des Syndroms nicht beeinflusst.

Ferkel mit dem Spreizersyndrom zeigten jedoch eine niedrigere Aktivität der ChAT in verschiedenen Gehirnabschnitten und Nervengeweben, was auf eine veränderte Synthese und Abbau des Acetylcholins hindeutet (WITTNER et al., 1982). Die Aktivität der Acetylcholinesterase (AChE), ein auf Acetylcholin katabol wirkendes Enzym im Blutplasma, von Spreizferkeln und nicht betroffenen Ferkeln war gleich (KASSEBAUM et al., 1982). LE HONG et al. (1990) berichteten, daß signifikant erhöhte AChE-Aktivitäten im Homogenat verschiedener Gewebe des zentralen Nervensystems (Großhirn, Hirnstamm und Rückenmark) bei Spreizferkeln vorlagen. Im Zusammenhang mit signifikant erhöhten Proteinwerten in diesen Geweben wurde gefolgert, daß bei Spreizferkeln eine unvollständige Ausreifung des neuromuskulären Systems vorliegt, welche durch Verabreichung von Hemmstoffen der AChE (Neostigminmethylsulfat) vielfach beseitigt werden kann.

2.5 Myopathien anderer Spezies

ARENDAR und MILCH (1966) beschrieben das Syndrom *splay leg* in einer ingezüchteten Kaninchenlinie, bei der der Oberschenkelhals in einem unnatürlichen Winkel nach vorne gestellt war. Ähnlich dem bei Ferkeln mit der Stellungsanomalie Spreizer dargestellten Bild, wurden an Kaninchen mit dem Syndrom *splay leg* Muskelfasern aufgezeigt, die einen geringeren Durchmesser als bei nicht betroffenen Tiere aufwiesen (JOOSTEN et al., 1981). Nach einer Verabreichung von Glukokortikoiden an Kaninchen und Ratten stellten JIRMANOVÁ et al. (1982) dar, daß das Muskelwachstum reduziert war und eine mangelhafte Ausbildung der Myofibrillen beobachtet wurde. Ein histologischer Vergleich zeigte starke Ähnlichkeiten mit dem Erscheinungsbild von Spreizferkeln. Hieraus folgerte JIRMANOVÁ (1983), daß beiden Erscheinungen eine erbliche glukokortikoide Myopathie zugrunde liegt. Vergleichbar mit Spreizferkeln (KÖHLER et al., 1969) ist auch bei Kaninchen bei Variation des Untergrundes eine deutlich gesteigertes Auftreten des Syndroms auf glattem Untergrund festzustellen. Ausgeprägte Unterschiede in der Morphologie der Knochen und Gelenke sowie ein minimaler Anteil beeinträchtigter Muskeln deuteten darauf hin, daß das Syndrom *splay leg* der Kaninchen nicht verwandt ist mit der porcinen Form (OWINY et al., 2001). Als

Vererbungsmodus wurde von JOOSTEN et al. (1981) ein monogen rezessiver Erbgang mit unvollständiger Penetranz bzw. einem polygenen Hintergrund angenommen unter Beteiligung einer Umweltkomponente.

Bei juvenilen Rottweilern wurde von HANSON et al. (1998) ein Bild beschrieben, bei dem die Hunde Bewegungseinschränkungen zeigten einhergehend mit abgespreizten Vorderpfoten. Neurologische Untersuchungen zeigten unauffällige Befunde, histologische dagegen pathologische Veränderungen an den Fasern der Myofibrillen und eine Anreicherung von Fettgewebe überwiegend der distalen Muskeln.

Humane Myopathien

Eine Vielzahl von Muskelerkrankungen sind beim Menschen beschrieben (JERUSALEM und ZIERZ, 1991). Im Zusammenhang mit dem porcinen Syndrom Spreizer wurde von ZRUNEK et al. (1977) die myasthenische Reaktion genannt und von LAX (1971) die progressive X-chromosomale Muskeldystrophie Typ Duchenne.

Die *Myasthenia gravis* ist eine humoral bedingte Autoimmunerkrankung, bei der spezifische Antikörper gegen die Acetylcholinrezeptoren zu einer Beeinträchtigung der Impulsübertragung auf die post-synaptische Membran der neuromuskulären Endplatte führen. Das Krankheitsbild wird gekennzeichnet durch eine starke Ermüdbarkeit der Skelettmuskulatur, die über eine okuläre Myasthenie und eine Schwäche der mimischen Muskulatur bis zu einer Lähmung der Atemmuskulatur reichen kann. Diese Erkrankung tritt vom Kleinkindalter bis ins hohe Alter auf, wobei Frauen etwa doppelt so häufig erkranken wie Männer (RICHMAN, 1998).

Die progressiven X-chromosomalen Muskeldystrophien (Typ Duchenne, DMD, OMIM Nr.: 310200; Typ Becker-Kiener, BMD, OMIM Nr.: 300376) sind eine der häufigsten monogen bedingten Erkrankungen. Beide Formen beruhen auf einer Mutation des rund 2,4 Millionen Basenpaare großen muskelstabilisierenden X-chromosomalen Gens mit dem Proteinprodukt Dystrophin. Das Dystrophin-Gen besteht aus 79 Exons und gilt als eines der größten menschlichen Proteine und wurde an der Position Xp21.2 lokalisiert (LIN et al., 1999). Die Inzidenz wird auf 0,7 pro 100.000, die Prävalenz auf 10 pro 100.000 Einwohner geschätzt. Beide Typen der progressiven Muskeldystrophie betreffen fast ausschließlich das männliche Geschlecht (MASUHR und NEUMANN, 1996). Bei Patienten mit der Duchenne-Muskeldystrophie fehlt Dystrophin völlig, während es bei dem gutartigeren Typ Becker-Kiener vermindert bzw. abnormal produziert wird. Hauptmerkmal der Muskeldystrophie Duchenne ist ein verspäteter Gehbeginn (nach dem 18. Lebensmonat) und ein

Muskelschwund, der an den unteren Extremitäten beginnt und mit einer drastischen Erhöhung der Serum-Kreatinphosphokinase (CPK) verbunden ist. Etwa ein Drittel der Patienten zeigt auch eine geistige Retardierung (BUSELMAIER und TARIVERDIAN, 1999). Der Serum-Kreatininkinase-Wert kann abhängig vom Krankheitsstadium der DMD 2 bis 200-fach erhöht sein. Bei der Muskelbiopsie sind Variationen der Muskelfaserdurchmesser zu beobachten (CULLEN und MASTAGLIA, 1980).

Weitere Formen der Muskeldystrophien mit vorwiegendem Befall des Schulter- oder Beckengürtels unterliegen dem Konzept der Gliedergürtel-Muskeldystrophien. Sie sind eine klinisch heterogene Gruppe der Dystrophien. Sie werden überwiegend autosomal rezessiv, aber auch dominant vererbt und befallen beide Geschlechter, die Krankheit kann in jedem Alter auftreten. Es gibt zwei Typen: den aufsteigenden Typ beginnend vom Beckengürtel und den absteigenden Typ beginnend vom Schultergürtel. Im Gegensatz zu den Dystrophinopathien (DMD und BMD) liegt hier eine Defizienz der Proteine Sarkoglykan und Calpain vor, die eine enge funktionelle und morphologische Beziehung mit dem Dystrophin aufweisen. Eine genetisch bedingte Insuffizienz des Dystrophins oder eines der Komplexproteine kann zu einer Dystrophie führen. In den vergangenen Jahren wurde ein Dystrophin assoziierter Muskelmembrankomplex identifiziert. Dieser Proteinkomplex wird durch Dystrophin, verschiedene Dystroglykane und Sarkoglykane, Synotrophin, Merosin, Sarkospan, Dystrobrevin sowie weitere bislang unbekannte Proteine gebildet. Für den Dystrophinkomplex wurden verschiedene Funktionen vorgeschlagen wie mechanischer Schutz der Muskelmembran oder der Regulierung der Muskelmembranpermeabilität, im besonderen für Kalzium (LIN et al., 1999).

Eine Zuordnung der an der Gliedergürteldystrophie (limb girdle muscular dystrophy, LGMD) beteiligten Genloci ist in Tabelle 2 gegeben. Die Typen 1 und 2 bezeichnen in der Nomenklatur, ob ein dominanter oder rezessiver Erbgang zugrunde liegt.

Tabelle 2: Bekannte Varianten der Gliedergürteldystrophien (LGMD), Erbgang, Genlokalisierung, Gen-Produkt und Zugangsnummer der Datenbank „Online Mendelian Inheritance in Man“

LGMD-Typ ¹	Erbgang	Genlokalisierung	Gen-Produkt	OMIM Nr. ²
1A	AD ³	5q22.3-q31.3	Myotilin	159000
1B	AD ³	1q11-q21	Laminin A/2C	159001
1C	AD ³	3p25	Caveolin-3	601253
1D	AD ³	7q	–	603511
2A	AR ⁴	15q15.1-q21.1	Calpain	114240
2B	AR ⁴	2p13.1-p13.3	Dysferlin	253601
2C	AR ⁴	13q12	γ-Sarkoglykan	253700
2D	AR ⁴	17q12-q21.33	α-Sarkoglykan	600119
2E	AR ⁴	4q12	β-Sarkoglykan	600900
2F	AR ⁴	5q33-q34	δ-Sarkoglykan	601287
2G	AR ⁴	17q11-q12	Telothonin	601954
2H	AR ⁴	9q31-q33	–	254110

verändert nach LIN et al. (1999) sowie CONRAD (2001)

¹ = limb girdle muscular dystrophy (LGMD); Typ 1A-D = rezessiv, Typ 2A-H = dominant

² = Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) (URL 4)

³ = autosomal dominant (AD)

⁴ = autosomal rezessiv (AR)

– = unbekannt

2.6 Genetik des Merkmals

2.6.1 Rassendisposition

Basierend auf Literaturrecherchen gelangte WARD (1978) zu der Aussage, daß sich das Spreizersyndrom am häufigsten bei Tieren der Landrasse – verglichen mit Hampshire, Duroc und Piétrain – manifestiert.

In einem Vergleich der Häufigkeit des Syndroms zwischen den Rassen Large White und Piétrain mit je zwei Linien wurde von SELLIER und OLLIVIER (1982) dargestellt, daß für Piétrain eine um den Faktor drei erhöhte Frequenz des Merkmals gegenüber Large White gegeben war. Innerhalb der beiden Linien der Rasse Large White wurde eine Häufigkeit von 2,2 % (n = 3.437 Ferkel), in den Linien der Rasse Piétrain (3.096 Ferkel) eine Frequenz von 6 % und 3,6 % in den Kreuzungsnachkommen dieser Rassen (n = 3.221) festgestellt. Der

Einfluß der Rasse des Ebers (Duroc, Landrasse und Yorkshire) wurde von VOGT et al. (1984) anhand von 895 Würfen untersucht. Die Eber wurden im annähernd gleichen Verhältnis an Kreuzungssauen dieser Rassen angepaart. Es konnte gezeigt werden, daß Landrasse-Eber einen beständig höheren Anteil betroffener Nachkommen produzierten. Zwischen den Rassen Duroc und Yorkshire wurden nur geringfügige Differenzen gefunden. STEANE (1985) publizierte Daten aus Großbritannien, in denen Eber der Rasse Large White einen Anteil von 0,12 % ($n = 15.206$) Spreizferkeln aufwiesen und für Eber der Landrasse eine Häufigkeit von 1,42 % ($n = 13.830$) dargestellt wurde. Einen signifikanten Einfluß der Rasse des Ebers stellten SPICER et al. (1986) dar. Basierend auf 2.224 leb. geb. Ferkeln ermittelten die Autoren für Nachkommen von Landrasse-Ebern einen Anteil von 13,7 %, verglichen mit 4,5 % für Large White und 3,4 % für Hybrid-Eber ($p < 0,01$). TOMKO (1993) untersuchte zwei Eber-Linien, bestehend aus Kreuzungstieren der Deutschen Landrasse mit Duroc und der Belgischen Landrasse mit Duroc. Signifikante Differenzen konnte der Autor nicht darstellen. Er befand aber, daß mit 25,9 % bis 26,3 % betroffener Nachkommen pro Wurf tendenziell mehr erkrankte Ferkel in den Kreuzungen aus Deutscher Landrasse mit Duroc auftraten als in Kreuzungen der Belgischen Landrasse mit Duroc mit 21,1 % bis 23 % Spreizferkeln pro Wurf. Diese Beobachtung wurde auf den Einfluß der Deutschen Landrasse zurückgeführt. Weiterhin wurden in dieser Studie keine Unterschiede zwischen drei genetischen Typen von Sauen ermittelt (Slowakische Large White, Slowakische Weiße Schweine und Kreuzungssauen dieser Rassen).

Ein weiterer direkter Vergleich zweier Rassen bezüglich der Häufigkeit von Nachkommen mit der Stellungsanomalie ist bei THALLER et al. (1996) möglich. Anhand von 8.604 Würfen wurde für die Deutsche Landrasse eine Häufigkeit von 0,63 % nachgewiesen und 0,71 % für Piétrain, resultierend aus 21.933 Würfen. Daten eines chinesischen Zuchtbetriebes verzeichneten unter 32 Spreizferkeln einen Anteil von 59,4 % der Tiere, die der Landrasse zugeordnet wurden, und für die Rassen Duroc-Jersey sowie Yorkshire einen Anteil von 19 % und 22 % (LIANG et al., 1995). Dieser Untersuchung lagen jedoch nur sehr geringe Tierzahlen zugrunde. Basierend auf 2.070 Würfen ermittelten SELLIER et al. (1999) eine mehr als dreifach erhöhte Frequenz des Syndroms für Piétrain-Sauen mit 8 % als für Large White-Sauen mit 2,4 % (Piétrain, $n = 550$ und Large White, $n = 844$ Würfe) ($p < 0,001$). Kreuzungen dieser Rassen lagen mit einer Frequenz von 3,5 % im Mittel und zeigten signifikante Abweichungen von beiden Ausgangsrassen. Sofern in den zitierten Quellen eindeutige Frequenzen den Rassen zugeordnet waren, sind diese in Form einer Gegenüberstellung in Übersicht 7 dargestellt.

Übersicht 7: Häufigkeiten des Spreizersyndroms in ausgewählten Schweinerassen

Ref.	Häufigkeiten in %						
	LR	LW	PI	DU	Y	LWxPI	LRxLW
1	–	2,2	6,0	–	–	3,6	–
2	1,4	0,1	–	–	–	–	–
3	13,7	4,5	–	–	–	–	3,4
4	0,6	–	0,7	–	–	–	–
5	59,4	–	–	19,0	22,0	–	–
6	–	2,4	8,0	–	–	3,5	–

Ref. = Referenz: 1 = SELLIER und OLLIVIER (1982); 2 = STEANE (1985); 3 = SPICER et al. (1986); 4 = THALLER et al. (1996); 5 = LIANG et al. (1995); 6 = SELLIER et al. (1999)

– = keine Angaben

LR = Landrasse; LW = Large White; PI = Piétrain; DU = Duroc; Y = Yorkshire

x = Kreuzungen der genannten Rassen

Der zugrundeliegende Stichprobenumfang der in Übersicht 7 wiedergegebenen Frequenzen ist im vorhergehenden Text beschrieben. Eine überdurchschnittliche Disposition der Ferkel wird für die Landrasse und Tiere der Rasse Piétrain ersichtlich. Kreuzungsnachkommen der Landrasse mit Large White sowie Piétrain mit Large White führen offensichtlich zu einer annähernd vergleichbaren Frequenz im Bereich von 3,5 %. Weiterhin wird deutlich, daß eine hohe Streuung innerhalb der Rassen dargestellt wurde. Die Ursachen können zum Teil über den zugrundeliegenden Stichprobenumfang erklärt werden.

2.6.2 Erbgang

In den ersten Beschreibungen des Syndroms wurde aufgrund eines vermehrten Auftretens des Merkmals in verschiedenen Rassen eine genetische Disposition vermutet (THURLEY et al., 1967; DOBSON, 1968). Erst in darauffolgenden Studien konnte eine genetische Komponente eindeutig zugewiesen werden.

In einer Analyse von sechs Würfen eines Landrasse-Ebers gekreuzt mit Sauen der Rasse Tschechische Large White mit 60 Ferkeln im ausgeglichenem Geschlechtsverhältnis zeigten 16 männliche Tiere (53,3 %) das Syndrom Spreizer, jedoch kein weibliches (LAX, 1971). In der Studie wurde gefolgert, daß dem Merkmal am wahrscheinlichsten ein monogener, X-chromosomaler, dominanter Erbgang mit unvollständiger Penetranz zugrunde liegt. Im Hinblick auf einen derart geringen Stichprobenumfang fand diese Hypothese keine große

Akzeptanz, und es wurden weitere Ursachen zur Pathogenese des Merkmals, wie eine mangelnde intrauterine Ernährung der Föten diskutiert (HÖRÜGEL und LORENZ, 1979). WARD (1978) formulierte erstmals die These, daß es sich um einen polygen beeinflussten Erbgang handeln kann.

Ein deutlicher Hinweis auf eine genetische Basis der Erkrankung wurde durch eine gezielte Anpaarung von Jungsauen, die als Ferkel das Spreizersyndrom zeigten (Gruppe 1) verglichen mit einer Kontrollgruppe ehemals nicht spreizender Jungsauen (Gruppe 2) gegeben, mit jeweils 27 Sauen pro Gruppe, ohne Angabe der Rasse (MAASS und SCHULZE, 1979). Tiere der Gruppe 1 wiesen in 85,2 % der Würfe Spreizferkel auf. Dagegen waren es in der Gruppe 2 mit 55,6 % signifikant weniger ($p = 0,05$). Da in dieser Untersuchung Würfe mit klinisch erkrankten Ferkeln um zwei bis drei leb. geb. Tiere größer waren, wurde vermutet, daß eine Korrelation des Merkmals zur Wurfgröße vorlag.

Basierend auf 1.086 ausgewerteten Würfen aus je zwei Linien der Rassen Large White und Piétrain sowie deren Kreuzungsprodukten gelangten SELLIER und OLLIVIER (1982) unter der Annahme eines multifaktoriellen Schwellenwertmodells zu der Hypothese, daß die genetische Basis des Syndroms eine additiv polygenetische ist. Die an väterlichen Halbgeschwistern geschätzte Heritabilität betrug $0,47 \pm 0,07$. Heritabilitätskoeffizienten geschätzt mit Vollgeschwistern waren höher ($0,73 \pm 0,05$) im Vergleich zu denen aus der Halbgeschwisteranalyse. Dies deutete auf einen maternalen Effekt hin, der sich über die Wurfgröße (betroffene Würfe wiesen 1,5 mehr geborene Ferkel auf ($p < 0,01$)) und eine um 0,9 Tage ($p < 0,01$) verkürzte Trächtigkeitsdauer äußern soll. Die von LAX (1971) aufgestellte These eines monogenen, geschlechtsgekoppelten Erbgangs wurde ausgeschlossen. Die Autoren haben keine signifikante Abweichung bei einer nach Geschlechtern getrennten Analyse gefunden. Daher gingen die Autoren davon aus, daß das Spreizersyndrom geschlechtsbeeinflusst, nicht aber geschlechtsgekoppelt sei. Aus den von MAASS und SCHULZE (1979) publizierten Wurfdaten schätzten SELLIER und OLLIVIER (1982) zum Vergleich der von ihnen dargestellten Koeffizienten eine Heritabilität von $0,45 \pm 0,13$, die somit nahe des von den Autoren aus der väterlichen Halbgeschwisteranalyse ermittelten Wertes lag. Weitere Heritabilitätsschätzungen aus Praxisdaten für das Merkmal Spreizer liegen nach derzeitigen Kenntnissen in der Literatur nicht vor.

VOGT et al. (1984) stellten einen signifikanten Einfluß der Rasse des Ebers (Duroc, Landrasse und Yorkshire) auf die Häufigkeiten der Erscheinung des Syndroms fest. Diese Rassendifferenz spiegelte sich sowohl in den männlichen wie den weiblichen betroffenen Nachkommengruppen wider ($p < 0,001$). Ein einfacher mendelscher Erbgang wurde

ausgeschlossen. Die Autoren resümierten, daß das Merkmal polygen beeinflusst sei mit einer Umweltkomponente.

Da sich die phänotypische Erscheinung der Erkrankung in zwei diskontinuierlichen Kategorien äußerte, folgerte WRATHALL (1988) in einem Übersichtsartikel, daß sie sich bei Erreichen eines Schwellenwertes manifestiert. Mit steigenden ätiologischen Belastungen nimmt die Anfälligkeit (liability) zu, das klinische Bild auszubilden. Die zugrundeliegenden Faktoren können sowohl genetisch als auch durch die Umwelt bedingt sein. Es besteht die Möglichkeit, daß Individuen mit einer genetischen Prädisposition unter günstigen Umweltverhältnissen unauffällig bleiben. Daher wäre befundfrei nicht gleich anlagefrei zu setzen. Der Autor resümierte, daß das Syndrom Spreizer ein Schwellenwertmerkmal ist und polygenetisch determiniert sein kann.

Mittels einer Segregationsanalyse aus Daten der Anomalienprüfung in Bayern ($n = 46.772$ Ferkel) wurde gezeigt, daß dem Merkmal Spreizer am wahrscheinlichsten ein Zwei-Locus-Modell zugrunde liegt (STIGLER et al., 1991). Ein einfacher rezessiver Erbgang der Stellungsanomalie wurde aufgrund einer ermittelten Segregationsrate von 0,13 ausgeschlossen. Über die einfache Analyse wäre bei mendelndem Erbgang eine Rate von 0,25 zu erwarten gewesen. Im weiteren konnte in einer komplexen Segregationsanalyse gezeigt werden, daß das Maximum für die Penetranz im Ein-Locus-Modell bei 30 % liegt, die erwartete Penetranz jedoch bei 100 %. Verglichen mit der einfachen Segregationsanalyse wurden bei der komplexen die Paarungswahrscheinlichkeiten, die sich aus den Genotypfrequenzen ableiten, berücksichtigt. Durch die Einführung eines weiteren Genortes steigerte sich die Penetranz auf 90 %. Aufgrund der höchsten Teststatistik (Likelihood-Quotiententest) im Zwei-Locus-Modell, wurde dies von den Autoren für das Syndrom Spreizer favorisiert. Das Syndrom soll auftreten, wenn am rezessiven Genort Homozygotie vorliegt und mindestens ein dominantes Allel eines weiteren Genortes als Suppressorgen wirkt. Es wurde jedoch nicht ausgeschlossen, daß das Auftreten der Erkrankung durch mehr als zwei Genorte beeinflusst wird.

THALLER et al. (1996) führten ebenfalls am Datenmaterial aus der Anomalienprüfung in Bayern mit über 30.000 Würfen der Rassen Deutsche Landrasse und Piétrain eine Untersuchung zur Vererbung der Geburtsanomalien beim Schwein durch. Als mögliche Erbgänge wurden monogene, digene, polygene und Hauptgenmodelle mit polygenem Hintergrund miteinander verglichen. Für das Merkmal Spreizer hielten die Autoren ein Schwellenwertmodell mit einem additiv wirkenden Hauptlocus für am zutreffendsten. In diesem Modell wurde unterstellt, daß neben der additiven Wirkung des Polygenotyps und der

nicht-genetischen Wirkung der Umwelt zusätzlich eine Wirkung des Hauptlocus besteht. Hierbei wirkt der Hauptlocus wesentlich stärker auf die Anfälligkeit als die einzelnen Loci eines Polygenotyps (THALLER, 1992). THALLER et al. (1996) betrachteten ihre Schlußfolgerung als übereinstimmend mit dem von LAX (1971) vorgeschlagenen monogenen Modell, es wurde jedoch nicht auf den von LAX (1971) genannten Effekt einer Geschlechtskopplung eingegangen. Die Hypothese, daß es sich um einen rein polygenen Erbgang handelt, wurde deutlich abgelehnt.

Die Erbllichkeit des Syndroms Spreizer sowie Rassen- und geschlechtsspezifische Unterschiede wurden mehrfach nachgewiesen. Dennoch ist der Erbgang bislang ungeklärt. Die in der Literatur diskutierten Thesen zum Erbgang des Merkmals sind in Übersicht 8 zusammengefaßt.

Übersicht 8: In der Literatur diskutierte Hypothesen zum Erbgang des Merkmals Spreizer

Ref.	Hypothese
1	• monogen, X-chromosomal, dominant
2, 3, 4, 5	• polygen, geschlechtsbeeinflußt
6	• Zwei-Loci-Modell
7	• additiver Hauptlocus, polygener Hintergrund

Ref. = Referenz: 1 = LAX (1971); 2 = WARD (1978); 3 = SELLIER und OLLIVIER (1982); 4 = VOGT et al. (1984); 5 = WRATHALL (1988); 6 = STIGLER et al. (1991); 7 = THALLER et al. (1996)

2.6.3 Molekulargenetische Untersuchungen

Die erste Untersuchung zur Identifikation potentieller Kandidatengene für das Syndrom Spreizer wurde von MAAK et al. (2001) durchgeführt. Mittels der Differential – Display/Reverse Transkriptase-PCR – Methode an je zwei Spreizerferkeln und nicht betroffenen Ferkeln wurden 16 Genfragmente aus dem *M. biceps femoris* isoliert, die merkmalsassoziiert exprimiert wurden. Drei Gene (*TAF1B*, *BCL7B* und *CDKN3*) wurden aufgrund ihrer Funktion in die engere Auswahl der möglichen Kandidatengene genommen. Für diese Gene wurden Funktionen im Zusammenhang mit der Regulation des Zellzyklus beschrieben. Dies wurde als Hinweis für eine mögliche Einbeziehung in den Pathogenesemechanismus des Syndroms angesehen. Die chromosomale Lokalisation der porcinen Gene lautet für das *TAF1B*-Gen 3q21-q27, für das Gen *BCL7B* 6p17-p16 und 1q23-q27 für das Gen *CDKN3* (MAAK, 2001; MAAK et al., 2002).

2.7 Abschließende Betrachtung der Literatur

Neben der nachgewiesenen genetischen Komponente wird der Erkrankung eine deutliche Umweltkomponente zugesprochen, welche sich u. a. über die Haltung und Ernährung der Sauen während der Trächtigkeit, einer verkürzten Gravidität, der Wurfgröße, die Wurfnummer, den Einfluß von Mykotoxinen sowie dem Geburtsgewicht und einer Geschlechtsdisposition der Ferkel äußert. Auch im histologisch-biochemischen Bild liegen überwiegend divergierende Befunde vor, welche eine eindeutige Abgrenzung des Krankheitsbildes bzw. kausale Veränderungen nicht eindeutig erkennen lassen. Das Vorliegen der myofibrillären Hypoplasie ist nicht mit dem Syndrom Spreizer gleichzusetzen, da diese auch bei klinisch gesunden Ferkeln vorliegen bzw. bei erkrankten Tieren fehlen kann, was die Existenz von Phänokopien sichert. Bei geringer Ausprägung des Krankheitsbildes tritt während der ersten Lebenswoche eine Selbstheilung ein und histologisch können Unterschiede zu nicht betroffenen Ferkeln nicht mehr dargestellt werden. Aufgrund der Tatsache, daß überwiegend männliche Ferkel von dem Syndrom betroffen sind, wäre häufig eine differenziertere Betrachtung der Geschlechter wünschenswert. Einige Publikationen (z. B. KOLB et al., 1986) führten detaillierte Studien an Ferkeln, aufgeteilt in verschiedene Gewichtsklassen durch. Der geschlechtsspezifische Aspekt blieb dabei jedoch weitgehend unberücksichtigt.

Als charakteristische Symptome der Erkrankung können nach derzeitigem Kenntnisstand eine Anreicherung des extramyofibrillären Raums mit Glykogen anstelle von kontraktilen Elementen, ein erhöhter Gehalt an Kalzium in den Muskeln der Hinterextremitäten und des Rückenmarks, eine gesteigerte Permeabilität der Muskelzellmembran sowie eine Störung des Cholinmetabolismus angesehen werden. Diese Symptome resultieren in einer Unreife der Muskulatur zum geburtsnahen Zeitpunkt sowie einer neuromuskulären Funktionsstörung betroffener Ferkel. Die Ätiologie des Merkmals kann hinsichtlich der teilweise widersprüchlichen Befunde noch nicht als geklärt angesehen werden.

Die Erbllichkeit des Merkmals sowie existierende Rassenunterschiede wurden mehrfach nachgewiesen. Als besonders anfällig können die Landrasse und Piétrain angesehen werden; zwei Rassen, die in der Vergangenheit stark züchterisch bearbeitet wurden, die Landrasse überwiegend als Mutterlinie auf Wurfleistung und Piétrain als typische Vaterrasse auf einen hohen Fleischanteil. Aus dieser Beobachtung wurde gefolgert, daß indirekt eine Kontraselektion im Hinblick auf das Syndrom praktiziert wurde (MAASS und SCHULZE, 1979; KOLB, 2002). Trotz einer Vielzahl von Untersuchungen ist es bislang nicht gelungen, den Erbgang und die Pathogenese des Syndroms Spreizer aufzuklären. Das Merkmal ist

vermutlich stark geschlechtsbeeinflusst (SELLIER und OLLIVIER, 1982), ohne daß eine Geschlechtskopplung vorliegt. Neuere Ergebnisse von Untersuchungen zum Erbgang (STIGLER et al., 1991; THALLER et al., 1996) sind widersprüchlich und basieren auf Analysen ohne Berücksichtigung eines Geschlechtseffektes. Als gesichert kann nur gelten, daß der Erkrankung kein einfacher mendelscher Erbgang zugrunde liegt.

Aufgrund der gesichteten genetischen, nicht-genetischen und morphologischen Befunde in der Literatur kann das Syndrom Spreizer als ein Paradebeispiel für eine komplexe genetische Erkrankung betrachtet werden. Aus diesem Grund wird in der vorliegenden Arbeit ein Genomscan an Ferkeln, die an dem Syndrom Spreizer erkrankt sind, beschrieben. Es wurden somit, aufgrund der berechneten Positionen bekannter Markerloci, die unbekanntes Krankheitsloci auf einen möglichst kleinen chromosomalen Bereich eingegrenzt. Da der Erbgang bisher nicht bekannt ist, wurde für die Analyse eine nichtparametrische Auswertung durchgeführt, d. h. es wurden keine Annahmen über den Erbgang des Merkmals gemacht.

3 Material und Methoden

3.1 Tiere und Familienstruktur

Für die chromosomale Identifizierung putativer Spreizergene wurde Tiermaterial benötigt, in dem vermehrt Spreizferkel auftreten und somit davon ausgegangen werden kann, daß kausale Gene segregieren. Innerhalb der Literatur wurde insbesondere für die Landrasse eine gesteigerte Frequenz im Vergleich zu anderen Rassen beschrieben (VOGT et al., 1984; SPICER et al., 1986; TOMKO, 1993; KOLB, 2002). Aus dieser Beobachtung heraus erfolgte die Merkmalerfassung an Reinzuchtieren der Deutschen Landrasse auf einem Basiszuchtbetrieb der Firma Schaumann Besitz-Hülseberg GmbH & Co. KG. Die Erfassung fand während einer ca. 18 Monate andauernden Periode innerhalb sämtlicher auf diesem Betrieb produzierten Würfe statt. Die Klassifizierung und Probensammlung der Ferkel wurde von geschultem, betriebseigenem Personal durchgeführt. Somit konnte gewährleistet werden, daß Klassifizierungsfehler minimiert waren. Routinemäßig wird bei allen Sauen des Basiszuchtbetriebes eine Gewebeprobe des Ohrknorpels entnommen und Spermaproben der eingesetzten Eber. Diese Routinesammlung wurde durch die Sammlung der Proben von Spreizferkeln ergänzt. Während der Materialsammlung wurden bei den vom Spreizersyndrom betroffenen Ferkeln Gewebeproben in Form von ca. 1,5 cm langen Schwanzenden, bis maximal 12 h nach der Geburt, gesammelt. Das Geschlecht der Ferkel wurde zum Zeitpunkt der Sammlung des Tiermaterials nicht erhoben, da die Ferkel noch keine Einzeltierkennzeichnung erhielten, um durch die Probenahme den zusätzlichen Arbeitsablauf des Betriebes so gering wie möglich zu halten.

Aufgrund der vorangegangenen Angaben zur Häufigkeit des Merkmals Spreizer auf dem Betrieb bestand die Planung, daß statt betroffener Vollgeschwister (affected sib pairs) innerhalb eines Zeitraums von etwa 1,5 Jahren betroffene Halbgeschwisterfamilien (affected half sibs) für die Analyse gesammelt werden. Insgesamt wurden in der vorliegenden Studie acht große Halbgeschwisterfamilien erfaßt. Aus insgesamt 1.165 geborenen Ferkeln resultierten 1.117 lebend geborene und 246 betroffene Nachkommen, entsprechend 22 % der lebend geborenen. Abgesetzt wurden 942 Ferkel, von denen 501 männlich und 441 weiblich waren. Eine Übersicht der einzelnen Familien ist in Tabelle 3 gegeben.

Tabelle 3: Anzahl (n) lebend geborener, tot geborener, männlicher und weiblicher abgesetzter Ferkel sowie Anzahl und Anteil der Spreizferkel in den untersuchten Familien

Familie	Ferkel		n abgesetzte Ferkel		Spreizferkel	
	leb. geb. ¹	tot geb. ²	männlich	weiblich	Anzahl	% ³
1	86	5	35	39	14	16,3
2	142	6	65	59	27	19,0
3	87	4	36	36	17	19,5
4	104	5	39	48	19	18,3
5	243	4	124	84	68	28,0
6	295	12	135	108	68	23,0
7	84	7	32	37	19	22,6
8	76	5	35	30	14	18,4
Gesamt	1.117	48	501	441	246	22,0

¹ = lebend geborene

² = tot geborene

³ = prozentualer Anteil Spreizferkel in den Familien, bezogen auf lebend geborene Ferkel

Die Anzahl der vom Spreizersyndrom betroffenen Nachkommen variierte innerhalb der Familien von 14 bis 68 (Tabelle 4). Das Geschlechtsverhältnis unter den befallenen und untersuchten Nachkommen betrug 173 männliche zu 73 weiblichen Tieren. Die ausgewählten Nachkommen stammten aus 105 Würfen und wurden im Zeitraum von Mai 1998 bis März 1999 von 99 verschiedenen Sauen geboren. Von sieben Sauen war keine Gewebeprobe vorhanden, aus diesen Anpaarungen resultierten 24 Ferkel. Inklusiv der Eltern ergab sich somit eine Gesamtanzahl von 346 Schweinen, an denen die Typisierungsarbeiten durchgeführt wurden.

Tabelle 4: Anzahl (n) und Geschlecht betroffener Nachkommen sowie Anzahl der Würfe der untersuchten Familien

Familie/Eber	Spreizferkel			n Würfe
	n	n männliche	n weibliche	
1 – e148	14	9	5	7
2 – e151	27	20	7	13
3 – e185	17	11	6	8
4 – e219	19	17	2	9
5 – e189	68	49	19	25
6 – e206	68	48	20	28
7 – e199	19	7	12	8
8 – e202	14	12	2	7
Gesamt	246	173	73	105

Bedingt durch sechs Sauen, die an je zwei Eber angepaart wurden, konnten fünf Familien in einem Pedigree zusammengefaßt werden (Abbildung 1). Die Familiennummer in Klammern ist für die Zuordnung der Familiengröße (Tabelle 4) angegeben. Den Familien 3, 7 und 8 wurde je ihr eigenes Pedigree zugewiesen.

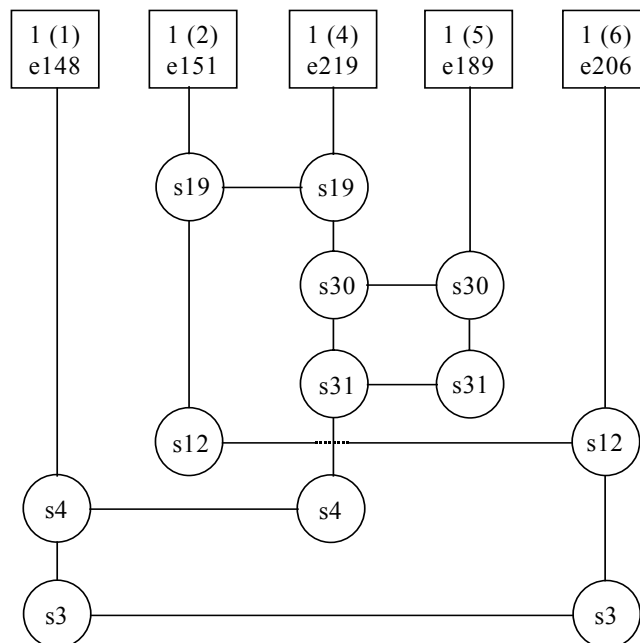


Abbildung 1: Kombination von fünf väterlichen Halbgeschwisterfamilien in einem Pedigree über zweifach angepaarte Sauen (runde Felder), eckige Felder = 5 Eber, die in einem Pedigree integriert wurden über sechs mehrfach angepaarte Sauen

Diese Verknüpfungen zwischen den Halbgeschwisterfamilien wurde bei der Berechnung der Markerkarten berücksichtigt.

In der Untersuchung wurden sowohl Primipara als auch Multipara betrachtet. Die Multipara verteilten sich auf die Wurfnummern 2 bis 9 und 12. Innerhalb aller Wurfnummern überwog der Gesamtanteil männlicher Ferkel den der weiblichen. In Tabelle 5 werden die Häufigkeiten der erkrankten Nachkommen den einzelnen Wurfnummern der Sauen zugeordnet.

Tabelle 5: Wurfnummer, Anzahl und Anteil in % der Sauen, Anzahl und Anteil in % der Spreizernachkommen innerhalb der Wurfnummer

Wurfnummer	Sauen		Spreizferkel	
	Anzahl	Anteil in %	Anzahl	Anteil in %
1	22	21,0	51	20,7
2	25	23,8	51	20,7
3	16	15,2	41	16,7
4	15	14,3	24	9,8
5	8	7,6	21	8,5
6	7	6,7	21	8,5
7	6	5,7	18	7,3
8	4	3,8	14	5,7
9	1	1,0	4	1,6
12	1	1,0	1	0,4
Gesamt	105	100	246	100

Aus Tabelle 5 wird ersichtlich, daß 44,8 % der Sauen im Experiment den Wurfnummern 1 und 2 zugeordnet werden können. Erwartungsgemäß nimmt der Anteil betroffener Nachkommen mit der sich verringernden Anzahl an Sauen in den Wurfnummern ab. Auffällig ist, daß Sauen im 4. und 5. Wurf eine annähernd gleiche Anzahl an Spreizferkeln beisteuern.

3.2 Material für Laboruntersuchungen

Die verwendeten Standardchemikalien, die nachfolgend nicht aufgeführt sind, wurden von den Firmen Merck (Darmstadt) und Sigma (Deisenhofen) bezogen.

Chemikalien, Enzyme und Verbrauchsmaterial

Costar (Niederlande)	Thin-wall Polycarbonate 96 Well Plate (Modell P)
Eppendorf (Deutschland)	Polyethylen-Reaktionsgefäße, 1,5 ml
Gentra Systems (USA)	Puregene, DNA Isolation Kit
Merck (Deutschland)	Borsäure, Bromphenolblau, EDTA, Ethidiumbromid, Proteinase-K
Pharmacia (Deutschland)	dNTP-Mix, 10x Reaktionspuffer, <i>Taq</i> -Polymerase
Promega (Deutschland)	Vektor pGEM-4Z Plasmid DNA
Roche (Deutschland)	RNAse
Sarstedt (Deutschland)	96 Well Multiply-PCR Plate
Sigma (Deutschland)	Tris-Base, Xylencyanol, Dextranblau

Puffer und Lösungen

Für die Herstellung von Lösungen und Puffer wurde Aqua bidest. verwendet. Nicht dargestellte Lösungen wurden entsprechend den bei SAMBROOK et al. (1989) beschriebenen Protokollen angefertigt.

Extraktionspuffer für DNA-Extraktion aus Sperma (1 Liter)

- 100 mM NaCl
- 10 mM Tris (pH = 8,2)
- 2 mM EDTA (pH = 8,0)
- 1 % SDS

PBS-Lösung (1 Liter)

8,0 g NaCl
 0,2 g KCl
 Na₂HPO₄ x 12H₂O
 0,24 g KH₂PO₄

Agarosegel-Elektrophorese

TE-Puffer 10 mM Tris-HCl (pH = 7,5)
 1 mM EDTA

Auftragspuffer (10ml) 6,3 g Glycerin
 20 mg SDS
 0,2 ml Farbstofflösung mit 2,5 % Bromphenolblau und 2,5 %
 Xylencyanol mit 0,5x TBE-Puffer ad 10 ml

Fragmentanalyse in der Sequenzierereinrichtung (ABI 377)

Ansatz des Polyacrylamidgels:

Acrylamid/Bis-Lösung 30 % (29:1); Roth (Rotiphorese NF)

Harnstoff; Roth (Rotiphorese NF)

5x TBE-Puffer

Wasser für die HPLC-Anwendungen; Roth

10%ige Ammoniumperoxodisulfat-Lösung (w/w); Merck

TEMED (N,N,N',N'-Tetramethyldiamin); Roth

Ladepuffer:

100 ml Formamid; Cabiochem

25 ml EDTA-Lösung 25 mM, pH 8,0; Merck (Titriplex III)

1,2 g Blue Dextran; Sigma

Für den Ladepuffer wurde eine Stammlösung von 5x TBE-Puffer angesetzt, die kurz vor der Verwendung auf 1x Konzentration verdünnt wurde mit Milli-Q-Wasser.

Ansatz des 5x TBE-Puffers:

54 g Tris(hydroxymethyl)aminomethan; Roth

27,5 g Borsäure; Merck

3,7 g Titriplex III (Ethylendinitrilotetraessigsäure, Dinatriumsalz-Dihydrat); Merck ad 1 Liter mit Milli-Q-Wasser

Geräte

Zur Durchführung der Arbeiten wurden die folgenden Geräte verwendet:

Pipettierautomat	Modell RSP 150/4, Tecan
Sequenzierereinrichtung	ABI PRISM 377, Perkin Elmer Cetus
Thermocycler	UNO-II-96-Thermocycler, Biometra

3.3 Molekulargenetische Untersuchungen

Die für dieses Projekt erforderlichen molekulargenetischen Methoden wurden im institutseigenen Labor in Kiel durchgeführt. Sie umfaßten die DNA-Isolierung und -Lagerung aus dem Probenmaterial, die Darstellung geschlechtsspezifischer Amplifikationsprodukte, die bei Anwesenheit des auf dem Y-Chromosom lokalisierten *SRYB*-Gens ein Produkt ergeben, sowie die Bestimmung von Mikrosatelliten-Fragmenten für den Genomscan.

3.3.1 Extraktion der DNA aus Gewebeproben

Die Gewebeproben der Sauen lagen in Form eines Stückes des Ohrknorpels mit einem Gesamtgewicht von je ca. 30 mg vor. Von den Spreizernachkommen lagen ca. 1,5 cm lange, kupierte Schwanzenden vor, von denen je 20 bis 30 mg abgetrennt wurden. Die Lagerung der Gewebeproben erfolgte in 1,5-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen bei -23°C .

Die Extraktion der genomischen DNA aus den Ohrknorpeln und Schwanzenden erfolgte nach einem Protokoll und mit dem Anwendungspaket Puregene (Gentra Systems). Hierzu wurden mit einem sterilen Skalpell ca. 30 mg Gewebe abgetrennt und mit 600 μl Extraktionspuffer (Cell Lysis Solution, Gentra Systems) sowie 1 μl Proteinase-K-Lösung zum Zellverdau versetzt und aufgeschüttelt. Anschließend wurden die Proben über Nacht bei 55°C inkubiert. Am nächsten Tag erfolgte die Eliminierung der RNA durch Zugabe von 1 μl RNase (10 mg/ μl) mit anschließendem Aufschütteln und einer weiteren Inkubation bei 37°C für 30 min. Zur Proteinfällung wurden die Proben in einem weiteren Schritt mit 200 μl Proteinfällungslösung (Gentra Systems) versetzt, aufgeschüttelt und für 3 min bei $13.000 \times g$ (Raumtemperatur = RT) zentrifugiert. Zum Ausfällen der DNA wurde der Überstand dekantiert und in 600 μl Isopropanol (100 %) geschwenkt, bis eine Akkumulation der DNA sichtbar wurde. Nachdem die so gelöste DNA für 1 min zentrifugiert wurde ($13.000 \times g$, RT) und der Überstand abgegossen wurde, schloß sich eine Reinigung mit 600 μl

70%igem Ethanol sowie ein wiederholtes Zentrifugieren (1 min, 13.000 x g, RT) an. Das überschüssige Ethanol wurde abpipettiert und die Pellets im geöffneten Gefäß für 20 min an der Luft getrocknet und dann in jeweils 200 µl Puffer (Tris-HCl, pH 8,5) resuspendiert. Zur optimalen Lösung der DNA wurden die Proben für 4–6 h bei 40° C in einer langsamen Rotation bewegt. Die Aufbewahrung der Proben erfolgte kurzfristig bei 4° C, die langfristige Lagerung fand bei –23° C statt.

3.3.2 Extraktion der DNA aus Sperma

Als Ausgangsmaterial für die DNA-Extraktion der acht im Experiment betrachteten Eber standen ca. 2 ml tiefgefrorenes Sperma zur Verfügung. Die Isolierung der DNA erfolgte in Anlehnung an das bei XU (1997) beschriebene Protokoll. In einem ersten Reinigungsschritt wurde 500 µl Sperma in 1,7 ml PBS-Lösung aufgeschüttelt und anschließend für 5 min (4000 x g, RT) zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert und dieser Schritt einmal wiederholt. Im Folgenden wurden dem Pellet 600 µl Extraktionspuffer und 66,7 µl 0,5 M DTT sowie 30 µl Proteinase K (20 mg/ml) zugegeben und aufgeschüttelt, es folgte eine Inkubation bei 65° C über Nacht. Zum Ausfällen der DNA wurde diese Lösung am folgenden Tag mit 220 µl gesättigter NaCl-Lösung (ca. 6 M) versetzt und aufgeschüttelt, danach wurde die Probe für 10 min bei 17.860 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde in 1680 µl 100%iges Ethanol überführt und gemischt. Zur Reinigung wurde die DNA mit einer Pipettenspitze entnommen und in 1680 µl Ethanol (70 %) aufgenommen. Im letzten Schritt wurde das Pellet wiederholt entnommen, kurz angetrocknet und in 200 µl Puffer (Tris-HCl, pH 8,5) resuspendiert. Die Lagerung erfolgte analog zu den oben beschriebenen Gewebeproben.

3.3.3 Qualitätsbeurteilung und Konzentrationsbestimmung der extrahierten DNA

Die qualitative Beurteilung der gewonnenen DNA erfolgte auf einem 0,8%igen Agarosegel. Die elektrophoretische Auftrennung erfolgte für ca. 30 min bei 10 V/cm. Nachfolgend wurden die Gele unter UV-Licht fotografiert und untereinander verglichen. Die Qualität der isolierten DNA ergab sich aus dem Grad der Fragmentierung der erhaltenen Banden. Die Konzentration und Reinheit der DNA wurde photometrisch bei 260 nm und 280 nm bestimmt (SAMBROOK et al., 1989). Vor der Messung wurde die DNA mit bidest. Wasser 1:50 verdünnt. Die Konzentration wurde nach der Formel: $[(OD_{260} \times 50 \mu\text{g/ml}) \times \text{Verdünnungsfaktor}]$ und die Reinheit nach der Formel: $[OD_{260}/OD_{280}]$ ermittelt. Je nach gemessener Konzentration wurde

die in Tris-HCl gelöste DNA auf einheitlich 100 ng/µl eingestellt. Die Lagerung der gelösten DNA erfolgte bei -23° C in 1,5-ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen.

Als Vorbereitung für die Vorlage der DNA in PCR-Reaktionsgefäßen wurden Aliquots der Proben mit Hilfe eines Pipettierroboters, entsprechend der Organisation der Proben auf den Gelen, in 96er-Deepwell-Platten überführt und mit Tris-HCl verdünnt, so daß eine DNA-Konzentration von 8 ng/µl erreicht wurde. In einem zweiten Schritt wurden je 5 µl, entsprechend 40 ng DNA, pro Probe aus den Deepwell-Platten in 96er-PCR-Reaktionsgefäße aliquotiert. Es schloß sich eine Exsikkation der so vorgelegten, gelösten DNA für ca. 3 h bei 50° C in einem Trockenschrank an. Die Lagerung der dehydrierten DNA fand für jeweils ca. 6 Wochen bei Raumtemperatur statt.

3.3.4 Geschlechtsbestimmung

Da das Geschlecht der Ferkel bei der Probenahme nicht verzeichnet wurde, erfolgte eine Bestimmung im Labor. Die gendiagnostische Bestimmung des Geschlechts wurde nach Angaben von LOCKLEY et al. (1997) durchgeführt. Mittels einer Multiplex-PCR wurden geschlechtsspezifische Amplifikationsprodukte dargestellt, die bei Anwesenheit des auf dem Y-Chromosom lokalisierten *SRYB*-Gens ein Produkt von 163 bp ergeben. Simultan wurde eine Kontrollsequenz mit einer Fragmentgröße von 445 bp, aus dem *ZFX/ZFY*-Gen, das auf beiden Geschlechtschromosomen vorhanden ist, amplifiziert. Die Primersequenzen sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Primersequenzen für die Geschlechtsbestimmung

Chr.	Locus	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')	Ref.
Y	<i>SRYB</i>	tga acg ctt tca ttg tgt ggt c	gcc agt agt ctc tgt gcc tcc t	1
XY	<i>ZFX/ZFY</i>	ata acc acc tgg aga gcc aca agc t	gca ctt ctt tgg tat ctg aga aag t	2

Ref. = Referenz: 1 = POMP et al. (1995), 2 = AASEN und MEDRANO (1990)

Chr. = Chromosom

Die Multiplex-PCR für die Amplifikation der Genprodukte wurde mit 5 µl in Puffer (Tris-HCl, pH 8,5) gelöster DNA (6 ng/µl) durchgeführt. Der Reaktionsansatz setzte sich im einzelnen zusammen aus 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 10 mM Tris-HCl (pH 9,0), 200 µM dNTP, 0,1 µM je Primer und 0,8 U *Taq*-Polymerase.

Die PCR wurde mit 3 min bei 94° C gestartet, gefolgt von 35 Zyklen, die aus 20 sec bei 94° C, 40 sec bei 61° C und 45 sec bei 72° C bestanden. Eine Extension erfolgte für 10 min bei 72° C.

Die Darstellung der Fragmente erfolgte im 3%igen Agarosegel mit 0,5x TBE-Puffer. Pro Geltasche wurden 10 µl des Gemisches aus 10 µl PCR-Produkt und 2 µl Ladepuffer pipettiert. Die Elektrophorese bei 10 V/cm dauerte 35 bis 40 min. Anschließend wurden die Agarosegele auf einem Transilluminator im UV-Licht fotografiert. Die Klassifizierung der Fragmentlängen erfolgte über einen Vergleich mit einem simultan getrennten Standard-Marker (Φ X174/*Hinf*I). Pro getestetem Individuum waren bei männlichen Tieren zwei Banden (163 und 445 bp) ersichtlich, bei weiblichen nur die Kontrollbande (445 bp). Ein exemplarisches Fragmentmuster mit den entsprechenden Allelgrößen ist in Abbildung 2 dargestellt.

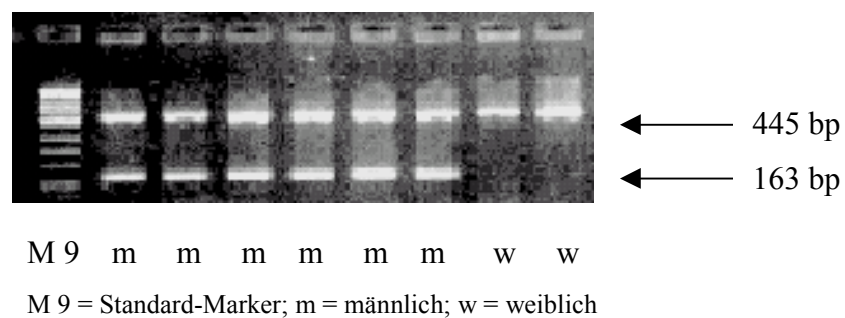


Abbildung 2: Fragmentmuster der Amplifikationsprodukte vom *SRYB*- und *ZFX/ZFY*-Gen

3.3.5 Ausgewählte Mikrosatelliten-Marker

Im Rahmen dieses Experiments wurde ein Scan der Autosomen sowie der Geschlechtschromosomen beim Schwein mit 142 Mikrosatelliten-Markern, fluoreszenzmarkiert am 5'-Ende des forward primer, durchgeführt. Im autosomalen Bereich, Sscr 1 bis 18, wurden 133 Mikrosatelliten typisiert, auf dem pseudoautosomalen Bereich der Chromosomen X und Y drei sowie sechs im nicht-pseudoautosomalen Bereich.

Grundsätzlich bestand die Forderung, einen maximalen Abstand zwischen den Mikrosatelliten-Loci von ca. 25 cM einzuhalten. Neben der Lage der Mikrosatelliten galten als weitere Auswahlkriterien ein möglichst hoher Polymorphiegrad sowie die Fragmentgröße welche, zusammen mit der vorgegebenen Fluoreszenzmarkierung entscheidend für die Zusammenstellung von Multiplex-Reaktionen waren. Maßgebend für die endgültige Auswahl

und Positionierung der Marker war hierbei der Informationsgehalt (Abschnitt 3.4) innerhalb der acht definierten Familien. Die untersuchten Mikrosatelliten sowie die spezifischen Primersequenzen sind in Tabelle A1 (Anhang) verzeichnet.

3.3.6 Optimierung der Polymerase-Kettenreaktion

Polymerase-Kettenreaktion

Die Fragmente der Mikrosatelliten wurden durch die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert, diese beruht auf einem von MULLIS und FALOONA (1987) entwickelten Prinzip der Amplifikation definierter DNA-Abschnitte unter Verwendung einer thermostabilen DNA-Polymerase. Die PCR wurde mit zwei UNO-II-96-Thermocyclern durchgeführt. Das PCR-Programm variierte hinsichtlich der Annealingtemperatur und der Anzahl gewählter Zyklen. Unverändert blieb eine Initialdenaturierung bei 94° C für 3 min und innerhalb eines jeden Zyklus eine Denaturierung bei 94° C für 20 sec, gefolgt von einer primerspezifischen Annealingtemperatur sowie einer Extension für 30 sec bei 72° C. Nach Durchlaufen der Zyklen wurde eine Schlußextension von 5 min bei 72° C gewählt. Die Vorlage der DNA für die PCR erfolgte im dehydrierten Zustand (Abschnitt 3.3.3). Der Standardreaktionsansatz für die PCR betrug 10 µl und setzte sich im einzelnen zusammen aus:

40	ng genomische DNA
50	mM KCl ^A
1,5	mM MgCl ₂ ^A
10	mM Tris-HCl (pH 9,0) ^A
0,1–0,5	µM je Primer ^B
200	µM dNTP
0,2–0,4	U <i>Taq</i> -Polymerase ^C

Die Indizes A, B und C stehen für die im Standardansatz variabel gehaltenen Mengenverhältnisse. Unter A sind die im PCR-Puffer (Pharmacia, USA) enthaltenen Komponenten in einfacher Konzentration dargestellt. Die Menge eingesetzter Primer (B) und der Units *Taq*-Polymerase (C) variierte ebenfalls, die gewählten Konzentrationen und Mengen sind in den Tabellen 7 und 8 aufgeführt.

Optimierung der PCR-Bedingungen

Über eine Primeroptimierung wurden die optimalen PCR-Bedingungen hinsichtlich der

- Annealingtemperatur,
- Anzahl Zyklen,
- der Primermenge,
- Menge eingesetzten PCR-Puffers und
- der erforderlichen Units *Taq*-Polymerase

ermittelt. Dies erfolgte in der Regel über einen Test, in dem drei Mikrosatelliten hinsichtlich ihrer Reaktionsbedingungen ausgewählt wurden und jeder Mikrosatellit separat amplifiziert wurde. Parallel wurden diese in drei Duplex-Reaktionen sowie in einer Triplex-Reaktion kombiniert (Abbildung 3). Somit ergab sich eine Anzahl von sieben PCR-Ansätzen, die zeitgleich bearbeitet, auf je vier DNA-Templates verteilt und simultan im Thermocycler amplifiziert wurden. Nach der Elektrophorese konnte über einen direkten Vergleich der amplifizierten Produkte nach einem Ausschlußprinzip, bei definierter DNA, festgestellt werden, welche Fragmente welchem Mikrosatelliten zuzuordnen waren und ob weiterer Optimierungsbedarf vorlag. Eine schnelle und eindeutige Beurteilung der Multiplexfähigkeit der verwendeten Mikrosatelliten und somit eine Rationalisierung des Testaufwandes war somit möglich.

Zum Testen der Mikrosatelliten wurde pro Reaktionsansatz jeweils die DNA von vier der im Projekt untersuchten Eber eingesetzt. Auf diese Weise konnte anhand der Testergebnisse abgesehen werden, ob die Größe der Fragmente in Basenpaaren denen in frei zugänglichen Datenbanken entsprachen (URL 2 und 3). Im weiteren konnte auf diesem Weg frühzeitig abgesehen werden, welchen Heterozygotiegrad die Eber für die getesteten Mikrosatelliten aufwiesen.

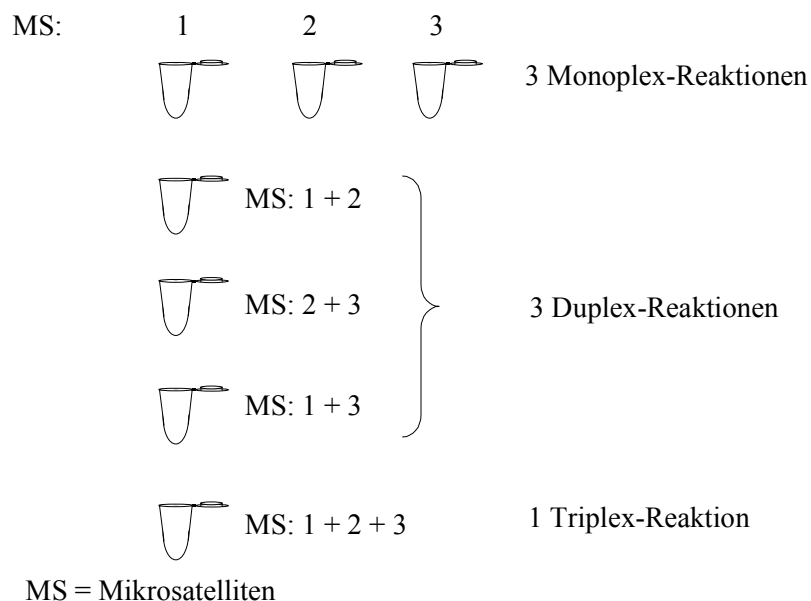


Abbildung 3: Testschema zur Erstellung von Multiplex-Gruppen, Erläuterung siehe Text

Die ermittelten und optimierten Multiplex-PCR-Bedingungen hinsichtlich der Pufferkonzentration, der Units *Taq*-Polymerase, der Primerkonzentration, der Annealingtemperatur und der Anzahl Zyklen sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Multiplex-Gruppen und PCR-Bedingungen der verwendeten Mikrosatelliten-Loci

Multiplex-Set	Locus	Chr.	Dye ¹	µl Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (°C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵
1	Sw707	XY	F	0,25	0,40	1,0	58	34
	Sw2588	XY	F	0,30				
	Swc27	14	F	0,27				
2	Sw81	16	F	0,25	0,35	1,0	58	34
	Sw2431	17	F	0,32				
	S0355	15	F	0,20				
3	Swr1533	15	T	0,50	0,30	1,0	58	33
	S0148	15	T	0,16				
	Sw262	16	T	0,45				
4	Sw1626	10	T	0,30	0,40	1,0	58	32
	Swc19	10	T	0,16				
	S0068	13	T	0,50				

Tabelle 7: Fortsetzung

Multiplex-Set	Locus	Chr.	Dye ¹	μl Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (°C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵
5	Sw1031	17	F	0,14	0,20	1,0	58	36
	Sw1325	XY	F	0,15				
	Swr982	1	F	0,33				
6	Sw951	10	H	0,30	0,20	1,0	58	38
	Sw2491	10	H	0,35				
	S0070	10	H	0,22				
7	Sw245	14	T	0,30	0,4	1,0	58	34
	Sw949	XY	T	0,25				
8	Sw328	14	F	0,23	0,30	1,0	58	34
	Sw210	14	F	0,40				
9	S0120	18	F	0,25	0,25	0,7	55	34
	S0230	11	F	0,30				
10	Sw1808	18	H	0,32	0,28	1,3	58	38
	Sw742	16	H	0,20				
11	Sw129	13	F	0,25	0,20	1,0	58	38
	S0090	12	F	0,30				
12	Sw168	12	T	0,16	0,22	1,2	58	30
	Sw2490	12	T	0,25				
13	Sw1564	2	F	0,30	0,22	1,0	58	32
	Sw1301	1	F	0,18				
14	Sw749	9	T	0,30	0,20	1,0	58	34
	Sw2419	6	T	0,32				
15	Sw983	9	H	0,28	0,20	1,2	58	34
	Sw2564	7	H	0,25				
16	Sw961	XY	H	0,12	0,22	1,2	62	36
	Sw2443	2	H	0,35				
17	Sw2570	3	T	0,16	0,20	1,3	56	33
	Sw1201	2	T	0,26				
18	Swr1004	17	F	0,28	0,22	1,0	60	36
	S0071	11	F	0,17				
19	S0036	2	H	0,27	0,20	1,2	58	38
	Sw995	5	F	0,25				
20	S0101	7	F	0,19	0,20	1,0	58	40
	Sw964	15	H	0,28				
21	S0298	16	T	0,28	0,20	1,2	60	38
	Swr1941	13	T	0,30				

Tabelle 7: Fortsetzung

Multiplex-Set	Locus	Chr.	Dye ¹	μ l Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (°C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵																																																																																																																																																																																																																								
22	Sw344	13	T	0,25	0,20	1,0	55	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw398	13	H	0,25					23	Sw77	14	H	0,22	0,22	1,2	58	40	Sw874	12	H	0,30	24	Sw2401	9	F	0,25	0,20	1,2	58	34	S0144	8	F	0,25	25	Sw957	12	H	0,20	0,22	1,2	58	34	Sw1460	11	F	0,21	26	Sw1354	7	T	0,14	0,23	1,2	58	34	Sw920	10	T	0,35	27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40	Sw1027	14	H	0,33	28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58
23	Sw77	14	H	0,22	0,22	1,2	58	40																																																																																																																																																																																																																								
	Sw874	12	H	0,30					24	Sw2401	9	F	0,25	0,20	1,2	58	34	S0144	8	F	0,25	25	Sw957	12	H	0,20	0,22	1,2	58	34	Sw1460	11	F	0,21	26	Sw1354	7	T	0,14	0,23	1,2	58	34	Sw920	10	T	0,35	27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40	Sw1027	14	H	0,33	28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18								
24	Sw2401	9	F	0,25	0,20	1,2	58	34																																																																																																																																																																																																																								
	S0144	8	F	0,25					25	Sw957	12	H	0,20	0,22	1,2	58	34	Sw1460	11	F	0,21	26	Sw1354	7	T	0,14	0,23	1,2	58	34	Sw920	10	T	0,35	27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40	Sw1027	14	H	0,33	28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																					
25	Sw957	12	H	0,20	0,22	1,2	58	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw1460	11	F	0,21					26	Sw1354	7	T	0,14	0,23	1,2	58	34	Sw920	10	T	0,35	27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40	Sw1027	14	H	0,33	28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																		
26	Sw1354	7	T	0,14	0,23	1,2	58	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw920	10	T	0,35					27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40	Sw1027	14	H	0,33	28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																															
27	Sw2618	3	H	0,30	0,20	1,1	58	40																																																																																																																																																																																																																								
	Sw1027	14	H	0,33					28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33	Sw2517	16	F	0,22	29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																												
28	Swr1343	7	F	0,12	0,20	1,0	58	33																																																																																																																																																																																																																								
	Sw2517	16	F	0,22					29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42	Sw2441	17	F	0,23	30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																									
29	Sw752	4	F	0,30	0,22	1,0	58	42																																																																																																																																																																																																																								
	Sw2441	17	F	0,23					30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34	Sw1551	8	T	0,18	31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																						
30	Sw72	3	T	0,28	0,20	1,2	58	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw1551	8	T	0,18					31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34	Sw2406	6	F	0,16	32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																			
31	Sw2098	6	F	0,33	0,20	1,0	58	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw2406	6	F	0,16					32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40	S0106	12	H	0,27	33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																
32	S0067	4	H	0,30	0,20	1,2	65	40																																																																																																																																																																																																																								
	S0106	12	H	0,27					33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42	S0087	6	T	0,36	34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																													
33	Sw2425	5	T	0,30	0,25	1,2	58	42																																																																																																																																																																																																																								
	S0087	6	T	0,36					34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42	IGF1	5	F	0,30	35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																										
34	Sw1200	5	F	0,35	0,25	1,0	58	42																																																																																																																																																																																																																								
	IGF1	5	F	0,30					35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40	Sw1841	6	H	0,33	36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																							
35	Sw175	7	H	0,27	0,24	1,5	58	40																																																																																																																																																																																																																								
	Sw1841	6	H	0,33					36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36	S0097	4	F	0,25	37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																																				
36	S0073	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36																																																																																																																																																																																																																								
	S0097	4	F	0,25					37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34	Sw1408	2	F	0,25	38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																																																	
37	Sw1902	1	F	0,25	0,20	1,2	60	34																																																																																																																																																																																																																								
	Sw1408	2	F	0,25					38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42	Sw413	5	H	0,25	39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																																																														
38	Sw21	9	H	0,30	0,20	1,2	58	42																																																																																																																																																																																																																								
	Sw413	5	H	0,25					39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																																																																											
39	Sw122	6	F	0,30	0,25	1,2	58	36																																																																																																																																																																																																																								
	ACR	5	F	0,18																																																																																																																																																																																																																												

Tabelle 7: Fortsetzung

Multiplex-Set	Locus	Chr.	Dye ¹	µl Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (°C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵
40	Sw2521	8	F	0,20	0,20	1,0	62	33
	S0289	13	F	0,20				
41	S0081	9	F	0,20	0,30	1,2	58	38
	Sw1894	10	F	0,25				
42	Sw1327	3	F	0,20	0,20	1,0	58	34
	S0332	17	T	0,10				
43	Sw1514	1	F	0,12	0,30	1,0	55	36
	S0118	15	F	0,27				
44	Sw1621	1	T	0,17	0,25	1,4	58	39
	S0320	1	T	0,32				
45	Sw2534	XY	H	0,30	0,40	1,2	60	35
	Sw2476	XY	H	0,20				

¹ = Fluoreszenzmarkierung der Primer: F = Fam, H = Hex, T = Tet

² = Konzentration 10 µmol/l je Primer

³ = Units *Taq*-Polymerase

⁴ = Annealingtemperatur der PCR

⁵ = Anzahl der Zyklen

Insgesamt ergaben sich sechs Multiplex-Reaktionen, in denen drei Mikrosatelliten gleichzeitig in einer PCR amplifiziert wurden, und 39, in denen zwei Mikrosatelliten simultan amplifiziert wurden. Neben den Multiplex-Gruppen wurden 46 Mikrosatelliten separat amplifiziert. In Tabelle 8 sind die ermittelten PCR-Bedingungen der einzeln amplifizierten Mikrosatelliten wiedergegeben.

Tabelle 8: PCR-Bedingungen separat amplifizierter Mikrosatelliten-Loci

Lfd. Nr.	Locus	Chr.	Dye ¹	µl Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (° C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵
1	S0001	4	F	0,25	0,20	1,2	50	38
2	S0009	11	T	0,27	0,30	1,3	62	37
3	S0038	10	H	0,25	0,30	1,4	62	39
4	S0105	16	H	0,30	0,25	1,2	59	38
5	S0111	16	H	0,40	0,40	1,3	56	38
6	S0141	2	H	0,20	0,20	1,4	58	34
7	S0178	8	T	0,30	0,20	1,2	65	42
8	S0182	11	F	0,30	0,20	1,0	55	38
9	S0282	13	F	0,17	0,20	1,0	60	34
10	S0292	17	H	0,22	0,23	1,2	58	40
11	S0295	9	F	0,23	0,30	1,2	58	38
12	S0296	17	T	0,23	0,20	1,0	50	34
13	S0301	4	F	0,25	0,20	1,0	58	36
14	Sw2	5	F	0,25	0,20	1,2	55	36
15	Sw29	8	H	0,25	0,20	1,1	62	40
16	Sw64	1	T	0,33	0,22	1,4	58	44
17	Sw120	15	F	0,27	0,25	1,0	60	36
18	Sw274	3	F	0,32	0,20	1,0	58	35
19	Sw335	17	H	0,35	0,25	1,2	52	38
20	Sw378	5	T	0,22	0,20	1,0	60	35
21	Sw435	11	T	0,20	0,20	1,0	60	34
22	Sw632	7	T	0,23	0,20	1,0	58	34
23	Sw703	11	H	0,35	0,25	1,2	58	38
24	Sw764	7	T	0,30	0,25	1,0	60	34
25	Sw787	18	H	0,40	0,40	1,2	60	37
26	Sw856	4	T	0,28	0,20	1,0	62	38
27	Sw864	13	T	0,25	0,20	1,0	58	39
28	Sw911	9	F	0,25	0,20	1,0	60	34
29	Sw980	XY	F	0,25	0,30	1,0	55	36
30	Sw1026	2	T	0,25	0,20	1,0	58	41
31	Sw1468	5	T	0,35	0,20	1,4	55	36
32	Sw1482	5	T	0,30	0,25	1,0	55	36
33	Sw1515	1	H	0,35	0,30	1,3	58	43
34	Sw1557	14	T	0,18	0,22	1,0	58	30
35	Sw1851	1	T	0,30	0,20	1,2	62	36
36	Sw1983	15	H	0,26	0,22	1,4	55	36
37	Sw2008	11	H	0,20	0,30	1,0	58	31

Tabelle 8: Fortsetzung

Lfd. Nr.	Locus	Chr.	Dye ¹	µl Primer ²	U <i>Taq</i> ³	Puffer	T _A (° C) ⁴	Anz. Zyklen ⁵
38	Sw2404	4	H	0,30	0,20	1,2	65	42
39	Sw2408	3	F	0,16	0,20	1,0	58	32
40	Sw2410	8	H	0,25	0,20	1,1	55	34
41	Sw2470	XY	H	0,35	0,40	1,0	58	36
42	Swc9	2	H	0,16	0,20	1,0	58	34
43	Swr773	7	H	0,25	0,20	1,2	50	38
44	Swr1101	8	T	0,27	0,20	1,2	62	38
45	Swr1637	3	T	0,26	0,20	1,0	65	40
46	Swr2516	2	H	0,18	0,20	1,4	58	34

¹ = Fluoreszenzmarkierung der Primer: F = Fam, H = Hex, T = Tet

² = Konzentration 10 µmol/l je Primer

³ = Units *Taq*-Polymerase

⁴ = Annealingtemperatur der PCR

⁵ = Anzahl der Zyklen

Die Kombination der verwendeten Multiplex-Reaktionen sowie der separat amplifizierten Mikrosatelliten für die elektrophoretische Auftrennung befindet sich in Tabelle A4 im Anhang. Durchschnittlich wurden pro Gel die PCR-Produkte von 5,38 Mikrosatelliten-Loci elektrophoretisch aufgetrennt.

3.3.7 Darstellung der Mikrosatelliten in der automatischen Sequenzierereinrichtung

Herstellung der Polyacrylamidgele

Zur Herstellung eines Gels wurden 18 g Harnstoff in 17 ml Wasser, 12 ml 5x TBE-Puffer und 7,5 ml Acrylamid/Bis-Lösung 30 % (29:1) gelöst. Nachfolgend wurde die Lösung durch einen Cellulose-Acetat-Filter filtriert und mittels einer Wasserstrahlpumpe entgast. Gegossen wurde das Gel umgehend nach Zugabe von 20 µl TEMED und 300 µl 10 %iger Ammoniumperoxodisulfat-Lösung, luftblasenfrei mittels einer Spritze. Es schloß sich eine Polymerisationszeit von mindestens einer Stunde an, wonach das Gel in die Sequenzierereinrichtung eingebaut wurde und die Pufferkammern mit 1x TBE-Puffer gefüllt wurden. Die Gele wiesen eine Stärke von 0,2 mm auf, die Distanz zwischen den Taschen, in die die Proben aufgetragen wurden, und der Detektionseinheit betrug 36 cm. Vor dem Gießen des Gels wurde ein Geltaschenkamm mit 96 Haifischzähnen zwischen die Glasplatten eingebracht. Somit waren pro Gel 96 Taschen für das Auftragen der Proben vorhanden.

Vorbereitung der Proben

Je nach Kombinationsfähigkeit der Mikrosatelliten wurden die Produkte von bis zu vier PCRs, entsprechend bis zu sieben Mikrosatelliten, gleichzeitig aufgetragen. Von den zu bestimmenden PCR-Produkten wurden 1 bis 4 µl mit 10 µl Ladepuffer, welcher mit internen Längenstandards versetzt war, gemischt und für 4 min bei 95° C denaturiert. Nach erfolgter Abkühlung (RT) des Gemischs wurde das Gel mit je 1 µl der Proben pro Bahn mit einer speziellen Achtfach-Pipette beladen.

Gel-Elektrophorese

Die PCR-Produkte wurden elektrophoretisch in denaturierter Form in vertikal angebrachten Polyacrylamidgelen aufgetrennt und automatisch detektiert. Verwendet wurde die Sequenzierereinrichtung ABI PRISM 377 DNA Sequencer. Trifft ein fluoreszenz-markiertes DNA-Fragment den Bereich des Lasers, so wird dieses zur Aussendung von Fluoreszenzstrahlung angeregt. Diese erzeugten Lichtsignale werden in einem Hohlspiegel prismatisch aufgespalten, von einer Kamera aufgenommen und als digitales Signal gespeichert. Die Sequenzierereinrichtung bot die Möglichkeit, die Temperaturkontrolle zu ändern, sowie variable Trennsysteme mit verschiedenen Trennstrecken und Laufgeschwindigkeiten. Die angewandten Parameter für die Elektrophorese waren 3000 V, 50 W und 60 mA bei einer Geltemperatur von 51° C. Die Detektion der Mikrosatelliten-Fragmente erfolgte bei einer Laserstärke des Argonlasers von 40 mW. Analysiert wurden vier Farbstoffe gleichzeitig pro Bahn: 6Fam-, Tet- und Hex-markierte Primer. Ein mit Tamra markierter Primer wurde für die internen Standard-Fragmente genutzt. Geladen wurden zuerst die Geltaschen mit ungeraden Nummern. Nachfolgend wurde die Elektrophorese für 5 min gestartet, damit die Proben in das Gel einlaufen konnten, anschließend wurden die Taschen mit geraden Nummern beladen und der Lauf gestartet. Die Laufzeit der Elektrophorese variierte je nach erwarteter Größe der Fragmente zwischen 3 bis 5 Stunden. Über eine doppelte Nutzung der Gele wurde erreicht, daß sich der zeit- und kostenintensive Aufwand zur Herstellung der Gele halbierte.

Organisation der Proben in den Polyacrylamidgelen

Auf jedem Gel waren 96 Bahnen vorhanden, von denen zwei mit einem Standardtier, das über alle Gele nicht ausgetauscht wurde, besetzt waren. Zum Test auf verunreinigte PCR-Reaktionsgefäße lief eine Bahn pro Gel ohne aufgetragene Produkte, entsprechend durften in dieser Bahn keine Fragmente erscheinen. Somit konnten maximal 93 Proben auf jedes Gel aufgetragen werden. Die Anordnung der Proben erfolgte auf Familiengelen nach einem konstant vorgegebenen Muster. Die Typisierungsergebnisse der Nachkommen konnten auf diesem Wege innerhalb eines Gels mit denen der Eltern verglichen werden. Zur Organisation

der Gele wurden vier Protokolle erstellt. Die für die PCR erforderlichen dehydrierten DNA-Proben waren analog organisiert.

Bestimmung der Fragmentlänge

Ein interner Längenstandard diente zur Bestimmung der Fragmentlängen der aufgetragenen PCR-Produkte. Dieser Standard wurde hergestellt, indem Fragmente des Vektors pGEM-4Z bei definierten Längen mittels der PCR amplifiziert wurden. Ein externer Standard wurde durch ein Tier gegeben, das auf allen Gelen unverändert blieb und jeweils mit den gleichen Markern typisiert wurde wie die untersuchte Population. Dieser sogenannte „Goldene Standard“ diente dem Vergleich der vier Familiengele untereinander.

Die Auswertung der Polyacrylamidgele wurde mit den Auswertungsprogrammen GeneScan 3.0 und Genotyper 2.1 (Applied Biosystems) durchgeführt. Das Programm GeneScan ermöglichte eine Analyse des kompletten Gelbildes. Manuell wurde überprüft, ob die detektierten Fragmente den jeweils korrekten Bahnen zugeordnet waren, gegebenenfalls erfolgte eine Korrektur. Weiterhin konnten ineinander verlaufene Spuren frühzeitig von der weiteren Analyse ausgeschlossen werden. Elektropherogramme wurden mit der Software Genotyper 2.1 erzeugt und nach der Ausgabe der Daten in Form einer Tabelle visuell ausgewertet.

3.4 Verwaltung der Typisierungsergebnisse

Die Typisierungsergebnisse und Pedigreeinformationen wurden zur weiteren Bearbeitung in die Datenbank ADRDB (REINSCH, 1999) eingelesen. Die Kontrolle der Genotypen auf mendelsche Vererbung erfolgte mit den Programmen „analyze“ bzw. GENCHECK (BENNEWITZ et al., 2002), welche Zugriff auf die Datenbank hatten. Das Programm „korgier“ erlaubte die Korrektur der eingelesenen Daten.

Mit Hilfe zweier SAS-Programme (SAS, 2002) wurde der Heterozygotiegrad der Marker und der Informationsgehalt berechnet sowie graphisch dargestellt. Beide Parameter waren maßgebend für die sukzessive Auswahl weiterer Mikrosatelliten. Der beobachtete Heterozygotiegrad der Elterngeneration ergab sich aus der Division der Anzahl der heterozygoten durch die Anzahl der gesamten Eltern. Zunächst wurde für jede Position auf einem Chromosomen und für jedes Tier die Wahrscheinlichkeit p aus allen Markerdaten berechnet. Dies ist die Wahrscheinlichkeit, daß das erste Chromosom des Vaters mit dem väterlichen Chromosom des Nachkommen abstammungsgleich (identical by descent, IBD) ist. Für einen einzelnen Marker stellt der durchschnittliche Wert von $|1-2p|$, der als Maß für den Informationsgehalt an einer Position gewählt wurde, den Anteil informativer Nachkommen von allen Nachkommen dar. Die chromosomalen Positionen der Marker wurden zunächst der USDA-Karte entnommen (URL 2) und für die abschließende Darstellung des erzielten Informationsgehaltes den Positionen der eigenen erstellten Karten.

3.5 Statistische Methoden

3.5.1 Markerkarten

Aus den Typisierungsergebnissen und dem Pedigree wurden eigene genetische Karten mit dem Programm CRI-MAP 2.4 (GREEN et al., 1990), mit den Optionen Twopoint, Build und Flips berechnet. Die dazu benötigte Input-Datei wurde mit dem Fortran-Programm „einfachr“ aus der Markerdatenbank generiert. CRI-MAP benutzt zur Kopplungsanalyse genetischer Loci einen Maximum-Likelihood-Ansatz sowie die Kosambi-Kartierungsfunktion. Die Ableitung der Anzahl der co-informativen Meiosen erfolgte mit dem Fortran-Programm „future_“.

Für die Chromosomen Ssc7 und 16 wurden die genetischen Karten approximativ erstellt, da es nicht möglich war, mit dem Programm CRI-MAP 2.4 (GREEN et al., 1990) alle Markerloci

dieser Chromosomen simultan einordnen zu lassen. Durch sukzessives Vorgehen wurde, zuerst die maximale Anzahl Markerloci bestimmt, die sich simultan anordnen ließen. Aus diesen Karten wurde anschließend je eine Kopplungskarte für Sscr 7 und 16 erstellt. Die Vorgehensweise wird in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

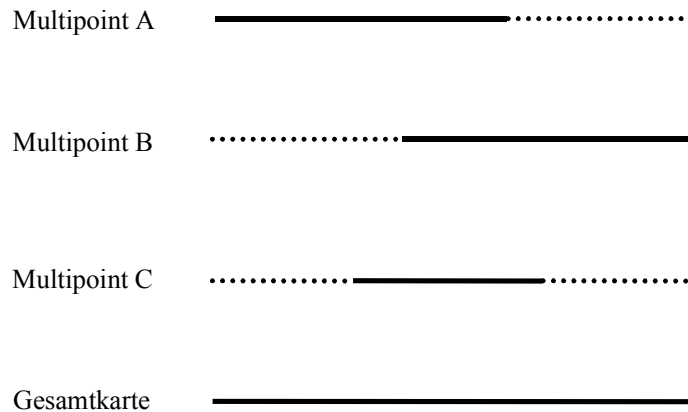


Abbildung 4: Schematische Vorgehensweise zur Anordnung der Marker-Loci für Chromosom Sscr 7 und 16. Nach Berechnung der maximalen Anzahl Loci (schwarze Linie) für die Multipoint-Karte A, wurde die maximale Anzahl für die Karte B bestimmt. Die Karte C diente der Absicherung der überlappenden Bereiche. Basierend auf diesem Schema wurde je eine Markerkarte für Sscr 7 und 16 erstellt.

Für die X-chromosomalen, nicht-pseudoautosomalen Marker wurde den acht Ebern ein hypothetischer Genotyp zugeordnet, der zwei nicht detektierbaren Allelen entsprach. Bei den weiblichen Nachkommen wurde das väterliche Allel entsprechend definiert, als ob es sich wie ein Nullallel verhalten würde. Die männlichen Nachkommen blieben unverändert, da bei diesen ohnehin nur das mütterliche Allel nachweisbar war. Ebenso blieben die typisierten Sauen unverändert. Diese Änderungen erfolgten vor dem Hintergrund, daß der berechnete Informationsgehalt der Halbgeschwisterfamilien ohne diese Modifikation zu hoch eingeschätzt würde, da die Anzahl informativer Meiosen verfälscht wäre. Da männliche Individuen nur ein X-Chromosom besitzen, kann im Normalfall keine Rekombination während der Meiose stattfinden. Dementsprechend wurde für die sechs nicht-pseudoautosomalen Marker nur die weibliche Kopplungskarte erstellt. Für die Bestimmung der Anzahlen der Allele und des Heterozygotiegrades wurde dieser hypothetische Genotyp nicht mitgezählt.

3.5.2 Merkmalsgestützte Mehrpunkt-Kopplungsanalyse

Für die Häufigkeitsanalyse merkmalsassoziierter Haplotypen wurde eine nichtparametrische Maximum-Likelihood-Methode angewendet (REINSCH, 2002). Das Prinzip der Auswertung wird im folgenden erläutert.

Unter der Annahme einer väterlichen Halbgeschwisterfamilie und einem am Krankheitslocus heterozygoten Eber (Allele D , d) mit zwei flankierenden Markern kann zwischen vier verschiedenen Typen von Nachkommen (Typ 1 bis 4) unterschieden werden, unter der Annahme, daß alle Nachkommen informativ sind. Wird unter sonst gleichen Voraussetzungen nur ein einzelner Marker betrachtet, können zusätzlich zwei Typen von Nachkommen (Typ 5 und 6) unterschieden werden (Abbildung 5).

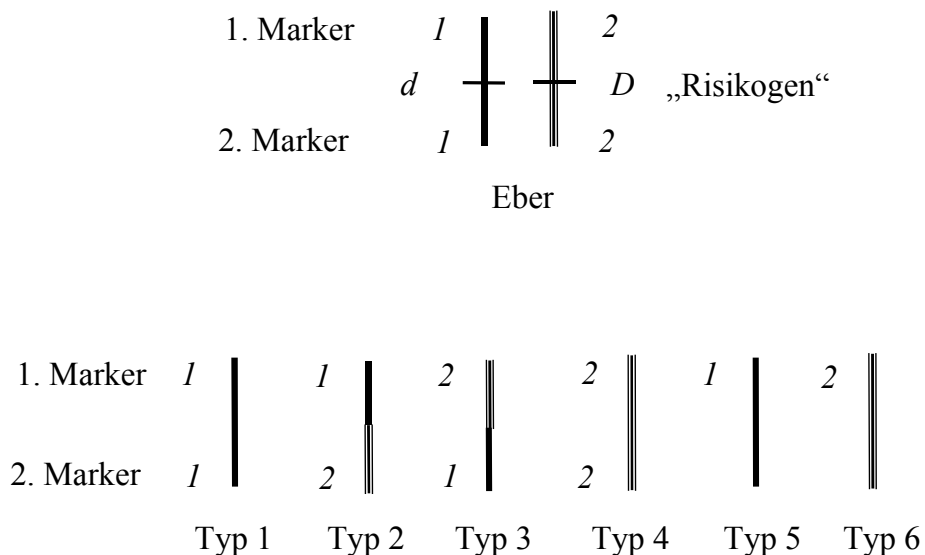


Abbildung 5: Darstellung sechs verschiedener Nachkommentypen unter den Spreizernachkommen. Unter der Annahme, daß die mütterlichen Allele nicht 1 oder 2 entsprechen und der Eber am 1. und 2. Marker heterozygot für die Allele $1-2$ ist. Nachkommen des Typs 2 und 3 sind rekombinant, Nachkommen des Typs 1 und 4 sind nicht-rekombinant, die Typen 5 und 6 weisen einen einzelnen Markerlocus auf.

Die Wahrscheinlichkeit, daß bestimmte Markerhaplotypen beobachtet werden, wurde analysiert. Diese hängen von der Rekombinationsrate (θ) zwischen Marker und Risikogen sowie vom Parameter c ab. Der Parameter c ist der relative Anstieg in der

Erkrankungswahrscheinlichkeit, verursacht vom Anfälligkeitsgen D , der vom Erbgang sowie der Genfrequenz abhängt. Für ein rezessives Gen geht c gegen unendlich oder gegen Null, in Abhängigkeit von der Kopplungsphase. Unter der Nullhypothese (kein gekoppeltes heterozygotes „Spreizergen“) entspricht $c = 1$. Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Nachkomme das Merkmal Spreizer zeigt, wenn er ein paternales d -Allel besitzt, wurde aus einem Wahrscheinlichkeitsbaum abgeleitet. Die Wahrscheinlichkeit, den Haplotyp $1-1$ bei einem befallenen Halbgeschwister zu beobachten ist:

$$h_1 = \frac{\frac{1}{2}(1-\theta_1)(1-\theta_2)p_k + \frac{1}{2}\theta_1\theta_2cp_k}{\frac{1}{2}p_k(1+c)} = \frac{(1-\theta_1)(1-\theta_2) + \theta_1\theta_2c}{(1+c)}$$

wobei $p_k(1+c)/2$ die Wahrscheinlichkeit für einen Nachkommen ist, befallen zu sein. Für die verschiedenen Typen von Nachkommen ergeben sich entsprechende Formeln (Tabelle 9). In allen Fällen kürzt sich die Erkrankungswahrscheinlichkeit p_k heraus und alle Wahrscheinlichkeiten können als Funktion des Parameters c und der Rekombinationsraten θ_1 und θ_2 zwischen Markern und dem Anfälligkeitslocus ausgedrückt werden.

Tabelle 9: Wahrscheinlichkeiten verschiedener väterlicher Haplotypen in den Typen betroffener Nachkommen (h_{1-6})

Väterlicher Haplotyp	Typen betroffener Nachkommen	h_{1-6}
1-1	1	$h_1 = \frac{(1-\theta_1)(1-\theta_2) + \theta_1\theta_2c}{(1+c)}$
1-2	2	$h_2 = \frac{(1-\theta_1)\theta_2 + \theta_1(1-\theta_2)c}{(1+c)}$
2-1	3	$h_3 = \frac{\theta_1(1-\theta_2) + (1-\theta_1)\theta_2c}{(1+c)}$
2-2	4	$h_4 = \frac{\theta_1\theta_2 + (1-\theta_1)(1-\theta_2)c}{(1+c)}$
1	5	$h_5 = \frac{(1-\theta) + \theta c}{(1+c)}$
2	6	$h_6 = \frac{\theta + (1-\theta)c}{(1+c)}$

Das Maximum der log-Likelihood einer jeden Kartenposition kann mittels eines Newton-Raphson-Algorithmus gefunden werden, indem die erste und zweite Ableitung nach c gebildet werden. Die Likelihood für das gesamte Experiment ist das Produkt aus allen diesen Wahrscheinlichkeiten für jeden Nachkommen. Für die Halbgeschwisteranalyse bekam jede der acht Familien zwei c -Werte, je einen für männliche und weibliche Nachkommen. Über diese Vorgehensweise wurde der Geschlechtseinfluß berücksichtigt, da die Penetranz des Merkmals bei männlichen Tieren erhöht erscheint gegenüber den weiblichen Tieren. Demzufolge weicht der c -Wert für männliche Tiere stärker von 1 ab, als für weibliche Tiere. Es ergab sich somit bei acht Familien, unter Berücksichtigung der Geschlechts, daß die Analyse mit 16 Freiheitsgraden durchgeführt wurde. Die Auswertung erfolgte auf Grundlage der kombinierten Kopplungskarte. Die eigenen kombinierten Karten sind verzerrt durch den Geschlechtseinfluß, wiesen aber die größtmögliche Anzahl informativer und co-informativer Meiosen auf.

Unter der Nullhypothese waren alle 16 Werte gleich 1. Für den Genomscan wurden alle möglichen Positionen durchprobiert, wobei in der jeweiligen Familie alle Marker auf einem Chromosomen gleichzeitig berücksichtigt wurden. Bei der Ableitung der Irrtumswahrscheinlichkeit wurden berücksichtigt, daß die Teststatistik (χ^2) umso höher wird, je mehr c -Werte berechnet werden. Zum Vergleich der erzielten Ergebnisse wurde mittels eines SAS-Programms (SAS, 2002) ein LOD-Score ermittelt mit einem Freiheitsgrad, der zu der gleichen punktwisen Irrtumswahrscheinlichkeit führt wie der durchgeführte Test mit 16 Freiheitsgraden.

4 Ergebnisse

4.1 Resultat der Geschlechtsbestimmung

Das Geschlecht der Spreizferkel wurde gendiagnostisch mittels einer Multiplex-PCR bestimmt. Ein Y-Chromosom spezifisches Produkt des *SRYB*-Gens konnte bei 173 von 246 untersuchten Ferkeln nachgewiesen werden. Bei zwei Ferkeln wurde nachträglich das Geschlecht von männlich in weiblich geändert. Dies geschah vor dem Hintergrund, daß bei der Analyse von Mikrosatelliten im nicht-pseudoautosomalen Bereich der Geschlechtschromosomen a priori erwartet wurde, daß männliche Tiere sich so verhalten, als wenn sie ein Nullallel aufweisen, da sie nur ein X-Chromosom besitzen. Für die zwei Nachkommen wurden anhand von sechs nicht-pseudoautosomalen Markern je viermal an unterschiedlichen Loci ein heterozygoter Genotyp ermittelt. Aufgrund dieser Beobachtung geschah die Änderung.

Es wurden somit 73 Ferkel dem weiblichen Geschlecht und 173 Ferkel dem männlichen zugeordnet. Dies entspricht einem Verhältnis von männlich zu weiblich von 2,369 : 1. Die Anzahl der männlichen Nachkommen war in sieben von acht Familien höher als die Anzahl der weiblichen. Lediglich für Familie 7 konnte ein höherer Anteil weiblicher Spreizferkel dargestellt werden. Die Anzahl der männlichen und weiblichen Ferkel innerhalb der Familien sind Tabelle 4 (Kapitel 3.1) zu entnehmen.

4.2 Typisierungsergebnisse der Mikrosatelliten

Für die Identifizierung chromosomaler Spreizer-Loci wurden 136 autosomale und pseudoautosomale Mikrosatelliten ausgewählt. Hieraus ergab sich eine kombinierte Größe des untersuchten Genoms von ca. 1.934 cM mit einem durchschnittlichen Abstand zwischen den Loci von annähernd 14 cM. Im weiteren wurden sechs X-chromosomale Marker typisiert. Insgesamt wurden etwa 52.000 Genotypen bestimmt.

Bedingt durch den teilweisen Ausschluß homozygoter Eber variierte die Anzahl genotypisierter Mikrosatelliten innerhalb der acht Familien von 136 bis 140. Die Anzahl typisierter Mikrosatelliten und die Anzahl heterozygoter Loci der Eber sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Anzahl typisierter Mikrosatelliten (MS) und heterozygoter Loci je Familie

Anzahl	Familie							
	1	2	3	4	5	6	7	8
typisierte MS	140	138	136	137	137	137	140	140
heterozygote Loci	71	79	81	80	84	89	80	78

Es wurden zwei Mikrosatelliten typisiert, für die sich alle acht Eber homozygot zeigten. Dies waren Sw749 auf Sscr 9 und S0355 auf Sscr 15. Bei neun genotypisierten Mikrosatelliten wurden aufgrund von Typisierungsfehlern einzelne Familien von der Analyse ausgeschlossen. In dieser Untersuchung sind keine Nullallele auf den Autosomen aufgetreten. Bei allen sechs Mikrosatelliten des nicht-pseudoautosomalen Bereichs zeigten sich, entsprechend der Erwartung, die männlichen Tiere homozygot. Demzufolge wurde den X-chromosomalen Mikrosatelliten Sw707, Sw980, Sw2470, Sw2476, Sw2534 und Sw2588 ein durch -10 gekennzeichnetes Allel zugeordnet welches damit als nicht detektierbar galt.

Eine Abstammungskontrolle erfolgte sukzessive unter Berücksichtigung sämtlicher Typisierungsergebnisse. Lediglich sieben Ferkel wurden identifiziert, die keinem der untersuchten Eber zuzuordnen waren und von der weiteren Analyse ausgeschlossen worden sind.

Die Bestimmung der Fragmentlängen erfolgte teilautomatisiert. Nach der elektronischen Ausgabe in Form einer Tabelle erfolgte eine visuelle Kontrolle eines jeden Allels. Die ermittelten Längen der Fragmente in Basenpaaren sind im Anhang in Tabelle A2 verzeichnet. Die Fragmentlängen der Mikrosatelliten lagen zwischen 71 und 326 bp. Der geringste Abstand zwischen den Allelen betrug 1 bp. Die Anzahl der Allele auf den 133 Loci der Autosomen variierte zwischen 2 und 11, durchschnittlich waren es 5,2 pro Mikrosatellit. Auf den Gonosomen wurden neun Mikrosatelliten typisiert, drei in dem pseudoautosomalen Bereich, mit durchschnittlich 5,3 Allelen pro Locus. Die sechs Mikrosatelliten des nicht-pseudoautosomalen Bereichs wiesen durchschnittlich 3,1 Allele auf.

Die beobachteten Heterozygotiegrade (H_b -Gesamt, -Eber, -Sauen), die zugrundeliegende Anzahl genotypisierter Elterntiere sowie die Anzahl der Allele pro Locus sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Locus, Anzahl typisierter Elterntiere (n), Anzahl Allele und beobachteter Heterozygotiegrad (H_b) (H_b -Gesamt, -Eber, -Sauen) der untersuchten Mikrosatelliten-Loci

Locus	n	Anzahl Allele	H_b -Gesamt	H_b -Eber	H_b -Sauen ¹
ACR	94	7	0,72	0,50 (8)	0,74 (86)
IGF1	100	5	0,62	0,75 (8)	0,61 (92)
S0001	97	4	0,56	0,38 (8)	0,57 (89)
S0009	52	3	0,31	0,33 (6)	0,30 (46)
S0036	99	7	0,72	0,63 (8)	0,73 (91)
S0038	93	11	0,68	0,63 (8)	0,68 (85)
S0067	97	4	0,29	0,38 (8)	0,28 (89)
S0068	95	7	0,75	0,86 (7)	0,74 (88)
S0070	96	7	0,80	0,88 (8)	0,80 (88)
S0071	100	4	0,59	0,50 (8)	0,60 (92)
S0073	96	6	0,74	0,63 (8)	0,75 (88)
S0081	99	6	0,49	0,38 (8)	0,51 (91)
S0087	100	3	0,63	0,63 (8)	0,63 (92)
S0090	91	4	0,44	0,38 (8)	0,45 (83)
S0097	95	8	0,83	0,88 (8)	0,83 (87)
S0101	97	3	0,67	0,63 (8)	0,67 (89)
S0105	100	6	0,76	0,88 (8)	0,75 (92)
S0106	98	6	0,72	0,75 (8)	0,72 (90)
S0111	98	8	0,84	0,86 (8)	0,83 (90)
S0118	100	4	0,29	0,38 (8)	0,28 (92)
S0120	99	6	0,60	0,38 (8)	0,62 (91)
S0141	99	7	0,69	0,71 (7)	0,68 (92)
S0144	99	5	0,66	0,88 (8)	0,64 (91)
S0148	95	5	0,56	0,63 (8)	0,54 (87)
S0178	99	7	0,74	0,88 (8)	0,73 (91)
S0182	97	5	0,73	1,00 (8)	0,71 (89)
S0230	60	9	0,83	0,86 (7)	0,83 (53)
S0282	99	5	0,65	0,38 (8)	0,67 (91)
S0289	99	5	0,61	0,88 (8)	0,58 (91)
S0292	98	3	0,20	0,25 (8)	0,20 (90)
S0295	95	6	0,75	0,38 (8)	0,78 (87)
S0296	100	4	0,46	0,25 (8)	0,48 (92)

Tabelle 11: Fortsetzung

Locus	n	Anzahl Allele	H _b -Gesamt	H _b -Eber	H _b -Sauen ¹
S0298	100	3	0,57	0,75 (8)	0,55 (92)
S0301	86	5	0,70	0,63 (8)	0,71 (78)
S0320	97	3	0,44	0,25 (8)	0,46 (89)
S0332	98	6	0,74	0,63 (8)	0,76 (90)
S0355	94	3	0,26	0,00 (8)	0,28 (86)
Sw2	100	4	0,73	0,88 (8)	0,72 (92)
Sw21	98	3	0,48	0,88 (8)	0,44 (90)
Sw29	71	6	0,23	0,14 (7)	0,23 (64)
Sw64	96	4	0,32	0,13 (8)	0,34 (88)
Sw72	100	3	0,54	0,63 (8)	0,53 (92)
Sw77	97	8	0,70	0,75 (8)	0,70 (89)
Sw81	98	4	0,58	0,50 (8)	0,59 (90)
Sw120	99	6	0,49	0,50 (8)	0,49 (91)
Sw122	93	7	0,69	1,00 (8)	0,66 (85)
Sw129	98	8	0,85	1,00 (8)	0,83 (90)
Sw168	99	4	0,63	0,38 (8)	0,65 (91)
Sw175	100	4	0,65	0,75 (8)	0,64 (92)
Sw210	49	4	0,63	0,71 (7)	0,62 (42)
Sw245	99	7	0,73	0,75 (8)	0,73 (91)
Sw262	93	4	0,17	0,25 (8)	0,16 (85)
Sw274	98	6	0,58	0,63 (8)	0,58 (90)
Sw328	97	3	0,42	0,38 (8)	0,43 (89)
Sw335	99	3	0,57	0,88 (8)	0,54 (91)
Sw344	100	7	0,80	0,88 (8)	0,79 (92)
Sw378	67	3	0,34	0,50 (6)	0,33 (61)
Sw398	99	6	0,78	0,88 (8)	0,77 (91)
Sw413	97	4	0,65	0,75 (8)	0,64 (89)
Sw435	62	6	0,53	0,29 (7)	0,56 (55)
Sw632	93	8	0,76	0,75 (8)	0,76 (85)
Sw703	100	3	0,46	0,25 (8)	0,48 (92)
Sw707	–	3	–	–	0,48 (91)
Sw742	95	9	0,79	0,63 (8)	0,80 (87)
Sw749	50	3	0,16	0,00 (4)	0,17 (46)
Sw752	100	3	0,50	0,50 (8)	0,50 (92)

Tabelle 11: Fortsetzung

Locus	n	Anzahl Allele	H _b -Gesamt	H _b -Eber	H _b -Sauen ¹
Sw764	71	4	0,30	0,43 (7)	0,28 (64)
Sw787	76	6	0,79	0,75 (8)	0,79 (68)
Sw856	22	11	0,95	1,00 (1)	0,95 (21)
Sw864	98	4	0,56	0,63 (8)	0,56 (90)
Sw874	99	5	0,71	0,88 (8)	0,69 (91)
Sw911	98	2	0,53	0,38 (8)	0,54 (90)
Sw920	90	2	0,36	0,29 (7)	0,36 (83)
Sw949	98	5	0,31	0,38 (8)	0,30 (90)
Sw951	97	3	0,46	0,50 (8)	0,46 (89)
Sw957	99	3	0,23	0,38 (8)	0,22 (91)
Sw961	98	4	0,55	0,25 (8)	0,58 (90)
Sw964	99	7	0,67	0,63 (8)	0,67 (91)
Sw980	–	6	–	–	0,54 (92)
Sw983	100	6	0,76	0,63 (8)	0,77 (92)
Sw995	99	5	0,78	0,63 (8)	0,79 (91)
Sw1026	99	3	0,47	0,63 (8)	0,46 (91)
Sw1027	98	4	0,47	0,63 (8)	0,46 (90)
Sw1031	99	2	0,06	0,13 (8)	0,05 (91)
Sw1200	96	6	0,82	1,00 (8)	0,81 (88)
Sw1201	98	6	0,67	0,63 (8)	0,68 (90)
Sw1301	97	7	0,70	0,75 (8)	0,70 (89)
Sw1325	97	7	0,69	0,50 (8)	0,71 (89)
Sw1327	98	3	0,68	0,75 (8)	0,68 (90)
Sw1354	99	5	0,72	0,63 (8)	0,73 (91)
Sw1408	99	6	0,51	0,88 (8)	0,47 (91)
Sw1460	99	4	0,64	0,63 (8)	0,64 (91)
Sw1468	99	5	0,58	0,38 (8)	0,59 (91)
Sw1482	89	7	0,78	0,88 (8)	0,77 (81)
Sw1514	100	6	0,76	0,75 (8)	0,76 (92)
Sw1515	95	5	0,62	0,62 (8)	0,62 (87)
Sw1551	100	5	0,74	0,75 (8)	0,74 (92)
Sw1557	94	5	0,70	0,75 (8)	0,70 (86)
Sw1564	99	3	0,14	0,25 (8)	0,13 (91)
Sw1621	99	2	0,42	0,88 (8)	0,38 (91)

Tabelle 11: Fortsetzung

Locus	n	Anzahl Allele	H _b -Gesamt	H _b -Eber	H _b -Sauen ¹
Sw1626	96	10	0,68	0,88 (8)	0,66 (88)
Sw1808	96	10	0,89	1,00 (8)	0,88 (88)
Sw1841	99	11	0,69	0,63 (8)	0,69 (91)
Sw1851	99	5	0,69	0,50 (8)	0,70 (91)
Sw1894	97	3	0,73	0,75 (8)	0,73 (89)
Sw1902	99	3	0,40	0,25 (8)	0,42 (91)
Sw1983	100	7	0,83	0,75 (8)	0,84 (92)
Sw2008	77	4	0,48	0,25 (8)	0,51 (69)
Sw2098	99	5	0,62	0,50 (8)	0,63 (57)
Sw2401	98	6	0,79	0,75 (8)	0,79 (90)
Sw2404	96	6	0,61	0,63 (8)	0,61 (88)
Sw2406	99	4	0,63	0,75 (8)	0,62 (91)
Sw2408	98	6	0,71	0,75 (8)	0,71 (90)
Sw2410	99	4	0,25	0,13 (8)	0,26 (91)
Sw2419	99	6	0,80	0,38 (8)	0,84 (91)
Sw2425	99	5	0,73	0,75 (8)	0,73 (91)
Sw2431	98	6	0,71	0,63 (8)	0,72 (90)
Sw2441	100	7	0,81	0,88 (8)	0,80 (92)
Sw2443	97	6	0,65	0,88 (8)	0,63 (89)
Sw2470	–	3	–	–	0,45 (91)
Sw2476	–	4	–	–	0,33 (92)
Sw2490	99	6	0,68	0,38 (8)	0,70 (91)
Sw2491	96	7	0,70	0,63 (8)	0,70 (88)
Sw2517	100	7	0,70	0,75 (8)	0,70 (92)
Sw2521	99	4	0,67	0,63 (8)	0,67 (91)
Sw2534	–	5	–	–	0,63 (89)
Sw2564	100	3	0,33	0,25 (8)	0,34 (92)
Sw2570	99	6	0,70	0,63 (8)	0,70 (91)
Sw2588	–	4	–	–	0,47 (92)
Sw2618	99	6	0,71	0,75 (8)	0,70 (91)
Swc9	99	7	0,48	0,50 (8)	0,48 (91)
Swc19	96	2	0,18	0,25 (8)	0,17 (88)
Swc27	98	3	0,56	0,50 (8)	0,57 (90)
Swr773	98	2	0,48	0,86 (8)	0,44 (90)

Tabelle 11: Fortsetzung

Locus	n	Anzahl Allele	H _b -Gesamt	H _b -Eber	H _b -Sauen ¹
Swr982	51	4	0,47	0,50 (6)	0,47 (45)
Swr1004	100	5	0,75	0,75 (8)	0,75 (92)
Swr1101	68	11	0,76	1,00 (5)	0,75 (63)
Swr1343	100	4	0,63	0,50 (8)	0,64 (92)
Swr1533	94	3	0,43	0,50 (8)	0,42 (86)
Swr1637	74	4	0,41	0,75 (8)	0,36 (66)
Swr1941	100	6	0,71	0,88 (8)	0,70 (92)
Swr2516	98	7	0,66	0,88 (8)	0,64 (90)

¹ = Ziffern in Klammern: Anzahl genotypisierter Eber bzw. Sauen. Maximal 8 Eber und 92 Sauen

– = nicht-pseudoautosomale Marker, männliche Tiere erscheinen a priori wie homozygot

Der Gesamt-Heterozygotiegrad variierte erwartungsgemäß stark. Die ermittelten Werte in Tabelle 11 müssen immer in Hinblick auf die zugrundeliegenden Tierzahlen interpretiert werden, da nicht immer alle Familien mit jedem Mikrosatelliten typisiert wurden. Über alle autosomalen- sowie den nicht-pseudoautosomalen Loci betrug der H_b-Gesamt = 0,59. Der Marker mit dem niedrigsten Gesamt-Heterozygotiegrad war Sw1031 mit H_b = 0,06 (n = 99) der höchste Heterozygotiegrad wurde für den Marker Sw1808 mit H_b = 0,89 ermittelt (n = 96). Innerhalb der Eber ist der geringste Heterozygotiegrad an den Markern Sw64, Sw1031 und Sw2410 mit H_b = 0,13 beobachtet worden. Das Maximum von H_b = 1 und damit Heterozygotie bei allen acht Ebern wurde lediglich bei fünf untersuchten Mikrosatelliten ermittelt (S0182, Sw122, Sw129, Sw1200 und Sw1808). Unter den Sauen wurden die höchsten Heterozygotiegrade für die Marker Sw2419 und Sw1983 mit H_b = 0,84 (n = 91 und 92) sowie Sw1808 mit H_b = 0,88 (n = 88) ermittelt. Der H_b-Sauen am Locus Sw856 mit 0,95 wurde z. B. an lediglich 21 Sauen ermittelt. Entsprechend dem Gesamt-Heterozygotiegrad und dem innerhalb der Eber wurde, für die Sauen am Locus Sw1031 mit H_b = 0,05 der geringste Wert dargestellt.

4.3 Markerkarten und Informationsgehalt der Markerloci

Aufgrund der Ergebnisse der merkmalsgestützten Mehrpunkt-Kopplungsanalyse (Abschnitt 4.4) werden im folgenden nur die Chromosomen graphisch dargestellt, die sich kopplungsrelevant zeigten, d. h. auf denen Markerintervalle identifiziert wurden, die eine höhere Teststatistik im Vergleich zu anderen Bereichen des untersuchten Genoms oder einen LOD-Score > 3 aufwiesen. Die Abbildungen der Markerkarten und des Informationsgehaltes der verbleibenden Chromosomen sind im Anhang aufgeführt.

4.3.1 Markerkarten

Anhand der untersuchten Mikrosatelliten-Loci wurde eine kombinierte Länge, inklusive der nicht-pseudoautosomalen Marker von 2.126 cM mit dem Programm CRI-MAP (GREEN et al., 1990) für das Genom ermittelt. Alle Angaben beziehen sich auf die Kartierungsfunktion Kosambi (KOSAMBI, 1944). Die Chromosomen des autosomalen Bereichs (Sscr 1 bis 18) umspannten eine Länge von 1.929 cM, für den pseudoautosomalen Bereich der Geschlechtschromosomen wurde eine kombinierte Größe von 5,1 cM und für den X-chromosomalen nicht-pseudoautosomalen Bereich von 187,5 cM dargestellt, wobei die beiden letzten Marker auf dem X-Chromosom keiner Kopplungsgruppe zugeordnet werden konnten.

Die Positionen der Mikrosatelliten (cM) entlang der kombinierten und nach Geschlechtern getrennten Karten, der LOD-Score (Zweipunkt, Twopoint) sowie die Anzahl der informativen und coinformativen Meiosen sind in Tabelle 12 wiedergegeben.

Tabelle 12: Positionen (cM) der Mikrosatelliten auf der kombinierten (komb.), der weiblichen (weibl.) und männlichen (männl.) Kopplungskarte (Multipoint), LOD-Score und Rekombinationsrate (θ) (Twopoint) und Anzahl informativer Meiosen unbekannter Phase der Marker sowie der coinformativen Meiosen

Chr. ¹	Marker	Position (cM) (Multipoint)			θ (Twopoint)	LOD-Score	inf. ² Meiosen	coinf. ³ Meiosen
		komb.	weibl.	männl.				
1	Sw1514	0,0	0,0	0,0	–	–	364	–
1	Sw1515	21,6	17,3	23,9	0,18	10,10	223	185
1	Sw64	28,8	24,0	33,2	0,07	3,14	130	37
1	Sw1851	47,3	38,1	55,1	0,19	5,31	248	95
1	Sw1621	81,5	56,1	99,8	0,30	1,49	241	115
1	Sw1902	81,7	56,1	99,8	0,00	5,12	148	27
1	Swr982	83,4	56,8	102,1	0,00	2,71	75	15
1	S0320	122,7	104,6	140,8	0,13	0,51	108	13
1	Sw1301	150,4	150,5	159,7	0,27	1,14	319	67
2	Swr2516	0,0	0,0	0,0	–	–	365	–
2	Sw2443	0,0	0,0	0,0	0,00	89,10	358	352
2	Swc9	0,5	0,0	0,8	0,01	44,55	219	193
2	S0141	25,1	36,9	21,9	0,26	4,56	337	149
2	Sw1201	39,4	52,4	34,9	0,12	16,11	250	175
2	Sw1564	55,8	68,8	51,9	0,16	1,47	97	25
2	Sw1026	59,4	68,9	56,4	0,04	12,90	260	59
2	Sw1408	84,0	85,3	83,0	0,23	7,89	308	165
2	S0036	121,2	115,7	122,3	0,32	1,87	259	175
3	Sw274	0,0	0,0	0,0	–	–	287	–
3	Sw72	41,2	37,9	44,4	0,30	0,77	203	90
3	Swr1637	44,0	45,4	44,4	0,03	14,38	188	72
3	Sw2618	63,2	77,4	57,0	0,15	5,66	275	69
3	Sw2570	82,7	96,6	78,5	0,18	10,25	259	182
3	Sw2408	104,2	143,9	87,1	0,21	5,73	234	147
3	Sw1327	118,7	164,1	100,9	0,14	7,26	325	103

Tabelle 12: Fortsetzung

Chr. ¹	Marker	Position (cM) (Multipoint)			θ (Twopoint)	LOD-Score	inf. ² Meiosen	co-inf. ³ Meiosen
		komb.	weibl.	männl.				
4	Sw2404	0,0	0,0	0,0	–	–	295	–
4	S0301	30,4	60,7	25,2	0,27	5,51	315	177
4	S0001	47,4	72,6	46,3	0,13	12,60	218	142
4	Sw752	49,3	75,9	46,3	0,01	17,18	240	78
4	S0073	70,7	104,8	65,9	0,19	6,48	272	115
4	S0067	99,4	204,8	84,5	0,21	5,17	134	95
4	S0097	121,5	233,2	106,3	0,19	7,78	373	121
4	Sw856	134,2	246,5	118,5	0,12	7,84	93	76
5	ACR	0,0	0,0	0,0	–	–	233	–
5	Sw413	0,6	1,3	0,0	0,01	36,18	276	162
5	Sw1482	18,3	15,9	19,9	0,17	11,91	305	189
5	Sw2425	45,7	66,4	41,8	0,24	9,78	334	233
5	Sw2	52,8	72,0	50,4	0,07	31,17	304	217
5	Sw1468	74,1	124,8	59,1	0,23	4,54	170	126
5	Sw1200	88,2	148,6	73,0	0,16	6,38	372	122
5	IGF1	100,0	155,4	87,4	0,13	22,20	310	235
5	Sw995	105,3	160,7	92,5	0,06	20,35	275	149
5	Sw378	115,3	176,9	99,1	0,13	4,78	83	61
6	Sw2406	0,0	0,0	0,0	–	–	305	–
6	Sw1841	16,5	4,3	25,0	0,14	10,66	249	146
6	S0087	40,2	28,2	48,0	0,22	6,52	282	159
6	Sw122	51,9	48,9	56,9	0,12	21,58	333	197
6	Sw2098	78,9	71,6	86,1	0,25	6,41	310	210
6	Sw2419	112,4	115,6	108,5	0,28	2,54	231	179
7	Sw2564	0,0	0,0	0,0	–	–	161	–
7	Swr1343	24,2	17,9	27,9	0,21	1,94	234	69
7	Sw1354	29,8	23,6	33,3	0,05	23,03	323	157
7	Sw175	74,1	54,3	81,4	0,36	1,24	329	213
7	Sw632	94,9	79,6	101,2	0,22	4,91	263	140
7	Swr773	110,3	99,1	114,7	0,18	5,37	250	93
7	S0101	121,5	112,8	124,6	0,11	12,39	237	112
7	Sw764	145,9	138,6	149,0	0,21	4,00	124	76

Tabelle 12: Fortsetzung

Chr. ¹	Marker	Position (cM) (Multipoint)			θ (Twopoint)	LOD-Score	inf. ² co-inf. ³	
		komb.	weibl.	männl.			Meiosen	Meiosen
8	Sw2410	0,0	0,0	0,0	–	–	72	–
8	Sw2521	23,1	23,1	23,1	0,46	0,00	314	49
8	Swr1101	103,0	91,2	113,1	0,48	0,00	270	177
8	Sw29	125,5	146,8	131,6	0,20	4,46	82	60
8	S0144	137,5	156,4	144,0	0,13	5,78	332	55
8	Sw1551	148,4	169,7	153,3	0,10	19,93	302	174
8	S0178	175,2	195,0	181,1	0,23	9,13	366	229
9	Sw983	0,0	0,0	0,0	–	–	229	–
9	Sw21	6,1	5,1	6,6	0,05	15,37	297	107
9	Sw911	27,4	34,3	26,2	0,19	5,63	199	92
9	Sw2401	40,0	48,4	38,0	0,12	15,89	314	168
9	S0081	68,2	83,6	56,2	0,22	2,92	198	104
9	S0295	86,6	101,5	75,0	0,17	9,76	233	155
9	Sw749	162,3	185,0	75,0	0,49	0,00	16	19
10	S0038	0,0	0,0	0,0	–	–	319	–
10	Sw1894	26,2	23,1	27,3	0,23	9,81	343	248
10	Sw2491	38,2	43,3	35,5	0,12	23,07	308	222
10	Swc19	44,8	54,7	39,7	0,03	26,07	139	115
10	S0070	50,8	77,1	39,7	0,02	26,99	354	111
10	Sw920	78,1	108,7	64,1	0,23	1,54	83	68
10	Sw951	108,4	124,5	106,5	0,28	0,20	155	27
10	Sw1626	111,6	129,3	108,0	0,03	21,85	346	128
11	Sw1460	0,0	0,0	0,0	–	–	256	–
11	Sw2008	3,6	2,7	4,4	0,03	17,01	193	88
11	S0182	18,7	39,9	9,9	0,11	19,23	382	144
11	S0071	25,0	48,0	15,1	0,07	21,96	224	152
11	S0230	33,1	64,8	18,8	0,07	17,59	251	119
11	Sw435	39,9	76,5	18,8	0,02	7,89	99	44
11	S0009	39,9	82,4	23,0	0,00	2,41	103	16
11	Sw703	62,1	96,8	45,8	0,18	4,02	167	53

Tabelle 12: Fortsetzung

Chr. ¹	Marker	Position (cM) (Multipoint)			θ (Twopoint)	LOD-Score	inf. ² Meiosen	co-inf. ³ Meiosen
		komb.	weibl.	männl.				
12	Sw2490	0,0	0,0	0,0	–	–	186	–
12	Sw957	24,9	22,9	26,5	0,29	0,10	185	22
12	Sw874	38,1	35,9	39,4	0,13	17,70	351	150
12	Sw168	42,5	45,3	40,6	0,05	27,18	234	163
12	S0090	52,6	57,2	51,3	0,10	13,91	177	115
12	S0106	68,8	86,2	58,9	0,17	5,31	298	96
13	S0282	0,0	0,0	0,0	–	–	163	–
13	Swr1941	15,2	15,0	14,5	0,14	8,82	295	141
13	Sw344	41,5	81,6	34,1	0,23	10,09	377	253
13	Sw864	43,7	81,6	37,5	0,02	44,85	268	204
13	S0068	65,3	92,0	66,0	0,22	8,68	347	191
13	Sw129	71,6	93,6	75,3	0,07	46,83	398	309
13	Sw398	79,4	98,0	85,7	0,07	37,63	311	284
13	S0289	100,8	132,1	104,1	0,18	14,25	332	216
14	Sw1027	0,0	0,0	0,0	–	–	220	–
14	Sw245	14,6	8,7	17,5	0,15	11,79	331	154
14	Sw210	28,3	19,1	32,2	0,18	4,27	132	85
14	Sw328	43,1	45,4	43,6	0,23	0,70	237	33
14	Sw77	54,6	48,9	58,4	0,11	19,00	321	159
14	Sw1557	72,2	74,1	72,6	0,18	15,34	321	218
14	Swc27	94,9	114,2	89,5	0,21	6,27	200	126
15	S0355	0,0	0,0	0,0	–	–	65	–
15	S0148	16,1	14,4	0,0	0,12	2,56	292	38
15	Sw964	30,1	35,7	10,8	0,12	21,64	293	203
15	S0118	33,9	38,7	14,2	0,04	13,40	101	86
15	Swr1533	44,6	60,2	21,4	0,13	1,31	237	18
15	Sw120	51,6	68,5	27,2	0,08	12,49	221	89
15	Sw1983	68,0	89,4	41,5	0,18	11,57	348	185

Tabelle 12: Fortsetzung

Chr. ¹	Marker	Position (cM) (Multipoint)			θ (Twopoint)	LOD-Score	inf. ²	co-inf. ³
		komb.	weibl.	männl.			Meiosen	Meiosen
16	S0111	0,0	0,0	0,0	–	–	364	–
16	Sw742	11,0	13,0	9,9	0,11	21,37	291	242
16	S0298	29,8	40,6	25,1	0,18	9,01	304	149
16	Sw81	38,6	50,0	34,1	0,11	10,91	217	95
16	Sw262	45,9	61,8	39,3	0,08	11,41	97	77
16	Sw2517	55,5	75,3	47,1	0,10	10,71	339	83
16	S0105	72,9	90,8	65,7	0,15	16,59	314	225
17	Sw335	0,0	0,0	0,0	–	–	301	–
17	Swr1004	13,0	8,8	14,7	0,13	21,37	341	206
17	S0296	25,2	35,2	20,4	0,11	9,24	141	99
17	Sw2441	30,9	42,8	26,0	0,06	18,08	370	135
17	S0292	46,0	61,9	38,6	0,12	12,76	132	109
17	Sw1031	52,2	63,2	52,8	0,04	4,80	38	25
17	S0332	70,8	95,9	62,1	0,19	5,64	328	11
17	Sw2431	74,6	103,6	62,1	0,04	30,38	259	188
18	Sw1808	0,0	0,0	0,0	–	–	400	–
18	Sw787	28,1	59,2	21,3	0,25	8,51	275	244
18	S0120	39,7	68,2	34,0	0,11	16,13	205	154
XY	Sw949	0,0	0,0	0,0	–	–	147	–
XY	Sw961	5,1	5,6	3,9	0,04	6,93	155	48
XY	Sw1325	5,1	5,6	3,9	0,00	27,09	225	129
X	Sw980	--	19,4	--	0,15	4,26	114	--
X	Sw2534	--	43,9	--	0,22	1,58	115	71
X	Sw2476	--	66,7	--	0,22	1,00	77	52
X	Sw2470	--	98,9	--	0,33	0,14	93	40
X	Sw707	--	183,7	--	0,50	0,00	97	58
X	Sw2588	--	193,1	--	0,09	3,51	84	50

¹ = Chromosom² = informative Meiosen³ = co-informative Meiosen

-- = nicht besetzt, da immer das Intervall zum folgenden Locus betrachtet wird

-- = genetische Karte wurde nur für das X-Chromosom gerechnet

Anhand der eigenen Typisierungsergebnisse wurde für die weibliche Kopplungskarte eine Länge von 2.398,5 cM und für die männliche eine Länge von 1.723,7 cM, basierend auf den Chromosomen Sscr 1 bis 18, geschätzt. Dies entspricht einem Verhältnis von 1,39 : 1 (weiblich : männlich). Die entsprechende kombinierte Karte wies eine Länge von 1.929,0 cM auf. Die Reihenfolge der Markerloci entsprach denen frei zugänglicher Datenbanken (URL 2 und 3) bzw. wurde entsprechend wie in Kapitel 3.5.1 beschrieben festgelegt.

In den Abbildungen 6, 7 und 8 sind die weiblichen, kombinierten und männlichen Markerkarten der Chromosomen Sscr 3, 5 und 11 wiedergegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 3

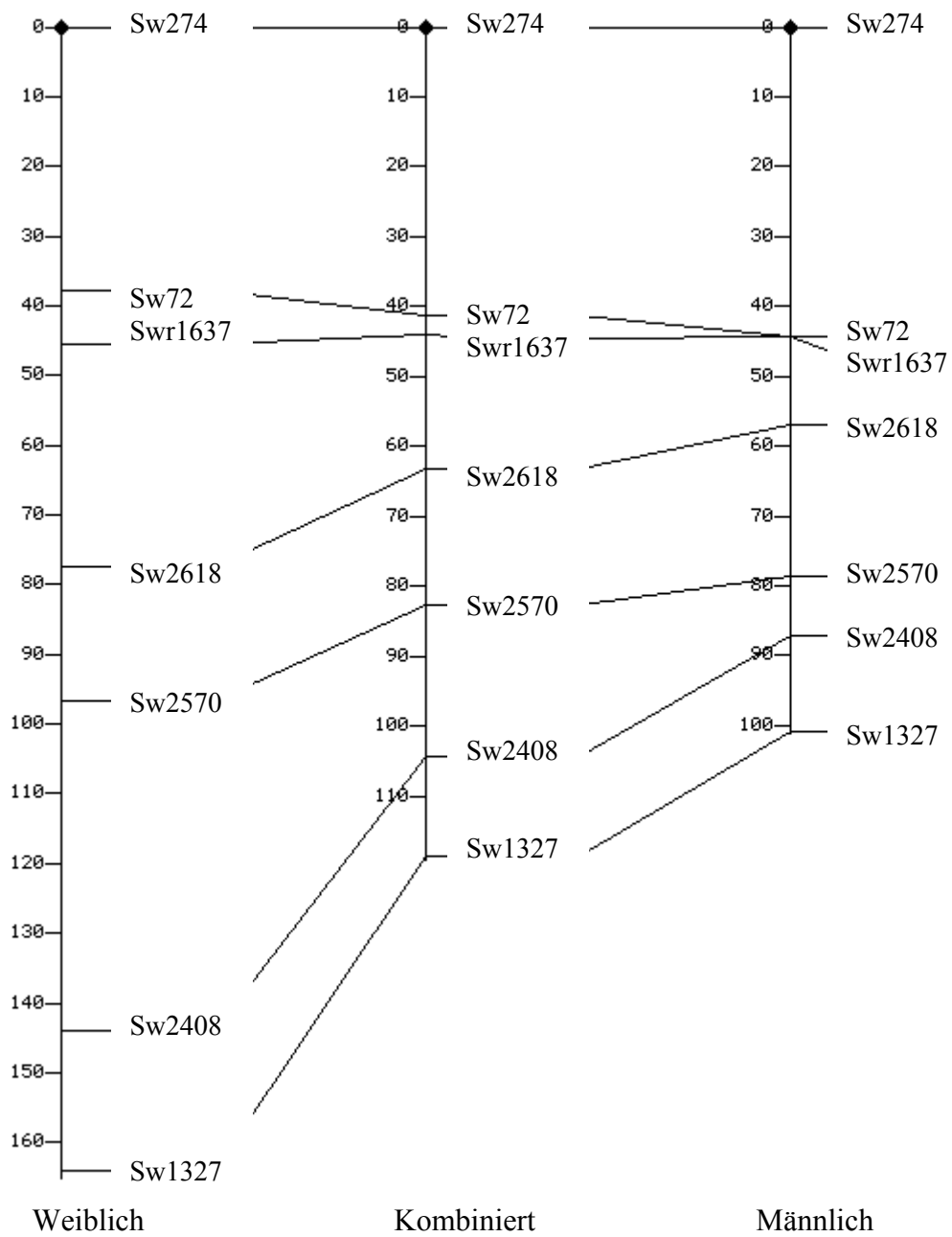


Abbildung 6: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 3. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 5

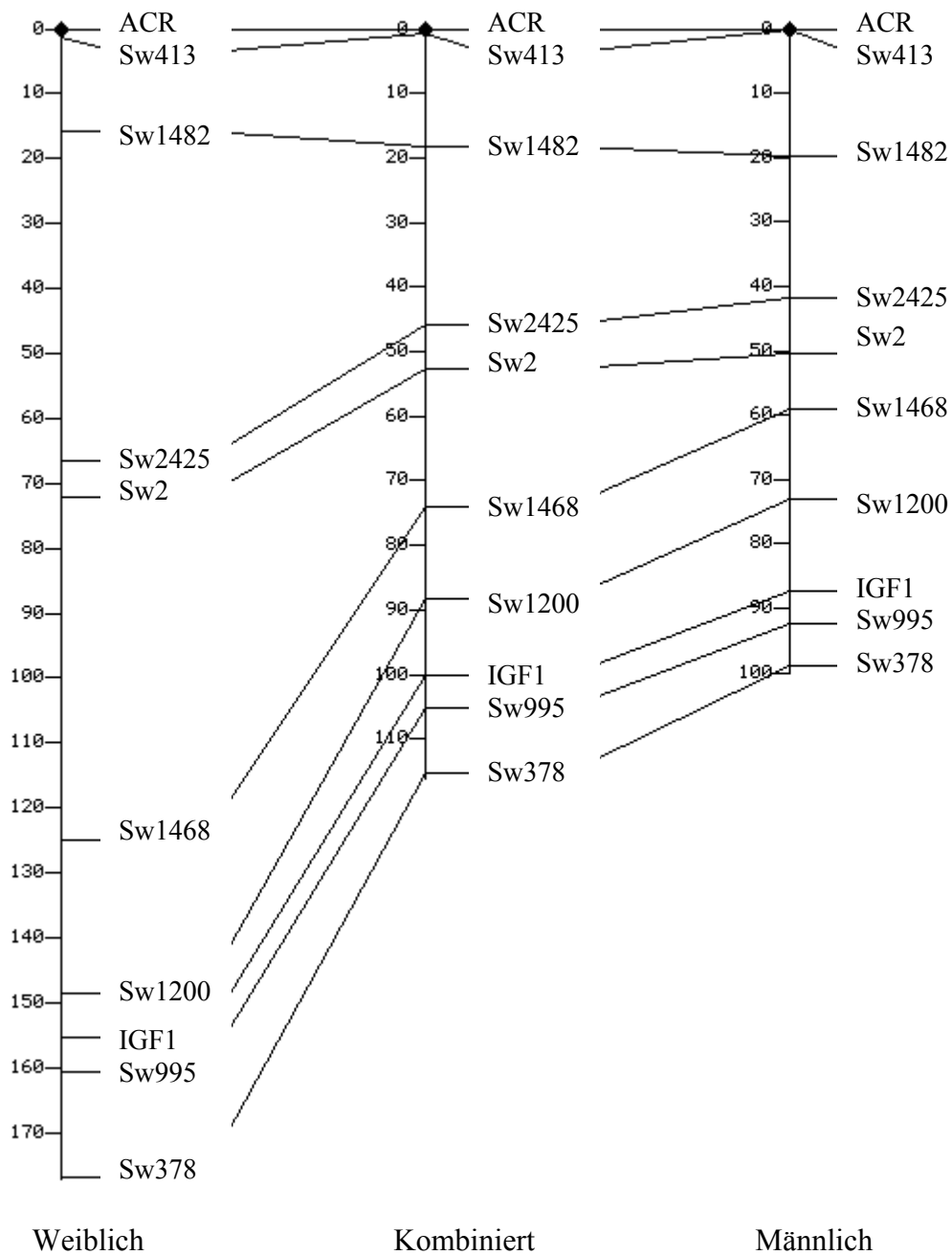


Abbildung 7: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 5. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 11

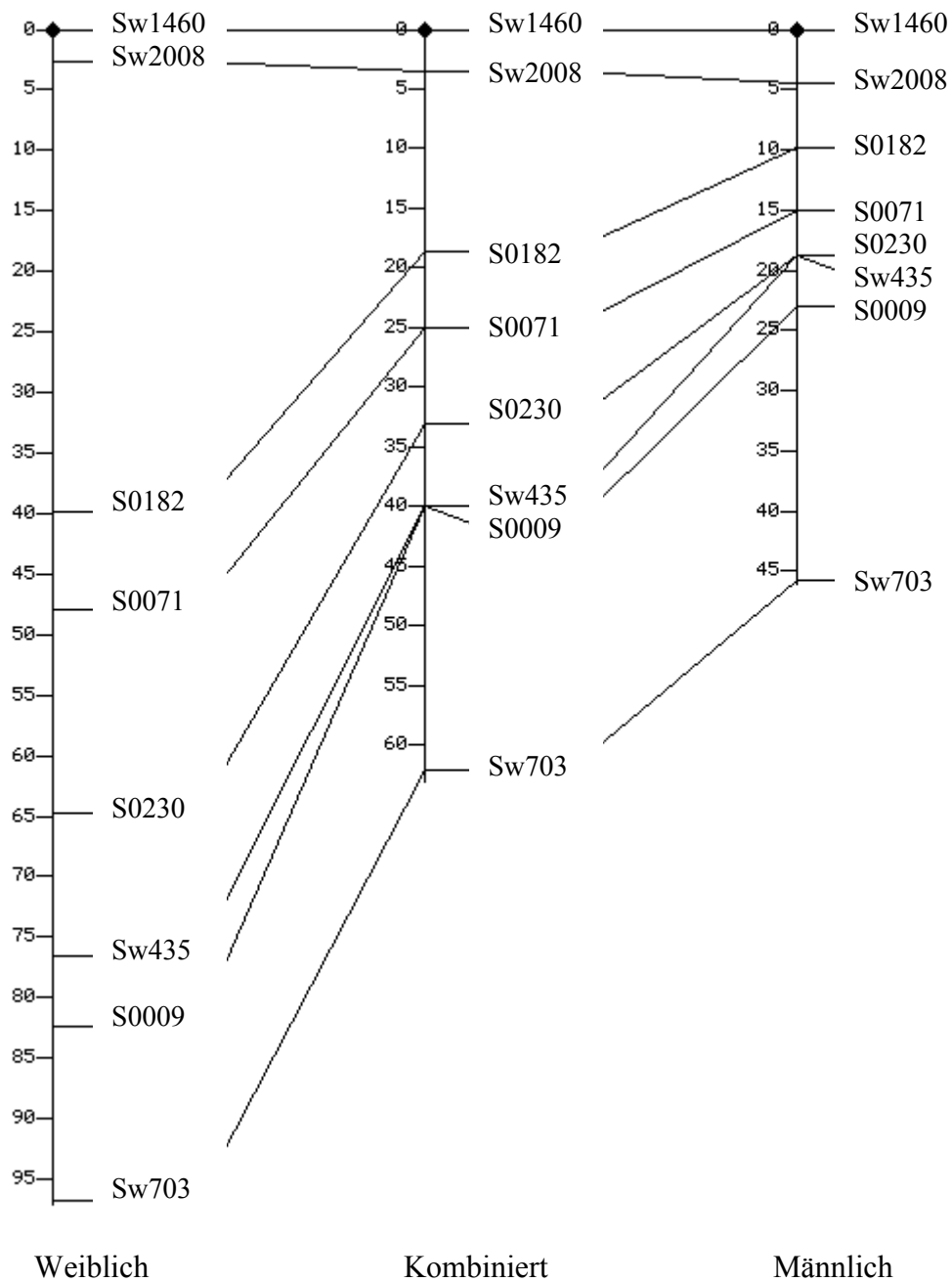


Abbildung 8: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 11. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

4.3.2 Informationsgehalt der Markerloci

Der Informationsgehalt liegt zwischen den Werten Null und Eins. Der Wert Eins impliziert, daß der Eber der betrachteten Familie heterozygot ist und bei allen Nachkommen die Ableitung des väterlichen Allels eindeutig ist. Dieser Idealfall ist unter praktischen Bedingungen kaum zu erreichen. Über die Anzahl der coinformativen Meiosen ist eine Abhängigkeit des Informationsgehalts von der Anzahl typisierter Mikrosatelliten gegeben, dies spiegelt sich insbesondere bei Markern wider, die auf den Chromosomen randständig angeordnet sind. Bei diesen ist die Anzahl der coinformativen Meiosen zu benachbarten Markern niedriger als bei zentral platzierten, so daß der Informationsgehalt des ersten und letzten Markers auf einem Chromosomen meist niedriger ist. Der durchschnittliche Informationsgehalt der untersuchten Population lag bei 0,73 auf Grundlage der kombinierten Karte. Die erzielten chromosomalen Mittelwerte sowie die Angabe der Minima und Maxima des Informationsgehaltes sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Chromosomenweiter Mittelwert, Minimum und Maximum des Informationsgehaltes auf der Markerkarte

Chromosom	Mittelwert	Minimum	Maximum
1	0,66	0,44	0,86
2	0,75	0,55	0,91
3	0,70	0,56	0,81
4	0,72	0,62	0,87
5	0,81	0,71	0,93
6	0,74	0,48	0,92
7	0,70	0,52	0,86
8	0,60	0,29	0,94
9	0,49	0,05	0,88
10	0,75	0,50	0,93
11	0,81	0,61	0,93
12	0,79	0,57	0,95
13	0,82	0,63	0,95
14	0,79	0,64	0,90
15	0,77	0,56	0,84
16	0,85	0,79	0,93
17	0,82	0,70	0,92
18	0,76	0,68	0,94
XY*	0,53	0,52	0,53
Genomweit	0,73	0,05	0,95

* = pseudoautosomaler Bereich

Eine graphische Darstellung des Informationsgehaltes auf den Chromosomen 3, 5 und 11 ist in den Abbildungen 9, 10 und 11 gegeben. Die Graphiken der verbleibenden 16 Chromosomen des Genoms befinden sich im Anhang (Abbildung A17).

Informationsgehalt auf Chromosom Sscr 3

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

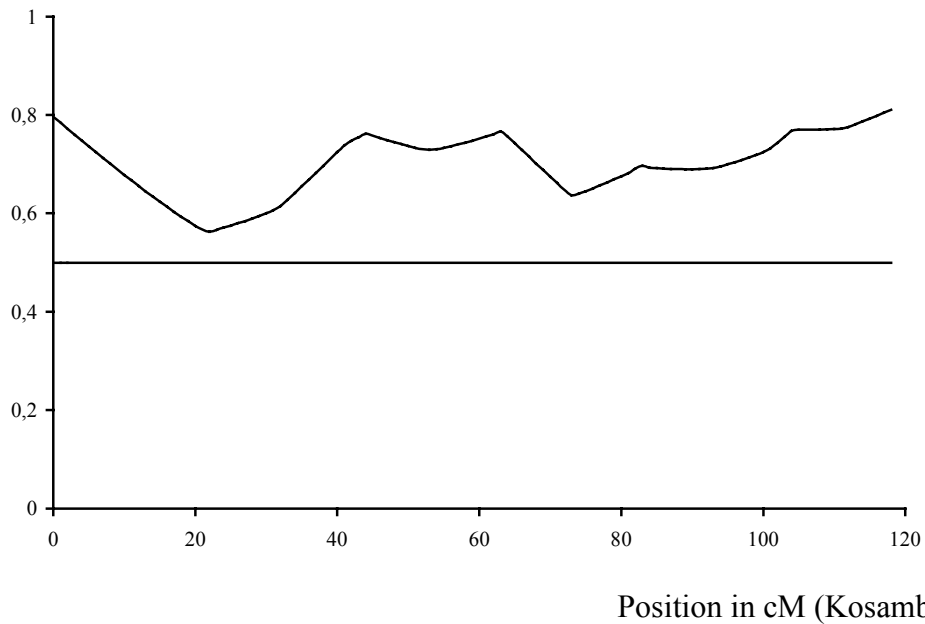


Abbildung 9: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 3

Informationsgehalt auf Chromosom Sscr 5

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

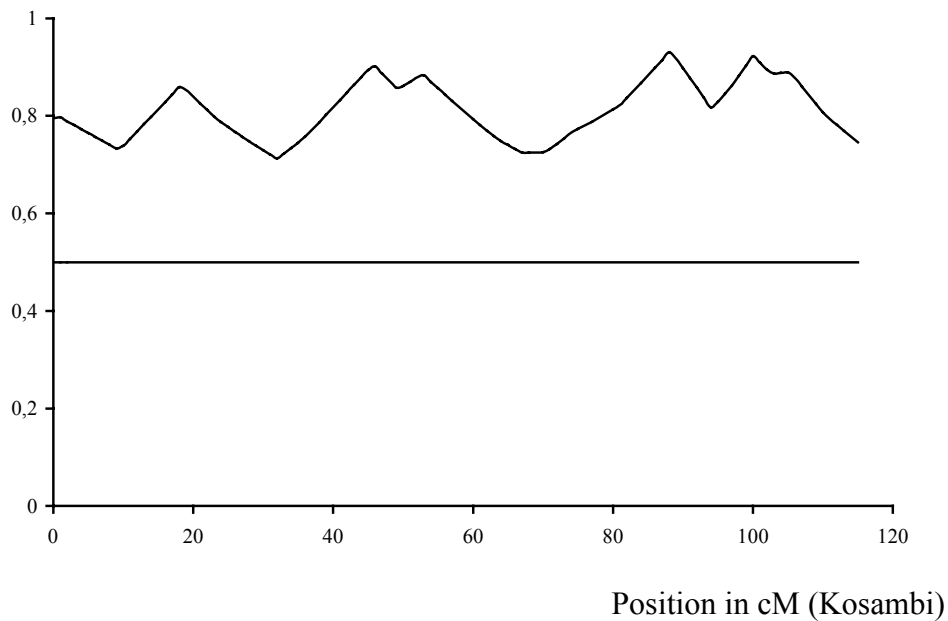


Abbildung 10: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 5

Informationsgehalt auf Chromosom Sscr 11

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

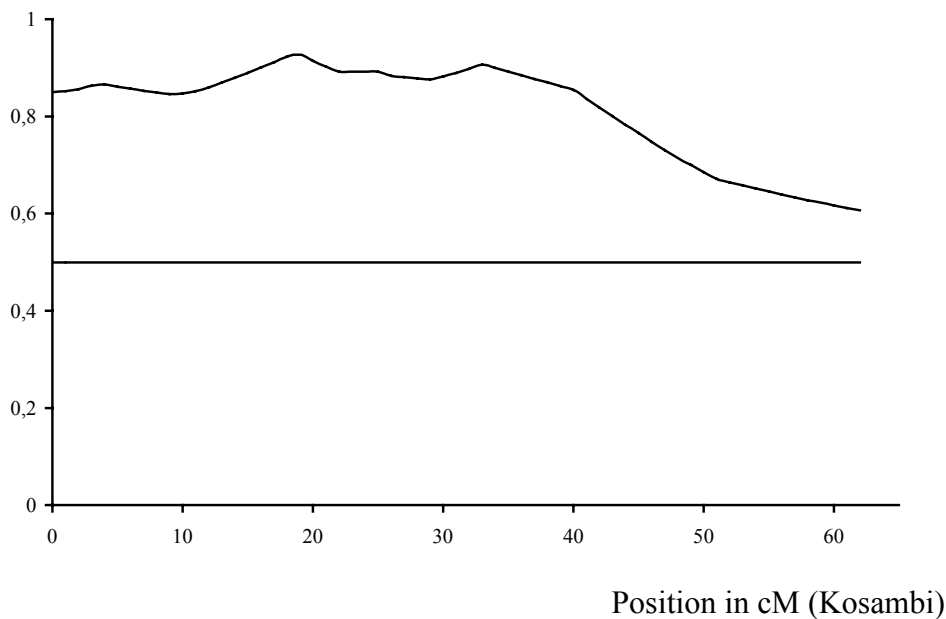


Abbildung 11: Informationsgehalt der Markerloci auf Chromosom Sscr 11

4.4 Ergebnisse der merkmalsgestützten Mehrpunkt-Kopplungsanalyse

Basierend auf den im Genomscan erhobenen Daten konnten drei kopplungsrelevante chromosomale Regionen identifiziert werden. Die erzielten Ergebnisse des Genomscans mit chromosomaler Lokalisation der erreichten Maxima in cM (Kosambi), der Teststatistik (χ^2) sowie der punktwweisen Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise) sind in Tabelle 14 dargestellt. Um die erzielten Ergebnisse nach ihrer Relevanz einordnen zu können, ist der punktwweise LOD-Score mit einem Freiheitsgrad angegeben, der zu der gleichen Irrtumswahrscheinlichkeit führt wie der durchgeführte Test mit 16 Freiheitsgraden.

Tabelle 14: Chromosom, Maximum der Teststatistik (χ^2), punktweise Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise), Position (cM-Kosambi) und abgeleiteter LOD-Score

Chromosom	χ^2	α -comparisonwise	Position (cM)	LOD-Score*
1	22,3364	0,13265670	21	0,49
2	32,2780	0,00919854	0	1,47
3	36,9975	0,00209880	64	2,05
4	31,9323	0,01020457	104	1,43
5	50,6759	0,00001788	81	>3,00
6	24,1541	0,08619232	52	0,63
7	32,2227	0,00935301	74	1,46
8	22,7457	0,12070424	103	0,52
9	22,1318	0,13898629	6	0,47
10	19,5267	0,24229950	86	0,29
11	48,1073	0,00004569	19	>3,00
12	27,8898	0,03259102	42	0,99
13	22,0985	0,14003884	70	0,47
14	24,1689	0,08587954	5	0,64
15	28,6930	0,02609050	16	1,07
16	32,1187	0,00964996	23	1,45
17	20,7239	0,18937064	74	0,37
18	28,0193	0,03145245	28	1,00
XY	27,0209	0,04125170	5	0,90

* = es ist derjenige LOD-Score mit einem Freiheitsgrad angegeben, der zu der gleichen punktweisen Irrtumswahrscheinlichkeit führt wie der durchgeführte Test mit 16 Freiheitsgraden

Anhand der Teststatistik und der Irrtumswahrscheinlichkeit ließen sich drei chromosomale Regionen deutlich von den verbleibenden untersuchten Bereichen abgrenzen. Auf Chromosom Sscr 3 wurde an der Position 64 cM (Kosambi) ein LOD-Score von 2,05 erreicht, womit eine Kopplung zwischen den benachbarten Mikrosatelliten und einem hypothetischen Locus möglich erscheint. Für die Chromosomen Sscr 5 und 11 wurden mit LOD-Score-Werten > 3 chromosomale Bereiche eingegrenzt, bei denen eine statistisch gesicherte Kopplung vorliegt. Der Verlauf der Teststatistik und der zugehörigen Irrtumswahrscheinlichkeit ist für die Chromosomen Sscr 3, 5 und 11 in den Abbildungen 12, 13 und 14 verzeichnet.

Verlauf der Teststatistik für Chromosom Sscr 3

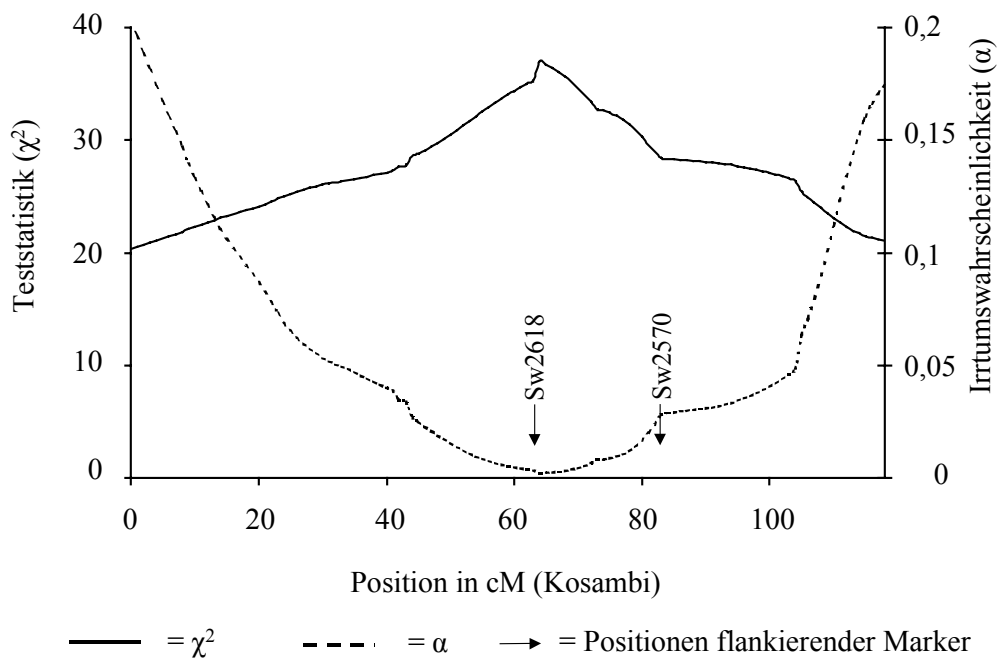


Abbildung 12: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise) entlang der Positionen in cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 3

Der Maximalwert der Teststatistik wurde an Position 64 cM mit einem χ^2 -Wert von rund 37 und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0,00209$ erreicht. Flankiert von den Mikrosatelliten Sw2618 an Position 63,2 cM sowie Sw2570 an 82,7 cM der kombinierten Karte. Das Intervall zwischen den flankierenden Markern betrug 14,1 cM.

Verlauf der Teststatistik für Chromosom Sscr 5

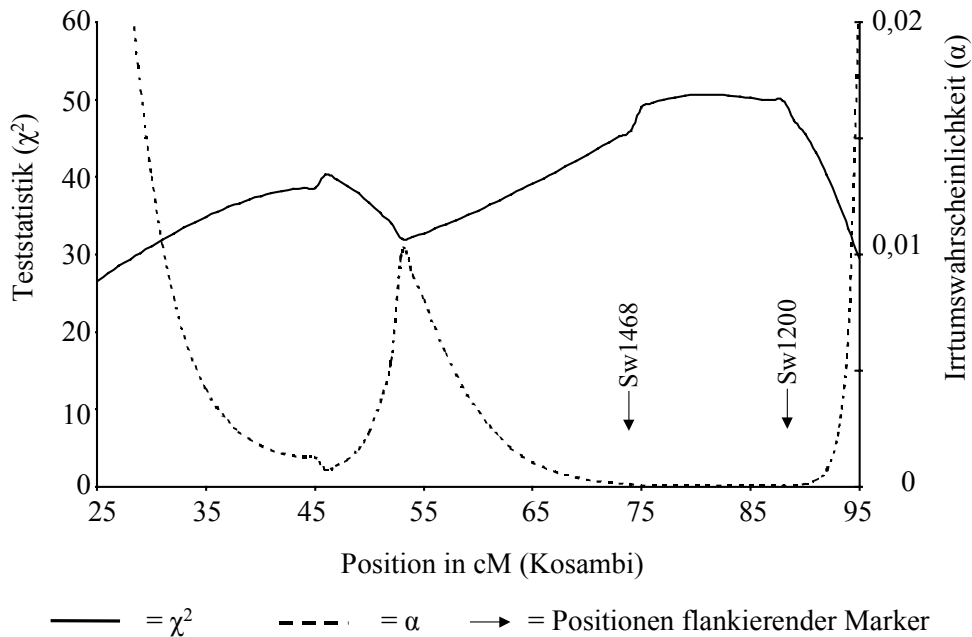


Abbildung 13: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise) entlang der Positionen 25 bis 95 cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 5

Beiderseits des für Chromosom Sscr 5 in Abbildung 13 dargestellten Bereichs (Positionen 25 bis 95 cM) stieg die Irrtumswahrscheinlichkeit kontinuierlich an, wobei der Verlauf der Teststatistik abgenommen hat. Das Maximum erreichte die Teststatistik an der Position 81 cM mit einem χ^2 -Wert von rund 51 und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als $\alpha = 0,00002$. Die flankierenden Mikrosatelliten sind Sw1468 an der Position 74,1 cM sowie Sw1200 kartiert an Position 88,2 cM der kombinierten Karte. Das Intervall zwischen den flankierenden Markern betrug 19,5 cM.

Verlauf der Teststatistik für Chromosom Sscr 11

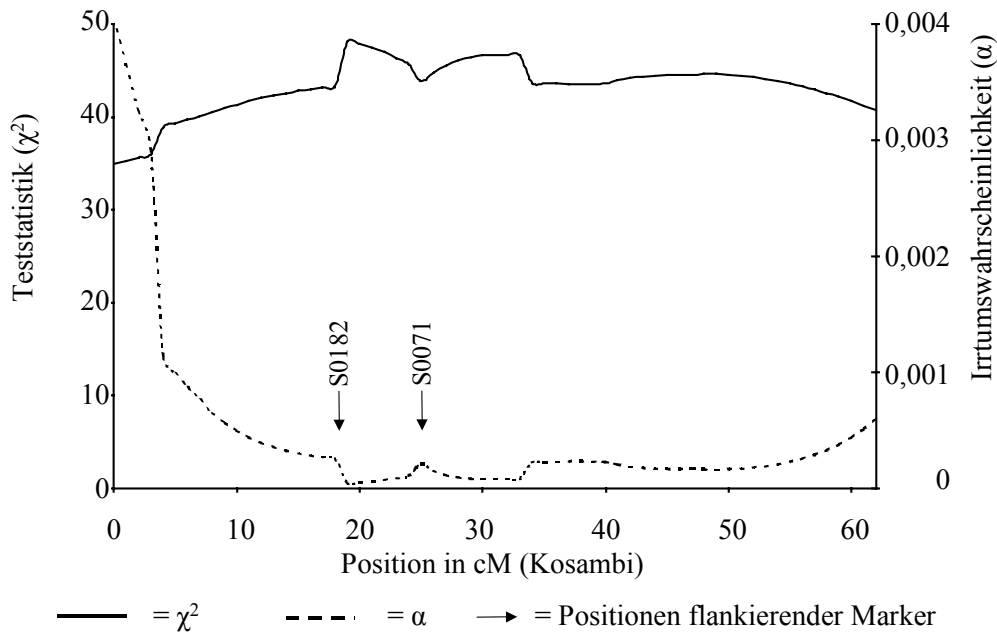


Abbildung 14: Verlauf der Teststatistik (χ^2) und der Irrtumswahrscheinlichkeit (α -comparisonwise) entlang der Positionen in cM (Kosambi) des Chromosoms Sscr 11

Auf Chromosom Sscr 11 erreichte die Teststatistik ihren maximalen Wert an Position 19 cM mit $\chi^2 = 48$ und einer Irrtumswahrscheinlichkeit an dieser Position von weniger als $\alpha = 0,00005$. Die flankierenden Marker an dieser Position sind S0182 auf der Position 18,7 cM sowie S0071 an der Position 25,0 cM kartiert auf der kombinierten Karte. Das Intervall der flankierenden Marker betrug 6,3 cM.

Für die Chromosomen Sscr 2, 4, 7 und 16 konnten im Vergleich zu den verbleibenden Chromosomen des Genoms erhöhte χ^2 -Werte der Teststatistik entlang der Positionen in cM geschätzt werden (Tabelle 14). Die Irrtumswahrscheinlichkeit entsprach für diese vier Chromosomen einem abgeleiteten LOD-Score zwischen 1,43 und 1,47.

Entlang der Positionen in cM der Chromosomen Sscr 1, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 18 sowie des pseudoautosomalen Bereichs der Geschlechtschromosomen wurde ein abgeleiteter LOD-Score geschätzt, der zwischen 0,29 und 1,07 lag (Tabelle 14).

5 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifizierung chromosomaler Regionen beim Schwein, um putative Loci darzustellen, die zum Auftreten des Syndroms Spreizer beim Ferkel führen. Aufgrund der beschriebenen Diversität kann das Spreizersyndrom als ein Paradebeispiel für eine komplex genetische Erkrankung betrachtet werden, und es wurde der Ansatz eines Genomscans gewählt. Zu diesem Zweck wurde an acht von der Erkrankung betroffenen väterlichen Halbgeschwisterfamilien der Deutschen Landrasse ein Scan mittels Mikrosatelliten-Markern durchgeführt. Über die Kopplungsanalyse wurden genetische Karten erstellt. Basierend auf einer nichtparametrischen Auswertung wurden chromosomale Bereiche identifiziert, in denen statistisch gesicherte Ergebnisse eine Kopplung des Phänotyps mit den untersuchten Genotypen zeigten.

5.1 Tiere und Familien

5.1.1 Auswahl der Rasse

Für die chromosomale Kartierung von „Spreizergenen“ wurde Tiermaterial benötigt, in dem vermehrt Ferkel mit der Stellungsanomalie auftreten und somit davon ausgegangen werden kann, daß putative Spreizer-Loci segregieren. Innerhalb der Literatur wurde für die Landrasse eine gesteigerte Frequenz des Syndroms Spreizer beschrieben (VOGT et al., 1984; STEANE, 1985; SPICER et al., 1986). Aus dieser Beobachtung heraus erfolgte die Merkmalserschaffung auf einem Basiszuchtbetrieb an Reinzuchttieren der Deutschen Landrasse. Die Auswahl von Tieren aus einer laufenden Produktion hatte den Vorteil, daß keine zeit- und kostenintensive experimentelle F2-Population erstellt werden mußte (GRINDFLEK et al., 2001). Die untersuchten Familien bestanden aus zwei Generationen, wobei von 93 % der Mütter Gewebeproben vorhanden gewesen sind. Über sechs doppelt angepaarte Sauen wurden für die Erstellung der Markerkarten, fünf der acht Familien in einem Pedigree zusammengefaßt.

In dieser Untersuchung wurde, bei ausschließlicher Betrachtung betroffener Würfe, eine Häufigkeit von 22,0 % Spreizferkeln über alle acht Familien festgestellt (Tabelle 3). Diese Häufigkeit entspricht nahezu der von BOLLWAHN und KRUEWIG (1972) mit 19,4 % angegebenen sowie der von TOMKO (1993) dargestellten Häufigkeit von 25,3 % innerhalb betroffener Würfe. Mit einem ermitteltem Anteil von 2,3 Ferkeln pro Wurf mit dem Syndrom Spreizer entsprachen die untersuchten Familien den Angaben aus der Literatur (Übersicht 1

und 3). Es ließ sich ein prozentualer Anteil von 80,9 % abgesetzter Ferkel, gemessen an lebend geborenen Ferkeln, für die untersuchte Population darstellen. Nicht ermitteln ließ sich, wie hoch daran der Anteil an Verlusten unter den von der Stellungsanomalie betroffenen Ferkeln gewesen ist.

Ein bestätigter Einfluß der Wurfnummer der Sau konnte anhand der Literatur nicht festgestellt werden. Einige Autoren kamen zu dem Ergebnis, daß dieser keine Bedeutung zukommt (THURLEY et al., 1967; HÖRÜGEL und LORENZ, 1979; VAN DER HEYDE et al., 1989; IBEN, 1989). SPICER ET AL. (1986) stellten eine signifikant höhere Frequenz des Syndroms in den Nachkommen von Multipara-Sauen dar, hingegen beschrieben GEIPEL et al. (2000) ein vermehrtes Auftreten von Spreizferkeln unter Jungsaunen. RAMBAGS und VAN IPEREN (1988) zeigten eine Tendenz auf, daß Saunen in der 5. Trächtigkeit mehr Spreizferkel gebären als Saunen in der 6. Trächtigkeit. Am vorliegenden Datenmaterial konnte insgesamt kein konsistenter Einfluß der Wurfnummer dargestellt werden (Tabelle 5).

Um zu gesicherten Aussagen bezüglich der saisonalen Effekte, der Wurfnummer, der Trächtigkeitsdauer und der Wurfgröße der Sau sowie des Geburtsgewichts und der Mortalitätsrate der Ferkel zu gelangen, wäre eine spezifische statistische Analyse notwendig, welche nicht im Rahmen dieses Projektes erfolgte.

5.1.2 Einfluß des Geschlechts

Männliche Ferkel weisen ein deutlich erhöhtes Risiko auf, von der Stellungsanomalie Spreizer betroffen zu werden. Anhand der untersuchten Familien ließ sich ein Verhältnis von rund 2,4 : 1 (männlicher zu weiblicher Ferkel) darstellen. Für die statistische Analyse folgte aus dieser Tatsache, daß das Geschlecht der Ferkel berücksichtigt wurde. Innerhalb der Literatur (Übersicht 5) wurde ein maximales Verhältnis von 2,0 : 1 beschrieben (männlich zu weiblich). Neben dieser weitgehenden Übereinstimmung gab es auch Studien, in denen kein Geschlechtsunterschied in der Anzahl betroffener Ferkel festgestellt wurde (MAASS und SCHULZE, 1979; IBEN, 1989; TOMKO, 1993). Diese Berichte erscheinen insofern bemerkenswert, als im eigenen Tiermaterial eine Familie identifiziert wurde, in der mehr weibliche Tiere das Syndrom Spreizer zeigten als männliche (Tabelle 4). Über alle Würfe zeigte sich, daß die weiblichen Ferkel gegenüber den männlichen eine reduzierte Penetranz aufweisen. Exogene Gründe dafür können z. B. in der Ernährung der Sau während der Trächtigkeit ausgemacht werden. Mykotoxine zeigten einen signifikanten Einfluß auf die Ausprägung des Syndroms Spreizer (VÁNYI et al., 1994; ALEXOPOULOS, 2001). Wären

weibliche Föten in der Lage, derartige Einflüsse besser zu kompensieren als männliche, könnte dies als eine mögliche Begründung herangezogen werden. Im weiteren wurden in der Literatur eine verkürzte Trächtigkeit und eine erhöhte Wurfgröße als Faktoren angesehen, die sich in einem gesteigerten Auftreten von Spreizferkeln äußern (BÖLCSKEI et al., 1996; SELLIER et al., 1999; SELLIER und OLLIVIER, 1982; VAN DER HEYDE et al., 1989). Unterstellt man den weiblichen Ferkeln ein geringeres Geburtsgewicht als männlichen Ferkeln, könnte auch dies eine Begründung darstellen, daß weniger weibliche Tiere betroffen werden als männliche, unter der Hypothese, daß sie somit weniger empfindlich auf pränatale intrauterine Einflüsse reagieren. Diese Thesen lassen sich mit dem vorgeschlagenen Modellen von SELLIER und OLLIVIER (1982) sowie WRATHALL (1988) in Einklang bringen. Dies würde bedeuten, daß weibliche Ferkel Anlageträger für „Spreizergene“ sind, aber die Expression des Merkmals unterdrückt ist.

STIGLER et al. (1991) stellten in Würfen mit Anomalien einen Anteil von 61,5 % der neugeborenen Ferkel zugunsten der männlichen Ferkel fest, entgegen 38,5 % weiblicher Ferkel. Die Autoren stellten die These auf, daß in Würfen mit Anomalien ein intrauterines Absterben homozygoter Föten, insbesondere der weiblichen vorliegt. Für das Merkmal Spreizer würde daraus folgen, daß Würfe mit Spreizferkeln kleiner wären als nicht betroffene Würfe und das Geschlechtsverhältnis der Vollgeschwister eines Wurfes, bestehend aus betroffenen sowie gesunden Ferkeln zugunsten der männlichen Tiere verschoben wäre. Beide Folgerungen können anhand der Literatur nicht für das Merkmal Spreizer verifiziert werden. Würfe mit Spreizferkeln zeigten sich größer als nicht betroffene Würfe (MAASS und SCHULZE, 1979; SCHNAPPERELLE und KOCH, 1980; SELLIER und OLLIVIER, 1982; VAN DER HEYDE et al., 1989; TOMKO, 1993). Im weiteren wurde innerhalb betroffener Würfe unter Spreizferkeln und nicht betroffenen Vollgeschwistern eine annähernd gleichmäßige Geschlechtsverteilung vorgefunden (SELLIER und OLLIVIER, 1982; VOGT et al., 1984; VAN DER HEYDE et al., 1989; SELLIER et al., 1999).

5.2 Die Möglichkeit des Auftretens von Phänokopien

Das Vorkommen von Phänokopien kann die Kopplungsanalyse beeinflussen. Die Sammlung des Tiermaterials erfolgte in einem Zeitraum bis maximal 12 h nach der Geburt. Dies bedingt grundsätzlich die Problematik, daß auch Ferkel erfaßt sein könnten, die traumatische Schäden aufgewiesen haben und so im klinischen Bild Spreizferkeln glichen. Histologische oder biochemische Analysen der erfaßten Tiere wurden nicht durchgeführt. Für die in dieser Studie angewandte merkmalsgestützte Analyse würden Tiere, die aufgrund von Phänokopien als

Spreizferkel klassifiziert waren, die statistische Power reduzieren, d. h. es wäre ein geringerer *c*-Wert geschätzt worden. Die Analyse hätte aber nicht zu falsch positiven Ergebnissen geführt. Wegweisend für eine histologische Identifizierung einer Klassifizierung und somit einer Abgrenzung von nicht betroffenen bzw. von Ferkeln, bei denen über das Vorliegen von Phänokopien ein vergleichbares klinisches Bild gegeben ist, könnten die Ergebnisse von COX et al. (1979) sein. Die Autoren beschrieben, daß es vorhergehenden Studien nicht gelungen war, ein System zu entwickeln, das quantitative Unterschiede im Grad der myofibrillären Hypoplasie darstellen konnte. Wurde jedoch die Zahl der im Verband zusammenhängenden Muskelfasern betrachtet, ließ sich eine signifikante Differenzierung der Ferkel erreichen. Entsprechend dieser Beobachtung lassen sich die Ergebnisse von CURVERS et al. (1989) einordnen. Die Autoren stellten eine Skalierung dar, die den Anteil des extramyofibrillären Raums beschrieb. Je größer dieser in einer betrachteten Muskelfaser gewesen ist, desto häufiger zeigten die Ferkel das Syndrom Spreizer. Neben einer zeit- und kostenintensiven histologischen Beurteilung wiesen die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen muskelspezifischer Enzyme, insbesondere der erhöhte Gehalt der Kreatinphosphokinase (CPK), auf eine Schädigung der Muskulatur im geburtsnahen Zeitraum hin (KOLB et al., 1981 b; HILLERT et al., 1992; PRANGE et al., 2000). Diese Ergebnisse zeigen, daß über eine Konzentrationsbestimmung der CPK aus Blutproben eine Absicherung des klinischen Bildes möglich ist.

5.3 Bestimmung der Genotypen

In dieser Untersuchung wurden Mikrosatelliten zur Durchführung des Genomscans und der Kartierung von Spreizer-Loci herangezogen. Mikrosatelliten eignen sich, da sie über das ganze Genom verteilt, polymorph, schnell und einfach zu analysieren sind (z. B. LITT und LUTY, 1989). In dem frei zugänglichen Datenbanksystem des Roslin Institutes (Edinburgh) waren im August 2002 für das Schwein rund 1.400 bekannte Mikrosatelliten verzeichnet (URL 3). Grundsätzlich würde sich auch die Genotypisierung mittels **single nucleotide polymorphisms** (SNPs) anbieten, was zu Projektbeginn aus technischen Gründen nicht in Betracht gezogen wurde.

In der eigenen Untersuchung wurde ein durchschnittlicher Abstand von etwa 14 cM zwischen den autosomalen Mikrosatelliten-Markern erreicht. DARVASI et al. (1993) führten an, daß zur Identifizierung von Loci mit großen Effekten auf den Phänotyp eine Kopplungskarte mit einer Intervallgröße der benachbarten Markerloci von 10 bis 20 cM ausreichend ist. Dabei gingen

die Autoren davon aus, daß alle betrachteten Markerloci informativ sind, was in der eigenen Untersuchung nicht erreicht wurde (Tabelle 10).

5.3.1 Erstellung der DNA-Fragmente

Vor Verwendung der nach Allelgröße, Annealingtemperatur und Fluoreszenzmarkierung zusammengestellten Markersets erfolgte eine Bestimmung der optimalen PCR-Bedingungen. In der Regel wurden hierbei die öffentlich zugänglichen Reaktionsbedingungen zugrunde gelegt (URL 2 und 3). Das Testschema zur Zusammenstellung der Multiplex-Gruppen ist in Kapitel 3.3.6 dargestellt. Über die Erstellung von Multiplex-Gruppen, d. h. indem mehrere Mikrosatelliten-Loci bei gleichen Bedingungen amplifiziert werden, kann eine Reduzierung des Arbeitsaufwandes sowie der Kosten erreicht und der Durchsatz gesteigert werden (ZIEGLE et al., 1992). In einem Optimierungsgang wurden jeweils sieben PCR-Ansätze parallel bearbeitet. Diese Anzahl zeigte sich optimal an die Bearbeitungsdauer pro Einzelansatz angepaßt, da sich bei der zeitgleichen Bearbeitung von acht oder mehr PCR-Ansätzen herausstellte, daß die Verweildauer, insbesondere der *Taq*-Polymerase, bei Raumtemperatur zu hoch gewesen ist. Dieser Effekt wurde nach der Elektrophorese sichtbar. Testansätze von mehr als sieben Einzelansätzen zeigten häufiger schwer zu bestimmende Doppelpeaks und Schattenbanden als Folge von Slippage-Effekten. Slippage-Effekte können entstehen, wenn die *Taq*-Polymerase beim Auffüllen des Stranges innerhalb der repetitiven DNA-Sequenz über eine oder mehrere Repeateinheiten hinweggleitet, ohne sie zu replizieren (z. B. FOUCAULT et al., 1996). Das Erscheinen von Doppelpeaks kann aus der Fähigkeit der *Taq*-Polymerase, eine zusätzliche Base am Ende des amplifizierten Fragments anzuhängen, erklärt werden (z. B. BROWNSTEIN et al., 1996).

Basierend auf diesem Testschema konnten alle Loci ausgeschlossen werden, die Besonderheiten in den Peakprofilen zeigten oder durch überlappende Fragmentlängen nicht in einem Multiplex-Ansatz integriert werden konnten. Eine schnelle und eindeutige Beurteilung der Multiplexfähigkeit der verwendeten Mikrosatelliten und somit eine Rationalisierung des Testaufwandes war somit möglich. Mikrosatelliten-Loci, die extreme PCR-Bedingungen oder einen hohen Chemikalienverbrauch verlangten, wurden separat amplifiziert. Zum Testen der Mikrosatelliten wurden DNA-Templates von je vier der acht im Projekt untersuchten Eber eingesetzt. Auf diesem Wege konnte schon an den Testergebnissen abgesehen werden, welchen Heterozygotiegrad die Eber aufgewiesen haben. Diese Möglichkeit hatte zur Folge, daß zu einem sehr frühen Zeitpunkt Mikrosatelliten von der weiteren Optimierung und Genotypisierung der Sauen und Nachkommen ausgeschlossen werden konnten, was zu einer

Ersparnis an Zeit und Material führte. Neben den Multiplex-Gruppen (Tabelle 7) wurden 46 Mikrosatelliten separat amplifiziert (Tabelle 8). Außer der genannten unzureichenden Multiplex-Fähigkeit einzelner Marker kam hierbei hinzu, daß der Aufwand zur Erstellung von Multiplex-Gruppen zeitintensiv ist und sich so Situationen ergaben, in denen bestehende Markersets ergänzt werden konnten und somit auf Einzelreaktionen zurückgegriffen wurde. Die Kombination der verwendeten Multiplex-Reaktionen sowie der separat amplifizierten Mikrosatelliten für die elektrophoretische Auftrennung befindet sich in Tabelle A4 im Anhang. Grundsätzlich lassen sich aber alle verschiedenartig fluoreszenzmarkierten Multiplex-Reaktionen innerhalb einer Elektrophorese miteinander kombinieren. Durchschnittlich wurden pro Lauf der Sequenzierereinrichtung die PCR-Produkte von 5,38 Mikrosatelliten-Loci elektrophoretisch aufgetrennt.

Die etablierten Multiplex-Reaktionen bestanden aus zwei (Duplex-Reaktion) bis drei (Triplex-Reaktion) simultan amplifizierten Mikrosatelliten. Die Anzahl von ≤ 3 Loci entspricht den Empfehlungen von ROHRER et al. (1997). In Markersets zur Abstammungskontrolle werden bis zu 10 Mikrosatelliten in einem Reaktionsansatz amplifiziert (NECHTELBERGER et al., 2001), die Erstellung solch umfangreicher Sets ist jedoch sehr zeitintensiv. Für die Elektrophorese wurden bis zu 7 Mikrosatelliten-Loci, entsprechend bis zu vier PCR-Ansätzen durch nachfolgendes Mischen der PCR-Produkte auf ein Gel aufgetragen. In der Regel wurden die Polyacrylamidgele zweimal hintereinander für die Elektrophorese genutzt, somit wurde erreicht, daß sich der kostenintensive Aufwand zur Herstellung der Gele nahezu halbierte.

Zur Standardisierung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse war auf jedem Gel ein externer Standard in zwei Bahnen vorhanden. Dieser wurde durch ein Tier gegeben, das auf allen Gelen unverändert blieb und mit den gleichen Markern typisiert wurde wie die untersuchte Population. Der Standard diente dem Vergleich der vier Familiengele untereinander (GHOSH et al., 1997).

5.3.2 Informationsgehalt der Markerloci

Kartierungsprojekte sind abhängig vom Informationsgehalt der verwendeten Marker. Als Maßzahlen in dieser Untersuchung wurden die Anzahl der Allele, der beobachtete Heterozygotiegrad und der Informationsgehalt herangezogen. Über alle Autosomen sowie der nicht-pseudoautosomalen Region der Gonosomen wurde ein durchschnittlicher Informationsgehalt von $p = 0,73$ erreicht.

Die Anzahl der Allele der 142 Markerloci variierte zwischen 2 (sechs Markerloci) und 11 (vier Markerloci) (Tabelle A2). Durchschnittlich waren es 5,2 pro Mikrosatellit. Darunter wiesen die drei Mikrosatelliten des pseudoautosomalen Bereichs der Gonosomen durchschnittlich 5,3 Allele pro Locus auf, die des nicht-pseudoautosomalen Bereichs durchschnittlich 3,1 Allele.

Der beobachtete Heterozygotiegrad (H_b) variierte, erwartungsgemäß stark (Tabelle 11). Es muß beachtet werden, daß nicht immer alle Familien mit jedem Mikrosatelliten typisiert wurden, so daß die zugrundeliegenden Tierzahlen schwanken. Über alle autosomalen sowie die nicht-pseudoautosomalen Loci betrug der H_b -Gesamt = 0,59. Die Schwankungen der einzelnen Mikrosatelliten-Loci reichten von H_b -Gesamt = 0,06 ($n = 99$) bis H_b -Gesamt = 0,89 ($n = 96$). Innerhalb der Eber wurde der geringste Heterozygotiegrad an drei Markern mit H_b -Eber = 0,13 beobachtet. Das Maximum von $H_b = 1$ und damit Heterozygotie bei allen acht Ebern wurde lediglich bei fünf untersuchten Mikrosatelliten ermittelt. Die Spannbreite innerhalb der Sauen reichte von einem Heterozygotiegrad H_b -Sauen = 0,05 bis maximal 0,88.

Es stellte sich heraus, daß die Auswahl polymorpher Mikrosatelliten im Vergleich zu anderen Kartierungsprojekten, die überwiegend auf Kreuzungstieren beruhen (z. B. RUDAT, 1997; PASZEK et al., 1999; WADA et al., 2000; SIRONEN et al., 2002), bei den in dieser Studie untersuchten Reinzuchttieren schwierig war. Es erwiesen sich eine Vielzahl getesteter Mikrosatelliten bei allen Ebern als homozygot und damit nicht informativ. Dies spiegelte sich auch in der Anzahl der beobachteten Allele sowie dem Heterozygotiegrad der genotypisierten Tiere über alle Mikrosatelliten wider. In Kartierungsprojekten von RUDAT (1997) sowie FABUEL PEÑALVER (1999) wurden Heterozygotiegrade über alle untersuchten Markerloci von $H_b = 0,72$ bzw. 0,76 beobachtet, die im Gegensatz zu dem eigenen ermittelten Heterozygotiegrad über alle Markerloci mit $H_b = 0,59$ deutlich höher sind. Gleiches gilt für die Anzahl der Allele pro untersuchtem Locus. In der eigenen Untersuchung wurde für die Autosomen eine durchschnittliche Anzahl von 5,2 Allelen pro Locus dargestellt. RUDAT (1997) ermittelte durchschnittlich 6,9 Allele pro Locus, FABUEL PEÑALVER (1999) wies im Durchschnitt 8,3 Allele pro Locus nach.

Zukünftige Kartierungsprojekte sollten bei der Planung die Tatsache berücksichtigen, daß es bei Reinzuchttieren erschwert ist, heterozygote Mikrosatelliten-Loci zu identifizieren. Durch Zufallsdrift gehen in einer kleinen Population, aufgrund der effektiven Populationsgröße, häufiger Allele verloren als in einer großen effektiven Population (FALCONER, 1984). Die Vorteile bei Verwendung einer Reinzuchtlinie sind darin zu sehen, daß das Auffinden eines Kopplungsungleichgewichts im Nahbereich des gesuchten Gens erleichtert ist im Vergleich

zu einer genetisch heterogenen Gruppe. Auch im Hinblick auf eine Bestätigungsstudie ist die Wahrscheinlichkeit, die gleichen chromosomalen Bereiche wieder zu identifizieren, erhöht verglichen mit einer Kreuzungspopulation. Die Auswahl einer Reinzuchtpopulation, die basierend auf Literaturangaben geeignet ist, um merkmalsgekoppelte chromosomale Regionen zu finden, hat sich bewährt.

5.3.3 Abstammungskontrolle

Im Rahmen dieser Studie erfolgte eine Abstammungskontrolle unter sukzessiver Berücksichtigung der Informationen der Mikrosatelliten-Loci. Sieben Tiere, entsprechend 2,8 %, wurden so frühzeitig identifiziert und von der weiteren Analyse ausgeschlossen.

NECHTELBERGER et al. (2001) empfehlen einen Set, bestehend aus 10 Mikrosatelliten, der zur Abstammungskontrolle verwendet werden kann. Vier der von den Autoren dargestellten Mikrosatelliten wurden auch in dieser Studie untersucht (S0090, S0101, S0355, Sw951). Insbesondere zwei Mikrosatelliten fielen durch die Leichtigkeit der Typisierung auf. In der untersuchten Population zeigte sich aber, daß die Anzahl der identifizierten Allele mit je 3 im Vergleich zu 13 (S0101) bzw. 12 (Sw951) Allelen, verzeichnet in einer zugänglichen Datenbank (URL 2), sehr gering war. Für die Amplifikation von Produkten der Mikrosatelliten S0090 und S0355 war ein erhöhter Optimierungsbedarf notwendig, auch bei diesen beiden Markern wurde lediglich eine Anzahl von 4 bzw. 3 Allelen ermittelt, während in der Datenbank des USDA eine Anzahl von 12 bzw. 8 angegeben ist (URL 2). Da Abstammungskontrollen umso genauer werden, je mehr Allele an einem Locus vorkommen und je kleiner der Unterschied zwischen den Allelfrequenzen ist (WEIR, 1996), erscheinen diese vier Mikrosatelliten aufgrund ihrer geringen Allelanzahl als nicht geeignet für die hier untersuchten Reinzuchttiere. Bezüglich der Anzahl Allele, der Allelfrequenz sowie der Leichtigkeit der Typisierung kann anhand der eigenen Ergebnisse für die Mikrosatelliten S0097, S0105, S0106, S0230, Sw129, Sw344, Sw1808, Sw2441, Sw2517 und Swr1101 eine Empfehlung zur Abstammungskontrolle der untersuchten Reinzuchtpopulation ausgesprochen werden.

5.4 Markerkarten

ROHRER et al. (1996) schätzten die Größe des Schweinegenoms auf 2.286,2 cM unter Berücksichtigung von 1.042 publizierten Mikrosatelliten. Die in der eigenen Studie untersuchten Loci decken auf Basis der kombinierten Karte, inklusive der Gonosomen, eine Distanz von 2.126 cM ab, dies entspricht somit der Erwartung. Für die entsprechende Karte der Autosomen (Chromosom Sscr 1 bis 18) kann eine kombinierte Länge von 1.929 cM dargestellt werden. Abweichungen in der Länge der Kopplungskarten können aus der Anzahl der genotypisierten Marker sowie aus Differenzen der untersuchten Rassen erklärt werden (z. B. MARKLUND et al., 1996).

Die eigene weibliche Karte umfaßt 2.591,6 cM und die männliche 1.727,6 cM (Chromosom Sscr 1 bis XX bzw. XY). Daraus ergibt sich ein Verhältnis von 1,39 : 1 (weiblich zu männlich). Dieses Verhältnis ist nahezu identisch mit dem von ELLEGREN et al. (1994) publizierten von 1,4 : 1. KNORR (1996) erklärte das verschobene Verhältnis damit, daß die Rekombinationsraten für beide Geschlechter unterschiedlich sind.

Nach der Erstellung der eigenen Kopplungskarten wurde die USDA-Datenbank zur Kontrolle genutzt (URL 2). Auf diesem Weg wurden die berechneten Kartenpositionen und die Abstände zwischen den Markerloci verifiziert. In den Fällen, in denen sich einzelne Loci, aufgrund zu wenig aussagefähiger Daten nicht sicher in eine Kopplungsgruppe integrieren ließen, erfolgte eine Übernahme der Daten der USDA-Karte. Im Vergleich dazu nutzten SIRONEN et al. (2002) zur Kopplungsanalyse ihrer Typisierungsergebnisse von 228 Mikrosatelliten ausschließlich die Information der genetischen Kartenabstände des USDA.

Auf Chromosom Sscr 1 zeigte sich, daß die Abfolge der Loci Sw1621, Sw1902 und Swr982 gegenüber der USDA-Karte vertauscht war. Bei der vorgegebenen Reihenfolge war die log-Likelihood höher als bei der eigenen Reihenfolge, aus diesem Grund geschah eine Änderung der eigenen Reihenfolge. Eine Kopplungsgruppe von vier Loci wurde auf Chromosom Sscr 5 vertauscht. Nachdem die Reihenfolge der Marker entsprechend der USDA-Karte vorgegeben wurde, zeigte sich, daß eine höhere log-Likelihood erreicht wurde. Es war offensichtlich, daß das Programm CRI-MAP 2.4 (GREEN et al., 1990) nicht notwendigerweise die höchste log-Likelihood von selbst findet. Entsprechend wurde die eigene Abfolge der Markerloci geändert.

Für die Chromosomen Sscr 7 und 16 mußten die genetischen Karten approximativ (Kapitel 3.5.1) erstellt werden, da es nicht möglich war, mit dem Programm CRI-MAP 2.4 (GREEN et al., 1990) alle Markerloci dieser Chromosomen simultan einordnen zu lassen. Diese Beobachtung wurde ebenfalls von KRATZSCH et al. (1999) beschrieben, die Autoren wählten ein entsprechendes Vorgehen.

Auf Chromosom Sscr 8 konnten für den Locus Sw2410 72 informative Meiosen ermittelt werden und keine Kopplung zum folgenden Marker. In der USDA-Datenbank waren für diesen Locus 1.623 informative Meiosen verzeichnet, somit wurden der Abstand und die Rekombinationsrate aus der USDA-Datenbank übernommen. Ähnliches galt für den Marker Sw749 auf Chromosom Sscr 9. Mit einer Anzahl von 16 informativen Meiosen im eigenen Projekt und 119 der USDA-Datenbank erschien die eigene geschätzte Position unwahrscheinlich.

Eine nicht geänderte Abweichung besteht auf dem Chromosom Sscr 11. Auf diesem Chromosom ist die Anordnung zweier Loci auf der eigenen Karte S0230 vor Sw435, in der USDA-Datenbank entsprechend umgekehrt. Die höhere Anzahl informativer Meiosen war für den Marker S0230 aus der eigenen Untersuchung gegeben (251 vs. 182) für den Marker Sw435 in der USDA-Datenbank (847 vs. 99), so daß sich aus dieser Betrachtung keine endgültigen Schlüsse ziehen ließen. Bei getrennter Berechnung der log-Likelihood für beide Reihenfolgen zeigte sich, daß mit der eigenen Reihenfolge ein höherer Wert zu erzielen war, so daß keine Änderungen in der Abfolge dieser Marker vorgenommen wurde.

Eine Änderung der Abfolge erfolgte für die Marker S0292 und Sw1031 auf Chromosom Sscr 17. Entgegen den Angaben der USDA-Datenbank wurde der Locus Sw1031 vor S0292 eingeordnet. Anhand der log-Likelihood konnten keine Differenzen dargestellt werden. Basierend auf den eigenen Ergebnisse wurden für diesen Marker lediglich 38 informative Meiosen verzeichnet, in der USDA-Datenbank waren für diesen Marker 2.040 beschrieben. Aus diesem Grunde wurde die Abfolge der Marker korrigiert.

Auf den Geschlechtschromosomen wurden im pseudoautosomalem Bereich keine Abweichungen festgestellt. Lediglich für die X-chromosomalen, nicht-pseudoautosomalen Marker wurde eine geänderte Reihenfolge zwischen den Mikrosatelliten-Loci Sw2470 und Sw2476 festgestellt. Aufgrund der Beobachtung, daß zwischen dem folgenden Marker Sw707 anhand der eigenen Ergebnisse keine Rekombination nachweisbar war, wurde hier keine Modifikation vorgenommen. In der Analyse zur Identifizierung von Spreizer-Loci wurde der nicht-pseudoautosomale Bereich nicht berücksichtigt. Es wäre wünschenswert, bis eine

Teststatistik für diesen Bereich etabliert ist, die Ergebnisse der Kopplungsanalyse zu untermauern bzw. zu korrigieren, indem weitere Mikrosatelliten in diesem Bereich plaziert werden.

Die genetischen Karten der Chromosomen Ssc 2, 3, 4, 6, 10, 12, 13, 14, 15 und 18 zeigten keinerlei Abweichung in der Abfolge der Markerloci von publizierten Kopplungskarten.

5.5 Statistische Auswertung

Die vorliegende Studie konnte mit einem relativ großen und einfachen Familienmaterial durchgeführt werden. Die größten der acht untersuchten väterlichen Halbgeschwisterfamilien umfaßten je 68 Nachkommen. Auswertungsprogramme aus der Humangenetik, wie z. B. die Programmpakete Genehunter (KRUGLYAK et al., 1996) oder Allegro (GUDBJARTSSON und JONASSON, 1999) sind nicht in der Lage, derart große Halbgeschwisterfamilien zu bewältigen. Für die Verwendung dieser Programme hätten die großen Familien aufgeteilt werden müssen in einzelne „Sub-Familien“, was eine deutliche Reduktion der statistischen Power zur Folge hätte. Im Gegensatz dazu können alle Nachkommen simultan mit der in dieser Studie angewandten Methode von REINSCH (2002) analysiert werden.

In der klassischen QTL-Analyse werden die Phänotypen als eine von den Markerdaten abhängige Variable definiert, es handelt sich somit um eine markerbasierende Analyse. Hingegen wird in der Analyse von REINSCH (2002) der Ansatz einer merkmalsbasierten Analyse (LEBOWITZ et al., 1987) gewählt. Der Unterschied besteht darin, daß in diesem Experiment die Frequenz der väterlichen Haplotypen in den Nachkommen die abhängige Variable ist.

In herkömmlichen QTL-Analysen werden in der Regel die chromosomenweiten bzw. die genomweiten Schwellenwerte zur Signifikanzbestimmung mit dem Permutationstest ermittelt (CHURCHILL und DOERGE, 1994). Dabei wird durch wiederholtes Permutieren der Phänotypen die Genotyp-Phänotyp-Bindung durchbrochen und die Ergebnisse der ausgewerteten permutierten Daten sind Fehler 1. Art per Definition. Die Verteilung der resultierenden Teststatistik-Werte dienen als Grundlage der Schwellenwertermittlung für ein gewünschtes Signifikanzniveau. Aufgrund der Tatsache, daß alle Individuen in der vorliegenden Studie denselben Phänotyp haben, konnte diese Methode nicht angewendet werden. Aus diesem Grund wurde aus der punkweisen Signifikanz der Irrtumswahrscheinlichkeit mit 16 Freiheitsgraden (FG) eine Signifikanzschwelle gewählt, die der gleichen punkweisen

Irrtumswahrscheinlichkeit wie ein LOD-Score von 3 (mit einem FG) entspricht, hierzu mußte ein χ^2 -Wert von 44 übertroffen werden.

Tiere, die aufgrund von Phänokopien als Spreizerferkel klassifiziert worden sind, könnten zwar die statistische Power der Analyse reduzieren, nicht aber zu einem falsch positiven Ergebnis führen, da lediglich der geschätzte c -Wert reduziert wäre. Liegt hingegen eine Störung der Segregation (segregation distortion), d. h. eine nicht nach Mendelschen Gesetzen erfolgende Weitergabe der Allele an die nächste Generation vor, wäre eine direkte Auswirkung auf das erzielte Ergebnis gegeben. Das Vorliegen der segregation distortion an verschiedenen Allelen im porcinen Genom wurde z. B. von YASUE et al. (1999) beschrieben. Für die eigenen Analyse würde dies bedeuten, daß der geschätzte Parameter c deutlich von 1 abweicht, obwohl der Eber nicht Träger eines Allels ist, das mit dem Merkmal Spreizer gekoppelt ist. Ein Ausschluß der segregation distortion konnte im Rahmen dieser Studie nicht erfolgen. Über eine Erweiterung des Experiments auf nicht betroffene Halbgeschwister könnte die Existenz der segregation distortion ausgeschlossen werden. Um die statistische Power der Analyse zu erhöhen, ist die Einbeziehung weiterer Bezugsmerkmale wie z. B. des CPK-Wertes möglich.

5.6 Kartierung von Spreizer-Loci

Die nichtparametrische Analyse der Genotypen (REINSCH, 2002) ergab für zwei chromosomale Bereiche, lokalisiert auf den Chromosomen Sscr 5 und 11, einen maximalen χ^2 -Wert (mit 16 FG) von > 44 .

Auf dem Chromosom Sscr 3 erreichte die Teststatistik einen Wert von $\chi^2 > 36$. Dieser Wert entspricht somit noch nicht einer signifikanten Kopplung der Markerloci mit putativen Genen, die mit dem Auftreten des Syndroms Spreizer assoziiert sind. Aufgrund der Höhe des abgeleiteten LOD-Score für Chromosom 3 wird der identifizierte chromosomale Bereich von Sscr 3, neben den Chromosomen Sscr 5 und 11 im folgenden, anhand von komparativen Karten und Informationen, die über Datenbankrecherchen gewonnen wurden, diskutiert bzw. eine Auswahl merkmalsassoziierter Gene dargestellt.

Für vier Chromosomen, Sscr 2, 4, 7 und 16, wurden Werte des abgeleiteten LOD-Score von 1,43 bis 1,47 erreicht. Aufgrund der Vielzahl putativer und positioneller Kandidatengene, die sich bei Betrachtung des Krankheitsbildes Spreizer und den Befunden aus verschiedenen Untersuchungen ergeben, wird auf diese Chromosomen in der Diskussion nicht eingegangen.

Für die verbleibenden 12 Chromosomen des Genoms kann aufgrund der statistischen Analyse nicht von einer genetischen Kopplung zum Phänotyp Spreizferkel ausgegangen werden.

5.6.1 Chromosom Sscr 3

Das Chromosom Sscr 3 umspannt nach der eigenen Karte mit sieben genotypisierten Mikrosatelliten eine kombinierte Länge von 118,7 cM. Das Maximum der Teststatistik (χ^2) wurde an der Position 64 cM erreicht (Tabelle 14). Flankiert wird diese Position von den Mikrosatelliten Sw2618 (63,2 cM) und Sw2570 (82,7 cM), es ergibt sich ein Intervall zwischen den Markern von 19,5 cM. Physikalisch wurde der Mikrosatellit Sw2618 dem Chromosomenband Sscr 3p12-p11 zugeordnet (ALEXANDER et al., 1996). Da zwischen diesem Mikrosatelliten und dem maximalen χ^2 -Wert lediglich 0,6 cM liegen, kann die Position anhand des Markers bestimmt werden. Die entsprechende homologe Region befindet sich beim Menschen auf Chromosom Hsap 16p13.3-p11.2 (CHAUDHARY et al., 1998).

Im humanen Genom wurde an der Position Hsap 16p13.1-p12.3 ein Locus für die autosomal dominant vererbte neuronale Muskelatrophie (Charcot-Marie-Tooth-Erkrankung) in zwei Familien identifiziert (STREET et al., 2002). Diese Krankheit äußert sich in einer von der Körpermitte entfernt liegenden symmetrischen sensomotorischen Polyneuropathie mit Wadenschwund, Hohlfuß- und Hammerzehenbildung sowie einer chronischen Schädigung des Myelins, was zu einer herabgesetzten Nervenimpulsübertragung führt (MASUHR und NEUMANN, 1996). STREET et al. (2002) untersuchten das epithelial membrane proteine-2-Gen (*EMP2*, OMIM Nr.: 602334) als Kandidatengen. Aufgrund eines Vergleichs der Nucleotidsequenz der kodierenden Exons zwischen erkrankten und befundfreien Patienten konnten die Autoren jedoch keine krankheits-assoziierten Mutationen darstellen.

Bemerkenswert erscheint, daß *EMP2* ein Mitglied der Genfamilie *PMP22* (peripheral myelin protein 22, OMIM Nr.: 601097) ist. Im Experiment an Mäusen wurde nachgewiesen, daß eine Punktmutation im *PMP22*-Gen für die mangelnde Myelinisierung verantwortlich war (SUTER, 1998). SZALAY et al. (2001) zeigten an Spreizferkeln, daß die motorischen Fasern, welche die Adduktoren der Hintergliedmaßen innervieren, in weiten Teilen keine Myelinscheide aufwiesen. Die chromosomale Lokalisation des *PMP22*-Gens lautet Hsap 17p11.2 und entspricht somit dem Chromosom Sscr 12 (URL 5), auf dem anhand der eigenen Untersuchung jedoch keine Hinweise für eine Kopplung aufgezeigt werden konnten.

MAAK (2001) beschrieb das porcine *TAF1B*-Gen (TATA box binding protein associated factor, OMIM Nr.: 604904) mit der chromosomalen Lokalisation Sscr 3q21-q27 aufgrund des merkmalsassoziierten Auftretens als potentiell Kandidatengen für das Syndrom Spreizer. Aufgrund der physikalischen Zuordnung des Mikrosatelliten Sw2618 in der Region Sscr 3p12-p11 (ALEXANDER et al., 1996) kann das *TAF1B*-Gen anhand der eigenen Untersuchung bisher nicht als positionelles Kandidatengen verifiziert werden. Im weiteren stellte MAAK (2001) die Gene *BCL7B*, lokalisiert auf Chromosom Sscr 6 und *CDKN3* auf Chromosom Sscr 1 als Kandidatengene für die Erkrankung Spreizer dar. Aufgrund der erzielten Teststatistik (χ^2) für diese Chromosomen, können diese Gene anhand der eigenen untersuchten Familien ebenfalls nicht bestätigt werden

5.6.2 Chromosom Sscr 5

Auf dem porcinen Chromosom 5 wurden in dieser Untersuchung 10 Mikrosatelliten typisiert, die eine Distanz von 115,3 cM auf der kombinierten Karte umfassen. In einem Intervall von 14,1 cM der umgebenden Mikrosatelliten Sw1468 (74,1 cM) und Sw1200 (88,2 cM) wurde das Maximum der Teststatistik (χ^2) an der Position 81 cM erreicht (Tabelle 14). Der nächstgelegene physikalisch kartierte Mikrosatellit ist Sw1200 an der Position Sscr 5q22-q23 (ALEXANDER et al., 1996). Basierend auf komparativen Karten (GOUREAU et al., 2001; URL 5) läßt sich grundsätzlich der homologe Bereich dem menschlichen Chromosom 12 zuordnen. Derzeit unwahrscheinlich erscheint nach Angaben von GOUREAU et al. (2001) der Bereich Hsap 12q12-q14.3 und 12q24.2-q24.3. Die Anordnung bekannter Gene bei Mensch und Schwein läßt eine engere Begrenzung der Bereiche auf dem humanen Chromosom derzeit noch nicht zu.

Eine humane nicht progressive muskuläre Atrophie, die überwiegend die unteren Gliedmaßen betraf, wurde von FRIJNS et al. (1994) beschrieben, einhergehend mit einer Schwäche der Adduktoren des Oberschenkels, des Streckmuskels des Knies und der Füße. Die Aktivität der Kreatinkinase zeigte sich leicht erhöht, während elektromyographische Parameter deutlich erhöht waren. Eine Muskelbiopsie ließ Gruppen degenerierter Fasern erkennen. Vererbt wurde die Erkrankung ausschließlich über die mütterliche Seite, vom klinischen Bild betroffen wurden sowohl männliche als auch weibliche Nachkommen. Diese Befunde zeigten große Übereinstimmung mit denen, die an Spreizerkerneln erhoben wurden (BERGMANN, 1976 b; HNÍK und VEJSADA, 1979; PRANGE et al., 2000). Putative Loci wurden anhand einer Kopplungsanalyse innerhalb einer betroffenen Familie von VAN DER VLEUTEN et al. (1998) auf dem humanen Chromosom Hsap 12q23-q24 (OMIM Nr.: 600175) dargestellt. Bisher

wurde für diese humane muskuläre Atrophie nur die chromosomale Position beschrieben und kein Kandidatengen bestimmt. Aufgrund der deutlichen Übereinstimmung der erhobenen Befunde an betroffenen Menschen wie bei Spreizferkeln (nicht progressiv, frühes Auftreten, erhöhter CPK-Wert, degenerierte Muskelfasern) sowie der Homologie der betreffenden chromosomalen Regionen erscheint es möglich, daß bei beiden Spezies die kausalen Gene identisch sind.

Loci für Myopathien, die den Schultergürtel betreffen, wurden ebenfalls auf dem humanen Chromosom 12q24.1-q24.31 bzw. 12q13.3-q15 kartiert (OMIM Nr.: 181405 und 181430). Grundsätzlich betreffen diese Regionen Bereiche, die aufgrund der eigenen Analyse-Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden sollten. Sie können jedoch als unwahrscheinlich für das untersuchte Merkmal Spreizer angesehen werden, da zum einen auch der Kehlkopf gelähmt erscheint, was bei Spreizferkeln nicht beschrieben wurde, und zum anderen diese Erkrankungen erst im Erwachsenenalter aufgetreten sind.

Unter Berücksichtigung der komparativen Karte von GOUREAU et al. (2001) erscheint auch ein Bezug zu dem Gen *IGF1* (OMIM Nr.: 147440), kartiert auf Hsap 12q22-q24.1 wahrscheinlich. GERRARD et al. (1998) beschrieben, daß die mRNA-Expression von *IGF1* (insulin-like growth factor 1) im fötalen Muskel hoch ist und um den Geburtszeitpunkt das Maximum erreicht. Eine lokale Synthese des *IGF1* im Skelettmuskelgewebe sowie eine Stimulation des Muskelwachstums nach der Geburt wurden von GÖTZ et al. (2001) vermutet. Bei Schweinen, die älter als 180 Tage waren, nahm der *IGF1*-Immunreaktionsnachweis rapide ab; die Autoren folgerten aus dieser Beobachtung, daß die Expression altersabhängig ist.

Auf dem humanen chromosomalen Bereich 12q21 wurden die Gene *MYF5* und *MYF6* (myogenic factor 5 und 6, OMIM Nr.: 159990 und 159991) kartiert (CUPELLI et al., 1996). *MYF5* zeigt eine enge strukturelle Verwandtschaft zum Gen *MYOD1* (myogenic differentiation antigen 1, OMIM Nr.: 159970). Es wird vermutet, daß beide Gene erforderlich für die Entwicklung der Myoblasten sind. *MYF6* wirkt ebenfalls regulativ auf Myogenese und Muskelregeneration ein. Es wurde eine Myopathie bei einem männlichen Nachkommen beim Menschen beschrieben, bei dem dargestellt werden konnte, daß eine Mutation im *MYF6*-Gen vorgelegen hat (KERST et al., 2000). Weiterhin wurde gezeigt, daß beim Vater dieses Kindes die gleiche Mutation und eine Deletion der Exons 45 bis 47 des Dystrophin-Gens (Hsap Xp21.2) vorlag, die normalerweise für die Muskeldystrophie Typ Becker-Kiener verantwortlich ist. Es wurde bei dem Vater ein schwerer Verlauf der Muskeldystrophie Typ

Becker-Kiener beschrieben und die Autoren vermuteten, daß mit dem Gen *MYF6* eine Wechselwirkung stattgefunden hat.

5.6.3 Chromosom Sscr 11

Der Bereich der höchsten Teststatistik (χ^2) lag auf Chromosom Sscr 11 an Position 19 cM (Tabelle 14), das Intervall der flankierenden Marker betrug 6,3 cM. Dieses waren S0182 (18,7 cM) und S0071 (25,0 cM). Insgesamt wurden auf Sscr 11 acht Mikrosatelliten plaziert und eine Größe der kombinierten Kopplungskarte von 62,1 cM geschätzt. Der Mikrosatellit S0071 wurde von LOPEZ-CORRALES et al. (1999) physikalisch dem Chromosomenband Sscr 11q11-q12 zugeordnet. Der homologe Bereich im humanen Genom befindet sich auf Chromosom Hsap 13qter (PINTON et al., 2000; URL 5).

Bei Betrachtung der homologen humanen Region zu Sscr 11 erscheint am bedeutendsten, daß auf Hsap 13q12 das Gen γ -Sarkoglykan (*SGCG*, OMIM Nr.: 253700) identifiziert wurde. Die Sarkoglykanopathien des Menschen variieren stark in der Progressionsrate sowie im Ausprägungsgrad und werden autosomal rezessiv vererbt. γ -Sarkoglykan ist ein Dystrophin assoziiertes Protein (HACK et al., 1999). Grundsätzlich führen Mutationen in einem am Dystrophinkomplex beteiligten Gen zu veränderter Expression anderer Untereinheiten des Komplexes (LIN et al., 1999). Das *SGCG*-Gen ist im humanen Bereich von McNALLY et al. (1996) charakterisiert worden, Mutationen des Gens führen zu der Gliedergürteldystrophie-Typ 2C. Zur Interpretation des Ergebnisses für Chromosom Sscr 11 muß berücksichtigt werden, daß der Mikrosatellit Sw1460 physikalisch an Position 11p13 kartiert wurde (LOPEZ-CORRALES et al., 1999), in der eigenen Untersuchung wurde die Position 0 cM für die genetische Karte bestimmt (Tabelle 12). Bevor ein direkter Bezug anhand der eigenen Kartierungsergebnisse der Mikrosatelliten zum Sarkoglykankomplex hergestellt wird, sollten weitere genetische Marker ergänzt werden, die anhand einer physikalischen Kartierung dem chromosomalen Band Sscr 11p15-p14 entsprechen.

5.7 Perspektiven für die Entwicklung eines Gentests

Unabhängig von dem erfolgreichen Ergebnis dieser Untersuchung sind zum derzeitigen Erkenntnisstand mögliche unerwünschte Nebeneffekte, die sich bei einer markergestützten Selektion gegen das Spreizersyndrom im Hinblick auf weitere Leistungsmerkmale ergeben könnten, unbekannt. Dementsprechend wird auf die Empfehlung des Arbeitsausschusses für genetisch-statistische Methoden in der Tierzucht der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde, DGFZ (2001), ausdrücklich hingewiesen. Die Verfahren zur Identifizierung von Erbfehlern ermöglichen es nicht völlig zweifelsfrei, die Position und Wirkung entsprechender Genorte nachzuweisen. Insbesondere bei Erbdefekten besteht die Forderung, daß abgeklärt werden muß, ob der selektionswürdige Genort einen pleiotropen Effekt ausübt.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, daß auf zwei Chromosomen eine signifikante Kopplung zwischen flankierenden Mikrosatelliten und putativen „Spreizergenen“ vorliegt. Ein drittes Chromosom zeigte zumindest eine höhere Teststatistik als die verbleibenden chromosomalen Bereiche des untersuchten Genoms und kann daher als suggestiv angesehen werden.

Als weiterer Schritt muß vor einer Nutzung in der markergestützten Selektion (MAS) zunächst eine Bestätigungsstudie unter Einschluß X-chromosomaler Marker sowie parallel eine Feinkartierung durchgeführt werden. O'BRIEN et al. (1999) gaben eine Größe des Säugergenoms von etwa 3 Mrd. Basenpaaren an, bei einer durchschnittlichen genetischen Länge von ca. 2.300 cM des porcinen Genoms (ROHRER et al., 1996) ergeben sich somit für einen Abstand von 15 cM rund 19,5 Mio. Basenpaare. Die identifizierten Bereiche sind mit Markerintervallen von 6,3, 14,1 und 19,5 cM noch zu weit gefaßt, um Haplotypen zu identifizieren, die verantwortlich für das Auftreten des Syndroms Spreizer sind. Eine Einbeziehung nicht erkrankter Tiere kann in der statistischen Analyse genutzt werden.

Auf Grundlage der neugewonnenen und bestehenden Ergebnisse ist eine Berechnung der Konfidenzintervalle notwendig. Eine Prüfung auf Kopplungsungleichgewicht zwischen einzelnen Markerallelen und „Spreizergenen“ kann anhand eines noch zu etablierenden Transmission Disequilibrium Test (TDT) (SPIELMAN et al., 1993), d. h. einer Untersuchung ob die Allele am Krankheits- und am Markerlocus unabhängig voneinander vorkommen oder unabhängig voneinander vererbt werden, durchgeführt werden. Bei Kopplungsungleichgewicht verlangt der TDT, daß Krankheitsallele und bestimmte Markerallele abhängig voneinander sind. Die Ergebnisse wären somit auch in andere Linien übertragbar. Anhand der Konfidenzintervallschätzung und der Prüfung auf Kopplungsungleichgewicht gilt es weitere Strategien festzulegen. Im Hinblick auf die in

dieser Untersuchung vorgestellten Ergebnisse erscheint der Ansatz eines positionellen und funktionellen Kandidatengenansatzes am erfolgreichsten (comparative positional candidate cloning, O'BRIEN et al., 1999). Dabei werden Kandidatengene aus komparativen Karten von Mensch und Maus aufgrund ihrer Lage ausgewählt. Aus den bekannten Sequenzen lassen sich Primer für die Isolierung porciner PAC-Klone (**P1-derived artificial chromosome**) gewinnen, mit Hilfe derer eine Sequenzierung und genauere Analyse der betreffenden Genomregion vorgenommen werden kann. Vor weitergehenden Untersuchungen ist die Überprüfung der chromosomalen Lokalisation z. B. mittels eines RH-Panels notwendig. Nach Ableitung der Sequenz können betroffene und nicht betroffene Tiere sequenziert werden, um eventuelle das Syndrom verursachende Mutationen aufzufinden. Erschwert wird die Identifikation betreffender Sequenzen durch das Vorliegen von Phänokopien. Bei klinisch betroffenen Tieren wären somit keine Unterschiede, zumindest keine die mit dem Merkmal in Verbindung stehen, im Vergleich zu Sequenzen nicht betroffener Tiere darstellbar. Die Erhebung weiterer merkmalspezifischer Parameter, wie z. B. des CPK-Wertes und histologischer Untersuchungen könnten dieses Risiko verringern. Expressionsvergleiche sind für das Merkmal Spreizer nach dem derzeitigen Kenntnisstand nur im Anschluß an die Geburt möglich. Aus diesem Grund erscheint ein Expressionsvergleich von Tieren unterschiedlichen Genotyps erfolgreicher. Anhand neugeborener Ferkel mit bekannter Merkmalsausprägung kann eine DNA-Probe zur Isolierung der mRNA für die Bestimmung des Genotyps gewonnen werden. Über einen Vergleich des Genotyps mit vorgeburtlichen Entwicklungsstadien wäre eine erfolgreiche Abgrenzung gewährleistet. Mögliche Expressionsunterschiede würden die Wahrscheinlichkeit, ein kausales Gen identifiziert zu haben, bestärken.

6 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Identifizierung chromosomaler Regionen, die im Zusammenhang mit dem Auftreten des Spreizersyndroms beim Schwein stehen. Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Teile. In dem ersten Teil wurden in der Literaturübersicht die der Erkrankung zugrundeliegenden Häufigkeiten und Mechanismen wiedergegeben. Der zweite Teil der Arbeit beschreibt eine systematische Suche nach Chromosomen, auf denen Risikogene für das Auftreten des Syndroms lokalisiert sind.

In der Literaturübersicht wurden die der Erkrankung zugrundeliegenden Häufigkeiten, nicht-genetischen Einflußfaktoren, morphologischen Veränderungen und die diskutierten Vererbungsmodelle wiedergegeben. Für das Syndrom Spreizer wurden Häufigkeiten bis zu 25 % der lebend geborenen Ferkel dargestellt. Die Sterblichkeitsrate kann bis zu 80 % der betroffenen Ferkel betragen. Die in der Literatur beschriebenen histologischen und biochemischen Parameter zeigen, daß das Syndrom einhergeht mit einer neuromuskulären Schädigung. Trotz einiger publizierter Untersuchungen sind bislang der Erbgang und die Pathogenese des Merkmals ungeklärt. Es kann geschlußfolgert werden, daß der Erkrankung kein einfacher mendelscher Erbgang zugrunde liegt und bisher keine Klarheit über den genauen Vererbungsmodus erzielt werden konnte.

Für die eigenen Untersuchungen standen acht väterliche Halbgeschwisterfamilien aus einer Reinzuchtpopulation der Deutschen Landrasse zur Verfügung, bestehend aus insgesamt acht Ebern, 92 Sauen und 246 vom Spreizersyndrom betroffenen Nachkommen. Zum Auffinden putativer Spreizer-Loci wurden diese Tiere für 142 Mikrosatelliten typisiert.

Die Größe des mit Markern abgedeckten Genombereichs betrug 2.126 cM (Kosambi) mit einem durchschnittlichen Markerabstand von 15 cM (Kosambi). Die durchschnittliche Anzahl von Allelen je Marker betrug 5,2, der beobachtete Heterozygotiegrad der Eber betrug $H_b = 0,61$.

Die Analyse aller Autosomen und des pseudoautosomalen Bereichs der Geschlechtschromosomen erfolgte mit einer merkmalsgestützten Mehrpunkt-Kopplungsanalyse, dabei wurden keine Annahmen über den Erbgang des Merkmals zugrunde gelegt. Es konnten zwei chromosomale Bereiche identifiziert werden, bei denen eine Kopplung mit dem Phänotyp vorliegt. Diese sind lokalisiert auf Chromosom Sscr 5 und Sscr 11. Die erzielten Ergebnisse werden im Hinblick auf mögliche Kandidatengene und weiterführende Ansätze zur Entwicklung eines genetischen Tests diskutiert.

7 Summary

The aim of the present study was to identify chromosomal regions that affect the syndrome splayleg in pigs. The thesis was organised as follows. In the first part a literature review about the frequency of the splayleg syndrome and its genetically mechanism is presented. The second part describes the systematical search and identification of chromosomes that contain genes affecting the risk of the occurrence of the syndrome.

The review contains frequency of the splayleg syndrome, nongenetic factors affecting the syndrome, morphological changes, and the discussed hypotheses on the mode of inheritance. The reported frequency of the syndrome was up to 25% of piglets born alive with a mortality rate of the affected piglets up to 80%. Reported changes in histological and biochemical parameters indicate that the syndrome coincides with a neuromuscular damage. The pathogenesis is however an area of research. From the literature it can be concluded that the mode of inheritance is not simple Mendelian. None of several proposed alternatives has been confirmed so far. The mode of inheritance was therefore judged as unknown.

The material of the own study included tissue and sperm samples from 8 paternal half sib families comprising 8 boars, 92 sows, and 246 piglets from a German Landrace population. All piglets were affected by the syndrome. To identify putative loci affecting splayleg all animals were genotyped for 142 microsatellite markers.

The size of the genome region that was covered with markers was 2.126 cM (Kosambi) with an average marker spacing of 15 cM. The average number of alleles per marker was 5.2, the observed degree of heterozygosity of the boars was $H_b = 0.61$.

The analysis of all autosomes and the pseudoautosomal region of the sex chromosome was done with a trait based multi-point linkage analysis. No assumptions were made about the mode of inheritance of the syndrome. Two chromosomal regions showed significant evidence for linkage. These are located on the chromosomes Sscr5 and Sscr11.

The results are discussed with respect to possible candidate genes and prospects for the development of a gene test.

8 Literaturverzeichnis

- AASEN, E. und J.F. MEDRANO (1990): Amplification of the *ZFY* and *ZFX* genes for sex identification in humans, cattle, sheep and goats. *Bio/Technology*, 8: 1279-1281
- ALEXANDER, L.J., D.L. TROYER, G.A. ROHRER, T.P.L. SMITH, L.B. SHOOK und C.W. BEATTIE (1996): Physical assignments of 68 porcine cosmid and lambda clones containing polymorphic microsatellites. *Mammalian Genome*, 7 (5): 368-372
- ALEXOPOULOS, C. (2001): Association of *Fusarium* mycotoxicosis with failure in applying an induction of parturition program with PGF2ALPHA and oxytocin in sows. *Theriogenology*, 55 (8): 1745-1757
- ALTHOFF, W. (1985): Zur erblichen Abhängigkeit verschiedener Geburtsfehler beim Schwein. Schriftenreihe des Instituts für Tierzuchtwissenschaft, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Heft 77
- ANTALÍKOVÁ, L., V. HORÁK und S. MATOLÍN (1996): Ultrastructural demonstration of glucose-6-phosphatase activity and glycogen in skeletal muscles of newborn piglets with the splayleg syndrome. *Reproduction Nutrition Development*, 36: 205-212
- ARENDAR, G.M. und R.A. MILCH (1966): Splay-leg – a recessively inherited form of femoral neck anteversion, femoral shaft torsion and subluxation of the hip in the laboratory lop rabbit: its possible relationship to factors involved in so-called „congenital dislocation“ of the hip. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 44: 221-229
- BENDAYAN, R., G. LEE und M. BENDAYAN (2002): Functional expression and localization of P-glycoprotein at the blood brain barrier. *Microscopy Research and Technique*, 57 (5): 365-380
- BENNEWITZ, J., N. REINSCH und E. KALM (2002): GENCHECK: A programme for consistency checking and derivation of genotypes at co-dominant loci. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 119: 350-360
- BERGMANN, V. (1976 a): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Pathogenese der Grätschstellung neugeborener Ferkel. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 31: 129-134

- BERGMANN, V. (1976 b): Elektronenmikroskopische Befunde an der Skelettmuskulatur von neugeborenen Ferkeln mit Grätschstellung. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 30 (2): 239-260
- BJÖRKLUND, N-E., J. SVENDSEN und L.S. SVENDSEN (1987): Histomorphological studies of the perinatal pig: comparison of five mortality groups with unaffected pigs. Acta veterinaria Scandinavica, 28: 105-116
- BÖLCSKEI, A., G. BILKEI, O. BIRO, E. CLAVADETSCHER, T. GOOS, P. STELZER, H. BILKEI und S. WEGMÜLLER (1996): Der Einfluß des Zeitpunktes der Partusinduktion auf das Auftreten der kongenitalen myofibrillären Hypoplasie – Kurzbericht aus der Praxis. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 103 (1): 21-22
- BOLLWAHN, W. und B. KRUEWIG (1972): Die symptomatische Behandlung der Grätschstellung neugeborener Ferkel. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 79 (10): 229-231
- BOLLWAHN, W. und A. PFEIFFER (1969): Symptomatische Behandlung des Grätschens bei Schweinen durch zeitweilige Fesselung der Hintergliedmaßen (Klinische Kurzmitteilung). Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 76 (9): 239-241
- BRADLEY, R., P.S. WARD und J. BAILEY (1980): The ultrastructural morphology of the skeletal muscles of normal pigs and pigs with splayleg from birth to one week of age. Journal of Comparative Pathology, 90: 433-446
- BROWNSTEIN, M.J., J.D. CARPTEN und J.R. SMITH (1996): Modulation of non-templated nucleotide addition by *Taq* DNA polymerase: primer modifications that facilitate genotyping. Biotechniques, 20 (6): 1004-1010
- BUČEK, J., Z. LUKÁŠ, L. PIVNÍK und J. KAMAN (1982): Muscle ultrastructure in newborn piglets with splayleg syndrome. Acta Veterinaria Brno, 51: 47-58
- BUSELMAIER, W. und G. TARIVERDIAN (1999): Humangenetik. 2. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg

- CHAUDHARY , R., T. RAUDSEPP, X.-Y. GUAN, H. ZHANG und B.P. CHOWDHARY (1998): Zoo-FISH with microdissected arm specific paints for HSA2, 5, 6, 16, and 19 refines known homology with pig and horse chromosomes. *Mammalian Genome*, 9 (1): 44-49
- CHURCHILL, G.A. und R.W. DOERGE (1994): Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138 (3): 963-971
- CONRAD, K. (2001): Analyse der Struktur des caninen γ -Sarkoglykangens, einem Kandidatengen für erbliche Muskeldystrophie beim Hund. Inaugural-Dissertation, Tierärztliches Institut Universität Göttingen und der Tierärztlichen Hochschule Hannover
- COUSSEMENT, W., R. DUCATELLE und J. HOORENS (1984): Splayleg in piglets: histology and histochemistry. *Proceedings of the 8th International Pig Veterinary Society Congress*, Gent, Belgien 1984, 262
- COX, C.S., P.S. WARD und A. BASKERVILLE (1979): Quantitative image analysis of skeletal muscle from newborn pigs with myofibrillar hypoplasia and splayleg. *The British Veterinary Journal*, 135 (4): 370-375
- CULLEN, M.J. und F.L. MASTAGLIA (1980): Morphological changes in dystrophic muscle. *British Medical Bulletin*, 36: 145-152
- CUNHA, T.J. (1968): Spraddled hind legs may be a result of a choline deficiency. *Feedstuffs*, 40 (10): 25
- CUNHA, T.J. (1972): Vitamins for swine feeding and nutrition. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 67: 263-268
- CUPELLI, L., B. RENAULT, J. LEBLANC-STRACESKI, A. BANKS, D. WARD, R.S. KUCHERLAPATI und K. KRAUTER (1996): Assignment of the human myogenic factors 5 and 6 (MYF5, MYF6) gene cluster to 12q21 by in situ hybridization and physical mapping of the locus between D12S350 and D12S106. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 72: 250-251
- CURVERS, P., R. DUCATELLE, P. VANDEKERCKHOVE, W. DE COSTER, A. CALUS und J. HOORENS (1989): Morphometric evaluation of myofibrillar hypoplasia in splayleg piglets. *Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 96 (4): 189-191

- DARVASI, A., A. WEINREB, V. MINKE, J.I. WELLER und M. SOLLER (1993): Detecting marker-QTL linkage and estimating QTL gene effect and map localisation using a saturated genetic map. *Genetics*, 134: 943-951
- DEUTSCH, K. und J.T. DONE (1971): Congenital myofibrillar hypoplasia of piglets: Ultrastructure of affected fibers. *Research in Veterinary Science*, 12: 176-177
- DGFZ (2001): Arbeitsausschuß für genetisch-statistische Methoden in der Tierzucht der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde Empfehlungen zur Nutzung molekulargenetischer Informationen in der Tierzucht. *Züchtungskunde*, 73 (2): 85-87
- DOBSON, K.J. (1968): Congenital splayleg of piglets. *Australian Veterinary Journal*, 44 (1): 26-28
- DOBSON, K.J. (1971): Failure of choline and methionine to prevent splayleg in piglets. *Australian Veterinary Journal*, 47 (12): 587-590
- DUCATELLE, R., D. MAENHOUT, W. COUSSEMENT und J.K. HOORENS (1986): Spontaneous and experimental myofibrillar hypoplasia and its relation to splayleg in newborn pigs. *Journal of Comparative Pathology*, 96: 433-445
- ELLEGREN, H., B.P. CHOWDHARY, M. JOHANSSON, L. MARKLUND, M. FREDHOLM, I. GUSTAVSSON und L. ANDERSSON (1994): A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination. *Genetics*, 137 (4): 1089-1100
- ELSCHNER, M., E. KOLB, I. MÜLLER und G. VALLENTIN (1991): Untersuchungen über den Gehalt an DNA, RNA und Gesamtprotein in verschiedenen Skelettmuskeln, im Zwerchfell, in der rechten und linken Herzkammer sowie in der Muskulatur des Ösophagus, des Magens und der Harnblase von normal entwickelten Ferkeln und von Grätschferkeln unterschiedlicher Körpermasse. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 45 (1): 131-143
- ETIENNE, M. und M. JEMMALI (1982): Effects of zearalenone (F2) on estrous activity and reproduction in gilts. *Journal of Animal Science*, 55 (1): 1-10

- FABUEL PEÑALVER, E. (1999): Kartierung von QTL in einer Fünfrassenkreuzung beim Schwein. Dissertation, Schriftenreihe des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Heft 115
- FALCONER, D.S. (1984): Einführung in die Quantitative Genetik. Eugen Ulmer Verlag Gmbh & Co., Stuttgart
- FOUCAULT, F., F. PRAZ, C. JAULIN und M. AMOR-GUERET (1996): Experimental limits of PCR analysis of (CA)_n repeat alterations. *Trends in Genetics*, 12 (11): 450-452
- FRIJNS, C.J.M., J. VAN DEUTEKOM, R.R. FRANTS und F.G.I. JENNEKENS (1994): Dominant congenital benign spinal muscular atrophy. *Muscle and Nerve*, 17 (2): 192-197
- GARDNER, I.A., D.W. HIRD und C.E. FRANTI (1989) Neonatal survival in swine: Effects of low birth weight and clinical disease. *American Journal of Veterinary Research*, 50 (5): 792-797
- GEIPEL, U., H. PRANGE, V. SCHNEPPE und S. KLOHSS (2000): Epidemiologie und Labordiagnostik des Spreizsyndroms neugeborener Ferkel. (Paper: C13), Vortragstagung der DGfZ/GfT am 20./21.9.2000 in Kiel
- GERRARD, D.E., C.S. OKAMURA, M.A. RANALLETTA und A.L. GRANT (1998): Developmental expression and location of IGF-I and IGF-II mRNA and protein in skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 76: 1004-1011
- GHOSH, S., Z.E. KARANJAWALA, E.R. HAUSER, D. ALLY, J.I. KNAPP, J.B. RAYMAN, A. MUSICK, J. TANNENBAUM, C. TE, S. SHAPIRO, W. ELDRIDGE, T. MUSICK, C. MARTIN, J.R. SMITH, J.D. CARPTEN, M.J. BROWNSTEIN, J.I. POWELL, R. WHITEN, P. CHINES, S.J. NYLUND, V.L. MAGNUSON, M. BOEHNKE und F.S. COLLINS (1997): Methods for precise sizing, automated binning of alleles, and reduction of error rates in large-scale genotyping using fluorescently labeled dinucleotide markers. The Fusion (Finland-U.S. Investigation of NIDD Genetics) Study Group. *Genome Research*, 7 (2): 165-178
- GÖTZ, W., O. DITTJEN, M. WICKE, S. BIEREDER, U. KRÜGER und G. VON LENGERKEN (2001): Immunohistochemical detection of components of the insulin-like growth factor system during skeletal muscle growth in the pig. *Anatomia Histologia Embryologia*, 30: 49-56

- GOUREAU, A., A. GARRIGUES, G. TOSSER-KLOPP, Y. LAHBIB-MANSAIS, P. CHARDON und M. YERLE (2001): Conserved synteny and gene order difference between human chromosome 12 and pig chromosome 5. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 94: 49-54
- GRANDHI, R.R. und J.H. STRAIN (1981): Choline supplementation of barley-wheat-soya diets and the reproductive performance of swine. *Canadian Journal of Animal Science*, 61: 803-808
- GREEN, P., K. FALLS und S. CROOKS (1990): Documentation for CRI-MAP (Version 2.4). Washington University School of Medicine, St. Louis
- GREENMAN, D.L., R.G. MEHTA und J.L. WITTLIFF (1979): Nuclear interaction of *Fusarium* mycotoxins with estradiol binding sites in the mouse uterus. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 5 (4): 593-598
- GRINDFLEK, E., J. SZYDA, Z. LIU und S. LIEN (2001): Detection of quantitative trait loci for meat quality in a commercial slaughter pig cross. *Mammalian Genome*, 12 (4): 299-304
- GUDBJARTSSON, D.F. und K. JONASSON (1999): Allegro Version 1.0, Manual. Decode Genetics, Reykjavik, Island
- HACK, A.A., L. CORDIER, D.I. SHOTURMA, M.Y. LAM, H.L. SWEENEY und E.M. MCNALLY (1999): Muscle degeneration without mechanical injury in sarcoglycan deficiency. *Cell Biology*, 96: 10723-10728
- HANSON, S.M., M.O. SMITH, T.L. WALKER und G.D. SHELTON (1998): Juvenile-onset distal myopathy in Rottweiler dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12 (2): 103-108
- HILLERT, S., E. KOLB und A. BÜCHNER (1987 a): Untersuchungen über den Gehalt an DNA, RNA, Protein und Nichtprotein-N in Geweben von normal entwickelten Ferkeln sowie von Grätschferkeln sehr unterschiedlicher Geburtsmasse. 1. Mitteilung. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 41: 65-77

- HILLERT, S., E. KOLB und A. BÜCHNER (1987 b): Untersuchungen über den Gehalt an DNA, RNA, Protein und Nichtprotein-N in Geweben von normal entwickelten Ferkeln sowie von Grätschferkeln sehr unterschiedlicher Geburtsmasse. 3. Mitteilung. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 41: 90-103
- HILLERT, S., E. KOLB, A. BÜCHNER, G. GRÜNDEL und U. SCHMIDT (1992): Die Aktivität der Aspartat-Aminotransferase, der Alanin-Aminotransferase, der Lactat-Dehydrogenase und der Creatinphosphokinase im Überstand der Homogenate einiger Gewebe von normal entwickelten Ferkeln sowie von Grätschferkeln. Monatshefte für Veterinärmedizin, 47 (7): 383-387
- HNÍK, P. und R. VEJSADA (1979): Neuromuscular transmission in some hindlimb muscles of piglets with congenital myofibrillar hypoplasia (splayleg). Physiologia Bohemoslovaca, 28: 385-392
- HÖRÜGEL, K. und A. LORENZ (1979): Untersuchungen zum angeborenen Beinspreizen bei Ferkeln in einer industriemäßig produzierenden Zuchtanlage. Monatshefte für Veterinärmedizin, 34: 183-187
- IBEN, H. (1989): Der Einfluß der Fütterung auf das Vorkommen der myofibrillären Hypoplasie neugeborener Ferkel. Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover
- JERUSALEM, F. und S. ZIERZ (1991): Muskelerkrankungen: Klinik–Therapie–Pathologie. 2. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart
- JIRMANOVÁ, I. (1983): The splayleg disease: a form of congenital glucocorticoid myopathy? Veterinary Research Communications, 6 (2): 91-101
- JIRMANOVÁ, I. und L. LOJDA (1985): Dexamethasone applied to pregnant minisows induces splayleg in minipiglets. Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe A, 32 (6): 445-458
- JIRMANOVÁ, I., T. SOUKUP und J. ZELENÁ (1982): The pathomorphology of developing skeletal muscles of rabbits treated with glucocorticoids. Virchows Archiv B, 38: 323-335

- JOOSTEN, H.F.P., P. WIRTZ, H.O.F. VERBEEK und A. HOEKSTRA (1981): Splayleg: A spontaneous limb defect in rabbits. *Genetics, gross anatomy, and microscopy. Teratology*, 24 (1): 87-104
- KASSEBAUM, H., E. KOLB und U. SCHMIDT (1982): Untersuchungen über die Aktivität der Acetylcholinesterase und der Butyrylcholinesterase im Blutplasma von Schweinen unterschiedlichen Alters sowie bei Ferkeln mit Stehunvermögen. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 36: 477-484
- KERST, B., D. MENNERICH, M. SCHUELKE, G. STOLTENBURG-DIDINGER, A. VON MOERS, R. GOSSRAU, F.K. VAN LANDEGHEM, A. SPEER, T. BRAUN und C. HUBNER (2000): Heterozygous myogenic factor 6 mutation associated with myopathy and severe course of Becker muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 10 (8): 572-577
- KNORR, C (1996): QTL-Effekte im Chromosom 6 und von Wachstumshormon-Gen-Varianten auf Merkmale der Mastleistung, des Schlachtkörperwertes und der Streßresistenz in F2-Familien beim Schwein. Dissertation, Verlag E. Grauer, Stuttgart
- KÖHLER, R. und W. SEFFNER (1975): Angeborenes Beinspreizen bei Saugferkeln. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 7: 259-262
- KOHLER, E.M., R.F. CROSS und L.C. FERGUSON (1969): Experimental induction of spraddled-legs in newborn pigs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 155: 139-142
- KOLB, E. (2002): Pathobiochemische Aspekte der Entstehung, der Behandlung und der Verhütung des Stehunvermögens (Ausgrätschens) neugeborener Ferkel – Übersichtsreferat. *Der Praktische Tierarzt*, 83 (6): 546-555
- KOLB, E., K. HÖRÜGEL, K. NESTLER, CH. SCHINEFF und M. STIRN (1981 a): Untersuchungen über den Gehalt an Protein-N, an Myofibrillen-N, an Sarkoplasma-N, an Bindegewebe-N und an Nichtprotein-N in verschiedenen Muskeln von gesunden Ferkeln sowie von Ferkeln mit Stehunvermögen (Ausgrätschen). *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 35 (5): 715-724

- KOLB, E., H. MÜHE, K. HÖRÜGEL, G. GRÜNDEL, C. SCHINEFF und U. SCHMIDT (1981 b): Untersuchungen über die Aktivität von Enzymen im Blutplasma von neugeborenen Ferkeln mit normaler Beweglichkeit sowie bei Ferkeln mit Grätschstellung. Monatshefte für Veterinärmedizin, 36: 904-908
- KOLB, E., M. WAHREN und K. NESTLER (1986): Untersuchungen über den Gehalt an Mg, Ca, K und Na in den Erythrozyten von normal entwickelten Ferkeln und von Grätschferkeln unterschiedlicher Körpermasse sowie an Mg, Ca und K in den Erythrozyten von Jung- und Altsauen. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 40 (3): 399-405
- KOLB, E., A. GRODRIAN, H. DITTRICH und K. NESTLER (1987): Untersuchungen über den Gehalt verschiedener Gewebe (Skelett-, Herzmuskulatur, Leber, Lunge, Nieren, Milz, Groß- und Kleinhirn, Hirnstamm, Rückenmark) von Gesunden bzw. von Grätschferkeln an Trockenmasse, an Ca, Mg, Na, K und Gesamt-P. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 41 (1): 12-21
- KOLB, E., M. WAHREN, G. DOBELEIT und G. GRÜNDEL (1989): Untersuchungen über den Gehalt an Ascorbinsäure in verschiedenen Geweben von Rindern, normal entwickelten Ferkeln, Grätschferkeln, adulten Schweinen sowie von Hunden. Archiv für experimentelle Veterinärmedizin, 43 (3): 327-334
- KOSAMBI, D.D. (1944): The estimation of map distances from recombination values. Annals of Eugenics, 12: 172-175
- KRATZSCH, A., C. STRICKER, C. GMÜR, S. RIEDER, H. JÖRG, P. OSSENT, E. BÜRGI, W. ZIMMERMANN, G. STRANZINGER und P. VÖGELI (1999): Congenital progressive ataxia and spastic paresis, a hereditary disease in swine, maps to Chromosome 3 by linkage analysis. Mammalian Genome, 10: 1036-1038
- KRUGLYAK, L., M.J. DALY, M.P. REEVE-DALY und E.S. LANDER (1996): Parametric and nonparametric linkage analysis: A unified multipoint approach. American Journal of Human Genetics, 58: 1347-1363

- KÜHNE, S., E. KOLB, S. HILLERT und G. GRÜNDEL (1986): Untersuchungen über die Aktivität der Katalase in der Leber, in der Niere, im Herzmuskel, in der Lunge, in einigen Skelettmuskeln sowie im Hämolysat von normal entwickelten Ferkeln und Grätschferkeln sowie in einigen Geweben von adulten Schweinen. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 40 (3): 417-424
- LAMAR, C.H. und D.C. VAN SICKLE (1975): Evaluation of chromatin clumping and myelination of the spinal cord of pigs with congenital tremor. *Veterinary Pathology*, 12 (1): 1-5
- LAX, T. (1971): Hereditary splayleg in pigs. *The Journal of Heredity*, 62 (4): 250-252
- LEBOWITZ, R.J., M. SOLLER und J.S. BECKMANN (1987): Trait-based analyses for the detection of linkage between marker loci and quantitative trait loci in crosses between inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 73: 556-562
- LE HONG, T., E. KOLB, I. MÜLLER und G. VALLENTIN (1990): Untersuchungen über die Aktivität der Acetylcholinesterase im zentralen Nervensystem von gesunden Ferkeln sowie von Grätschferkeln mit unterschiedlicher Körpermasse. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 45: 243-246
- LEO, M., E. KOLB, D. ROHLAND, CH. SCHINEFF und G. GRÜNDEL (1986): Untersuchungen über die Aktivität von ATPasen im Nervensystem von Feten, von gesunden Ferkeln und von Grätschferkeln. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 40 (3): 406-416
- LIANG, C.T., R.M. CHU, W.F. CHEN, C.N. WENIG und R.S. LIU (1995): Congenital abnormalities in piglets from a purebred swine herd. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science*, 21 (4): 183-195
- LIN, S., S. LIECHTI-GALLATI und J.-M. BURGUNDER (1999): Neue Erkenntnisse bei den Muskeldystrophien: aktualisierter Abklärungsplan. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 129 (33): 1141-1151
- LITT, M. und J.A. LUTY (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *American Journal of Human Genetics*, 44: 397-401

- LOCKLEY, A.K., J.S. BRUCE, S.J. FRANKLIN und R.G. BARDSLEY (1997): Simultaneous detection of a sex-specific sequence and the *RYR1* point mutation in porcine genomic DNA. *Meat Science*, 45 (4): 485-490
- LOEFFLER, K. (1991): *Anatomie und Physiologie der Haustiere*. 8. Auflage, Eugen Ulmer Verlag GmbH & Co., Stuttgart
- LÖFFLER, G. (1999): *Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie*. 3. Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- LOPEZ-CORRALES, N.L., C.W. BEATTIE und G.A. ROHRER (1999): Cytogenetic assignment of 53 microsatellites from the USDA-MARC porcine genetic map. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 84 (1-2): 140-144
- LUCE, W.G., D.S. BUCHANAN, C.V. MAXWELL, H.E. JORDAN und R.O. BATES (1986): Supplemental choline and dichlorvos for bred gilts. *Animal Science Research Report*, MP-118: 286-290
- LUKÁŠ, Z., L. PIVNÍK, I. STRAKA, J. RAMPOCHOVÁ, L. ŠTĚPÁNOVÁ, J. KAMAN und J. VITOUCH (1982): Early postnatal differentiation of muscle fibres and the occurrence of myofibrillar hypoplasia in piglets. *Acta Veterinaria Brno*, 51: 31-45
- MAAK, S. (2001): *Untersuchungen zu Kandidatengenomen für Leistungseigenschaften und Erbfehler beim Schwein*. Habilitationsschrift, Institut für Tierzucht und Tierhaltung mit Tierklinik, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- MAAK, S., S. JÄSERT, K. NEUMANN, M. YERLE und G. VON LENGERKEN (2001): Isolation of expressed sequence tags of skeletal muscle of neonatal healthy and splay leg piglets and mapping by somatic cell hybrids. *Animal Genetics*, 32: 303-307
- MAAK, S., S. JÄSERT, K. NEUMANN und G. VON LENGERKEN (2002): Rapid communication: Nucleotide sequence and physical mapping of the porcine cyclin-dependent kinase inhibitor 3 (*CDKN3*) gene. *Journal of Animal Science*, 80 (6): 1698-1699
- MAASS, P. und J. SCHULZE (1979): Zur genetischen Disposition des angeborenen Beinspreizens bei Saugferkeln. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 1: 20-21

- MADERBACHER, R., G. SCHODER, P. WINTER und W. BAUMGARTNER (1993): Abgangsursachen in einem Schweinezuchtbetrieb. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 100 (12): 468-473
- MARKLUND L, M. JOHANSSON MOLLER, B. HOYHEIM, W. DAVIES, M. FREDHOLM, R.K. JUNEJA, P. MARIANI, W. COPPIETERS, H. ELLEGREN und L. ANDERSSON (1996): A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig-Large White intercross. Animal Genetics, 27 (4): 255-269
- MASUHR, K.F. und M. NEUMANN (1996): Neurologie. 3. Auflage. Hippokrates Verlag Stuttgart
- MAXWELL, C.V., R.K. JOHNSON und W.G. LUCE (1987): Effect of level of protein and supplemental cholin on reproductive performance of gilts fed sorghum diets. Journal of Animal Science, 64 (4): 1044-1050
- MCNALLY, E., M.R. PASSOS-BUENO, C.G. BÖNNEMANN, M. VAINZOF, E. DE SÁ MOREIRA, H.G.W. LIDOV, P.H. DENTON, J.M. VANCE, M. ZATZ und L.M. KUNKEL (1996): Mild and severe muscular dystrophy caused by a single gamma-sarcoglycan mutation. American Journal of Human Genetics, 59: 1040-1047
- MEHLHORN, I., P. RITTENBACH und W. SEFFNER (1970): Kongenitale Muskelhypoplasie bei Saugferkeln (Grätschstellung). Monatshefte für Veterinärmedizin, 20: 781-784
- MILLER, J.K., A. HACKING, J. HARRISON und V.J. GROSS (1973): Stillbirths, neonatal mortality and small litters in pigs associated with the investigation of *Fusarium* toxin by pregnant sows. The Veterinary Record, 93: 555-559
- MOHR, O.L. (1929): Letalfaktoren bei Haustieren. Züchtungskunde, 4: 105-125
- MÜLLER, R. und M. KIRCHGESSNER (1986): Zur Aufzuchtleistung von Sauen in Abhängigkeit von Energieversorgung und -verteilung während der Gravidität. Züchtungskunde, 58 (5): 374-382
- MULLEY, R.C. und M.J. EDWARDS (1984): Prevalence of congenital abnormalities in pigs. Australian Veterinary Journal, 61 (4): 116-120

- MULLIS, K.B. und F.A. FALOONA (1987): Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155: 335-337
- NABUURS, M.J.A. und E.J. VAN DER MOLEN (1986): The influence of the amount of feed during gestation on the incidence of splayleg in piglets. *Proceedings of the 9th International Pig Veterinary Society*, S. 436
- NECHTELBERGER, D., C. KALTWASSER, I. STUR, J.-N. MEYER, G. BREM, M. MUELLER und S. MUELLER (2001): DNA microsatellite analysis for parentage control in Austrian pigs. *Animal Biotechnology*, 12 (2): 141-144
- O'BRIEN, S. J., M. MENOTTI-RAYMOND, W. J. MURPHY, W. G. NASH, J. WIENBERG, R. STANYON, N. G. COPELAND, N. A. JENKINS, J. E. WOMACK und J. A. MARSHALL GRAVES (1999): The promise of comparative genomics in mammals. *Science*, 286: 458-481
- OHNISHI, M., N. KOJIMA, E. KOKUE und T. HAYAMA (1989): Experimental induction of splayleg in piglets by pyrimethamine. *Nippon Juigaku Zasshi, The Japanese Journal of Veterinary Science*, 51 (1): 146-150
- OLSON, L.D. und J.F. PRANGE (1968): Spraddle-legged baby pigs. *Veterinary Medicine, Small Animal Clinician*, 63: 714
- OWINY, J.R., S. VANDEWOUDE, J.T. PAINTER, R.W. NORRDIN und D.N.R. VEERAMACHANENI (2001): Hip dysplasia in rabbits: associating with nest box flooring. *Comparative Medicine*, 51 (1): 85-88
- PARTLOW, G.D., K.R.S. FISHER, P.D. PAGE, K. MACMILLAN und A.F. WALKER (1993): Prevalence and types of birth defects in Ontario swine determined by mail survey. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 57: 67-73
- PASZEK, A.A., P.J. WILKIE, G.H. FLICKINGER, G.A. ROHRER, L.J. ALEXANDER, C.W. BEATTIE und L.B. SCHOOK (1999): Interval mapping of growth in divergent swine cross. *Mammalian Genome*, 10: 117-122

- PATTERSON, D.S.P., D. SWEASY, W.M. ALLEN, S. BERRETT und D.C. THURLEY (1969): The chemical composition of neonatal piglets muscle and some observations on the biochemistry of myofibrillar hypoplasia occurring in otherwise normal litters. *Zentralblatt für Veterinärmedizin*, 16: 741-753
- PESCHKE, W., A. VILSER, H. KIRSCHNER und H. KRAUS (1987): Anomalienindex in der künstlichen Besamung beim Schwein. *Schule und Beratung*, 1 (Sonderdruck IV): 7-8
- PINTON, P., L. SCHIBLER, E. CRIBIU, J. GELLIN und M. YERLE (2000): Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs and goats. *Mammalian Genome*, 11: 306-315
- POMP, D., B.A. GOOD, R.D. GEISERT, C.J. CORBIN und A.J. CONLEY (1995): Sex identification in mammals with PCR and its use to examine sex effects on diameter of day-10 or -11 pig embryos. *Journal of Animal Science*, 73: 1408-1415
- PRANGE, H., S. MAAK und U. GEIPEL (2000): Incidence of congenital splay leg syndrome and biochemical parameters in affected and healthy newborn piglets. 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne
- PRANGE, H., S. MAAK und U. GEIPEL (2001): Investigations on congenital splayleg syndrome in newborn piglets. 34. Jahrestagung Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung, Gießen, 2001; Verlag der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V.: 34
- RAMBAGS, P.G.M. und P.T.J.M. VAN IPEREN (1988): Splay-leg in piglets: A comparative examination within 24 multiplier-farms with Landrace-sows and investigations of heredity. *Proceedings: International Pig Veterinary Society Congress*, 10: 236
- REICH, K. (1998): Feldstudie zum Vorkommen von Ochratoxin A und Zearalenon in Futtermitteln und im Blut von Zucht- und Mastschweinen mit besonderer Berücksichtigung der Futterherkunft und -lagerung. Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin.
- REINSCH, N. (1999): A multiple-species, multiple-project database for genotypes at codominant loci. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116: 425-435

- REINSCH, N. (2002): A general likelihood approach to trait based multi-point linkage analysis in large groups of half-sibs and super sisters. *Genetics*, 162: 413-424
- RICHMAN, D.P. (1998): Myasthenia gravis and related diseases. Disorders of the neuromuscular junction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Band 841
- ROHRER, G.A., L.J. ALEXANDER, Z. HU, T.P. SMITH, J.W. KEELE und C.W. BEATTIE (1996): A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Research*, 6 (5): 371-391
- ROHRER G.A., P. VÖGELI, G. STRANZINGER, L.J. ALEXANDER und C.W. BEATTIE (1997): Mapping 28 erythrocyte antigen, plasma protein and enzyme polymorphisms using a efficient genomic scan of the porcine genome. *Animal Genetics* 28 (5): 323-330
- RUDAT, I. (1997): Kartierung des *RN*-Gens beim Schwein. Dissertation, Schriftenreihe des Institutes für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Heft 97
- SAMBROOK, J., E.F. FRITSCH und T. MANIATIS (1989): *Molecular cloning - a laboratory manual*. 2. Auflage, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA.
- SAS (2002): *SAS/STAT User's Guide*, Version 8, first edition, Cary Institute, Inc., North Carolina, USA
- SCHNAPPERELLE, H. und J. KOCH (1980): Untersuchungen zum Auftreten und zur Therapie des angeborenen Beinspreizens bei Saugferkeln. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 35: 858-860
- SELLIER, P. und L. OLLIVIER (1982): Étude génétique du syndrome de l'abduction des membres (*splayleg*) chez le porcelet nouveau-né. I. – Modèle multifactoriel à un seuil. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, 14 (1): 77-92
- SELLIER, P., E. DANDO und P. DANDO (1999): Induction of parturition in the sow and incidence of splayleg syndrome in the newborn piglet. *Annales de Zootechnie* 48 (3): 153-161

- SIRONEN, A.I., M. ANDERSSON, P. UIMARI und J. VILKKI (2002): Mapping of an immotile short tail sperm defect in the Finnish Yorkshire on porcine Chromosome 16. *Mammalian Genome*, 13 (1): 45-49
- SMIDT, W.J. (1972): Congenital defects in pigs. *Proceedings of the VIIth International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination, München*, 2: 1143-1148
- SPICER, E.M., S.J. DRIESEN, V.A. FAHY, B.J. HORTON, L.D. SIMS, R.T. JONES, R.S. CUTLER und R.W. PRIME (1986): Causes of preweaning mortality on a large intensive piggery. *Australian Veterinary Journal*, 63 (3): 71-75
- SPIELMAN, R.S., E.R. MCGINNIS und W.J. EWENS (1993): Transmission test for linkage disequilibrium: The insuline gene region and insulin- dependent Diabetes Mellitus (IDDM). *American Journal of Human Genetics*, 52: 506-516
- STEANE, D.E. (1985): Congenital abnormalities. *The Pig Veterinary Society Proceedings*, 12: 38-49
- STIGLER, J. (1990): Analyse von Erbfehlern beim Schwein. Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität München
- STIGLER, J., O. DISTL, B. KRUFF und H. KRÄUSSLICH (1991): Segregationsanalyse von Erbfehlern beim Schwein. *Züchtungskunde*, 63 (4): 294-305
- STOCKLAND, W.L. und L.G. BLAYLOCK (1974): Choline requirement of pregnant sows and gilts under restricted feeding conditions. *Journal of Animal Science*, 39 (6): 1113-1116
- STREET, V.A., J.D. GOLDY, A.S. GOLDEN, B.L. TEMPEL, T.D. BIRD und P.F. CHANCE (2002): Mapping of Charcot-Marie-Tooth disease type 1C to chromosome 16p identifies a novel locus for demyelinating neuropathies. *American Journal of Human Genetics*, 70: 244-250
- SUTER, U. (1998): Leitungsstörungen. *unimagazin, Magazin der Universität Zürich*, 3 (<http://www.unicom.unizh.ch/magazin/archiv/3-98/leitung.html>, Stand, August 2002)

- SVENDSEN, J. und B. ANDRÉASSON (1980): Perinatal mortality in pigs: influence of housing. Proceedings of the 6th International Pig Veterinary Society, S. 83
- SVENDSEN, L.S., B.R. WESTRÖM, J. SVENDSEN, A.-CH. OLSSON und B.W. KARLSSON (1990): Intestinal macromolecular transmission in underprivileged and unaffected newborn pigs: implication for survival of underprivileged pigs. Research in Veterinary Science, 48 (2): 184-189
- SVENDSEN, L.S., B.R. WESTRÖM, J. SVENDSEN, A.-CH. OLSSON und B.W. KARLSSON (1991): Blood serum characteristics of newborn pigs: comparison of unaffected pigs with pigs belonging to five mortality groups. Acta veterinaria Scandinavica, 32: 287-299
- SWATLAND, H.J. (1974): Fetal and neonatal development of spindle capsules and intrafusal myofibers in the porcine *sartorius*. Journal of Animal Science, 39 (1): 42-46
- SZALAY, F., A. ZSARNOVSKY, S. FEKETE, I. HULLAR, V. JANCSEK und F. HAJOS (2001): Retarded myelination in the lumbar spinal cord of piglets born with spread-leg syndrome. Anatomy and Embryology, 203: 53-59
- THALLER, G. (1992): Komplexe Segregationsanalyse zum Nachweis von Hauptgenen bei dichotomen Merkmalen am Beispiel der Anomalien des Schweins. Dissertation, Technische Universität München-Weihenstephan
- THALLER, G., L. DEMPFLER und I. HOESCHELE (1996): Investigation of the inheritance of birth defects in swine by complex segregation analysis. Journal of Animal Genetics, 113: 77-92
- THURLEY, D.C. (1967): Muskulaturentwicklung und Gliedmaßenschwäche („Leg Weakness“) bei Schweinen. Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 74: 336-338
- THURLEY, D.C. und J.T. DONE (1969): The histology of myofibrillar hypoplasia of newborn pigs. Zentralblatt für Veterinärmedizin, 16: 732-740
- THURLEY, D.C., F.R. GILBERT und T.J. DONE (1967): Congenital splayleg of piglets: myofibrillar hypoplasia. Veterinary Record, 80: 302-304

TOMKO, M. (1993): Influence of parental origin, litter size and sex on the frequency of splayleg in piglets: a case report. *Acta Veterinaria Hungarica*, 41 (3-4): 329-339

TUČEK, S. und V. HANZLÍKOVÁ (1984): Neuromuscular system of piglets with splayleg: The synthesis of acetylcholine and the myelination and ultrastructure of peripheral nerve fibres. *Physiologia Bohemoslovaca*, 33 (2): 147-153

TUČEK, S., T. SVOBODA, J. ŘÍČNÝ, A. BASS, T. SOUKUP und V. VÍTEK (1985): The concentration of choline and the activities of cholinesterase, creatine kinase and lactat dehydrogenase in the blood plasma of piglets with the syndrome of splayleg (congenital myofibrillar hypoplasia). *Zentralblatt für Veterinärmedizin, A*, 32: 1-10

URL 1: http://www.charite.de/rv/imed/megaloblastaere_anaemie.htm, Stand August 2002

URL 2: <http://www.genome.iastate.edu/maps/index.html>, Stand August 2002

URL 3: <http://www.thearkdb.org/browser>, Stand August 2002

URL 4: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>, Stand August 2002

URL 5: <http://www.toulouse.inra.fr/lgc/pig/compare/SSC.htm>, Stand August 2002

VAN DER HEYDE, H., J.P. DE METS, L. PORREYE, H. HENDERICKX, A. CALLUS, H. BEKAERT und F. BUYSSE (1989): Influence of season, litter size, parity, gestation length, birth weight, sex and farrowing pen on frequency of congenital splayleg in piglets. *Livestock Production Science*, 21: 143-155

VAN DER VLEUTEN, A.J., C.M. VAN RAVENSWAALJ-ARTS, C.J. FRIJNS, A.P. SMITS, G. HAGEMAN, G.W. PADBERG und H. KREMER (1998): Localisation of the gene for dominant congenital spinal muscular atrophy predominantly affecting the lower limbs to chromosome 12q23-q24. *European Journal of Human Genetics*, 6 (4): 376-382

VÁNYI, A., Á. BATA, R. GLÁVITS und F. KOVÁCS (1994): Perinatal oestrogen syndrome in swine. *Acta Veterinaria Hungarica*, 42 (4): 433-446

- VOGT, D.W., T.A. GIPSON, B. AKREMI, S. DOVER und M.R. ELLERSIECK (1984): Association of sire, breed, birth weight, and sex in pigs with congenital splayleg. *American Journal of Veterinary Research*, 45 (11): 2408-2409
- WADA, Y., T. AKITA, T. AWATA, T. FURUKAWA, N. SUGAI, Y. INAGE, K. ISHII, Y. ITO, E. KOBAYASHI, H. KUSUMOTO, T. MATSUMOTO, S. MIKAWA, M. MIYAKE, A. MURASE, S. SHIMANUKI, T. SUGIYAMA, Y. UCHIDA, S. YANAI und H. YASUE (2000): Quantitative trait loci (QTL) analysis in a Meishan x Göttingen cross population. *Animal Genetics*, 31: 376-384
- WARD, P.S. (1978): The splayleg syndrome in newborn pigs: A review part I and II. *Veterinary Bulletin*, 48: 279-295 (Part I), 381-399 (Part II)
- WARD, P.S. und R. BRADLEY (1980): The light microscopical morphology of the skeletal muscles of normal pigs and pigs with splayleg from birth to one week of age. *Journal of Comparative Pathology*, 90 (3): 421-431
- WEBER, P., E. KOLB, H. DITTRICH, A. LANDER und K. NESTLER (1986): Untersuchungen über den Gehalt an Fe, Cu und Zn in verschiedenen Organen, in einigen Abschnitten des Zentralnervensystems sowie in verschiedenen Skelettmuskeln von normal entwickelten Ferkeln sowie von Ferkeln mit dem Grätschsyndrom unterschiedlicher Körpermasse. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 40 (3): 425-435
- WEHNER, R. und W. GEHRING (1990): *Zoologie*. 22. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York
- WEIR, B.S. (1996): *Genetic data analysis II. Methods for discrete population genetic data*. Sunderland: Sinauer Associates, Massachusetts
- WELLS, G.A.H. (1986): Locomotor disorders of the pig. *Pig News and Information*, 7 (1): 17-21)

- WITTNER, S., E. KOLB, ST. JAEHNICHEN und E. KLUG (1982): Untersuchungen über die Aktivität der Cholinacetyltransferase und der Acetylcholinesterase in verschiedenen Abschnitten des Nervensystems sowie der Skelettmuskulatur von neugeborenen Ferkeln mit normaler bzw. geringer Körpermasse sowie bei Ferkeln mit Stehunvermögen (Ausgrätschen). *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin*, 36 (2): 221-235
- WRATHALL, A.E. (1988): The boar and congenital problems. *The Pig Veterinary Society Proceedings*, 21: 116-134
- XU, N. (1997): Markerkarten für acht Chromosomen und erste QTL-Analyse an deutschen Milchrinder-Familien. Schriftenreihe des Instituts für Tierzucht und Tierhaltung der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Heft 99
- YAMAMOTO, Y., M. OHNISHI, E. KOKUE, T. HAYAMA, H. AOYAMA, M. KANEDA und S. TERAMOTO (1984): Pyrimethamine teratogenesis by short term administration in Goettingen miniature pig. *Congenital Anomalies*, 24: 83-87
- YASUE, H., S. MIKAWA, H. UENISHI und Y. WADA (1999): Analysis of allele segregation distortion in a swine resource family. *Animal Biotechnology*, 10 (3): 147-152
- ZELENÁ, J. und I. JIRMANOVÁ (1979): Degenerative changes in skeletal muscles of piglets with congenital myofibrillar hypoplasia. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, A*, 26 (8): 652-665
- ZELENÁ, J., K. SMETANA und I. JIRMANOVÁ (1978): Abnormalities of the nuclear envelope in porcine muscle affected with congenital myofibrillar hypoplasia. *Virchows Archiv B*, 28: 157-165
- ZIEGLE, J.S., Y. SU, K.P. CORCORAN, L. NIE, P.E. MAYRAND, L.B. HOFF, L.J. MCBRIDE, M.N. KRONICK und S. DIEHL (1992): Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci. *Genomics*, 14: 1026-1031
- ZRUNEK, A., J. BILA und M. STEFAN (1977): Hodnocení účinku Syntostigminu při pokusné terapii svalové slabosti: končetin narozených selat. *Veterinarství*, 27: 454-457

9 Anhang

Markerkarte des Chromosoms Sscr 1

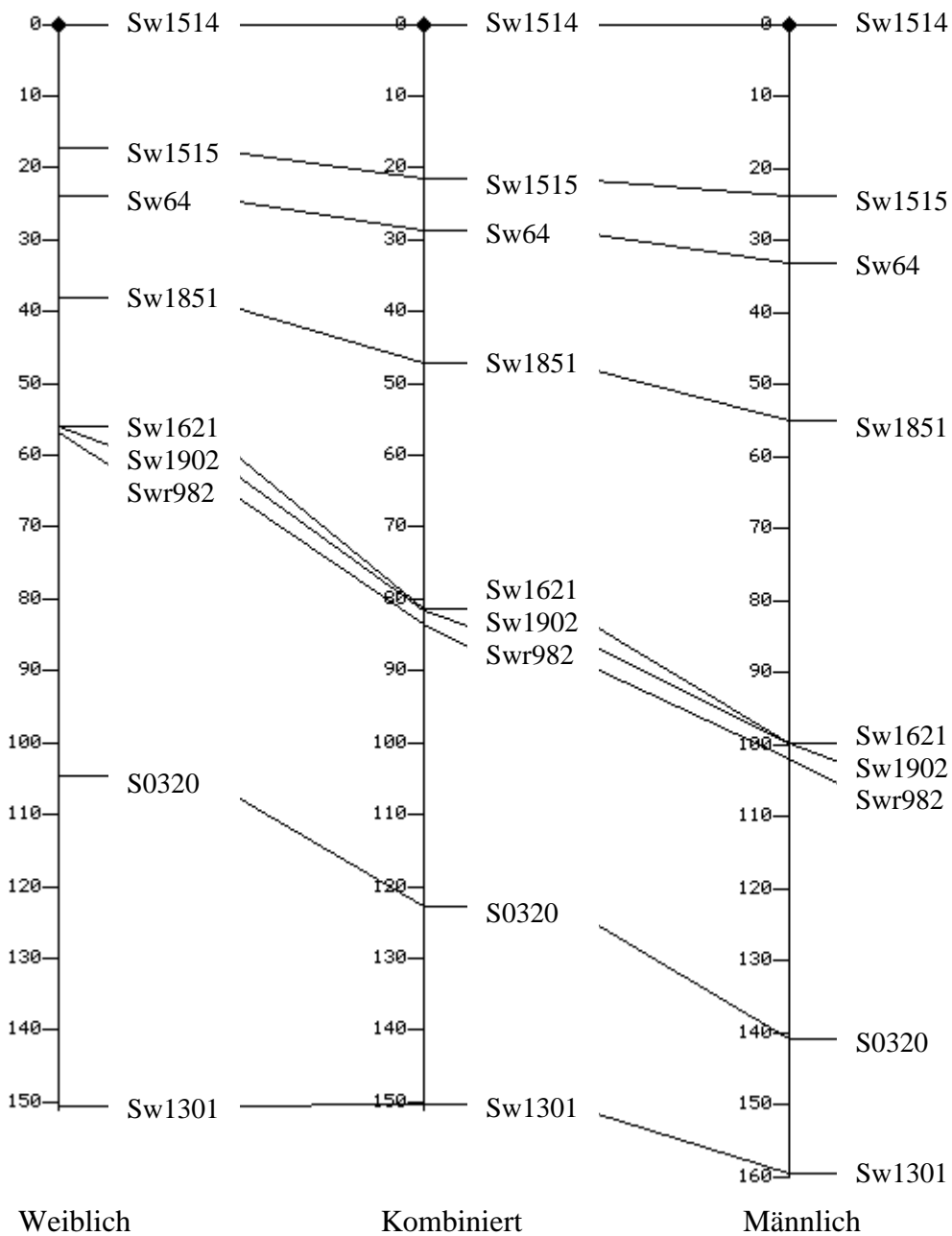


Abbildung A1: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 1. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 2

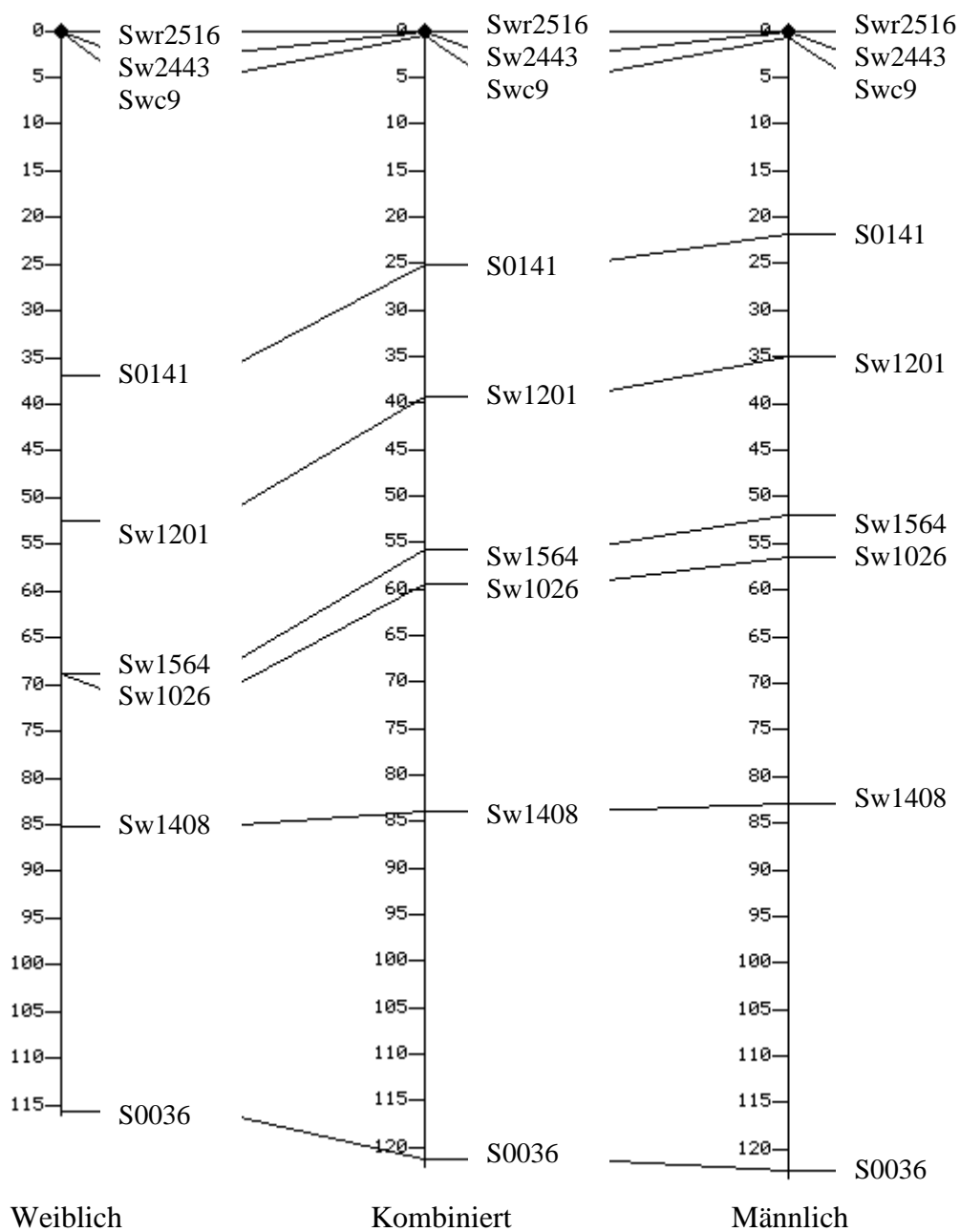


Abbildung A2: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 2. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 4

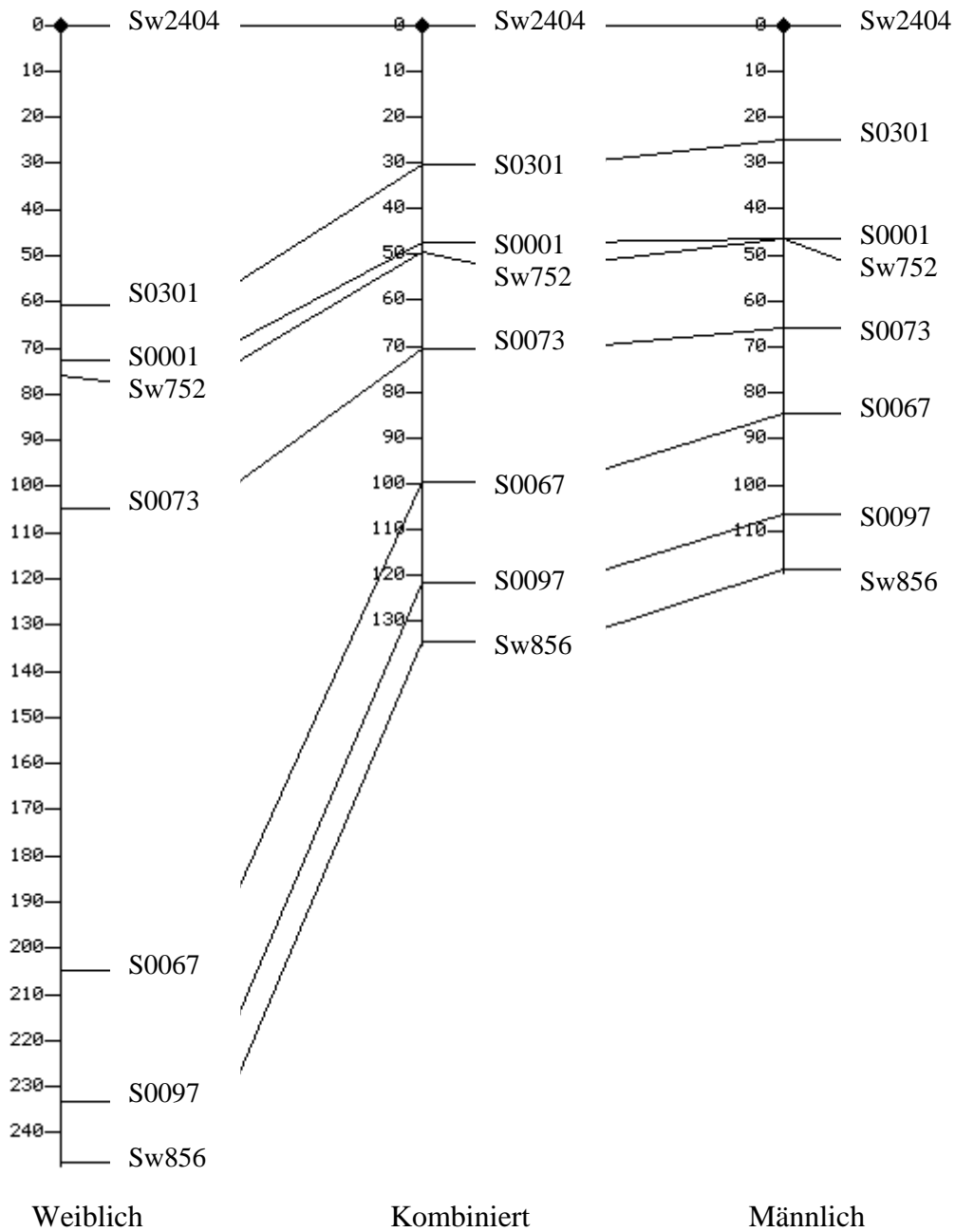


Abbildung A3: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 4. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 6

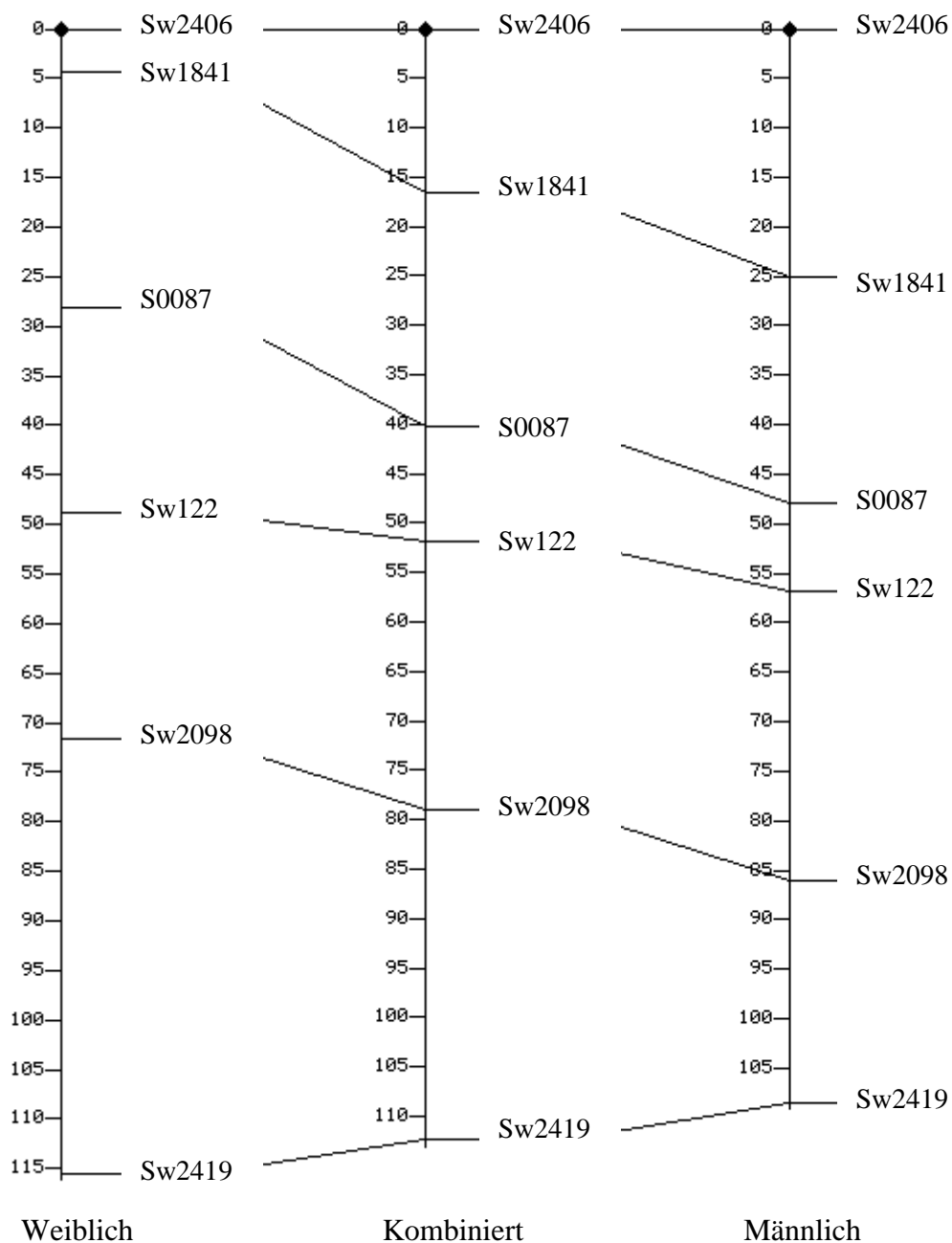


Abbildung A4: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 6. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 7

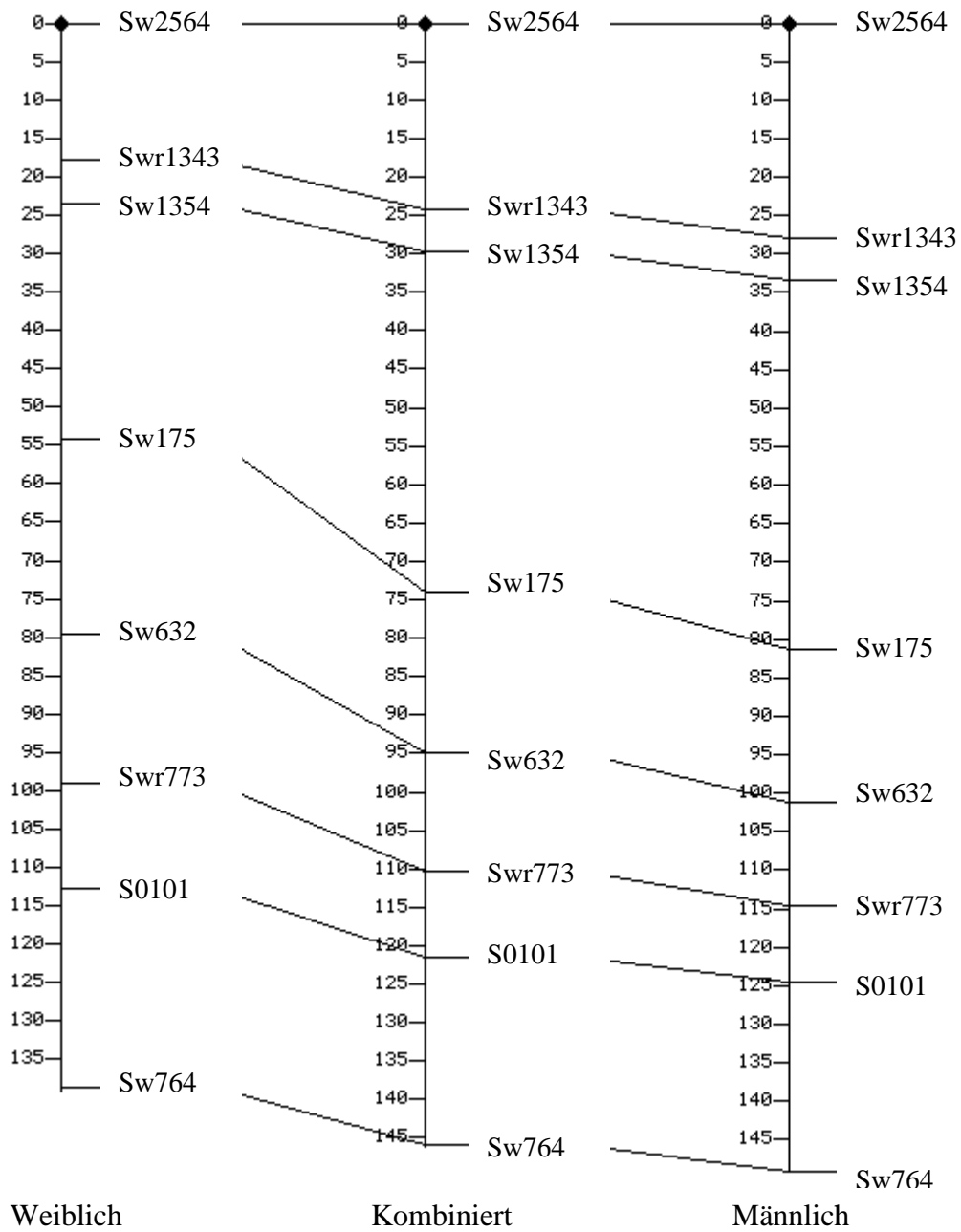


Abbildung A5: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 7. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 8

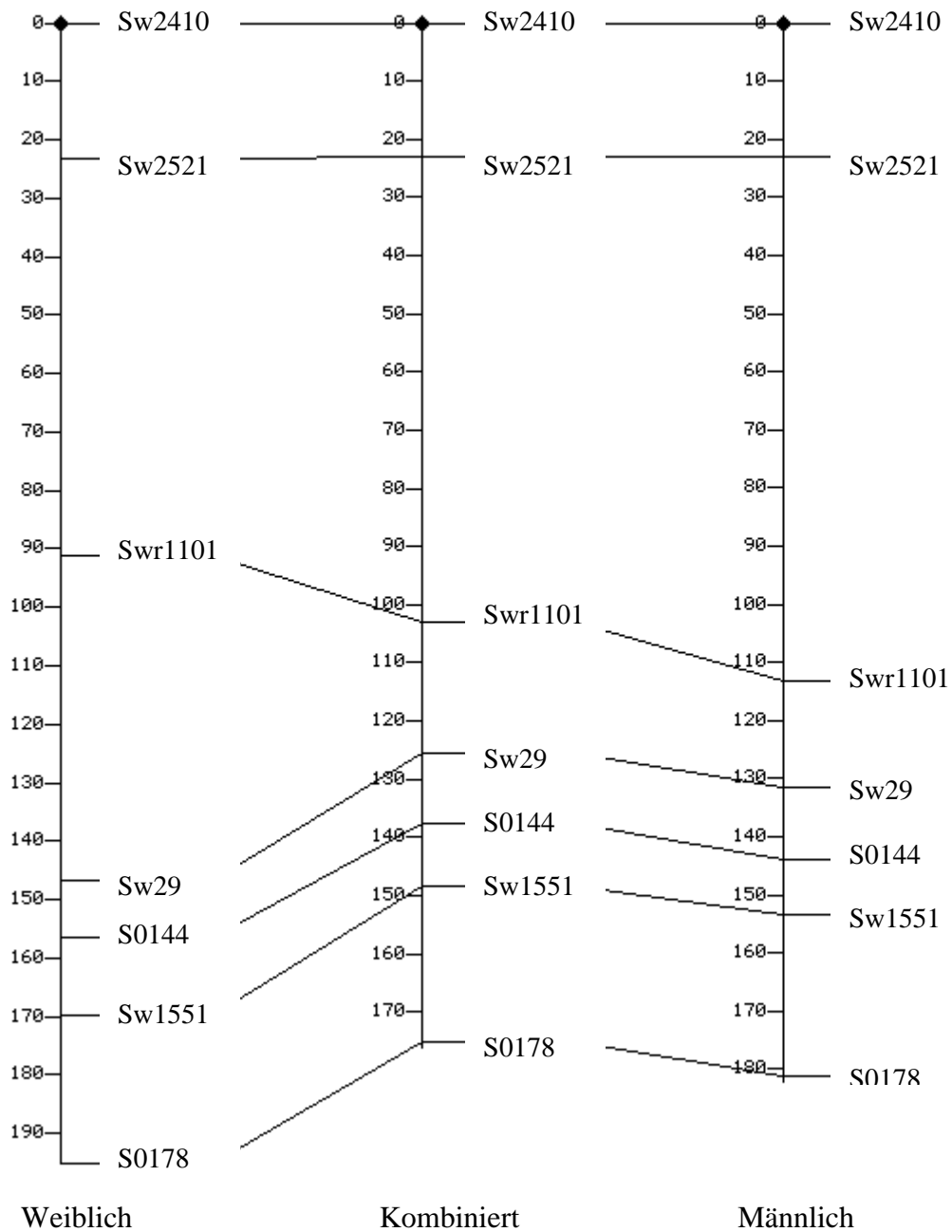


Abbildung A6: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 8. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Die Distanz zwischen den Markern Sw2410 und Sw2521 wurde von der kombinierten USDA-Karte für alle drei eigenen Karten übernommen da sie sich aufgrund der Anzahl von 72 informativen Meiosen nicht anhand der eigenen Ergebnisse schätzen ließ.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 9

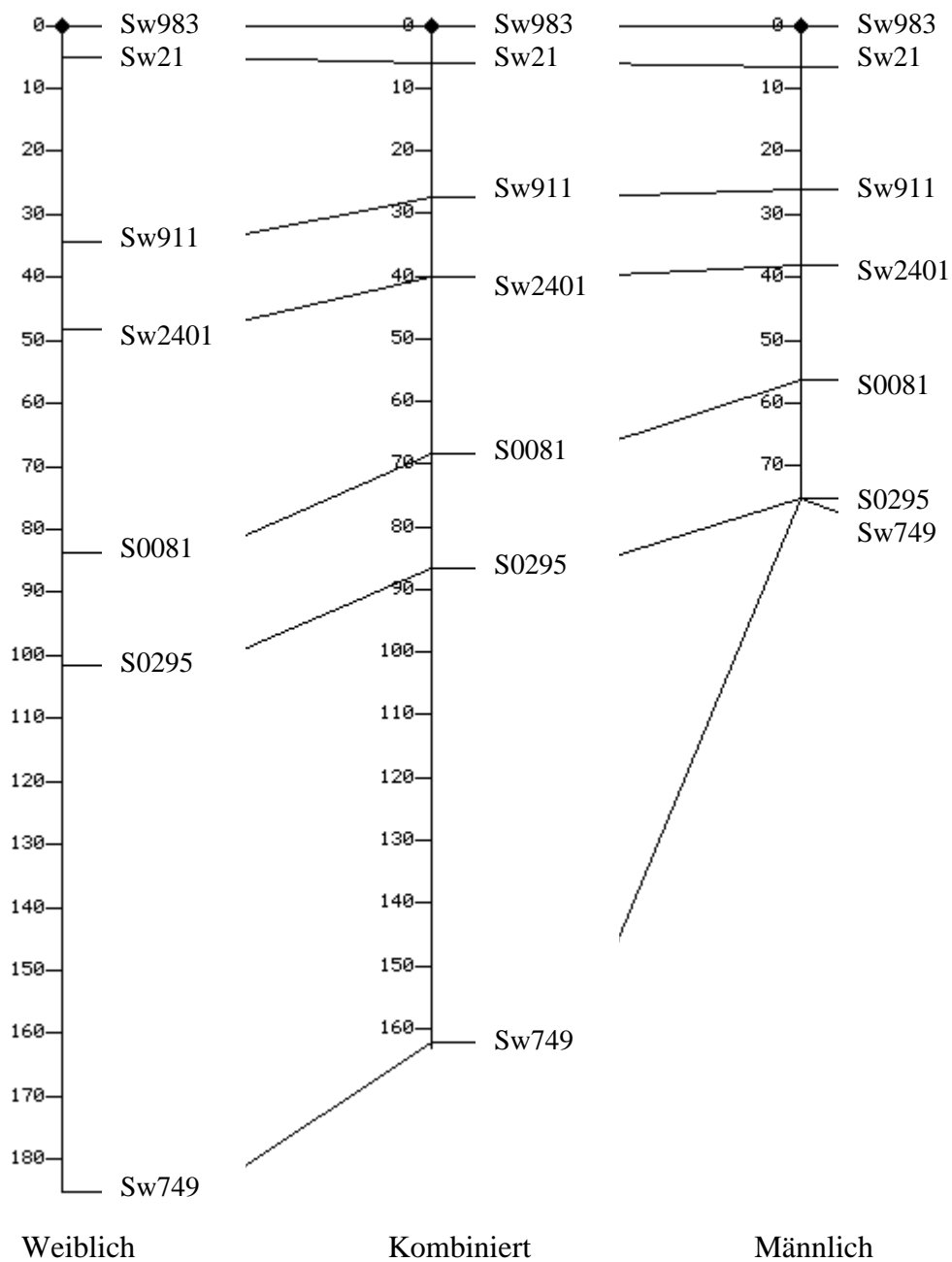


Abbildung A7: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 9. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 10

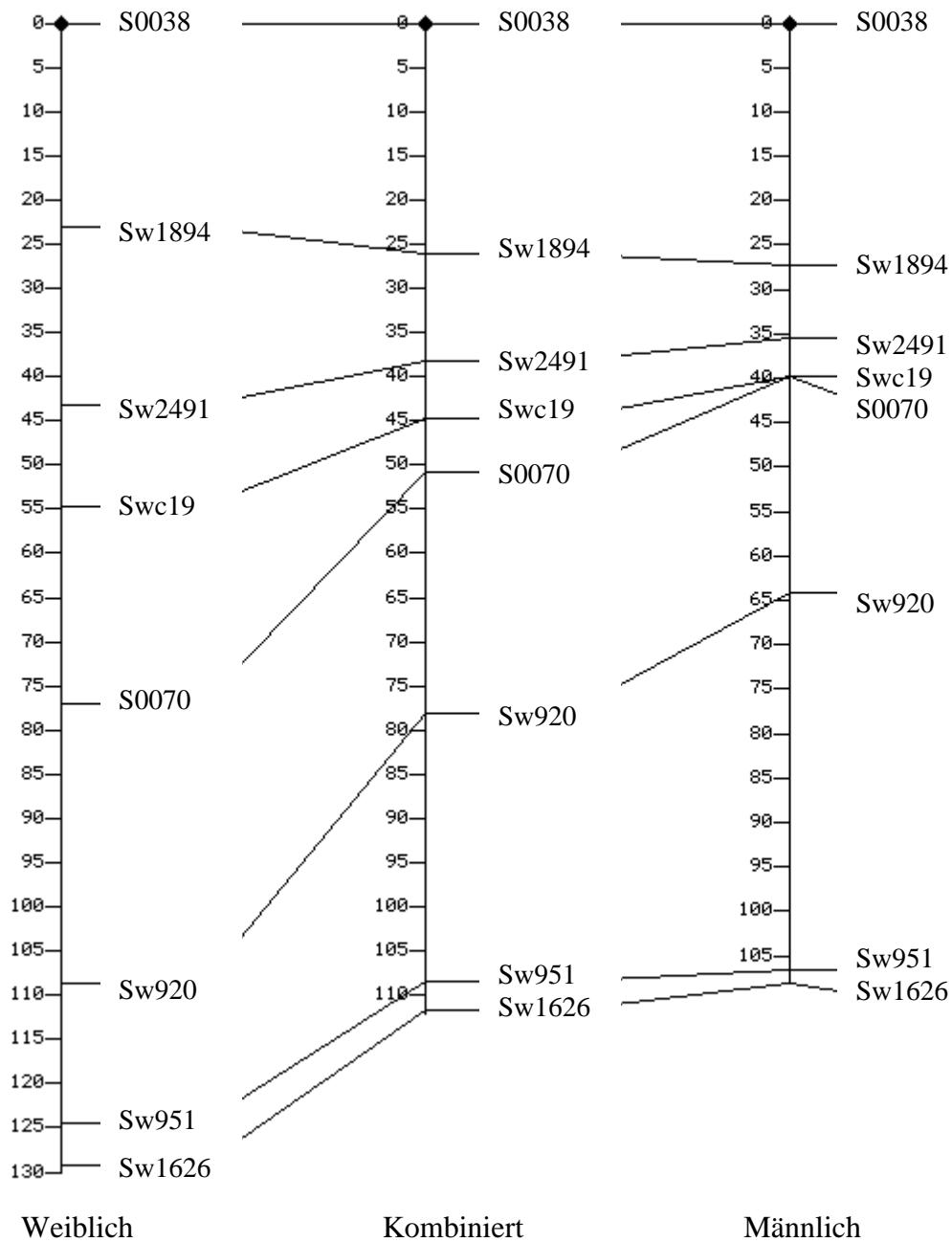


Abbildung A8: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 10. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 12

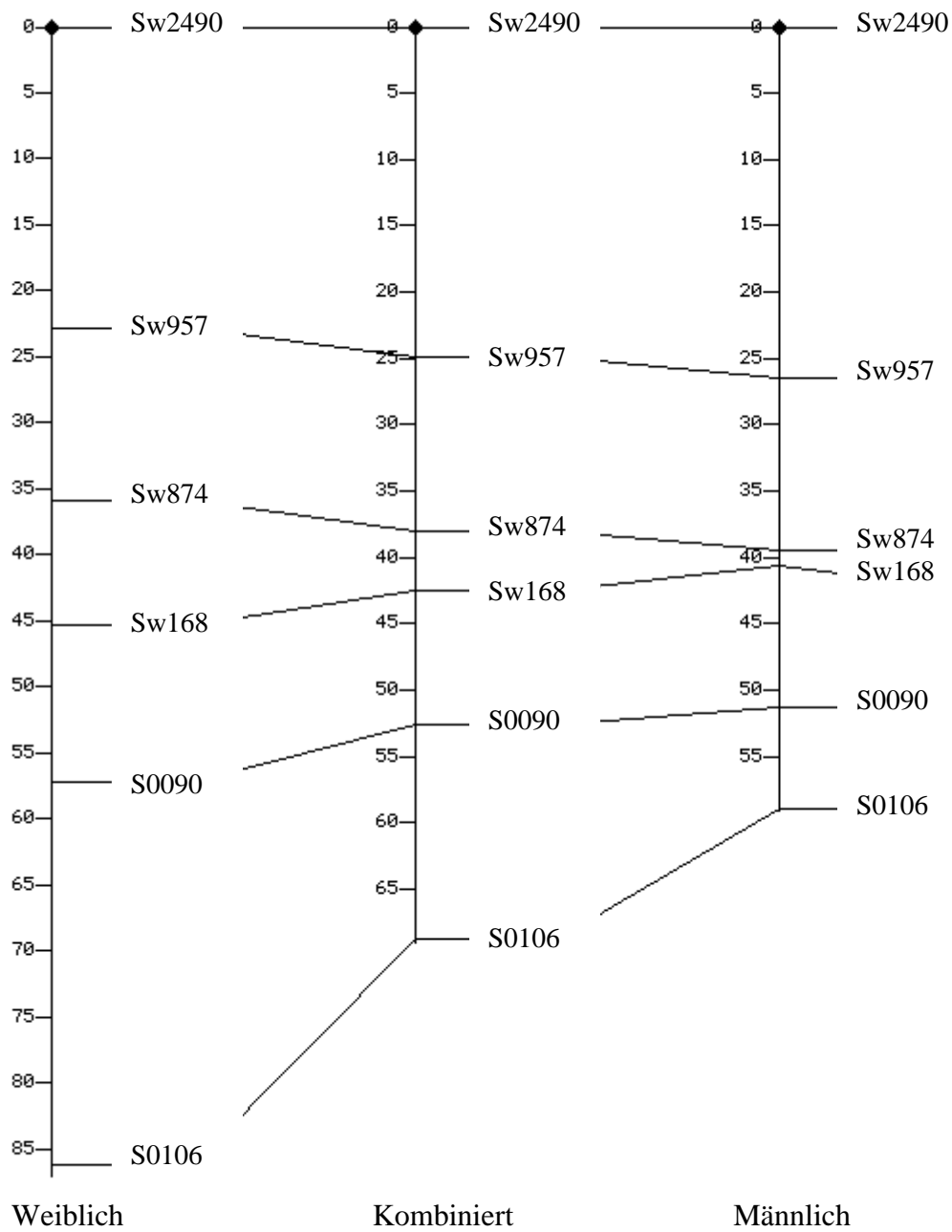


Abbildung A9: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 12. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 13

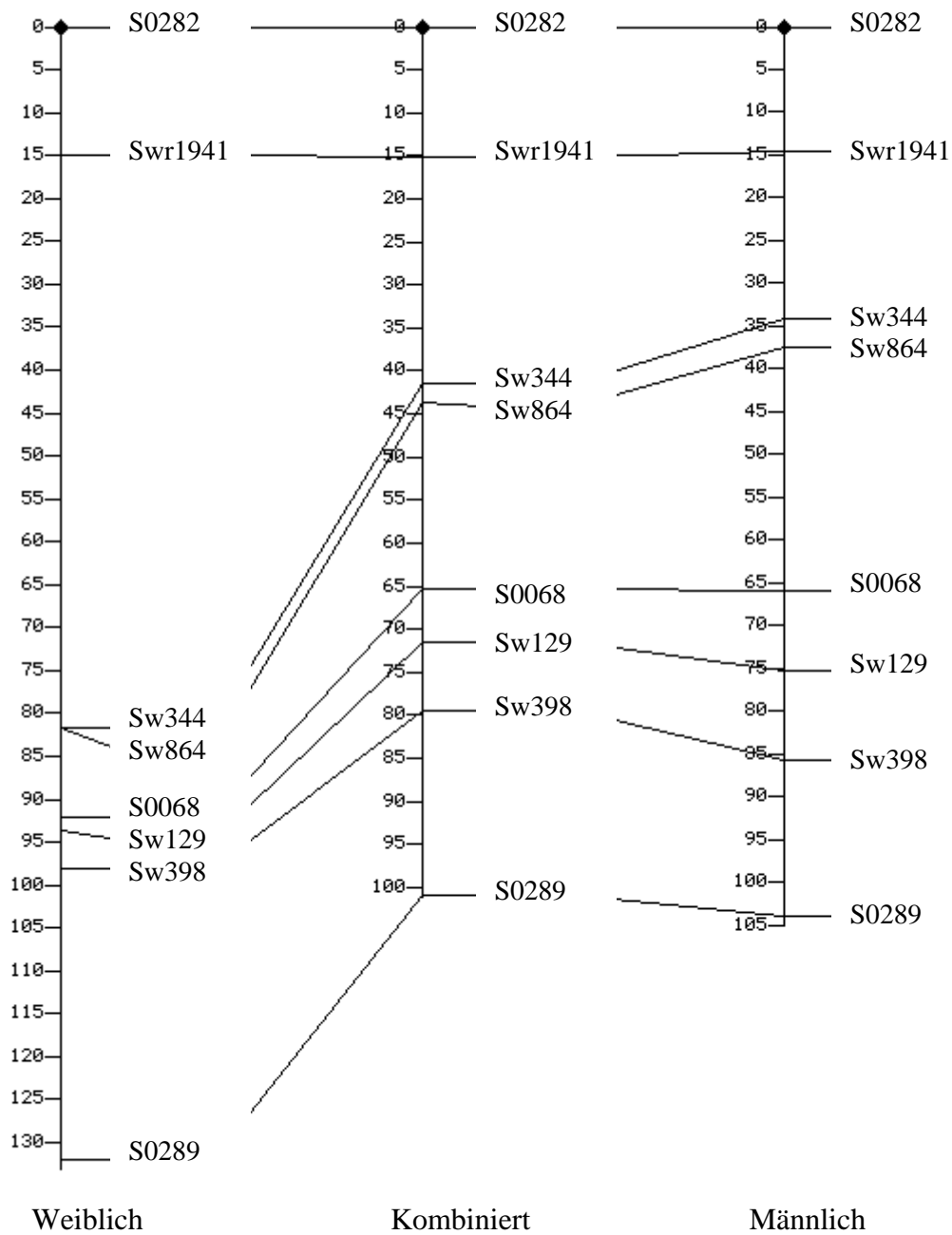


Abbildung A10: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 13. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 14

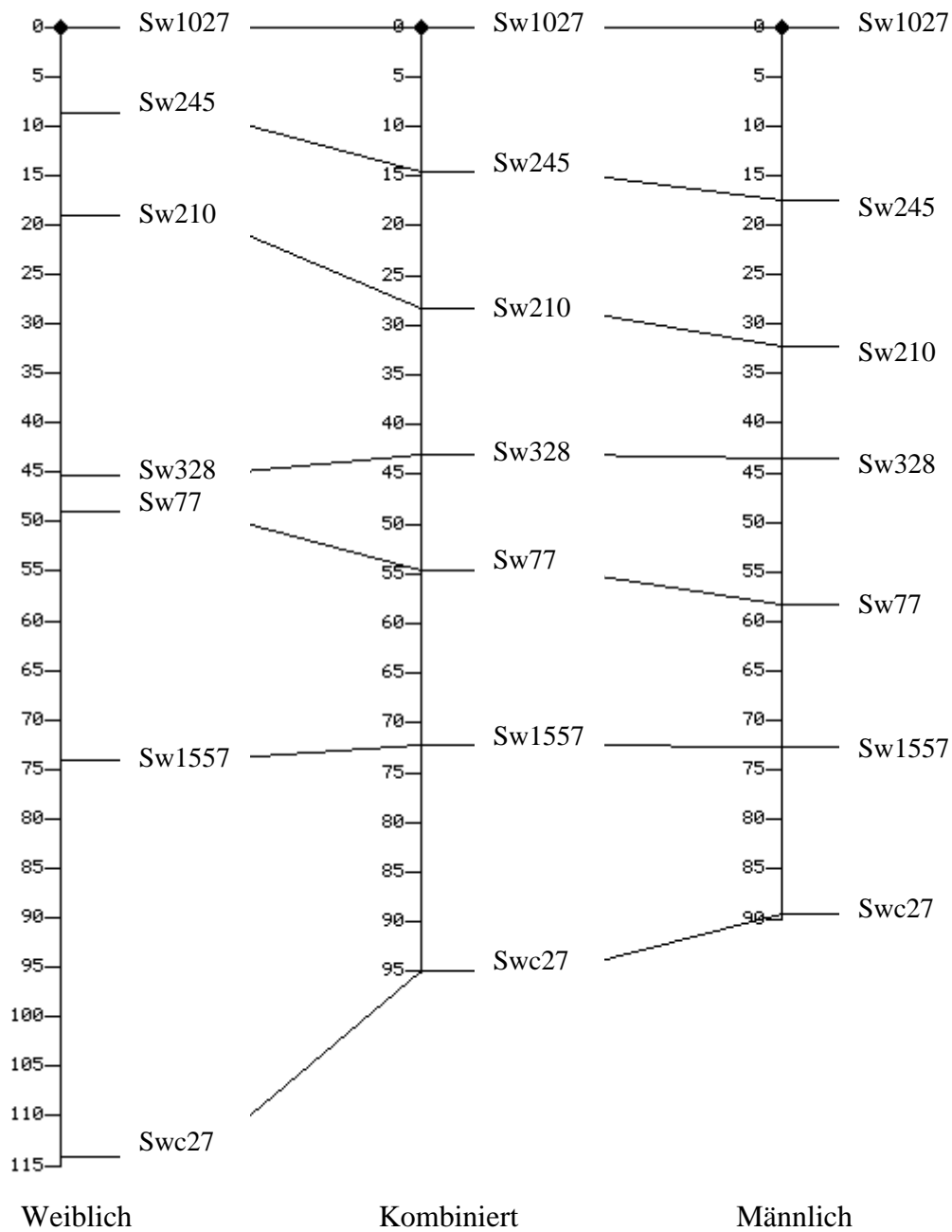


Abbildung A11: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 14. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 15

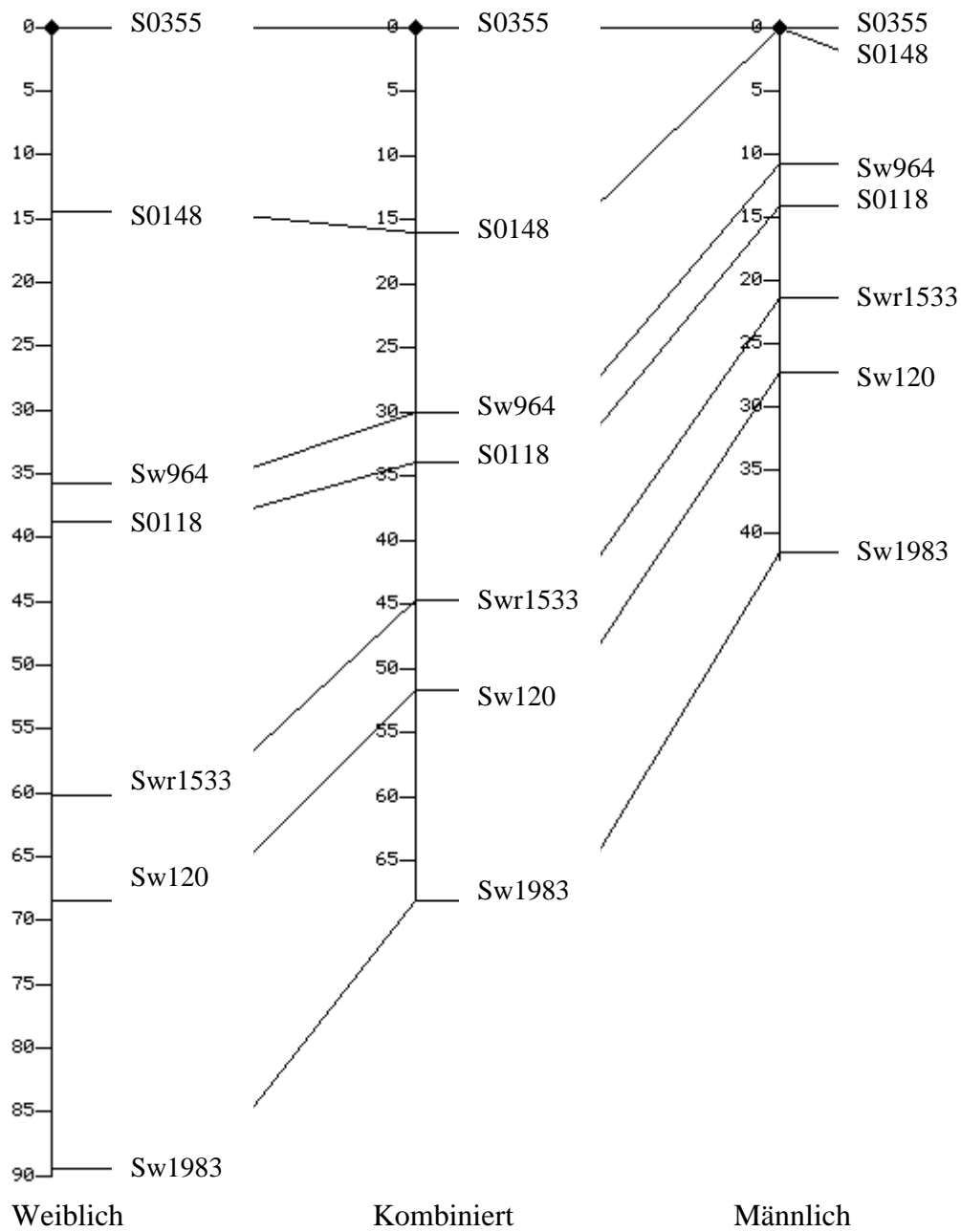


Abbildung A12: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 15. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 16

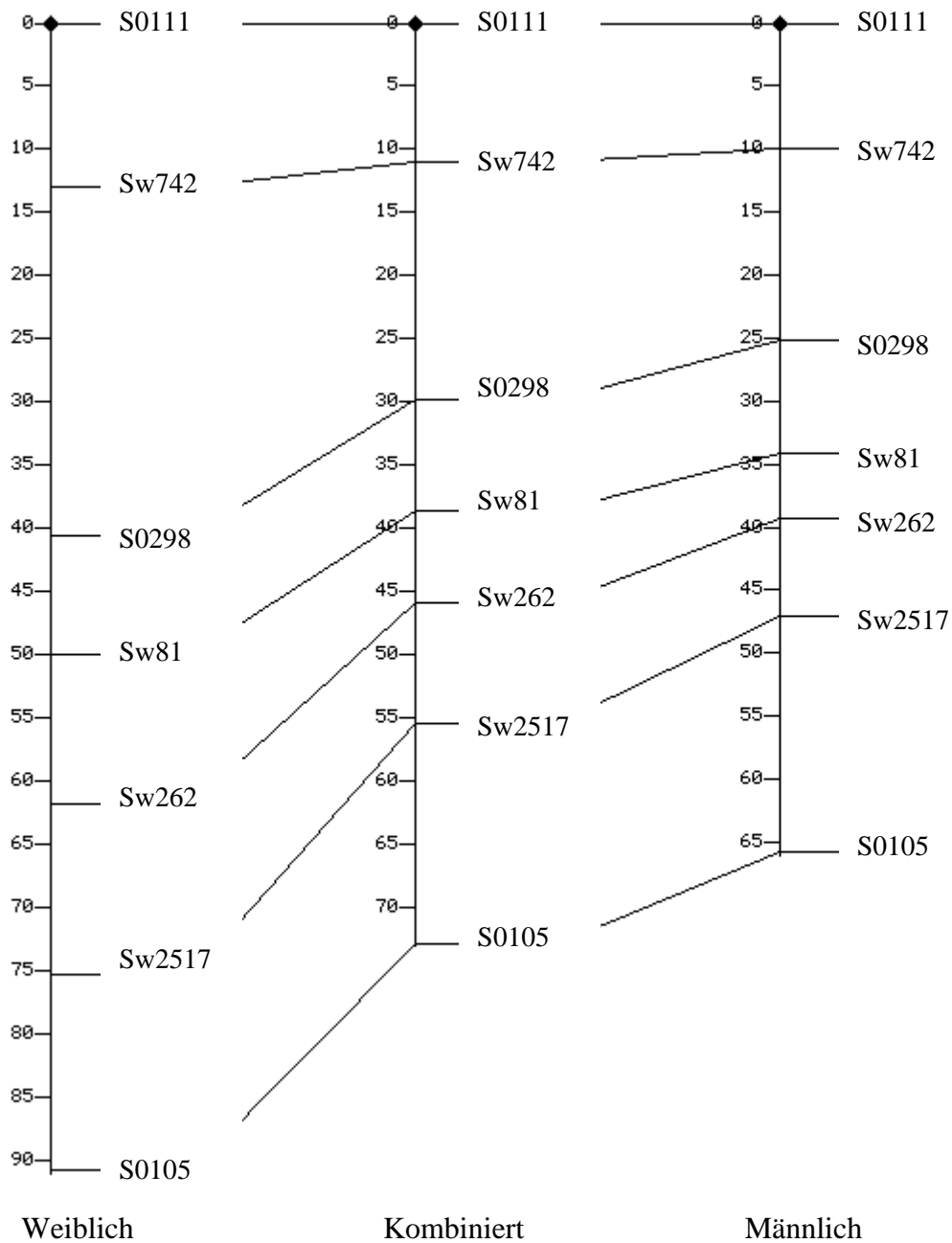


Abbildung A13: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 16. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 17

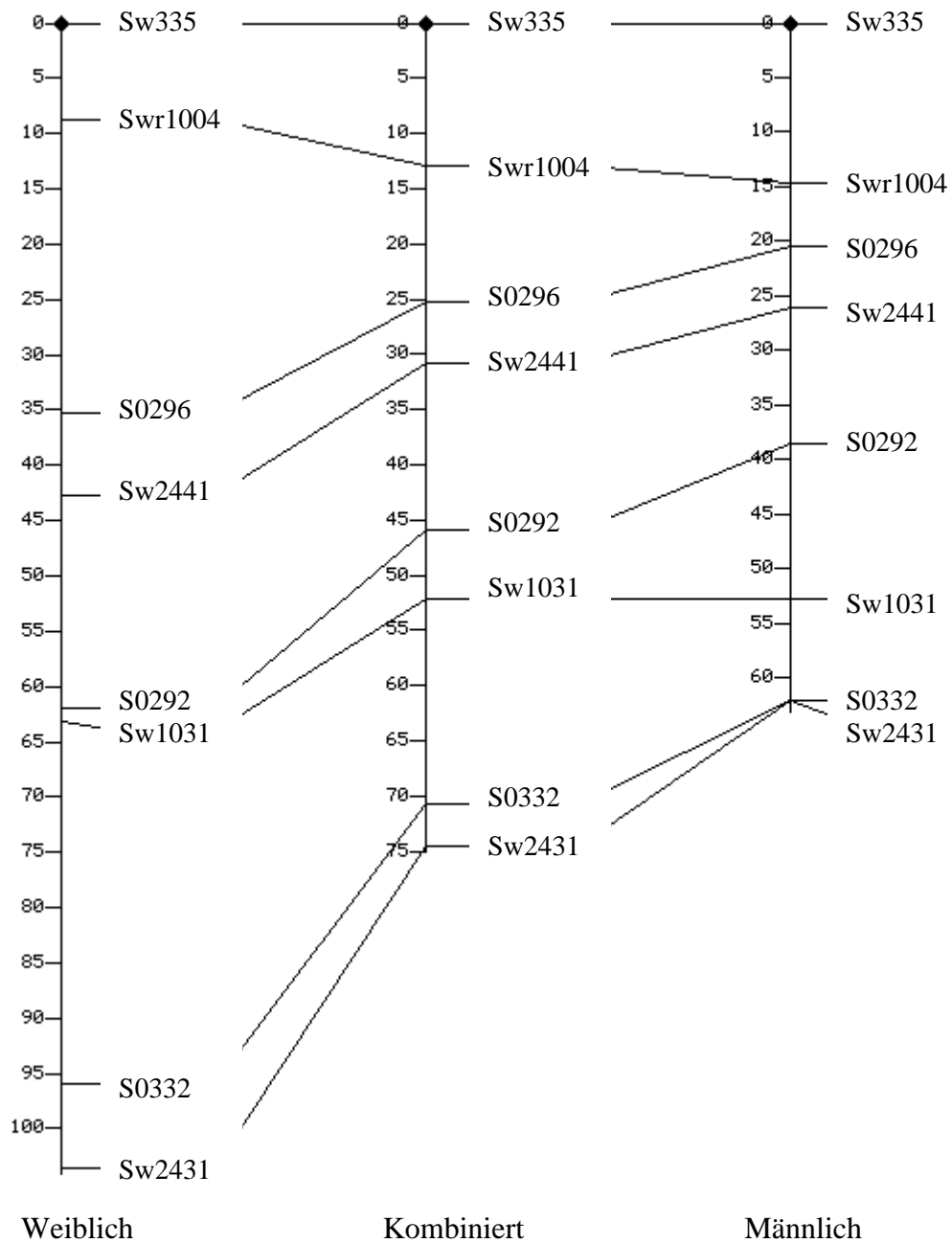


Abbildung A14: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 17. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerkarte des Chromosoms Sscr 18

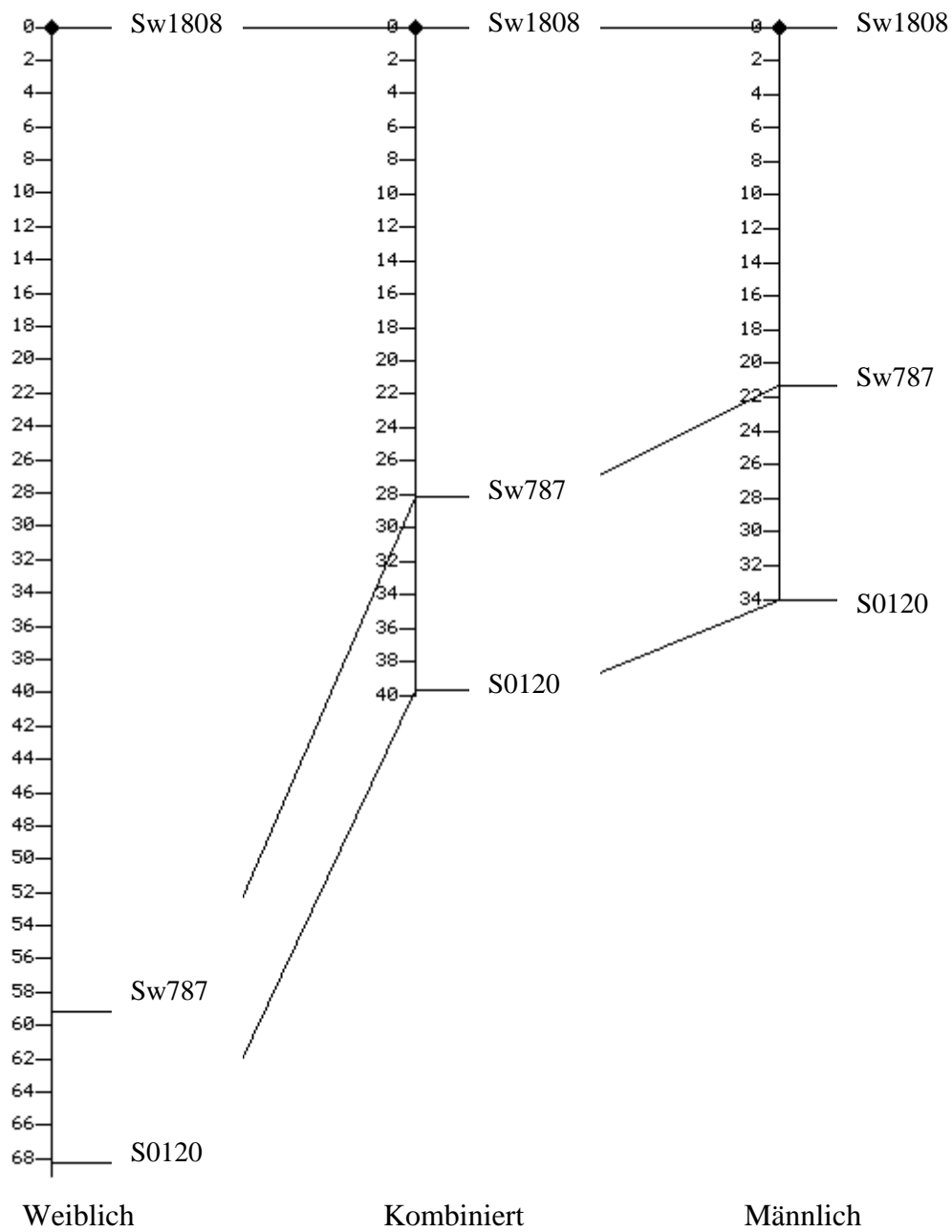


Abbildung A15: Weibliche, kombinierte und männliche Markerkarte des Chromosoms 18. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Markerskarte des Chromosoms Sscr XY

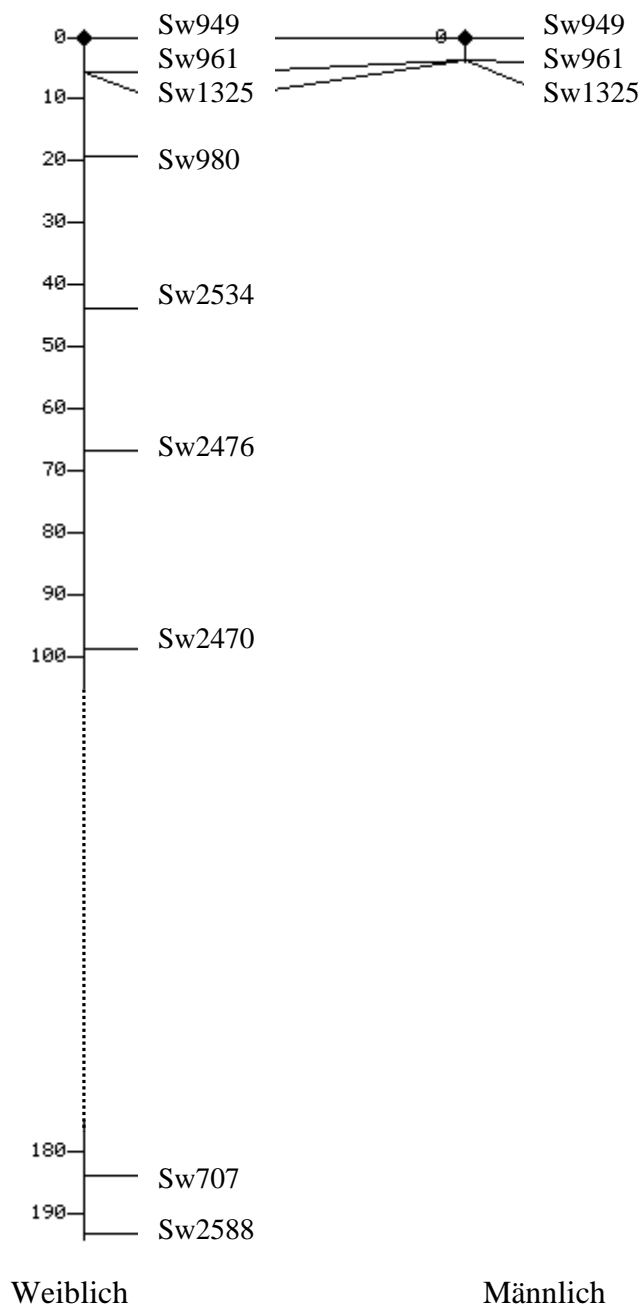


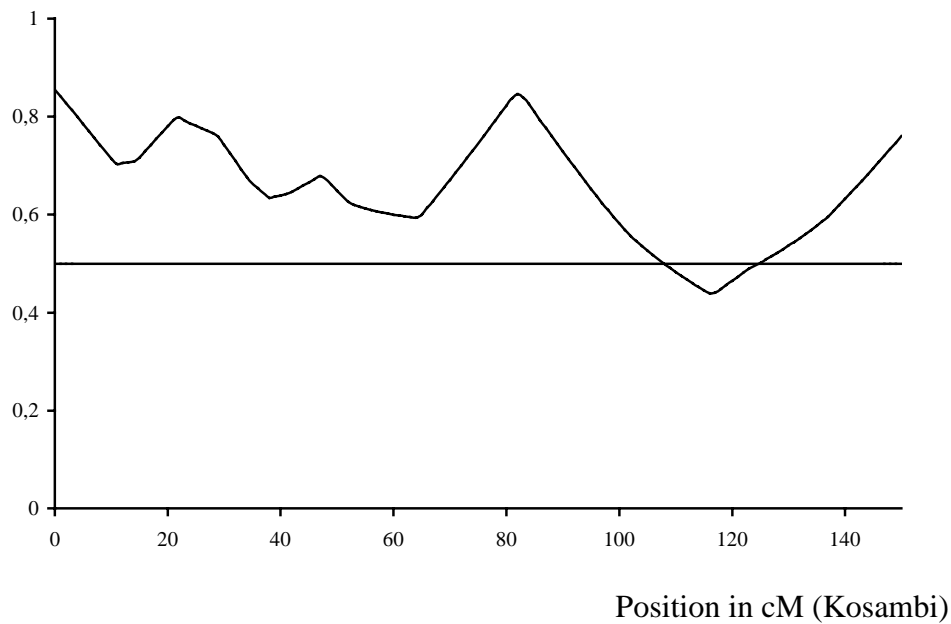
Abbildung A16: Weibliche und männliche Markerkarte der Chromosomen XY. Die Abstände zwischen den Loci sind in cM (Kosambi) angegeben.

Der Abstand zwischen den nicht pseudoautosomalen Markern Sw2470 und Sw707 konnte anhand der eigenen Ergebnisse nicht geschätzt werden.

Die Informationsgehalte über alle Familien für die Chromosomen Sscr 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 und XY werden im folgenden in der genannten Reihenfolge graphisch dargestellt. Die Chromosomen 3, 5 und 11 befinden sich in Kapitel 4.3.2.

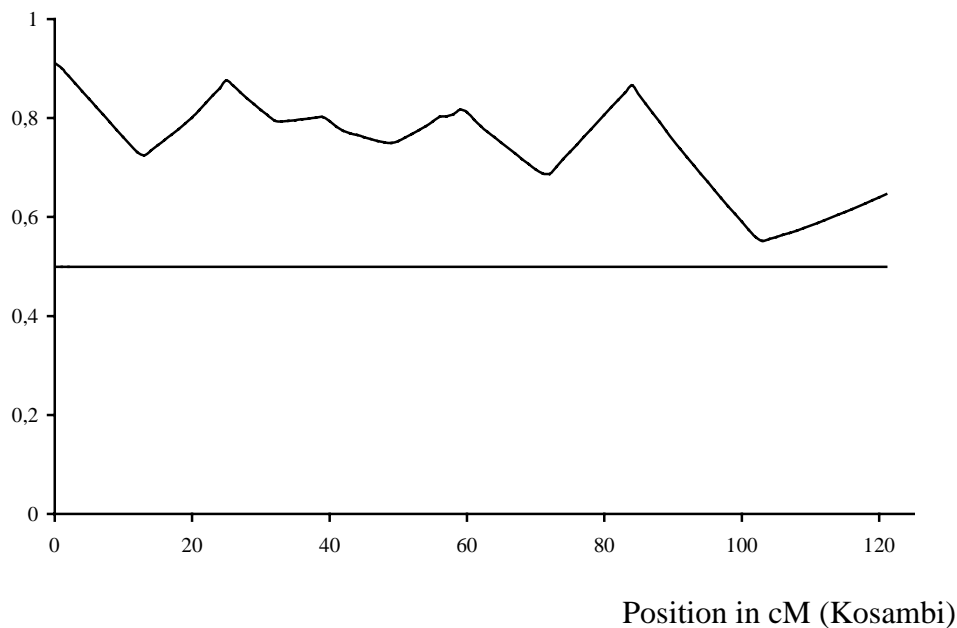
Chromosom Sscr 1

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



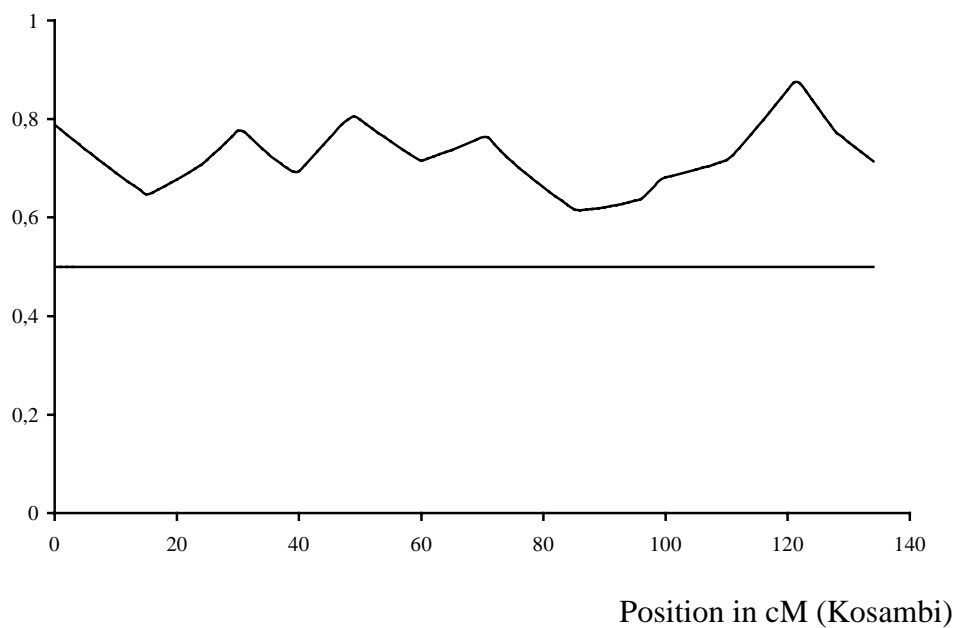
Chromosom Sscr 2

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

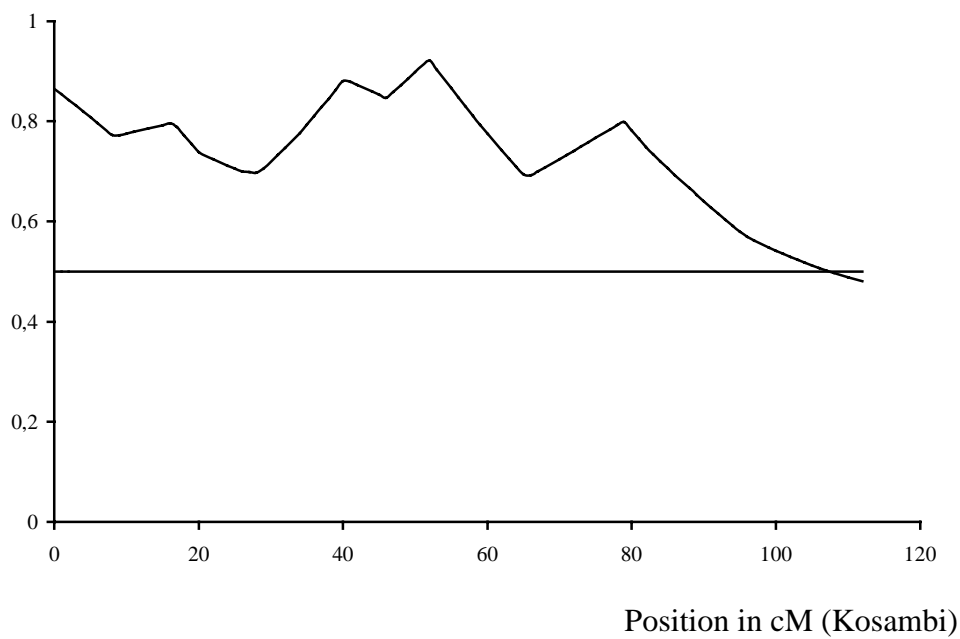


Chromosom Sscr 4

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

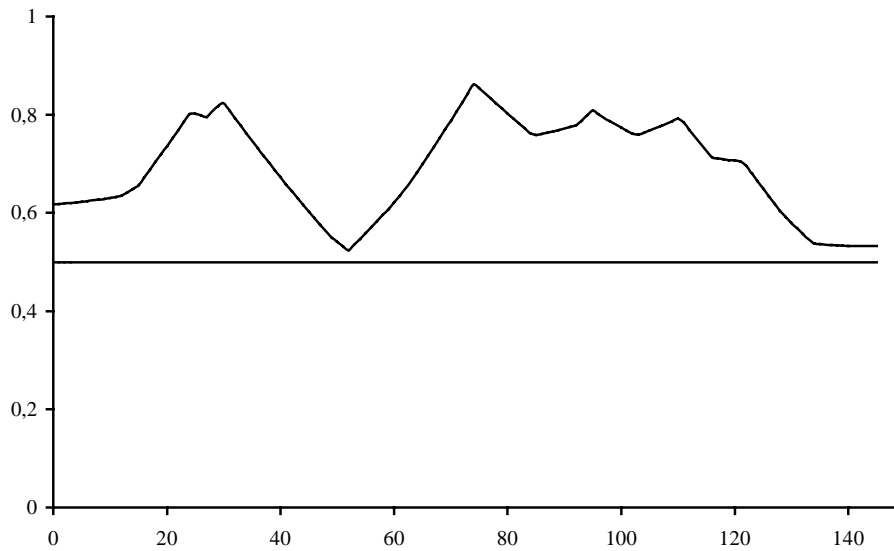
**Chromosom Sscr 6**

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Chromosom Sscr7

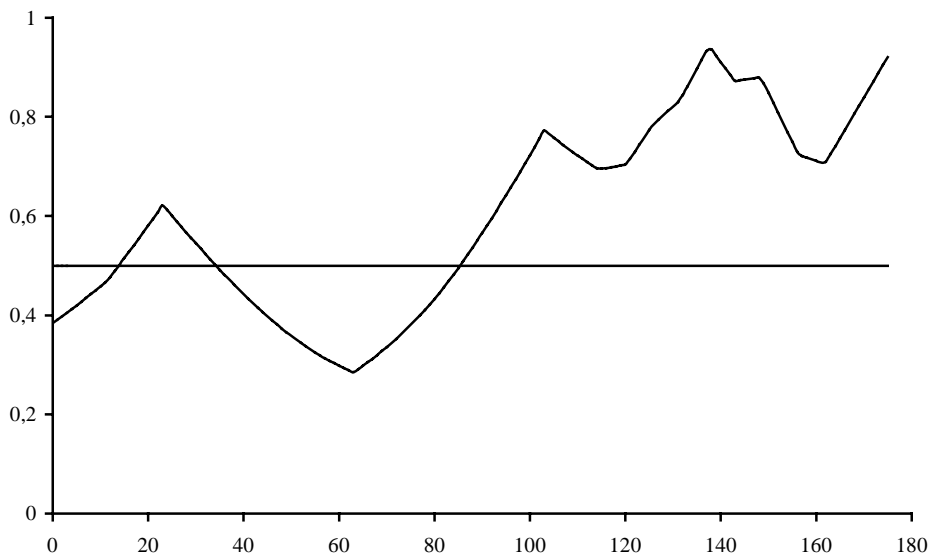
$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Position in cM (Kosambi)

Chromosom Sscr 8

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Position in cM (Kosambi)

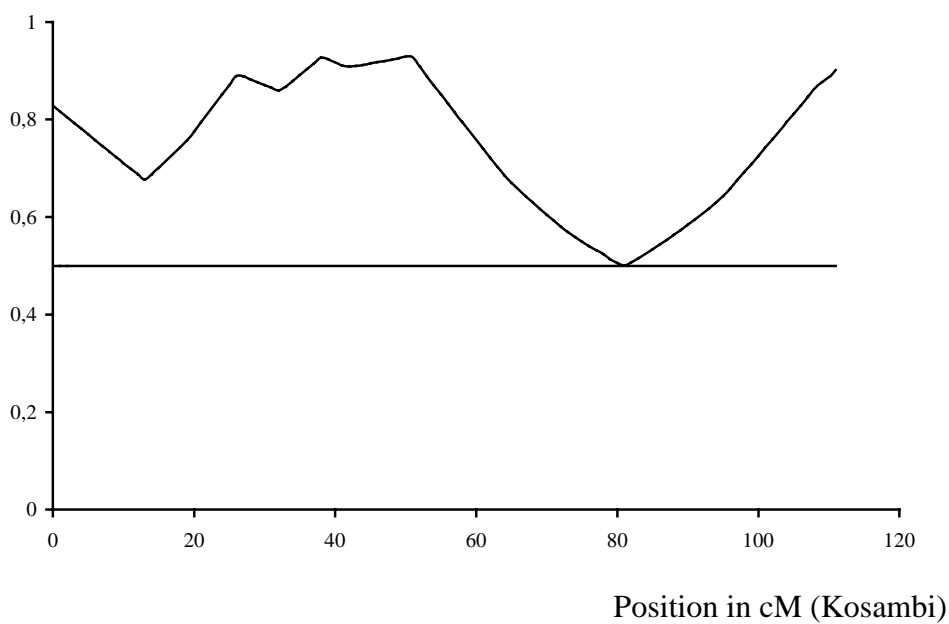
Chromosom Sscr 9

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



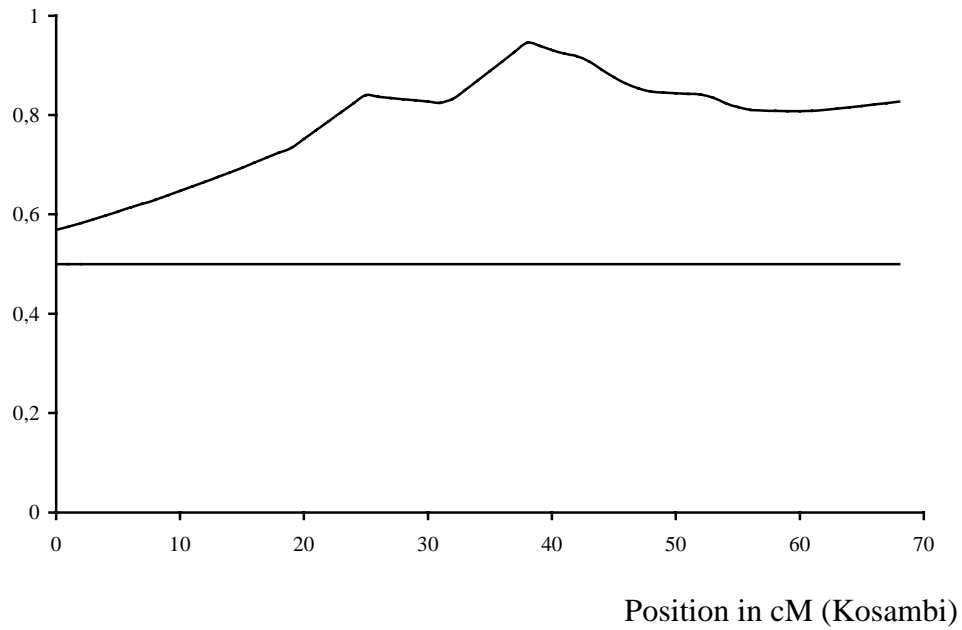
Chromosom Sscr 10

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

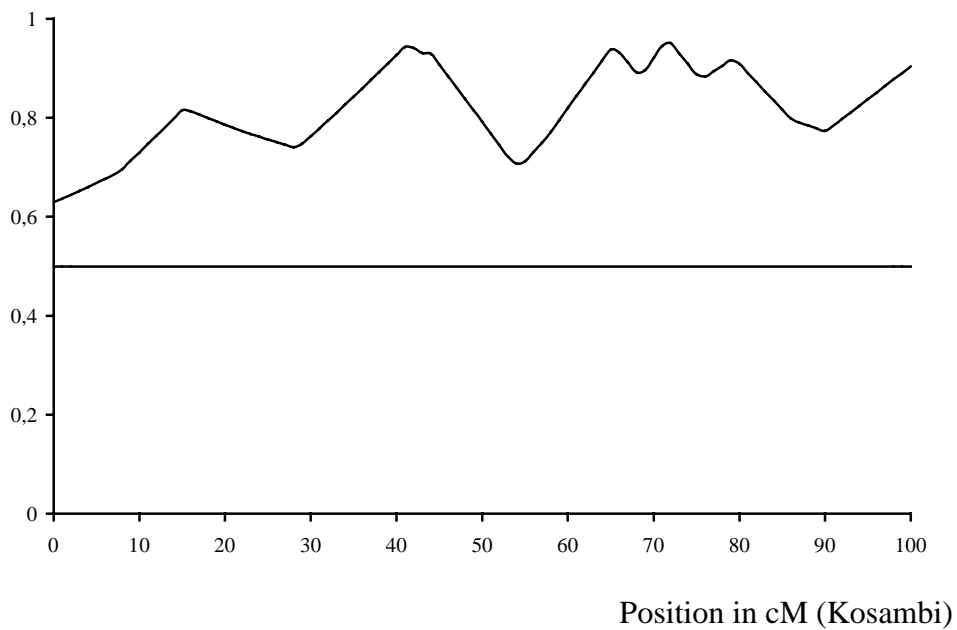


Chromosom Sscr 12

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

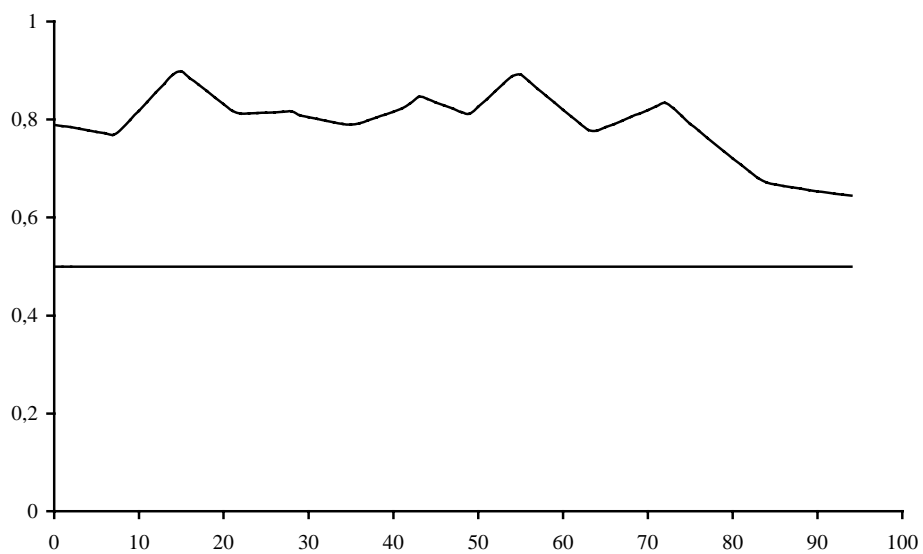
**Chromosom Sscr13**

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Chromosom Sscr 14

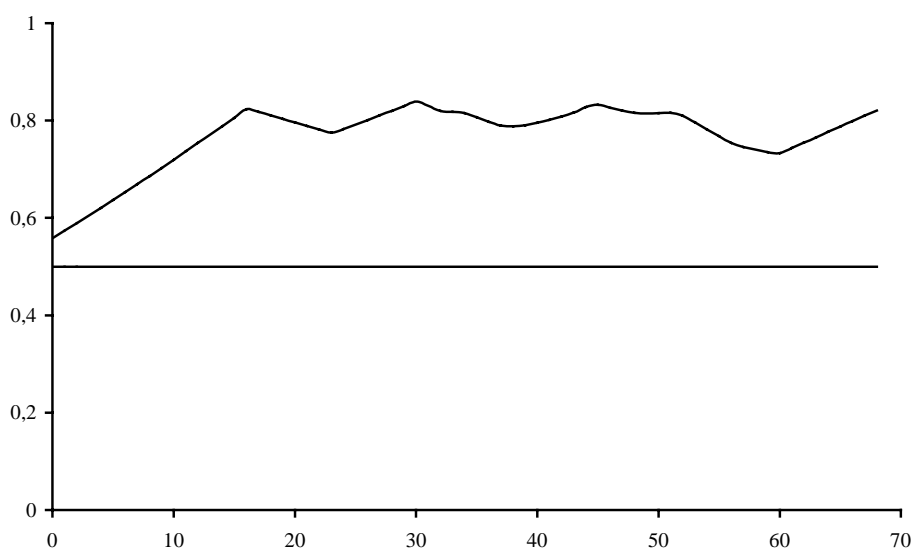
$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Position in cM (Kosambi)

Chromosom Sscr 15

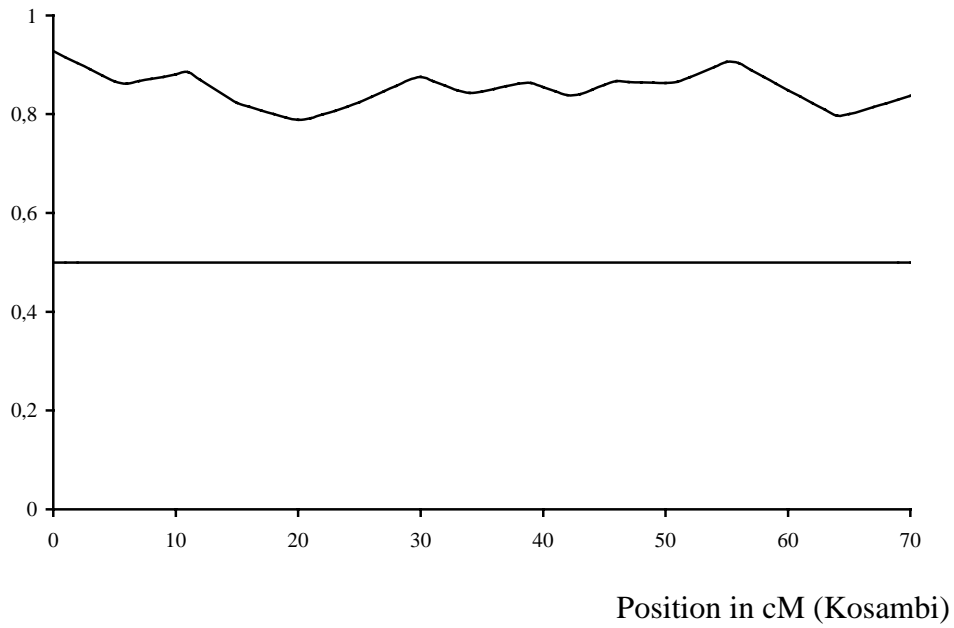
$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



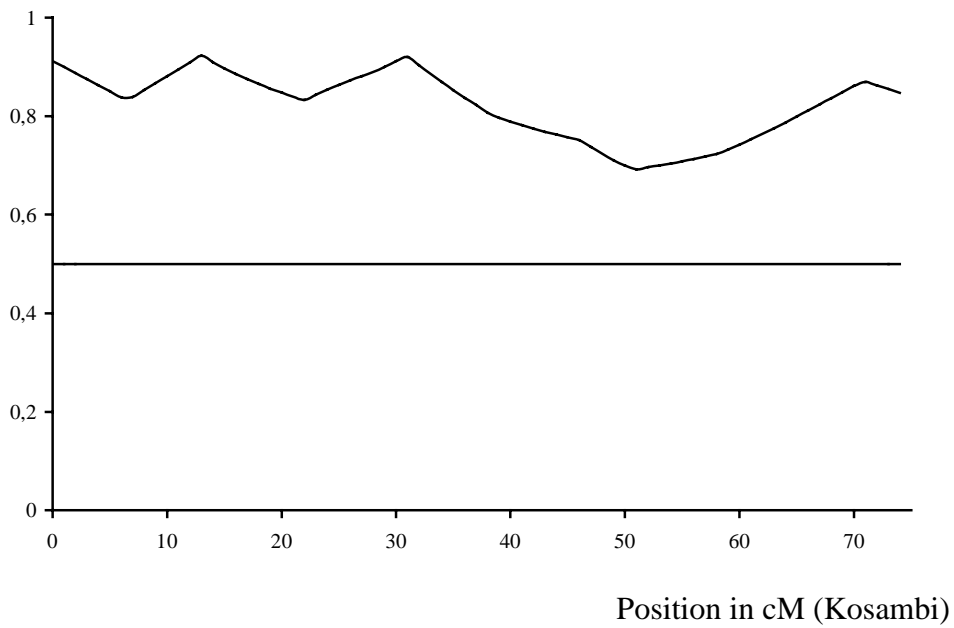
Position in cM (Kosambi)

Chromosom Sscr 16

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

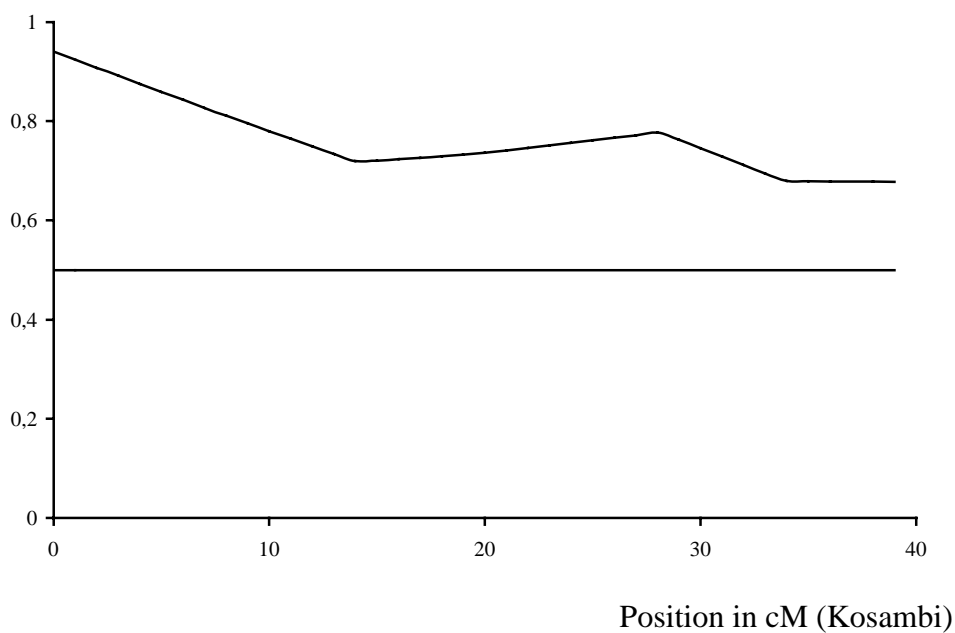
**Chromosom Sscr 17**

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Chromosom Sscr 18

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$



Chromosom Sscr XY – pseudoautosomaler Bereich

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |1 - 2p_i|$$

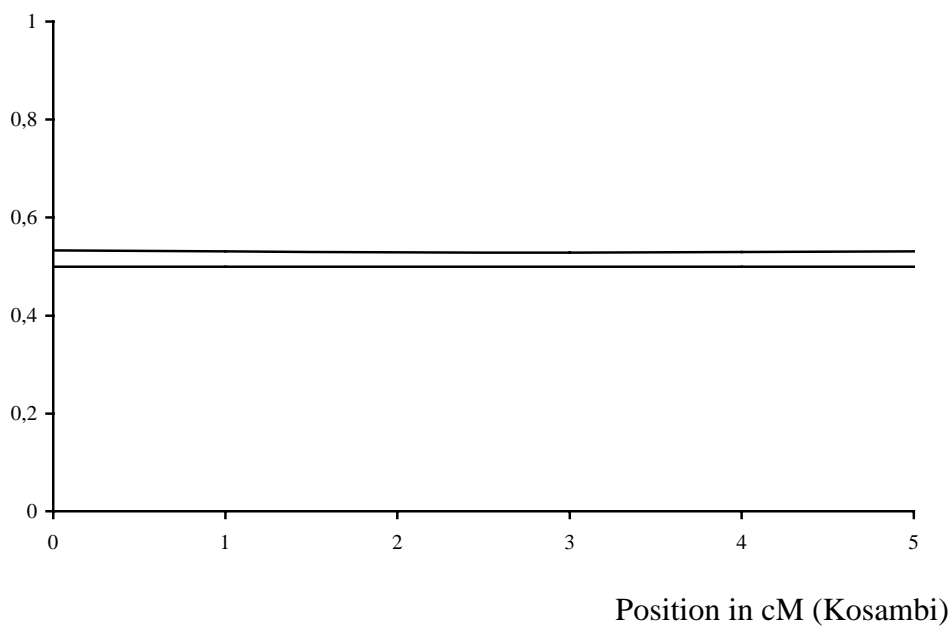


Abbildung A17: Informationsgehalt der Mikrosatelliten auf den Chromosomen Sscr 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 und XY

Tabelle A1: Primersequenzen und Fluoreszenzmarkierung (Dye) der untersuchten Mikrosatelliten-Loci

Locus	Chr.	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')	Dye
ACR*	5	gaa tga taa gat tgg aga cga gtt ccc	caa ata att cct ctt ctt caa cgt gtg tg	F
IGF1	5	gct tgg atg gac cat gtt g	cat att ttt ctg cat aac ttg aac ct	F
S0001	4	tgg atg ggt ctc att ctc ag	tga ttc cta gcc tga gaa gc	F
S0009	11	aaa cat acc aag aag ccc ag	taa tct ttg cca tcc ctt gt	T
S0036	2	agt gac gtg agg gtc tgc tcc tc	atg gac ggt gga ttc aca gcc	H
S0038	10	ggg ttt tct att gtg tta cca ttg g	gcc tga ctt cac act gta ctg c	H
S0067	4	ggg agc cac aac aaa gaa gg	ggc ctg gag tgt ggg act ag	H
S0068	13	agt ggt ctc tct ccc tct tgc t	cct tca acc ttt gag caa gaa c	T
S0070	10	ggc gag cat ttc att cac ag	gag caa aca gca tgc tga gc	H
S0071	11	gac atg gaa tca ggt tgc tca a	cca gaa gca ggt ttt gag atg a	F
S0073	4	act gaa aca gga att cag atc c	tga agt att atg gca tca tgg a	F
S0081	9	aac aga ata caa agc ata gta tac	cct ctt act cta att tcc ttg cac	F
S0087	6	gac aag ctc cag gaa gct ttc ctg	att gcc ttg tat ccc aag ggg ca	T
S0090	12	cca aga ctg cct tgt agg tga ata	gct atc aag tat tgt acc att agg	F
S0097	4	gac cta tct aat gtc att ata gt	ttc ctc cta gag ttg aca aac tt	F
S0101	7	gaa tgc aaa gag ttc agt gta gg	gtc tcc ctc aca ctt acc gac ag	F
S0105	16	acc atc gtc cag gtg acc atg	cgc gac cat ctt cct gtc aaa	H
S0106	12	gcg gcc acc gct caa ggg ctg tgc	ctc agg agt ccg tcc gcc gag ttg	H
S0111	16	tca gtt att tct ggc tat cat ctc	ttg atg tag acc acc cag cta gtg	H
S0118	15	tga act tta tat gta cat gta tgc	cct tta ttt aca gac cac aat ggg	F
S0120	18	gcc taa gta gaa tta agc aca agg	gtg ctc tca ctg cct tca tat acc	F
S0141*	2	gat ctg gtc tgt ctt gtg tcc t	aga ccc caa ctc ttg gtc tca t	H
S0144	8	att aga gcc acc tga agg ct	cgt tgg teg gca gct ata gc	F
S0148	15	tgg tgt agg cct gca gtt ga	cca tcc att gct act ggc ac	T
S0178	8	tag cct ggg aac ctc cac acg ctg	ggc acc agg aat ctg caa tcc agt	T
S0182*	11	ctc cat atg cca cgg aaa t	cag tct tct cca gac ata aa	F
S0230	11	aac agc cca agt gcc cat t	tcc ccc tcc act tcc ttt c	F
S0282	13	aac ttc cat atg cca cag gtg c	agt gga aca gaa tgg aga gcc c	F
S0289	13	agg agc att tgg cca cgt ctg	tgt tga cct tct gtg atg ggg c	F
S0292	17	ttg gca tcc ttg ttg aaa acc	ttc ata tgc tgc agg tgt ggg c	H
S0295*	9	gcc taa aaa gac caa aga a	tac tgc tga ggc aaa gga	F
S0296	17	tga aaa ata aca aga acc ac	aaa agc aaa taa tga taa tag	T
S0298	16	aca taa cat cgt aaa tca gc	ctc cat cac agg tct cac a	T
S0301	4	ccg tct tac tta gga tgt tt	tga tgt gtt tat gtg ttt ga	F
S0320	1	ccc aca atc cct gac tac ctg	gat cca aat acc aaa atc ttg	T

Tabelle A1: Forstezung

Locus	Chr.	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')	Dye
S0332	17	tgg ttt cct cac caa gac aag tac	ccc aag gag cta cag caa ggc aag	T
S0355	15	tct ggc tcc tac act cct tct tga tg	ttg ggt ggg tgc tga aaa ata gga	F
Sw2	5	tgc caa tgg tgt ggc tat aa	ccc tga agg ctc aga tgg t	F
Sw21	9	cga ttt taa tgt gca gcc g	cag gag ctg acc tat ctg gtg	H
Sw29	8	agg gtg gct aaa aaa gaa aag g	atc aaa tcc tta cct ctg cag c	H
Sw64	1	aga cca agg gcc atg aga g	ttc cac gtg atg tgg gat ag	T
Sw72	3	atc aga aca gtg cgc cgt	ttt gaa aat ggg gtg ttt cc	T
Sw77	14	atc aga ccg agg gtt gcc	gaa atc tgc atg gtc tca agt g	H
Sw81	16	gat ctg gtc ctg cac agg g	ggg gct ctc agg aag gag	F
Sw120	15	ttt taa gat gtg gct gtg ttg g	gat cac ctg cta agt gaa agt ca	F
Sw122	6	ttg tct ttt tat ttt gct ttt gg	caa aaa agg caa aag att gac a	F
Sw129	13	ttg ttt aga agt ttt ggg ttg c	ttg cat gaa ctt ttc aac act g	F
Sw168	12	gca ctt tct tcc ctt acc cc	cag tgt aaa gca tgg aag atg c	T
Sw175	7	tca cac ctg tat aag aga tgc a	tgt tgg gca aaa tct gaa tt	H
Sw210	14	tca tca cca tca tac caa gat g	aat tct gcc aag aag aga gcc	F
Sw245	14	tgg tgc tag cag aac ctg tg	aaa cct ggc aac aca gca g	T
Sw262	16	tac ttg gct ttt tgt gac cag	tca gcc aaa ggg ctc ttg	T
Sw274	3	cgc aca gcg aca tct ttt ta	aag tgc agc cct aaa aag aca	F
Sw328	14	gat cca aac tgc cat tct att g	cag ggg tgg cgc tag aag	F
Sw335	17	gag tat ggg gaa agc cac g	cca tca aca aac tgt atg cac c	H
Sw344	13	agc ttc gtg tgt gca gga g	gta gtg gtc caa aga gag tgc c	T
Sw378	5	att atg cac ccc tac tcc cc	gat ttc ttc ttt gtt tgt gcc c	T
Sw398	13	aag tgc caa tgc ttt gtt cc	cgg agg aga aat aag ggt agc	H
Sw413	5	cag aca cac acc cca gtg tc	agg tcc aac cct cct gat g	H
Sw435	11	atc atg tga gaa aaa gaa cat atg tg	tgc aag aga act tcc ggc	T
Sw632	7	tgg gtt gaa aga ttt ccc aa	gga gtc agt act ttg gct tga	T
Sw703	11	aag atg aag cag gaa ctc aag g	ctt gat ggc ttt act gtt cac c	H
Sw707	XY	acg tgc ttt tct ttg agc tg	aaa aac gct aaa gaa caa agc g	F
Sw742	16	aat tct act tct ggg gag agg g	ctt ttg gga aca ttt ctg cc	H
Sw749	9	ttc cca aac caa cca aag ag	agg aac ttg cca aaa tca cg	T
Sw752	4	tca aga aat aag gac agg aac c	cta cct tcc cat ttg atg ctg	F
Sw764	7	tag cag att gtt tag cct ctg tg	aag cat ctt ttc taa gca caa ca	T
Sw787	18	ctg gag cag gag aaa gta agt tc	gga cag tta cag aca gaa gaa gg	H
Sw856	4	agg ggg tgg gtg att gtg	aac ttc ccc atg ctg ctg	T
Sw864	13	ttg cac aga tgc taa ttc ttc c	tta aga ctg tct tgg gca ttc c	T
Sw874	12	aaa aga acc caa cta cag cag c	ttt atg agg gta tcc tga cac c	H

Tabelle A1: Fortsetzung

Locus	Chr.	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')	Dye
Sw911	9	ctc agt tct ttg gga ctg aac c	cat ctg tgg aaa aaa aaa gcc	F
Sw920	10	cat gga gct gaa ctt gca aa	atc aag ccc aac tta aga ata ca	T
Sw949	XY	tga gca atg agt tca atg cc	tcg ttg gtg aag gca tcc	T
Sw951	10	ttt cac aac tct ggc acc ag	gat cgt gcc caa atg gac	H
Sw957	12	agg aag tga gct cag aaa gtg c	atg gac aag ctt ggt ttt cc	H
Sw961*	XY	gat cct tcc ttc acc ttc cc	cgc cta gac tgg gaa cct c	H
Sw964	15	gtg gtt cct cta tgc aga gtc c	atg tga tga aac atg atg gag g	H
Sw980	XY	ctt cag tgt agt cca agt ggc	gat gtt ttg ctg ata gga agg g	F
Sw983	9	gca gtc cca ctc tta ggt ata tat cc	ata atg ctg cta tga aca ctg tag tg	H
Sw995	5	tta agc act tca tgg agc ttt g	cat aat gga aat acc ggg tcc	F
Sw1026	2	tgg aga ggc aat gct gta tg	gta ttt cac ctg cag ctc cc	T
Sw1027	14	agc aac ctg agc cac agt g	gga act tcc aca cgc cac	H
Sw1031	17	atc acc cag aca aaa caa tct c	tat gtc aac ccc aaa ccc c	F
Sw1200	5	aat gca agt gat ata aga gct ttt gg	ggt ggt ttt ggc tcc aat tg	F
Sw1201	2	cca acc aac caa cag aaa ac	cgg cac tgg taa ctc caa tt	T
Sw1301	1	tgg ata agc aat gag gtc cc	tag tgg att tat aat gtg cta acc c	F
Sw1325	XY	cat tca ttt ttg ttc ttc tgc c	cac acc ttc gtc ttc act tcc	F
Sw1327	3	agc tct tga agc tca aag acg	cat act tct cca gga gga aag c	F
Sw1354	7	gag cca gat taa tgc agt tgc	cct agt ccc gag cgg taa tc	T
Sw1408	2	cag ccc tgt cac ttg agt agc	ttc tgc tct aca gca aag cg	F
Sw1460	11	tcc aaa tta cga ctc tat cta aag g	caa gct gga cag tat atc ttg gc	F
Sw1468	5	ctc cag atg tta cac aca tgt g	gaa tat tca gaa tgt ggc gtg	T
Sw1482*	5	att gca gac tac agt tct tgc c	act tac ggg ctg atg ctg tc	T
Sw1514*	1	aga aga ggt gat ttg ctt ttg c	tca caa aag aac cct cac cc	F
Sw1515	1	ctc egg ttt cca ttt gtg g	gat ccc tgc ccc caa cac	H
Sw1551	8	ttt act tgg gga aac cct cc	gat caa ccc aaa ttc ttg gc	T
Sw1557	14	tgc tct aat cta ccc ggg tc	cca ccc cac tcc ctt ctg	T
Sw1564	2	atc aga aca tag aac gtg tgt g	ggt ata tac ctg ttg gga gac g	F
Sw1621	1	aag cat cac ctt tat ctc tgc c	taa ggc att aag gtg ggc c	T
Sw1626	10	gcc aat ttc tag caa agt gac c	tgg aag atg aca taa gaa agg g	T
Sw1808	18	cca aaa aag tgg act gta agc c	tac gga tgg atg gag aca gg	H
Sw1841	6	ttc tcg aat ctg acc atg aca c	agc ttc act gat aag gaa gtc act g	H
Sw1851	1	ggc ttg gac att ctc att gg	ggt tga gga acc ctg atg tg	T
Sw1894	10	ctc act gca aaa aca ggt ctt g	cct agg tct tag gct tct agg ttg	F
Sw1902	1	caa act ccc ttg cat gtg c	aga gag cgg aaa aat ctc ttc c	F
Sw1983	15	gca ggt tcg gcc tta aaa g	cca cat agc tcc ctg cta cc	H
Sw2008	11	cag gcc aga gta gcg tgc	cag tcc tcc caa aaa taa cat g	H

Tabelle A1: Fortsetzung

Locus	Chr.	forward primer (5'-3')	reverse primer (5'-3')	Dye
Sw2098	6	aca gaa gga gct act tac tgt ttg g	act agc tct aaa att cta tgt tgc atg	F
Sw2401	9	tga aca agt cca acc aag agc	ccc aac taa cgg gct tgt g	F
Sw2404	4	tga cag cct cct ggt tcc	agc tgt cgt tgt ttt tct ctc c	H
Sw2406	6	aat gtc acc ttt aag acg tgg g	aat gcg aaa ctc ctg aat tag c	F
Sw2408	3	aga cac ttg tag teg ctc ctc c	aga caa aag ggg atg cca c	F
Sw2410	8	att tgc ccc caa ggt att tc	cag ggt gtg gag ggt aga ag	H
Sw2419	6	agg gcg tgc tct tct aac tg	tga ctc agc atc tcc tgc c	T
Sw2425	5	atc tcc ata ggt cag agg ctc	act ctg tga gac att cct gta ttc c	T
Sw2431	17	ctt ccc agg atg ttg tct aaa c	cat ggt gca cac tta gtg gg	F
Sw2441	17	tcc aac cta aat gtc cat cat c	cac aaa tgg cat tat ttc atc c	F
Sw2443	2	gag cac aga aga ttt tta ggg c	tta gtt ttc tcc tgg gct gtg	H
Sw2470	XY	tag tac cta ggc ttc ccc agg	ctt tgt ctc tcc ctc tcc ata c	H
Sw2476	XY	gag agg gac aga gct gag agc	ctt gag gtt tga tgg cac g	H
Sw2490	12	tgt ttg tct gtc tgt ctc tct tcc	tgt gct ttt cag agg cag g	T
Sw2491	10	gtg ttt gga agg aac tgg tag c	gta tgc aca gga agt gaa cag c	H
Sw2517	16	ata cta tgt gct tgc gtg cg	aag gaa ccc atg aga gta ctg g	F
Sw2521	8	gtg cgc tgg tgt gtg ttc	gag gtg act tct gca ggt ctg	F
Sw2534	XY	tga gtg aag gcc tta ccc ag	taa ctg ata gac cca agt cgc c	H
Sw2564	7	tga ctt agc ctc atg tgt ccc	gct gtg tac agt tac ctg cag g	H
Sw2570	3	tgg ggc tga gtt atc cag ag	tct cta gcc ctg tca ctc act c	T
Sw2588	XY	tgt ctt ctt ccc cct ccc	aaa gcc tgg tga gga ccc	F
Sw2618	3	gct ttt tcc tgt agt cac tag att g	atg ttc tca aag act ctg aca aac c	H
Swc9	2	ggc tca ggg atc cca cag	aag cac ctg tac cca cac g	H
Swc19	10	cca gga cac agt gag ggg	aag cca ggt tgt ccc tcc	T
Swc27	14	ctg aga ctg tgc tgc tca ctg	cca ttt tcc aaa aac atg gg	F
Swr773	7	gtg gct ggg gta tag gcc	tgc tga agc atc cac ttc ac	H
Swr982	1	ttc caa ttc gac ccc tag c	gca tct cca tgc aga taa tcc	F
Swr1004	17	tgg gaa cac ctg ctt cat tc	tcc ata tgc ccc aag tgt g	F
Swr1101	8	aac ttc cat atg cca cag gtg	ggt cct cct cag aaa gtc cc	T
Swr1343	7	gat ctg gca ttc cat gtg c	ctc cta gcc tgg gaa ccc	F
Swr1533	15	att tct tct tct tct ttg tgt g	ctg gga agc tcc ata ttc ca	T
Swr1637	3	cac tgt gcc aca aca gga ac	atg agg acg cag gtt caa tc	T
Swr1941	13	aga aag caa ttt gat ttg cat aat c	aca agg acc tac tgt ata gca cag g	T
Swr2516*	2	gtg cat tat cgg gag gta tg	acc ctg tat gat act gta act ctg g	H

Chr. = Chromosom

Dye = Fluoreszenzmarkierung der *forward primer* am 5'-Ende, F = Fam, H = Hex, T = Tet

* = Primer mit freundlicher Unterstützung des „U.S. Pig Genome Coordination Projekts“

In Anbetracht der Anzahl typisierter Mikrosatelliten wurde an dieser Stelle auf eine Aufzählung der Referenzen verzichtet. Diese sind im Internet unter der angegebenen URL 2 und 3 (Stand August 2002) frei zugänglich.

Tabelle A2: Fragmentlängen (bp) der Allele der untersuchten Mikrosatelliten-Loci

Locus	Fragmentlängen (bp) der Allele											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ACR	185	208	210	212	216	227	229	*231				
IGF1	197	199	201	203	205							
S0001	182	184	186	190								
S0009	123	130	132									
S0036	120	122	124	126	128	132	134					
S0038	131	133	137	139	141	143	147	151	155	157	159	
S0067	71	86	88	90								
S0068	211	228	240	242	246	250	252					
S0070	264	272	274	276	278	282	296					
S0071	184	186	188	191								
S0073	88	95	105	112	114	122						
S0081	168	174	178	180	182	188						
S0087	163	178	180									
S0090	240	242	244	246								
S0097	206	216	218	232	236	240	242	244				
S0101	211	213	215									
S0105	128	130	134	149	153	155						
S0106	135	137	139	143	145	147						
S0111	141	151	153	155	160	162	179	181				
S0118	210	215	219	225								
S0120	158	160	162	165	169	171						
S0141	208	210	219	221	223	228	230					
S0144	194	212	214	216	218							
S0148	151	162	164	171	175							
S0178	113	117	119	122	125	127	129					
S0182	119	132	134	139	141							
S0230	297	300	307	309	311	313	315	323	326			
S0282	112	*122	129	131	136	138						
S0289	130	132	134	138	178							
S0292	132	134	136									
S0295	227	229	231	235	239	265						

Tabelle A2: Fortsetzung

Locus	Fragmentlängen (bp) der Allele											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S0296	164	166	168	*176	186							
S0298	172	174	176									
S0301	254	256	258	262	264							
S0320	173	177	179									
S0332	113	145	147	151	153	164						
S0355	245	*248	258	265								
Sw2	108	110	114	116								
Sw21	128	*132	136	138								
Sw29	147	149	151	153	161	179						
Sw64	137	141	143	145								
Sw72	100	111	118									
Sw77	117	119	121	123	125	131	135	143				
Sw81	137	139	141	145								
Sw120	136	142	146	150	152	156						
Sw122	113	115	117	121	123	125	129					
Sw129	112	122	124	126	130	132	134	136				
Sw168	101	103	105	116								
Sw175	104	119	127	129								
Sw210	234	238	240	242	*244							
Sw245	*106	117	126	128	130	132	136	138				
Sw262	201	203	205	209								
Sw274	106	118	120	122	132	144						
Sw328	146	148	*173	183								
Sw335	102	110	112									
Sw344	159	161	173	177	179	183	185					
Sw378	124	126	130									
Sw398	166	177	182	184	188	190						
Sw413	164	166	172	174								
Sw435	163	165	167	170	177	185						
Sw632	158	161	163	167	169	171	173	175				
Sw703	131	135	141									
Sw707	0	92	94									
Sw742	204	205	206	211	217	221	222	231	232			
Sw749	106	108	113									
Sw752	120	122	124									
Sw764	*117	121	123	127	129							
Sw787	152	154	156	158	160	162						
Sw856	161	166	170	176	182	186	188	200	*203	219	225	227

Tabelle A2: Fortsetzung

Locus	Fragmentlängen (bp) der Allele											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Sw864	169	171	174	176								
Sw874	203	205	207	211	219							
Sw911	156	160										
Sw920	147	149										
Sw949	183	185	187	201	207							
Sw951	123	125	131									
Sw957	113	127	137									
Sw961	113	117	139	154								
Sw964	219	221	227	231	233	241	243					
Sw980	0	119	123	125	127	129						
Sw983	92	110	113	118	122	128						
Sw995	152	154	156	158	160							
Sw1026	100	115	*117	119								
Sw1027	140	152	154	160								
Sw1031	91	93	*103									
Sw1200	142	150	152	154	156	158						
Sw1201	198	200	208	210	212	222						
Sw1301	161	163	165	167	171	173	178					
Sw1325	121	143	147	151	153	156	158					
Sw1327	132	138	140									
Sw1354	106	120	124	126	128							
Sw1408	172	178	180	182	184	186						
Sw1460	82	112	114	118								
Sw1468	141	145	147	149	153							
Sw1482	107	109	111	113	115	137	139					
Sw1514	143	153	155	157	159	164						
Sw1515	115	128	133	135	137							
Sw1551	151	159	163	165	167							
Sw1557	88	92	94	99	101							
Sw1564	116	120	126									
Sw1621	146	150										
Sw1626	117	128	132	134	136	138	*145	149	151	157	167	
Sw1808	107	130	134	140	142	146	148	150	152	156		
Sw1841	194	222	224	226	232	234	236	238	240	294	298	
Sw1851	85	87	89	93	95							
Sw1894	198	200	204									
Sw1902	143	149	151									

Tabelle A2: Fortsetzung

Locus	Fragmentlängen (bp) der Allele											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Sw1983	165	178	180	182	186	194	196					
Sw2008	*96	98	100	102	104							
Sw2098	97	101	116	118	120							
Sw2401	158	160	164	166	169	171						
Sw2404	130	163	165	167	174	177						
Sw2406	222	229	236	254								
Sw2408	153	155	157	168	170	180						
Sw2410	108	119	*123	125	128							
Sw2419	121	125	127	129	131	133						
Sw2425	79	99	101	107	109							
Sw2431	150	155	160	163	165	167						
Sw2441	151	155	157	159	161	167	169					
Sw2443	201	203	206	208	210	212						
Sw2470	0	*161	170	172								
Sw2476	0	96	100	106								
Sw2490	120	157	*159	163	165	168	170					
Sw2491	147	151	157	159	164	166	170					
Sw2517	163	171	173	183	185	187	189					
Sw2521	108	110	112	114								
Sw2534	0	154	156	158	163							
Sw2564	169	171	189									
Sw2570	153	160	177	179	181	185						
Sw2588	0	*115	117	119	*123	125						
Sw2618	109	119	121	125	127	129						
Swc9	220	228	230	232	236	238	240					
Swc19	175	183										
Swc27	137	156	160									
Swr773	134	138										
Swr982	202	204	206	208								
Swr1004	144	*148	153	155	157	160						
Swr1101	122	124	129	137	143	159	163	165	167	171	173	
Swr1343	122	138	142	144								
Swr1533	88	92	96									
Swr1637	137	139	141	143	*150							
Swr1941	204	210	212	214	*216	218	220					
Swr2516	151	154	157	*159	161	163	165	167				

* = Allel trat nur bei dem Standardtier auf

0 = Allel verhielt sich wie ein Nullallel

Table A3: Allele frequencies of observed microsatellites, chromosomal assignment, map position (sex averaged), member of amplification group, range of allele size, number of detected alleles and allele frequencies, degree of heterozygosity (H_b), and number of informative meioses. The standard error (SE) of the observed allele frequencies can be calculated as: $SE = \frac{p(1-p)}{n}$ with p = estimated allele frequency and n = number of parents (# par) times 2.

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H_b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Sw1514	1	0.0	D43	143-164	.04	.16	.24	.45	.11	<.01							.76	364	100
Sw1515	1	21.6	M33	115-137	.02	.25	.58	.01	.14								.62	223	95
Sw64	1	28.8	M16	137-145	.01	.13	.78	.08									.32	130	96
Sw1851	1	47.3	M35	85-95	.17	<.01	.17	.45	.20								.69	248	99
Sw1621	1	81.5	D44	146-150	.75	.25											.42	241	99
Sw1902	1	81.7	D37	143-151	.11	.73	.16										.40	148	99
Swr982	1	83.4	T5	202-208	.02	.07	.62	.29									.47	75	51
S0320	1	122.7	D44	173-179	.22	.05	.73										.44	108	97
Sw1301	1	150.4	D13	161-178	.45	.06	.21	.01	.02	.25	<.01						.70	319	97
Swr2516	2	0.0	M46	151-167	<.01	.06	.08	.27	.51	.05	.04						.66	365	98
Sw2443	2	0.0	D16	201-212	.05	.08	.27	.51	.04	.04							.65	358	97
Swc9	2	0.5	M42	220-240	.01	<.01	.71	.01	.20	.05	.02						.48	219	99
S0141	2	25.1	M6	208-230	<.01	.44	.08	.04	.31	.10	.02						.69	337	99
Sw1201	2	39.4	D17	198-222	.02	.49	.20	.20	.02	.07							.67	250	98
Sw1564	2	55.8	D13	116-126	.06	.93	.01										.14	97	99
Sw1026	2	59.4	M30	100-119	.30	.60	.10										.47	260	99
Sw1408	2	84.0	D37	172-186	.03	.04	.01	.11	.21	.60							.51	308	99

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
S0036	2	121.2	D19	120-134	.04	<.01	.02	.16	.50	.08	.20						.72	259	99
Sw274	3	0.0	M18	106-144	.12	.10	.61	.13	.02	.02							.58	287	98
Sw72	3	41.2	D30	100-118	.67	.10	.24										.54	203	100
Swr1637	3	44.0	M45	137-143	.41	.51	.07	.01									.41	188	74
Sw2618	3	63.2	D27	109-129	.41	.03	.33	.13	.03	.07							.71	275	99
Sw2570	3	82.7	D17	153-185	.01	.47	.14	.15	.23	<.01							.70	259	99
Sw2408	3	104.2	M39	153-180	.13	.35	<.01	.07	.42	.03							.71	234	98
Sw1327	3	118.7	D42	132-140	.04	.57	.40										.68	325	98
Sw2404	4	0.0	M38	130-177	<.01	.51	.11	.23	.08	.06							.61	295	96
S0301	4	30.4	M13	254-264	.03	.45	.08	.35	.09								.70	315	86
S0001	4	47.4	M1	182-190	.02	.63	.23	.12									.56	218	97
Sw752	4	49.3	D29	120-124	.52	.47	.02										.50	240	100
S0073	4	70.7	D36	88-122	.07	.33	.25	.23	.02	.10							.74	272	96
S0067	4	99.4	D32	71-90	.05	.83	.04	.09									.29	134	97
S0097	4	121.5	D36	206-244	.14	.04	.09	.08	.17	.09	.32	.07					.83	373	95
Sw856	4	134.2	M26	161-227	.20	.05	.11	.02	.02	.05	.18	.25	.09	.02	<.01		.95	93	22
ACR	5	0.0	D39	185-229	.17	.46	.11	.01	.10	<.01	.14						.72	233	94
Sw413	5	0.6	D38	164-174	.02	.17	.43	.39									.65	276	97
Sw1482	5	18.3	M32	107-139	<.01	.04	.24	.11	.25	.03	.32						.78	305	89
Sw2425	5	45.7	D33	79-109	.12	.03	.26	.44	.15								.73	334	99
Sw2	5	52.8	M14	108-116	.14	.34	.15	.37									.73	304	100
Sw1468	5	74.1	M31	141-153	<.01	.41	.49	.01	.08								.58	170	99

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Sw1200	5	88.2	D34	142-158	.02	.07	.39	.29	.17	.07							.82	372	96
IGF1	5	100.0	D34	197-205	.09	.10	.54	.25	.03								.62	310	100
Sw995	5	105.3	D19	152-160	.37	<.01	.16	.34	.13								.78	275	99
Sw378	5	115.3	M20	124-130	.77	.22	<.01										.34	83	67
Sw2406	6	0.0	D31	222-254	.54	.23	.21	.02									.63	305	99
Sw1841	6	16.5	D35	194-298	.48	.08	.12	<.01	<.01	.14	.04	.09	.01	.03	.01		.69	249	99
S0087	6	40.2	D33	163-180	.19	.51	.30										.63	282	100
Sw122	6	51.9	D39	113-129	.17	<.01	.02	.10	.20	.50	<.01						.69	333	93
Sw2098	6	78.9	D31	97-120	.11	.42	.05	.11	.31								.62	310	99
Sw2419	6	112.4	D14	121-133	.04	.05	.23	.30	.12	.26							.80	231	99
Sw2564	7	0.0	D15	169-189	.06	.82	.12										.33	161	100
Swr1343	7	24.2	D28	122-144	.37	.31	.07	.26									.63	234	100
Sw1354	7	29.8	D26	106-128	.17	.05	.30	.44	.04								.72	323	99
Sw175	7	74.1	D35	104-129	.26	.05	.12	.58									.65	329	100
Sw632	7	94.9	M22	158-175	<.01	.34	.22	<.01	.04	.34	.05	<.01					.76	263	93
Swr773	7	110.3	M43	134-138	.71	.29											.48	250	98
S0101	7	121.5	D20	211-215	.55	.32	.13										.67	237	97
Sw764	7	145.9	M24	121-129	.80	.10	<.01	.09									.30	124	71
Sw2410	8	0.0	M40	108-128	.86	.09	.04	.01									.25	72	99
Sw2521	8	23.1	D40	108-114	.17	.61	.02	.20									.67	314	99
Swr1101	8	103.0	M44	122-173	.08	.08	.01	.05	<.01	.19	.17	.12	.05	.04	.20		.76	270	68
Sw29	8	125.5	M15	147-179	.79	<.01	.04	.13	.01	.02							.23	82	71

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					min.-max.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				11
S0144	8	137.5	D24	194-218	.05	.52	.12	.02	.30								.66	332	99
Sw1551	8	148.4	D30	151-167	.39	.36	.18	.07	<.01								.74	302	100
S0178	8	175.2	M7	113-129	.25	.37	.06	.04	.03	.07	.18						.74	366	99
Sw983	9	0.0	D15	92-128	.34	.23	.06	.20	.17	.01							.76	229	100
Sw21	9	6.1	D38	128-138	.51	.04	.45										.48	297	98
Sw911	9	27.4	M28	156-160	.56	.44											.53	199	98
Sw2401	9	40.0	D24	158-171	.31	.18	.29	.07	.14	.02							.79	314	98
S0081	9	68.2	D41	168-188	.13	.05	.72	.04	.06	<.01							.49	198	99
S0295	9	86.6	M11	227-265	.12	.26	.09	.35	<.01	.17							.75	233	95
Sw749	9	162.3	D14	106-113	.88	.01	.11										.16	16	50
S0038	10	0.0	M3	131-159	.27	.12	.05	<.01	.03	.39	.01	.04	<.01	<.01	.07		.68	319	93
Sw1894	10	26.2	D41	198-204	.36	.24	.40										.73	343	97
Sw2491	10	38.2	T6	147-170	.07	.21	.46	.11	.05	.09	<.01						.70	308	96
Swc19	10	44.8	T4	175-183	.90	.10											.18	139	96
S0070	10	50.8	T6	264-296	.23	.09	.07	.05	.16	.06	.33						.80	354	96
Sw920	10	78.1	D26	147-149	.28	.72											.36	83	90
Sw951	10	108.4	T6	123-131	.72	.15	.13										.46	155	97
Sw1626	10	111.6	T4	117-167	.02	.01	.59	.02	.11	.02	.07	.12	.01	.04			.68	346	96
Sw1460	11	0.0	D25	82-118	.41	.43	.11	.05									.64	256	99
Sw2008	11	3.6	M37	98-104	.14	.72	.11	.03									.48	193	77
S0182	11	18.7	M8	119-141	.15	.31	.39	.01	.13								.73	382	97
S0071	11	25.0	D18	184-191	.09	.55	.03	.33									.59	224	100

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
S0230	11	33.1	D9	297-326	.03	.13	.17	.07	.04	.07	.43	.02	.04		.83	251	60	
Sw435	11	39.9	M21	163-185	.03	.61	.06	.03	.07	.19					.53	99	62	
S0009	11	39.9	M2	123-132	.14	.83	.03								.31	103	52	
Sw703	11	62.1	M23	131-141	.70	.07	.24								.46	167	100	
Sw2490	12	0.0	D12	120-170	.15	.42	.03	.22	.05	.14					.68	186	99	
Sw957	12	24.9	D25	113-137	.87	.12	.01								.23	185	99	
Sw874	12	38.1	D23	203-219	.29	.24	.28	.13	.06						.71	351	99	
Sw168	12	42.5	D12	101-116	.22	.05	.50	.23							.63	234	99	
S0090	12	52.6	D11	240-246	.02	.74	.16	.07							.44	177	91	
S0106	12	68.8	D32	135-147	.23	.15	.29	.14	.07	.12					.72	298	98	
S0282	13	0.0	M9	112-138	.09	.53	.16	.21	.01						.65	163	99	
Swr1941	13	15.2	D21	204-220	.17	.13	<.01	.33	.30	.08					.71	295	100	
Sw344	13	41.5	D22	159-185	.19	.24	.20	.12	.02	.11	.13				.80	377	100	
Sw864	13	43.7	M27	169-176	.42	.03	.51	.05							.56	268	98	
S0068	13	65.3	T4	211-252	.07	.11	.22	.02	.06	.45	.07				.75	347	95	
Sw129	13	71.6	D11	112-136	.02	.12	.30	.12	.13	.19	.11	.02			.85	398	98	
Sw398	13	79.4	D22	166-190	.05	.42	.15	.05	.03	.30					.78	311	99	
S0289	13	100.8	D40	130-178	.03	.58	.03	.22	.14						.61	332	99	
Sw1027	14	0.0	D27	140-160	.06	.03	.70	.21							.47	220	98	
Sw245	14	14.6	D7	117-138	<.01	.03	.03	.48	.21	<.01	.25				.73	331	99	
Sw210	14	28.3	D8	234-242	.14	.54	.22	.09							.63	132	49	
Sw328	14	43.1	D8	146-183	.70	.25	.06								.42	237	97	

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Sw77	14	54.6	D23	117-143	.02	.11	.32	.07	.01	.03	.42	.01					.70	321	97
Sw1557	14	72.2	M34	88-101	.31	.46	.09	.05	.10								.70	321	94
Swc27	14	94.9	T1	137-160	.20	.16	.64										.56	200	98
S0355	15	0.0	T2	245-265	.83	.04	.13										.26	65	94
S0148	15	16.1	T3	151-175	.11	.65	.02	.12	.11								.56	292	95
Sw964	15	30.1	D20	219-243	.53	.03	.10	.01	.13	.03	.18						.67	293	99
S0118	15	33.9	D43	210-225	.05	.85	.09	.01									.29	101	100
Swr1533	15	44.6	T3	88-96	.02	.22	.76										.43	237	94
Sw120	15	51.6	M17	136-156	.05	.65	<.01	.06	.17	.07							.49	221	99
Sw1983	15	68.0	M36	165-196	.27	.11	<.01	.15	.31	.13	.03						.83	348	100
S0111	16	0.0	M5	141-181	<.01	.05	.23	.26	.16	.14	<.01	.15					.84	364	98
Sw742	16	11.0	D10	204-232	.08	.36	.20	.06	.14	.06	.06	.02	.02				.79	291	95
S0298	16	29.8	D21	172-176	.59	.01	.40										.57	304	100
Sw81	16	38.6	T2	137-145	.39	.07	.51	.03									.58	217	98
Sw262	16	45.9	T3	201-209	.03	.91	.05	<.01									.17	97	93
Sw2517	16	55.5	D28	163-189	.01	.16	.24	.06	.04	.05	.45						.70	339	100
S0105	16	72.9	M4	128-155	.29	.20	.02	.29	.08	.12							.76	314	100
Sw335	17	0.0	M19	102-112	.52	.17	.31										.57	301	99
Swr1004	17	13.0	D18	144-160	.16	.09	.34	.13	.29								.75	341	100
S0296	17	25.2	M12	164-186	.19	.69	.12	<.01									.46	141	100
Sw2441	17	30.9	D29	151-169	.25	.06	.13	.21	.28	.05	.03						.81	370	100
S0292	17	46.0	M10	132-136	.89	.02	.09										.20	132	98

Table A3: continued

Locus	Chr. ¹	Map pos. ²	Amp. group ³	Allele size ⁴ min.-max.	No. of alleles ⁵ /allele frequency											H _b ⁶	Inf. meios. ⁷	# par. ⁸	
					1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Sw1031	17	52.2	T5	91-93	.97	.03											.06	38	99
S0332	17	70.8	D42	113-164	.12	.23	.20	.06	.34	.05							.74	328	98
Sw2431	17	74.6	T2	150-167	.02	.03	.18	.30	.02	.45							.71	259	98
Sw1808	18	0.0	D10	107-156	.19	.07	.06	.12	.22	.03	<.01	.16	.09	.07			.89	400	96
Sw787	18	28.1	M25	152-162	.08	.29	.14	.16	.04	.29							.79	275	76
S0120	18	39.7	D9	158-171	.12	.10	.05	.05	.62	.06							.60	205	99
Sw949	XY	0.0	D7	183-207	.05	.83	.07	.03	.03								.31	147	98
Sw961	XY	5.1	D16	113-154	<.01	.05	.63	.32									.55	155	98
Sw1325	XY	5.1	T5	121-158	.10	.06	.02	<.01	.32	.44	.06						.69	225	97
Sw980	X	19.4	M29	119-129	.12	.09	.69	.05	.06								.54	114	92
Sw2534	X	43.9	D45	154-163	.50	.03	.44	.03									.63	115	89
Sw2476	X	66.7	D45	96-106	.17	.03	.81										.33	77	92
Sw2470	X	98.9	M41	170-172	.27	.73											.45	93	91
Sw707	X	183.7	T1	92-94	.39	.61											.48	97	91
Sw2588	X	193.1	T1	117-125	.69	.07	.24										.47	84	92

¹ = Chromosomal assignment

² = Position in cM (Kosambi) on the sex averaged map

³ = Number of used amplification group (see table 7 and 8); T = triplex, D = duplex, M = single amplification

⁴ = Minimum and maximum size range of detected alleles in bp

⁵ = Number of alleles detected in the population

⁶ = Degree of heterozygosity

⁷ = Number of informative meioses

⁸ = Number of genotyped parents

Tabelle A4: Kombinationen der Monoplex- und Multiplex-Reaktionen in den jeweiligen Elektrophoresen, die entsprechenden Multi- und Monoplex-Nummern sowie die verwendeten Reaktionsbedingungen sind den Tabellen 7 und 8 zu entnehmen

Komb.-Nr. ¹	Multiplex-Nr.	Monoplex-Nr.	Anzahl Loci
1	1, 7	–	5
2	2, 3	–	6
3	4, 8	25, 37	7
4	9, 10	34	5
5	11, 12	4	5
6	13, 14	36	5
7	5, 15	45	6
8	16, 17	13	5
9	18	5, 12, 19	5
10	19, 20, 21	–	6
11	22, 23, 24	7	7
12	25, 26	28	5
13	27, 28	26, 35	6
14	6	18, 30	5
15	29, 30	6, 46	6
16	31, 32	17, 27	6
17	33, 34, 35	14	7
18	36	39, 40, 42	5
19	37, 38	2, 21	6
20	–	1, 9, 43, 44	4
21	39	16, 22, 33	5
22	–	8, 23, 32	3
23	40	3, 38	4
24	41, 42	11	5
25	43	10, 15, 24	5
26	44, 45	29, 41	6

¹ = Kombinationsnummer der Multiplex-Gruppen

– = in den entsprechenden Kombinationen nicht verwendet

Anmerkung: die PCR-Produkte der Monoplexe 20 und 31 (Tabelle 8) liefern für die Elektrophorese auf Gelen anderer Projekte mit

An dieser Stelle möchte ich allen Personen danken, die zur Umsetzung und zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. Kalm danke ich für die interessante Themenstellung, den stets gewährten Ansporn und die ausgezeichneten Möglichkeiten zur wissenschaftlichen Arbeit. Bei Herrn Prof. Dr. J. Krieter bedanke ich mich für die Übernahme des Koreferates.

Für die fachliche Betreuung und die ständig vorhandene Diskussionsbereitschaft sowie für die Durchsicht des Manuskripts möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn PD Dr. habil. Norbert Reinsch bedanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt dem gesamten Laborteam für die jederzeit vorhandene Hilfsbereitschaft und die konstruktive Zusammenarbeit. Insbesondere bedanken möchte ich mich bei Gabriele Ottzen-Schirakow, Claudia Schütte und Stefanie Schultze für ihre tatkräftige und unermüdliche Hilfe sowie bei Helmut Kluding und Sven Paul.

Dem Zuchtunternehmen Schaumann Besitz-Hülseberg GmbH & Co. KG gebührt ein außerordentlicher Dank für die Sammlung und Bereitstellung der betroffenen Tiere und des Familienmaterials.

Danken möchte ich dem Förderverein Biotechnologieforschung der Deutschen Schweineproduktion e. V. (FBF) für die finanzielle Unterstützung dieser Studie.

Überdies gilt mein herzlichster Dank meiner Familie für die Unterstützung und den jederzeit entgegengebrachten Optimismus sowie Iris für viele hilfreiche Erfahrungen und Tipps.

Lebenslauf

Name: Sebastean Schwarz

Geburtstag: 17. Juli 1970

Geburtsort: Bremerhaven

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung: 1977-1981 Grundschule, Bremen
1981-1990 Gymnasium, Bremen
Abschluß: Abitur

Zivildienst: 9.1990-11.1991 Rettungssanitäter beim Malteser-Hilfsdienst
e.V., Land Bremen

Studium: 10.1992-3.1999 Studium der Agrarwissenschaften an der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel,
Fachrichtung Tierproduktion
Abschluß: Diplom-Agraringenieur

Auslandsaufenthalte: 12.1991-3.1992 Lesotho
7.1998-8.1998 Südafrika

Berufliche Tätigkeit: seit 6.1999 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für
Tierzucht und Tierhaltung der Christian-
Albrechts-Universität zu Kiel bei Herrn
Prof. Dr. Dr. h.c. mult. E. Kalm