

Forschungsbericht

Nr. 159

Molekulargenetische Analyse der Fundamentstabilität beim Schwein als Beitrag zur Verbesserung der Robustheit

Verfasser:

Projektleitung: Prof. Dr. K. Schellander

Projektbearbeitung: Dr. E. Tholen
Dr. H. Jüngst
Dr. C. Phatsara
Dr. E. Jonas

Institut für Tierwissenschaften
Professur für Tierzucht und Tierhaltung

Herausgeber: Lehr- und Forschungsschwerpunkt „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Meckenheimer Allee 172 15, 53115 Bonn
Tel.: 0228 – 73 2285; Fax.: 0228 – 73 1776
www.usl.uni-bonn.de

Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen
Bonn, Juli 2009

ISSN 1610-2460

Projektleitung: Prof. Dr. Karl Schellander

Projektbearbeitung: Dr. Ernst Tholen
Dr. Heinz Jüngst
Dr. Chirawath Phatsara
Dr. Elisabeth Jonas

Institut für Tierwissenschaften
Professur für Tierzucht und Tierhaltung
Endenicher Allee, 53115 Bonn
Tel.: 0228/73 9328; Fax.: 0228/73 2284

Kooperation:
Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Physiologie und Hygiene, Universität Bonn

Lehr- und Versuchsgut Oberschleissheim der Tierärztlichen Fakultät, Ludwig Maximilians-Universität München

Zitiervorschlag:

JONAS, E.; PHATSARA, C.; THOLEN, E., H. JÜNGST UND K. SCHELLANDER (2009): Molekulargenetische Analyse der Fundamentstabilität beim Schwein als Beitrag zur Verbesserung der Robustheit. Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn, Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes USL, Nr. 159, 42 Seiten

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Problemstellung/Wissensstand.....	1
1.2	Zielsetzung	4
2.	Material und Methoden	5
2.1	Material	5
2.1.1	Tiere	5
2.1.2	Phänotypen.....	5
2.2	Methoden.....	8
2.2.1	DNA Isolierung.....	8
2.3	Genotypisierung	9
2.3.1	Markerauswahl.....	9
2.3.2	PCR für Genotypisierung.....	9
2.3.3	Analyse auf dem Sequenzer	11
2.4	Statistische Auswertung	12
2.4.1	Analyse der Korrelationen	12
2.4.2	Informationsgrad der Marker	12
	Berechnung der Genkarten.....	12
	Analyse der Variablen für die QTL Analyse	13
	Kopplungsanalyse	13
Ergebnisse		15
	Einfluss der Fundamentmerkmale auf Schlachtkörper und Wachstum	15
	Kartierung und Informationsgehalt der Marker	20
	QTL Analyse.....	25
Diskussion		30
	Einfluß der Fundamentmerkmale auf Schlachtkörper und Wachstum	30
	Kartierung und Informationsgehalt der Marker	30
	QTL Analyse.....	31
Zusammenfassung.....		32
Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis.....		34
Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten		35
Mitteilung über evtl. schützenswerte Nutzungsrechte		35
Liste über Veröffentlichungen		35
Liste über Vorträge		35
Abstract		36
Kurzfassung.....		37
Literaturverzeichnis.....		38

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schema der linearen Bewertung des Fundamentes (LRS)	6
Abbildung 2:	Ablauf der pathohistologischen Beurteilung im Rahmen einer vorgelagerten Arbeit; Veränderungen an der Gelenkoberfläche in 4 Gelenkklassen von 0 (keine Veränderung) bis 4 (hochgradige Veränderung) (Theune 2008)	7
Abbildung 3:	Bewertungsschema der histologischen Knorpelschnitte (Theune 2008)	7
Abbildung 4:	Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC1 bis SSC6	10
Abbildung 5:	Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC7 bis SSC12	10
Abbildung 6:	Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC13 bis SSC18	11

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Lineare Exterieurbewertung	5
Tabelle 2:	Beurteilung der pathologisch-histologischen Bewertung von Femur und Humerus	6
Tabelle 3:	Im Rahmen der Fundamentbewertung erfasste Merkmal	8
Tabelle 4:	Überblick über die Mast- und Schlachtkörpermerkmale; dargestellt die Anzahl beobachteter Tiere (n), der Mittelwert (x), Standardabweichung (Std), sowie Minimum (min) und Maximum (max)	15
Tabelle 5:	Überblick über die Bewertung der histologischen Schnitte und der Knochenabmessungen; dargestellt die Anzahl beobachteter Tiere (n), der Mittelwert (x), Standardabweichung (Std), sowie Minimum (min) und Maximum (max)	16
Tabelle 6:	Übersicht über die Spearmanschen Korrelationskoeffizienten	18
Tabelle 7:	Informationsgehalt der verwendeten Mikrosatellitenmarker, Informationsgehalte spiegeln sich wieder in den Werte der Heterozygotie (HET) und PIC	21
Tabelle 8:	Übersicht über die Ergebnisse der QTL Analyse (100 Iterationen über alle Autosomen)	25
Tabelle 9:	Übersicht über die Bestätigten QTL (10000 Iterationen)	26
Tabelle 10:	Übersicht über einige Ergebnisse der QTL Analyse mit dem 2-QTL model	32
Tabelle 11:	Positionelle/ funktionelle Kandidatengene in den QTL Regionen	31

Abkürzungsverzeichnis

ALTEND	Alter bei Schlachtung
AREA_A	Knochenmineralfläche A
AREA_B	Knochenmineralfläche B
BAREA	Knochenmineralfläche
BAUCH	Klassifikation des Bauches
BAUCH	Bauchpunkte
BMC	Knochenmineralmasse
BMC_A	Knochenmineralmasse A
BMC_B	Knochenmineralmasse B
BMC_G	Knochenmineralmasse G
BMD	Knochenmineraldichte
BMD_A	Knochenmineraldichte A
BMD_B	Knochenmineraldichte B
BMD_G	Knochenmineraldichte G
ENDKG	Gewicht vor Schlachtung
FEFL	Fettfläche
FLFL	Fleischfläche
FVW105	Futterverwertung bis Tag 105
GEBKG	Geburtsgewicht
HLC	Hinterlauf Caput
HLK	Hinterlauf Kondylen
KOCH_V	Kochsaftverlust
LAENGE	Schlachtkörperlänge
LEBTGZ	Tägliche Zunahme
LF1KO	Leitfähigkeit 1. Stunde - Kotelett
LF24KO	Leitfähigkeit 24. Stunde - Kotelett
LF24SI	Leitfähigkeit 24. Stunde - Schinken
OPTO	Fleischfarbe
PH1KO	pH 1. Stunde - Kotelett
PH24KO	pH 24. Stunde - Kotelett
PH24SI	pH 24. Stunde - Schinken
RAHM	Rahmen
RUESPE	Rückenspeck
SCHINK	Schinken
SEITSPE	Seitenspeckdicke
SLAKG	Schlachtgewicht
SPECKLE	Speckdicke links

SPECKMI	Speckdicke mitte
SPECKWR	Speckdicke rechts
TGZ105	Tageszunahme bis Tag 105
TGZLPA	Tägliche Zunahme in der LPA (Mastperiode)
TROPFSAF	Tropfsaftverlust
VLC	Vorderlauf Caput
VLK	Vorderlauf Kondylen

1. Einleitung

1.1 Problemstellung/Wissensstand

Gliedmaßenerkrankungen, darunter auch das Beinschwäche- Syndrom (BS-Syndrom), machen in der heutigen Schweinehaltung einen großen Teil der Abgangsursachen aus und verursachen einen enormen wirtschaftlichen Schaden. Das Ziel dieser Untersuchung war die Untersuchung von Merkmalen der Knochenfestigkeit und darüber hinaus die Identifizierung von Regionen auf dem Schweinengenom welche diese beeinflussen. Diese Daten sollen somit zum einen die Möglichkeiten der phänotypischen Charakterisierung von Fundamentproblemen beziehungsweise von Osteochondrosis untersuchen, zum anderen eine mögliche Selektion gegen das BS-Syndrom mit Hilfe von genetischen Markern analysieren. Zur Klärung dieser Problematik wurden Tiere einer Versuchspopulation, einer Kreuzung zwischen den beiden Vaterlinien Duroc × Pietrain verwendet. In dieser Population konnte zum einen eine relative Verteilung der Phänotypen aufgrund der Fleisch-/Wachstumsbetonung der Rassen erwartet werden, zum anderen eignet sich eine solche Kreuzung von divergenten Rassen sehr gut für die Detektion von Quantitativen Trait Loci (QTL). Über die analysierten Merkmale der Knochenstruktur hinaus, wurde ebenfalls der Einfluss von Mast-, Schlacht- und Fleischleistungsmerkmalen auf Fundamentbefunde untersucht. Diese Erkenntnisse sollen als Grundlage für die Identifikation von Kandidatengenomen dienen, um in Zukunft genetisch disponierte Gliedmaßenerkrankungen mit einer markergestützten Selektion zu verringern.

BS und Gelenkveränderungen können zu beträchtlichen wirtschaftlichen Verlusten in der Schweinehaltung führen und gehören neben den infektiös bedingten Arthritiden zu den häufigsten Gelenkerkrankungen (2000b). In verschiedenen Ländern wurden durch BS verursachte Verluste von Zuchttieren zwischen 10 % und 40 % beschrieben, damit stellt BS nach den Reproduktionsproblemen die zweithäufigste Abgangsursache dar (Reiland *et al.* 1978; Nakano *et al.* 1987; Jorgensen 2000a). In der Schweinemast macht das BS-Syndrom 23 % bis 28 % der Abgangsursachen aus (Schulze *et al.* 1998). Zu dem BS-Syndrom gehören Gliedmaßenstellungsanomalien, Bewegungsprobleme, Lahmheiten in verschiedenen Ausmaßen und Strukturveränderungen des Knorpels (Grondale.T 1974a, b; Reiland 1978b; Nakano *et al.* 1987; Draper *et al.* 1992; Jorgensen *et al.* 1995). Einige nicht infektiöse Erkrankungen, die in Gelenken und verschiedenen Teilen des Skeletts vorkommen können, werden als Ursache für die klinischen Zeichen der BS betrachtet (Reiland *et al.* 1978). Zu diesen nicht entzündlichen Erkrankungen gehören u. a. Osteoarthrose (OA) und Osteochondrose (OC). Bei OA handelt es sich um eine degenerative Gelenkerkrankung, welche verschiedene Veränderungen, wie Osteosklerose, Gelenkknorpeldegeneration und entzündliche Veränderungen der *Membrana synovialis* beinhaltet (Gardner *et al.* 1997). Die OC ist eine enchondrale Ossifikationsstörung im Knochenwachstum, die bei allen Säugetieren vorkommen kann und in deren Folge schwerwiegende Lahmheiten auftreten können. Der

Begriff OC wurde von Ljunggren und Reiland (1970) als Definition für Veränderungen des Gelenkknorpels sowie der Epiphysenplatten beim Schwein eingeführt. OC ist eine primäre Erkrankung des jungen, wachsenden Knorpels, die mit Störungen in der Zelldifferenzierung einhergeht (Grondalen 1974; Reiland 1978a). Die Inzidenz der OC ist bei Schweinen extrem hoch und liegt bei mehr als 90 % (Reiland *et al.* 1978; Nakano *et al.* 1987), in einigen Studien sogar bei nahezu 100 % (Grondale.T 1974b; Reiland 1978a). In mehreren Untersuchungen wurde ein enger Zusammenhang zwischen BS und OC gefunden, die Zusammenhänge werden jedoch kontrovers diskutiert (Grondale.T 1974b; Reiland 1978a; Nakano *et al.* 1987; Hill 1990). Die Ursache der OC ist bisher noch unklar, verschiedene Risikofaktoren wie Geschlecht, Rasse, Linie, Alter oder Fütterung werden jedoch kontrovers diskutiert (Grondale.T 1974a, b; Grondalen 1974; Reiland 1978a; Calabotta *et al.* 1982; Nakano *et al.* 1987; Goedegebuure *et al.* 1988; Rothschild *et al.* 1988; Jorgensen *et al.* 1995; Fukawa & Kusuhara 2001; Ytrehus *et al.* 2004; Aurich *et al.* 2006).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Erfassung der Fundamenteigenschaften und damit verbunden möglicher Fundamentprobleme. Dazu werden am lebenden Tier Exterieurbeschreibungen verwendet, welche Hinweise auf mögliche vorhandene oder zukünftig auftretende BS geben können. Die histologische Befunderhebung am Knochen und Knorpel ist jedoch effektivsten und detailliertest Methode zur Diagnostik einer bestehenden oder beginnenden OC. Am lebenden Tier spielt die Exterieurbeurteilung auch in der modernen Schweinezucht sicher die bedeutendste Rolle für züchterischen Entscheidungen und Selektionsmaßnahmen hinsichtlich des Fundamentes. Um die Implementierung der Selektion gegen OC in Zuchtprogrammen im Hinblick auf die Nutzungsdauer von Schweinen und in diesem Zusammenhang auf die ökonomischen Auswirkungen richtig bewerten zu können, sollten die Einflüsse der OC auf diese Bereiche jedoch berücksichtigt werden. Es ergibt sich ebenfalls die Notwendigkeit die Beziehung zwischen funktionalen Leistungs- und Exterieurmerkmalen in züchterische Überlegungen innerhalb eines modernen Schweinezuchtprogrammes einzubeziehen. In der Schweinezucht ist die Beurteilung des BS-Syndroms und der Gelenkveränderungen ein wichtiges Element bei der Erfassung des Zuchtwertes (Schwörer 1991). Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Stellungen der Vordergliedmaße, beispielsweise die Vorbiegeigkeit der Vordergliedmase sowie Unterstellen der Beine, mit dem BS-Syndrom zusammenhängen (Rothschild & Christian 1988; Rothschild *et al.* 1988; Jorgensen 2000a). Die Heritabilität der visuell erfassten Fundamentbeurteilung variiert bei verschiedenen Rassen und liegt zwischen 0,23 und 0,49 (Bereskin 1979; Schwoerer 1991; Schulze *et al.* 1998). Aufgrund dieser niedrigen bis mittleren Heritabilität und der Problematik der einfachen Erfassung von OC am lebenden Schwein stellt sich ebenfalls die Frage wie die Fundamentmerkmale in ein modernes Schweinezuchtprogramm integriert werden können. Solche Merkmale eignen sich für den Einsatz von genetischen Markern in einer Marker gestützten Selektion (MAS) zur Beurteilung des Merkmals mit Hilfe von genetischen Informationen welche damit in Verbindung stehen.

Verschiedene Möglichkeiten zur Detektion solcher genetischen Marker wurden bereits angewandt und vielfältig diskutiert. Die direkte Selektion von Kandidatengenomen welche im Zusammenhang mit dem Phänotyp des Interesses beschrieben werden ist dabei sicher der einfachste, insbesondere bei komplexeren Merkmalen jedoch schwierigere Ansatz. Die moderne Genetik bietet jedoch weitere Möglichkeiten der Identifizierung von Genen oder Genregionen welche im Bezug zu verschiedenen Phänotypen stehen. Dazu gehört neben weitläufigen Expressionsanalysen sicher auch Kopplungsanalysen welche das Ziel haben, Regionen auf dem Genom zu identifizieren, welche mit dem Merkmal an die Nachkommen weitervererbt werden, gekoppelt sind, auch QTL (quantitative trait loci) Analyse genannt. Für Merkmale des Knochenaufbaus und der Knochenstruktur wurden bisher jedoch nur wenige QTL Studien durchgeführt/ QTL identifiziert. QTL konnten auf den Chromosomen 2, 4, 16 und 17 für die Knochendimensionen sowie auf den Chromosomen 5, 13 und 15 für OC in einer Untersuchung mit Tieren einer F2 Population zwischen Wildschwein und Large White detektiert werden (Andersson-Eklund *et al.* 2000). In einer Studie mit einer Meishan \times Duroc Population konnten QTL für das mit OC korrelierte Merkmale der Schlachtkörperlänge auf den Chromosomen 6, 7 und X, sowie für Leichtigkeit auf SSC3 detektiert werden (Lee *et al.* 2003). Weiterhin wurden QTL Effekte für Fleischfläche in verschiedenen Abschnitten des Schlachtkörpers sowie der Knochen zu Muskelfläche und Schlachtkörperlänge Relation auf SSC2, 3, 4 und 8 detektiert, jeder QTL konnte dabei 9 bis 16% der Varianz erklären (Andersson-Eklund *et al.* 1998). Der Schwachpunkt dieser Untersuchungen ist jedoch, dass bislang noch nicht geklärt werden konnte, ob Untersuchungen mit Hilfe solcher Versuchspopulationen aus kommerziell in Europa nicht verwendeten Linien auch in europäische Zuchtprogramme integriert werden können. Die Frage, inwieweit diese QTL ebenfalls in den kommerziellen Linien segregieren muss daher noch geklärt werden, bevor eine Integration in Zuchtprogramme realisiert werden kann. Daher wurde in der folgenden Studie eine Versuchspopulation als Kreuzung von den in Deutschland kommerziell verwendeten Linien Duroc und Pietrain untersucht. In vorangegangenen Experimenten konnten bereits in einem Teil der Population QTL für verschiedene Fleisch- und Schlachtleistungsmerkmale detektiert werden (Liu *et al.* 2007). Im Fokus dieser Arbeit stand nun die Detektion von QTL für verschiedene Fundamentmerkmale. Ein Teil der Duroc \times Pietrain (DUPI) Population wurde daher in das Schlachthaus der Versuchs- und Lehranstalt Schwarzenau in Bayern transportiert, Knochen und Knorpelmerkmale wurden entnommen und klassifiziert. Eine QTL Analyse soll nun Aufschluss über Regionen auf dem Genom geben, welche mit den Fundamentmerkmalen in Zusammenhang stehen.

1.2 Zielsetzung

Das Ziel dieses Projektes war zum einen die Charakterisierung der entnommenen Knochen- und Knorpelproben zur Feststellung von pathologischen Veränderungen. Somit konnten Zusammenhänge zwischen den histologischen Untersuchungen und den Fundamentbeschreibungen sowie den Merkmalen der Mast- und Schlachtleistung untersucht werden. Darüber hinaus wurden die Tiere an über alle Autosomen verteilten Markern genotypisiert. Die Informationen der Phäno- und Genotypen wurden anschließend in einer Kopplungsanalyse zur Detektion von QTL Regionen miteinander verbunden. In späteren Projekten können diese Informationen somit zur Identifizierung von möglichen positionellen und funktionellen Kandidatengenomen beitragen.

Zusammenfassend wurden die folgenden Gesichtspunkte betrachtet:

- (1) Erfassung der Fundamentmerkmale der Tiere der DUPI Population
- (2) Untersuchung des Einflusses dieser Merkmale auf die Mast- und Schlachtleistung
- (3) Detektion von Regionen auf dem Genom, welche die Fundamentmerkmale und damit verbunden OC beeinflussen mit Hilfe von einer Kopplungsanalyse

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Tiere

Zur Untersuchung der genetischen Ursachen für Fundamentprobleme und OC beim Schwein wurden Proben von Tieren einer Versuchspopulation verwendet. Die Proben für die Erfassung der Phänotypen stammten von Tieren der F2 Generation der auf der Lehr- und Forschungsstation Frankenforst der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, etablierten Versuchspopulation. Diese Population besteht aus den genetischen Anteilen der Rassen Duroc und Pietrain, welche reziprok bis zur F2 Generation gekreuzt wurden. Die Tiere der F0, F1 und F2 Generationen wurden ebenfalls genotypisiert.

2.1.2 Phänotypen

Die Phänotypen der Fundamentbeurteilung und der Mastleistung wurden in der Leistungsprüfungsanstalt Frankenforst des Institutes für Tierwissenschaften erfasst. Die Tiere wurden nach den Richtlinien des ALZ einem standardisierten Prüfverfahren unterzogen, mit denen die Mast- und Schlachtleistungsmerkmale und die Fleischqualitätsmerkmale geprüft wurden. Vor der Schlachtung wurden die Tiere von 2 Beurteilern einer linearen Exterieurbeurteilung unterzogen (Tabelle 1). Dabei wurden 2 Körperformmerkmale (Rahmen, Schinken) und 5 Exterieurmerkmale einer fünfstufigen Bewertung unterzogen.

Tabelle 1: Lineare Exterieurbewertung

Note	1	2	3	4	5
Rahmen	Sehr groß, sehr lang	Groß lang	gut	Klein kurz	Sehr klein, sehr kurz
Schinken	Zu schmal	Schmal	gut	Ausgeprägt	Zu stark ausgeprägt
Fundament, vorne	Sehr steil	steil	gut	Durchtrittig	Sehr stark durchtrittig
Fundament, hinten Winkelung	Sehr steil	steil	gut	Stark gewinkelt	Sehr stark gewinkelt
Fundament, hinten Stellung	Stark fassbeinig	fassbeinig	gut	x-beinig	Start x-beinig
Klauen - innen	Stark verkürzt	verkürzt		gut	-
Klauen - außen	Stark verkürzt	verkürzt		gut	-

Die folgende Abbildung 1 zeigt anhand der Hinterbein Stellung die Unterschiede des Fundamentes.

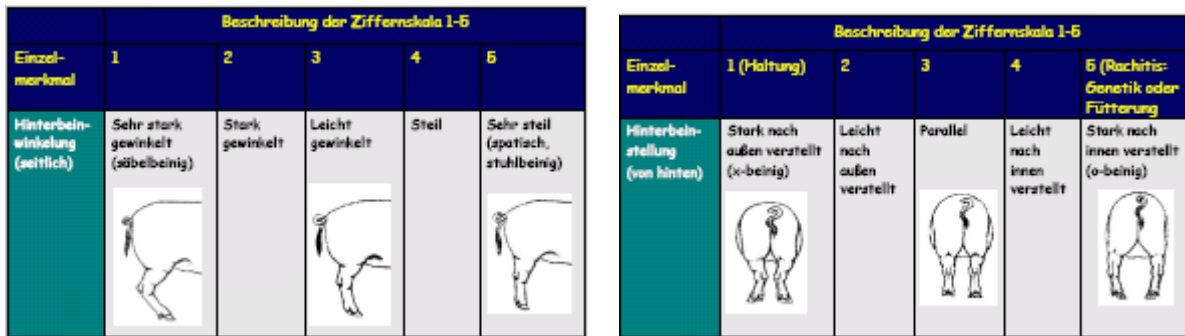


Abbildung 1: Schema der linearen Bewertung des Fundamentes (LRS)

Nach der Schlachtung wurde von jedem Schlachtkörper das Vorder- und Hinterbein der linken Körperhälfte untersucht. Dabei wurden die Knochen von Femur und Humerus am Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Physiologie und Hygiene, Universität Bonn pathologisch-anatomisch untersucht und histologisch nach dem in Tabelle 2 dargestellten Punkteschema bewertet.

Tabelle 2: Beurteilung der pathologisch-histologischen Bewertung von Femur und Humerus

Bewertung	Beschreibung
1	Keine Veränderung, ohne besonderen Befund
2	Geringgradige Veränderungen, ggf. leichte Hyperplasie mit leichter Oberflächenveränderung oder Asbestfaserung, ggf. Kapillaren
3	Mittelgradige Veränderungen, Hyperplasie, Oberflächenveränderung, Asbestfaserung, Kapillareinsparung, ggf. leichte Nekrose
4	Hochgradige Veränderung, s.o., Knorpelstruktur kaum noch erkennbar, Nekrose

Die folgende Abbildung 2 zeigt einen Überblick über den Ablauf der pathohistologischen Beurteilung.

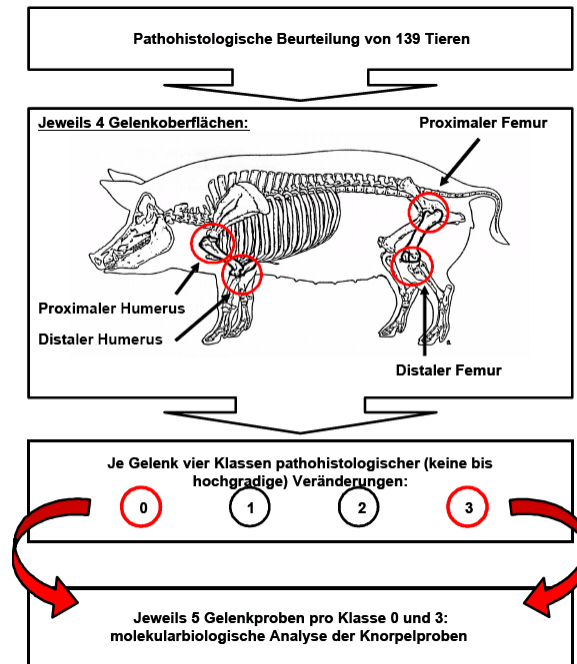


Abbildung 2: Ablauf der pathohistologischen Beurteilung im Rahmen einer vorgelagerten Arbeit; Veränderungen an der Gelenkoberfläche in 4 Gelenkklassen von 0 (keine Veränderung) bis 4 (hochgradige Veränderung) (Theune 2008)

Das in Abbildung 3 dargestellte Bewertungsschema diente dabei als Grundlage für die Einordnung der histologischen Schnitte.



Abbildung 3: Bewertungsschema der histologischen Knorpelschnitte (Theune 2008)

Die vier Parameter der verschiedenen Schnitte wurden anschließend zu einem OC Wert addiert, welcher die gesamte Degradierung verschiedener Knorpelgewebe eines Tieres darstellt.

Weiterhin wurde von jedem Vorderbein der Unterarmknochen (Radius/Ulna) abgesetzt und tiefgefroren. Die Knochen wurden am Lehr- und Versuchsgut Oberschleissheim der Tierärztlichen Fakultät, Ludwig Maximilians-Universität München mittels Dualenergie-

Röntgenabsorptionsmetrie (DXA) hinsichtlich der Merkmale Knochenmineraldicht, Knochenmineralfläche, Knochenmineralgehalt und Knochenmasse ausgewertet.

Die Phänotypen wurden an 300 Tieren der F2 DUPI Ressourcen-Population durchgeführt. Dabei wurden neben den Fundament- und Knochenmerkmalen die in Tabelle 3 aufgeführten Merkmale erhoben.

Tabelle 3: Im Rahmen der Fundamentbewertung erfasste Merkmale

Mastleistung	Tageszunahme, Futtermittelverwertung, Alter bei Mastende, Zunahme wertvoller Teilstücke, Futtermittelverwertung für wertvolle Teilstücke
Schlachtleistung	Schlachtkörpergewicht, Schlachtkörperlänge, Rückenspeckdicke, Seitenspeckdicke, Speck über Rückenmuskelfläche, Rückenmuskelfläche, Fleisch-Fett-Verhältnis, Anteil der wertvollen Teilstücke (Auto-FOM)
Fleischqualität	pH, LF, Kotelett, Optowert
Lineare Exterieurbewertung	7 Merkmale, lineare Beschreibung
Röntgenbewertung	Knochenmineraldichte, Knochenmineralfläche, Knochenmineralgehalt und Knochenmasse
Pathologisch-histologische Bewertung	Punktebewertungsschema mit Punkten von 1 bis 4

2.2 Methoden

2.2.1 DNA Isolierung

Für die Genotypisierung der Marker wurde die Erbsubstanz der Tiere, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), aus verschiedenen Geweben, in erster Linie jedoch Muskelgewebe, gewonnen. Es wurden zwei bis drei reiskorngroße Stücke vom gefrorenen Gewebe abgeschnitten, mit einem Skalpell weiter zerkleinert und mit 700 µl Verdauungspuffer, 70 µl SDS sowie 18 µl ProteinaseK über Nacht bei 37°C schüttelnd für den Gewebeverdau inkubiert. Nach dem Verdau wurden 700 µl Phenol-Chloroform (1:1) zu der Probe pipettiert, mit der Verdauungslösung gut gemischt und zehn Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend in ein anderes Röhrchen pipettiert, mit 700 µl Chloroform vermischt und erneut zehn Minuten bei 10.000 g zentrifugiert. Aus dem Überstand wurde in einem neuen Röhrchen mit 70 µl 3 M Natriumacetat sowie 700 µl Isopropanol (100 %) die DNA ausgefällt. Das DNA-Pellet wurde nach kurzer Zentrifugation mit 200 µl Ethanol (70 %) gereinigt, anschließend getrocknet und in 200 bis 500 µl TE über Nacht bei Raumtemperatur aufgelöst. Nach der Bestimmung der Qualität und des DNA-

Gehalts mittels Dichtebestimmung bei 260 nm und 280 nm im Photospektrometer wurde die DNA bei 4°C aufbewahrt.

2.3 Genotypisierung

Insgesamt wurden die Tiere der DUPI Population an 79 Mikrosatellitenmarkern über 18 Chromosomen genotypisiert. Alle Ergebnisse der Geno- und Phänotypen wurden in der SQL-basierten Datenbank am Institut für Tierwissenschaften des Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn gespeichert.

2.3.1 Markerauswahl

Die 300 DUPI- Tiere (F2) sowie deren Eltern (F1) und Grosseltern (F0) wurden mit 79 Mikrosatellitenmarkern genotypisiert zur Identifizierung von QTL. Die Marker für die Grobkartierung in dieser Untersuchung wurden, basierend auf die Arbeit von Liu (2007) ausgewählt. Die Auswahl der Marker basierte auf den publizierten Genmappen der US-amerikanischen Gruppe (*USDA-MARC*). Die untersuchten Marker waren gleichmäßig mit Abständen zwischen 5 cM und 30 cM über alle Autosomen verteilt. Die Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere sind in Abbildung 4, Abbildung 5, Abbildung 6 aufgeführt. Dargestellt sind auf der rechten Seite die Namen der Marker (entnommen aus der *USDA-MARC* Datenbank) sowie auf der linken Seite die relativen Positionen auf den Chromosomen.

2.3.2 PCR für Genotypisierung

Die Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) wurden mit Volumen zwischen 6 bis 12 µl durchgeführt, je nach benötigter Produktmenge für die Analyse. Jede der PCR-Reaktionen enthielt 25 bis 50 ng genomische DNA, 0,1 bis 0,5 µM jedes Primers, 50 µM jedes dNTP, 0,5 U der Taq Polymerase (*Biotherm*) und 1,5 mM MgCl₂ in 1×PCR Puffer. Die PCR wurde in einem Thermocycler PTC 100 (*MJ Research USA*) bei 95°C für 5 Minuten, gefolgt von 32 bis 42 Zyklen 94°C für 30 Sekunden 55 bis 62°C für 30 Sekunden, 72°C für 30 Sekunden und einer abschließenden Extension bei 72°C für 5 Minuten durchgeführt.

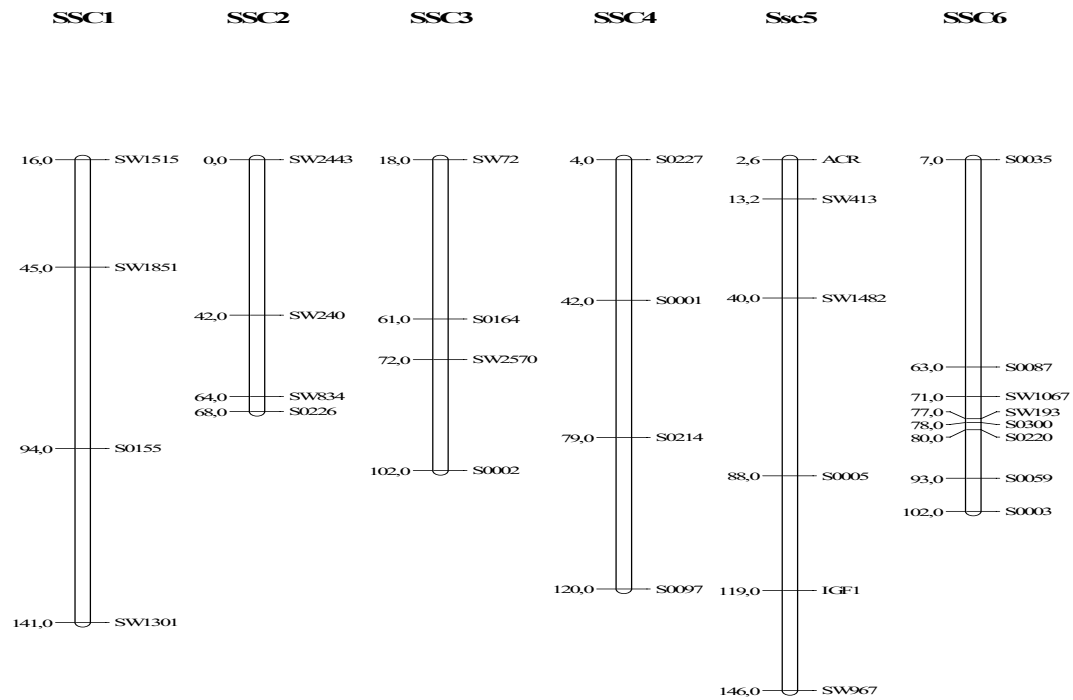


Abbildung 4: Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC1 bis SSC6

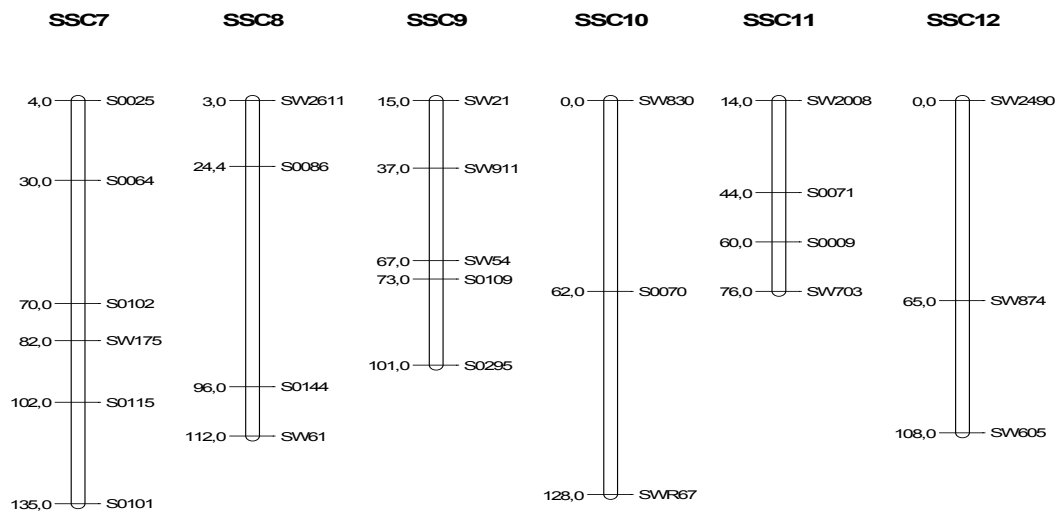


Abbildung 5: Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC7 bis SSC12

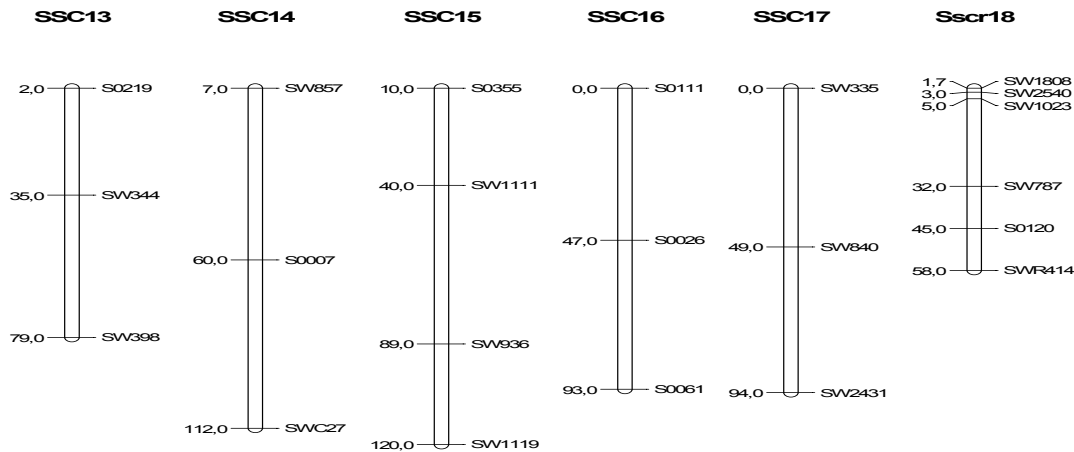


Abbildung 6: Genkarten mit den verwendeten Markern für die Genotypisierung der DUPI Tiere auf SSC13 bis SSC18

2.3.3 Analyse auf dem Sequenzer

Die PCR-Produkte wurden in einem sechsprozentigen Polyacrylamidgel auf einem DNA-Sequenzer (*DNA Analyzer, GENE Reader 4200*) elektrophoretisch aufgetrennt. Um ein wiederholtes Beladen des Gels zu ermöglichen, wurde Haftsilane zur Stabilisierung der Taschen aufgetragen. Die verwendete Polyacrylamidgel-Lösung, bestehend aus 15 ml Sequagel xR (*SQG-XR-842 MWG*), 3,75 ml Sequagel complete buffer reagent, 200 µl DMSO und 150 µl APS, wurde zwischen die gereinigten Glasplatten gegossen. Nach einer Stunde war das Gel erhärtet (polymerisiert) und die Elektrophorese konnte in 1×TBE durchgeführt werden. Die PCR-Produkte wurden 1:10 mit Blue Dextral Beladungspuffer gemischt und je 1 µl in die Taschen des Gels aufgetragen. Zusätzlich wurden für die spätere Analyse der Fragmentgrößen die Standardprodukte an beide Enden des Gels aufgetragen. Die Elektrophorese wurde bei 50°C, 50 W, 40 mA und bis zu 1.500 V durchgeführt. Die Daten aus der Elektrophorese wurden mit dem Image Analysis Programm, Version 4.10 (*LICOR Biotechnology*), analysiert.

Die Allelgrößen wurden mit der Software OneDScan identifiziert. Mit diesem Programm werden die Allellängen in Relation zu den Standardprodukten mit den bekannten Fragmentgrößen bestimmt. Die Fragmentgrößen wurden in Abständen von mindestens 2 bp über Desmille-Linien bestimmt und anschließend mithilfe der Report-Funktion zur weiteren Analyse in Exceltabellen übertragen.

2.4 Statistische Auswertung

2.4.1 Analyse der Korrelationen

Die Korrelationen zwischen den Merkmalen des Wachstums und der Schlachtkörperqualität und den Fundamentklassifizierungen wurde mit dem SAS Software Paket (version 8) berechnet.

2.4.2 Informationsgrad der Marker

Der Grad der Heterozygotie dient dazu, die Diversität der Allele beziehungsweise den Informationsgehalt eines genetischen Markers zu bestimmen. Der Informationsgehalt der genetischen Marker steigt mit steigender Heterozygotie. Diese wird berechnet durch

$$H = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2,$$

wobei p_i die Frequenz des i^{ten} Allels und k die Anzahl der Allele ist (Nei 1978; Otto & Goldstein 1992).

Alternativ kann die Informativität von genetischen Markern in Outbred Arten anhand des polymorphischen Informationsgehalts gemessen werden (Botstein et al. 1980). Der PIC eines Markers wird bestimmt durch

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2 - \sum_{i=1}^k \sum_{j=1+1}^k p_i^2 p_j^2,$$

wobei p_i die Frequenz des i^{ten} Allels und k die Anzahl der Allele ist (Botstein *et al.* 1980; Otto & Goldstein 1992). Die Berechnung des PIC-Wertes wurde in Bezug zu kodominanten genetischen Markern entwickelt, um die Allele zu ermitteln, die durch einen betroffenen heterozygoten Elternteil, der Träger eines dominanten Defektallels ist, vererbt werden (Otto & Goldstein 1992). Der PIC bestimmt die Wahrscheinlichkeit, dass der kodominante Markergenotyp eines Nachkommens verwendet werden kann, um festzustellen, welcher der beiden Markerallele durch einen Elternteil mit einem dominanten Defektallel vererbt wird. Der Ausdruck polymorphischer Informationsgehalt wird alternativ und häufig für die Heterozygotie und für mögliche andere Messmöglichkeiten der Informativität der Marker benutzt.

2.4.3 Berechnung der Genkarten

Die Daten aus den Analysen der Fragmentgrößen wurden zunächst mit *Pedcheck* (Version 1.1) auf fehlerhafte Genotypen geprüft (O'Connell 1998). Die anschließenden Multipoint-

Analysen wurden für weibliche, männliche und geschlechtsunabhängige Karten mit der *Crimap* Software (*Version 2.4*) durchgeführt (Green 1992). Es wurden unter anderem die Funktionen *twopoint* zur Analyse zwischen je zwei Markern sowie die Optionen *fixed* und *flipsn* verwendet. Berechnet wurden die Markerdistancen in Kosambi- und Haldaneeinheiten sowie die Rekombinationsraten zwischen den Markern. Die Rekombinationsraten wurden für die weiteren QTL-Analysen verwendet.

2.4.4 Analyse der Variablen für die QTL Analyse

Die Analyse der Varianz (ANOVA) aus dem Programmpaket SAS, Version 9.1 (Prozedur GLM – generalized linear model) wurde für die Analyse der Variablen für die QTL Analyse verwendet. Ein lineares Model wurde für all Berechnungen verwendet mit den fixen Faktoren Geschlecht, Schlachtdatum und Schlachtgewicht

$$Y_{ab} = \mu_{ab} + \text{Sex}_{a} + \text{Sladate}_{b} + \varepsilon_{ab}$$

Mit den Fundamentmerkmalen (Knochendimension, Bewertungen des Fundamentes und er histologischen Schnitte) als abhängige Variablen Y, μ dem Mittelwert, Sex dem fixen Effekt des Geschlechtes, Sladate_b dem fixen Effekt des Schlachttages, ε_{ab} dem Fehlerquotienten und den Kovariablen a und b.

Die errechneten Residuen wurden auf Normalverteilung geprüft und für die QTL Analysen als Phänotypen verwendet.

2.4.5 Kopplungsanalyse

Die ermittelten Skelettmerkmale wurden mit den Leistungsmerkmalen phäno- und genotypisch zueinander in Beziehung gesetzt.

Die QTL Analysen wurden mit der F2 Analyse des Programms QTL Express durchgeführt, welches auf einer Regressionsanalyse basiert (Haley *et al.* 1994; Seaton *et al.* 2002). Die empirischen Signifikanzlevel (p-value) wurden innerhalb der QTL Analyse errechnet, so dass die Fehlerrate möglichst gering gehalten werden konnte. Die chromosomen-weiten Signifikanzlevel für Einzelmerkmale werden in dem Programm mit dem Permutationstest von Churchill and Doerge (1994) errechnet. Für die erste Analyse wurden 100 Permutationen über alle Autosomen verwendet, anschließend wurden signifikante Ergebnisse mit 10000 Permutationen erneut kontrolliert. Die F-Werte, welche einen 5% Signifikanzlevel überschritten wurden als signifikant angesehen. Es wurden die Permutationstest zur Errechnung der chromosomen-weiten Signifikanzlevel (100 oder 10000 Iterationen) sowie eine Bootstrap Prozedur zur Errechnung des Konfidenzintervalls an den errechneten QTL Regionen verwendet. Diese sind Optionen innerhalb des Programms QTL Express.

Für die Analyse der Einzel-QTL wurden das folgende Regressionsmodell in QTL Express verwendet:

$$y_{ij} = \beta_0 + f_j + \beta_{i1} QTL + \varepsilon_i$$

mit

- y_{ij} Phänotyp des i^{ten} Nachkommen (Residuen aus den GLM Analysen)
- β_0 der Mittelwert
- f_j der j^{te} fixe Gruppeneffekt, hier die Vollgeschwisterfamilie
- β_{i1} der Koeffizient des i^{ten} Individuums an der putativen QTL Position im Genom
- QTL der Effekt des putativen QTL
- ε der Fehlerquotient

Darüber hinaus wurde ebenfalls ein 2-QTL Model angewandt um die mögliche Existenz von zwei QTL auf dem gleichen Chromosom zu identifizieren. Das 2-QTL Modell wurde ebenfalls mit dem Programm QTL Express berechnet (Seaton *et al.* 2002). Im Folgenden wurden die F-Werte der 2-QTL Analyse (F von 2 gegen 1 QTL) welche das 5% Signifikantlevel überschritten und LOD Scores von über 1,9 als suggestive QTL, LOD Scores von mehr als 2,3 und F-Values mit dem Signifikanzlevel 1% als signifikante QTL bezeichnet. Das folgende Model wurde für die Analyse des 2-QTL Modells angewandt:

$$y_{ij} = \beta_0 + f_j + \beta_{i1} QTL_1 + \beta_{i2} QTL_2 + c_{ai2} d_2 + \varepsilon_{ij}$$

mit:

- y_{ij} Phänotyp des i^{ten} Nachkommen (Residuen aus den GLM Analysen)
- β_0 der Mittelwert
- f_j der j^{te} fixe Gruppeneffekt, hier die Vollgeschwisterfamilie
- a_1, a_2 der Effekt der putativen QTL QTL₁ und QTL₂
- β_{i1}, β_{i2} der Koeffizient des i^{ten} Individuums an den putativen QTL Positionen im Genom
- ε_{ij} der Fehlerquotient

Die Präsenz von 2 QTL innerhalb der Kopplungsgruppe wurde nur nachgewiesen wenn beide F-Statistiken den Signifikanzlevel überschritten.

3. Ergebnisse

3.1 Einfluss der Fundamentmerkmale auf Schlachtkörper und Wachstum

Insgesamt wurden Informationen von 300 F2 Tieren für die Auswertungen verwendet. Die Tiere wogen im Durchschnitt 1,49 kg bei der Geburt, 8,46 kg beim Absetzen, 24,5 kg zum Beginn der Mastperiode und 110 kg bei der Schlachtung. Ein Überblick über die Mast- und Schlachtkörpermerkmale ist in Tabelle 4 gegeben.

Tabelle 4: Überblick über die Mast- und Schlachtkörpermerkmale; dargestellt die Anzahl beobachteter Tiere (n), der Mittelwert (x), Standardabweichung (Std), sowie Minimum (min) und Maximum (max)

Merkmal	n	x	Std	Min	Max
GEBKG	310	1,49	0,27	0,80	2,40
ENDKG	310	109,75	8,76	80,00	133,00
SLAKG	309	87,57	7,16	63,50	105,00
TGZ105	282	809,75	86,92	581,00	1042,00
TGZLPA	310	764,43	102,36	125,68	964,29
ALTEND	310	185,01	15,86	151,00	230,00
FVW105	282	2,73	0,24	2,07	3,79
LAENGE	310	97,89	2,89	87,00	105,00
SPECKWR	310	3,39	0,54	1,90	5,60
SPECKMI	310	1,75	0,47	0,60	4,20
SPECKLE	310	1,45	0,41	0,50	2,70
SEITSPE	138	2,82	0,73	1,20	5,20
OPTO	310	75,15	7,36	55,00	93,00
BAUCH	138	4,04	1,72	1,00	8,00
PH24KO	310	5,53	0,11	5,30	6,34
PH24SI	310	5,63	0,14	5,35	6,21
PH1KO	310	6,45	0,15	5,89	6,89
LF1KO	310	4,28	0,56	3,00	6,50
LF24KO	310	3,35	0,83	2,10	9,40
LF24SI	310	3,03	1,05	1,90	12,40
SUER	310	1,24	0,38	0,40	2,70
FEFL	310	17,58	3,88	6,00	31,30
FLFL	310	48,32	5,44	31,20	65,10
RUESPE	310	2,20	0,41	1,13	3,53
AUSSLA	309	79,81	2,28	73,15	86,42
TROPFSAF	310	1,49	0,72	0,40	4,30
KOCH_V	310	24,24	2,02	14,30	28,40

RAHM	138	2,91	0,71	1,00	5,00
SCHINK	138	3,21	0,64	2,00	5,00

Die Fundamente wurden vorne und hinten beurteilt. Alle Bewertungen konnten zwischen 1 und 5 liegen, es wurden in dieser Population jedoch keine Tiere mit den niedrigsten Scores beobachtet. Die Klauen der Tiere wurden ebenfalls eher im guten Bereich eingeordnet, dies war im Hinblick auf das Alter der verwendeten Tier durchaus zu erwarten (Daten hier nicht aufgeführt). Zusätzlich zu den Merkmalen der Fundamentmerkmale aus der linearen Beschreibung wurden ebenfalls die Proben der Histologie in ein Bewertungsschema eingeordnet. Die Proben wurden mit einem Durchschnitt von 1,78 bis 2,59 gescort, dies zeigt dass nur wenige Tiere degradierte Knorpel hatten, der OC Anteil war also sehr gering (Durchschnitt 8,21). Ein Überblick über die Ergebnisse der Einordnung der Bewertung der histologischen Schnitte und der Knochenabmessungen ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Überblick über die Bewertung der histologischen Schnitte und der Knochenabmessungen; dargestellt die Anzahl beobachteter Tiere (n), der Mittelwert (x), Standardabweichung (Std), sowie Minimum (min) und Maximum (max)

Merkmal	n	x	Std	Min	Max
VLC	278	1,78	0,78	1,00	4,00
HLC	274	1,98	0,84	1,00	4,00
VLK	279	1,82	0,95	1,00	4,00
HLK	277	2,59	1,09	1,00	4,00
OC	237	8,21	1,87	4,00	13,00
BMD	280	0,95	0,08	0,69	1,16
BMC	280	66,40	7,01	45,53	87,36
BAREA	291	69,62	5,25	55,91	84,64
BMD_A	42	0,58	0,06	0,49	0,70
BMD_B	42	1,11	0,16	0,87	1,80
BMD_G	42	0,98	0,12	0,80	1,50
BMC_A	42	9,45	1,40	7,00	12,61
BMC_B	42	61,15	7,06	49,46	77,96
BMC_G	42	70,60	8,24	56,98	90,18
AREA_A	42	16,23	1,47	12,81	19,15
AREA_B	42	56,59	3,54	47,85	62,23
AREA_G	42	72,82	4,04	64,66	80,96
FUND_V	138	3,94	0,65	3,00	5,00
FUND_HI1	138	3,42	0,54	3,00	5,00
FUND_HI2	138	3,36	0,48	3,00	4,00

Die Knochenabmessungen waren, wie erwartet, positiv zu den Gewichtsmerkmalen korreliert wie beispielsweise BMD zum Schlachtgewicht (0,39); BMC zur Schlachtkörperlänge und Endgewicht (0,58 und 0,65). Beide Merkmale BMD und BMC waren ebenfalls positiv mit der Fleischfläche korreliert (0,31). Eine mittlere negative Korrelation wurden zu den Fleischqualitätsmerkmalen beobachtet z.B. BMD zum Kochverlust (-0,22). und eine negative Korrelation des BMC_A zu der Leitfähigkeit des Kotelett nach der Schlachtung (-0,40). Die Fundamentbeschreibungen waren zu keinem anderen Merkmale hoch korreliert, geringe Korrelationen wurden zu den histologischen Scores gefunden, beispielsweise Fundament vorne zu HLK (0,13) oder auch den Knochenabmessungen wie Fundament hinten 1 zu BMD (0,23).

Tabelle 6: Übersicht über die Spearmanschen Korrelationskoeffizienten

	VLC	HLC	VLK	HLK	OC	BMD	BMC	BAREA	FUND_V	FUND_HI1	FUND_HI2
VLC	1	0,11	0,23	-0	0,52	0,01	0,07	0,07	0,11	0,05	0,01
HLC	0,11	1	0,15	-0,1	0,48	0,02	0,02	-0	0,12	-0	-0,2
VLK	0,23	0,15	1	-0,1	0,57	-0,1	0,07	0,16	-0	-0,1	-0,1
HLK	-0	-0,1	-0,1	1	0,49	0,07	-0	-0,1	0,13	0,03	-0
OC	0,52	0,48	0,57	0,49	1	-0,1	-0	0,01	0,12	-0	-0,1
BMD	0,01	0,02	-0,1	0,07	-0,1	1	0,68	-0,1	-0	0,23	0,13
BMC	0,07	0,02	0,07	-0	-0	0,68	1	0,59	-0,1	0,14	0,12
BAREA	0,07	-0	0,16	-0,1	0,01	-0,1	0,59	1	-0	-0,1	-0
FUNDV	0,11	0,12	-0	0,13	0,12	-0	-0,1	-0	1	0,27	-0
FUNDHI1	0,05	-0	-0,1	0,03	-0	0,23	0,14	-0,1	0,27	1	0,12
FUNDHI2	0,01	-0,2	-0,1	-0	-0,1	0,13	0,12	-0	-0	0,12	1
GEBKG	0,05	0,02	0,09	-0,1	-0	-0,1	-0,1	-0	0,11	0,06	0,16
ABSKG	-0	-0,1	-0,2	-0	-0,2	-0,1	0,09	0,15	0,1	0,07	0,1
ENDKG	-0,1	-0	0,02	-0	-0,1	0,36	0,62	0,41	-0,1	0,08	0,1
FVW105	-0	-0,1	0,07	-0,1	-0	-0	0,09	0,14	-0	0,17	0,12
SLAKG	-0,1	-0,1	0,06	-0	-0,1	0,39	0,65	0,41	-0,1	0,04	0,13
LAENGE	-0,1	-0,1	0,01	-0,1	-0,1	0,26	0,58	0,52	-0,1	0,02	0,12
OPTO	-0,1	-0	-0,1	0,02	-0	-0	-0,1	0	0,05	-0	-0,1
BAUCH	0,01	-0	-0,1	-0	-0,1	-0,1	-0,2	0,01	-0	-0,1	-0
PH24KO	-0,2	-0,1	-0,1	0,01	-0,1	-0,1	-0,1	-0	0,04	-0,1	-0
PH24SI	-0,1	-0,1	-0,1	0,03	-0,1	0,03	-0	-0	0,05	-0,1	-0,2
PH1KO	-0,1	-0,1	0	-0	-0,1	-0	0	0,06	0,17	0,01	-0

LF1KO	-0,1	-0	-0,1	0,04	-0,1	0,02	-0	-0	-0	0,01	-0
LF24KO	-0,1	-0,1	-0,1	0,08	-0,1	0,06	0,02	-0,1	-0	-0	0,05
LF24SI	0,06	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	-0	-0	-0	-0	0,09	0,01
FEFL	-0	0,02	0,09	0,07	0,07	0,31	0,31	0,05	0,08	0,1	0,03
FLFL	-0,1	-0,1	-0	0,08	-0,1	0,09	0,17	0,11	-0,1	0,01	0,12
ABSTGZ	0,05	0,01	-0,1	0,04	-0	0,05	0,21	0,2	0,08	0,06	0,11
TROPF	-0,1	-0,1	-0	0	-0,1	0,01	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1	0,05
RAHM	0,19	-0,1	0,07	0	0,08	-0,1	-0,2	-0,1	-0,1	-0,1	-0,1

3.2 Kartierung und Informationsgehalt der Marker

Über alle 18 Autosomen des Schweins wurden die im Folgenden aufgeführten Marker typisiert. Angegeben sind jeweils das Chromosom, die Anzahl der ausgewählten Marker in Klammern sowie die Marker mit den relativen Distanzen in Kosambi cM zwischen den Markern. Die hier aufgeführten relativen Markerabstände wurden mit den Genotypen der Tieren der DUPI Population berechnet.

SSC1 (4) SW1515-38,2-SW1851-49,9-S0155-64,9- SW1301
 SSC2 (4) SW2443-100-SW240-30,1-SW834-16,4-S0226
 SSC3 (4) SW72-100,6-S0164-23,9-SW2570-33,1-S0002
 SSC4 (4) S0227-100-S0001-33-S0214-49,6-S0097
 SSC5 (9) ACR-3,2-SW413-39,5-SW1482-20,7-SWR453-28,9-S0092-19,0-S0005-100,2-SW1987 39,4-IGF1-100,2 SW967
 SSC6 (8) S0035-45,5-S0087-10,8-SW1067-7,1-SW193-2,1-S0300-29,2-S0220-18,7-S0059-17,3-S0003
 SSC7 (6) S0025-31,2-S0064-100-S0102-14,1-SW175-31,9-S0115-36,2-S0101
 SSC8 (4) SW2611-65,5-S0086-17,8-S0144-29,8-SW61
 SSC9 (5) SW21-27-SW911-26,1-SW54-18,3-S0109-25,6-S0295
 SSC10 (3) SW830-76,1-S0070-85,6-SWR67
 SSC11 (4) SW2008-45,7-S0071-20,8-S0009-32,0-SW703
 SSC12 (3) SW2490-68,5-SW874-85,6-SW605
 SSC13 (4) S0219-56,4-SW344-31,3-SW398-28,2-S0289
 SSC14 (3) SW857-46,5-S0007-46,3-SWC27
 SSC15 (4) S0355-38,0-SW1111-47,0-SW936-50,9-SW1119
 SSC16 (3) S0111-70,7-S0026-37,3-S0061
 SSC17 (3) SW335-38,0-SW840-96,3-SW2431
 SSC18 (4) SW1808-7,9-SW1023-84,1-SW787-41,1-SWR414

Neben den relativen Abständen wurden ebenfalls die Informationsgehalte der Marker anhand der Heterozygotie sowie des PIC Wertes berechnet. In der folgenden Tabelle 7 sind die Marker, ihre Lage innerhalb des Genoms, die Anzahl Allele sowie die weiteren Parameter der Heterozygotie aufgeführt.

Tabelle 7: Informationsgehalt der verwendeten Mikrosatellitenmarker, Informationsgehalte spiegeln sich wieder in den Werte der Heterozygotie (HET) und PIC

Marker	SSC	Allele	HET	PIC	Allelfrequenzen
S0155		6	0,676	0,609	0,008; 0,012; 0,362; 0,367; 0,01; 0,24
SW1301	1	6	0,714	0,667	0,039; 0,056; 0,021; 0,411; 0,256; 0,217
SW1515		8	0,642	0,58	0,027; 0,016; 0,021; 0,002; 0,469; 0,362; 0,051; 0,051
SW1851		8	0,712	0,669	0,008; 0,162; 0,008; 0,107; 0,245; 0,024; 0,436; 0,011
S0226		7	0,792	0,761	0,257; 0,262; 0,071; 0,233; 0,037; 0,108; 0,032
SW240	2	8	0,751	0,715	0,062; 0,374; 0,286; 0,097; 0,08; 0,088; 0,005; 0,008
SW2443		5	0,597	0,535	0,018; 0,269; 0,154; 0,005; 0,554
SW834		9	0,85	0,832	0,156; 0,179; 0,038; 0,18; 0,099; 0,055; 0,005; 0,196; 0,092
S0002		7	0,792	0,76	0,167; 0,013; 0,217; 0,007; 0,11; 0,28; 0,206
S0164	3	10	0,769	0,738	0,339; 0,045; 0,07; 0,081; 0,002; 0,01; 0,052; 0,101; 0,299; 0,002
SW2570		6	0,726	0,68	0,012; 0,006; 0,153; 0,39; 0,248; 0,191
SW72		3	0,587	0,518	0,555; 0,276; 0,169
S0001		5	0,704	0,657	0,088; 0,247; 0,436; 0,039; 0,19
S0097	4	8	0,758	0,718	0,02; 0,297; 0,017; 0,314; 0,09; 0,02; 0,214; 0,029
S0214		6	0,705	0,655	0,147; 0,097; 0,4; 0,012; 0,022; 0,322
S0227		3	0,066	0,064	0,966; 0,002; 0,032
IGF1	5	8	0,737	0,696	0,004; 0,011; 0,207; 0,22; 0,394; 0,035; 0,123; 0,005
S0005		16	0,844	0,826	0,002; 0,009; 0,175; 0,002; 0,032; 0,081; 0,079; 0,024; 0,017; 0,161; 0,005; 0,257; 0,003; 0,137; 0,015; 0,003

SW1482	4	0,69	0,639	0,444; 0,264; 0,154; 0,138
SW967	10	0,624	0,589	0,569; 0,001; 0,015; 0,023; 0,001; 0,106; 0,001; 0,147; 0,001; 0,136
S0003	7	0,763	0,728	0,198; 0,014; 0,221; 0,361; 0,057; 0,027; 0,121
S0035	5	0,694	0,633	0,253; 0,047; 0,354; 0,339; 0,007
S0059	5	0,433	0,399	0,159; 0,01; 0,732; 0,069; 0,028
S0087	3	0,504	0,388	0,438; 0,551; 0,011
S0220	5	0,709	0,657	0,154; 0,391; 0,304; 0,003; 0,149
S0300	4	0,644	0,571	0,456; 0,249; 0,294; 0,001
SW1067	6	0,697	0,646	0,066; 0,009; 0,176; 0,032; 0,291; 0,427
SW193	3	0,187	0,173	0,897; 0,011; 0,092
S0025	8	0,578	0,512	0,025; 0,008; 0,568; 0,073; 0,305; 0,001; 0,003; 0,016
S0064	10	0,742	0,703	0,299; 0,01; 0,009; 0,001; 0,107; 0,001; 0,025; 0,367; 0,141; 0,039
S0101	4	0,647	0,578	0,048; 0,401; 0,138; 0,413
S0102	7	0,783	0,754	0,173; 0,117; 0,355; 0,093; 0,038; 0,033; 0,191
S0115	8	0,799	0,769	0,2; 0,016; 0,161; 0,005; 0,003; 0,281; 0,165; 0,168
SW175	4	0,715	0,661	0,356; 0,248; 0,101; 0,295
S0086	4	0,546	0,447	0,414; 0,054; 0,003; 0,529
S0144	4	0,191	0,181	0,07; 0,003; 0,896; 0,031
SW2611	5	0,696	0,643	0,021; 0,07; 0,203; 0,287; 0,418
SW61	10	0,837	0,818	0,117; 0,058; 0,264; 0,038; 0,047; 0,175; 0,026; 0,195; 0,03; 0,05
S0109	4	0,347	0,291	0,002; 0,004; 0,779; 0,215
S0295	3	0,613	0,542	0,281; 0,517; 0,201
SW21	3	0,411	0,373	0,745; 0,106; 0,149
SW54	4	0,676	0,618	0,305; 0,177; 0,44; 0,078

SW911		6	0,698	0,65	0,072; 0,011; 0,165; 0,438; 0,038; 0,276
S0070		6	0,698	0,653	0,061; 0,079; 0,121; 0,279; 0,014; 0,446
SW830	10	5	0,668	0,617	0,238; 0,482; 0,083; 0,189; 0,008
SWR67		2	0,488	0,369	0,422; 0,578
S0009		4	0,669	0,603	0,033; 0,309; 0,425; 0,234
S0071	11	8	0,695	0,644	0,298; 0,06; 0,17; 0,427; 0,04; 0,002; 0,001; 0,001
SW2008		4	0,562	0,503	0,006; 0,6; 0,211; 0,183
SW703		3	0,594	0,507	0,425; 0,114; 0,461
SW2490		8	0,663	0,62	0,512; 0,199; 0,004; 0,055; 0,173; 0,05; 0,004; 0,003
SW605	12	4	0,324	0,3	0,008; 0,811; 0,122; 0,059
SW874		7	0,677	0,623	0,001; 0,107; 0,32; 0,014; 0,008; 0,105; 0,445
S0219		3	0,557	0,47	0,084; 0,548; 0,367
S0289	13	6	0,716	0,675	0,103; 0,246; 0,058; 0,014; 0,433; 0,145
SW344		7	0,708	0,667	0,015; 0,033; 0,45; 0,009; 0,135; 0,126; 0,233
SW398		10	0,768	0,733	0,109; 0,047; 0,001; 0,281; 0,09; 0,001; 0,001; 0,338; 0,13; 0,001
S0007		11	0,827	0,806	0,185; 0,006; 0,001; 0,029; 0,037; 0,034; 0,052; 0,137; 0,051; 0,206; 0,262
SW857	14	9	0,735	0,706	0,004; 0,07; 0,098; 0,007; 0,08; 0,179; 0,114; 0,446; 0,002
SWC27		4	0,239	0,228	0,054; 0,868; 0,064; 0,014
S0355		5	0,572	0,494	0,545; 0,006; 0,354; 0,029; 0,066
SW1111	15	8	0,779	0,746	0,007; 0,033; 0,059; 0,324; 0,006; 0,226; 0,151; 0,192
SW1119		10	0,659	0,591	0,001; 0,004; 0,005; 0,009; 0,008; 0,001; 0,414; 0,001; 0,191; 0,365
SW936		10	0,502	0,479	0,007; 0,053; 0,014; 0,055; 0,118; 0,001; 0,001; 0,689; 0,061; 0,001
S0026	16	8	0,62	0,551	0,367; 0,053; 0,491; 0,04; 0,014; 0,009; 0,02; 0,006
S0061		5	0,563	0,518	0,123; 0,616; 0,198; 0,058; 0,006

S0111	6	0,769	0,73	0,28; 0,26; 0,023; 0,03; 0,189; 0,219	
SW2431	3	0,519	0,464	0,159; 0,194; 0,647	
SW335	17	3	0,656	0,582	0,251; 0,368; 0,381
SW840	2	0,237	0,209	0,137; 0,863	
SW1023	5	0,469	0,443	0,711; 0,064; 0,101; 0,105; 0,019	
SW787	6	0,7	0,659	0,199; 0,462; 0,042; 0,044; 0,199; 0,053	
SWR414	4	0,639	0,579	0,501; 0,055; 0,156; 0,287	
ACR	14	0,765	0,747	0,001; 0,001; 0,003; 0,018; 0,016; 0,091; 0,07; 0,436; 0,085; 0,035; 0,129; 0,046; 0,013; 0,055	
SW1808	18	7	0,67	0,625	0,492; 0,034; 0,057; 0,023; 0,052; 0,065; 0,276
SW413	5	0,556	0,461	0,038; 0,516; 0,007; 0,419; 0,02	
SWR453	4	0,479	0,408	0,016; 0,04; 0,279; 0,664	
SW1987	9	0,463	0,418	0,002; 0,001; 0,208; 0,004; 0,001; 0,701; 0,037; 0,014; 0,032	
S0092	5	0,624	0,552	0,025; 0,041; 0,383; 0,47; 0,081	

3.3 QTL Analyse

Verschiedene QTL konnten für die Bewertung der Fundamentmerkmale, Knochenabmessung und Knorpelklassifizierung detektiert werden. Eine Übersicht über die Ergebnisse ist in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Übersicht über die Ergebnisse der QTL Analyse (100 Iterationen über alle Autosomen)

SSC	Merkmale	Signifikanz Kriterien			Position		
		F-value	LR	LOD	Marker 1	Marker 2	relativ
1	r_VLK	4,41	8,67	1,88	SW1851	S0155	73cM
1	r_BMC	3,91	7,71	1,68	S0155	SW1301	131cM
1	r_FUND_HI1	3,78	7,35	1,6	-	SW1515	0cM
2	r_HLK2	4,85	9,54	2,07*	SW2443	SW240	1cM
2	r_FUND_HI1	4,88	9,41	2,04*	SW834	S0226	130cM
3	r_BAREA	4,9	9,64	2,09*	SW72	S0164	125cM
3	r_BMD	4,6	9,06	1,97*	SW72	S0164	80cM
4	r_BAREA	3,83	7,56	1,64	S0001	S0214	170cM
5	r_BMC	5,16	10,1	2,2*	S0005	SW1987	177cM
5	r_BMD	5	9,83	2,13*	ACR	SW413	2cM
6	r_VLC	3,89	7,67	1,67	S0035	S0087	3cM
7	r_BMD	5,09	10	2,17*	S0025	S0064	0cM
7	r_VLC	3,74	7,39	1,6	SW175	S0115	166cM
7	r_BAREA	3,54	7	1,52	SW175	S0115	169cM
8	r_BMD	3,8	7,5	1,63	SW2611	S0086	29cM
8	r_BMC	3,4	6,71	1,46	SW2611	S0086	6cM
9	r_HLK	4,48	8,81	1,91*	SW21	SW54	27cM
10	r_HLK	4,29	8,44	1,83	S0070	SWR67	156cM
10	r_VLK	3,73	7,36	1,6	SW830	S0070	0cM
10	r_VLC	3,52	6,94	1,51	SW830	S0070	33cM
11	r_VLK	4,42	8,7	1,89*	S0071	S0009	72cM
12	r_FUND_HI1	5,13	9,87	2,14*	SW2490	SW874	31cM
13	r_VLC	4,16	8,2	1,78	S0219	SW344	15cM
14	r_VLC	4,1	8,08	1,76	SW857	S0007	25cM
14	r_VLK	3,5	6,91	1,5	SW857	S0007	0cM
17	r_BMC	3,39	6,69	1,45	SW335	SW840	38cM
18	r_FUND_HI1	4,6	8,89	1,93*	SW1808	SW1023	0cM
18	r_BAREA	4,09	8,07	1,75	SW787	SWR414	133cM

*signifikant $p < 0,05$; ** hoch signifikant $p < 0,01$

Die signifikanten Ergebnisse wurden erneut geprüft, um die Ergebnisse statistisch abzusichern. Dazu wurden die Ergebnisse mit chromosom-weiten 10000 Iterationen überprüft. Die folgenden suggestiven QTL Regionen wurden daraufhin verifiziert (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht über die bestätigten QTL (10000 Iterationen)

SSC	Merkmale	Signifikanz Kriterien			Position			Signifikanzschw ellen	
		F-value	LR	LOD	Marker 1	Marker 2	relativ	5%	1%
1	r_VLK	4,41	8,67	1,88	SW1851	S0155	73cM	4.85	6.68
2	r_FUND_HI1	4,88	9,41	2,04*	SW834	S0226	130cM	4.32	6.16
2	r_HLK	4,85	9,54	2,07*	SW2443	SW240	1cM	4.06	6.03
3	r_BAREA	4,9	9,64	2,09*	SW72	S0164	125cM	4.71	6.35
3	r_BMD	4,6	9,06	1,97	SW72	S0164	80cM	4.68	6.5
5	r_BMC	5,16	10,1	2,2*	S0005	SW1987	177cM	5.43	7.33
5	r_BMD	5	9,83	2,13*	ACR	SW413	2cM	5.45	7.63
7	r_BMD	5,09	10	2,17*	S0025	S0064	0cM	4.94	6.88
9	r_HLK	4,48	8,81	1,91*	SW21	SW54	27cM	4.51	6.28
10	r_HLK	4,29	8,44	1,83	S0070	SWR67	156cM	4.15	5.94
11	r_VLK	4,42	8,7	1,89*	S0071	S0009	72cM	4.62	6.58
12	r_FUND_HI1	5,13	9,87	2,14*	SW2490	SW874	31cM	4.56	6.44
18	r_FUND_HI1	4,6	8,89	1,93*	SW1808	SW1023	0cM	4.55	6.48

Für die Fundamentbewertungen wurden Kopplungsregionen bei 130 cM auf SSC2 (FUND_HI1), bei 31 cM auf SSC12 (FUND_HI1) und auf SSC18 bei 0 cM (FUND_HI1) gefunden. Die Ergebnisse der Kopplungskartierung auf SSC1 zeigten für das Merkmal FUND_HI1 ebenfalls hohe, jedoch keine signifikanten LOD Scores (1,68). Die drei suggestiven ($p < 0,05$) QTL für die Bewertung des hinteren Fundamentes konnten ebenfalls mit 10000 chromosomen-weiten Iterationen bestätigt werden. Danach lag der Peak der Kopplungsregion auf SSC2 zwischen den Markern SW834 und S0226 mit einem mit Hilfe der Bootstrap Methode errechneten 95%-Konfidenzintervall von 118,5 bis 146 cM und einem LOD Score von 2,04. Der QTL auf SSC12 (LOD Score 2,14) lag innerhalb eines 95%-Konfidenzintervalls zwischen 0 - 154 cM mit einer durchschnittlichen QTL Position von 31 cM. Auch der QTL für die Bewertung des hinteren Fundamentes auf dem distalen Ende von SSC18 wurde mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0 - 133 cM bestätigt (LOD Score 1,93).

Auf SSC3, 5 und 7 wurden QTL für die Knochenabmessung gefunden, wobei für zwei verschiedenen Merkmale des Knochenminerals (Dichte, Masse) QTL in verschiedenen Regionen um 2 und 177 cM auf SSC5 gefunden wurden. Dies weist darauf hin, dass Dichte

und Masse des Knochens von verschiedenen Genen kontrolliert werden. Der QTL auf SSC3 für BMD wurden zwischen den Markern SW72 und SW2570 detektiert. Für die Fläche des Knochenminerals (BAREA) wurde ein Peak bei etwa 125 cM auf SSC3 und ein LOD Score von 1,75 bei 133 cM auf SSC18 detektiert. Die Überprüfung der Ergebnisse mit mehr chromosomen-weiten Iterationen bestätigte die QTL Regionen auf SSC3 zwischen den Markern SW72 und S0164 für die Merkmale der Knochenfläche (BAREA) (95%-Konfidenzintervall 0 - 142,5 cM) und Knochendichte (BMD) (95%-Konfidenzintervall 23 - 157 cM) mit LOD Scores von jeweils 2,09 und 1,97. Es konnte ebenfalls bestätigt werden, dass das Chromosome 5 mögliche Kandidatengene für die Knochenmerkmale enthält, die QTL für die Knochenmineralmasse mit einem Peak zwischen den Markern S0005 und SW1987 (95%-Konfidenzintervall 1 - 323 cM, durchschnittliche QTL Position 177cM) sowie der QTL für die Knochendichte am distalen Ende des Chromosoms (95%-Konfidenzintervall 0 - 328 cM, durchschnittliche QTL Position 2 cM) konnten mit LOD Scores über 2 bestätigt werden. Weiterhin wurde der QTL für die Knochendichte am distalen Ende von SSC7 mit einem LOD Score von 2,17 bestätigt (95%-Konfidenzintervall 0 - 213 cM).

Für die Merkmale aus der Einordnung der histologischen Schnitte wurden QTL auf SSC2 (HLK) und SSC9 (HLK), sowie ein Peak auf SSC1 (VLK) und SSC11 (VLK) welche jedoch nur das 1% Signifikanzniveau des F-Wertes überschritten, gefunden. Der Peak für das Vorderlauf Kondylen auf SSC1 hatte ein 95%-Konfidenzintervall von 0 - 153 cM mit einem Peak bei 73 cM, auf SSC11 lag das 95%-Konfidenzintervall zwischen 32 - 92 cM. Auch für die histologische Klassifizierung des Hinterlauf Kondylen wurden zwei suggestive QTL auf SSC2 (LOD Score 2,07) und SSC9 (LOD Score 1,91) mit 95%-Konfidenzintervallen von jeweils 0 - 146 cM und 14 - 48 cM gefunden.

Neben dem QTL Modell zur Detektion von einer Kopplungsregion wurde ebenfalls die Option des 2-QTL Modells im Programm QTL Express gewählt. Mit Hilfe der 2-QTL Analyse wurden zwei QTL auf den in Tabelle 10 dargestellten Chromosomenregionen detektiert.

Tabelle 10: Übersicht über einige Ergebnisse der QTL Analyse mit dem 2-QTL Model

SSC	trait	position		F 4 df (2 vs 0 QTL)	F 2df (2 vs 1 QTL)	sign	
		QTL1	QTL2			LR	LOD
1	r_BMC	89cM	90cM	2,27	0,63	8,95	1,94
1	r_BMD	134cM	0cM	3	2,72	11,8	2,56
1	r_FUND_HI1	153cM	0cM	3,28	2,67	12,58	2,73
1	r_VLK	88cM	0cM	3,36	2,28	13,17	2,86
2	r_BMC	121cM	133cM	3,23	4,17	12,66	2,75
2	r_FUND_HI1	1cM	124cM	2,64	0,44	10,22	2,22
2	r_HLK	122cM	131cM	3,27	1,67	12,82	2,79

3	r_BAREA	123cM	124cM	3,14	1,36	12,32	2,68	
3	r_BMD	122cM	126cM	5,29	5,82	20,45	4,44	*
3	r_VLC	10cM	26cM	2,37	2,08	9,36	2,03	
3	r_VLK	124cM	125cM	2,21	2,98	8,72	1,89	
4	r_BAREA	26cM	166cM	2,76	1,67	10,85	2,36	
4	r_Fund_V	50cM	53cM	2,26	1,16	8,81	1,91	
5	r_BAREA	63cM	173cM	2,16	1,48	8,54	1,85	
5	r_BMC	1cM	182cM	4,74	4,21	18,4	4,0	*
5	r_BMD	2cM	294cM	3,02	1,04	11,86	2,58	
5	r_Fund_V	154cM	300cM	2,47	1,63	9,58	2,08	
5	r_VLK	54cM	177cM	2,13	1,74	8,42	1,83	
6	r_BAREA	57cM	70cM	2,57	3,57	10,13	2,2	
6	r_FUND_HI1	57cM	58cM	3,77	5,3	14,36	3,12	
6	r_Fund_V	57cM	70cM	2,89	4,42	11,14	2,42	
6	r_VLC	3cM	95cM	3,38	2,82	13,24	2,88	
7	r_BAREA	35cM	121cM	2,88	2,19	11,34	2,46	
7	r_BMC	26cM	188cM	2,27	1,97	8,98	1,95	
7	r_BMD	192cM	0cM	4,49	3,78	17,45	3,79	*
7	r_FUND_HI1	86cM	174cM	2,16	2,12	8,44	1,83	
7	r_HLC	9cM	10cM	2,19	2,2	8,63	1,88	
7	r_HLK	116cM	143cM	3,82	5,31	14,91	3,24	
7	r_VLC	140cM	150cM	2,51	1,27	9,89	2,15	
8	r_BMC	6cM	113cM	2,3	1,19	9,07	1,97	
8	r_BMD	4cM	78cM	2,42	1,04	9,56	2,08	
8	r_HLC	1cM	0cM	2,42	2,61	9,53	2,07	
9	r_FUND_HI1	53cM	55cM	4,28	5,32	16,19	3,52	
9	r_HLC	48cM	96cM	2,94	2,69	11,53	2,51	
9	r_HLK	32cM	51cM	2,56	0,65	10,08	2,19	
9	r_VLC	51cM	54cM	3,08	3,57	12,11	2,63	
9	r_VLK	27cM	60cM	2,97	3,02	11,67	2,53	
10	r_HLK	40cM	41cM	2,34	0,41	9,24	2,01	
10	r_VLK	11cM	19cM	2,31	0,9	9,13	1,98	
11	r_BMC	44cM	47cM	2,55	2,68	10,1	2,18	
11	r_FUND_HI1	46cM	69cM	2,39	2,8	9,3	2,02	
11	r_VLK	61cM	64cM	2,86	1,29	11,2	2,44	
12	r_BAREA	9cM	0cM	2,75	2,21	10,8	2,35	
12	r_FUND_HI1	56cM	88cM	4,28	3,25	16,2	3,52	
13	r_VLC	19cM	88cM	2,67	1,17	10,5	2,28	

14	r_BMC	55cM	0cM	2,38	2,28	9,38	2,04
14	r_FUND_HI1	25cM	28cM	2,34	2,37	9,09	1,97
14	r_VLC	1cM	0cM	2,52	0,95	9,95	2,16
15	r_FUND_HI1	34cM	47cM	2,56	2,99	9,93	2,16
15	r_FUND_HI2	69cM	126cM	3,46	3,52	13,2	2,87
15	r_Fund_V	18cM	78cM	3,51	1,63	13,4	2,91
15	r_HLK	100cM	133cM	2,4	1,9	9,45	2,05
16	r_Fund_V	46cM	108cM	3,65	5	13,9	3,03
16	r_VLK	3cM	4cM	2,24	1,79	8,86	1,92
17	r_BMC	49cM	51cM	2,48	1,56	9,79	2,13
17	r_HLK	46cM	0cM	2,67	3,74	10,5	2,28
18	r_BAREA	8cM	133cM	2,97	1,83	11,7	2,54
18	r_BMC	6cM	8cM	2,19	1,91	8,65	1,88
18	r_FUND_HI1	5cM	6cM	3,85	2,96	14,7	3,18

*suggestive 2-QTL (LOD Score >3,8) **signifikante 2-QTL (LOD Score >4,6)

4. Diskussion

4.1 Einfluß der Fundamentmerkmale auf Schlachtkörper und Wachstum

In Untersuchungen in verschiedenen Ländern wurden Beweise gefunden, dass Arthritis die häufigste Ursache für eine teilweise Kontamination der Schlachtkörper bei Schlachtschweinen ist und daher einen erheblichen Einfluss auf das Wohlbefinden und die Gesundheit von Schweinen und somit der Wirtschaftlichkeit der Industrie (Tuovinen *et al.* 1994; Buttenschon *et al.* 1995; Heinonen *et al.* 2007). Osteochondrose verursacht klinische Anzeichen welche nur schwer von anderen Ursachen für Lahmheit zu unterscheiden sind, während Arthritis bei Schlachtschweinen von Bakterien verursacht wird (Hill 1990; Hariharan *et al.* 1992; Buttenschon *et al.* 1995). Beide Erkrankungen verlaufen oft parallel und symmetrisch und werden häufig im distalen Humerus und Femur beobachtet (Kirk *et al.* 2008).

Weiterhin hat das Beinschwächesyndrom einen negativen Einfluss auf die Langlebigkeit von Sauen (Jorgensen 2000a). In der Untersuchung wurden Tiere mit 6 Monaten aufgrund ihrer Fundamente selektiert, später zeigten viele dieser Tiere Beinprobleme wie Lahmheit, die Langlebigkeit war aufgrund dessen signifikant verändert. Die Untersuchung der genetischen Einflussfaktoren auf die Fundamente wie in unserer Studie könnte somit einen positiven Beitrag zur Verbesserung des Fundamentes sowie der Langlebigkeit von Schweinen leisten.

In einer Untersuchung in Dänemark wurde festgestellt, dass bei Ebern der Dänischen Landrasse Parameter der radiologischen und pathologischen Bewertungen hoch signifikant korreliert sind (Jorgensen *et al.* 1995). Dies ist nur bedingt in Übereinstimmung mit den Ergebnissen bei den Tieren der DUPI Population, bei denen nur zum Teil geringe Korrelationen zwischen den Knochenabmessungen und den Knorpelklassifizierungen gefunden wurden. Es ist jedoch ein möglicher Indikator dafür, dass die radiographische Untersuchung zur Diagnose von OC beim Schwein verwendet werden könnte. Die Korrelationen innerhalb der Knorpelklassifizierung waren gering, dies lässt eine relative lokale Verteilung der Läsionen des Knorpels vermuten.

4.2 Kartierung und Informationsgehalt der Marker

Die Anordnung der Markern innerhalb des Genoms entsprach denen anderer Publikationen und der publizierten Markerdatenbanken (Hu *et al.* 2007; Liu *et al.* 2007). Die relativen Abstände wichen nur gering von denen anderer Publikationen ab. Hinsichtlich der Informationsgehalte der Marker lagen die meisten in dieser Untersuchung verwendeten Mikrosatellitenmarker im Bereich dessen, was vorausgesetzt wird, ohne dass die fehlende Heterozygotie dazu führt, dass Kopplungen nicht detektiert werden können. Für drei Marker lag der PIC Wert jedoch so gering, dass diese Marker in zukünftigen Analysen besser ausgeschlossen werden sollten, unter anderem Marker S0227 auf SSC3, Marker SW193 auf SSC6 und Marker S0144 auf SSC8 zeigten keine ausreichende Informativität.

4.3 QTL Analyse

Für verschiedene chromosomale Regionen konnte eine suggestive und signifikante Kopplung zu verschiedenen Merkmalen der Fundamentbeurteilung nachgewiesen werden. Die Ergebnisse lassen annehmen, dass unterschiedliche kausative Mutationen, Knochenabmessung, Fundament Beurteilung und Knorpelklassifizierung beeinflussen. Nur für sehr ähnliche Merkmale der Knochenmineraldichte in verschiedenen Bereichen der Skelettknochen wurden QTL in gleichen Regionen, beispielsweise auf SSC5 gefunden.

Die Klassifizierung von histologischen Knorpelschnitten wurde in dieser Untersuchung verwendet, da diese Merkmale die OC am besten beschreiben. QTL wurden auf on SSC1, 2, 9, 10 und 11 für diese Merkmale gefunden. In einer dänischen Studie wurden QTL auf SSC5, 13 und 15 gefunden (Andersson-Eklund *et al.* 2000). Die QTL für die Merkmale der Knochenabmessung auf dem SSC5 wurden in Übereinstimmung mit den Ergebnissen Andersson-Eklund *et al.* (2000) identifiziert. Die QTL auf SSC13 und SSC15 konnten nicht bestätigt werden. Weitere Kopplungsregionen wurden bereits für die Knochendimension auf SSC2, 4, 16 und 17, die in unserer Untersuchung nicht bestätigt werden konnten (Andersson-Eklund *et al.* 2000). QTL in der DUPI Population wurden für Knochenmineralfläche, -masse und -dichte auf SSC3, 5 und 7 identifiziert. Aber weitere Untersuchungen sind notwendig zur Bestätigung der Beziehung der verschiedenen Merkmale zueinander sowie der Analyse der möglichen Unterschiede zwischen der Entwicklung der verschiedenen Beschreibungen der Knochenmineralbeschreibung sowie der Fundament- und Knorpelbeurteilungen.

In den hier detektierten QTL Regionen konnten ebenfalls verschiedene Kandidatengene in den Regionen vom Schwein oder vergleichenden Regionen auf dem humanen Genom identifiziert werden. Eine Übersicht über die Gene ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Positionelle/ funktionelle Kandidatengene in den QTL Regionen

Gen	SSC	HSA	Funktion	
Fibroblast growth factor 6 (FGF6)	5q21		Einfluss auf Knochenentwicklung	Fiore et al. (2000)
Insulin growth factor 1 (IGF1)	5q24		Wachstum und Entwicklung, positiv korreliert mit BMD	Vestergaards et al. (1999)
Parathyroid-related protein (PTH1H)	5		Reguliert endochondralen Knochen	Philbrick et al. (1998)
chloride channel 1 (CLCN1)	18	7q35	Knochenentwicklung	Wu and Olson (2002)
collagen type 1 alpha 2 gen (COL1A2)	18	HSA7q2	Knochenentwicklung	Wallis et al. (1986)

5. Zusammenfassung

Gliedmaßenkrankungen machen in der heutigen Schweinehaltung einen großen Teil der Abgangsursachen aus und verursachen einen enormen wirtschaftlichen Schaden. Das Ziel dieser Untersuchung war die Untersuchung von Merkmalen der Knochenfestigkeit und darüber hinaus die Identifizierung von Regionen auf dem Schweinegenom welche diese beeinflussen. Diese Daten sollen somit zum einen die Möglichkeiten der phänotypischen Charakterisierung von Fundamentproblemen beziehungsweise von Osteochondrosis untersuchen, zum anderen eine mögliche Selektion gegen das BS-Syndrom mit Hilfe von genetischen Markern analysieren.

Zur Klärung dieser Problematik wurden Tiere einer Versuchspopulation, einer Kreuzung zwischen den beiden Vaterlinien Duroc × Pietrain verwendet. In dieser Population konnte zum einen eine relative Verteilung der Phänotypen aufgrund der Fleisch-/Wachstumsbetonung der Rassen erwartet werden, zum anderen eignet sich eine solche Kreuzung von divergenten Rassen sehr gut für die Identifizierung von Quantitativen Trait Loci (QTL). Über die analysierten Merkmale der Knochenstruktur hinaus, wurde ebenfalls der Einfluss von Mast-, Schlacht- und Fleischleistungsmerkmalen auf Fundamentbefunde untersucht. Diese Erkenntnisse sollen als Grundlage für die Identifikation von Kandidatengenomen dienen, um in Zukunft genetisch disponierte Gliedmaßenkrankungen mit einer markergestützten Selektion zu verringern.

Die pathohistologische Beurteilung erfolgte an Schnitten der proximalen und distalen Gelenkoberflächen von Humerus und Femur. Das verwendete Klassifizierungsschema wurde aus der Literatur abgeleitet wobei der ersten Klasse die Schnitte zugeordnet wurden, die keine pathohistologischen Veränderungen aufwiesen und die Schnitte mit hochgradig massiven Veränderungen mit Nekrosen und/ oder Verknöcherungszonen der höchsten Klasse zugeordnet wurden. Im Exterieur wiesen nur 18 % der beurteilten Tiere ein optimales Fundament vorne und 2% hinten auf. Die hinteren Fundamente der meisten Tiere wurden mit 3 (60 bis 64%) beurteilt, während die vorderen Fundamente meist mit 4 (58%) beurteilt wurden. In der pathohistologischen Beurteilung wurden bei allen Tieren Alterationen unterschiedlicher Schweregrade festgestellt. Die Knorpelschnitte der vorderen Gliedmassen der meisten Tiere wurden jedoch als gering degradiert beurteilt (Stufe 1 40% Stufe 2 zwischen 40 und 50%). Die Schnitte der hinteren Gliedmasse wurden jedoch als stärker degradiert bewertet (Stufe 2: 40% und 60%). Es konnten nur geringe bis mittlere Korrelationen zwischen den Fundamentbeurteilungen und den Scores für die histologischen Schnitte festgestellt werden.

Insgesamt wurden die Tiere der F0, F1 und F2 Generation der DUPI Population an 79 Mikrosatellitenmarkern typisiert. Die Lage und die relativen Abstände der Marker stimmten dabei mit publizierten Genkarten überein. Es wurde für die verschiedenen Kriterien der Fundamentbewertung QTL auf mehrere Chromosomen gefunden. Suggestive QTL (LOD

Score >1.9 , $p < 0.05$) wurden für die Fundamentbeurteilung der hinteren Fundamente auf SSC2, 12 und 18 gefunden. Für die Bewertungen der histologischen Schnitte des hinteren Kotyledon wurden Kopplungsregionen auf SSC2 und 9 gefunden. Die Identifizierung von QTL für die Knochenabmessungen zeigten mögliche Kandidatengene auf den Chromosomen 3 (Dichte und Fläche), 5 (Dichte und Masse) und 7 (Dichte).

Einige der gefundenen Regionen waren in Übereinstimmung mit publizierten Ergebnisse anderer QTL Studien. Es konnten ebenfalls verschieden positionelle und funktionelle Kandidatengene innerhalb einiger Kopplungsregionen identifiziert werden.

6. Schlussfolgerungen für die Umsetzung der Ergebnisse in die Praxis

Die Fundamentstabilität ist die Grundlage einer tiergerechten Schweinehaltung. Bis zu einem Viertel aller Ausfälle (in allen Betriebszweigen der Schweineerzeugung) sind auf Erkrankungen des Bewegungsapparates zurückzuführen. Häufig führen die Erkrankungen des Bewegungsapparates nur zu marginalen Leistungseinbußen in der Futteraufnahme und der Zunahme. Dies beeinträchtigt darüber hinaus ebenfalls das Wohlbefinden der Tiere. Das hier vorgestellte Projekt zielte auf die Verbesserung der Selektionsmöglichkeiten gegen das BS-Syndrom beim Schwein. Durch die damit verbundene Verbesserung des Gesundheitszustandes und der Robustheit der Tiere stellt diese Arbeit einen unmittelbaren Beitrag zur tiergerechten Schweineproduktion dar.

Aus den hier vorliegenden Ergebnissen kann geschlossen werden, dass verschiedene Parameter zur Beschreibung der Fundamentstabilität von Schweinen verwendet werden können. Der genetische Hintergrund ist wahrscheinlich sehr komplex, mehrere Gene scheinen für die verschiedenen Merkmale verantwortlich zu sein. Zukünftige Untersuchungen können auf die Selektion und Beurteilung der verschiedenen Merkmale zielen, um ein Merkmal als Hauptselektionskriterium für Osteochondrose zu identifizieren. Verschiedene Kandidatengene konnten in den hier gefundenen Kopplungsregionen anhand verschiedener Literaturquellen identifiziert werden. Weitere Studien sollten einige der positionellen und funktionellen Kandidatengene untersuchen, um deren Einfluss auf die Fundamentstabilität von Schweinen zu untersuchen. Da jedoch bisher nur wenige Untersuchungen zu der genetischen Grundlage des Fundamentes von Schweinen durchgeführt wurden, sind weitere Studien notwendig, um eine Umsetzung in die Praxis durchführen zu können.

7. Konsequenzen für evtl. weitere Forschungsaktivitäten

Die hier identifizierten Kopplungsregionen werden im Folgenden in ähnliche Arbeiten eingehen. Ein Projekt zur Detektion von Genen für verschiedene Fundamentparameter in unterschiedlichen Spezies und Populationen wurde im Rahmen der Fugato-plus Projektausschreibung genehmigt. Im Rahmen dieses Projektes werden Kandidatengene mit Hilfe von Expressionsstudien identifiziert und weiter charakterisiert. Somit sollen mögliche Marker identifiziert werden. Die hier vorliegenden Ergebnisse der QTL Kartierung in der DUPI Population können im Folgenden als Grundlage für die Identifizierung weiterer Gene dienen. Die hier aufgezeigten Ergebnisse konnten die Möglichkeit der Untersuchung der genetischen Grundlagen verschiedener Fundamentmerkmale zeigen.

8. Mitteilung über evtl. schützenswerte Nutzungsrechte

-

9. Liste über Veröffentlichungen

Christiane Theune (2008): Phänotypisierung von Schweinen einer F2-Ressourcenpopulation für molekulargenetische Untersuchungen zum Beinschwachesyndrom: histologische Klassifizierung von Knorpelstrukturen, Vergleich mit Exterieur- und Leistungsmerkmalen sowie mRNA Expressionsanalysen einzelner funktionaler Kandidatengene INAUGURAL-DISSERTATION Tierärztliche Hochschule Hannover

Chirawath Phatsara, Nopawan Rangkasenee, Watchara Laenoi, Elisabeth Jonas, Dawit Tesfaye, Heinz Juengst, Ernst Tholen, Helga Sauerwein, Karl Schellander Molecular genetic dissection of osteochondrosis and bone mineral traits in porcine limbs; ISAG meeting Amsterdam, The Netherlands 2008

10. Liste über Vorträge

-

11. Abstract

Leg problems are of special interest for pig breeding as they are associated with animal and performance losses; therefore, sustainable strategies for the establishment of limb disease free populations are necessary. For this reason, several research projects deal with gathering of leg unsoundness and identification of candidate genes to establish the prerequisites for those strategies. The aim of this study was to investigate traits of the bone stability and further identify region on the pig genome which influence these traits.

To study this topic, animals of an experimental F2 Duroc × Pietrain population were used. The front and rear fundamentals were observed at the alive animal, the bone mineral density, -weight, and -area were analyzed using X-ray. Further the pathological ratings of the histology samples were done using samples from humerus and femur. Additional all information about growth and meat quality were recorded.

In total animals of the F0, F1 and F2 generation of the DUPI population were genotyped using 79 microsatellite markers. The order and distance within the markers was found to be in accordance with published maps. Suggestive QTL (LOD Score >1.9, $p < 0.05$) were detected for the scoring of the rear fundamentals on SSC2, 12 and 18. For the scores from the histology of the rear cotyledon linkage regions were detected on SSC2 and 9. The identification of QTL for the bone mineral measurements showed possible candidate gene regions on SSC3 (density and area), 5 (density and weight) and 7 (density).

Some of the detected regions were found in accordance with published results of other QTL studies. Additional different positional and functional candidate genes could be identified within the linkage regions.

12. Kurzfassung

Gliedmaßenkrankungen machen in der heutigen Schweinehaltung einen großen Teil der Abgangsursachen aus und verursachen einen enormen wirtschaftlichen Schaden. Das Ziel dieser Untersuchung war die Untersuchung von Merkmalen der Knochenfestigkeit und darüber hinaus die Identifizierung von Regionen auf dem Schweinegenom welche diese beeinflussen. Diese Daten sollen somit zum einen die Möglichkeiten der phänotypischen Charakterisierung von Fundamentproblemen beziehungsweise von Osteochondrosis untersuchen, zum anderen eine mögliche Selektion mit Hilfe von genetischen Markern analysieren.

Zur Klärung dieser Problematik wurden Tiere einer Versuchspopulation, einer Kreuzung zwischen den beiden Vaterlinien Duroc × Pietrain verwendet. Die vorderen und hinteren Fundamente wurden am lebenden Tier beurteilt, die Knochenmineraldichte, -masse und -fläche mit einer Röntgenuntersuchung erfasst. Die pathohistologische Beurteilung erfolgte an Schnitten der proximalen und distalen Gelenkoberflächen von Humerus und Femur. Zusätzlich wurden die Mast- und Schlachtleistungsmerkmale der F2 Tiere erfasst.

Insgesamt wurden die Tiere der F0, F1 und F2 Generation der DUPI Population an 79 Mikrosatellitenmarkern typisiert. Die Lage und die relativen Abstände der Marker stimmten dabei mit publizierten Genkarten überein. Suggestive QTL (LOD Score >1.9, $p < 0.05$) wurden für die Fundamentbeurteilung der hinteren Fundamente auf SSC2, 12 und 18 gefunden. Für die Bewertungen der histologischen Schnitte, des hinteren Kotyledon, wurden Kopplungsregionen auf SSC2 und 9 gefunden. Die Identifizierung von QTL für die Knochenabmessungen zeigten mögliche Kandidatengene auf den Chromosomen 3 (Dichte und Fläche), 5 (Dichte und Masse) und 7 (Dichte).

Einige der gefundenen Regionen waren in Übereinstimmung mit publizierten Ergebnisse anderer QTL Studien. Es konnten ebenfalls verschieden positionelle und funktionelle Kandidatengene innerhalb einiger Kopplungsregionen identifiziert werden.

13. Literaturverzeichnis

Andersson-Eklund L., Marklund L., Lundstrom K., Haley C.S., Andersson K., Hansson I., Moller M. & Andersson L. (1998) Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a wild boar x large white intercross. *Journal of Animal Science* **76**, 694-700.

Andersson-Eklund L., Uhlhorn H., Lundeheim N., Dalin G. & Andersson L. (2000) Mapping quantitative trait loci for principal components of bone measurements and osteochondrosis scores in a wild boar x Large White intercross. *Genetical Research* **75**, 223-30.

Aurich M., Anders J., Trommer T., Liesaus E., Seifert M., Schomburg J., Rolauffs B., Wagner A. & Mollenhauer J. (2006) Histological and cell biological characterization of dissected cartilage fragments in human osteochondritis dissecans of the femoral condyle. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery* **126**, 606-14.

Bereskin B. (1979) Genetic-Aspects of Feet and Legs Soundness in Swine. *Journal of Animal Science* **48**, 1322-8.

Botstein D., White R.L., Skolnick M. & Davis R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 314-31.

Buttenschon J., Svensmark B. & Kyrval J. (1995) Non-purulent arthritis in Danish slaughter pigs .1. A study of field. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe a-Physiology Pathology Clinical Medicine* **42**, 633-41.

Calabotta D.F., Kornegay E.T., Thomas H.R., Knight J.W., Notter D.R., Veit H.P. & Wright M.E. (1982) Restricted Energy-Intake and Elevated Calcium and Phosphorus Intake for Gilts During Growth .2. Gait Characteristics Analyzed from 16-Mm Motion-Picture Photography. *Journal of Animal Science* **55**, 1395-404.

Churchill G.A. & Doerge R.W. (1994) Empirical Threshold Values for Quantitative Trait Mapping. *Genetics* **138**, 963-71.

Draper D.D., Rothschild M.F. & Christian L.L. (1992) Effects of Divergent Selection for Leg Weakness on Muscle and Bone Characteristics in Duroc Swine. *Genetics Selection Evolution* **24**, 363-74.

Fiore F., Sebille A. & Birnbaum D. (2000) Skeletal muscle regeneration is not impaired in Fgf6 -/- mutant mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **272**, 138-43.

- Fukawa K. & Kusuhara S. (2001) The genetic and non-genetic aspects of leg weakness and osteochondrosis in pigs - Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **14**, 114-22.
- Gardner D.L., Salter D.M. & Oates K. (1997) Advances in the microscopy of osteoarthritis. *Microscopy Research and Technique* **37**, 245-70.
- Goedegebuure S.A., Rothschild M.F., Christian L.L. & Ross R.F. (1988) Severity of Osteochondrosis in 3 Genetic Lines of Duroc Swine Divergently Selected for Front-Leg Weakness. *Livestock Production Science* **19**, 487-98.
- Green P. (1992) Construction and Comparison of Chromosome-21 Radiation Hybrid and Linkage Maps Using Cri-Map. *Cytogenetics and Cell Genetics* **59**, 122-4.
- Grondale.T (1974a) Osteochondrosis and Arthrosis in Pigs .1. Incidence in Animals up to 120 Kg Live Weight. *Acta Veterinaria Scandinavica* **15**, 1-25.
- Grondale.T (1974b) Osteochondrosis and Arthrosis in Pigs .6. Relationship to Feed Level and Calcium, Phosphorus and Protein Levels in Ration. *Acta Veterinaria Scandinavica* **15**, 147-69.
- Grondalen T. (1974) Leg Weakness in Pigs .2. Litter Differences in Leg Weakness, Skeletal Lesions, Joint Shape and Exterior Conformation. *Acta Veterinaria Scandinavica* **15**, 574-86.
- Haley C.S., Knott S.A. & Elsen J.M. (1994) Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least-squares. *Genetics* **136**, 1195-207.
- Hariharan H., Macdonald J., Carnat B., Bryenton J. & Heaney S. (1992) An investigation of bacterial causes of arthritis in slaughter hogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **4**, 28-30.
- Heinonen M., Hakala S., Hameenoja P., Murro A., Kokkonen T., Levonen K. & Peltoniemi O.A.T. (2007) Case-control study of factors associated with arthritis detected at slaughter in pigs from 49 farms. *Veterinary Record* **160**, 573-8.
- Hill M.A. (1990) Economic Relevance, Diagnosis, and Countermeasures for Degenerative Joint Disease (Osteoarthritis) and Dyschondroplasia (Osteochondrosis) in Pigs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* **197**, 254-9.
- Hu Z.L., Fritz E.R. & Reecy J.M. (2007) AnimalQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research* **35**, D604-D9.
- Jorgensen B. (2000a) Longevity of breeding sows in relation to leg weakness symptoms at six months of age. *Acta Veterinaria Scandinavica* **41**, 105-21.

Jorgensen B. (2000b) Osteochondrosis/osteoarthritis and claw disorders in sows, associated with leg weakness. *Acta Veterinaria Scandinavica* **41**, 123-38.

Jorgensen B., Arnbjerg J. & Aaslyng M. (1995) Pathological and radiological investigations on osteochondrosis in pigs, associated with leg weakness. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe a-Physiology Pathology Clinical Medicine* **42**, 489-504.

Kim N., Takami M., Rho J., Josien R. & Choi Y. (2002) A novel member of the leukocyte receptor complex regulates osteoclast differentiation. *Journal of Experimental Medicine* **195**, 201-9.

Kirk R.K., Jorgensen B. & Jensen H.E. (2008) The impact of elbow and knee joint lesions on abnormal gait and posture of sows. *Acta Veterinaria Scandinavica* **50**.

Lee G.J., Archibald A.L., Garth G.B., Law A.S., Nicholson D., Barr A. & Haley C.S. (2003) Detection of quantitative trait loci for locomotion and osteochondrosis-related traits in Large White X Meishan pigs. *Animal Science* **76**, 155-65.

Liu G., Jennen D.G.J., Tholen E., Juengst H., Kleinwachter T., Holker M., Tesfaye D., Un G., Schreinemachers H.J., Murani E., Ponsuksili S., Kim J.J., Schellander K. & Wimmers K. (2007) A genome scan reveals QTL for growth, fatness, leanness and meat quality in a Duroc-Pietrain resource population. *Animal Genetics* **38**, 241-52.

Ljunggren G. and Reiland S. (1970) Osteochondrosis in adolescent animals; an endocrine disorder? *Calcified Tissue International* **4**, 150-157.

Nakano T., Brennan J.J. & Aherne F.X. (1987) Leg Weakness and Osteochondrosis in Swine - a Review. *Canadian Journal of Animal Science* **67**, 883-901.

Nei M. (1978) Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics* **89**, 583-90.

O'Connell J. R. and Weeks D. E. (1998) PedCheck: a program for identification of genotype incompatibilities in linkage analysis. *American Journal of Human Genetics* **63**, 259-266

Otto S.P. & Goldstein D.B. (1992) Recombination and the Evolution of Diploidy. *Genetics* **131**, 745-51.

Philbrick W.M., Dreyer B.E., Nakchbandi I.A. & Karaplis A.C. (1998) Parathyroid hormone-related protein is required for tooth eruption. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 11846-51.

- Reiland S. (1978a) Morphology of Osteochondrosis and Sequelae in Pigs. *Acta Radiologica-Diagnosis*, 45-90.
- Reiland S. (1978b) Pathology of So-Called Leg Weakness in the Pig. *Acta Radiologica-Diagnosis*, 23-44.
- Reiland S., Ordell N., Lundeheim N. & Olsson S.E. (1978) Heredity of Osteochondrosis, Body Constitution and Leg Weakness in the Pig - Correlative Investigation Using Progeny Testing. *Acta Radiologica-Diagnosis*, 123-37.
- Rothschild M.F. & Christian L.L. (1988) Genetic-Control of Front-Leg Weakness in Duroc Swine .1. Direct Response to 5 Generations of Divergent Selection. *Livestock Production Science* **19**, 459-71.
- Rothschild M.F., Christian L.L. & Jung Y.C. (1988) Genetic-Control of Front-Leg Weakness in Duroc Swine .2. Correlated Responses in Growth-Rate, Backfat and Reproduction from 5 Generations of Divergent Selection. *Livestock Production Science* **19**, 473-85.
- Schulze V., Roehle R., Looft R. & Kalm E. (1998) Möglichkeiten zur züchterischen Verbesserung des Exterieurs beim Schwein unter besonderer Berücksichtigung des Fundaments. *Züchtungskunde* **70**, 43-60.
- Schwörer D., Lorenz D. & Rebsamen A. (1991) Bedeutung gesunder Gliedmassen in der Schweinezucht. *Der Kleinviehzüchter*. **39**, 781-795.
- Seaton G., Haley C.S., Knott S.A., Kearsley M. & Visscher P.M. (2002) QTL Express: mapping quantitative trait loci in of simple and complex pedigrees. *Bioinformatics* **18**, 339-40.
- Theune C. (2008) Phänotypisierung von Schweinen einer F2-Ressourcenpopulation für molekulargenetische Untersuchungen zum Beinschwächesyndrom: histologische Klassifizierung von Knorpelstrukturen, Vergleich mit Exterieur- und Leistungsmerkmalen sowie RNA-Expressionsanalysen einzelner funktionaler Kandidatengene. In: *Institut für Tierwissenschaften*. Rheinische-Friedrich-Wilhelms Universität, Bonn.
- Tuovinen V.K., Grohn Y.T. & Straw B.E. (1994) Partial condemnations of swine carcasses - a descriptive study of meat inspection findings at southwestern Finland cooperative slaughterhouse. *Preventive Veterinary Medicine* **19**, 69-84.
- Vestergaard P., Hermann A.P., Orskov H. & Mosekilde L. (1999) Effect of sex hormone replacement on the insulin-like growth factor system and bone mineral: A cross-sectional and longitudinal study in 595 perimenopausal women participating in the Danish osteoporosis prevention study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **84**, 2286-90.

Wallis G., Beighton P., Boyd C. & Mathew C.G. (1986) Mutations linked to the pro alpha-2(I) collagen gene are responsible for several cases of osteogenesis imperfecta type-I. *Journal of Medical Genetics* **23**, 411-6.

Wu H. & Olson E.N. (2002) Activation of the MEF2 transcription factor in skeletal muscles from myotonic mice. *Journal of Clinical Investigation* **109**, 1327-33.

Ytrehus B., Grindflek E., Teige J., Stubsoen E., Grondalen T., Carlson C.S. & Ekman S. (2004) The effect of parentage on the prevalence, severity and location of lesions of osteochondrosis in swine. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine* **51**, 188-95.