

CORNELIA SCHLINGMANN<sup>1</sup>, GERHARD DIETL<sup>2</sup> und INGE RÄDER<sup>2</sup>

## **Assoziation von Polymorphismen im Promotorbereich des porcinen HSP 70.2-Gens bei Ebern mit der Wurfgröße**

### Summary

Title of the paper: **Association of polymorphisms in the promotor region of porcine HSP70.2-gene of boars to litter size**

Heat shock protein genes 70 are candidate genes for the general constitution of farm animals because the physiological function of their proteins in the stress processing. Polymorphisms in the promotor region of the porcine HSP 70.2 gene could be usable as indicators of this function for breeding. This work studied the dispersion of the genotypes of two polymorphisms and their association to the number of living born piglets per litter and to the number of weaned piglets per litter using a material of 169 boars with more than 22000 litters. Differences of the distributions of genotypes and alleles within and between breeds indicate a general importance of these polymorphisms for breeding with pigs. The estimated gene substitutions effects show an improved fertility if the mutated alleles appear in heterozygous genotypes. The substitution effects were however low and could not be secured statistically.

Key Words: pig, fertility, Hsp 70.2-gene, polymorphisms, association

### Zusammenfassung

Hitzeschockproteingene 70 sind aufgrund der physiologischen Funktion ihrer Eiweiße in der Stressverarbeitung Kandidatengene für die allgemeine Konstitution von Nutztieren. Polymorphismen im Promotorbereich des porcinen HSP 70.2 Gens könnten als Indikatoren dieser Funktion züchterisch verwertbar sein. Die Arbeit untersucht an einem Material von 169 Besamungsebern mit mehr als 22000 Würfen die Verteilung der Genotypen zweier Polymorphismen und deren Assoziation zur Anzahl lebend geborener Ferkel und zur Anzahl aufgezogener Ferkel je Wurf. Unterschiede in der Verteilung von Genotypen und Allelen innerhalb und zwischen Rassen verweisen auf eine allgemeine züchterische Bedeutung dieser Polymorphismen beim Schwein. Die geschätzten Gensubstitutionseffekte zeigen eine verbesserte Fruchtbarkeit auf, wenn die mutierten Allele in heterozygoten Genotypen auftreten. Die Substitutionseffekte waren jedoch gering und konnten statistisch nicht gesichert werden.

Schlüsselwörter: Schwein, Fruchtbarkeit, Hsp 70.2-Gen, Polymorphismen, Assoziation

### Einleitung

Hitzeschockproteine spielen in der Stressantwort von Zellen aller Lebewesen eine sogenannte Gouvernantenrolle (Chaperoning), indem sie am Schutz und der Wiederherstellung denaturierter Proteine essentiell beteiligt sind, ohne dass sie selbst in Zellprodukte eingehen. Eine ausführliche Beschreibung und Literaturanalyse dazu findet man bei HAGENDORF (1999). Ausgehend von dieser Funktion liegt der Gedanke nahe, dass Hitzeschockproteingene Einfluss auf die Ausprägung jener Merkmale von Nutztieren nehmen, die unter Stresssituationen stärker variieren (SCHWERIN et al., 1995, 1999; HAGENDORF, 1999). Anhand der von PEELMAN et al. (1992) beschriebenen Sequenz des porcinen HSP70.2-Gens detektierten SCHWERIN et al. (1995) zwei Po-

lymorphismen in einer invertierten GC-Box (C/A-Transversion) bzw. unmittelbar vor einer TATA-Box (A-Deletion). Beide Mutationen verändern die hitzeinduzierte Expression des Gens deutlich (SCHWERIN et al., 1999). Nachfolgende Assoziationsstudien ermittelten Unterschiede in Merkmalen der Fleischqualität und Fruchtbarkeit zwischen Genotypen dieser Mutationen bei verschiedenen Schweinerassen (SCHWERIN et al., 1996, 1999; HAGENDORF, 1999), die eine züchterische Verwertbarkeit anzeigen.

Da der genetische Fortschritt beim Schwein hauptsächlich aus der Prüfung und Selektion von Ebern resultiert, müssten auch deutliche Unterschiede zwischen Nachkommenschaften von Zuchtebern mit unterschiedlichen Mutationsgenotypen gefunden werden.

Die potentielle Rolle von HSP 70.2 bei der Differentiation der Gameten liegt in der systematischen Disaggregation und Degradation von Proteinkomplexen (MORIMOTO und MILARSKI, 1990). Die Keimzellendifferenzierung bedarf makrosomaler Strukturzusammenlagerungen und -veränderungen sowie „Proteinchaperoning“ bzw. Transport durch Membranen. Diese Funktionen sind typisch für HSP70 (RAAB et al., 1995). HSP70 wird am häufigsten in den Testis produziert. Fehlfunktionen der Thermoregulation in den Testis führen zur männlichen Unfruchtbarkeit (SARGE und CULLEN, 1997). Hitzeschockproteingene vollziehen auch eine Entwicklungskontrolle des Embryo (BENSAUDE et al., 1991; HEIKKILA, 1986). Bei Stress schützen induzierte HSP vor irreversiblen Aggregationen oder Fehlfaltungen von Proteinen. KOJIMA et al. (1996) beobachteten bereits bei 6 Tage alten Embryonen Thermotoleranz, was bedeutet, dass im Blastozystenstadium die Hitzeschockantwort voll ausgeprägt ist.

Begründet durch die Funktion der Hitzeschockproteine in der Gametenbildung und der Entwicklungskontrolle von Embryonen, Föten und Jungtieren verfolgt die vorliegende Arbeit das Ziel, über eine Analyse der Beziehungen zwischen Genotypen obiger Polymorphismen des porcinen HSP 70.2-Gens bei Ebern und den Merkmalen „Anzahl lebend geborener Ferkel“ (lF) und „Anzahl aufgezogener Ferkel“ (aF) ihrer Würfe die züchterische Bedeutung der Mutationen für die Fruchtbarkeit beim Schwein zu bewerten.

### Material und Methode

Für die Typisierung der Polymorphismen im Promotor des porcinen HSP70.2-Gens wurden Ohrgewebsbiopate von Ebern der Schweinezuchtverbände Sachsen, Thüringen, Hessen sowie Oberösterreich gewonnen. Die Auswahl der Tiere erfolgte zufällig. Die DNA wurde durch Phenolextraktion nach GASSEN (1999) isoliert. Die Typisierung der beschriebenen zwei Polymorphismen im Promotor des HSP70.2-Gens wurde mittels allelspezifischer PCR und anschließender RFLP nach HAGENDORF (1999) durchgeführt. Die Bestimmung der verschiedenen GC- bzw. TATA-Box-Genotypen erfolgte über eine Restriktionsmusteranalyse der durch elektrophoretische Auftrennung sichtbar werdenden DNA-Fragmente in einem 3 %igen Agarose-Ethidiumbromid-Gel. Jeder Genotyp zeigte ein charakteristisches Spaltungsmuster (Tab. 1).

Zur Auswertung gelangten insgesamt 22294 Würfe von 169 Ebern und 12011 Sauen (Tab. 1). Die Würfe fielen in den Jahren von 1992 bis 2000 an, jedoch hauptsächlich

von 1994 bis 1999 (98 %). Die meisten Eber waren Pietrain (PI), allerdings lagen von Ebern der Rasse Deutsches Edelschwein (DE) deutlich mehr Würfe vor.

Tabelle 1

Definition der mittels *AciI* bzw. *XmnI* geschnittenen DNA-Fragmentmuster zum Nachweis der Polymorphismen in der GC-Box (Ausgangsfragment: 108 bp) bzw. unmittelbar vor der TATA-Box (Ausgangsfragment: 109 bp) (Definition of the by means of *AciI* or rather *XmnI* cut DNA-fragments for the proof of polymorphisms in the GC box (uncut fragment: 108 bp) or rather immediately before TATA box (uncut fragment: 109 bp))

Diagnostische Banden	Ergebnisse der Restriktionsenzymverdauung mit <i>AciI</i> (GC-Box-Genotypen)
34 bp	Wildtyp (CC)
68 bp, 34 bp	heterozygote Mutation (CA)
68 bp	homozygote Mutation (AA)
Ergebnisse der Restriktionsenzymverdauung mit <i>XmnI</i> (TATA-Box-Genotypen)	
69 bp	Wildtyp (AA)
93 bp, 69 bp	heterozygote Mutation (A-)
93 bp	homozygote Mutation (--)

Die angepaarten Sauen gehörten mit einem Anteil von 86,3 % Deutsche Landrasse (DL) und 10,8 % Pietrain fast gänzlich diesen beiden Rassen an. Die Würfe stammen zu 71,4 % aus Kreuzungen von DE X DL, zu 4,4 % aus Kreuzungen von PI X DL und zu 0,7 % aus sonstigen Kreuzungen. Reinrassige Würfe gliederten sich in 10,8 % Pietrains, 10,6 % DL und 2,1 % DE. Alle Eber der Rassen DE, DL und Leicoma (LC) gehörten zum MHS-Genotyp NN. Die Pietraineber waren überwiegend vom Genotyp PP. Zwei Eber dieser Rasse hatten den Genotyp NP und von 3 Ebern war der MHS-Genotyp unbekannt. Die Tabelle 2 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der Merkmale, unterteilt nach der Rasse des Ebers. Bis auf die deutlich geringere Anzahl aufgezogener Ferkel von Pietrainebern sind keine gravierenden Unterschiede erkennbar. Würfe mit Wurfausgleich (ca. 3000) wurden bei der Auswertung der Anzahl aufgezogener Ferkel nicht berücksichtigt.

Tabelle 2

Anzahl Würfe, Mittelwerte und Standardabweichungen der Merkmale „Anzahl lebend geborener Ferkel“ und „Anzahl aufgezogener Ferkel“ gegliedert nach der Rasse des Ebers (Number of litters, averages and standard deviations of the traits „number of living born piglets“ and „number of reared piglets“ structured on the breed of boar )

Rasse des Ebers	Anzahl Eber	Anzahl lebend geborener Ferkel			Anzahl aufgezogener Ferkel		
		n	$\bar{x}$	s	n	$\bar{x}$	s
Deutsches Edelschwein	36	16382	10,64	2,87	14558	10,01	2,51
Deutsche Landrasse	13	2356	10,73	2,88	1232	10,24	2,50
Pietrain	118	3491	10,14	2,30	3435	9,09	2,14
Leicoma	2	65	10,06	3,01	0	-	-
Alle Rassen	169	22294	10,57	2,79	19225	9,86	2,47

n - Anzahl Würfe;  $\bar{x}$  - Mittelwert; s - Standardabweichung

Sofern Genotypen obiger Polymorphismen zu unterschiedlichen Selektionskoeffizienten führen, kann erwartet werden, dass Teilpopulationen, die der Selektion unterliegen, sich nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) befinden. Eine Prüfung des HWG bei Besamungsebern kann somit informativ zur allgemeinen selektiven Relevanz der Polymorphismen sein. Die Tests auf HWG wurden mittels  $\chi^2$ -Test nach FALCONER and MACKAY (1996) durchgeführt. Die Tests auf Homologie von Ge-

notyp- und Allel-frequenzen erfolgten nach Verfahren 3/66/2101, Modell 2, RASCH et al. (1978).

Zur Schätzung von Gensubstitutionseffekten (FALCONER and MACKAY, 1996) an beiden Loci der Eber gelangten multivariate Analysen nach folgendem Modell für beide Merkmale zur Anwendung:

$$y_{ijklm} = p_A + p_- + r_i + w_j + db_k + up_l + a_{lm} + e_{ijklm}, \text{ mit}$$

$y_{ijklm}$  - Merkmalswert des Wurfes.

$p_A$  - Wahrscheinlichkeit, dass ein Ferkel das mutierte Allel A vom Eber erhielt (fix).

$p_-$  - Wahrscheinlichkeit, dass ein Ferkel das mutierte Allel - vom Eber erhielt (fix).

$r_i$  - fixer Effekt von „Rasse des Ebers X MHS-Status“.

$w_j$  - fixer Effekt der Wurfnummer.

$db_k$  - zufälliger Effekt von „Betrieb der Sau X Geburtsdatum des Wurfes“.

$up_l$  - zufälliger Effekt der permanenten Umwelt der Sau.

$a_{lm}$  - additiv genetischer Effekt des Wurfes (zufällig).

$e_{ijklm}$  - Residual (zufällig).

Da der MHS-Status fast vollständig mit der Rasse der Eber vermenget war, konnte der Einfluss des MHS-Genotyps zwar durch den Faktor  $r_i$  berücksichtigt, jedoch nur zwischen den Genotypen PP und NP innerhalb Pietrain separat geschätzt und getestet werden.

Ein Gensubstitutionseffekt in diesem Modell gibt an, welche Wirkung der Austausch eines Wildtyp-Allels durch ein mutiertes Allel im Gameten eines Ebers auf das Wurfmerkmal hat. Diese Wirkung ist nicht nur eine Eigenschaft des Allels selbst, sondern auch von der Verteilung der Allele in der Sauenpopulation abhängig. Bei einem seltenen Allel produziert der Gamet fast ausschließlich heterozygote Nachkommen, die selten sind. Bei einem sehr häufig auftretendem Allel kommt es nur selten zu Veränderungen, da er hauptsächlich homozygote Genotypen bezüglich des Allels erzeugt, die jedoch ohnehin bereits häufig vorkommen. Somit quantifiziert ein Gensubstitutionseffekt bei Ebern nach obigem Modell den züchterischen Erfolg des Einsatzes von Ebern mit mutierten Allelen auf eine Sauenpopulation, deren Allelverteilung unbekannt ist. Zunächst wurden für die zufälligen Faktoren des Modells Varianz-Kovarianz-Komponenten mit dem Package VCE (GROENEVELD, 1994) geschätzt und anschließend Effekte durch das Programm PEST (GROENEVELD und KOVAC, 1990) geschätzt und getestet.

### Ergebnisse

Da ausschließlich Eber typisiert wurden, liegen Verteilungen der Genotypen und Allele nur von Ebern vor. In der Tabelle 3 und der Tabelle 4 sind die Anzahl untersuchter Eber und die Verteilung von Genotypen und Allelen in beiden

Mutationen gegliedert nach Rasse der Eber aufgeführt. Mittels  $\chi^2$  - Test wurde ermittelt, dass die Genotypfrequenzen zwischen den Rassen DE, DL und PI der Eber in beiden Mutationen signifikant verschieden sind ( $p < 0,95$ ). Dagegen konnten signifikante Unterschiede in den Allelfrequenzen nur für die Mutation der GC-Box gefunden werden. Weiterhin ergaben die Tests auf Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, dass nur die Eber der Rassen DE und PI bezüglich ihrer GC-Box-Genotypen wesentlich vom HWG differieren. In diesem Zusammenhang ist auffällig, dass die geschätzten Genotypfrequenzen der Heterozygoten stets größer, höchstens gleichgroß wie ihre erwarteten Frequenzen sind. Dem gegenüber erreichen die geschätzten Genotypfrequenzen der homozygoten Genotypen höchstens ihre Erwartungswerte. Die Differenzen zwischen den Effekten der MHS-Genotypen PP und NP innerhalb Pietrain waren in beiden Merkmalen kleiner als 0,07 und nicht signifikant von Null verschieden.

Tabelle 3

Genotyp- und Allelfrequenzen der GC-Box (Genotype frequencies and allele frequencies associated with the GC-Box)

Rasse Eber	Anzahl Eber	Geschätzte Genotypfrequenz Genotyp			Allelfrequenz Allel		Erwartete Genotypfrequenz Genotyp		
		CC	CA	AA	C	A	CC	CA	AA
DE*	36	16,7%	66,6%	16,7%	50,0%	50,0%	25,0%	50,0%	25,0%
DL	13	61,5%	38,5%	0,0%	80,8%	19,2%	65,2%	31,1%	3,7%
PI*	118	24,6%	62,7%	12,7%	55,9%	44,1%	31,3%	49,3%	19,4%
LC	2	50,0%	50,0%	0,0%	75,0%	25,0%	56,3%	37,5%	6,2%

\* signifikant different vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ( $p=0,95$ )

Tabelle 4

Genotyp- und Allelfrequenzen der TATA-Box. (Genotype frequencies and allele frequencies associated with the TATA-Box)

Rasse Eber	Anzahl Eber	Geschätzte Genotypfrequenz Genotyp			Allelfrequenz Allel		Erwartete Genotypfrequenz Genotyp		
		AA	A -	- -	A	-	AA	A -	- -
DE	36	97,2%	2,8%	0,0%	98,6%	1,4%	97,2%	2,8%	0,0%
DL	13	46,2%	53,8%	0,0%	73,1%	26,9%	53,4%	39,4%	7,2%
PI	118	66,1%	31,4%	2,5%	81,8%	18,2%	66,9%	29,8%	3,3%
LC	2	100,0%	0,0%	0,0%	100,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%

Die Tabelle 5 zeigt Ergebnisse der bivariaten Varianzkomponentenschätzung. Im oberen Teil der Tabelle sind Schätzwerte der Varianz- Kovarianzkomponenten aufgeführt und im unteren Teil sind in den Diagonalen die Anteile [%] der Varianzkomponenten an der phänotypischen Varianz und daneben die entsprechenden Korrelationskoeffizienten zu finden. Wie zu erwarten, ist der Anteil additiv genetisch verursachter Varianz für beide Merkmale gering, wenn auch für das Merkmal aF deutlich höher als für die Anzahl lebend geborener Ferkel ( $h^2 = 0,08$  bzw.  $0,13$ ). In der gleichen Größenordnung wurden auch die Anteile der Varianzkomponente "permanente Umwelt der Sau" geschätzt, wobei hier der Anteil im Merkmal IF höher ausfällt ( $c^2=0,12$  bzw.  $0,10$ ). Die Varianzkomponente für den Faktor „Betrieb der Sau X Geburtsdatum des Wurfes“ fällt mit 4% bzw. 3% überraschend niedrig aus. Der Anteil der Varianzkomponente „Rest“ ist wie bei vielen Fruchtbarkeitsmerkmalen

hoch und beträgt nach unserer Schätzung etwa  $\frac{3}{4}$  der gesamten phänotypischen Varianz.

Aufgrund der biologischen Gegebenheiten und der besondere Relation der Merkmale zueinander ( $IF \geq aF$ ) ist eine hohe Korrelation zwischen beiden Merkmalen zu erwarten (phänotypischer Korrelationskoeffizient = 0,89). An den Korrelationskoeffizienten auf der Basis der einzelnen Varianzkomponenten wird deutlich, dass dies vor allem auf eine hohe umweltbedingte Kovarianzkomponente zurückzuführen ist, denn der genetische Korrelationskoeffizient von 0,61 fällt im Vergleich dazu gering aus.

Die Schätzwerte der Gensubstitutionseffekte beider Mutationen in beiden Merkmalen (Tab. 6) fallen gering aus und sind in keinem der Fälle signifikant von Null verschieden. Hierbei überrascht, dass alle Gensubstitutionseffekte positiv ausfallen, d.h. der Ersatz von Wildtypallelen durch ihre mutierte Varianten im Spermium eines Ebers erhöht die zu erwartende Anzahl lebend geborener Ferkel als auch die Anzahl aufgezogener Ferkel. Dabei sind die Auswirkungen auf die Anzahl aufgezogener Ferkel höher als auf die Anzahl lebend geborener Ferkel.

Tabelle 5

Schätzwerte von Varianz- und Kovarianzkomponenten, Anteile an der phänotypischen Varianz und Korrelationskoeffizienten (Estimates of variance and covariance components, their proportions of the phenotypic variance and correlation coefficients)

	additiv genetisch		Varianz- Kovarianzkomponente				Rest	
	IF	aF	permanente Umwelt der Sau		Betrieb der Sau X Geburtsdatum des Wurfes		IF	aF
			IF	aF	IF	aF		
Anzahl lebend geborener Ferkel (IF)	0,65	0,45	0,92	0,77	0,32	0,21	5,83	4,82
Anzahl aufgezogener Ferkel (aF)		0,81		0,64		0,22		4,75
Anteil an der phänotypischen Varianz [%]/Korrelationskoeffizienten								
Anzahl lebend geborener Ferkel (IF)	8%	0,61	12%	1,00	4%	0,75	76%	0,91
Anzahl aufgezogener Ferkel (aF)		13%		10%		3%		74%

Tabelle 6

Schätzwerte der Gensubstitutionseffekte der Wildtypallele durch ihre Mutanten (Estimation values of gene substitution effects of wild type alleles by their mutants)

mutiertes Allel	Anzahl lebend geborener Ferkel	Anzahl aufgezogener Ferkel
A der GC-Box	0,018 ( $\pm 0,169$ )	0,151 ( $\pm 0,18$ )
- der TATA-Box	0,042 ( $\pm 0,237$ )	0,103 ( $\pm 0,242$ )

## Diskussion

Schätzwerte der Genotyp- und Allelfrequenzen der GC- und TATA – Box - Mutationen liegen bereits von SCHWERIN et al. (1999) und HAGENDORF (1999) für die auch hier untersuchten Rassen DE, DL und PI vor. Die Tabelle 7 zeigt die Resultate des paarweisen Vergleiches der Materialien mittels  $\chi^2$ -Test. Trotz der relativ geringen Umfänge der Materialien wurden in den meisten Vergleichen signifikante

Differenzen in Allel- und Genotypfrequenzen erhalten, sodass keine einheitliche Interpretation über alle Datensätze möglich ist. Es scheint, dass zwischen den untersuchten Schweinerassen je nach Herkunft, Rasse und Stellung im Selektions- und Reproduktionsprozess Unterschiede in der Verteilung der untersuchten Promotorvarianten bestehen. Dies wiederum ist als Hinweis dafür zu werten, dass diese Varianten Einflüssen genologischer, züchterischer und Fitnessfaktoren unterliegen könnten.

Tabelle 7

Ergebnisse des  $\chi^2$ -Test zum paarweisen Vergleich der Datenmaterialien A,B und C (Results of  $\chi^2$ -test used for comparison in pairs of the data materials A,B and C)

Datenmaterial	Rasse	GC-Box		TATA-Box	
		Genotyp	Allel	Genotyp	Allel
(A) Schwerin et al., (1999)	Deutsches Edelschwein	C		C	C
	Deutsches Landschwein	B	B,C	B	
	Pietrain	C	C	C	
(B) Hagendorf, (1999)	Deutsches Landschwein	A,C	A	A	
(C) Material dieser Arbeit	Deutsches Edelschwein	A		A	A
	Deutsches Landschwein	B	A		
	Pietrain	A	A	A	

X – signifikant different zum Material X derselben Rasse (für X = A oder = B oder = C)

Zu gleichen Hinweisen führen die Ergebnisse der Prüfung auf Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. SCHWERIN et al. (1999) fanden in ihrem Material signifikante Abweichungen vom HWG für die C/A Transversion der GC-Box beim DE und dem Deutschen Sattelschwein als auch für die Adenosin Deletion vor der TATA-Box in den Rassen DL, PI und Deutsches Sattelschwein. Auch für das DL-Material von HAGENDORF (1999) kommt man, obwohl von der Autorin nicht ausgewiesen, für beide Mutationen zum selben Ergebnis. Da auch in den hier untersuchten Besamungsebern Ungleichgewicht bezüglich des Polymorphismus der GC-Box für die Rassen DE und PI gefunden wurde, sind diese Ergebnisse ebenfalls als Indiz dafür zu werten, dass wesentliche Faktoren der Züchtung und Haltung mit diesen Polymorphismen assoziiert sind.

Auf das stete Übersteigen der gefundenen Genotypfrequenz Heterozygoter über ihre Erwartung nach der Hardy-Weinberg-Regel wurde im Abschnitt 3 bereits hingewiesen. Dieselbe Beobachtung findet man auch bei HAGENDORF (1999). Obwohl es sich in beiden Arbeiten um selektierte Elterntiere handelt, ist eine Wertung dieser spezifischen Assoziation als Resultat der Selektion unsicher.

Die Polymorphismen an beiden Loci sind am häufigsten in ihren Assoziationen zu Fleischqualitätsmerkmalen untersucht worden. Während LAACK et al. (1993) keine Beziehung zur Fleischbeschaffenheit feststellten, fanden andere (SCHWERIN et al., 1996, 1999; LENGERKEN et al., 1997; MAAK et al., 1998, 1999, HAGENDORF, 1999) signifikante Effekte bei Qualitätsparametern, wie pH-Wert, Leitfähigkeit und Fleischfarbe. Die Größe der Effekte waren different, jedoch überwiegend gleichgerichtet. Homozygot mutierte Genotypen treten häufiger mit positiven Fleischqualitätsmerkmalen auf, heterozygote Genotypen liegen meist im intermediären Bereich. HAGENDORF (1999) untersuchte ebenfalls die Beziehungen der

Polymorphismen zur Mast- und Schlachtleistung und fand, wenn auch nicht signifikant different, Einflüsse der Genotypen an beiden Loci. Auch hier wiesen die homozygot mutierten Genotypen die günstigsten LSM - Schätzwerte auf und die Heterozygoten lagen ebenfalls im mittleren Bereich.

Bisher gibt es nur wenige Untersuchungen zur Assoziation der hier betrachteten Polymorphismen im HSP 70.2-Promotorbereich mit Fruchtbarkeitsmerkmalen. MAAK et al. (1998) fanden signifikante Effekte der GC-Box Genotypen auf das Geburtsgewicht. HAGENDORF (1999) konnte in einem Mittelwertvergleich einen signifikanten Einfluss der GC-Box Genotypen auf die Zahl der totgeborenen Ferkel und die Zahl der Mumien pro Wurf sowie für die Genotypen der TATA-Box Unterschiede in der Zahl lebend geborener Ferkel nachweisen. Im Unterschied zu Merkmalen der Fleischqualität und der Mast- und Schlachtleistung waren schlechtere Fruchtbarkeitsleistungen mit homozygot mutierten Genotypen verbunden. Heterozygote Genotypen führten zu den besten oder mindestens zu mittleren Fruchtbarkeitsleistungen. Die geschätzten Effekte von Substitutionen der Wildtyp-Allele bei Besamungsebern durch ihre Mutanten auf beide Wurfmerkmale sind stets positiv (Tab. 6). Diese Ergebnisse empfehlen den Ersatz von Ebern mit reinerbig Wildtyp-Genotypen durch Eber mit reinerbig mutierten Genotypen oder mindestens durch heterozygote Eber. Bei letzteren halbiert sich der Substitutionseffekt, da die Wahrscheinlichkeit, dass ein Nachkomme eines Heterozygoten das mutierte Allel des Elter ererbt, nur  $\frac{1}{2}$  ist. Da alle Untersuchungen verringerte Frequenzen der mutierten Allele (0,3-0,4 für GC-Locus; 0,1-0,3 für TATA-Locus) fanden, sind bei Nachkommen aus Gameten mit mutierten Allelen überwiegend Heterozygote zu erwarten. Bezüglich des GC-Locus sollten etwa 60-70% Heterozygote und 30-40% Homozygote auftreten und für den TATA-Locus ist mit cirka 70-90% Heterozygoten bzw. 10-30% Homozygoten zu rechnen. Die Wirkung der Gensubstitution besteht demnach vor allem in der Erzeugung eines höheren Anteils von Heterozygoten. Dies stimmt im Schluss mit den Ergebnissen von HAGENDORF (1999) überein, wo heterozygote Genotypen in den Merkmalen Totgeburten/Wurf und aF überlegen waren bzw. in weiteren Fruchtbarkeitsmerkmalen mittlere Werte einnahmen. Folgt man diesen Überlegungen weiter, so wäre eine effektive züchterische Nutzung der Polymorphismen über eine Anreicherung bzw. Verminderung der mutierten Allele in gegensätzlicher Richtung bei Mutter- und Vaterlinienebern möglich.

Als Fazit aller Untersuchungen scheinen beide Polymorphismen informativ für die Konstitution von Zuchtschweinen zu sein und dadurch merkmalsübergreifend mit Leistungen, die unter durchschnittlichen Bedingungen erbracht werden, zu assoziieren. Dies würde die beobachteten signifikanten Differenzen innerhalb und zwischen Rassen erklären, jedoch im jeweiligen Einzelmerkmal, wie überwiegend festzustellen, nur geringe Effekte auslösen.

#### Danksagung

Die hier vorgestellte Untersuchungen wurden durch das Land Mecklenburg-Vorpommern im Rahmen des IFP-Projektes (AZ V-501-630.3-991) gefördert. Dem Projektträger sei für die Finanzierung an dieser Stelle herzlich gedankt. Des weiteren danken die Autoren den Schweinezuchtverbände Sachsen, Thüringen, Hessen und Oberösterreich für die Bereitstellung des Tiermaterials und der Fruchtbarkeitsdaten.



## Literatur

- BENSAUDE, O.; MEZGER, V.; MORANGE, M.:  
Developmental regulation of heat shock protein synthesis in unstressed and stressed cells. In: JEANTEUR, P., KUCHINO, Y., MÜLLER, W.E.G., PLAINE, P.L. (eds.): Progress in Molecular and Subcellular Biology, Springer-Verlag Berlin, Vol. **12** (1991), 90-111
- FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F.C.:  
Introduction to Quantitative Genetics, Longman Group Harlow, (1996)
- GASSEN, H.G.; SCHRIMPF, G.:  
Gentechnische Methoden-Eine Sammlung von Arbeitsanleitungen für das molekularbiologische Labor, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg (1999)
- GROENEVELD, E.; KOVAC, M.:  
A Generalised Computing Procedure for Setting up and Solving Mixed Linear Models. J. Dairy Sci., Champaign, III. **73** (1990), 513-531
- GROENEVELD, E.:  
VCE a multivariate multimodel REML (co)variance component estimation package. Proc. 5<sup>th</sup> World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Guelph, Canada, (1994), 22, 47-48
- HAGENDORF, A.:  
Auswirkungen von Promotorvarianten des pHsp70.2-Gens auf seine Expression und die phänotypische Leistungsausprägung beim Schwein. Univ. Kiel, Diss., 1999
- HEIKKILA, J.J.; BROWDER, L.W.; GEDAMU, L.; NICKELLS, R.W.; SCHULTZ, G.A.:  
Heat-shock gene expression in animal embryonic systems. Canadian Journal of Genetics and Cytology, **28** (1986), 1093-1105
- KOJIMA, T.; UDAGAWA, K.; ONISHI, A.; IWAHASHI, H.; KOMATSU, Y.:  
Effect of Heat Stress on Development In Vitro and In Vivo and on Synthesis of Heat Shock Proteins in Porcine Embryos. Molecular Reproduction and Development, **43** (1996), 452-457
- LENGERKEN, G. v.; WICKE, M.; MAAK, S.:  
Stressempfindlichkeit und Fleischqualität – Stand und Perspektiven in Praxis und Forschung. Arch. Tierz., Dummerstorf **40** (1997) Sonderheft, 163-171
- MAAK, S.; PETERSEN, K.; LENGERKEN, G. v.:  
Association of polymorphisms in the HSP 70.2 gene promotor with performance traits. 26<sup>th</sup> International Conference on Animal Genetics (ISAG), 1998, 108
- MAAK, S.; HARDGE, T.; WIMMERS, K.; LENGERKEN, G. v.; LEUTHOLD, G.:  
No association between mutations in the porcine Hsp 70.2 gene promotor and performance traits in an experimental F<sub>2</sub> population. International Symposium "Candidate genes for animal health" 25. – 27. 08. 1999, Warnemünde (1999), 17
- MORIMOTO, R.I.; MILARSKI, K.L.:  
Expression and Function of Vertebrate hsp70 Genes. In: MORIMOTO, R.I., TISSIERES, A. and GEORGOPOULOS, C. (eds.): Stress Proteins in Biology and Medicine. Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, (1990), 323-359
- PEELMAN, L. J.; VAN DE WEGHE, A. R.; COPPIETERS, W. R.; VAN ZEVEREN, A. J.; BOUQUET, Y. H.:  
Complete nucleotide sequence of a porcine hsp70 gene. Immunogenetics, **35** (1992), 286-289
- RAAB, L.S.; POLAKOSKI, K.L.; HANCOCK, L.W.; HAMILTON, D.W.:  
Characterization of the Heat Shock Protein P70 in Rat Spermatogenic Cells. Molecular Reproduction and Development, **40** (1995), 186-195
- RASCH, D.; HERRENDÖRFER, G.; BOCK, J.; BUSCH, K.:  
Verfahrensbibliothek, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, (1978)
- SARGE, K.D.; CULLEN, K.E.:  
Regulation of hsp expression during rodent spermatogenesis. CMLS Cellular and Molecular Life Sciences, **53** (1997), 191-197
- SCHWERIN, M.; LENGERKEN, G. v.; FREDHOLM, M.; CHRISTENSEN, K.; KRAUSE, S.:  
DNA polymorphisms in two control elements (SP1 - and TATA-box) of porcine HSP70.2 gene detected by allele specific PCR. Animal Genetics, **26** (1995), 201-213
- SCHWERIN, M.; LANGHAMMER, M.; MATTHES, W.; DIETL, G.:  
Additive genetic effects of the RYR1 and HSP70.2 loci upon stress susceptibility in swine. Animal Genetics (Suppl. 2), (1996), 116
- SCHWERIN, M.; HAGENDORF, A.; FÜRBASS, R.; TEUSCHER, F.:  
The inducible stress protein 70.2 gene - A candidate gene for stress susceptibility in swine. Arch. Tierz., Dummerstorf **42** (1999) Special Issue, 61-66

Eingegangen: 26.05.2001

Akzeptiert: 25.02.2002

Anschriften der Verfasser

CORNELIA SCHLINGMANN  
DNA-Diagnostik Nord GmbH  
Friedrich-Barnewitz-Str. 4  
D-18119 Rostock

E-Mail: [cs@dna-diagnostik.de](mailto:cs@dna-diagnostik.de)

INGE RÄDER, Dr. GERHARD DIETL  
Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere  
Wilhelm-Stahl-Allee 2  
D-18196 Dummerstorf

E-Mail: [raeder@fhn-dummerstorf.de](mailto:raeder@fhn-dummerstorf.de)

[dietl@fhn-dummerstorf.de](mailto:dietl@fhn-dummerstorf.de)