

Fachinformation

**aus dem Ausschuss für Genetik und
Labortierzucht**

**Auszuchtstämme
Zuchtmethoden und genetische
Eigenschaften**

Stand: Februar 2016

Autoren:

Reinhart Kluge, Potsdam-Rehbrücke

Dirk Wedekind, Hannover

Haftungsausschluss

Die Benutzung der Hefte (Veröffentlichungen) und Stellungnahmen der GV SOLAS und die Umsetzung der darin enthaltenen Informationen erfolgt ausdrücklich auf eigenes Risiko. Die GV-SOLAS und auch die Autoren können für etwaige Unfälle und Schäden jeder Art, die sich durch die Nutzung der Veröffentlichung ergeben (z.B. aufgrund fehlender Sicherheitshinweise), aus keinem Rechtsgrund eine Haftung übernehmen. Haftungsansprüche gegen die GV SOLAS und für Schäden materieller oder ideeller Art, die durch die Nutzung oder Nichtnutzung der Informationen bzw. durch die Nutzung fehlerhafter und/oder unvollständiger Informationen verursacht wurden, sind grundsätzlich ausgeschlossen. Rechts- und Schadenersatzansprüche sind daher ausgeschlossen. Das Werk inklusive aller Inhalte wurde unter größter Sorgfalt erarbeitet. Die GV SOLAS und die Autoren übernehmen jedoch keine Gewähr für die Aktualität, Korrektheit, Vollständigkeit und Qualität der bereitgestellten Informationen. Druckfehler und Falschinformationen können nicht vollständig ausgeschlossen werden. Die GV SOLAS und die Autoren übernehmen keine Haftung für die Aktualität, Richtigkeit und Vollständigkeit der Inhalte des Buches, ebenso nicht für Druckfehler. Es kann keine juristische Verantwortung sowie Haftung in irgendeiner Form für fehlerhafte Angaben und daraus entstandenen Folgen von der GV SOLAS und den Autoren übernommen werden. Für die Inhalte von den in diesen Veröffentlichungen abgedruckten Internetseiten sind ausschließlich die Betreiber der jeweiligen Internetseiten verantwortlich. Die GV SOLAS und die Autoren haben keinen Einfluss auf Gestaltung und Inhalte fremder Internetseiten. Die GV SOLAS und die Autoren distanzieren sich daher von allen fremden Inhalten. V.i.S.d.P. der Vorstand der GV SOLAS

Inhaltsverzeichnis

1.	Einführung	3
2.	Zielsetzung und Anwendungsbereiche in der experimentellen Versuchstierkunde	3
3.	Definitionen	4
4.	Erstellung und Strukturierung von Auszuchtpopulationen	4
5.	Zuchtsysteme zur Führung von Auszuchtstämmen	5
6.	Nomenklatur von Auszuchtstämmen	11
7.	Aufbau und Anwendung von Versuchsgruppen mit Auszuchtstieren	11
8.	Genetische Kontrolle bei Auszuchtpopulationen	13
9.	Probleme und Mängel bei aktuell verfügbaren Auszuchtstämmen	14
10.	Modelllimitierungen	15
11.	Alternativen zum Auszuchtmodell	15
	Zitierte und weiterführende Literatur	16
	Anhang	19

Ausschuss für Genetik und Labortierzucht

Auszuchtstämme

- Zuchtmethoden und genetische Eigenschaften -

1. Einführung

Im Hinblick auf korrekte und reproduzierbare Versuchsergebnisse in Tierexperimenten und nicht zuletzt zur Erfüllung der Anforderungen an den Tierschutz und dem Tierschutzgesetz sind nicht nur Mess- und Analysemethoden zu optimieren und zu standardisieren sondern auch die verwendeten Versuchstiere bezüglich ihrer genetischen und hygienischen Qualität. Das bedeutet u.a. für die Versuchstierzüchter die Verpflichtung der Anwendung definierter Systeme zur Stabilisierung genetischer Strukturen in den Versuchstierstämmen über einen möglichst langen Zeitraum, d. h., über viele Generationen.

Neben Modellen mit geringster bzw. vernachlässigbarer genetischer Variabilität (Inzuchtstämme, F1-Hybriden) wurden parallel auch solche für notwendig erachtet und etabliert, die genetische Variation beinhalten.

Hierzu zählen Mehrfachkreuzungen sowie Mosaik- und Auszuchtpopulationen. Die Zielsetzungen, Zuchtmethoden und genetischen Eigenschaften des letztgenannten Modells werden hier dargestellt.

2. Zielsetzung und Anwendungsbereiche in der experimentellen Versuchstierkunde

Das Auszuchtverfahren ist in der experimentellen Versuchstierkunde als Modell für nicht ingezüchtete Tier- und Humanpopulationen geschaffen worden, um deren genetische Variation abzubilden und in entsprechenden Experimenten zu nutzen. Ziel ist es, innerhalb einer geschlossenen Population (Auszuchtstamm) eine definierte (möglichst hohe) genetische Heterogenität unter Einhaltung bestimmter Variationsgrenzen im Verlauf der Generationen zu bewahren (Lush, 1958). Der einzelne Genotyp ist bei diesem Modell im Gegensatz zu Inzucht- oder F1-Tieren nicht wiederholbar. Die Aussagen über Charakteristika gelten bei diesem Modell nicht mehr für das Einzeltier sondern immer nur für eine Tiergruppe, d.h. entweder für die gesamte Population oder eine repräsentative Stichprobe. Aus diesen Zielen und Rahmenbedingungen wird bereits ersichtlich, dass die Auszucht wohl *das* Tiermodell ist, das von Züchtern und Anwendern die intensivsten Fachkenntnisse verlangt, um aussagekräftige und reproduzierbare Versuchsergebnisse zu erhalten. In der Praxis wurde dieser Punkt jedoch im Laufe der Zeit völlig vernachlässigt und die Auszucht mehr oder weniger als '*Billigmodell*' gehandhabt. Daher verwundert es auch nicht, dass es mit diesem Modell häufig Probleme mit der Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse gibt, was zudem noch sehr spät oder gar nicht erkannt wird. Erst gravierende Schwierigkeiten bei der Durchführung und Auswertung toxikologischer und pharmakologischer Langzeituntersuchungen richteten das Augenmerk wieder in stärkerem Maße auf das Modell *Auszucht* (u.a. White, 1992) und die Fehler, die in Zucht und Anwendung durch Unkenntnis und ökonomische Gesichtspunkte gemacht wurden (u.a. Rapp und Deerberg, 1987; Kluge und Rapp, 1994; Kluge, 1997).

Da es sich bei einer Auszucht um eine geschlossene Population handelt, sind Eigenschaften und Umfang der Founder-Population besonders wichtig, da Fehler, die in diesem Stadium gemacht werden, später kaum noch korrigiert werden können.

3. Definitionen

Loosli (1969, 1971) verwendet den Begriff 'Auszucht' im 'weiteren' Sinne, der alle Verpaarungssysteme umfasst, die zu einer erhöhten genetischen Variabilität führen, also auch Mehrfachkreuzungen, etc.

In der Versuchstierkunde wird der Begriff allerdings nur in seinem 'engeren' Sinne verwendet, so wie ihn Lush (1958) definiert hat: Tiere werden innerhalb einer 'geschlossenen' Population verpaart (also innerhalb eines Stammes), wobei die Zuchtpartner einen maximalen genetischen Abstand voneinander haben sollen und die Steigerung des Verwandtschaftsgrades über die Generationen hinweg im Minimum ist. Die Integration zusätzlicher, fremder Gene (z.B. durch Einkreuzung stammfremder Tiere) ist nach Abschluss der Aufbauphase (5 – 7 Generationen) eines Stammes nicht mehr erlaubt.

4. Erstellung und Strukturierung von Auszuchtpopulationen

Im Hinblick auf die Erfüllung der hohen genetischen Qualitätsansprüche erfordert die Aufbauphase einer Auszuchtpopulation besonders viel Aufmerksamkeit. In diesem Zeitraum muss sichergestellt werden, dass eine große genetische Variabilität in der Founderpopulation etabliert und eine umfassende Charakterisierung ihrer genetischen und phänotypischen Merkmale durchgeführt wird. Eine hohe genetische Variabilität kann z.B. erreicht werden, indem verschiedene, wenig verwandte Inzuchtstämme eingekreuzt werden. Nach der Etablierungsphase, in der also Einkreuzungen aus unterschiedlichen Stämmen erlaubt und notwendig sind, wird die Population geschlossen, d.h., danach ist nur noch eine Verpaarung *innerhalb* der Population erlaubt, um eine stabile und standardisierte genetische Variabilität gewährleisten zu können. Das macht unmittelbar deutlich, wie wichtig die Größe und Qualität der Ausgangszuchtpopulation ist.

Eggenberger (1973) hat mit Hilfe von Simulationsstudien vier Einflussfaktoren auf die genetische Struktur von Auszuchtpopulationen untersucht und nachgewiesen, dass *Populationsgröße* und *Selektion* den Charakter eines Stammes am deutlichsten und nachhaltigsten beeinflussen. 200 Zuchtpaare sind nach seinen Berechnungen als Minimum für eine effektive Populationsgröße anzusetzen, um eine Auszucht dauerhaft ohne nennenswerte Allelverluste erhalten zu können, sofern korrekte Zuchtsysteme eingesetzt und keine leistungssteigernde Selektion betrieben wird. Die effektive Populationsgröße gibt die Zahl der Zuchtpaare an, die tatsächlich Zuchttiere für die nächste Generation (Remonten) liefert.

Im Gegensatz zu Inzuchtstämmen mit einem sehr kleinen Zuchtkern benötigt man also zu einer dauerhaften Führung eines Auszuchtstammes eine große effektive Kernzucht mit einem minimalen Verwandtschaftsgrad (Inzuchtkoeffizienten; [Möglichkeit zur Berechnung s. Anhang]) zwischen den Tieren sowie einer stabilen und einheitlichen Familiengröße (Abb. 1).

N_e	Relativer Inzuchtanstieg pro Generation
200	0.25%
400	0.12%
480	0.10%

$N_e = 4n/2 + s^2_F$

s^2_F = Varianz der Familiengröße; n = Anzahl der tatsächlich züchtenden Tiere

Abb. 1: Beispiele für unterschiedliche effektive Populationsgrößen (N_e) und deren Effekt auf den Anstieg des Inzuchtkoeffizienten

5. Zuchtssysteme zur Führung von Auszuchtstämmen

Die Zuchtverfahren zur Erzeugung definierter Versuchstierstämme bilden naturgemäß einen der wesentlichsten Einflussfaktoren auf die genetische Tierqualität. Daher ist ihnen seitens der Züchter besondere Aufmerksamkeit zu widmen, da Fehler, die in der Zucht gemacht wurden, später nicht mehr korrigiert werden können und beinahe zwangsläufig zu Fehlinterpretationen im Versuch führen. Die Verfahren müssen deswegen das Erreichen des jeweiligen Zuchtzieles optimal ermöglichen, im praktischen Betrieb gut und dauerhaft umsetzbar sowie effektiv zu überwachen sein.

Rapp (1972) hat die wesentlichen Anforderungen zusammengestellt, die an ein Auszuchtssystem zu stellen sind:

- Maximaler Erhalt populationsspezifischer Allel- und Genotypfrequenzen
- Minimierung der Homozygotiezunahme und des Inzuchtgrades
- Vermeidung von Sublinienentstehung
- Einfache Anwendbarkeit

Dazu kann der Züchter auf folgende Möglichkeiten zurückgreifen:

- Rechnergestützte Verfahren
- Rotationssysteme
- Kombinierte Systeme

Rechnergestützte Verfahren werden von Rapp et al. (1991) beschrieben und bilden sicher das Optimum hinsichtlich der Stabilisierung der genetischen Variation, sind jedoch kosten- und arbeitsintensiv.

Gut auf die Praxis abgestellt sind die so genannten Rotationssysteme, die von Rapp (1972) und Eggenberger (1973) hinsichtlich der o. g. Qualitätsanforderungen miteinander verglichen werden.

Die Punkte, die im Einzelnen bei der Umsetzung der Rotationsverfahren sowie bei der Versuchsgruppenezusammenstellung mit Auszuchtieren zu beachten sind, werden ausführlich bei Kluge (1998) besprochen.

Zielsetzungen bei der Verwendung von Rotationssystemen

- Gleichmäßige Durchmischung des genetischen Pools eines Auszuchtstammes
- Gleiche Gewichtung aller familiären Genotypen im Verlauf der Generationen
- Minimierung des Verwandtschaftsgrades zwischen den Tieren
- Hohe Wiederholbarkeit von Allel- und Genotypfrequenzen sowie der phänotypischen Merkmalsverteilungen

In Abb. 2 sind die vier Standardverfahren aufgeführt, mit denen der Züchter prinzipiell am besten in der Lage ist, diese Anforderungen zu erfüllen, wobei jedoch hinsichtlich der Populationshomogenität deutliche Qualitätsunterschiede zwischen den verschiedenen Systemen bestehen (Eggenberger, 1973). Unter Praktikabilitäts Gesichtspunkten können besonders die Han-Rotation (Rapp, 1972) und das Falconer-System (Falconer, 1967) empfohlen werden.

Die Anwendung eines Rotationsverfahrens bedingt die Gliederung der Population in so genannte Blöcke (im Minimalfall entspricht ein Block einem Zuchtkäfig (Rapp, 1972), wobei deren Zahl von Generation zu Generation konstant bleibt und bei der Han- und der Falconer-Rotation gerade oder ungerade sein kann. Wichtig dabei ist, dass die Kombination der einzelnen Blöcke in jeder Generation zu einer gleichmäßigen Durchmischung der Gesamtpopulation führt (ist beim System *Poiley* nicht gegeben) und von jedem Elternpaar ein männlicher und ein weiblicher Nachkomme zur Remontierung der nächsten Zuchtgeneration beiträgt. Dadurch ergibt sich eine fortdauernde, gleichmäßige Gewichtung der Genotypen.

Leicht nachzuvollziehen ist die Tatsache, dass die angesprochenen Auszuchtssysteme erst ab einer bestimmten Mindestpopulationsgröße bezüglich der oben aufgeführten Qualitätskriterien zu zufriedenstellenden Ergebnissen führt.

Eggenberger (1973) kommt anhand von Simulationsstudien auf eine Zahl von mindestens 400 Zuchtieren als dauerhafte Basis für stabile Genfrequenzen in einer geschlossenen Population, wobei 100 Zuchtgenerationen berücksichtigt wurden.

Generation/Schema	Poiley	Robertson	Falconer	HAN
	Bl.-Nr. w x m			
1	1 4 x 3	1 2 x 1	1 2 x 1	1 1 x 4
	2 1 x 4	2 4 x 3	2 3 x 2	2 2 x 1
	3 2 x 1	3 1 x 2	3 4 x 3	3 3 x 2
	4 3 x 2	4 3 x 4	4 1 x 4	4 4 x 3
2	s. Generation	s. Generation	1 3 x 1	1 1 x 3
	1	1	2 4 x 2	2 2 x 4
			3 1 x 3	3 3 x 1
			4 2 x 4	4 4 x 2
3	s. Generation	s. Generation	1 4 x 1	s. Generation
	1	1	2 1 x 2	1
			3 2 x 3	
			4 3 x 4	
4	s. Generation	s. Generation	s. Generation	s. Generation
	1	1	1	2
5	s. Generation	s. Generation	s. Generation	s. Generation
	1	1	2	1

Abkürzungen: Bl.-Nr.: Blocknummer; m Männchen; w Weibchen; Angabe der Weibchen und Männchen mit ihrer jeweiligen Blocknummer

Abb.2: Rotationsschemata zur Führung von Auszuchtpopulationen (beispielhaft mit 4 Blöcken = Gruppen) (mod. nach Rapp, 1972)

Vergleich und Bewertung von Rotationssystemen (*Poiley, Robertson, Falconer, HAN*) für Auszuchtpopulationen (nach Eggenberger, 1973, Rapp, 1972)

Zielmerkmal: Änderungen der Allelfrequenzen durch Zufallsdrift und Selektion

Aussage: Für dieses Merkmal ist die effektive Populationsgröße wesentlich entscheidender als das Rotationsverfahren. Mit einer Zahl von $n \geq 400$ Zuchttieren können stabile Allelfrequenzen über 20 Generationen erreicht werden. Wesentlich ist die gleichmäßige Remontierung mit einem Bock und einem Weibchen pro Verpaarungseinheit. Leistungssteigernde Selektion muss auf jeden Fall vermieden werden.

Zielmerkmal: Homogenität der Herkunftsverteilung der Allele
(Vermeidung von Sublinienbildung)

Aussage: Das System *Poiley* ist **nicht** empfehlenswert, da hier eine ungleiche Allelzuteilung zu den Blöcken zu Allelverlusten führt und damit zu einer steigenden Variation zwischen den Teilpopulationen (Blöcken): eine Entstehung von Sublinien ist ab Blockzahlen ≥ 7 vorprogrammiert.

Die Systeme *Robertson*, *Falconer* und *HAN* sind für dieses Merkmal als gleich einzustufen und bewirken eine ausgeglichene Allelverteilung.

Zielmerkmal: Entwicklung des Inzuchtkoeffizienten

Aussage: Poiley: unterschiedlich in den Sublinien, negativ zu beurteilen wegen Fehlen einer homogenen Gesamtpopulation.
Das System Robertson entspricht HAN für gerade Blockzahlen.
Falconer weist abhängig von der (ungeraden) Blockzahl (ab $n \geq 7$) eine höhere Inzuchtsteigerung auf als HAN.
Empfehlung: HAN

Zielmerkmal: Praktische Anwendbarkeit

Aussage: System Poiley: im Prinzip sehr einfach, aber aufgrund der Gefahr der Sublinienbildung grundsätzlich abzulehnen.

System Robertson ist nur bei geraden Blockzahlen einsetzbar, ist somit bzgl. der Flexibilität in der Zucht begrenzt.

Die Systeme Falconer und HAN sind für beliebige Blockzahlen verwendbar und daher am flexibelsten einzusetzen.

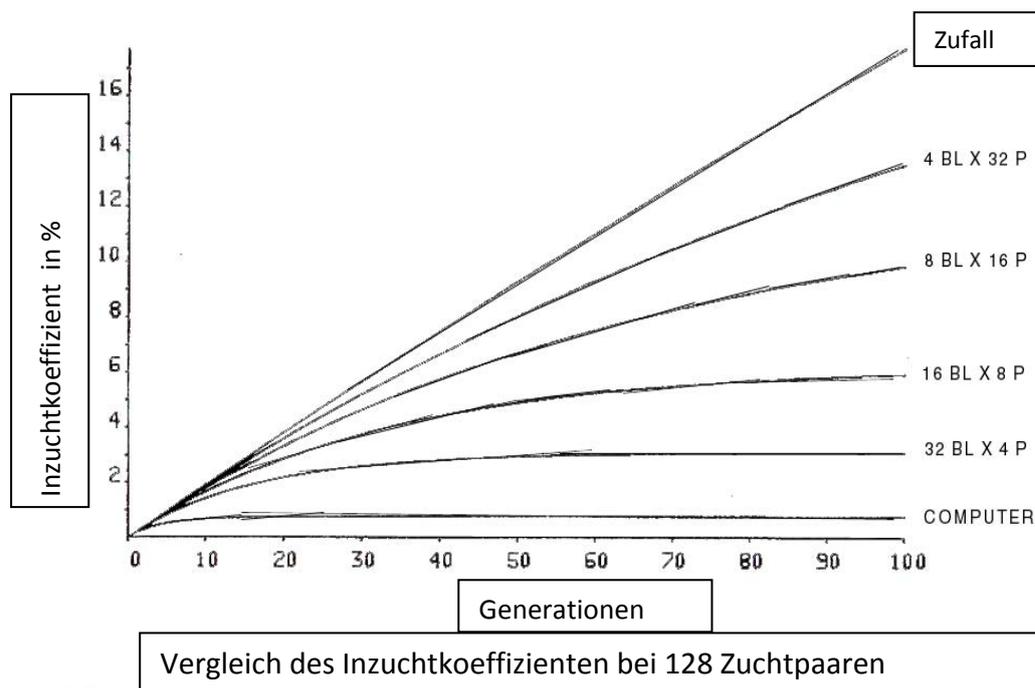


Abb.3: Vergleich der Entwicklung des Inzuchtkoeffizienten in einer fiktiven Auszuchtpopulation mit 128 Zuchtpaaren unter Anwendung von Zufallsverpaarung, einem rechnergestützten Verpaarungssystem und dem Robertsonschen zyklischen Rotationssystem in Abhängigkeit von Gruppengröße und -größe (unterschiedliche Zahlen von Zuchtblöcken [BL] und Zahlen der Zuchtpaare/Block [P])

Abb.3 verdeutlicht die Entwicklung des Inzuchtkoeffizienten (F) bei einer relativ kleinen (fiktiven) Zuchtpopulation, wobei hier der Idealzustand von $F = 0$ in der Ausgangspopulation angenommen wird. Klar wird aus dieser Darstellung, dass eine Zufallsverpaarung von Auszuchtieren die schlechteste Wahl ist, hingegen eine möglichst starke Aufspaltung der Zuchtpopulation (viele Blöcke mit jeweils wenigen Zuchtpaaren) bei einem gegebenen Rotationssystem zu einem minimalen Anstieg des Inzuchtkoeffizienten führt, dessen geringe Steigerung sich der Effizienz von rechnergestützten Verfahren nähert. Daher ist eine klare Empfehlung, das verwendete Rotationssystem mit einer großen Blockzahl zu besetzen. Verpaarungskombinationen für größere Blockzahlen sind in Abb. 4 aufgeführt.

System	Blocknummer	Weibchen		Männchen
Robertson	1	2	x	1
	2	4	x	3
	3	6	x	5
	4	8	x	7
	5	1	x	2
	6	3	x	4
	7	5	x	6
	8	7	x	8
HAN	1	1	x	9
	2	2	x	1
	3	3	x	2
	4	4	x	3
	5	5	x	4
	6	6	x	5
	7	7	x	6
	8	8	x	7
	9	9	x	8
Falconer	1	2	x	1
	2	3	x	2
	3	4	x	3
	4	5	x	4
	5	6	x	5
	6	7	x	6
	7	8	x	7
	8	9	x	8
	9	1	x	9

Abb. 4: Verpaarungskombinationen der Zuchtblöcke bei den Rotationssystemen nach Robertson mit 8 Gruppen (Blöcken) für Generation 1; für HAN und Falconer mit je 9 Blöcken (Gruppen); Angabe der Weibchen und Männchen mit ihrer jeweiligen Blocknummer

Unabhängig vom Rotationsverfahren ist die Einhaltung der nachstehenden Kriterien bei der Auswahl neuer Zuchttiere (Remonten) für eine Folgegeneration dringend zu empfehlen, um eine unbeabsichtigte Selektion zu vermeiden (Kluge, 1997):

- Genaue Registrierung der Abstammungsdaten beim Absetzen der Nachkommen
- Haltung der Wurfgeschwister, aus denen die Remontierung erfolgen soll, in Form einer Brüder- und einer Schwesterngruppe bis zum Verpaarungszeitpunkt.
- Endgültige Auswahl der Remonten erst zum Verpaarungszeitpunkt und nicht beim Absatz.
- Gezielte Auswahl Tiere **mittlerer** Körpergröße (Populationsspezifität beachten!) aus dem Remontenwurf (bietet die größte Sicherheit für eine hohe individuelle Heterozygotie).
- Als Remontenwürfe sollten solche gewählt werden, die bezüglich Jungtierzahl und Wachstumsentwicklung dem Populationsmittel entsprechen.

6. Nomenklatur von Auszuchtstämmen

Die Nomenklatur von Auszuchtstämmen lehnt sich in ihrer Systematik an die der Inzuchten an und wurde in ihren Grundzügen bereits von Festing et al. (1972) beschrieben. Aktuell abrufbar sind die Regeln unter www.informatics.jax.org Als eigentlicher Stammname ist heutzutage nur eine Buchstabenkombination aus 3 - 5 Großbuchstaben erlaubt (z.B. NMRI); historisch können auch zusätzlich noch Ziffern integriert sein (z.B. CD1). Das zu verwendende Züchternkürzel darf aus bis zu 3 Buchstaben bestehen, von denen nur der erste Buchstabe groß geschrieben wird. Um einen Stamm in seiner historischen Entwicklung genau verfolgen zu können, sollten alle relevanten Züchter in der vollständigen Stammbezeichnung genannt sein. Züchtercodes und Stammname sind durch einen Doppelpunkt voneinander getrennt, die Züchter werden zuerst genannt, bei Nennung mehrerer Züchternkürzel steht der aktuelle Züchter als erster.

Beispiele: RjHan:NMRI ; Crl:Wi

7. Aufbau und Einsatz von Versuchsgruppen mit Auszuchtstieren

Die Versuchsgruppen werden in den meisten Fällen mit Hilfe von Zufallsverfahren zusammen gestellt. Dies setzt allerdings voraus, dass die Stichprobe (Versuchstiere) aus einer zufallsverteilten Grundgesamtheit stammt, was bei den üblicherweise verwendeten Tierzahlen und Herkunftsn nicht der Fall ist. Daher ist besonders bei der Verwendung von Auszuchtstieren eine systematische Verteilung der Genotypen

auf die einzelnen Untersuchungsgruppen erforderlich, um vor Beginn eines Versuches eine ausgeglichene Varianz zwischen den Gruppen zu gewährleisten. Das nachstehende Beispiel (Abb. 5) zeigt für eine gegebene Stichprobe und dem Zielmerkmal ‚Anzahl Erythrozyten‘ eine zweimalige Zufallsverteilung der Tiere auf vier Versuchsgruppen verglichen mit der *systematischen* Verteilung der Geschwistertiere. Es wird deutlich, dass letzteres Verfahren zu den ausgeglicheneren Intergruppenvarianzen (kleinster F-Wert) führt. Dadurch kann ein tatsächlicher Versuchseinfluss auf das Zielmerkmal am sichersten erkannt und statistisch abgesichert werden.

Die Anwendung der systematischen Geschwisterverteilung setzt natürlich voraus, dass die Abstammung der Tiere bekannt ist und sie entsprechend zugeordnet werden können (Abb. 6). Daher geht eine dringende Empfehlung an die Züchter, die Herkunfts- und Wurfzugehörigkeit der Absatztiere zu dokumentieren.

Zielmerkmal: Erythrozytenzahl		Zusammenstellung der Versuchsgruppen durch Zufallsverfahren (je zwei Wiederholungen)				Zusammenstellung der Versuchsgruppen durch systematische Geschwisterverteilung	
		1		2			
Männchen		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
	1	9.34	0.54	9.71	0.33	9.30	0.45
	2	9.62	0.42	9.18	0.56	9.43	0.45
	3	9.16	0.36	9.61	0.10	9.43	0.57
	4	9.45	0.61	9.61	0.51	9.43	0.57
	F	3.13*		9.66**		0.26	
Weibchen		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
	1	9.45	0.48	9.38	0.52	9.09	0.53
	2	8.98	0.48	9.30	0.62	9.16	0.64
	3	9.36	0.59	9.06	0.59	9.23	0.53
	4	8.96	0.57	9.04	0.59	9.28	0.59
	F	4.51**		1.87		0.43	

Abb.5: Auswirkung der Verteilungsverfahren von Auszuchtstieren auf Versuchsgruppen: Vergleich von Zufallsverfahren und systematischer Wurfgeschwisterverteilung (F Signifikanzwert nach Varianzanalyse; *95% Sicherheit; **99% Sicherheit)

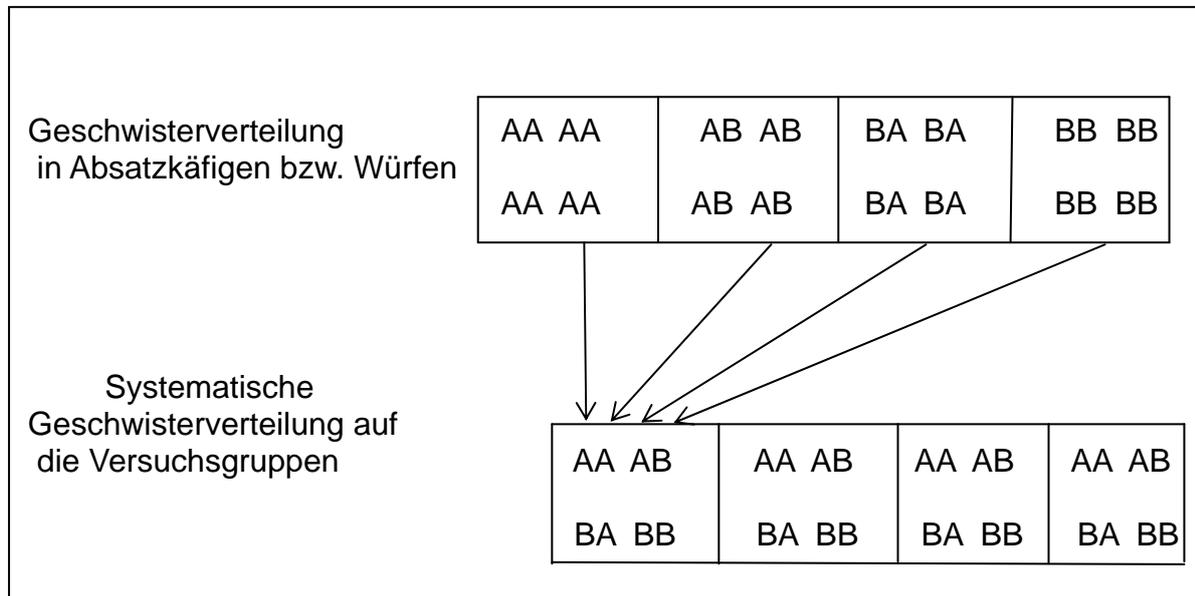


Abb. 6: Empfehlung zur systematischen (gleichmäßigen) Verteilung von Wurfgeschwistern (Genotypen) auf die Versuchsgruppen

8. Genetische Kontrolle bei Auszuchtpopulationen

Die genetische Kontrolle von Auszuchtstämmen ist aktuell ein Bereich, der noch deutlich zu optimieren ist. Während für Inzuchten ein großes Markerrepertoire an DNA-Polymorphismen genutzt wird, gibt es für die Auszuchten bislang keine standardisierten Monitoring Programme bzw. Markersets. Im Prinzip sind natürlich die gleichen Marker anwendbar wie bei Inzuchten und werden z. B. auch bereits für den Vergleich von Populationen (Shek, 1997) sowie die genetische Analyse quantitativer Merkmale anhand von Auszuchtpopulationen eingesetzt (Yalcin und Flint, 2012).

In der Vergangenheit wurden biochemische Polymorphismen genutzt, um die genetischen Variation in Auszuchten zu beschreiben und Monitoring durchzuführen (Groen und Lagerwerf, 1979; Hörstgen et al., 1980; Kluge et al., 1986; Cui et al., 1993). Sie werden heutzutage aus methodischen Gründen aber kaum noch eingesetzt und geben aufgrund ihrer begrenzten Anzahl und chromosomalen Verteilung natürlich auch kein repräsentatives Bild der Gesamtvariation eines Stammes ab.

Auch beim Vorhandensein genügender und chromosomal entsprechend verteilter Marker sind die zu untersuchenden Stichprobengrößen, die ein repräsentatives Bild einer Kernzucht abgeben müssen sowie die Untersuchungsfrequenzen festzulegen. Diese Rahmenbedingungen sind für Hygienemonitoringverfahren seit langem etabliert, für genetisches Monitoring, vor allem von Auszuchten, fehlen sie noch.

Phänotypische Merkmale (z.B. Reproduktionsleistung, Körpergewichtsentwicklung) werden zumindest teilweise bei den Züchtern zu Kontrollen verwendet. Es ist auch sehr wichtig, solche komplexen, genetisch beeinflussten Merkmale mit in Monitoringverfahren zu integrieren. Je höher ihr Erblichkeitskoeffizient (h^2), desto sicherer spiegeln sie die genetische Zusammensetzung einer Population wider. Einfluss und Bedeutung quantitativer Merkmale und der Zuchtmethodik für das Monitoring von Auszuchten werden bei Burow et al. (1981) dargestellt .

9. Genetische Eigenschaften vorhandener Auszuchtstämme

Alle kommerziellen Versuchstierzüchter bieten auch Auszuchtstämme an, so dass die generelle Verfügbarkeit dieses Modells unproblematisch ist. Die genetische Qualität hingegen ist jedoch nicht immer im erforderlichen Maße gegeben. Das lässt sich insbesondere auf nachstehende Faktoren zurückführen:

- Kleine Founderpopulationen
- Keine oder unvollständige Anwendung definierter Zuchtssysteme (Rotationsverfahren)
- Verteilung der Kernzuchten auf verschiedene Standorte
- nichtstabilisierende Selektion bei den Remonten
- Verlust von Abstammungsdaten
- Genetische Flaschenhälse durch hygienische Sanierungen

Die Founderpopulationen der aktuellen Auszuchtstämme bestanden häufig aus nur wenigen, z.T. sogar verwandten Tieren und führten damit fast zwangsweise zu einer geringen genetischen Heterogenität in der züchterischen Aufbauphase, die in der Folgezeit durch ‚genetische Flaschenhälse‘ (Einengung der ursprünglich vorhandenen genetischen Variabilität aufgrund hygienischer Sanierungen meistens noch mehrere Male reduziert wurde. Eine weitere wesentliche Ursache der geringen genetischen Stabilität der Populationen ist die bei Eggenberger (1973) genannte und untersuchte ‚Selektion‘. Praktische Beispiele zeigen, dass eine (meist unbewusste) Selektion bei den Remonten zu drastischen Veränderungen der Genotypenzusammensetzung von Populationen führt und damit die geforderte genetische Konstanz über längere Zeiträume nicht gegeben ist (Meyer, 2001). Das führte bereits dazu, dass einzelne Stämme völlig neu aufgebaut werden mussten, weil die Vergleichbarkeit der Versuche mit Tieren aus verschiedenen Zeitabschnitten und Zuchtgenerationen gar nicht mehr gegeben war (White, 1992). Definierte Rotationsschemata werden von den meisten Züchtern nicht konsequent und durchgehend eingesetzt, was häufig auf eine Unterverteilung eines Stammes auf unterschiedliche Zuchtstandorte zurückzuführen ist, so dass zumindest in Einzelabschnitten Zufallsverpaarung durchgeführt wird, dadurch die Gefahr einer größeren Inzuchtsteigerung gegeben ist (Abb. 3) und auf jeden Fall die Wiederholbarkeit der Genotypen und ihrer Frequenzen negativ beeinflusst wird. Ein wesentliches Qualitätskriterium der Auszuchtpopulationen ist ihre genetische Heterogenität, vor allem aber deren Stabilität im Verlauf der Generationen. Durchschnittliche Heterozygotiegrade bei Auszuchten (berechnet anhand von polymorphen Markern) liegen zwischen 21 und 50% (Groen und Lagerwerf, 1979; Hörstgen et al, 1980; Cui et al, 1993; Klötting et al, 2003). Dabei gibt es große Differenzen zwischen den einzelnen Populationen. Yalcin et al (2010) stellten fest, dass ca. 45% der genetischen Gesamtvarianz von Populationen auf Unterschieden **zwischen** Auszuchtstämmen beruht.

Zu beachten ist, dass bei keiner der aufgeführten Untersuchungen Angaben zur Stichprobenzusammenstellung und Tierauswahl gemacht wurden und eine Momentaufnahme darstellen. Insofern ist die Wiederholbarkeit und Aussagekraft dieser Studien zumindest bezüglich einer Langzeitstabilität der gefundenen Variation sehr begrenzt. Unter diesem Aspekt sind auch Vergleiche mit Wildpopulationen (Klötting et al., 2003) zu sehen, die gern als Qualitätsmaßstab für Auszuchtpopulationen herangezogen werden. Auch diese Studien bilden nur eine zeitliche Momentaufnahme und stellen lediglich einen sehr begrenzten Ausschnitt aus dem gesamten Genotypenspektrum von Populationen ab.

10. Modelllimitierungen

Ausgehend von der Tatsache, dass für eine hohe Wiederholbarkeit der Versuchsergebnisse mit Auszuchten für jedes Experiment ein repräsentativer Querschnitt der Genotypenverteilung vorliegen müsste, zeigen sich unter praktischen Anwendungsbedingungen sehr schnell die Limitierungen des Modells ‚Auszucht‘. In den meisten Fällen werden für die einzelnen Versuchsabschnitte nur sehr begrenzte Tierzahlen bestellt und eingesetzt. Zudem erfolgt die Tierbestellungen und Gruppenzuordnungen häufig ausschließlich nach einem bestimmten Körpergewicht und lässt den wichtigen Variationsfaktor ‚Alter‘ außer Acht. Das führt im Regelfall zu einer sehr begrenzten Wiederholbarkeit der Stichprobenezusammensetzung, zumal aufgrund der meist fehlenden Abstammungsdaten auch noch die Verteilungsproblematik der Tiere auf die Versuchsgruppen greift. Weder eine echte Zufallsverteilung ist möglich (da keine Zufallsstichprobe aus der Grundgesamtheit vorliegt) und schon gar nicht die geforderte systematische Aufteilung der Experimentaltiere.

11. Alternativen zum Auszuchtmodell

Aufgrund der angesprochenen Probleme bei Zucht und Anwendung des Auszuchtmodells stellt sich die Frage nach möglichen Alternativen. Hier sind in erster Linie *F2-Populationen* aus Inzuchtstämmen sowie *Mosaiken* (Cholnoky et al., 1969) zu nennen. Letztere bestehen aus mindestens zwei Inzuchtstämmen und ihren reziproken F1-Generationen. Vor allem die Mosaiken sind hervorragend geeignet, Versuchsgruppen mit absolut wiederholbarer genetischer Varianz zu erstellen. Hier ist allerdings die systematische Aufteilung der Genotypen auf die Experimentalgruppen eine unabdingbare Anwendungsvoraussetzung.

Wesentliche Limitierungen dieser Modelle bestehen darin, dass keine kontinuierliche Weiterzucht möglich ist und daher eine entsprechend lange und exakte zeitliche Vorausplanung der Versuche und der Zucht notwendig sind.

Wenn die Verteilungssystematik der Tiere auf die Versuchsgruppen nicht berücksichtigt wird, geht die Wiederholbarkeit solcher Versuche gegen Null, was dem wissenschaftlichen Anspruch an Tierversuche sowie dem Tierschutzgedanken absolut widerspricht.

12. Zitierte und weiterführende Literatur

Burow, K., K.G. Rapp and R. Kluge (1981): Components of variance and their importance for genetic monitoring of outbred populations. *Zwierzeta Laboratoryjne* 18: 35 – 44

Cui, S., C. Chesson and R. Hope (1993): Genetic variation within and between strains of outbred Swiss mice. *Lab. Anim.* 27: 116 - 123

Cholnoky, E., J. Fischer und S. Josza (1969): Aspects of genetically defined populations in toxicity testing. I. A comparative survey of populations obtained by different breeding systems and 'mosaic populations'. *Z Versuchstierk.* 11: 298 - 311

Dietl, G. und M. Langhammer (1997): Conservation of rare breeds of animals – objectives and possibilities. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 40: 135 – 141

Falconer, D.S. (1967): Genetic aspects of breeding methods. In: *The UFAW Handbook*, 3rd ed., Livingstone, Edinburgh-London

Groen, A. and A.J. Lagerwerf (1979): Genetic heterogeneity and genetic monitoring of mouse outbred stocks. *Lab. Anim.* 13: 81 - 85

Eggenberger, E. (1973): Modellpopulationen zur Beurteilung von Rotationssystemen in der Versuchstierzucht. *Z. Versuchstierk.* 15: 297 – 331

Hörstgen, G., J.N. Meyer, K. Burow und K.G. Rapp (1980): Elektrophoretische Darstellung und Anteil genetischer Polymorphismen bei Han:NMRI Mäusen. *Z. Versuchstierk.* 22: 16 - 24

Kimura, M. und J.F. Crow (1963): On the maximum avoidance of inbreeding. *Genet. Tes.* 4: 399 – 415

Klötting, I., C. Nitzschke, and J. van den Brandt (2003): Impact of genetic profiles on experimental studies: outbred versus wild rats. *Tox. Appl. Pharm.* 189: 68 - 71

Kluge, R., K.G. Rapp und K. Burow (1986): Biochemical markers in the Han:NMRI outbred stock. *Z. Versuchstierk.* 28 (5): 232 – 233

Kluge, R. und K.G. Rapp (1989): Genetic influences on blood characters in rats and mice. *Z. Versuchstierkd.* 32: 210

Langhammer, M. (1998): Zucht in kleinen Populationen. *Tierärztl. Umschau* 53: 87 – 93

Langhammer, M. und G. Dietl (1994): Experimentelle Prüfung von Anpaarungsprinzipien in kleinen Populationen bei der Labormaus. Arch. Tierz., Dummerstorf 37: 175

Loosli, R. (1969): Stabilisierung genetischer Faktoren im Tierversuch. Bibl. Microbiol. 7: 9 – 21

Meyer, J. (2001): Auswirkungen intensiven Wachstums auf Konstitutionsmerkmale in einer Mäuse-Auszuchtpopulation: Ein Vergleich von Lebensleistungsdaten der G 89/90 mit denen der G 8/9 der 60er Jahre. Arch. Tierz. 44 (4): 451 – 460

Poiley, SM (1960): A systematic method for breeder rotation for non-inbred laboratory animal colonies. Proc. Animal Care Panel 10: 159 – 166

Rapp, KG. Und HJ. Hedrich (1974): Phenotypic interrelations among reproductive characteristics of Han:NMRI mice. Z. Versuchstierk. 16: 197 – 205

Rapp, KG. Und HJ. Hedrich (1974): Reproduktionsleistungen und deren phänotypische Zusammenhänge bei Han:WIST Ratten unter verschiedenen Haltungsbedingungen. Z. Versuchstierk. 16: 85 – 101

Rapp, KG. Und HJ. Hedrich (1974): Reproduktionsleistungen und deren phänotypische Zusammenhänge bei Han:NMRI-Mäusen unter verschiedenen Haltungsbedingungen. Z. Versuchstierk. 16: 328 336

Rapp, KG. und F. Deerberg (1987): Zur Problematik der Stichprobenentnahme und Versuchsgruppenszusammenstellung bei Auszuchtpopulationen. Z. Versuchstierkd. 29: 193 – 203

Rapp, KG. (1972): HAN-rotation, a new system for rigorous outbreeding. Z. Versuchstierk. 14: 133 – 142

Rapp, KG., K. Burow, und R. Kluge (1981): Monitoring of outbred populations. Zwierzeta Laboratoryjne 18 (2): 25 - 33

Rapp, KG. und R. Kluge (1987): Genetische Kontrolle bei Auszuchtpopulationen. Int. Symposium Labortierhaltung, Matrafüred, Ungarn: 33 – 34

Rapp, KG., R. Kluge und K. Burow (1991): Genetische Steuerung von Auszuchtstämmen am Beispiel der Han:NMRI-Mäusepopulation. In: Gärtner, K. (ed.): Qualitätskriterien in der Versuchstierforschung: 149 – 174, Verlag Chemie Weinheim

Rapp, KG., R. Kluge und K. Burow (1986): Studies on the genetics of quantitative traits in Han:NMRI mice. Z. Versuchstierk. 28(5): 233

Rapp, KG., R. Kluge und E. Sickel (1989): Die Verwendung von EDV-Systemen in der Zucht von Auszuchtpopulationen. Z. Versuchstierkd. 32: 218 – 219

Rice, M.C. and S.J. O'Brien (1980): Genetic variance of laboratory outbred Swiss mice. *Nature* 283: 157 - 161

Rehm, S., D. Dierksen und F. Deerberg (1984): Spontaneous ovarian tumors in Han:NMRI mice: histologic classification, incidence and influence of food restriction. *JNCI* 72 (6): 1383 – 1395

Rehm, S., F. Deerberg und KG. Rapp (1984): A comparison of life-span and spontaneous tumor incidence of male and female Han:WIST virgin and retired breeder rats. *Lab. Anim. Sci.* 34 (5): 458 - 464

Rehm, S., KG. Rapp und F. Deerberg (1985): Influence of food restriction and body fat on life span and tumor incidence in female outbred Han:NMRI mice and two sublimes. *Z. Versuchstierk.* 27: 249 – 283

Shek, W.R. (1997): Comparative genetic monitoring of Crl and Brl Han:Wistar rat stocks by analysis of protein, and microsatellite and minisatellite DNA polymorphisms. *Crl Report*, April 24, 1997

White, W.J. (1992): Issues in toxicology. Longevity in rats. 6. Short Course of CRL, Bad Zwischenahn, Germany

Yalcin, B., J. Nicod, A. Bhomra, S. Davidson, J. Cleak, L. Farinelli et al. (2010): Commercially available outbred mice for genome-wide association studies *PLoS Genet* 6 (9), e 1001085

Yalcin, B. und J. Flint (2012): Association studies in outbred mice in a new era of full-genome sequencing. *Mamm Genome* 23: 719 - 726

Anhang

Berechnung des individuellen Inzuchtkoeffizienten (Verwandtschaftsgrad):

$$R_{XY} = \frac{\Sigma(1/2)^{n_1+n_2} (1 + F_A)}{\sqrt{(1 + F_X)(1 + F_Y)}}$$

R = Verwandtschaftskoeffizient zwischen den Individuen X und Y

n_1 = Anzahl der Generationen zwischen dem Individuum X und einem gemeinsamen Ahnen

n_2 = Anzahl der Generationen zwischen dem Individuum Y und einem gemeinsamen Ahnen

F_A = Inzuchtkoeffizient des gemeinsamen Ahnen

F_X = Inzuchtkoeffizient des Individuums X

F_Y = Inzuchtkoeffizient des Individuums Y

