

Arbeitstitel

**Vergleich der chromosomalen
Aberrationsfrequenzen zweier Grosselternlinien
beim Huhn mit unterschiedlicher
frühembryonaler Mortalität (Typ 55 und 88)**

Saefudin

(Institut für Tierzucht und Tierhaltung mit Tierklinik)

Chromosomenmutationen:

... Mutationen, die zu strukturmäßigen Veränderungen eines Chromosoms führen

Hierzu gehören :

- ⊍ **Deletionen** bzw. **Defizienzen**: Verlust eines Segmentes am Chromosomenende d.h. terminal (Defizienz), oder innerhalb (Deletion)
 - ⊍ **Duplikation**: Verdopplung von Chromosomensegmenten
 - ⊍ **Inversion**: Umbau, indem ein Segment nach zwei Brüchen um 180° gedreht und wieder eingebaut wird
 - ⊍ **Translokationen**: Einnahme einer neuen Lage eines Segmentes im Genom
- Besondere Formen der Chromosomenmutation sind die Trennung zweiarmiger Chromosomen im Centromer (**Fission**) sowie die Verschmelzung einarmiger Chromosomen an den Centromeren (**Fusion** od. Ganzarm-Translokation)

Numerische Aberration (Genommutation):

... eine durch Verminderung oder Vermehrung der Chromosomenzahl charakterisierte quantitative Veränderung des Erbanlagenbestandes

Allgemein üblich ist die Unterteilung in zwei Formen:

- ⊔ **Euploidie-Mutationen:** Verlust oder Zugewinn ganzer Chromosomensätze (z.B. **Haploidie** und **Polyploidie** in Körperzellen, **Diploidie** bei Gameten)
- ⊔ **Aneuploidie-Mutationen:** Zusätzliches Vorhandensein oder Fehlen einzelner Chromosomen (**Hyper-** oder **Hypoploidie** z.B. **Monosomie**, **Trisomie**, **Nullisomie**)

Entstehung euploider Aberrationen nach FECHHEIMER (1981):

⊔ **Haploidie** (1AZ oder 1AW) und **Haploid-Mosaik** (1n/2n, 1n/2n/3n...)

- Die Haploidie in reiner Form und vor allem vergesellschaftet mit anderen euploiden Typen (Mosaik bzw. Chimären) ist beim Geflügel der häufigste Aberrationstyp und wird auf einen Anteil an den Gesamtaberrationsfrequenzen von **etwa 50 %** geschätzt.
- BLOOM (1972) sowie SNYDER et al. (1975) geben **57 %** an.
- **2-3 % der Haploiden leben noch am 4. Inkubationstag, sterben jedoch zwischen dem 5. und 7. Tag ab** (BLOOM 1972 und 1974).
- **Haploide Zellen** sind immer vom **1AZ-Typ**, da Zellen ohne Z-Chromosom (ähnlich wie beim Säuger, ohne X-Chromosom) **letal** sind.

- ⊔ **Triploidie** (3AZZZ, 3AZZW, 3AZWW) und **Triploid-Mosaik**
(1n/2n/3n) u.a.
 - **Männliche Tiere** (3AZZZ) bilden **unbalancierte Gameten** und haben eine **geringe Fertilität**
 - **Weibliche Tiere** (3AZZW) sind mit **wenigen Ausnahmen Intersexe mit fehlerhafter Gonadentwicklung**
 - etwa **90 % der Triploiden sterben bis zum 4. Brutag ab**, ein Teil vom Rest kurz vor dem Schlupf (BLOOM,1972)
 - **selten schlüpfen lebensfähige Tiere** (BLOOM, 1970b)

- ⊔ **Tetraploidie** (4AZZZZ,4AZZWW) bzw. **Tetraploidie-Mosaik**
(2AZZ/4AZZZZ, 2AZW/4AZZWW)
 - Die Frequenzen für Tetraploidie werden mit 1,9 % (BLOOM, 1972) bzw. 0,6% (FECHHEIMER, 1981) für die jeweils untersuchte Linie und Stichprobe angegeben und als **ein sehr frühzeitig letaler Zustand** beim Huhn betrachtet.

Aneuploide Aberrationen

- ⌌ Die Frequenz der reinen Aneuploidie (das Gesamtindividuum umfassend) wurde für das Huhn mit **0,65%** aller Embryonen angegeben, wobei ein Drittel auf die geschlechtschromosomale Aneuploidie entfällt (FECHHEIMER, 1981).
- ⌌ Nach BLOOM (1972) beträgt der Anteil von verschiedenen Trisomien etwa **8,7%** der gesamten Aberrationsfrequenzen.
- ⌌ **Trisome Embryonen** weisen starke phänotypische Unterentwicklung auf und **sterben um den 4. Bebrütungstag ab.**

Strukturelle Aberrationen (Chromosomenmutationen)

- ⌌ Sowohl Deletionen als auch Inversionen und reziproke oder andere Translokationen wurden beim Huhn als **spontane Strukturumbauten** gefunden (RYAN u. BERNIR, 1968; ZARTMAN, 1973; BLOOM, 1974; LODGE et al., 1973, 1974 ... u.a.)

Zytopenetische Untersuchungsmethoden

Beim Geflügel werden in der Literatur folgende Methoden verwendet:

u Die Ausnutzung **der Spontanmitose** durch Präparation von:

- Federmark (BLOOM, u.a., 1969; FECHHEIMER, 1990; LADJALI u.a., 1995),
- Knochenmark (FECHHEIMER, 1990),
- **embryonalem Gewebe** (BLOOM, 1972; FECHHEIMER, 1981; MILLER u.a., 1976).

u Die **Induktion mitotischer Teilungen** durch:

- Kultur von weißen Blutzellen (ZARTMAN, 1972; BELTERMAN u.a., 1984),
- Fibroblastenkultur (FECHHEIMER, 1990; AUER u.a., 1987)

Vorarbeiten der Arbeitsgruppe Zytogenetik

u Karyotypcharakteristik

- aller **Hausgeflügelarten**: Huhn, Perlhuhn, Pute, Wachtel, Taube, Haus und Höckergans, Peking- und Moschusente auf Basis **Giemsa-gefärbter Metaphasechromosomen** (WAGNER,1990; KNUST, 1989; KLEIN u. SAAR, 1991, 1992; KLEIN u.a., 1991; DOMRES, 1990; APITZ u..a., 1991)
- der **4 Wassergeflügelarten** bei Anwendung verschiedener **Bandingtechniken an Fibroblasten mit computergestützten Auswertungsverfahren** (APITZ,1995; APITZ u.a., 1995; APITZ u..,1992,1993, 1994, 1995a,b, u. c,)

⊍ Chromosomenaberration

- bei **Geflügelbastarden** (VAGT, 1989; HAILU u.a., 1995a u. b, 1998, 1999)
- bei der **Gans** (SCHMIDT, 1989)
- bei Anwendung unterschiedlicher Besamungsintervalle bei der **Pute** (KNUST, 1989)
- nach unterschiedlich langer **Bruteilagerung** bei der **Pekingente** (APITZ, 1989)

⊍ Analyse der **Anzahl Nucleolus-organisierender Regionen** (NOR) im Karyotyp verschiedener Hausgeflügelarten sowie von **Aktivitätsunterschieden der NOR** an Metaphasechromosomen verschiedener Entwicklungsstadien bzw. an Interphasezellen (Nucleoli) der **Wachtel** (WAGNER, 1990; WAGNER u. SAAR, 1991; WAGNER u.a., 1993; 1994 a u. b; 1995, 1996 a u. b)

⊍ Analyse möglicher **Einflussfaktoren auf die Aberrationsfrequenzen** und deren **Typenspektrum** durch Vergleichsstudien an merkmalsdifferenzierten Selektionslinien verschiedener Geflügelarten: **Wachtel, Ente, Pute**

Ziele

- u Zytogenetische Analyse (Ermittlung numerischer Chromosomenaberrationen) von Embryonen zweier Linien des Huhns (Typ 55 und 88) der Fa. Lohmann Tierzucht GmbH Cuxhaven. Beide Elternlinien weisen unterschiedliche Schlupfergebnisse aufgrund unterschiedlicher embryonaler Mortalität auf.
- u Da auch ein Einfluss der Legeperiode in anderen Populationen nachgewiesen wurde, sollen bei der Analyse die möglichen zeitlichen Veränderungen der Aberrationsfrequenzen und der Eimerkmale (EEM als Einflussfaktor auf die chromosomale Aberrationsfrequenz) im Verlauf der Legeperiode erfasst und beachtet werden.

Material

- u Aus jeder Linie (55 und 88) wurden für die zytogenetische Analyse 20 Hennen (Halbschwesterpaare) als Stichprobe ausgewählt.
- u Geprüft werden 2 Abschnitte der Legeperiode (Legebeginn ab Woche vom 30.8.99 und die 45. Lebenswoche mit beginnendem Abfall in der Legekurve ca. Ende Januar 2000).

Analysemethode/Zytogenetik

- u Die Anfertigung der Chromosomenpräparate erfolgt unter Verwendung des Gesamtembryos nach einer modifizierten Methode, die bei relativ geringem Zeitaufwand die Analyse größerer Individuenzahlen gestattet (VAGT u. SAAR, 1986; VAGT, 1987).
1. Bebrütungsdauer: 48 Stunden bei 38 °C
 2. Chromosomenpräparation:
 - a. Colchizinbehandlung: Öffnung, Beimpf. 0,005%igen Colchizin, Ink. 1 Std. bei 38 °C,
 - b. Embryogewinnung,
 - c. Hypotonie : FKS:Aqua dest. =1:5 /38°C; Ink. 25min. bei 38°C,
 - d. Fixierung : Fixativ (Eisessig:Methanol = 1:3 / 0°C), 45 min., 4°C,
 - e. Anfertigung der Präparate,
 - f. Färbung mit Giemsalösung.

Auswertung der Präparate

- ⌋ Je Embryo werden 20 einzeln liegende Metaphasen beurteilt.
- ⌋ Aberrationen werden anerkannt, wenn Euploidie-Abweichungen mindestens einmal und aneuploide Veränderungen mindestens in 3-facher Wiederholung je Embryo auftreten.

Statistische Prüfung

- ⌋ Die statistische Prüfung zum Vergleich von Aberrationsfrequenzen erfolgt mit **Chi-Quadrat Test**.
- ⌋ Für alle statistischen Tests wird eine **Irrtumswahrscheinlichkeit** von **5 %** angenommen.

Chromosomenaberration



Chromosomenmutation:

- u Deletionen bzw. Defizienzen
- u Duplikation
- u Inversion
- u Translokationen
 - Fission
 - Fusion

Numerische Aberration (Genommutation):

- u Euploidie-Mutationen:
z.B. Haploidie und Polyploidie
- u Aneuploidie-Mutationen
(Hyper- oder Hypoploidie):
z.B. Monosomie, Trisomie,
und Nullisomie

- Entscheidend für die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist hier die Anwendung möglichst übereinstimmender methodisch-technischer Kriterien und Auswertungsprinzipien. Zu diesem Fragenkomplex wurden bereits Populationsstudien an der **Pekingente** (VAGT u. SAAR, 1986; VAGT, 1987; VAGT u.a., 1988, 1989) und **Japanischen Wachtel** (MAAROUF, 1988; MÜLLER, 1988; SAAR u. MAAROUF, 1990; TRAORE u.a., 1997; TRAORE, 1999) durchgeführt.