

sind. Als wichtigste Merkmale von Hinterwäldler Rindern wurden hier Charaktereigenschaften, Bemuskelung und Fleischleistung genannt. Der aktuelle Schwerpunkt von Zuchtziel und Leistungsprüfung liegt jedoch auf der Milchleistung. Bei der Befragung von Tierhaltern muss allerdings berücksichtigt werden, dass der einzelne Tierhalter selten das optimale Zuchtziel für die gesamte Population berücksichtigen wird. Außerdem sind Merkmale wie Charaktereigenschaften schwerlich objektiv zu erfassen. Dennoch bietet die direkte Befragung der Praktiker Einblick in die wahren praktischen Bedürfnisse. Hinzu kommt die Motivation der Tierhalter durch direkte Einbeziehung in Entscheidungsfindungen (Rössler et al., 2013). Die Leistungsprüfung für die genannten Merkmale ist jedoch von zentraler Bedeutung, da ohne sie naturgegeben keine Zuchtarbeit möglich ist.

Schlussfolgerung

Lokale Rassen haben es schwer und zunehmend schwerer, sich gegen Hochleistungsrassen zu behaupten. Für sie besteht der dreifache Zielkonflikt zwischen dem Zuchtfortschritt, der genetischen Diversität und der genetischen Eigenständigkeit. Dieser Zielkonflikt kann systematisch durch geeignete Züchtungsmethoden gelöst werden. Die genetische Selektion in kleinen Populationen ist derzeit nicht praktikabel. Jedoch sollten in den kleinen Populationen gewisse Vorarbeiten getroffen werden, um abschätzen zu können, ob dieses Zuchtinstrument auch eine Alternative für sie darstellen könnte. Die Berücksichtigung spezifischer Merkmale (Mischenmerkmale) im Zuchtziel verlangt die Etablierung von Leistungsprüfungen für diese Merkmale, ohne die eine Zuchtarbeit nicht möglich ist.

Literatur

- BENNEWITZ, J. und T.H.E. MEUWISSEN, (2005): Estimation of extinction probabilities of five german cattle breeds by population viability analysis. *J. Dairy Sci.* **88**, 2949–2961.
- DE ROOS, A.P.W., B.J. HAVES und M.E. GODDARD, (2009): Reliability of Genomic Predictions Across Multiple Populations. *Genetics* **183**, 1545–1553.
- DGFZ, (2013): Empfehlung des Fachbeitrags Tiergenetischer Ressourcen – Stand, Probleme und Handlungsbedarf bei Erhaltungszuchtprogrammen für einheimische vom Aussterben bedrohte Nutztierassen. *Züchtungskunde* **85**, 85–95.
- HARTWIG, S., R. WELLMANN, H. HAMANN und J. BENNEWITZ, (2013): Pedigreeanalysen zur Beschreibung der genetischen Variabilität bei den baden-württembergischen Rinderrassen Vorderwälder, Hinterwälder und Limpurger. *Züchtungskunde* **85**, 270–288.
- MEUWISSEN, T.H.E., (1997): Maximizing the response of selection with a predefined rate of inbreeding. *J. Animal Sci.* **75**, 934–940.
- OLDENBROEK, K., (2007): Utilisation and conservation of farm animal genetic resources. (K. OLDENBROEK, Ed.). Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
- RÖSSLER, R., P. HAROLD, A.V. WEIDRAH und A. ZÁRATÉ, (2013): Definition nutzerspezifischer Zuchtziele für Braunvieh und Hinterwälder Rind in Baden-Württemberg. *Züchtungskunde* **85**, 173–187.
- SAVARAVUS, H.H., (2010): Gefährdete Nutztierassen: ihre Zuchtgeschichte, Nutzung und Bewahrung (3rd ed., pp. 10–21; 155–183). Stuttgart: Ulmer Verlag.
- WELLMANN, R., S. HARTWIG und J. BENNEWITZ, (2012): Optimum contribution selection for conserved populations with historic migration. *Genetics selection evolution GSE* **44**(1), 34.

Züchtungskunde, **86**, (1) S. 25–41, 2014, ISSN 0044-5401
© Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart

Original Article

Biodiversität beim Huhn – Potenziale für die Praxis

S. WEIGEND¹, ULRIKE JANSSEN-TAPKEN¹, MALENA ERBE², ULRIKE OBER², ANNETT WEIGEND¹, R. PREISINGER³ und H. SIMIANER²

Zusammenfassung

Im Rahmen des Synbreed Projektes wurden zahlreiche Hühnerrassen phänotypisch charakterisiert, die sowohl kategoriale Merkmale als auch Körpermaße einschlossen. Dieses „Synbreed Chicken Biodiversity Panel“ (SCBP) umfasst mehr als 2.400 Tiere aus 111 verschiedenen Rassen und Farbschlägen unterschiedlicher geographischer Herkunft, darunter zwei Wildhuhnpopulationen und kommerzielle Zuchtlinien. In dieser Studie waren Daten von 1.967 Individuen verfügbar, die an mehr als 445.000 SNP-Loci mit dem Affymetrix 600k Axiom Hühner SNP-Array typisiert wurden. Genomweite Assoziationsanalysen identifizierten präzise genomische Regionen bekannter Mutationen für die Merkmale gelbe Hautfarbe und Rosenkamm. Darüber hinaus wurden Cluster-Analysen mit 89 Populationen mit einem Subset autosomaler SNPs durchgeführt, die in Wildpopulationen polymorph waren, um die Beziehung zwischen den Rassen zu visualisieren. Die Ergebnisse zeigen, dass die meisten Rassen gemeinsame Cluster entsprechend der angenommenen phylogenetischen Verwandtschaft bildeten. Das SCBP stellt eine wertvolle Ressource für hochauflösende Analysen der genetischen Vielfalt und der genomischen Kartierung phänotypischer Variabilität dar.

Schlüsselwörter: Genetische Diversität, Assoziationsanalyse, SNPs, Huhn

Summary

Potentials of biodiversity in chickens

Within the framework of the Synbreed project, a large panel of chicken breeds were phenotypically characterized encompassing both categorical traits and body measurements. This “Synbreed Chicken Biodiversity Panel (SCBP)” comprises more than 2400 individuals from 111 diverse breeds and colour variants of various geographical origins including two wild jungle fowl populations and commercial purebred lines. In this study, data of 1967 individuals genotyped at more than 445,000 SNP loci using the Affymetrix 600k Axiom chicken SNP Array were available. Genome wide association analyses clearly

¹ Institut für Nutztiergenetik, Friedrich-Loeffler-Institut, 31535 Neustadt-Mariensee, Höltystrasse 10; stefan.weigend@fli.bund.de; Ulrike.Janssen-tapken@fli.bund.de; annettweigend@fli.bund.de
² Abteilung Tierzucht und Haustiergenetik, Department für Nutztierwissenschaften, Georg-August-Universität, 37075 Göttingen, Albrecht-Thaer-Weg 3; merbe@gwdg.de; uober@math.uni-goettingen.de; hsimian@gwdg.de

³ Lohmann Tierzucht GmbH, Am Seedeich 9–11, 27472 Cuxhaven preisinger@ltz.de

detected genomic regions of known mutations for yellow skin colour and rose-comb, respectively. In addition, a cluster analysis with a subset of 89 populations using an extract of autosomal SNPs variable in the wild ancestor Red Jungle Fowl was conducted to visualize the relationship between breeds. Results showed that the majority of breeds formed clusters according to their supposed relationships. The SCBP represents a valuable resource for high resolution analysis of genetic diversity and mapping of genomic regions underlying phenotypic variability.

Keywords: Diversity, association analysis, SNPs, chickens

1 Einleitung

Genetische Vielfalt innerhalb von Nutzrassen ist die Basis jeglicher Selektion zur Anpassung von Populationen an sich ändernde Umweltbedingungen, Haltungsformen, Verbrauchervünsche und, in gewissen Grenzen, sich ändernde Klimaverhältnisse. Sie resultiert aus einer über tausende Generationen andauernden Wechselwirkung zwischen Veränderungen in den Erbanlagen und Umweltfaktoren. Ausgehend von der Domestikation von Wildtieren, ihrer anschließenden Ausbreitung in verschiedene Regionen und Kontinente haben sich geographisch, und damit verbunden auch genetisch getrennte lokale Schläge innerhalb der Tierarten gebildet. Die Anpassung an regionale Umweltbedingungen, vom Menschen gezielt geführte Selektion als auch genetische Drift haben zu einer Vielzahl diverser Lokalpopulationen innerhalb von Arten geführt, die sich nicht nur im äußeren Erscheinungsbild unterscheiden, sondern auch in einer Vielzahl anderer genetischer Veranlagungen.

Genetische Vielfalt beim Haushuhn widerspiegelt sich neben dem Genpool der Wirtschaftsgeflügelzucht in einem breiten Spektrum von Rassen und lokalen Schlägen, die in Europa überwiegend von Hobbyzüchtern in privaten Zuchtvereinen und oft ohne unmittelbare landwirtschaftliche Nutzung gepflegt und erhalten werden. Diese können durch ihre eigenständige Entwicklung und die gezielte Selektion spezieller Merkmale durch Hobbyzüchter über besondere genetische Eigenschaften verfügen, die in ihrer Gesamtheit den Wert tiergenetischer Ressourcen beim Huhn wie auch bei anderen landwirtschaftlicher Nutzrassen ausmachen (vgl. Nationales Fachprogramm zur Erhaltung und nachhaltigen Nutzung tiergenetischer Ressourcen in Deutschland, BMEiV 2008). Potentielle genetischer Ressourcen können daher entweder in einer aktuellen Nutzung lokaler Rassen mit speziellen Merkmalen, beispielsweise in einer landwirtschaftlichen Nischenproduktion, liegen oder in der Sicherstellung genetischer Variation für zukünftige Zuchtprogramme. Darüber hinaus sind Hühner wegen ihrer vielfältigen Merkmalsausprägung ein hervorragendes Modell für Studien genetischer Mechanismen der Merkmalskodierung sowie der Auswirkungen von Selektion während der Domestikation auf das Genom (Burt und Whitt, 2007; Rubin et al., 2010; Andersson, 2012). Letztlich stellen alle Rassen ein kulturhistorisches Erbe dar, das die lange Tradition der Tierzuchtung reflektiert.

Seit mehr als zwei Jahrzehnten werden molekulare Marker intensiv zur Charakterisierung genetischer Diversität zwischen und innerhalb von Rassen bei landwirtschaftlichen Nutzrassen einschließlic des Haushuhns genutzt (siehe z.B. Übersichtsbeitrag GROENEVELD et al., 2010). Beim Huhn haben sogenannte Mikrosatelliten als autosomale Marker in starkem Maße Verwendung gefunden (WERNER und ROMANOV, 2001). Mikrosatelliten sind kurze, sich wiederholende DNA-Fragmente, die einen hohen Polymorphiegrad aufweisen und zahlreich im Genom vorkommen (TAUTZ, 1989; BURKE et al., 1991). Obwohl meist nur eine geringe Anzahl von 20 bis 30 Loci analysiert wurden, er-

laubten die Ergebnisse erste Einblicke in die phylogenetische Verwandtschaft zwischen und die Variabilität innerhalb von Hühnerrassen. (z.B. HILLER et al., 2003; BERTHOUDY et al., 2008; GRANVITZ et al., 2007, 2009).

In den letzten Jahren erlangten auch beim Huhn hochdichte Einzelnukleotid-Polymorphismen (Single nucleotide polymorphism, SNP) Arrays große Bedeutung in der Genomforschung, beispielsweise bei der Erkennung von Assoziationen von Genomvarianten mit komplexen Merkmalen, der Feinkartierung von QTLs und von Selektionssignaturen als auch in der genomischen Selektion, der Analyse genetischer Diversität und demographischer Populationsstrukturen (z.B. MUIR et al., 2008; RUBIN et al., 2010; QANBAR et al., 2010, 2012; WRAAG et al., 2012).

Im Rahmen des Kompetenznetzes „Synbreed – Innovationscluster synergistische Pflanzen und Tierzucht“ wird der neu entwickelte Axiom® Genome-Wide Chicken Array (<http://www.afymetrix.com>) zur molekularen Typisierung einer umfangreichen Sammlung diverser Hühnerrassen genutzt. Dieser erst seit kurzer Zeit verfügbare Array, der von einem Konsortium unter Federführung einer Arbeitsgruppe des Roslin Institutes und mit Beteiligung u.a. von Partnern des Synbreed Projektes entwickelt wurde, umfasst 580'961 SNP-Loci, von denen 572'988 Loci annotiert sind. Diese Loci decken insgesamt 1'003'553'508 bp (96% des Hühnergenoms) ab und sind über die Chromosomen 1 bis 28, W und Z sowie zwei Kopplungsgruppen (LGE22C19W28_E50C23, LGE64) verteilt. Die Entwicklung des Arrays basierte auf der Re-Sequenzierung von 24 DNA-Pools von Broilern, Legern und Inzuchtlinien. Für die Auswahl und Validierung der Loci des finalen Arrays wurden neben Tieren kommerzieller Linien der Maat- und Legertichtung auch Tiere einiger divergenter lokaler Hühnerrassen herangezogen (KRANIS et al., 2013). Nachfolgend sollen das weite Spektrum der Rassen sowie erste Ergebnisse von Untersuchungen basierend auf einer individuellen Genotypisierung mit diesem SNP-Array dargestellt werden, die das Ausmaß genetischer Diversität des Rassenspektrums und ihre Nutzung für die Erkennung spezifischer Merkmalskodierungen in einer genomweiten Analyse illustrieren.

2 Material und Methoden

2.1 Probensammlung

In den Jahren 2010 und 2011 wurden auf insgesamt 15 Geflügelschauen des Bundes Deutscher Rassegeflügelzüchter in Deutschland sowie bei Besuchen verschiedener Einzelzüchter von ca. 2.400 Tieren aus 111 verschiedenen Hühnerrassen und Farbschlägen eine Probe von 0,5 ml Blut aus der Flügelvene in EDTA gesammelt. Zusätzlich beprobt wurden 20 Tiere der Erhaltungszucht des Vorwerkhuhns, die durch den Verein „Initiative zur Erhaltung alter und gefährdeter Geflügelrassen e.V.“ (IEG) betreut werden. Die Entnahmen der Blutproben wurden vorher dem zuständigen Veterinäramt angezeigt. Von jedem der Züchter wurde eine Einwilligung eingeholt, dass eine Blutprobe von den Tieren entnommen werden kann. Neben diesen oben genannten Tieren umfasst die Sammlung auch Proben von Ökotypen aus Tansania, von einer Langkräherrasse aus Albanien (die Rasse Asil aus Pakistan, die aus Kooperationsprojekten mit Herrn Charles Lyimo (Sokoine University of Agriculture, Tansania), Herrn Prof. Olivier Hanote (University of Nottingham, UK) und Herrn Dr. Ahmad Ali (COMSATS Institute of Information Technology, Pakistan) resultierten sowie von zwei Erhaltungszuchtlinien der Rassen Weißes Leghorn und New Hampshire, die im Institut für Nutztiergenetik des FRI in Marensee gehalten werden. Aus einem früheren EU-Projekt AVIANDIV (w3.tzv.fal.de/aviandiv/) sowie aus parallel in anderen Teilen des Synbreed-Projektes durchgeführten

Arbeiten wurden außerdem Proben von 12 kommerziellen Linien (4 Masthühner, 4 Weißleger, 4 Braunleger) sowie zwei Wildpopulationen (*Gallus gallus gallus*, *Gallus gallus spadiceus*) in die Analysen einbezogen (Tab. S1).

2.2 DNA Isolation und Genotypisierung

Die Blutproben, die in Deutschland gewonnen wurden, wurden nach der Entnahme gekühlt und anschließend bei -80°C eingefroren. Die anderweitig gesammelten Proben wurden auf FTA-Microcards von Whatman® gelagert. Die DNA-Isolation erfolgte nach einer Standard Phenol/Chloroform Extraktionsmethode. Nach Prüfung der DNA-Qualität wurde nach Fluoreszenzmessung der DNA-Proben unter Zusatz von PicoGreen die DNA-Konzentration auf $10\text{ ng}/\mu\text{L}$ eingestellt. Für die SNP Typisierung, die am Lehrstuhl für Tierzucht der Technischen Universität München durchgeführt wurde, wurde der Axiom® Genome-Wide Chickens Array der Firma Affymetrix verwendet.

2.3 Phänotypische Merkmale

Die Tiere einer Rasse sind durch verschiedene phänotypische Merkmale charakterisiert, die den Rassenstandard ausmachen und innerhalb der Rassen nur eine geringe Variation aufweisen. Zu diesen Merkmalen gehören die Ausprägung der Hautfarbe, Gesichtsfarbe, Schnabelfarbe, Laufarbe, das Vorhandensein einer Laufbefiederung sowie von Sporen, Haube, Bart oder Ohrbommel, die Anzahl Zehen, Größe, Farbe und Form der Ohrscheiben bzw. -lappen. Neben diesen kategorialen Merkmalen wurden bei jedem der Tiere verschiedene Körpermaße nach einem festen Schema erhoben. Diese umfassen die Messung der linken und rechten Flügelänge, der linken und rechten Lauflänge und Laufdicke, der Länge des Brustbeins und des Körpergewichts. Für die Merkmale Flügelänge, Lauflänge und Laufdicke wurde für die Auswertung jeweils der Mittelwert der beiden Messungen verwendet.

2.4 Merkmale in der genomweiten Assoziationsanalyse

Um die prinzipielle Verwendbarkeit des breiten Spektrums genetischer Diversität des „Synbreed Chickens Biodiversity Panels“ (SCBP) für genomweite Assoziationsanalysen zu demonstrieren, wurden zwei aus der Literatur bekannte Merkmalassoziationen ausgewählt: *i)* eine 23,8 kb Region wurde von Eriksson et al. (2008) auf Chromosom 24 beschrieben, die mit dem Auftreten gelber Hautfarbe beim Huhn signifikant assoziiert ist; *ii)* eine von Imsirand et al. (2012) identifizierte 7,4 Mb große Genominversion in Hühnergenom auf Chromosom 7, die mit einer massiv veränderten Ausprägung der Kammform des Huhns verbunden ist und zum Auftreten eines Rosenkamms führt. Für die genomweite Assoziationsanalyse wurden für diese Merkmale jeweils zwei Gruppen gebildet. Eine Gruppe umfasste Tiere von Rassen, die Träger des Merkmals waren, und eine zweite Gruppe Tiere solcher Rassen, die das Merkmal nicht bzw. in einer anderen Ausprägung trugen.

2.5 Aufbereitung der SNP-Daten

Aus dem SCBP wurden bisher 2.000 Tiere von 111 Populationen genotypisiert. Für die hier durchgeführten Auswertungen standen aktuell SNP-Daten von 1996 Individuen zur Verfügung, wobei nur für 89 Populationen mindestens je 15 Tiere vorhanden waren. Nach Qualitätsprüfung und Filterung (99% call rate je SNP, 95% call rate je Tier) verblieben 1967 Tiere und 445264 SNP-Loci im Datensatz, verteilt über 28 Chromosomen und

zwei Kopplungsgruppen. SNPs, die auf den Geschlechtschromosomen W und Z lokalisiert waren, wurden in den hier beschriebenen genomweiten Assoziationsanalysen nicht verwendet.

Für die Analysen der genetischen Diversität wurde der Datensatz einer weiteren Filterung unterzogen. Um den Effekt des sogenannten „ascertainment bias“ der SNP-Loci zu verringern, wurden nur SNPs im Datensatz belassen, die in bzw. zwischen den beiden Wildhuhnpopulationen polymorph waren. Darüber hinaus wurden nur Populationen in die Biodiversitätsanalysen einbezogen, für die mindestens 15 Tiere gesammelt werden konnten. Der zur Auswertung nutzbare „Biodiversitätsdatensatz“ umfasste schließlich 311'006 SNPs und 1810 Tiere aus 89 Populationen unterschiedlichen Typs (Tab. 1).

2.6 Statistische Analysen

Die individuell erfassten Körpermaße mittlere Flügelänge, mittlere Lauflänge, mittlere Laufdicke, Brustbeinlänge sowie das Körpergewicht wurden für die Tiere des Biodiversitätsdatensatzes in eine Hauptkomponentenanalyse einbezogen.

Tab. 1. Rassenspektrum der Biodiversitätsanalyse (89 Rassen, ≥ 15 Tiere je Rasse) Set of diverse chicken breeds for biodiversity analysis (89 breeds, ≥ 15 individuals per breed)

Region	Typ	Anzahl Rassen
Asien	Langschwanzrassen	4
	Kämpferassen	6
	Rassen im asiatischen Typ	13
	Haubenhühner	2
Europa	Zwischentypen	4
	Mittelmeerassen	6
	NW-Europäische Rassen	15
	Haubenhühner	3
Zwerg	Echte Zwerghühner	15
	Wildhühner	1
Afrika	<i>Gallus gallus gallus</i>	1
	<i>Gallus gallus spadiceus</i>	1
	Afrikanische Ökotypen (Tansania)	5
kommerzielle Linien	Broiler	4
	Weißleger (Weiße Leghorn)	4
	Braunleger	2
	Rhodeländer	2
Andere	White Rock	2
	Langträger (Albanen)	1
	Asil (Pakistan)	1

Als Maße der genetischen Diversität innerhalb der Populationen des untersuchten Spektrums wurden der erwartete und der beobachtete mittlere Heterozygotegrad je Population über alle SNP-Marker des Biodiversitätsdatensatzes berechnet. Dabei wurde der erwartete Heterozygotegrad H_e unter der Annahme kalkuliert, dass sich die Population im Hardy-Weinberg Gleichgewicht befindet:

$$(1) \quad H_e = \frac{1}{L} \sum_{j=1}^L \left(1 - \sum_{i=1}^2 p_{1j}^2 \right)$$

wobei L die Anzahl SNP-Loci beschreibend und i die beiden Allele je SNP-Locus. Der mittlere Grad der beobachteten Heterozygotie wurde als Anteil heterozygoter Loci relativ zur Gesamtanzahl Loci ermittelt:

Basierend auf den SNP-Daten wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt, um einen Einblick in die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den Populationen zu erhalten. Für eine graphische Darstellung wurden für die ersten $c = 10$ Hauptkomponenten die Euklidische Distanz zwischen jedem der Individuen i und j berechnet:

$$(2) \quad d_{i,j} = \sqrt{\sum_{k=1}^c (x_{i,k} - x_{j,k})^2}$$

wobei $x_{i,k}$ die Koordinate des Individuums i der k -ten Hauptkomponente ist. Aus diesen individuellen Distanzen wurden die mittleren Distanzen zwischen jedem Paar der 89 Populationen berechnet und anschließend ein NeighborNet mittels des Programmpaketes SplitsTree4 (Version 4.12.3, Hudson und Bryant, 2006) konstruiert.

In genomweiten Assoziationsanalysen wurden für den Vergleich der Genotypenhäufigkeiten zwischen zwei Testgruppen für jeden SNP Locus die χ^2 Wert berechnet:

$$(3) \quad \chi^2 = \sum_{j=1}^m \sum_{k=1}^2 \frac{(n_{jk} - \hat{n}_{jk})^2}{\hat{n}_{jk}}$$

wobei n_{jk} und \hat{n}_{jk} die beobachtete bzw. erwartete Anzahl an Tieren in Kategorie k mit Genotyp j waren. Die Teststatistik χ^2 folgt unter der Nullhypothese (keine Assoziation) einer χ^2 -Verteilung mit einem Freiheitsgrad.

Eine zweite Teststatistik beruht auf der Berechnung des F_{st} -Wertes (GIANOLA et al., 2010) zur Prüfung der Unterschiedlichkeit der Allelfrequenzen zwischen den beiden Gruppen von Tieren mit unterschiedlicher Merkmalsausprägung:

$$(4) \quad F_{st} = \frac{p_{11}^2 + p_{21}^2 - 0.5 \cdot (p_{11} + p_{21})^2}{p_{11} + p_{21} - 0.5 \cdot (p_{11} + p_{21})^2}$$

wobei p_{11} und p_{21} die Allelfrequenzen eines Allels am Locus l für die Kategorien 1 und 2 sind.

3 Ergebnisse und Diskussion

Ziel dieses Berichts aus laufenden Arbeiten zur Biodiversität beim Huhn im Rahmen des Synbreed Projektes ist es, in ersten Untersuchungen die Diversität des weiten Spektrums

an Hühnerrassen des SCBP zu charakterisieren und die Potenziale dieser Vielfalt für genomweite Assoziationsanalysen zur Merkmalskartierung zu demonstrieren. Erstmals beim Haushuhn stehen dafür genomweite Daten, basierend auf dem neu entwickelten 600K SNP-Array, in dieser Markedichte in einem hoch diversen Set von Rassen zur Verfügung. Die umfangreiche Probensammlung sowie die Erfassung zahlreicher kategorialer phänotypischer Merkmale sowie der individuellen Körpermaße ermöglichen es, unter verschiedenen Blickwinkeln tiefere Einblicke in die phylogenetischen Beziehungen zwischen Rassen zu erhalten sowie in genetische Mechanismen der Merkmalskodierung und der Interaktionen zwischen Genen.

3.1 Das Synbreed Chicken Biodiversity Panel (SCBP)

Dank der intensiven Unterstützung durch Züchter des BDRG und der GEH sowie durch verschiedene Einzelzüchter konnte im Rahmen des Projektes eine umfangreiche Daten- und Probensammlung beim Huhn etabliert werden. Die Rassegeflügelzucht in Deutschland hat eine lange Tradition. Ausgehend von dem 1852 von Robert Oertel gegründeten „Hühnerologischen Verein Görlich“, dem ersten Geflügelzüchterverein in Deutschland, wurde 1881 der Bund Deutscher Rassegeflügelzüchter gegründet, der heute etwa 180.000 Mitglieder hat (www.bdg.de, Stand 17.10.2013). Es war naheliegend, für das Projekt den Vorzug einer breiten, in Deutschland gehaltenen Rassenvielfalt zu nutzen, um neben der Sammlung von Blutproben als Quelle der DNA-Gewinnung für die Genotypisierung auch verschiedene Merkmale am lebenden Tier erfassen zu können. Nach ausführlichen Gesprächen mit dem Präsidium sowie weiteren Vertretern des Verbandes wurde im Jahr 2009 eine Vereinbarung über eine Zusammenarbeit im Rahmen des Synbreed Projektes zwischen dem BDRG und dem Friedrich-Loeffler-Institut geschlossen, die die Sammlung von Blutproben und die Phänotypisierung, basierend auf einem standardisierten Protokoll, bei einer großen Anzahl Hühnerpopulationen unterschiedlicher Abstammung und Rassengeschichte ermöglichte (Tab. S1). Ergänzt wird das SCBP durch eine umfangreiche Probensammlung aus dem EU-Projekt AVIANDIV (<http://aviandiv.zrz.fal.de/>) sowie verschiedenen bilateralen Kooperationen (HILLER et al., 2003; GRANVITZKE et al., 2007; MUCHADRY et al., 2007; BAO et al., 2008; BODZSAR et al., 2009; CUC et al., 2010). Insgesamt umfasst die Biodiversitätsprobenbank am Institut für Nutztiergenetik in Mariensee mehr als 4000 Individuen von 200 Rassen aus Europa, Asien, Afrika sowie von Linien der Wirtschaftsgeflügelzucht.

3.2 Clusteranalyse phänotypischer Merkmale

Neben rassetypischen Standardmerkmalen wurden individuelle Körpermaße erfasst. Letztere wurden in einer Hauptkomponentenanalyse verwendet, von der die ersten beiden Hauptkomponenten in Abbildung 1 dargestellt sind. Die erste Hauptkomponente erklärt 88% der Variation und differenziert die Tiere vor allem nach der Größe, während die zweite Hauptkomponente die Tiere entsprechend der Laufdicke aufteilt. Offensichtlich ist, dass in dieser Analyse keine klare Gruppenbildung auftritt, sondern eine kontinuierliche Variation in den Körpermaßen zwischen den Rassen im Gesamtspektrum zu verzeichnen ist.

3.3 Analyse der molekularen Biodiversität

Basierend auf 311'006 SNPs wurden für die untersuchten 89 Populationen die mittleren erwarteten und beobachteten Heterozygotewerte je Population ermittelt, die in Abbildung 2 dargestellt sind. Die Werte der erwarteten und beobachteten Heterozygotie

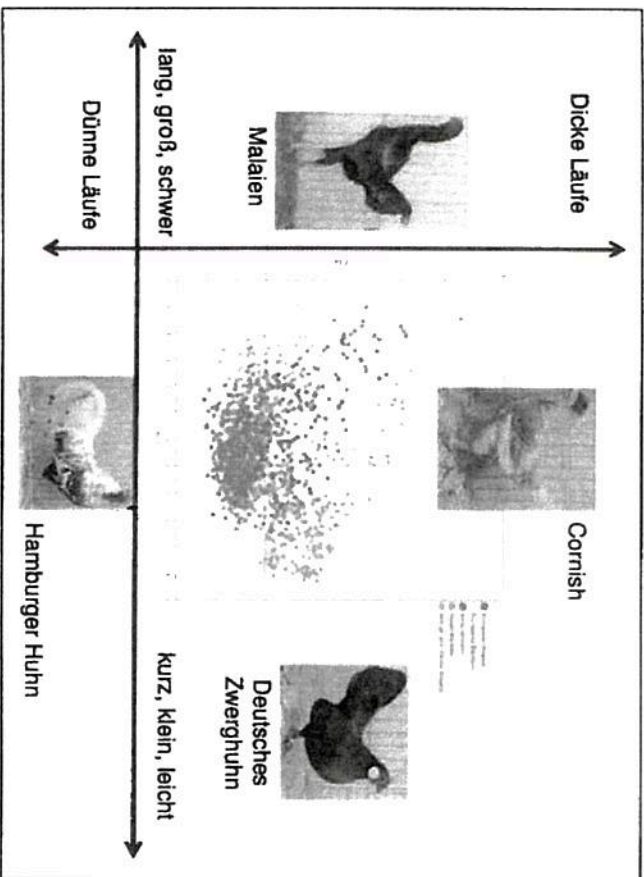


Abb. 1. Darstellung der Verteilung von Rassen eines weiten Spektrums diverser Hühnerrassen anhand der ersten beiden Hauptkomponenten basierend auf verschiedenen Körpermaßen
Distribution of a wide spectrum of diverse chicken breeds based on the two main principle components for various body measurements

Je Population sind hoch korreliert ($r = 0,96$). Alle Populationen, die in der Abbildung oberhalb der gestrichelten Linie ($H_e = H_o$) angeordnet sind, zeigen einen Überschuss an Heterozygoten gegenüber dem Erwartungswert unter der Annahme, dass die Population im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ist. Alle Populationen unterhalb der Linie dagegen weisen ein Defizit an Heterozygoten auf. In den meisten Populationen ist eine geringfügig geringere Heterozygotie zu beobachten als erwartet. Dies kann mit einer Substruktur innerhalb der Populationen einhergehen, da der überwiegende Anteil Rassen von Hobbyzüchtern in kleinen Herden gehalten werden und zwischen diesen Beständen kein freier Genfluss gegeben ist. Wir haben bei der Probensammlung darauf geachtet, nur eine begrenzte Anzahl Tiere je Züchter (i.d.R. zwei, maximal vier Tiere) auszuwählen.

Wildhühner, Asiatische und Afrikanische Rassen weisen im Durchschnitt einen deutlich höheren Heterozygotegrad auf als Europäische Rassen. Interessant ist, dass kommerzielle Masthühnlinien (Broiler) ebenso divers sind wie Wildhühner und nicht züchterisch bearbeitete Ökotypen Tansanias, Albanien und Palstrans, während Linien der Legehühnzucht mit weissschaligen Eiern (Weißleger) am unteren Ende der Heterozygotieskala zu finden sind. Diese Beobachtung bestätigt frühere Ergebnisse, die anhand von Mikrosatelliten gewonnen wurden (GRANVITZ et al., 2007) und reflektiert die Entstehungsgeschichte der Linien der Wirtschaftsgülfelzucht. Weltweit geht der

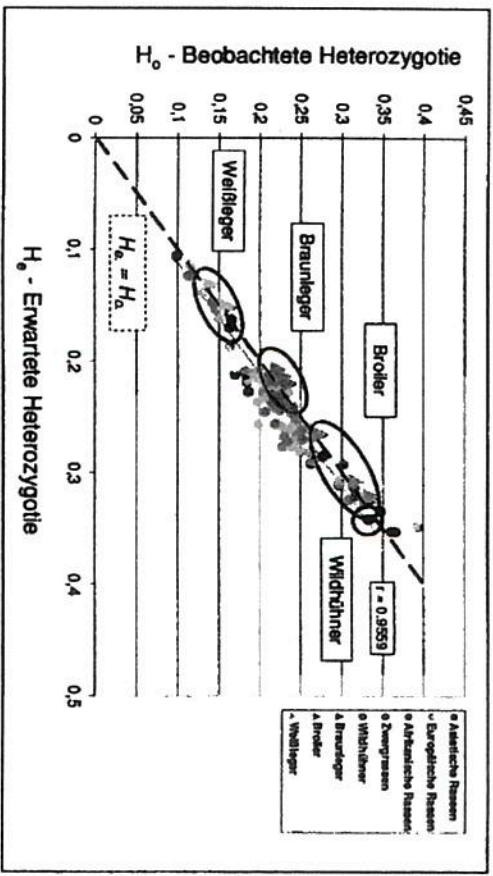


Abb. 2. Mittlere erwartete und beobachtete Heterozygotie je Population basierend auf 311'006 SNP-Loci. Die gestrichelte Linie reflektiert den Bereich, in dem der beobachtete Heterozygotegrad dem erwarteten Wert entspricht.
Mean observed and expected heterozygosity estimates per population across 311'006 SNP Loci. The dotted line reflects the theoretical values where the degree of observed heterozygosity equals the expected values.

größte Teil der Weißleger auf eine einzige Rasse zurück, die Rasse Weißes Leghorn, während bei modernen Zuchtlinien der braunschaligen Legerichtung sowie in der Mastrichtung mehr als eine Rasse den Ausgangspool bilden (CRAWFORD, 1990).

Für eine Clusterung anhand der SNP-Daten der untersuchten Populationen wurden die ersten 10 Hauptkomponenten verwendet, um eine Distanzmatrix zu erstellen, die die Grundlage für eine graphische Darstellung der Rassenbeziehungen als NeighbourNet bilden (Abb. 3). Die in dieser Analyse aufgezeigten Ähnlichkeiten zeigen eine klare Gruppierung der untersuchten Populationen entsprechend ihrer phylogenetischen Zuordnung. Rassen asiatischen Ursprungs sind deutlich von den leichteren nordwesteuropäischen Rassen sowie Mittelmeerrassen getrennt. Zweghühnrassen unterteilen sich in Rassen europäischer und asiatischer Herkunft, während afrikanische Ökotypen und Kämpfer zusammen mit Wildhühnern stärker im Zentrum des untersuchten Spektrums angeordnet sind. Auffällig ist, dass die Zuchtlinien basierend auf der Rasse Weißes Leghorn eine große Distanz zu Zuchtlinien mit braunschaligen Eiern aufweisen, während Mastlinien zwischen diesen beiden Gruppen in enger Nachbarschaft zu den asiatischen Rassen zu finden sind. Diese Beziehungen zwischen Rassengruppen bestätigen frühere Untersuchungen basierend auf Mikrosatelliten (GRANVITZ et al., 2009). Sie sind trotz der Reduktion der Darstellung auf dieses einfache, phylogenetisch nicht interpretierbare Distanzmaß aus der Hauptkomponentenanalyse in guter Übereinstimmung mit Ergebnissen einer Clusteranalyse mit demselben Datensatz, die unter Verwendung einer molekularen Verwandtschaftsmatrix erzeugt wurde (unveröffentlicht).

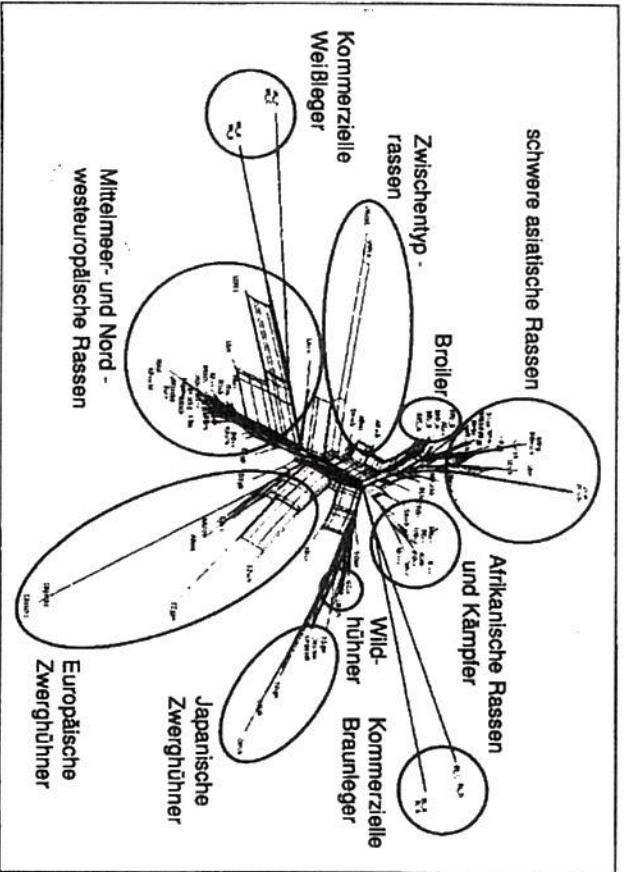


Abb. 3. Neighbournet Clusteranalyse von 89 Hühnerpopulationen basierend auf der Euklidischen Distanz zwischen den Koordinaten der ersten 10 Hauptkomponenten für 311'006 SNP-Loci. Neighbournet clustering of 89 chicken breeds based on the Euclidean Distances between the coordinates of the first 10 principle components for 311'006 SNP loci

3.4 Genomweite Merkmalsassoziation

Bereits vor 1900 gab es in der Rassegügelzucht Musterbeschreibungen für einzelne Rassen. Daraus entwickelten sich im Laufe der Zeit der Deutsche und später der Europäische Rassegügelstandard, der das äußere Erscheinungsbild aller Rassen und Farbschläge des Geflügels beschreibt. Dieser Standard dient auf Ausstellungen der einheitlichen Bewertung der Tiere und ist für Preisrichter verbindlich. Viele Generationen von Züchtern haben innerhalb der Rassen auf diese Merkmale selektiert und dadurch zu einer genetischen Konsolidierung der Merkmale beigetragen. Als Konsequenz gibt es zahlreiche phänotypische Merkmale, für die zwischen Tieren einer Rasse auf Ausstellungen nahezu keine Unterschiede bestehen. Diese Ressource stellt eine exzellente Basis für die Kartierung genomischer Regionen der Merkmalskodierung dar. Um dieses Potential des weiten Rassen-spektrums des SCBP für die Erkennung genetischer Mechanismen der funktionellen Diversität exemplarisch zu demonstrieren, haben wir das Auftreten einer gelben Hautfarbe sowie die Ausbildung eines Rosenkamms als zwei Merkmale für eine Merkmalsassoziation ausgewählt, deren Kodierungen im Genom aus der Literatur bereits bekannt waren.

3.4.1 Gelbe Hautfarbe

Erstmals beschrieben von Baksson et al. (2008) und in einer weiteren Studie von Rubin et al. (2010) bestätigt wurde eine 23.8 kb große Genomregion auf Chromosom 7 beim

Huhn identifiziert, die mit dem Auftreten der gelben Hautfarbe beim Huhn signifikant assoziiert ist. In dieser Region ist das Gen BCO2 zwischen den Nukleotidpositionen 6,133,1955 und 6,153,888 lokalisiert, das das Enzym Beta-Karotin Oxygenase 2 kodiert. Dieses Enzym spaltet Karotinoide, die eine gelbliche Färbung aufweisen, in farblose Apokarotinoide. Gelbe Haut ist ein rezessives Merkmal, das durch eine oder mehrere cis-agierende und gewebespezifische regulatorische Mutationen verursacht wird, die zu einer Hemmung der Expression von BCO2 in der Haut führen. Für die Detektion dieser Genomregion in einer genomweiten Analyse haben wir von den 111 Populationen aus dem SCBP die SNP Informationen von 923 Tieren von 57 Rassen mit gelber Haut denen von 934 Tieren von 50 Rassen mit weißer Haut gegenübergestellt. Die verbleibenden vier Rassen wurden ausgeschlossen, da sie bezüglich ihrer Hautfarbe in keine der beiden Kategorien einzuordnen waren. Der sogenannte „Manhattan-Plot“ (Abb. 4) stellt die F_{st} -Werte des Vergleichs der Allelfrequenzen der beiden Gruppen je SNP-Locus der genomweiten Assoziationsanalyse dar. Es ist offensichtlich, dass zwischen den Gruppen von Tieren mit gelber Haut und denen mit weißer Haut in einem Bereich auf Chromosom 24 erhebliche Unterschiede in die Allelfrequenzen bestehen. Die genauere Betrachtung dieser Region identifiziert auf dem Chromosom 24 einen Bereich zwischen 5.5 Mb und 6.4 Mb, der mit dem Merkmal assoziiert ist. Im Zentrum dieses Bereichs zwischen 6.130 Mb und 6.160 Mb ist in der NCBI Genbank im Hühnergenom, build Gallus_gallus-4.0, das Gen BCO2 lokalisiert, welches die Beta-Karotin Oxygenase 2 kodiert.

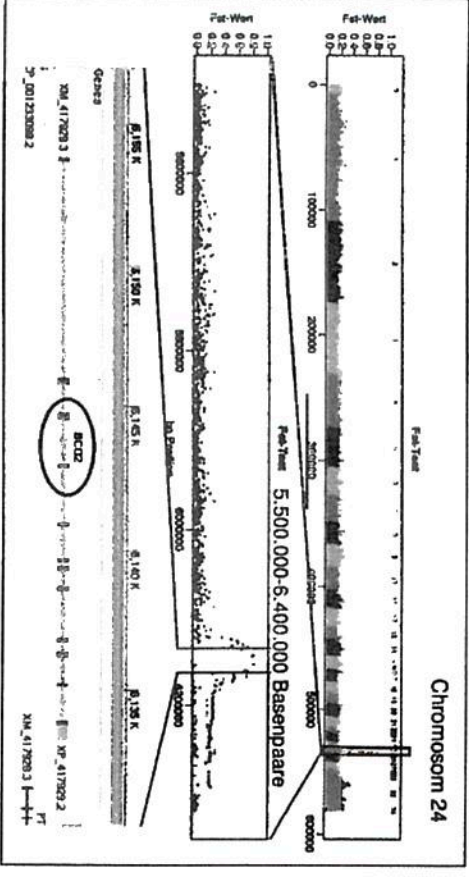


Abb. 4. F_{st} -Werte des genomweiten Vergleichs der Allelfrequenzen je SNP Locus zwischen Tieren mit gelber und weißer Hautfarbe. Der untere Teil der Abbildung zeigt den Bereich höchster F_{st} -Werte zwischen Position 6.130 Mb und 6.160 Mb auf Chromosom 24 in der NCBI Referenzsequenz des Huhns (build Gallus_gallus-4.0). F_{st} -values of the genome-wide comparison of SNP allele frequencies between individuals with yellow skin and white skin. Lower part of the figure shows the NCBI chicken reference sequence (build Gallus_gallus-4.0) of the region with highest F_{st} -values between 6.130 Mb und 6.160 Mb on chromosome 24.

3.4.2 Rosenkamm

Ein zweites Beispiel einer Merkmalsassoziation bezieht sich auf eine morphologische Veränderung der Kammausbildung, die als Rosenkamm bezeichnet wird (Abb. 5). Imslaid et al. (2012) beschrieben eine 7,4 Mb Genominversion auf Chromosom 7 des Huhns, die für das Auftreten des Rosenkamms verantwortlich ist. Dieser monogen bedingte besondere Kammphenotyp, der autosomal dominant vererbt (R/-) wird und bereits von BAYESON (1902) beschrieben wurde, ist durch eine Relokation des MNR2 Gens (Nomedomain protein) begründet, das zu einer transienten ektopen Expression des Gens während der embryonalen Entwicklung des Kamms führt. Erwähnt werden soll, dass zusätzlich ein zweites Rosenkammmallel beschrieben wurde, das aus einem nicht-homologen Rekombinationsereignis zwischen dem Rosenkammmallel und dem Wildallel hervorgegangen ist, jedoch für unsere Untersuchungen keine direkte Relevanz hat. Der proximale Bruchpunkt der 7,4 Mb Inversion ist auf Chromosom 7 lokalisiert (Nukleotid-region 14,9 Mb der Sequenz des Hühnergenoms, build Gallus_gallus-4.0) unmittelbar in den benachbarten 5'UTR Regionen des FKBP7 Gens (FK506 binding protein 7) und des PLEKHA3 Gens (Pleckstrin homology domain containing, family A-phosphoinositide binding specific-member 3). Der distale Bruchpunkt liegt nach der aktuellen Version der Genomsequenz des Huhns etwa bei 21,8 Mb des Chromosoms 7 im Intron 3 des CCDC108 Gens (coiled-coil domain containing 108).

In unseren Analysen haben wir aus dem weiten Spektrum die genomweiten SNP-Genotypen von 1261 Tieren von 74 Rassen mit Einfachkamm mit denen von 216 Tieren von 12 Rassen und Farbschlägen mit Rosenkamm verglichen. Die Rassen mit Rosenkamm schlossen Antwerpener Bartzwerg (wachselfarbig), Bantam (schwarz), Grübe Bartzwerg, Hamburger silberlack, Krüper (schwarz), Rheinländer (reihuhnhalsig), Rheinländer (schwarz), Sebright (gold-schwarzgesäumt), Sebright (silber-schwarzgesäumt),

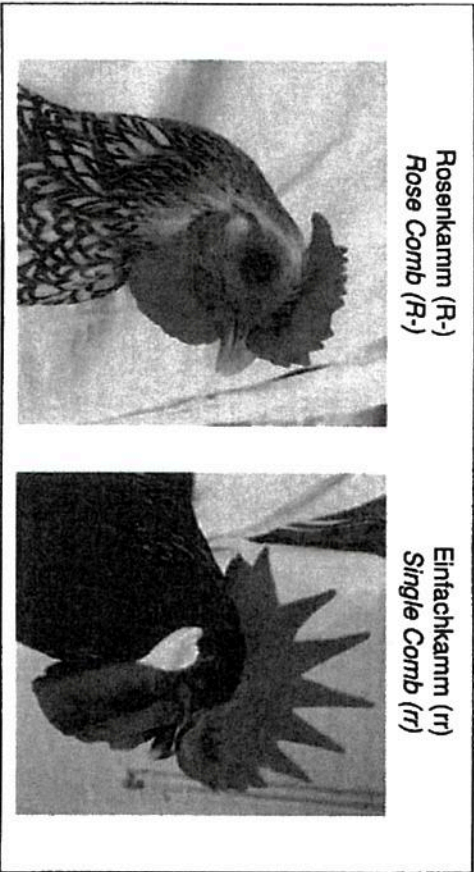


Abb. 5. Phänotypische Ausprägung des Rosenkamms (links), der durch das dominant vererbte Rosenkammmallel (R) begründet wird, im Vergleich zu einem Einfachkamm (rechts) Phenotype of rose comb in chickens (left) explained by the dominant inherited rose-comb allele (R) in comparison to a single comb phenotype (right)

Westfälische Torleger (silber), Wyandotten (silber-schwarzgesäumt) und Wyandotten (weiß) ein. In Abbildung 6 ist der χ^2 -Wert als Teststatistik für den Vergleich der Genotypenhäufigkeiten der beiden Gruppen als Manhattan-Plot dargestellt. Die genomweite Analyse zeigt eine Region auf Chromosom 7, die bezüglich der gewählten Teststatistik deutlich von den restlichen Genombereichen abweicht. Diese ca. 7 Mb lange Region im Bereich zwischen 14,88 Mb und 21,84 Mb des Chromosoms ist durch erhöhte χ^2 -Werte gekennzeichnet, der auf erheblich unterschiedliche Genotypenhäufigkeiten der SNP-Loci beider Gruppen hinweist. Obwohl die verwendeten Analysemethoden nicht geeignet sind, eine Genominversion darzustellen, umfasst die identifizierte Region exakt den Bereich, für den die genomische Reorganisation von Imslaid et al. (2012) im Zusammenhang mit der Merkmalsausbildung beschrieben wurde. Im proximalen Bereich dieser Region sind in der aktuellen Genomsequenz des Huhns die Gene PLEKHA3 und FKBP7 angeordnet, während distal das beschriebene Gen CCDC108 liegt, in dessen Intron 3 die distale Bruchstelle der Rekombination gefunden wurde.

Die beiden aufgeführten Beispiele einer genomweiten Assoziationsanalyse in dem breiten Spektrum des SCBP belegen eindrucksvoll die Möglichkeiten der relativ punktgenaue Kartierung von Genombereichen, in denen kausale funktionale Mechanismen der Merkmalsausprägung lokalisiert sind. Für eine Reinkartierung und Identifizierung

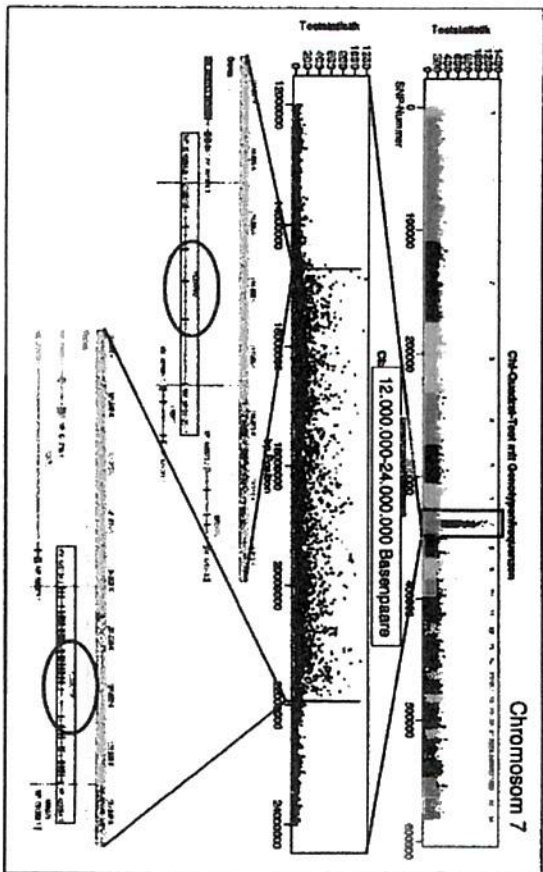


Abb. 6. χ^2 -Werte des genomweiten Vergleichs der Genotypenfrequenzen je SNP Locus zwischen Tieren mit Rosenkamm und Tieren mit Einfachkamm. Der untere Teil der Abbildung zeigt die proximale und distale Position des Bereichs höchster χ^2 -Werte auf Chromosom 7 in der NCBI Referenzsequenz des Huhns (build Gallus_gallus-4.0). χ^2 -values of the genome-wide comparison of SNP genotype frequencies between individuals with rose comb phenotype and single comb phenotype. Lower part of the figure shows the NCBI chicken reference sequence (build Gallus_gallus-4.0) of the proximal and distal position, respectively, of the region with highest χ^2 -values.

ursächlicher Genombereiche sind jedoch zusätzliche Resequenzierungen sowie Expressionsanalysen notwendig. Die Lagerung der gewonnenen Proben in einer DNA-Bank am Institut für Nutztiergenetik des FLI in Mariensee ermöglichen neben der Nutzung der aktuell verfügbaren Daten auch die Generierung weiterer Informationen auf der genomischen Ebene, beispielsweise durch eine Resequenzierung einzelner Genome oder ausgewählter Genombereiche, die sich einem genomweiten Screening anschließen. In Zusammenarbeit mit den Hobbyzüchtern, die diese Rassen züchten und erhalten, ist auch die Möglichkeit der gezielten Auswahl und Nutzung lebender Tiere in Forschungsarbeiten auf der Transkriptom- und Proteinebene gegeben. Dies widerspiegelt den hohen Wert dieser genetischen Ressourcen für die Forschung, die eine große Vielfalt in zahlreichen weiteren, bisher nicht analysierten Merkmalen aufweisen.

4 Schlussfolgerungen

Das „Synbreed Chickens Biodiversity Panel“ – kurz SCBP – stellt eine wertvolle Ressource dar, die in Verbindung mit SNP-Arrays mit einer hohen Markerdichte oder durch Resequenzierung hochauflösende Analysen der phänotypischen Variabilität und genetischen Diversität beim Huhn ermöglichen. Die bisher durchgeführten Untersuchungen der genetischen Diversität widerspiegeln die enorme Breite in diesem Genpool. Gleichzeitig weisen sie auch aus, dass die in der Wirtschaftsgeflügelzucht genutzten Genotypen nur einen Teil der Diversität nutzen und vor allem die Legelinien mit weißer Eischalenfarbe im Gesamtspektrum eine geringe Variabilität aufweisen. Insbesondere in den letzten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts fanden effiziente Zuchtprogramme Anwendung, die zu einer massiven Verbesserung der Leistungseigenschaften bei gleichzeitiger Erhöhung der Futtereffizienz in jenen Rassen landwirtschaftlicher Nutztierearten führten, die Grundlage der Zuchtprogramme waren. Den stärksten Konzentrationsprozess in der Zuchtart und Produktion hat dabei das Haushuhn erfahren. Wenn um 1900 noch etwa 40 Rassen allein in den Geflügelzuchtstationen Deutschlands registriert waren (KINSPER, 1908), so beschränken sich heutige Zuchtlinien weltweit auf einige wenige Ausgangsrassen. Wenige Unternehmen züchten heute hoch spezialisierte Linien der Mast- und Legenrichtung, deren Kreuzungen als Produktionsstiere aufgrund ihres hohen Leistungsniveaus schnell eine weltweite Verbreitung gefunden haben. Die Beschränkung der Zuchtart auf einen geschlossenen Genpool, der in seiner Variabilität eingeschränkt ist, könnte zukünftige Selektionsmaßnahmen einschränken, auch wenn aktuell kein unmittelbares Selektionsplateau erkennbar ist (HILL, 2008). Andererseits zeigen insbesondere Linien der Mastrichtung eine hohe genetische Diversität im Gesamtgenom. Da von den 580'961 SNPs des Axiom® Genome-Wide Chickens Array 572'988 SNPs annotiert sind, von denen fast die Hälfte in oder in enger Nachbarschaft (1kb) zu intragenischen Bereichen lokalisiert sind und ca. 4% unmittelbar in Exons (KRAVITS et al., 2013), erlauben die erhobenen Daten detaillierte Analysen der Diversität in funktionalen Genombereichen. Solche Analysen werden Gegenstand weiterer Arbeiten sein. Dies schließt auch die Weiterentwicklung methodischer Ansätze der genomweiten Assoziationsanalyse ein. Gegenwärtig werden neue Algorithmen für die genomweite Assoziationsanalyse getestet, die einerseits der Populationsstratifikation im Datensatz des SCBP Rechnung tragen, andererseits eine Zusammenführung mehrerer SNPs einer Genregion in eine gemeinsame Statistik und direkte Verknüpfung mit biologischen Reaktionswegen ermöglichen, die in Datenbanken wie KEGG zu finden sind (SIMIANER et al., 2013).

Die hier dargestellten Ergebnisse illustrieren das erhebliche Potential des SCBP bisher nur in ersten Ansätzen. Die Weiterentwicklung und Anwendung neuer methodischer Ansätze der Datenanalyse sowie die Erweiterung des Spektrums durch indigene Rassen

Asiens, Afrikas, Indonesiens und den Philippinen werden in noch breiterem Maße die genetische Diversität innerhalb der Tierart *Gallus gallus* widerspiegeln und die Nutzungsmöglichkeiten dieses Panels erweitern.

Danksagung

Ein besonderer Dank geht an alle Züchterinnen und Züchter, die es uns ermöglicht haben, bei ihren Tieren sowohl eine Blutprobe zu gewinnen als auch die individuelle Merkmalserfassung durchzuführen. Dank sagen möchten wir darüber hinaus sowohl dem Präsidium als auch der Geschäftsführung des BDRG sowie den lokalen Organisatoren der zahlreichen Geflügelschauen für ihre tatkräftige Unterstützung, ohne die die Probensammlung nicht möglich gewesen wäre. Des Weiteren danken wir Frau Dr. Kogelbeide vom LAVES Niedersachsen für ihre Unterstützung bei der Anzeige der Blutentnahmen in den jeweiligen Veterinärämtern. Allen, die auf den Schauen oder bei anderen Gelegenheiten bei der Probenahme geholfen haben, sei an dieser Stelle ausdrücklich Dank gesagt. Herrn Prof. Fries, Herrn Dr. Pausch und Herrn Dr. Wyszocki sowie Frau Braig sei für die ausgezeichnete Zusammenarbeit bei der Genotypisierung herzlich gedankt. Unser Dank gilt der Lohmann Tierzucht GmbH und der KWS Saat AG sowie allen Kolleginnen und Kollegen für die ihre Unterstützung und produktive Zusammenarbeit im Rahmen des Synbreed-Projekts. Das Projekt wurde im Rahmen des AgroClusters Synbreed (FKZ 0315528E) durchgeführt, das dankenswerterweise durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördert wird.

Literatur

- ANDERSSON, L., (2012): How selective sweeps in domestic animals provide new insight into biological mechanisms. *J. Intern. Med.* 271(1), 1–14.
- BAO, W., G. CHEN, B. LI, X. WU, J. SHU, S. WU, Q. XU und S. WEIGEND, (2008): Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships among red jungle fowls and Chinese domestic fowls. *Sci. China C. Life Sci.* 51, 560–568.
- BATSON, W., (1902): Experiments with poultry. *Rep. Evol. Comm. Roy Soc.* 1, 87–124.
- BERTHOUD, C., B. BÉDHOM, M. TIXIER-BORCHARD, C.F. CHEN, Y.P. LE, D. LALOED, H. LEGROS, E. VERRIER und X. ROGNON, (2008): Using molecular markers and multivariate methods to study the genetic diversity of local European and Asian chicken breeds. *Anim. Genet.* 39, 121–129.
- BODZSAR, N., H. EDING, T. RAVAY, A. HIDAS und S. WEIGEND, (2009): Genetic diversity of Hungarian indigenous chicken breeds based on microsatellite markers. *Anim. Genet.* 40, 516–523.
- BURKE, T., O. HANOTTE, M.W. BRUNORD und E. CAIRNS, (1991): Multilocus and single locus minisatellite analysis in population biological studies. *DNA Fingerprinting: Approaches and Applications* (Burke, T., Dolf, G., Wolff, R., and Jeffreys, A.J., Eds), Birkhäuser, Basel, Switzerland, 154–268.
- BURR, D.W. und S.J. WHITE, (2007): Avian genomics in the 21st century. *Cytogenet. Genome Res.* 117, 6–13.
- CRAWFORD, R., (1990): *Poultry genetic resources: evolution, diversity, and conservation*. *Aus. Poultry Breeding and Genetics* (ed. by R. Crawford), Elsevier, Amsterdam.
- CUC, N.T.K., H. SIMIANER, H. EDING, H.V. THU, V.C. CUONG, C.B.A. WOLLAY, L.F. GOENREVELD und S. WEIGEND, (2010): Assessing genetic diversity of Vietnamese local chicken breeds using microsatellites. *Anim. Genet.* 41, 545–547.

- ERIKSSON, J., G. LARSON, U. GUNNARSSON, B. BED'NOM, M. TXHIER-BOICNARD, L. STRÖMSTEDT, D. WRIGHT, A. JUNGERRUS, A. VEREJUKEN, E. RANBY, P. JENSEN und L. ANDERSSON, (2008): Identification of the Yellow Skin Gene Reveals a Hybrid Origin of the Domestic Chicken. *PLoS Genet* 4(2), e1000010. doi:10.1371/journal.pgen.1000010.
- GANOLA, D., H. SIMANER und S. QANBARI, (2010): A two-step method for detecting selection signatures using genetic markers. *Gen. Res.* 92, 141–155. doi: 10.1017/S0016672310000121.
- GRANVITZKE, Z., J. HILDE, G.H. CHEN, N.T.K. CUC, M. FELDMANN, H. EDING und S. WEIGEND, (2007): Genetic diversity within chicken populations from different continents and management histories. *Anim. Genet.* 38, 576–83.
- GRANVITZKE, Z., J. HILDE, M. FELDMANN, A. SIX, H. EDING und S. WEIGEND, (2009): Genetic structure of a wide-spectrum chicken gene pool. *Anim. Genet.* 40, 686–693.
- GROENVELD, L.F., J.A. LENSJTA, H. EDING, M.A. TORO, B. SCHIERR, D. PELING, R. NEGINDI, E.K. FINLAY, H. JIANG, E. GROENVELD, S. WEIGEND und The GLOBALDIV Consortium, (2010): Genetic Diversity in Farm Animals – a Review. *Anim. Genet.* 41, 6–31.
- HILL, W.G., (2008): Estimation, effectiveness and opportunities of long term genetic improvement in animals and maize. *Lohmann Information* 43, 3–20.
- HILDE, J., M.A.M. GROENEN, M. TXHIER-BOICNARD, A.B. KOROL, L. DAVD, V.M. KRIZHNER, T. BURKE, A. BARRE-DIENE, R.R. GROOLIMANS, K. ELO, M.W. FELDMANN, P.J. FREIDLIN, A. MÄKI-TANHA, M. OORTJIN, P. THOMSON, A. VIGNAL, K. WIMMERS und S. WEIGEND, (2003): Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genet. Sel. Evol.* 35, 533–557.
- HUDSON, D.H. und D. BRANT, (2006): Application of phylogenetic net-works in evolutionary studies. *Molec. Biol. Evol.* 23, 254–267.
- IMSLAND, F., C. FENG, H. VOLLE, B. BED'NOM, V. FILLON, B. DOVAGNORST, C.J. RUBIN, R. LIU, Y. GAO, X. GU, Y. WANG, D. GOULICSON, M.C. ZODY, W. ZECCHIN, A. VIKARD, M. TXHIER-BOICNARD, X. HU, F. HALLVÖÖK, N. LI und L. ANDERSSON, (2012): The Rose-comb Mutation in Chickens Constitutes a Structural Rearrangement Causing Both Altered Comb Morphology and Defective Sperm Motility. *PLoS Genet* 8(6), e1002775. doi:10.1371/journal.pgen.1002775.
- KNIPSPEL, O., (1908): Die Maßnahmen zur Förderung der Nutzgeflügelzucht in Deutschland nach dem Stande vom Jahre 1907. Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft, Heft 145, Berlin.
- KRANIS, A., A.A. GHEVAs, C. BOSCHERO, F. TURNER, L. YU, S. SMITH, R. TALBOT, A. PRANI, F. BREV, P. KAISER, P.M. HOCKING, M. FIFE, N. SALMON, J. FULTON, T.M. STROM, G. HABERER, S. WEIGEND, R. PREISINGER, M. GHOLAMI, S. QANBARI, H. SIMANER, K.A. WATSON, J.A. WOOLLIAMS und D.W. BURR, (2013): Development of a high density 600K SNP genotyping array for chicken. *BMC Genomics.* 28, 14:59. doi: 10.1186/1471-2164-14-59.
- MUCHADDET, F.C., H. EDING, C.B.A. WOLLNY, E. GROENVELD, S.M. MAKUTZA, R. SHAMSELDIN, H. SIMANER und S. WEIGEND, (2007): Absence of population substructuring in Zim-babwe thickened ecotypes inferred using microsatellite analysis. *Anim. Genet.* 38, 332–339.
- MUIR, W.M., G.K. WONG, YE. ZHANG, J. WANG, M.A. GROENEN, R.P. GROOLIMANS, H.J. MEGENS, H. ZHANG, R. OKIMOTO, A. VEREJUKEN, A. JUNGERRUS, G.A. ALBERS, C.T. LAWLEY, M.E. DELANY, S. MACLEACHIAN und H.H. CHENG, (2008): Genome-wide assessment of worldwide chicken SNP genetic diversity indicates significant absence of rare alleles in commercial breeds. *Proc Natl Acad Sci* 105(45), 17312–17317. doi:0806569105.
- QANBARI, S., M. HANSEN, S. WEIGEND, R. PREISINGER und H. SIMANER, (2010): Linkage disequilibrium reveals different demographic history in egg laying chickens. *BMC Genetics* 11, 103. doi:10.1186/1471-2156-11-103.
- QANBARI, S., T.M. STROM, G. HABERER, S. WEIGEND, A.A. GHEVAs, F. TURNER, D.W. BURR, R. PREISINGER, D. GANOLA und H. SIMANER, (2012): A high resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: an application to pooled sequence data in laying chickens. *PLoS ONE* 7(11), e49525. doi:10.1371/journal.pone.0049525.
- RUBIN, C.J., M.C. ZODY, J. ERIKSSON, J.R.S. MEADOWS, E. SHERWOOD, M.T. WEBSTER, L. JIANG, M. INGMAN, T. SHARPE, S. KA, F. HALLVÖÖK, F. BESNIER, O. CARLBERG, B. BED'NOM, M. TXHIER-BOICNARD, P. JENSEN, P. STIEGL, K. LANDVILAD-TON und L. ANDERSSON, (2010): Whole-genome resequencing reveals loci under selection during chicken domestication. *Nature* 464(7288), 587–591. doi: 10.1038/nature08832.
- SIMANER, H., N.T. HA, U. JANSSEN-TAPKEN, U. OBER, M. ERBE, A. WEIGEND und S. WEIGEND, (2013): Linking phenotypic with genomic diversity in the Synbreed Chicken Diversity Panel. *Proc. 8th Europ. Symp. Poultry Genet.*, Venice, 25–27, 17–19.
- TAUTZ, D., (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17, 6463–6471.
- WEIGEND, S. und N.M. ROMANOV, (2001): Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources. *World's Poultry Sci. J.* 57, 275–288.
- WRAGG, D., J.M. MWACHIRO, J.A. ALCALDE, P.M. HOCKING und O. HANOTTE, (2012): Analysis of genome-wide structure, diversity and fine mapping of Mendelian traits in traditional and village chickens. *Heredity* 109, 6–18. doi:10.1038/hdy.2012.9.