

Institut für Tierzucht und Haustiergenetik,
Georg-August-Universität Göttingen

Selektionsexperimente zur Erhöhung des Männchenanteils bei Nilbuntbarschen (*Oreochromis niloticus*) mittels Temperaturbehandlung

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Agrarwissenschaften
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von
Stephan Wessels,
geboren in Papenburg

Göttingen, Juli 2006

D7

1. Referentin: Prof. Dr. Gabriele Hörstgen-Schwark

2. Referent: Prof. Dr. Erich Bruns

Tag der mündlichen Prüfung: 14.7.2006

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	i
Tabellenverzeichnis	iv
Abbildungsverzeichnis	vii
Abkürzungsverzeichnis	ix
Verwendete Tiernamen.....	xi
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Mechanismen der Geschlechtsdetermination.....	2
2.1.1 Entstehung der Geschlechtschromosomen.....	6
2.1.2 Entstehung der genetischen Geschlechtsbestimmung.....	9
2.1.2.1 Monofaktorielle Geschlechtsbestimmung.....	9
2.1.2.2 Autosomale Einflüsse.....	14
2.1.2.3 Polyfaktorielle Geschlechtsbestimmung.....	15
2.1.3 Umweltabhängige Geschlechtsdetermination und ihre evolutionäre Bedeutung.....	19
2.1.4 Quantitativ genetische Grundlagen der temperaturabhängigen Geschlechtsbestimmung.....	24
2.1.4.1 Genotyp-Umwelt Interaktion.....	24
2.1.4.2 Wiederholbarkeit des Merkmals temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung.....	34
2.1.4.3 Erbllichkeit.....	36
2.1.4.4 Anzahl Loci der temperaturabhängigen und der autosomalen Geschlechtsbestimmung.....	38
2.1.4.5 Konsequenzen für den Selektionserfolg.....	47
2.1.4.6 Betrachtung der temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse als kontinuierliches Merkmal.....	49
2.1.4.7 Genetische Parameter des Merkmals Geschlechterverhältnis und deren Feststellung.....	52
3 Eigene Untersuchungen	57
3.1 Zielsetzung	57
3.2 Material und Methoden	57
3.2.1 Aufbau der Versuchsanlage	57

3.2.2	Herkunft der Versuchsfische.....	58
3.2.3	Laichfischmanagement.....	59
3.2.4	Erstellung der Prüfgruppen.....	60
3.2.5	Temperaturbehandlung	61
3.2.6	Wachstumsphase	62
3.2.7	Geschlechtsbestimmung	62
3.2.8	Selektion der Elternfische	63
3.2.9	Durchführung des Selektionsexperiments	63
3.2.9.1	Testung der Elterngeneration	65
3.2.9.2	Testung der ersten Selektionsgeneration.....	65
3.2.9.3	Testung der zweiten Selektionsgeneration.....	65
3.2.10	Erhobene Parameter	66
3.2.11	Statistische Auswertung	70
4	Ergebnisse.....	71
4.1	Ergebnisse.....	71
4.1.1	Deskriptive Statistik	71
4.1.1.1	Überlebensraten.....	72
4.1.1.2	Überlebensraten der Genotypen aus homozygot isogenen Linien.....	72
4.1.1.3	Test der temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse auf Normalverteilung.....	74
4.1.1.4	Wiederholbarkeit.....	77
4.1.1.5	Anteile selektierter Familien in den Generationen	79
4.1.1.6	Männchenanteile in den Generationen.....	80
4.1.1.7	Männchenanteile in Nachkommenschaften verschiedener Genotypen aus homozygot isogenen Linien	85
4.1.2	Genetische Parameter.....	86
4.1.2.1	Effektive Populationsgrösse und Inzuchtsteigerungsrate	86
4.1.2.2	Selektionsdifferenzen	87
4.1.2.3	Selektionsintensitäten und -erfolge	89
4.1.2.4	Realisierte Heritabilität.....	90
4.1.2.5	Standardfehler der realisierten Heritabilität	92
4.1.2.6	Heritabilitäten nach dem Schwellenwertmodell	93
5	Diskussion	95

5.1	Diskussion	95
5.1.1	Effekt der Elterntierkombination.....	96
5.1.2	Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung als quantitative Merkmal.....	100
5.1.3	Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung unter dem Einfluss von Haupt- und einigen Nebenfaktoren.....	108
5.1.4	Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung als polygenes Merkmal	112
5.1.5	Die Theorie der zwei Merkmale	116
5.1.6	Homozygot isogene Linien und die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung.....	119
5.1.7	Schlussfolgerungen für weitere Untersuchungen	125
5.1.8	Bedeutung und Aussichten für die Praxis	126
6	Zusammenfassung	129
7	Summary	131
8	Literaturverzeichnis	133
9	Anhang	153
10	Danksagung	162

Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	Zusammenfassung interspezifischer Kreuzungen, gekennzeichnet durch von der 50:50 Verteilung abweichende Geschlechterverhältnisse (nach Pruginin et al. (1975))	12
Tabelle 2.2:	Geschlechterverhältnisse aus Kreuzungen (a) maskulinisierter Weibchen mit regulären Weibchen und (b) feminisierter Männchen mit regulären Männchen (nach DEVLIN und NAGAHAMA, 2002).....	13
Tabelle 2.3:	Genotypen bei Kombination eines Drei-Faktor-Systems (X, W, Y) mit zwei Autosomen (A, a)	14
Tabelle 2.4:	Männchenanteile (gerundet) unterschiedlicher Genotypverpaarungen in der Gattung <i>Oreochromis</i>	17
Tabelle 2.5:	Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse (gerundet) verschiedener Herkünfte von <i>O.niloticus</i>	30
Tabelle 2.6:	Effekt der Aufzucht bei 36°C Wassertemperatur für 10 Tage auf die Geschlechterverhältnisse von Brut der Herkunft Lake Manzala in wiederholten Anpaarungen (Daten aus: TESSEMA LEMMA, 2001).....	35
Tabelle 2.7:	Korrelation der X-Werte (ρ_x) in Abhängigkeit der B-Werte (ρ_B) und des Geschlechterverhältnisses	54
Tabelle 3.1:	Wasserparameter während der Versuchsperiode.....	58
Tabelle 3.2:	Diallel der ersten Selektionsgeneration.....	65
Tabelle 3.3:	Korrelation der x-Werte (ρ_x) in Abhängigkeit der b-Werte (ρ_B) und des Geschlechterverhältnisses	69
Tabelle 4.1:	Ergebnisse der deskriptiven Auswertung des Selektionsexperimentes	71
Tabelle 4.2:	Mittelwerte und Standardabweichungen (\pm) der Überlebensraten in Kontroll- und Behandlungsgruppen der ersten und zweiten Selektionsgeneration	72
Tabelle 4.3:	Anzahl an Fischen, Mittelwerte und Standardabweichungen (\pm) der Überlebensraten (ÜR) von Tag 9–90 in den Klonkreuzungen und meiotisch gynogenetisch erstellten Prüfgruppen	73
Tabelle 4.4:	Ergebnisse des Kolmogorov-Smirnov (K-S) Anpassungstests für die durchschnittlichen Männchenanteile in den Kontroll- und	

	Behandlungsgruppen der Linien High und Low in der jeweiligen Generation	74
Tabelle 4.5:	Männchenanteile wiederholt getesteter Anpaarungen in den Kontrollen und Behandlungen der ersten Selektionsgeneration	78
Tabelle 4.6:	Kreuzklassifikation der wiederholt erstellten Gelege und des Geschlechts (männlich, weiblich) der Fische, getrennt nach Behandlung (Werte in den Zellen = Summe der Fische aller Anpaarungen n=6)	79
Tabelle 4.7:	Anteile und Anzahlen hochsensibler und schwachsensibler, selektierter Familien in den Anpaarungskombinationen der Generationen	79
Tabelle 4.8:	Männchenanteile in den Anpaarungskombinationen der Selektionsgenerationen	80
Tabelle 4.9:	Ergebnisse der Varianzanalyse mit den Faktoren Behandlung und Anpaarungskombination auf die Geschlechterverhältnisse in der ersten Selektionsgeneration	81
Tabelle 4.10:	Männchenanteile in den Kreuzungen der verschiedenen homozygot isogenen Linien sowie in gynogenetisch erzeugten Prüfgruppen	85
Tabelle 4.11:	Effektive Populationsgrösse (N_e) und Inzuchtsteigerungsrate (ΔF) in Abhängigkeit der Anzahl (n) an Müttern, Vätern in den Linien High und Low	86
Tabelle 4.12:	Mittel und Standardabweichungen (\pm) der Geschlechterverhältnisse in den Kontrollen und Behandlungen der selektierten Familien der Linien High und Low im Vergleich zum entsprechenden Gesamtmittel	87
Tabelle 4.13:	Erwartete und Realisierte Selektionsdifferentiale (SD) in den Kontroll- und Behandlungsgruppen der Linien High und Low	88
Tabelle 4.14:	Beobachteter Selektionserfolg (ΔG) in Abhängigkeit des Anteils selektierter Familien in den Linien High und Low	89
Tabelle 4.15:	Genetische Parameter der Linien High und Low im Vergleich der Generationen	91
Tabelle 4.16:	Standardfehler der realisierten Heritabilität in Abhängigkeit verschiedener Parameter nach FALCONER & MACKAY (1996)	92

Tabelle 4.17: Heritabilitäten nach Bull et al. (1982) für das Merkmal <i>tsd</i> in den Behandlungs- und Kontrollgruppen der Linien High und Low in den Generationen	93
Tabelle 5.1: Männchenanteil in den Kontroll- und Behandlungsgruppen ausgewählter Elternkombinationen aus den Untersuchungen von TESSEMA LEMMA (2001) sowie der Eltern- und der ersten Selektionsgeneration der vorliegenden Arbeit	98
Tabelle 5.2: Theoretische Effekte der Allele A_1 und A_2	103
Tabelle A.1: Rohdaten des Selektionsexperiments.....	153

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Männchenanteile verschiedener Herkünfte von <i>O.niloticus</i> bei unterschiedlichen Temperaturregimes (Daten aus: BAROILLER et al., 1995b; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002; MORAIS BORGES et al., 2005).....	25
Abbildung 2.2: Auf Thermosensibilität getestete Populationen und ihre durchschnittlichen Geschlechterverhältnisse in den Behandlungsgruppen (Daten aus: BAROILLER et al., 1995b; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002; MORAIS BORGES et al., 2005)	27
Abbildung 2.3: Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse (Mittelwerte) verschiedener Herkünfte von <i>O.niloticus</i>	29
Abbildung 2.4: Effekt des Vaters innerhalb Mütter auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse von <i>Oreochromis niloticus</i> (nach TESSEMA LEMMA, 2001).....	32
Abbildung 2.5: Effekt der Mutter innerhalb Väter auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse von <i>Oreochromis niloticus</i> (nach TESSEMA LEMMA, 2001).....	33
Abbildung 2.6: Effekt Mütter innerhalb Väter bei Anpaarungen zwischen verschiedenen Herkünften von <i>Oreochromis niloticus</i> (nach TESSEMA LEMMA, 2001).....	34
Abbildung 2.7: Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse bei Nachkommen temperatursensibler und -behandelter Milchner der Spezies <i>Oreochromis niloticus</i> in den Kontroll- und Behandlungsgruppen.....	37
Abbildung 2.8: Schematische Abbildung temporärer Veränderungen der Expression steroidogener Enzyme und der Produktion von Östro- und Androgenen während der Geschlechtsdifferenzierung und frühen Gametogenese von <i>O.niloticus</i> (nach STRÜSSMANN & NAKAMURA, 2002).....	45
Abbildung 2.9: Mechanismen der Geschlechtsdetermination in der Klasse Mammalia, zelluläre und molekulare Interaktionen (KOOPMAN, 2001a).....	46

Abbildung 3.1: Versuchsschema des Selektionsexperiments	64
Abbildung 4.1: Histogramme der Geschlechterverhältnisse in den Kontroll und Behandlungsgruppen der Elterngeneration (a,b), der Linie High der ersten Selektionsgeneration (c,d), der Linie Low der ersten Selektionsgeneration (e,f), der Linie High (g,h) und Low (i,j) der zweiten Selektionsgeneration	76
Abbildung 4.2: Verteilung der Männchenanteile in den Behandlungsgruppen der verschiedenen Anpaarungskombinationen in der ersten Selektionsgeneration	82
Abbildung 4.3: Verteilung der Geschlechterverhältnisse auf zehn Klassen von 0-100% Männchen für die Linie High (a) und Low (b) (nicht besetzte Klassen nicht aufgeführt).....	84
Abbildung 5.1: Selektionserfolge in Abhängigkeit der Selektionsgeneration (SG)	123

Abkürzungsverzeichnis

11 β -HSD	11 Beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase
1.SG	Erste Selektionsgeneration
2.SG	Zweite Selektionsgeneration
3 β -HSD	3 Beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase
<i>Amh</i>	Anti Müller Hormon
<i>Cyp 19a</i>	Cytochrom P-450 Aromatase a
<i>Dax1</i>	Dosage sensitive sex reversal-adrenal hyplosia congenita critical region on the X chromosome
<i>DD-PCR</i>	Differential Display Polymerase Chain Reaction
<i>Df</i>	Freiheitsgrade
<i>DM-Domänen</i>	<i>doublesex mab3</i> DNA binding domain
<i>Dmrt1</i>	<i>doublesex</i> and <i>mab-3</i> related transcription factor 1
<i>Dmrt1 (Y)</i>	<i>doublesex</i> and <i>mab-3</i> related transcription factor 1 on the Y- chromosome
<i>Dmrt1bY</i>	<i>doublesex</i> and <i>mab-3</i> related transcription factor 1 on the Y- chromosome
<i>DMY</i>	<i>doublesex and mab3 binding domain</i> on the Y-chromosome
<i>DOP-PCR</i>	Degenerate oligonucleotide primed Polymerase Chain reac- tion
<i>dpf</i>	Days post fertilisation
<i>dsx</i>	<i>doublesex</i>
<i>EG</i>	Elterngeneration
<i>esd</i>	Environmental sex determination
<i>f</i>	Anzahl Familien
ΔF	Inzuchtsteigerungsrate
<i>F</i>	F-Wert
<i>gsd</i>	Genetic sex determination
<i>GV</i>	Geschlechterverhältnis
<i>FISH</i>	Fluorescence <i>in situ</i> hybridisation
h_r^2	realisierte Heritabilität
h_{Bull}^2	Heritabilität nach Bull et al. (1982)
<i>i</i>	Selektionsintensität
<i>K-S</i>	Kolmogorov-Smirnov Anpassungstest

M	Anzahl Anpaarungen
$mab-3$	Geschlechtsbestimmendes Gen bei <i>Caenorhabditis elegans</i>
MQ	mittlere Quadratsumme
n	Anzahl
N_e	effektive Populationsgrösse
p	Anteil selektierte Familien
P	Erwartetes Populationsgeschlechterverhältnis
p_i	Familiengeschlechterverhältnis
P_i	Erwartetes Familiengeschlechterverhältnis
$P450_{arom}$	Cytochrom P450 Aromatase
$P450c17$	Cytochrom P450 17 α -Hydroxylyase/17,20-lyase
$P450scc$	Cholesterol side chain cleavage cytochrome P450
PAR	Pseudoautosomale Region
s	Standardabweichung
S	Summenquadrat
SD	Selektionsdifferential
SE	Standardfehler
$Sf1$	Steroidogenic factor 1
SG	Selektionsgeneration
$Sox9$	<i>Sry</i> related high mobility group box gene 9
SQ	Summenquadrate
sr	sex reversal
Sry	Sex determining region on the Y-chromosome
t	Anzahl Generationen
TDF	testesdeterminierender Faktor <i>Sry</i>
tsd	temperature sex determination
$\ddot{U}R$	Überlebensrate
V_P	Phänotypische Varianz
$Wt1$	Wilms' tumor suppressor 1
ΔG	Selektionserfolg
ρ_B	Kovarianz der B-Werte
ρ_x	Korrelation der x-Werte
σ_g^2	Zwischengruppenvarianz

Verwendete Tiernamen

Mississippi-Alligator	<i>Alligator mississippiensis</i>
Fadenwurm	<i>Caenorhabditis elegans</i>
Unechte Karettschildkröte	<i>Caretta caretta</i>
Schnappschildkröte	<i>Chelydra serpentina</i>
Wolfsbarsch	<i>Dicentrarchus labrax</i>
Schwarzbäuchige Taufliege	<i>Drosophila melanogaster</i>
Leopardgecko	<i>Eublepharis macularius</i>
Ouachita Höckerschildkröte	<i>Graptemys ouachitensis</i>
	<i>Graptemys ouachitensis</i>
Mondährenfisch	<i>Menidia menidia</i>
Regenbogenforelle	<i>Oncorhynchus mykiss</i>
Tilapien:	<i>Oreochromis aureus</i>
	<i>Oreochromis hornorum</i>
	<i>Oreochromis macrochir</i>
	<i>Oreochromis mossambicus</i>
	<i>Oreochromis niloticus</i>
Japan Reiskärpfling	<i>Oryzias latipes</i>
Mekong Reiskärpfling	<i>Oryzias mekongensis</i>
Kugelfisch	<i>Sphoeroides maculatus</i>
Zahnkarpfen	<i>Xiphophorus maculatus</i>

1 Einleitung

Die Spezies *Oreochromis niloticus* leistet mit einer weltweiten Produktion von 1,8 Mio. Tonnen Jahresproduktion einen grossen Beitrag zur Versorgung der Weltbevölkerung mit tierischem Eiweiss. Ihr breites Nahrungsspektrum, ihre geringe Stressempfindlichkeit und Robustheit gegenüber Umweltparametern sorgten für eine rasche Verbreitung dieser Spezies von den tropischen und subtropischen Standorten mit Teichhaltung bis hin zu hochintensiven Kreislaufsystemen in Europa und Nordamerika. Trotz vieler Vorteile dieser Spezies stellt besonders ihre hohe Reproduktionsrate die Produktion in extensiven und semiintensiven Systemen der tropischen Regionen vor Probleme. Bedingt durch das grosse Aufkommen von Nachwuchs und das arttypische Maulbrutverhalten der Weibchen führt diese Situation zu erhöhtem Konkurrenzdruck hinsichtlich der Nahrung und des Sauerstoffs, die erhebliche Produktivitätseinbussen bedingt. Daher werden von den Farmen eingeschlechtlich männliche Bestände bevorzugt. Eine gängige Methode zur Erstellung rein männlicher Setzlinge, ist die hormonelle Geschlechtsumkehr der schwimmfähigen Brut. Der Einsatz von Hormonen ist jedoch aus Sicht der Konsumenten und des Umweltschutzes unerwünscht. Eine alternative Methode ist der Einsatz von YY-Männchen. Dieser ist jedoch mit einem sehr hohen Aufwand an Kapital, Management und Know-how verbunden und somit vor allem auf High-Input Systeme beschränkt. Daher wurde die Erforschung der Geschlechtsdeterminationsmechanismen dieser und nah verwandter Spezies in den letzten zwei Jahrzehnten besonders intensiviert. Ein Ergebnis war die Feststellung, dass Tilapien, neben geschlechtsbestimmenden Hauptfaktoren, eine temperaturabhängige Geschlechtsdetermination aufweisen, wobei hohe Temperaturen eine Vermännlichung der Brut bewirken. Da die Temperatursensibilität der Nachkommen sowohl von der Mutter als auch vom Vater beeinflusst wird, scheint dieses Merkmal erblich zu sein. Daher soll die vorliegende Untersuchung zeigen, ob durch Selektion auf temperaturbeeinflusste Geschlechterverhältnisse, Zuchtlinien erstellt werden können, die nachhaltig entweder hohe oder wenig erhöhte Männchenanteile aufweisen. Des weiteren soll der Einfluss einer ausgedehnten Temperaturbehandlung auf die Geschlechtsdetermination verschiedener Genotypen aus homozygot isogenen Linien evaluiert werden, um weitergehende Informationen hinsichtlich der geschlechtsdeterminierenden Mechanismen dieser Spezies zu erhalten.

2 Literaturübersicht

2.1 *Mechanismen der Geschlechtsdetermination*

Die Klasse der Osteichthyes zeigt mit über 25 000 Arten die verschiedensten Anpassungen, um den Anforderungen ihrer vielgestaltigen Lebensräume zu begegnen. Der Diversität ihrer Lebensräume entsprechend sind die vielen unterschiedlichen Fortpflanzungsmechanismen und –strategien innerhalb der Knochenfische ein phylogenetisches Erbe der grossen Anzahl an Habitaten, sowie der Dynamik ihrer Populationen.

Die stetige Veränderung, aber auch die Vielgestalt des Lebensraumes erfordern Strategien der Reproduktion, die auch nachhaltig die Mechanismen der Geschlechtsdetermination beeinflussen. So ermöglicht die Umkehr des Geschlechts und der Hermaphroditismus, individuellen Mitgliedern einer Population, und damit den Populationen als Ganzem, die Maximierung des reproduktiven Outputs (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002). Hermaphroditische Spezies sind in der Lage während eines bestimmten Abschnittes ihres Lebens männliche und weibliche Geschlechtsprodukte zu produzieren. Unterschieden werden kann dabei zwischen synchronen Hermaphroditen, die männliche und weibliche Gameten zur gleichen Zeit produzieren und sequentiellen Hermaphroditen, die zunächst nur einen Typ Gameten, dann aber das Geschlecht wechseln und im nächsten Laichzyklus Gameten des anderen Geschlechts produzieren (SADOVY & SHAPIRO, 1987). Zunächst das weibliche Geschlecht annehmende Spezies werden als protogyn bezeichnet. Die sich im Gegensatz dazu primär als Männchen entwickelnden Spezies werden unter dem Begriff protandrisch zusammengefasst. Die hohe Variabilität der Umwelt, in der sich Fische bewegen, bedingt Anpassungsmechanismen, die ihnen ermöglichen ihre Fitness an schlechtere Umweltbedingungen anzupassen (z.B. durch Änderung des Geschlechts). Diese Strategie dient der Erhöhung des reproduktiven Erfolgs und stellt daher den Grund für die starke Verbreitung des Hermaphroditismus unter Fischen dar.

Die Koexistenz eines stark genetisch als auch hermaphroditisch bestimmten geschlechtsdeterminierenden Systems scheint die Bildung eines stabilen Geschlechtsdeterminationsmechanismus auszuschliessen. So konnten bei nur 7 Genera von 259 untersuchten Spezies, die verschiedene Formen von Hermaphroditismus zeigten, Ge-

schlechtschromosomen identifiziert werden. Die Entdeckung derselbigen beschränkte sich jedoch auf bestimmte Populationen und/oder Individuen (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002). Innerhalb jeder einzelnen Familie konnten interessanterweise alle Formen von Hermaphroditismen (synchron, protogyn, protandrisch) sogar neben gonochoristischen Spezies entdeckt werden (BUXTON & GARRAT, 1990; CODY & BORTONE, 1992; FISHELSON, 1992). Die Plastizität der geschlechtsdifferenzierenden Prozesse zwischen nah verwandten Spezies deutet somit darauf hin, dass verschiedene reproduktive Strategien relativ leicht durch geringfügige Veränderungen der bestehenden Stoffwechselfvorgänge entstehen können (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002).

Wie bereits angedeutet existieren neben den hermaphroditischen Spezies in der Fischwelt auch solche, die getrenntgeschlechtlich (gonochoristisch) sind. Dabei entwickeln sich die Individuen zu Männchen oder Weibchen und behalten ihr einmal vollständig ausgeprägtes Geschlecht bis zum Lebensende bei. Die finale Ausbildung des Geschlechts muss dabei jedoch dem initial eingeleiteten Weg der Geschlechtsdifferenzierung nicht entsprechen. Denn während dieser Phase ist, in Abhängigkeit von der Spezies und der Stärke der unterliegenden geschlechtsbestimmenden Mechanismen, eine Beeinflussung des noch nicht vollständig differenzierten Geschlechts über externe Faktoren möglich. Unterschieden werden kann zwischen primär und sekundär gonochoristischen Spezies (YAMAMOTO, 1969). Erstere entwickeln direkt aus zunächst undifferenzierten Gonadenzellen ihre Ovarien bzw. Testes. Sekundär gonochoristische Arten hingegen besitzen vor der Geschlechtsdifferenzierung sogenannte intersexuelle, d.h. sowohl männliche als auch weibliche Geschlechtszellen aufweisende Gonaden, die sich mit Beginn der Differenzierung entweder zu Testes oder Ovarien entwickeln. Somit kann bei diesen Spezies von einem rudimentären Hermaphroditismus gesprochen werden, der es den Fischen nur während eines bestimmten Zeitfensters (Geschlechtsdifferenzierung) erlaubt, Modulationen des Geschlechts zuzulassen. Im Unterschied zu den Säugern, bei denen nach der Bestimmung des Geschlechts unumgänglich ein determinierter Weg der Differenzierung eingeschlagen wird, gibt es bei Fischen viele Ausnahmen von dieser Regel. YAMAMOTO (1969) erkannte den Einfluss von Geschlechtshormonen auf die Ausprägung des geschlechtlichen Phänotyps. Der Autor fand durch Fütterung von Geschlechtshormonen, dass die Fische nur während eines gewissen Zeitfensters geschlechtlich umzukehren waren. Diesen empirisch über den Zeitpunkt und die

Dauer der Hormongabe ermittelten Zeitraum bezeichnete der Autor als geschlechtslabile Phase, in der das Geschlecht von externen Einflüssen beeinflusst werden kann. BAROILLER et al. (1999) beschrieben genau diesen Zeitraum, in dem Hormone das phänotypische Geschlecht verändern, als kongruent mit dem Zeitraum in dem auch die Temperatur ihre geschlechtsbeeinflussende Wirkung ausüben kann. Daher folgerten die Autoren, dass die Geschlechtsdifferenzierung innerhalb dieses speziesabhängigen Zeitfensters abläuft und das vermutlich Geschlechtshormone einen starken Einfluss auf die Differenzierung des Geschlechts haben müssen.

Trotz der hohen Labilität der geschlechtsdeterminierenden Prozesse bei Fischen werden durch interne Kontrollmechanismen oder exogene Reize initiiert, Stoffwechselwege beschritten, die sobald eine gewisse Schwelle überschritten ist unwiderruflich zur Ausprägung eines geschlechtlichen Phänotyps führen.

Ausnahmen sind vor allem unter hermaphroditischen aber auch unter gonochoristischen Spezies anzutreffen. Diese zwar nicht seltenen aber doch sehr speziellen Mechanismen dienen bestimmten Spezies dazu einen höheren reproduktiven Erfolg durch Anpassung der Fitness zu erreichen (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002).

Insgesamt nutzen Fische ein sehr breites Spektrum an Mechanismen zur Differenzierung des geschlechtlichen Phänotyps. Viele Spezies unterliegen einem den Säugern ähnlichem, genetischem System, wobei das Geschlecht bereits während der Befruchtung bestimmt wird. Bei anderen Spezies kann die Geschlechtsausprägung von exogenen Faktoren, wie der sozialen Rangfolge, der Temperatur oder Jahreszeit abhängen (BAROILLER et al., 1999). Aber auch eine Kombination rein genetischer und exogen beeinflusster Mechanismen kann in den verschiedensten Formen auftreten und innerhalb einer Familie eines Tierstammes stark variieren.

Die Aktivität und Stärke der vielen interagierenden biochemischen Prozesse der Geschlechtsdetermination und –differenzierung variiert zwischen Populationen und Mitgliedern derselbigen. Diese Variation beruht ihrerseits auf polymorphen Allelen, die für Gene dieses Pfades kodieren, oder aber den Einflüssen einer labilen Umwelt. Generell wird die Entstehung rein genetischer Systeme und damit auch die Entstehung von Geschlechtschromosomen als sehr junges Phänomen angesehen (FILATOV, 2005; HARVEY et al., 2003). Fehlende morphologische und cytogenetische Identifikation der Geschlechtschromosomen sowie häufig beschriebene Beispiele verzerrter Geschlechterverhältnisse verwehren eine Generalisierung eines rein genetisch bestimmten Mechanismus bei Fischen (BULL, 1983).

Fische der Spezies *Oreochromis niloticus* erweisen sich als prädestiniert für Studien zur Geschlechtsbestimmung, da sie abhängig von der Herkunft unterschiedliche Mechanismen der Geschlechtsdetermination aufweisen. Diese umfassen das bereits beschriebene monofaktorielle XX–XY/ZW–ZZ Modell (JALABERT et al., 1974; PENMAN et al., 1987; AVTALION, 1990; MAIR et al., 1991a) wobei auch autosomale Faktoren in bestimmten Konstellationen (AVTALION & HAMMERMANN, 1978; MAIR et al. 1991b; MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK, 1995) und die Temperatur (BAROILLER, 1995b), geschlechtsbestimmende Auswirkungen haben können. Polygene Modelle, wie sie von WOHLFARTH & WEDEKIND et al. (1991) aufgestellt wurden, gelten als nicht ausreichend, um die auftretenden Geschlechterverhältnisse von *Oreochromis niloticus* zu erklären.

Spezies, bei denen das Geschlecht nicht unmittelbar bei der Befruchtung bestimmt ist, (einige Reptilien- und Fischarten) (JANZEN, 1992; DORIZZI, 1996; PIEAU et al., 1998; PIEAU & DORIZZI, 2004), entwickeln ihr Geschlecht entsprechend der ihrer Art zugrundeliegenden Reaktionsnorm, d.h. sie bilden jenes Geschlecht aus, welches unter den vorgefundenen Bedingungen die grösste Fitness aufweist (BULL, 1983). Hierbei hat der zugrundeliegende Genotyp mit den Hauptfaktoren XX–XY ausserhalb eines speziesabhängigen Fensters keinen bzw. nur einen kleinen Einfluss auf die Ausprägung des Phänotyps.

Aufgrund der Heterogenität der Mechanismen sowie der Schwierigkeiten des Nachweises heteromorpher Geschlechtschromosomen soll im Weiteren im Zusammenhang mit Fischen nicht von Geschlechtschromosomen, sondern von Geschlechtsfaktoren die Rede sein. Analog zu BULL (1983) bleibt die Nomenklatur im einfachsten Fall der männlichen oder weiblichen Heterogamete der geschlechtsbestimmenden Faktoren X und Y bzw. Z und W bestehen. Multifaktorielle oder polygene Mechanismen erfordern jedoch die Differenzierung vieler verschiedener Faktoren, welche weitergehend in *major* und *minor factors*, mit individuell grossem Effekt bzw. mit vielen kleinen Effekten unterteilt werden.

2.1.1 Entstehung der Geschlechtschromosomen

Lediglich 2–3% aller Fischarten wurden bisher auf die Mechanismen ihrer Geschlechtsdetermination hin untersucht (AYLING, 2002). Bei mehr als 160 Arten, die nur 9,5% der cytogenetisch untersuchten Arten repräsentieren (ARKHIPCHUK, 1995; in DEVLIN et al. 2001), konnten heteromorphe Hauptgeschlechtsfaktoren nachgewiesen werden.

Differenzierte Geschlechtschromosomen weisen speziesübergreifend analoge Eigenschaften auf (BULL, 1983; CHARLESWORTH, 1991). So zeigen sie normalerweise, zieht man die Geschlechtschromosomen der Mammalia vergleichend heran, ein weitgehend heterochromatisches, inertes Y-Chromosom sowie ein euchromatisch, genetisch aktiveres X-Chromosom (GRIFFIN et al., 2002). Ausgehend von einer polygenen Geschlechtsdetermination, bei der Allele unabhängig voneinander an die Nachkommen weitergegeben werden, und geschlechtsdeterminierende Loci über das gesamte Genom verteilt sind, wird der geschlechtliche Phänotyp über das Zusammenwirken der vielen verschiedenen Faktoren als über den allelen Zustand an einem Locus bestimmt (BULL, 1983). Dieser Zustand bleibt solange bestehen, bis sich innerhalb der Population ein starker Geschlechtsfaktor herausbildet, welcher temporär oder auch langfristig diesen Prozess bestimmen kann (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002). Mutationen, welche einen Zugewinn der Funktion (*gain-of-function*), entweder durch die Erhöhung der Aktivität bestehender Genorte (*hypermorph*) oder durch die direkte Entstehung neuer Funktionen darstellen, sind verantwortlich für die Entstehung eines Geschlechtsfaktors entsprechend dem Y- oder W-Chromosom. Wenn der geschlechtliche Phänotyp durch nur einen Locus bestimmt wird, ist der geschlechtsdeterminierende Locus konsequenterweise auf das heterogametische Geschlecht beschränkt. Dadurch wird verhindert, dass eines der beiden Geschlechtschromosomen (Y oder W) homozygot bei Individuen innerhalb einer Population wird (DEVLIN et al. 2001). Allerdings reduziert dieser Mechanismus den Selektionsdruck gegen rezessive, defekte Allele und Mutationen, so dass es hier über längere Zeiträume zur Akkumulation von DNA-Sequenzen kommt (LUCCHESI, 1978). Cytogenetisch unterscheidbare Geschlechtschromosomen entstehen letztlich durch die Unterdrückung der Rekombination, Fixierungsmechanismen und die Ausbildung einer Dosiskompensation (LUCCHESI, 1978). Die Dosiskompensation ist nötig, da

das homogametische Geschlecht je zwei Kopien der X-chromosomalen Gene besitzt, während das heterogametische Geschlecht nur über eine Gendosis verfügt. Säugetiere regulieren dieses Missverhältnis über die Inaktivierung eines der beiden X-Chromosomen im Weibchen, während bei der Fruchtfliege *Drosophila* und der Nematode *Caenorhabditis* das in Einzahl vorhandene X-Chromosom im Männchen hyperaktiv ist. Die auftretende Dosiskompensation bestimmt im homogametischen Geschlecht den Verlauf geschlechtsdeterminierender als auch –differenzierender Prozesse (LUCCHESI, 1978; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002)

Als initiales Ereignis für die Entstehung heteromorpher Geschlechtschromosomen wird die Unterdrückung der Rekombination zwischen den zu Geschlechtschromosomen konvertierten Autosomen gesehen (OHNO, 1967; CHARLESWORTH, 1991; RICE, 1996; GRIFFIN et al., 2002). Infolgedessen kommt es zu einem Verlust an genetischer Information auf dem Y-Chromosom, welches durch Transpositionen, *insertions* und *deletions* (INDELS) nach und nach degeniert (BULL, 1983; CHARLESWORTH, 1991), um schliesslich neben den für die Fertilität und Geschlechtsdetermination wichtigen Genen hauptsächlich Akkumulationen verschiedener DNA-Repeatregionen zu tragen (CHARLESWORTH, 1991; DEVLIN et al, 2001). Somit beschränkt sich der Austausch von Allelen zwischen den Geschlechtschromosomen auf die zwischen X und Y homologen Regionen, welche bei den Säugern als pseudoautosomale Region bezeichnet wird. Da sich die beiden Heterochromosomen in der Meiose zunächst paaren und dann segregieren, entstehen statistisch gleich viele männliche wie weibliche Nachkommen.

Durch die Plastizität der geschlechtsdeterminierenden Mechanismen bei Fischen kann sich die Gestalt der Hauptgeschlechtsfaktoren fortwährend ändern, so dass die Ausbildung differenzierter Geschlechtschromosomen aufgrund der Limitierung durch die Zeitkomponente keine Akkumulation einzigartiger, geschlechtsbestimmender DNA-Sequenzen zulässt (DEVLIN et al., 2001). Daher bieten Fische generell sehr gute Möglichkeiten zur Untersuchung der Evolution der Geschlechtschromosomen, denn die Entstehung von differenzierten Geschlechtschromosomen wird innerhalb dieses Tierstammes als sehr jung angesehen (CARRASCO et al., 1999; FILATOV, 2005). Die Einführung verlässlicher Genmarkersysteme, wenn keine geschlechtsgebundenen Merkmale Aufschluss geben, konnte aufgrund der hohen Variabilität der geschlechtsdeterminierenden Mechanismen bisher nur für sehr wenige Fischarten beschrieben werden und ist auch dort meist auf bestimmte Populationen begrenzt

(ITURRA et al., 2001). Geschlechtsspezifische DNA-Marker konnten für verschiedene Spezies des Genus *Oncorhynchus* (ITURRA et al., 1998; ITURRA et al., 2001; DEVLIN et al., 2001) und für einige Herkünfte der Spezies *Oryzias latipes* (MATSUMURA et al. 1998; 1999) entwickelt werden.

Die Untersuchung meiotischer Chromosomen von *O. niloticus* und *O. aureus*, die sich bei der Bildung der synaptonemalen Komplexe befinden, brachte einen Grössenunterschied im lateralen Element des grössten Bivalentes zum Vorschein (FORESTI et al. 1993; CAMPOS-RAMOS et al., 2001). Dieser war assoziiert mit einer unvollständig gepaarten Region des lateralen Elements dieser Chromosomen. Anders als bei heterogametischen Fischen konnten bei homogametischen XX-Weibchen als auch bei YY-Männchen keine ungepaarten Elemente festgestellt werden (CARRASCO et al., 1999). CAMPOS-RAMOS et al. (2001) assoziierten mit dem Auftreten dieses ungepaarten Elements einen Hinweis auf die Heterogametie des grössten Chromosomenpaares (Chromosomenpaar 1). Gleichzeitig sah diese Arbeitsgruppe den Beweis dafür, dass die wichtigsten geschlechtsdeterminierenden Gene hier in der ungepaarten Region lokalisiert sein müssen. CAMPOS-RAMOS et al. (2003) vermuteten auch bei der Spezies *O. mossambicus* die Hauptgeschlechtsfaktoren auf dem Chromosom 1. Die im Pachythen auftretenden ungepaarten lateralen Elemente dieses Chromosoms konnten bei dieser Spezies jedoch nicht identifiziert werden.

Weitere Untersuchungen auf der Basis von FISH (Fluorescence *in situ* hybridisation) und DOP-PCR (Degenerate oligonucleotide primer polymerase chain reaction) liessen aufgrund der Hybridisierung von Sonden, die X- bzw. Y spezifisch sein sollten, vermuten, dass Sequenzunterschiede zwischen den vermeintlichen Geschlechtschromosomen von *Oreochromis niloticus* bestehen (HARVEY et al., 2003). Die Sequenzunterschiede zwischen X- und Y-Faktor wurden als geringfügig eingestuft, da z.B. das Auftreten lebensfähiger und fertiler YY Männchen und hormonumgewandelter funktioneller YY-Weibchen für einen geringen Informationsverlust auf dem Y-Chromosom spricht (MAIR et al., 1997), der sich hauptsächlich auf nicht kodierende Regionen beschränkt (HARVEY et al., 2002). Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass auch der X-Faktor keine essentiellen Informationen enthält, die dem Y-Faktor fehlen. Daraus geht hervor, dass diese Hauptgeschlechtsfaktoren vermutlich von einem gemeinsamen Vorfahrenchromosom abstammen. Die Tatsache, dass Gesamtchromosomen des Y-Faktors eine stärkere Hybridisierung am langen Arm des Chromosom 1 zeigten, liess für die Arbeitsgruppe den Schluss zu, dass dies auf einer Akku-

mulation von repetitiven Elementen¹ in diesem Bereich beruhte. Somit ist es wahrscheinlich, dass die Hauptgeschlechtsfaktoren in dieser Region des Chromosoms 1 lokalisiert sind (HARVEY et al., 2002). Die dem X- bzw. Y-Chromosom komplementären DNA-Teilstücke, die in diesen Untersuchungen als Sonden verwandt wurden, wiesen viele dieser repetitiven Elemente auf. Daher scheint die differentielle Hybridisierung der geschlechtschromosomalen Sonden auf der Anzahl und Beschaffenheit repetitiver Elemente zu beruhen, welche im Zuge der frühen Evolution der Geschlechtschromosomen akkumuliert wurden (HARVEY et al., 2002).

2.1.2 Entstehung der genetischen Geschlechtsbestimmung

2.1.2.1 Monofaktorielle Geschlechtsbestimmung

In Systemen, in denen intraspezifische Verpaarungen stetig Geschlechterverhältnisse von 50:50 erzeugen, kann eine monofaktorielle Geschlechtsdetermination mit nur einem Hauptfaktor auf einem Geschlechtschromosom unterstellt werden (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002). Folglich beschränkt die Kontrolle nur eines Locus die geschlechtsdeterminierende Wirkung auf nur ein Chromosom, das Y bzw. W Chromosom. Bei Spezies der Klasse *Mammalidae* konnte der testesdeterminierende Faktor (*tdf*) *Sry*, dessen Anwesenheit die Ausbildung des männlichen Geschlechts bewirkt, entdeckt und eindeutig als geschlechtsbestimmender Locus identifiziert werden (SINCLAIR et al., 1990; KOOPMAN, 1999). Orthologe konnten bisher unter den nicht säugenden Vertebraten mit genetischer Geschlechtsbestimmung nicht entdeckt werden. Weiter unten in der Kaskade der geschlechtsbestimmenden Gene (wie z.B. *Dmrt1*, *Sox9*, *Amh* und anderen) gibt es viele Homologe bei den nichtsäugenden Vertebraten, unabhängig davon ob das Geschlecht durch Umwelt- oder genetische Faktoren bestimmt wird (SCHOLZ et al., 2003). Im Fischreich wurde bisher nur beim Medakafisch (*Oryzias latipes*) ein Kandidatengen als alleinig geschlechtsdeterminierender Locus ausgemacht. Proteine, für die dieser Genort kodiert, enthalten sogenannte *DM*-Domänen, die es ihnen ermöglichen, Bindungen mit der DNA einzugehen. Dieses homologe DNA-Motiv kann, von Genen, die in die Geschlechtsdetermi-

¹ Repetitive Elemente/Sequenzen enthalten keine erkennbare genetische Funktion

nation involviert sind (wie z.B. *doublesex (dsx)*: *Drosophila melanogaster* & *mab-3*: *Caenorhabditis elegans*) erkannt werden und bietet ihnen spezielle Bindungsmöglichkeiten. Das Y-spezifische Gen mit dem Namen *DMY* (MATSUDA et al., 2002) oder *Dmrt1b(Y)* (NANDA et al., 2002; VOLFF & SCHARTL, 2002) ist homolog zu *DMRT1*, einem wichtigen Gen in der Geschlechtsdeterminationskaskade der Vertebraten (LUTFALLA et al., 2003). *DMY* wird als Voraussetzung für eine normale Ausbildung des männlichen Phänotyps und als Kandidat für ein geschlechtsbestimmendes Hauptgen angesehen (MATSUDA et al., 2002). Eine Mutation des *DMY* Genorts führte in der Population Awara der Spezies *Oryzias latipes* zur Ausbildung eines eingeschlechtlich rein weiblichen Phänotyps. Durch diese Tatsache wird die Rolle dieses Genorts für die Geschlechtsdetermination unterstrichen (MATSUDA et al., 2002). Im Gegensatz zu *Dmrt1* konnten für *DMY* keine Orthologe bei anderen Spezies (*Oryzias celebensis*, *Oryzias mekongensis*, *Sphaeroides maculatus*; *Poecilia reticulata*, *Danio rerio*, *Oreochromis niloticus*) identifiziert werden (KONDO et al., 2003). *Dmrt1*, das in den Gonaden von Fischen produziert wird (HUANG et al., 2002), wird auf der Basis seiner chromosomalen Position und der auf embryonale Testesgewebe beschränkten Expression als Regulator der männlichen Entwicklung angesehen (MATSUDA, 2003). Der Zeitpunkt der erhöhten Expression ist limitiert auf die späte geschlechtsdeterminierende bzw. frühe geschlechtsdifferenzierende Phase. Phylogenetische Untersuchungen und die Tatsache, dass *DMY* als duplizierte Kopie vom autosomalen Gen *Dmrt1* entstanden ist und anschliessend, auf dem Y-Chromosom liegend, neue Funktionen erhalten hat, zeigen, wie labil der Mechanismus der Geschlechtsdetermination auch bei *Oryzias latipes* und verwandten Spezies ist, und wie schnell sich Hauptgeschlechtsfaktoren entwickeln können (NANDA et al., 2002). So konnten morphologisch, wie auch bei vielen anderen Fischarten, keine differenzierten Geschlechtschromosomen nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu Säugern ist auch die Geschlechtsdetermination dieser Fischart (*Oryzias latipes*) sehr labil. Trotz der Ausbildung eines geschlechtsbestimmenden Hauptfaktors (*DMY*) kann das genetische Geschlecht funktionell durch Hormonexposition umgekehrt werden (YAMAMOTO, 1969). Somit ermöglicht die Kombination verschiedener geschlechtsdeterminierender Mechanismen innerhalb einer Population (Hauptfaktoren, autosomale Faktoren, Umweltfaktoren) die Produktion von Fischen mit funktionellem Geschlecht. Das heterogametische Geschlecht kann durch die Überprüfung der Nachkommengeschlechterverhältnisse festgestellt werden und liefert auf diese Weise In-

formationen darüber, ob und wie genetische Hauptfaktoren (X/Y, W/Z) die Geschlechtsdetermination beeinflussen (BULL, 1983). Selbst zwischen eng verwandten Spezies können entscheidende Unterschiede bezüglich der Anzahl und der Stärke der geschlechtsdeterminierenden Faktoren bestehen. Bei der Erstellung interspezifischer Hybriden, wie z.B. Tilapienhybriden, treten deshalb häufig verzerrte Geschlechterverhältnisse auf (AVTALION & HAMMERMAN, 1978; MAJUMDAR & McANDREW, 1983; WOHLFARTH & WEDEKIND, 1991).

HICKLING (1960) und CHEN (1969) interpretierten das Auftreten eingeschlechtlicher Bestände nach Verpaarung bestimmter Tilapiaarten in Analogie zu Ergebnissen von GORDON (1947). Die Basis ihrer Argumentation bildete die Entdeckung eines dualen Mechanismus der Geschlechtsdetermination in natürlichen Populationen von *Xiphophorus maculatus*. Innerhalb der selben Spezies stellte der Autor fest, dass Tiere der Herkunft Mexiko homogametisch weiblich (XX), während Tiere der Herkunft Honduras homogametisch männlich (YY) veranlagt waren. Die aus Verpaarungen homogametischer Weibchen und Männchen und deren reziproken Rückkreuzungen erzielten Ergebnisse liessen die Aufstellung eines Drei-Faktor Systems (W, X, Y) zu (KALLMAN, 1965). Analog postulierten HICKLING (1960) und CHEN (1969), dass es sowohl homogametisch männlich (ZZ) als auch weibliche (XX) Tilapiaarten gäbe, wobei die Wirkung der Geschlechtstfaktoren entsprechend $Y > X > W$ abnehme (AVTALION & HAMMERMAN, 1978).

Die von HICKLING (1960) geleistete Vorarbeit bereitete den Weg für eine starke Erhöhung der Tilapienproduktion und einhergehend damit, die Versuche verschiedenste interspezifische Kreuzungen durchzuführen. Viele der in Tabelle 2.1 zusammengefassten Kreuzungen zeigen eine Tendenz zur Produktion rein männlicher Bestände, wobei reziproke Kreuzungen zu unterschiedlichen Geschlechterverhältnissen führen können. Das bedeutet Stärke und chromosomale Verteilung der vermännlichenden bzw. verweiblichenden Faktoren differieren zwischen unterschiedlichen Tilapiaspezies. Die hohe Plastizität der Geschlechtsdetermination ermöglichte auch bei *Oreochromis niloticus* die Entdeckung von Individuen, bei denen das phänotypische Geschlecht nicht mit der Konstellation der Hauptgeschlechtstfaktoren (XX/XY) übereinstimmte. XY-Weibchen, die nach Gynogenese YY-Nachkommen produzieren, konnten identifiziert werden (SCOTT et al., 1989).

Tabelle 2.1: Zusammenfassung interspezifischer Kreuzungen, gekennzeichnet durch von der 50:50 Verteilung abweichende Geschlechterverhältnisse (nach Pruginin et al. (1975))

Mutter	Vater	% Männchen	Quelle
<i>O. niloticus</i>	<i>O. macrochir</i>	100	Jalabert et al. (1971); Lessent (1967)
<i>O. niloticus</i>	<i>O. variabilis</i>	100	Pruginin (1967a)
<i>O. nigra</i>	<i>O. hornorum</i>	100	
<i>O. mossambicus</i>	<i>O. hornorum</i>	98-100	Hickling (1960); Chen (1969); Bard (1969)
<i>O. niloticus</i>	<i>O. hornorum</i>	98-100	Pruginin (1967a); Jalabert et al. (1971)
<i>O. volcani</i>	<i>O. hornorum</i>	98,5	Pruginin (1967a)
<i>O. nigra</i>	<i>O. leucostica</i>	95,5	
<i>O. niloticus</i>	<i>O. leucostica</i>	94	
<i>O. volcani</i>	<i>O. aureus</i>	93-98	Pruginin et al. (1975)
<i>O. aureus</i>	<i>O. hornorum</i>	90	Pruginin (1967a)
<i>O. niloticus</i>	<i>O. nigra</i>	85	
<i>O. hornorum</i>	<i>O. mossambicus</i>	75	Hickling (1960); Chen (1969); Bard (1969)
<i>O. macrochir</i>	<i>O. niloticus</i>	75	Jalabert et al. (1971); Lessent (1967)
<i>O. aureus</i>	<i>O. niloticus</i>	75	Pruginin (1967a);
<i>O. mossambicus</i>	<i>O. niloticus</i>	70	Avtalion & Shell (1967)
<i>O. niloticus</i>	<i>O. mossambicus</i>	70	Fishelson (1962)
<i>O. niloticus</i>	<i>O. aureus</i>	50-100	Pruginin (1967a)
<i>O. nigra</i>	<i>O. niloticus</i>	43	Pruginin (1967a);

Geschlechterverhältnisse von 3:1 (Männchen:Weibchen) hingegen deuten auf die Präsenz funktioneller XY-Weibchen hin (MAIR et al., 1991b). Die intraspezifische Verpaarung solcher Tiere erlaubt durch die Untersuchung der Geschlechterverhältnisse des Nachwuch, Rückschlüsse auf den Genotyp der Elterntiere zu ziehen. Die in Tabelle 2.1 und Tabelle 2.2 dargestellten Geschlechterproportionen deuten darauf hin, dass diese den theoretischen Bedürfnissen eines rein monofaktoriellen Systems

nicht entsprechen. Primär unterliegt bei *Oreochromis niloticus* ein XY-Hauptfaktorsystem, trotzdem können Geschlechterverhältnisse signifikante Unterschiede zwischen den Nachkommengruppen annehmen, so dass polyfaktorielle Einflüsse in der Lage sind die Hauptgeschlechtsfaktoren ausser Kraft zu setzen (MAIR et al., 1991b; TUAN et al., 1999). Anpaarungen mit YY-Männchen weisen durchschnittlich etwa 95% männliche Nachkommen auf, was darauf hindeutet, dass hier autosomale Einflüsse weitgehend reduziert werden und die Geschlechtsdetermination hauptsächlich, aber nicht ausschliesslich durch das monofaktorielle Hauptgeschlechtsfaktorsystem XY bestimmt wird (SCOTT et al., 1989; MAIR et al. 1991a; TUAN et al., 1999).

Tabelle 2.2: Geschlechterverhältnisse aus Kreuzungen (a) maskulinisierter Weibchen mit regulären Weibchen und (b) feminisierter Männchen mit regulären Männchen (nach DEVLIN und NAGAHAMA, 2002).

Spezies (a)	% Weibchen	Geschlechts- faktoren	Quelle
<i>O.aureus</i>	66-76	ZW+A	Mair et al. (1991a); Guerrero (1975)
<i>O.hornorum</i>	75	ZW+A	Obi (1989)
<i>O.mossambicus</i>	75-100 100	XY+A	Clemens & Inslee (1968); Pandian & Varadaraj (1990); Calhoun & Shelton (1983); Scott et al. (1989); Mair et al (1991b);
<i>O.niloticus</i>	90-100	XY+A	
(b)	% Männchen		
<i>O.aureus</i>	68-100	ZW+A	Mair et al. (1991a); Lahav (1993); Melard et al. (1994); Melard (1995);
<i>O.mossambicus</i>	57-82	XY	Varadaraj & Pandian (1989)
<i>O.niloticus</i>	78-79 75 7-99	XY+A	Mair et al (1991b); Guilheme (1992); Tuan et al. (1999a)
<i>O.niloticus</i> (YY*YY)	96	XY+A	Mair et al. (1997)

(A=Autosomale Faktoren)

2.1.2.2 Autosomale Einflüsse

Unter der Annahme, dass die Autosomen einen Einfluss auf die Geschlechtsdetermination bei Tilapien ausüben, stellt ein dreifaktorielles System mit den Hauptfaktoren X, W, Y in Verbindung mit einem Paar von Autosomen (AA, Aa oder aa) ein adäquates Modell dar, um die von CHEN (1969) bei Tilapien dokumentierten Geschlechterverhältnisse zu erklären (HAMMERMAN & AVTALION, 1979). Dabei geht diese Theorie davon aus, dass Kreuzungen von Männchen, die hohe Männchenanteile bringen mit Weibchen die geringe Anteile an geschlechtsregulierenden Faktoren produzieren, höhere Männchenanteile bei den Nachkommen aufweisen und umgekehrt (TESSEMA LEMMA, 2001).

Die sich aus der Kombination von Chromosomen bzw. Allelen ergebende Anzahl an Konstellationen beschränkt sich auf die in Tabelle 2.3 dargestellten Genotypen.

Tabelle 2.3: Genotypen bei Kombination eines Drei-Faktor-Systems (X, W, Y) mit zwei Autosomen (A, a)

Kombination	1	2	3
1	AAXX	AaXX	aaXX
2	AAWY	AaWX	aaWX
3	AAXY	AaXY	aaXY
4	AAWW	AaWW	aaWW
5	AAWY	AaWY	aaWY
6	AAYY	AaYY	aaYY

Die Bedeutung der Autosomen wird bei den in Tabelle 2.3 fett gedruckten Genotypen deutlich, die sich jeweils nur im Austausch des ersten autosomalen Faktors unterscheiden. Die jeweils heterozygoten Aa sowie der Genotyp AAWW weisen einen männlichen Phänotyp auf. Genotypen mit den folgendermassen kombinierten Geschlechtsfaktoren, YY, WX, XX, nehmen aufgrund der geschlechtsbestimmenden Stärke dieser Faktoren den geschlechtlichen Phänotyp unabhängig vom Zustand der autosomalen Allele an (AVTALION & HAMMERMAN, 1978).

Daher vermuteten die Autoren in den reinen Linien von *O.niloticus* und *O.mossambicus* einerseits AAXX homogametische Weibchen und AAXY heterogametische Männchen. Das Pendant dazu bei den weiblich heterogametischen Spezies (*O.aureus*, *O.hornorum*, *O.macrochir*) gestaltet sich mit den Genotypen aaWY für die Weibchen und aaYY analog.

Die Theorie des von AVTALION und HAMMERMANN (1978) unterstellten Modells geht von acht verschiedenen Geschlechterverhältnissen aus: 0:1, 1:3, 3:5, 1:1, 9:7, 5:3, 3:1, 1:0, (wobei ♀:♂). Drei dieser Geschlechterverhältnisse werden nicht durch das bereits vorher eingeführte WXYZ System beschrieben. Die Autoren waren in der Lage trotz des simplen Modells, welches nur eine minimale Anzahl an Faktoren betrachtet und regulatorische Gene und crossing over völlig ausser Acht lässt, die Ergebnisse von CHEN (1969) und JALABERT et al. (1971) zu erklären. Dazu erstellten die Autoren Kreuzungen zwischen *O.mossambicus* und *O.hornorum*, zwischen *O.niloticus* und *O.macrochir* sowie deren reziproker Rückkreuzungen. Selbst die Geschlechterverhältnisse von Hybriden aus *O.mossambicus* und *O.hornorum*, die über vier Generationen wiederholt verpaart wurden, entsprachen den theoretischen Erwartungen dieser Arbeitsgruppe. Einzig und allein ein Unterschied in der Stärke des W-Chromosoms zugunsten des *O.niloticus*–*O.macrochir* Systems könnte von grösserer Bedeutung sein und somit intensiverer Untersuchungen bedürfen (HAMMERMANN und AVTALION, 1979). Neuere Erkenntnisse zu autosomalen, geschlechtsumkehrenden Loci werden in Kapitel 2.1.4.4 ausführlich dargestellt.

2.1.2.3 Polyfaktorielle Geschlechtsbestimmung

Die polyfaktorielle Geschlechtsdetermination beschreibt einen Mechanismus, der durch das Zusammenwirken vieler verschiedener Faktoren, die alle in ihrer individuellen Wirkung stark limitiert sind, das Geschlecht determiniert (BULL, 1983). Nach FALCONER & MACKAY (1996) wird die kontinuierliche Variation eines polyfaktoriell bestimmten Merkmals durch simultane Segregation vieler Gene bedingt. Das zuerst von WINGE (1932, 1934) beschriebene Modell der polyfaktoriellen Merkmalsausprägung diente bereits früh die bei verschiedenen Fischarten auftretende Variation der Geschlechterverhältnisse zu erklären. Spezies des Genus *Xiphophorus* repräsentieren geeignete Modellorganismen zur Erforschung der Geschlechtsdetermination und bil-

deten durch den Anstoss von KOSSWIG (1964) die Basis für die Diskussion um ein polyfaktoriell ausgeprägtes Geschlecht.

Polyfaktorielle Systeme sind generell sehr schwer zu charakterisieren, da Effekte einzelner Gene kaum messbar sind. Um diese trotz der Schwierigkeiten oberflächlich charakterisieren zu können, können laut BULL (1983) folgende Kriterien herangezogen werden

1. grosse interfamiliäre Variation der Geschlechterverhältnisse
2. pater- und maternale Effekte auf das Familiengeschlechterverhältnis
3. Reaktion der Geschlechterverhältnisse auf Selektion

Ein Grossteil der zur Geschlechtsdetermination durchgeführten Studien befasste sich mit der Feststellung der Geschlechterverhältnisse interspezifischer Anpaarungen (HICKLING, 1960; JALABERT et al., 1971; MAJUMDAR & McANDREW, 1983). Mendelsche als auch nichtmendelsche Geschlechterverhältnisse wurden herangezogen, die geschlechtsdeterminierenden Mechanismen der Gattung *Tilapia* zu erklären. Nichtmendelsche Geschlechterverhältnisse lieferten weitere wichtige Informationen zur Variation der Geschlechtsausprägung und wurden durch crossing over zwischen Geschlechtschromosomen bzw. durch weitere auf den Autosomen befindliche Geschlechtstfaktoren erklärt (WOHLFARTH & WEDEKIND, 1991). Die in Tabelle 2.4 dargestellten interspezifischen Kreuzungen zeigten grosse Abweichungen von den erwarteten Geschlechterproportionen. MAJUMDAR & McANDREW (1983) konstatierten Unterschiede zwischen Herkünften als auch zwischen einzelnen Müttern und Vätern der Spezies *O. niloticus* bezüglich ihrer Fähigkeit den Männchenanteil der Nachkommen bei interspezifischer Verpaarung zu beeinflussen. Somit folgerten die Autoren, dass Allele unterschiedlicher Stärke in den verschiedenen *Tilapia*spezies existieren müssten, wodurch die Variabilität des unterliegenden Mechanismus unterstrichen wird. Intraspezifische Verpaarungen, die von verschiedenen Autoren durchgeführt wurden wiesen ebenfalls eine hohe Variation zwischen Familien auf und erfüllen somit das erste, der von BULL (1983) propagierten Kriterien (siehe Tabelle 2.4) (SHELTON et al., 1983; LESTER et al., 1989; WOHLFARTH & Wedekind, 1991). Weitergehend fanden LESTER et al. (1989) mehr oder weniger variable Geschlechterverhältnisse bei unterschiedlichen Herkünften von *O. niloticus*. Auf der Basis dieser Variation berechnete diese Arbeitsgruppe eine Heritabilität ($h^2=0,22-0,37$) für das Merkmal „Familiengeschlechterverhältnis“ entsprechend der Methodik von BULL et al. (1982).

Tabelle 2.4: Männchenanteile (gerundet) unterschiedlicher Genotypverpaarungen in der Gattung *Oreochromis*

Quelle	Spezies (Herkunft)	Art der Anpaarung	% Männchen	Erwarteter Männchenanteil
Majumdar & McAndrew 1983	<i>O.n</i> x <i>O.ma</i> <i>O.n</i> x <i>O.a</i>	Interspez.	56	100
			79	100
Hulata et al. 1981	<i>O.n</i> x <i>O.a</i>	Interspez. Reziprok	100	100
Tuan et al. 1999	<i>O.n</i> (Thai Chitralda)	Intraspez. YY x XX	16–100 36–100	100
Lester et al. 1989	<i>O.n</i>	Intraspez. XY x XX	19–60 2–66	50
Shelton et al. 1983	<i>O.n</i>	Intraspez.	31–81	50
Wedekind & Wohlfarth 1991	<i>O.n</i> .	Intraspez. XX x XY	47-59 (Kontrolle)	50
			85–100 (selektiert)	50
			58–68 (Kontrolle)	50
			74–100 (selektiert)	50
Calhoun & Shelton 1983	<i>O.n</i>	Intraspez. Δ XX x XX	0,1 6	0 0
Mair et al. 1997	<i>O.n</i>	Intraspez. YY x XX	80–100	100
Müller-Belecke & Hörstgen-Schwark 1995	<i>O.n</i> (Manzala)	Mitotische Gynogenese	4	0
			4	0
Müller-Belecke 1997	<i>O.n</i> (Manzala)	Mitotische Gynogenese	22	0
Mair et al. 1991	<i>O.n</i>	Meiotische Gynogenese	5	0
Karayücel et al. 2004	<i>O.n</i>	Meiotische Gynogenese	10	0
Ezaz et al. 2004	<i>O.n</i>	\blacktriangle YY x XX \blacktriangle XXx Δ XX (Herkunft K) \blacktriangledown XX \blacktriangledown YY (Herkunft D)	88	100
			2	0
			2	0
			91	100

(*O.n*=*Oreochromis niloticus*; *O.a.*=*Oreochromis aureus*; \blacktriangle =mitotisch gynogenetisch erzeugt; Δ XX=funktionelles Männchen; \blacktriangledown XX und \blacktriangledown YY=androgenetisch erzeugt => \blacktriangledown YY: Werte für Herkünfte D1, D3 und D4 gepoolt; Herkunft D4 von Autoren nicht eindeutig als YY gekennzeichnet)

Ein mittlerer bis hoher Erblchkeitsgrad (siehe Punkt 3) wäre neben den von LESTER et al. (1989) festgestellten pater- und maternalen Effekten die Bestätigung für ein polygen vererbtes Merkmal. WOHLFARTH & WEDEKIND (1991) lieferten den Beweis für die Möglichkeit der Selektion auf erhöhte Männchenanteile. Von den Autoren über eine Generation selektierte Männchen brachten dabei im Vergleich zu den Kontrollen stark erhöhte Männchenanteile hervor (85-100%). Die Autoren fassten die Ergebnisse intraspezifischer Anpaarungen zusammen:

- (1) Normalverteilte Geschlechterverhältnisse bei wenigstens zwei Tilapiaspezies,
- (2) Stabilität der Geschlechterverhältnisse auch bei wiederholten Anpaarungen
- (3) Heritables Merkmal, welches auf Selektion reagiert;
- (4) ein Geschlecht als ausschlaggebend für die Beeinflussung dieses Merkmals (*O. niloticus*: Männchen; *O. aureus*: Weibchen).

Untersuchungen von TUAN et al. (1999) bestätigten in der Diallelverpaarung von *O. niloticus* ebenfalls eine hohe Variation der Geschlechterverhältnisse (siehe Tabelle 2.4), sowie einen mater- und paternalen Effekt auf die Anteile an Männchen im Nachwuchs. MAIR et al. (1997) dokumentierten eine Normalverteilung der Männchenanteile um das Mittel von 50%, bei Nachkommengruppen ausgezuchteter Tilapien (*O. niloticus*). MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK (1995) und MÜLLER-BELECKE (1997) vermuteten nach dem Auftreten von männlichen Nachkommen (siehe Tabelle 2.4) mitotisch gynogenetisch reproduzierter Weibchen mit unterstelltem homogametischem Chromosomensatz (XX) eine mögliche Variation der Geschlechterverhältnisse von 0–100%. Die Autoren unterstellten neben den Hauptfaktoren X und Y, zwei oder mehrere Nebenfaktoren, die in Assoziation und im homozygoten Zustand der rezessiven Allele, die Hauptfaktoren zu überlagern vermögen. Somit hängt die Variation der Geschlechterproportionen unmittelbar von der Anzahl und Konfiguration der geschlechtsbestimmenden Faktoren ab. Daher scheinen rein homogametische Modelle nicht adäquat, um die Plastizität der in der Gattung *Oreochromis* auftretenden Geschlechtsdetermination zu erklären.

EZAZ et al. (2004) erstellten in ihren Versuchen weibliche (XX) und männliche (YY) mitotisch gynogenetische Nachkommen von funktionellen Weibchen (ΔXY)². Die Konstellation der unterliegenden Geschlechtsfaktoren der über Gynogenese erzeugten Fische wurde über Nachkommenprüfungen verifiziert. Drei der vier gynogene-

² ΔXY bezeichnet ein über Hormongaben erzeugtes phänotypisches Weibchen mit dem unterliegenden XY Genotyp

tisch erzeugten Familien zeigten in Anpaarung der gynogenetischen Weibchen mit ΔXX funktionellen Männchen, nahezu 100% weibliche Brut und 100% männliche bei Anpaarung der gynogenetischen YY-Männchen mit ausgezüchteten XX Weibchen. Eine vierte Familie wies jedoch signifikante Abweichungen von den theoretischen Geschlechterverhältnissen, sowohl in die männliche als auch in die weibliche Richtung, auf (siehe Tabelle 2.4). Da neben Tieren mit XX- auch solche mit YY-Hauptfaktoren von der Geschlechtsumkehr betroffen waren, postulierten die Autoren, eine geschlechtsgebundene Vererbung des hierfür verantwortlichen Genlocus sei unmöglich. Statt dessen vermuteten sie die geschlechtsumkehrenden Faktoren auf den Autosomen. MAIR et al. (1997) bestätigten ebenfalls, dass verschiedene autosomale Gene, verantwortlich für das Auftreten von Weibchen in der Brut von YY Männchen seien und das aufgrund des autosomalen Charakters die Möglichkeit entgegengerichteter Selektion bestünde, um die Männchenanteile der YY Männchen weiter zu erhöhen.

Somit lassen inter- und intraspezifische Verpaarungen sowie Chromosomensatzmanipulationen den Schluss zu, dass sich das Geschlechterverhältnis als ein quantitatives Merkmal (FALCONER & MACKAY, 1996) unter dem Einfluss zweier Hauptfaktoren, verschiedener autosomaler Gene als auch der Umwelt, verhält (BAROILLER et al., 1999).

2.1.3 Umweltabhängige Geschlechtsdetermination und ihre evolutionäre Bedeutung

Obwohl angenommen wird, dass das Geschlecht verschiedener Spezies des Genus *Oreochromis* polyfaktoriell durch Haupt- und Nebenfaktoren bestimmt wird, spielt auch die Temperatur als exogener Faktor eine wichtige geschlechtsbestimmende Rolle (BAROILLER et al., 1996, BAROILLER et al. 1999; ABUCAY et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Daher wird die umweltabhängige Geschlechtsdetermination auch als *esd* (*environmental sex determination*) bezeichnet. Fische sind poikilotherme Lebewesen, die bereits während ihrer Embryonalentwicklung ihrer Umwelt und deren Schwankungen unmittelbar ausgesetzt sind. Da die Temperatur im Stande ist, die Struktur und somit die Funktion von Proteinen zu verändern, ist auch die Geschlechtsdetermination als ein auf einer Reihe von biochemischen Abläufen beruhender Prozess, der viele verschiedene Proteine und Moleküle involviert (Transkrip-

tionsfaktoren, steroidogene Enzyme, Rezeptoren etc.) nicht unabhängig vom Einfluss dieses exogenen Faktors .

Einfluss der Temperatur auf die Geschlechtsdetermination

D´COTTA et al. (2001a) bestätigten in Temperaturversuchen mit *O.niloticus* einen Einfluss der Wassertemperatur auf die Aromatisierung von Androgenen im Fischkörper. Die Autoren beschrieben einen Rückgang der Sekretion des Enzyms Aromatase, das als Edukt die männlichen Geschlechtshormone in weibliche Östrogene als Produkt überführt. Dementsprechend erbrachte die Mehrzahl der bisher durchgeführten Studien die Erkenntnis, dass eine Erhöhung der Wassertemperatur während der juvenilen Phase von Tilapien mit einem Anstieg der Männchenanteile im Nachwuchs einhergeht (BAROILLER et al., 1995b; BAROILLER et al. 1996a-d; DESPREZ & MELARD, 1998; ABUCAY et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Ein gegenteiliger, feminisierender Effekt, konnte vor allem bei stark ingezüchteten, rein männlichen Fischen (XY) sowie bei Gruppen sogenannter „Supermännchen“ (YY) beobachtet werden (ABUCAY et al., 1999). Die temperaturabhängige Geschlechtsdetermination dieser Spezies soll im Folgenden kurz als *tsd* (*temperature sex determination*) bezeichnet werden.

Nahezu alle Arten der Gattung *Oreochromis* sind bisher in Temperaturversuchen auf die Sensibilität hinsichtlich der Geschlechtsdetermination unter veränderten Umweltparametern untersucht worden. MAIR et al. (1989) arbeiteten mit *O.aureus*, *O.niloticus*, *O.mossambicus* und Hybriden aus *O.aureus* und *O.niloticus*. Dabei erwiesen sich *O.mossambicus* als besonders sensibel gegenüber niedrigen Temperaturen (19°C). Anpaarungen mit funktionellen Männchen (ΔXX) führten zu Männchenanteilen von 89%. Die Autoren beobachteten eine inverse Beziehung zwischen der Temperatur während der Aufzuchtperiode und der Geschlechterverteilung der Brut. Je stärker die Temperatur verringert wurde, desto höher war der Männchenanteil. WANG & TSAI (2000) konnten diese Ergebnisse in ihren Untersuchungen nicht bestätigen. Versuche zur Entwicklung von Deformationen und Geschlechterverhältnissen bei junger Tilapienbrut unter erhöhter bzw. erniedrigter Haltungstemperatur zeigten, dass bei erhöhter Haltungstemperatur (32°C) ab dem 10. Tag ein Anstieg der Männchenanzahl zu verzeichnen war. Im Gegenzug konnten ebenfalls mehr Weibchen bei niedrigen Temperaturen (20°C) ab Tag 0 bzw. 5 konstatiert werden. Die Autoren schlussfolgerten, dass eine niedrige

Autoren schlussfolgerten, dass eine niedrige Umgebungstemperatur vor dem 10. Tag feminisierende, eine ab dem 10. Tag erhöhte Temperatur jedoch maskulinisierende Effekte habe. DESPREZ & MELARD (1998) testeten ebenfalls den Einfluss hoher und niedriger Wassertemperatur auf die Geschlechtsentwicklung von *O.aureus*, denen ein ZW Faktor basiertes Geschlechtsmodell unterstellt wird. Zwar waren hohe Temperaturen konform mit der Erhöhung der Männchenanteile (97,8% in der Behandlung; 63% in der Kontrolle) niedrige Temperaturen schienen aber nicht in der Lage die Geschlechtstfaktoren Z und W durch ihren Einfluss zu überlagern.

Im Gegenteil zu teilweise kontroversen Ergebnissen bei anderen Spezies der Gattung *Oreochromis* geht eine erhöhte Wassertemperatur während des Larvenstadiums von *O.niloticus* eindeutig einher mit erhöhten Männchenanteilen (BAROILLER et al., 1995b; BAROILLER et al., 1996c; ABUCAY et al., 1999; BAROILLER et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Demgegenüber feminisierende, niedrige Haltungstemperaturen brachten keinen Effekt bei diesen barschartigen Fischen (BAROILLER et al., 1995b; ABUCAY et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001).

Drei aufeinanderfolgende, sehr aufschlussreiche Untersuchungen zur Entwicklung der Geschlechterverhältnisse bei unterschiedlichen Temperaturregimes führten BAROILLER et al. (1993; 1995a,b) durch. Die von den Autoren verfolgten Ziele wurden von TESSEMA LEMMA (2001) aufgegriffen und weitergehend systematisiert, wobei der Autor grosse Tieranzahlen innerhalb von Einzelanpaarungen untersuchte. Das Hauptgewicht seiner Experimente lag vor allem in der Beschreibung der nachfolgend aufgeführten Charakteristika der Geschlechtsdetermination von Tilapien:

- (1) die Identifikation der effektivsten Temperatur (34-38 °C als Testtemperaturen);
- (2) das Alter der Brut zu Behandlungsbeginn (in dpf=Tage nach Befruchtung);
- (3) die Dauer der Behandlung;
- (4) die Überprüfung ob die Temperatursensibilität ein heritables Merkmal ist.

BAROILLER et al. (1993; 1995a,b) griffen bei der Durchführung ihrer Experimente auf zwei verschiedene Tilapienherkünfte zurück. Zum einen wurden Fische der Spezies *O.niloticus* (Herkünfte: Bouaké; Cote D'Ivoire) sowie ein Vierfachhybride, die rote Tilapie (Floridahybrid) eingesetzt.

BAROILLER et al. (1993) erzeugten sukzessive 22 Einzelanpaarungen durch Verpaarung geschlechtsumgewandelter Männchen (ΔXX), die aus einer Vollgeschwistergruppe stammten, mit verschiedenen Weibchen, die anschliessend bei Temperaturen von 30–36 °C aufgezogen wurden. Während der 21 tägigen Behandlungspha-

se wurden die entsprechenden Kontrollfische bei einer Temperatur von 26-29 °C gehalten. Das Ergebnis war, dass bei Temperaturen von mehr als 32°C stark erhöhte Männchenanteile von zu 91% dokumentiert werden konnten. Die durchschnittlich von den Autoren untersuchten Tieranzahlen lagen bei 110 Fischen pro Versuchsgruppe. Durch das folgende Experiment von BAROILLER et al. (1996d) konnte die zur Erhöhung der Männchenanteile optimale Temperatur von 36°C herauskristallisiert werden. Die relativen Anteile an Männchen innerhalb der Prüfgruppen schwankten zwischen 61 und 98%. Das Alter der eingesetzten Brut spielte eine wichtige Rolle bei der Erhöhung der Männchenanteile. Die Autoren konstatierten, dass das Alter von 13 dpf nicht überschritten werden darf, um die maximale Effektivität der Behandlung zu erreichen. Die höchste Effizienz der Behandlung wurde bei einer Behandlungsdauer von 21 Tagen und bei Beginn derselbigen vor Vollendung des zehnten Lebensstages erreicht (>94,6% Männchen).

In ihrem dritten Experiment testeten BAROILLER et al. (1995b) zwei verschiedene Herkünfte der Spezies *O.niloticus* hinsichtlich der Thermolabilität ihrer Geschlechtsausprägung. Dabei erwies sich das Geschlecht beider Herkünfte als sensibel für eine nachhaltige Beeinflussung über eine erhöhte Haltungstemperatur. Die maximal erreichten Geschlechterverhältnisse für die Bouaké- bzw. die Florida-Herkunft dieser Fische betrug 92 respektive 98,3% Männchen. BAROILLER et al. (1995b) erzeugten sukzessive fünf Einzelanpaarungen mit jeweils unterschiedlichen *O.niloticus* Müttern und *O.niloticus* Vätern. Die einzelnen Elterntierkombinationen wiederum besaßen hinsichtlich der Temperaturbehandlung nicht alle die gleiche Sensibilität, was sich deutlich in der Variation der Männchenanteile der Nachkommen widerspiegelte. Zwei der fünf Elterntierkombinationen zeigten auch in dreifacher Wiederholung der Experimente nur sehr geringe oder gar keine Sensibilität für die applizierte Temperatur von 36°C.

TESSEMA LEMMA (2001) systematisierte und erweiterte die von BAROILLER et al. (1993; 1995a,b; 1996b; 1996d) begonnene Arbeit zur Geschlechtsdetermination von *O.niloticus* mit einer Reihe von Experimenten. Mit einer grossen Anzahl an Tieren insgesamt (Herkunft Lake Manzala n=20 Gelege, Herkunft Lake Rudolph n=13 Gelege, getestet bei 36°C für 10 Tage), aber auch bezogen auf die jeweiligen Anpaarungen (Herkunft Manzala, durchschnittlich n=137 pro Behandlungsgruppe; n=130 pro Kontrollgruppe, Herkunft Lake Rudolph durchschnittlich n=105 pro Behandlungsgruppe; n=101 pro Kontrollgruppe), bestand das Ziel des Autors darin, die Ergebnis-

se von BAROILLER et al. (1993; 1995a,b; 1996b; 1996d) anhand von repräsentativen Stichproben zu überprüfen. Im Mittelpunkt des Interesses stand zunächst die Ermittlung der optimalen Behandlungstemperatur für die am Institut für Tierzucht und Haustiergenetik gehaltenen Versuchsfische der Herkunft Lake Manzala (Ägypten) und Lake Rudolph (Kenia). Die genaue Herkunft dieser Fische wurde bereits detailliert in vorigen Studien beschrieben (OLDORF et al., 1989; KRONERT et al., 1989; MÜLLER-BELECKE, 1997). Die Applikation der von TESSEMA LEMMA (2001) gewählten Temperaturen orientierten sich an den Ergebnissen von BAROILLER et al. (1993, 1995a,b). Entsprechend der Erwartungen erbrachten diese komplementäre Ergebnisse. Signifikante Abweichungen der Geschlechterverhältnisse von den Kontrollen konnten bei 36°C als auch bei 38°C beobachtet werden. Hinsichtlich der Effektivität zeichnete sich eine Temperatur von 36°C als zu bevorzugen ab, da insbesondere bei längeren Behandlungsdauern im Mittel höhere Männchenanteile bei zeitgleich geringeren Mortalitäten beobachtet wurden. Niedrige Temperaturen (18°C) konnten unabhängig von der Behandlungsdauer wie auch bei ABUCAY et al. (1999) und BAROILLER et al. (1995b) keine Effekte bewirken.

Die Ausweitung der Behandlungsperiode von 10 auf 20 Tage bei Behandlungsbeginn am 10. Tag dpf, lieferte im Vergleich zur kürzeren Versuchsdauer keinen signifikant grösseren Überschuss an Männchen (95,1% bei 10 d und 95,8% bei 20 d).

Die von TESSEMA LEMMA (2001) durchgeführten Untersuchungen zeigten zudem Unterschiede zwischen verschiedenen Populationen von *O.niloticus* auf. Fische der Herkunft Lake Rudolph (Kenia) waren von einer geringeren Labilität der Geschlechtsausprägung gekennzeichnet als ihre Artgenossen der Herkunft Lake Manzala (Ägypten). Ein Effekt der Paarungspartner auf die Anteile an Männchen konnte ebenso wie bei BAROILLER et al. (1995b) nachgewiesen werden. Sowohl weibliche als auch männliche Fische und deren Kombination in verschiedenen Anpaarungen trugen zur Beeinflussung der Geschlechterverhältnisse bei.

2.1.4 Quantitativ genetische Grundlagen der temperaturabhängigen Geschlechtsbestimmung

2.1.4.1 Genotyp-Umwelt Interaktion

Genotyp-Umwelt Interaktionen und ihre Erfassung spielen eine wichtige Rolle bei der Ermittlung von Zuchtwerten in heterogenen Haltungsumwelten. Umweltparameter, die von den als optimal für eine Spezies erachteten abweichen, können das Tier stressen und somit seine Leistung direkt beeinflussen (GJEDREM, 2005). In Zuchtprogrammen werden deshalb sämtliche Genotypen unter verschiedenen Umweltbedingungen geprüft. Variiert die Rangfolge der Genotypen zwischen den Umwelten, so liegt eine Interaktion des Genotyps mit der Umwelt vor. Das Modell Phänotyp=Genotyp+Umwelt muss also um die Interaktion zwischen Genotyp und Umwelt erweitert werden (FALCONER & MACKAY, 1996).

$$P=G+E+G \times E \quad \text{Gleichung 2.1}$$

Ebenso wie für viele in der Aquakultur erfasste quantitative Merkmale konnte auch für die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung eine ausgeprägte Genotyp-Umwelt Interaktion festgestellt werden (CONOVER & HEINS, 1987; LAGOMARSINO & CONOVER, 1993; BAROILLER et al., 1995b; ABUCAY et al., 1999; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; SAILLANT et al., 2002; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002; SAILLANT et al., 2002). Abbildung 2.1 zeigt eine Zusammenfassung von Reaktionsformen verschiedener Tilapienherkünfte, die während der geschlechtsneutralen Phase einer Temperaturbehandlung unterzogen wurden.

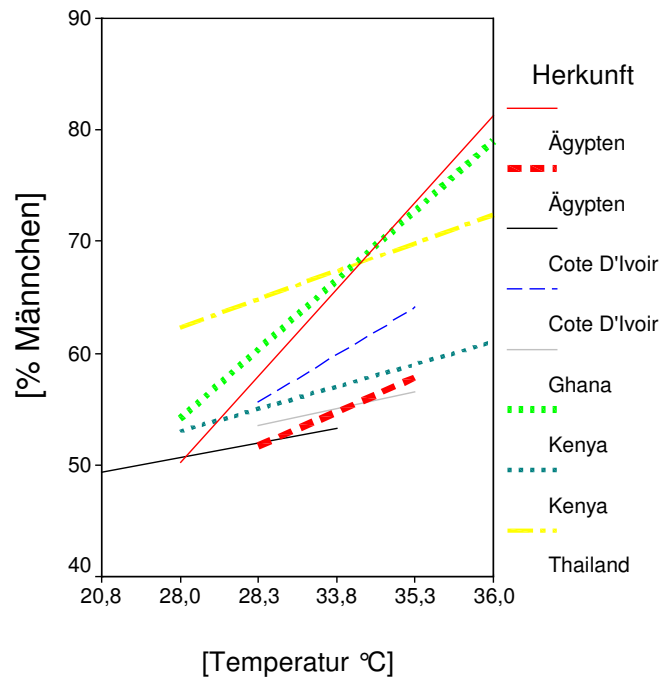


Abbildung 2.1: Männchenanteile verschiedener Herkünfte von *O. niloticus* bei unterschiedlichen Temperaturregimes (Daten aus: BAROILLER et al., 1995b; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002; MORAIS BORGES et al., 2005)

2.1.4.1.1 Unterschiede zwischen Populationen

Ein gut erforschtes Beispiel einer Genotyp-Umwelt Interaktion findet sich bei der Fischart *Menidia menidia* aus der Ordnung der Ährenfischartigen. So konnte zwischen Herkünften unterschiedlicher Breitengrade der Fischart *Menidia menidia* eine grosse Variation der Geschlechtslabilität festgestellt werden (CONOVER & HEINS, 1987). Die Thermosensibilität dieser Spezies verhält sich invers zum Breitengrad ihrer Herkunft, d.h. je weiter nördlich eine Population von *Menidia menidia* anzutreffen ist, desto geringer ist die Abhängigkeit der Geschlechterverhältnisse von der Temperatur. CONOVER & HEINS (1987) und LAGOMARSINO & CONOVER (1993) untersuchten drei Herkünfte unterschiedlicher nördlicher Breitengrade: (1) Nova Scotia (2) New York (3) South Carolina. So zeigte die Population (1) den geringsten, die Population (3) hingegen den höchsten Grad an Geschlechtslabilität. Die Population (2) zeigte entsprechend des mittleren Breitengrades eine Geschlechtslabilität, die zwischen derjenigen der Herkünfte (1) und (3) lag. CONOVER & HEINS (1987) fanden

im Rahmen von Diallelverpaarungen dieser Herkunft, dass es hohe nicht-additive Effekte auf die Geschlechterverhältnisse innerhalb von Familien gab. CONOVER & HEINS (1987) bestätigten, dass auch zwischen Familien (innerhalb einer Herkunft) eine Variation hinsichtlich der Thermosensibilität und damit dem Grad der *tsd* existiert. Biologisch begründet sich diese Genotyp-Umwelt Interaktion durch den bei dieser Fischart zugunsten der Weibchen beobachteten Geschlechtsdimorphismus. Früh geschlüpfte weibliche Brut profitiert von einer längeren Wachstumsphase. Dadurch können Weibchen, bei denen der reproduktive Erfolg besonders von der Körpergröße abhängt, in südlicheren, wärmeren Gewässern im Verhältnis zu den Männchen einen größeren Beitrag zur Erhaltung der Population leisten, da bei den weiblichen Tieren die produzierte Anzahl an Eiern positiv mit der Körpergröße korreliert ist. Nördlichere Populationen zeigen eine geringere Sensibilität, da die Wachstumsphase für die junge Brut einen kürzeren Zeitraum umfasst als in südlicheren Populationen.

Bei Tilapien zeigte sich ebenfalls eine Variation der Thermosensibilität zwischen und innerhalb verschiedener Populationen, wobei hier höhere Temperaturen zu einer Steigerung des Männchenanteils führen (BAROILLER et al., 1995b; BAROILLER et al., 1996c; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Bisher getestete Populationen sowie deren gemittelte Geschlechterverhältnisse (% Männchen) sind in Abbildung 2.2 dargestellt. Aufgrund der Tatsache, dass die Abbildung 2.2 zugrundeliegenden Daten unterschiedlichen Quellen entstammen und auch die Behandlungstemperaturen und –längen nicht für alle Untersuchungen exakt identisch sind, ist ein Vergleich dieser Mittelwerte schwierig. Trotzdem wird bei Betrachtung der Mittelwerte in den Behandlungsgruppen und der geographischen Verteilung der Populationen der Eindruck erweckt, dass eine Abhängigkeit der Sensibilität vom Breitengrad des Herkunftslandes nicht vorhanden zu sein scheint, wie bei *Menidia menidia* beobachtet. Allerdings wurden viele der getesteten Populationen bereits vor längerer Zeit domestiziert und über Jahre hinweg in geschlossenen Systemen gehalten, so dass infolge genetischer Drift oder ungerichteter Selektion gegen das Merkmal Thermosensibilität, nicht mehr die ursprüngliche genetische Konstitution bestehen könnte, was einen Vergleich der verschiedenen Populationen untereinander weiterhin erschwert.

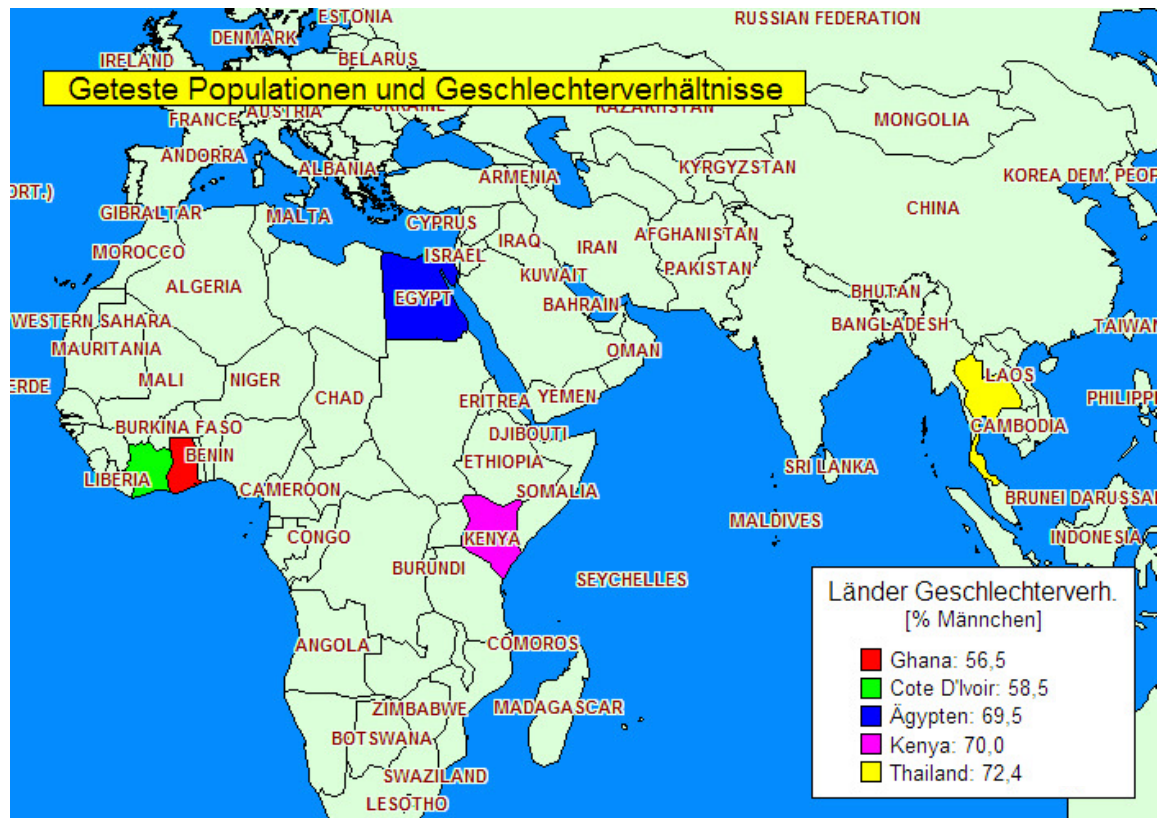


Abbildung 2.2: Auf Thermosensibilität getestete Populationen und ihre durchschnittlichen Geschlechterverhältnisse in den Behandlungsgruppen (Daten aus: BAROILLER et al., 1995b; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002; MORAIS BORGES et al., 2005)

Nichtsdestotrotz besteht eine hohe Variation der Thermolabilität zwischen verschiedenen Herkünften von *O. niloticus*. Der Vergleich dieser Populationen macht weiter deutlich, dass neben Populationen aus geschlossenen Systemen, die mit einer größeren Wahrscheinlichkeit von genetischer Drift betroffen sein können (PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; MORAIS BORGES et al., 2005), auch Wildpopulationen (siehe Herkunft Kenia) sich als thermosensibel erwiesen (ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002). Folglich ist die von ABUCAY et al. (1999) aufgestellte These, dass die Gene für eine Thermosensibilität in domestizierten ingezüchteten Tilapienpopulationen bereits fixiert seien nicht ausreichend, um die Thermosensibilität dieser Populationen zu erklären.

Das unterschiedliche Ansprechen der verschiedenen Tilapienherkünfte auf die Behandlungstemperatur ist mit den von SULLIVAN & SCHULZ (1986) bei *Poecilia reticulata* beobachteten unterschiedlichen Thermosensibilitäten verschiedener Herkünfte dieser Spezies vergleichbar. Abbildung 2.3 veranschaulicht diese unterschiedlichen

Sensibilitäten bei verschiedenen Tilapienherkünften. Die hohe Variabilität der Thermosensibilität wird besonders zwischen der Population Ägypten und Kenia deutlich. PHELPS et al. (1999) untersuchten drei verschiedene Herkünfte (Ägypten, Ghana, Cote D'Ivoire). Zwar stellten die Autoren Unterschiede zwischen einzelnen Paarungspartnern fest, Differenzen hinsichtlich der Sensibilität verschiedener Herkünfte konnten jedoch nicht nachgewiesen werden, was möglicherweise auf die geringe Stichprobengröße wie auch eine relativ niedrige Behandlungstemperatur (35,3°C) zurückzuführen ist. Beim Vergleich der Ergebnisse von PHELPS et al. (1999) mit denjenigen von TESSEMA LEMMA (2001) für die Population Ägypten wird deutlich, dass signifikante Unterschiede bezüglich der Thermosensibilität bestanden (siehe Abbildung 2.3). Eine Gesamtanzahl von nur neun Gelegen in der Untersuchung der Arbeitsgruppe PHELPS et al. (1999) gestattet jedoch keine statistisch eindeutige Aussage über die Sensibilität verschiedener Populationen und ist somit nur unter Vorbehalt zu betrachten.

TESSEMA LEMMA (2001) verglich in seinen Untersuchungen die Populationen Manzala aus Ägypten und Lake Rudolph, Kenia, deren Herkunft genauer bei MÜLLER-BELECKE (1997) beschrieben ist. Bei Intrapopulationsverpaarungen zeigte sich die Population Lake Rudolph mit einem Durchschnitt von lediglich 61% Männchen in den temperaturbehandelten Gruppen weniger sensibel als die Herkunft Manzala, die rund 20% höhere Männchenanteile in den behandelten Gruppen aufwies. Fische der Lake Rudolph Population, die bei 38°C getestet wurden, zeigten im Gegensatz zu Fischen der Herkunft Manzala, keine erhöhten Männchenanteile bei dieser Haltungstemperatur. Dies kann jedoch auf die in den Populationen Manzala (n=11) und Lake Rudolph (n=5) unterschiedlichen Stichprobengrößen zurückgeführt werden. TESSEMA LEMMA (2001) vermutete der Temperaturbereich, in dem die Aktivität der zusätzlichen geschlechtsmodifizierenden Gene die höchste Aktivität aufweist, sei bei Fischen der Herkunft Lake Rudolph enger als bei der Population Manzala.

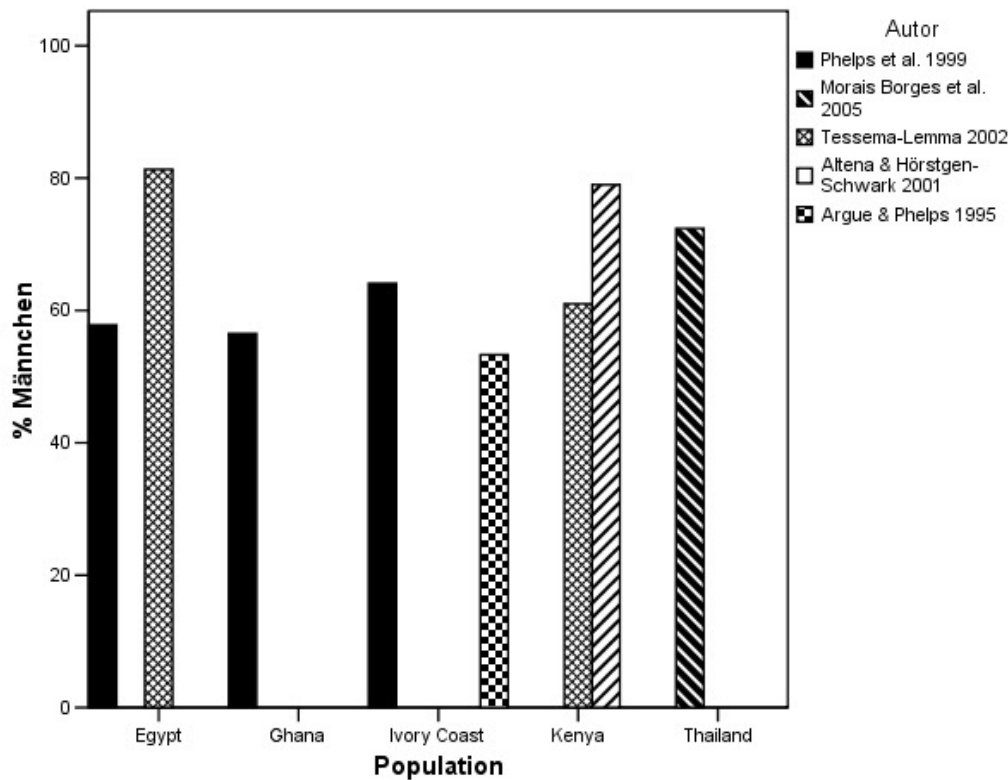


Abbildung 2.3: Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse (Mittelwerte) verschiedener Herkünfte von *O. niloticus*

ARGUE & PHELPS (1995) vermuteten die Wassertemperatur des natürlichen Habitats von Tilapien habe einen Einfluss auf deren Thermosensibilität. Die Autoren testeten Fische der Herkunft Cote D'Ivoire bei einer Temperatur von 32,5 und 33,8 °C, wobei die Verfasser keine signifikanten Abweichungen der Behandlungen von den Kontrollen feststellten. BAROILLER et al. (1999) sehen eine Temperatur von 34 °C als einen Schwellenwert an, um das Gleichgewicht der genetischen zugunsten der temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung ausser Kraft zu setzen. Daher ist der von ARGUE & PHELPS (1995) gezogene Schluss, die untersuchte Tilapienpopulation (Cote D'Ivoire) sei aufgrund der in ihrem natürlichen Habitat stark schwankenden Temperaturen (24-28 °C) nicht sensibel, nicht zulässig.

PHELPS et al. (1999) widerlegten diese These. Die Autoren dokumentierten erhöhte Männchenanteile in Behandlungsgruppen von Fischen der Herkunft Cote D'Ivoire, die diese Autoren bei einer durchschnittlichen Aufzuchttemperatur von 35,3 °C aufzogen (vergleiche Tabelle 2.5).

2.1.4.1.2 Unterschiede innerhalb Populationen

Allen bisherigen Studien zur *tsd* bei *O. niloticus* ist gemeinsam, dass Nachkommen-
gruppen innerhalb einzelner Populationen nach anschliessender Temperaturbehand-
lung von stark variierenden Geschlechterverhältnissen gekennzeichnet sind. Tabelle
2.5 zeigt die Mittelwerte und Variation der Geschlechterverhältnisse in verschiedenen
Herkünften der Spezies *O. niloticus*.

Tabelle 2.5: Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse (gerundet) verschiede-
ner Herkünfte von *O. niloticus*

Quelle	Population	Beginn (dpf)	Dauer [d]	Temperatur [°C]	n Gruppen	% Männchen Behandlung
Baroiller et al. 1995b	Bouaké	10	28	36	5	(69–91)
	Red Florida				5	(60–97)
Altena & Hörstgen- Schwark (2001)	Lake Victoria	9	10	36	11	79
Tessema Lemma (2001)	Manzala	9	10	36	21	79 (56–100)
	Lake Rudolph			36	11	61 (38–79)
Morais Bor- ges et al. 2005	Thai Chitralda	9	28	35	16	72
Phelps et al. (1999)	Ägypten	8,7 mm Länge	45	35,3	4	58 (26–72)
	Ghana				2	57 (16–77)
	Bouaké				3	64 (7–100)

(Bouaké=Cote D'Ivoire, Lake Victoria=Kenia, Manzala=Ägypten, Lake Rudolph, Kenia)

Generell sind die von den in Tabelle 2.5 gezeigten Arbeitsgruppen untersuchten
Stichprobengrößen sehr unterschiedlich. Statistisch absicherbare Aussagen zur Va-
riabilität der Thermosensibilität einzelner Populationen, besonders bei den Untersu-
chungen von PHELPS et al. (1999) und BAROILLER et al. (1995b), können aufgrund
der geringen Gelegeanzahlen nicht vorgenommen werden.

Die Ursache der Variation der Geschlechterverhältnisse in den temperaturbehandelten Gruppen liegt begründet im Einfluss einzelner Paarungspartner auf die Thermo-sensibilität (BAROILLER et al. 1996c; BAROILLER et al. 1999; PHELPS et al. 1999; ABUCAY et al. 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). BAROILLER et al. (1996c) stellten fest, dass wenn ein bestimmtes Weibchen mit zwei verschiedenen Männchen verpaart wird, dies hochsensible (100% Männchen bei 36°C) und nicht sensible (40% Männchen bei 36°C) Halbgeschwistergruppen bedingen kann. Der umgekehrte Fall, zwei Weibchen werden sukzessive mit einem Männchen verpaart, brachte ebenso hochsensible und weniger sensible Nachkommengruppen hervor (82 und 61% Männchen, respektive) (BAROILLER et al., 1999). TESSEMA LEMMA (2001) intensivierte die Untersuchungen hinsichtlich des Beitrags einzelner Elterntiere in dem er den von ihm als Vater innerhalb Mutter bzw. Mutter innerhalb Vater bezeichneten Effekt im Rahmen verschiedener Intra- als auch Interpopulationsanpaarungen testete. Hierzu paarte der Autor gezielt einzelne Väter mit verschiedenen Müttern und entsprechend einzelne Mütter mit mehreren Vätern an.

Anpaarungen innerhalb der Lake Manzala Population ergaben beim Einsatz ausgewählter Väter mit mehreren Müttern, wie erwartet, eine hohe Variation der Nachkommengeschlechterverhältnisse in Abhängigkeit von der Kombination der Elterntiere (siehe Abbildung 2.4). Vier Milchner wurden sukzessive mit zwei bis neun verschiedenen Rognern verpaart, dabei zeigte das Männchen mit der grössten Anzahl an Gelegen (Männchen Nr. 1; n=9) in allen Anpaarungen eine signifikante Erhöhung der Männchenanteile bei den Nachkommen infolge der Temperaturbehandlung. Der Grad der Sensibilität, welcher vom Autor in Form unterschiedlicher Signifikanzniveaus beschrieben wurde, variierte zwischen 59,1 und 91,3% Männchen in der behandelten Brut. Bis auf ein Männchen (Nr. 3; n=2) zeigten alle Milchner eine ähnlich hohe Variation, wenn sie mit verschiedenen Weibchen verpaart wurden. Milchner Nr. 3 zeigte keine Reaktion der Geschlechterverhältnisse auf die Temperaturbehandlung, obwohl Weibchen Nr. 1 in Anpaarung mit Milchner Nr. 1 einen signifikant erhöhten Männchenanteil bei Erhöhung der Wassertemperatur zeigte.

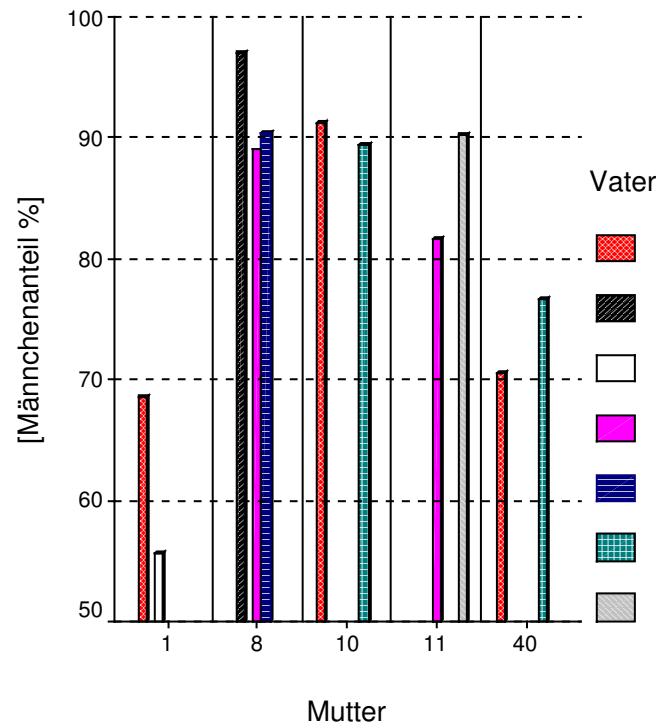


Abbildung 2.4: Effekt des Vaters innerhalb Mütter auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse von *Oreochromis niloticus* (nach TESSEMA LEMMA, 2001)

Der in Abbildung 2.5 dargestellte Effekt der Mütter innerhalb der Väter war ebenfalls abhängig von der Kombination der Paarungspartner. Besonders die Rogener 1 und 11 wiesen grosse Unterschiede in der Labilität der Nachkommengeschlechterverhältnisse auf. Die deutlich differierenden Männchenanteile dieser Weibchen (Weibchen 1: 68,5 und 55,6%; Weibchen 11: 81,6 und 90,3%), wiesen darauf hin, dass der Effekt der Mütter auf die Geschlechterverhältnisse vom Paarungspartner (Männchen) bestimmt wird.

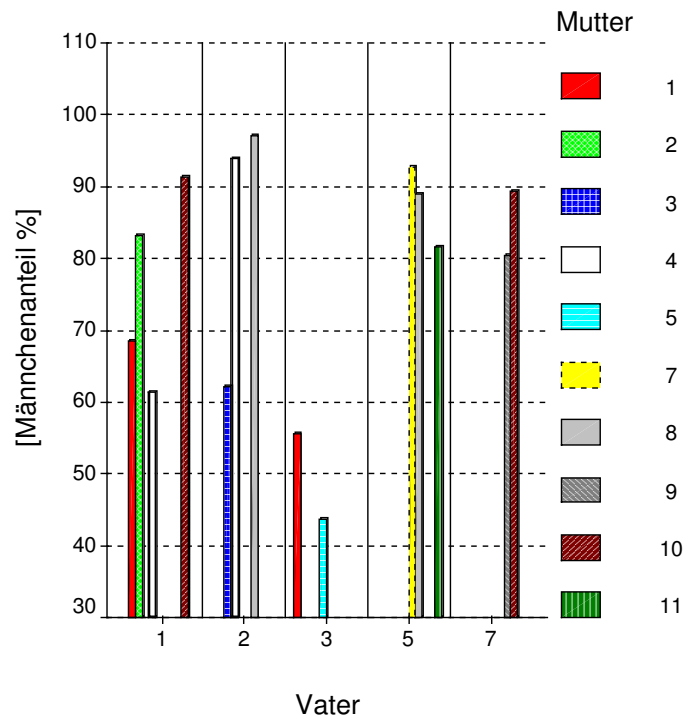


Abbildung 2.5: Effekt der Mutter innerhalb Väter auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse von *Oreochromis niloticus* (nach TESSEMA LEMMA, 2001)

Beim Vergleich des maternalen Beitrags zur Labilität der Nachkommengeschlechterverhältnisse von Manzala Weibchen in Anpaarungen mit Männchen der Populationen Manzala und Lake Rudolph dokumentierte der Autor signifikant erhöhte Männchenanteile bei Anpaarungen mit Manzala Milchnern. Die Milchner der Herkunft Lake Rudolph trugen hingegen nur einen geringen Teil zur Labilität der Geschlechterverhältnisse bei (siehe Abbildung 2.6).

Die von BAROILLER et al. (2000) geäußerte These, dass temperatursensible Brut produziert werden könne, wenn wenigstens einer der beiden Eltern sensibel ist, muss daher als nicht immer zutreffende Generalisierung angesehen werden (TESSEMA LEMMA, 2001). Vielmehr scheint der Grad der Sensibilität beider Eltern eine Rolle zu spielen. Die Summe der Sensibilität, beigesteuert von einem oder von beiden Eltern, sollte einen Schwellenwert überschreiten, oberhalb dessen dann erhöhte Männchenanteile nach Temperaturbehandlung auftreten (TESSEMA LEMMA, 2001).

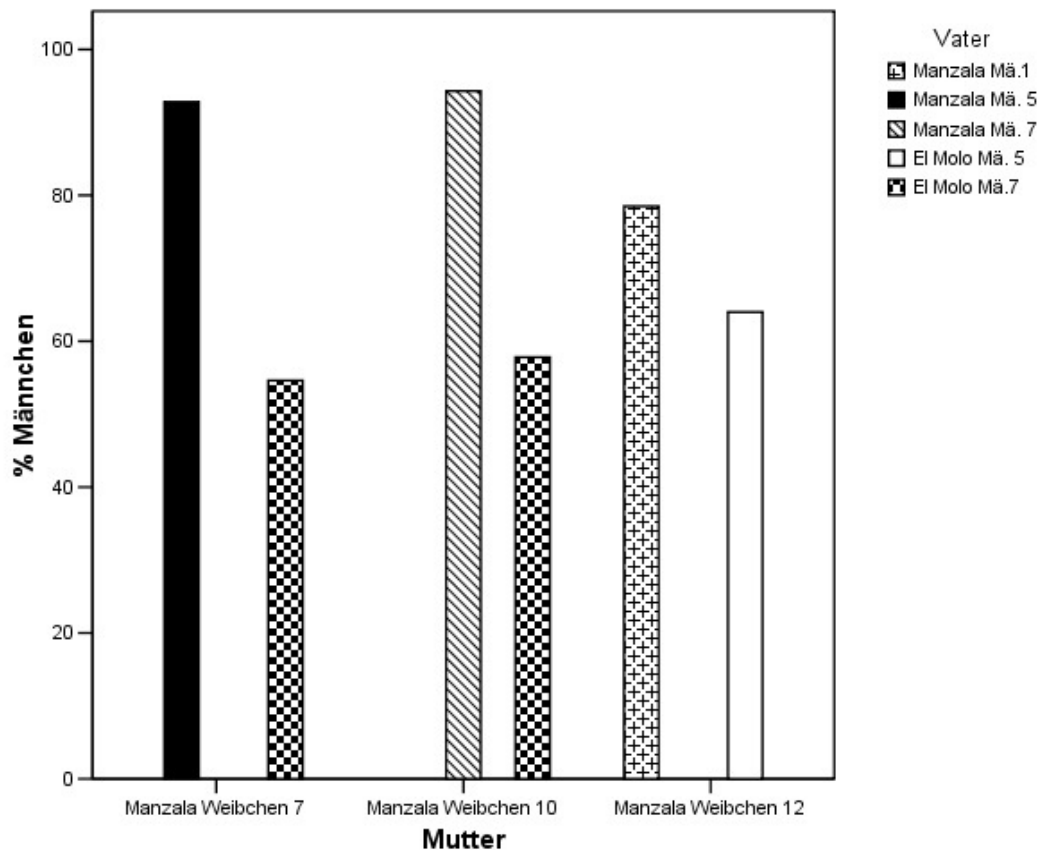


Abbildung 2.6: Effekt Mütter innerhalb Väter bei Anpaarungen zwischen verschiedenen Herkünften von *Oreochromis niloticus* (nach TESSEMA LEMMA, 2001)

2.1.4.2 Wiederholbarkeit des Merkmals temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung

Normalerweise wird der Wiederholbarkeitskoeffizient in der quantitativen Genetik zum Informationsgewinn durch wiederholte Messungen, zur Schätzung der oberen Grenze der Heritabilität und zur Vorhersage einer zukünftigen wiederholten Leistung genutzt. Mathematisch lässt sich die phänotypische Varianz in zwei Komponenten aufteilen, zwischen wiederholt gemessenen Leistungen eines Individuums (V_i) und den Leistungen zwischen verschiedenen Individuen (V_z). Das Verhältnis der Varianz wiederholter Messungen (V_i) zur Summe der Varianzen zwischen Individuen (V_z) und den wiederholten Messungen (V_i) ergibt dann den Wiederholbarkeitskoeffizienten (FALCONER & MACKAY, 1996).

TESSEMA LEMMA (2001) verwendete den Begriff der Wiederholbarkeit, um aufzuzeigen, dass wiederholte Anpaarungen der gleichen Elternkombination keine signifi-

kanten Unterschiede hinsichtlich der Geschlechterverhältnisse temperaturbehandelter Gruppen aufwiesen. Mit diesem Nachweis konnte der Autor davon ausgehen, dass das betrachtete Merkmal (*tsd*) ein nach den Vorgaben der quantitativen Genetik stabiles Merkmal ist.

Bereits BAROILLER et al. (1995b) führten erste Untersuchungen unter den gleichen Prämissen durch. Die Autoren erstellten insgesamt fünf verschiedene Vollgeschwistergruppen, die sie jeweils auf eine Kontroll- (27°C) und eine Behandlungsgruppe (36°C) aufteilten. Diesen Versuch wiederholten die Autoren dann insgesamt dreimal mit den gleichen Elterntieren. Zwei der fünf Vollgeschwistergruppen reagierten nur sehr schwach auf die Temperaturbehandlung, die restlichen Gruppen zeigten signifikante Abweichungen von den entsprechenden Kontrollen. Zwischen den drei Wiederholungen einer jeden Anpaarung gab es keine signifikanten Abweichungen, wobei die Autoren hier keine Angaben zur Anzahl der Fische innerhalb der Gelege machen. Maximale Differenzen zwischen den wiederholt erbrachten Leistungen betragen 3-4% (BAROILLER et al., 1995b). In zwei- bzw. dreifach wiederholten Anpaarungen gleicher Elternkombination mit anschließender Temperaturtestung konnte auch TESSEMA LEMMA (2001), der sehr große Anzahlen an Fischen innerhalb der Gelege testete (n Anpaarungskombinationen=3, n Gelege=7, n Fische Behandlungen=2121, n Fische Kontrollen=2087), Variationen von 3-4% zwischen sukzessive erstellten Vollgeschwistern dokumentieren (siehe Tabelle 2.6).

Tabelle 2.6: Effekt der Aufzucht bei 36°C Wassertemperatur für 10 Tage auf die Geschlechterverhältnisse von Brut der Herkunft Lake Manzala in wiederholten Anpaarungen (Daten aus: TESSEMA LEMMA, 2001)

Mutter	Vater	Behandlung (36°C)		Kontrolle (28°C)	
		N Fische	% M.	N Fische	% M.
1	35	352	89,8 ^c	462	50,8
1	35	202	86,1 ^c	217	51,4
1	40	321	72,3 ^c	340	50,9
1	40	275	68,7 ^c	310	48,9
7	10	246	94,3 ^c	256	50,0
7	10	94	92,6 ^c	168	50,5
7	10	631	87,0 ^c	737	48,1

(% M.=% Männchen; ^c=Abweichung von der Kontrolle p≤0,001)

Die durchschnittliche Abweichung (gemittelt über alle Gelege) zwischen den wiederholt erbrachten Leistungen betrug 1,7%.

2.1.4.3 Erbllichkeit

Dieses Kapitel dient nicht der Schätzung oder der Beschreibung der quantitativen Parameter des Merkmals *tsd*. Es soll vielmehr die Hinweise, die auf eine erbliche Komponente der *tsd* hinweisen, herauskristallisieren und untermauern. Bei der in Kapitel 2.1.4.2 diskutierten Stabilität der Geschlechterverhältnisse in wiederholten Anpaarungen handelt es sich um einen ersten Hinweis auf eine genetische Komponente des Merkmals *tsd*, da Umwelteffekte als Ursache für die in den behandelten Gruppen festgestellten Geschlechterverhältnisse ausgeschlossen werden können. Kapitel 2.1.4.1 listet zusätzliche Beispiele für Hinweise auf eine erbliche Komponente auf. Dabei sind vor allem von beiden Geschlechtern ausgehende Effekte auf die Geschlechterverhältnisse zu nennen, da sie auf eine additive Genwirkung hindeuten. Die hierdurch verursachte (genetische) Variation ist mit als Hinweis für ein heritables Merkmal zu werten. TESSEMA LEMMA (2001) zeigte in seinen Untersuchungen zur temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung bei Tilapien, dass der Vater, die Mutter und die Kombination beider Elternteile einen Effekt auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse hatte. SAILLANT et al. (2002) stellten die These auf, dass der Effekt der Eltern auf ein additives Modell des temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisses des Wolfsbarschs (*Dicentrarchus labrax*) hinweist. Im Widerspruch dazu wurde von BAROILLER et al. (2000) angenommen, dass bereits der Effekt eines Elternteils bei *O.niloticus* ausreiche, um sensible Nachkommen zu produzieren. TESSEMA LEMMA (2001) zeigte jedoch, dass vielmehr die Summe der von der Mutter und vom Vater beigetragenen geschlechtsbeeinflussenden autosomalen Gene entscheidend ist, um die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung zur Ausprägung zu bringen.

BAROILLER et al. (1995b) führten weitere Temperaturtestungen an *O.niloticus* Brütlingen durch. Eine bei 36°C getestete Vollgeschwistergruppe erbrachte einen Männchenanteil von 78%. Acht der hieraus vorgegangenen Milchner wurden bis zur Geschlechtsreife aufgezogen. Vier dieser Männchen konnten als funktionelle Männchen (Δ XX) klassifiziert werden, da sie in den Kontrollgruppen nur weibliche Nachkommen

hervorbrachten. Nachkommen von zwei der vier funktionellen Männchen zeigten eine signifikante Erhöhung der Männchenanteile bei 36 °C (68,7% und 57,4%).

TESSEMA LEMMA (2001) führte ebenfalls dieses Experiment mit jeweils zwei genetischen und mindestens einem funktionellen Männchen durch. Das Resultat dieses Experiments deckt sich mit den Ergebnissen von BAROILLER et al. (1995b) (siehe Abbildung 2.7). Die Autoren folgerten, dass temperaturbehandelte sensible Männchen als Nachkommen sensibler Eltern ebenfalls temperatursensiblen Nachwuchs produzieren. Neben den Effekten der Elterntierkombination und der daraus entstehenden Variation kann auch dieses Ergebnis als ein Hinweis auf eine erbliche Komponente gewertet werden.

TESSEMA LEMMA (2001) entwickelte aufgrund der in Abbildung 2.7 dargestellten sowie den weiteren Resultaten seiner Untersuchungen, die Theorie von Hauptfaktoren (XX/XY) und zwei oder mehr autosomalen Nebenfaktoren, die unter erhöhten Aufzuchttemperaturen (36 °C), sobald ein bestimmter Schwellenwert erreicht ist, in der Lage sind, die Rolle der Hauptgeschlechtsfaktoren zu überlagern.

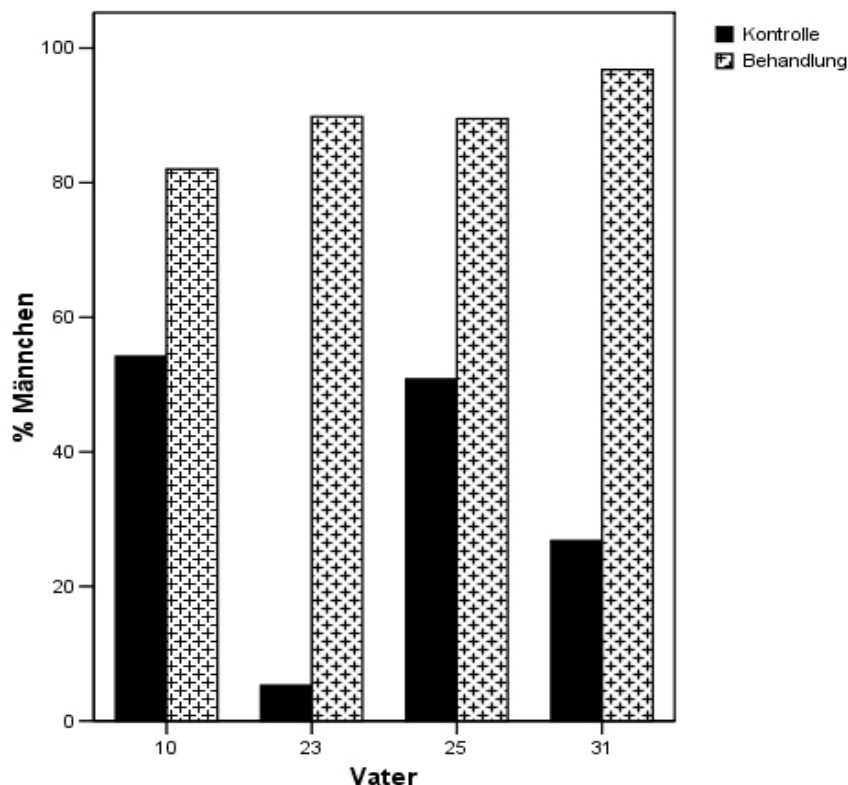


Abbildung 2.7: Temperaturabhängige Geschlechterverhältnisse bei Nachkommen temperatursensibler und -behandelter Milchner der Spezies *Oreochromis niloticus* in den Kontroll- und Behandlungsgruppen

2.1.4.4 Anzahl Loci der temperaturabhängigen und der autosomalen Geschlechtsbestimmung

Wie bereits in Kapitel 2.1.4.1.2 dargestellt, wird die bei *Oreochromis niloticus* auftretende temperaturabhängige Geschlechtsdetermination (*tsd*) allen Ansprüchen eines quantitativen Merkmals gerecht, wenn das Geschlechterverhältnis einer jeden Vollgeschwistergruppe als Merkmal betrachtet wird:

- (1) Effekte einzelner Eltern und/oder deren Kombination sind die Ursache der Variation der Temperatursensibilität zwischen und innerhalb verschiedener Populationen (BAROILLER et al., 1995b; ABUCAY et al., 1999; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001)
- (2) Die Sensibilität eines bzw. beider Eltern wird, zu einem bisher nicht quantifizierbarem Grad, an die Nachkommen weitergegeben, da auch Nachkommen temperaturbehandelter Eltern (ΔXX ; XY) sensiblen Nachwuchs produzieren (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001).
- (3) Die Wiederholbarkeit der durch Temperaturbehandlung ausgeprägten Geschlechterverhältnisse ist sehr hoch, wie die Ergebnisse von wiederholten Paarungen der Elterntiere zeigen (durchschnittlich 1,7% Abweichung), und kann daher als quantitativ stabil betrachtet werden bezüglich der beobachteten temperaturinduzierten Geschlechterverhältnisse (TESSEMA LEMMA, 2001).
- (4) Die erhöhten Männchenanteile in temperaturbehandelten Gelegen scheinen durch eine Umwandlung genetisch weiblicher Tiere in funktionelle männliche Tiere bedingt zu sein (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001).

Wenn also all diese Voraussetzungen gegeben sind, könnten durch Selektion stark sensible bzw. schwach sensible Linien erstellt werden. Die Anzahl der additiv wirkenden Genloci, die in die Geschlechtsdetermination von *O. niloticus* involviert sind, hätte eine gewisse Relevanz, da sie den Zeitpunkt des Erreichens der oberen und unteren Selektionsgrenzen mitbestimmen. Dazu muss zunächst zwischen der rein genetischen (Hauptfaktoren und autosomale Nebenfaktoren bei einer Temperatur $< 34^{\circ}\text{C}$) und der temperaturabhängigen Geschlechtsdetermination (*tsd*), in die womöglich andere Gene involviert sind, unterschieden werden. Somit stellt sich die Frage, ob und inwieweit autosomale Genloci, die z.B. im homozygoten Zustand das Geschlecht beeinflussen können, auch durch bestimmte Temperaturregime aktiviert

bzw. deaktiviert werden können, oder ob es sich hier um zwei unabhängig voneinander exprimierte Genkaskaden (Merkmale: *gsd* vs. *tsd*) handelt, die dann aber in der Konsequenz durch die Aktivierung geschlechtsdifferenzierender Prozesse ähnliche Stoffwechselwege (vor allem steroidogener Enzymsysteme z.B. *11ssHSD* oder *P_{450aro}*) bedingen. Weiterhin bleibt bisher ungeklärt, inwiefern es Wechselwirkungen epistatischer, pleiotropischer oder anderer Art zwischen Genorten gibt, die zum einen in die rein genetische (*gsd*) oder aber in die temperaturabhängige (*tsd*) Geschlechtsbestimmung involviert sind.

Untersuchungen zu Geschlechterverhältnissen mitotisch und meiotisch gynogenetischer Nachkommen von *Oreochromis niloticus* ergaben häufig Männchenanteile, die allein durch die Wirkung eines Paares von Hauptgeschlechtsfaktoren nicht zu erklären waren, da wider Erwarten Männchen in diesen Nachkommenschaften auftraten (MAIR et al., 1991a; MAIR et al., 1991b; MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK, 1995, MÜLLER-BELECKE, 1997). Daher setzte sich die Annahme durch, dass hier ein autosomales, rezessives Gen bzw. mehrere autosomale, rezessive Gene, deren Frequenz als eher gering zu erachten ist, nur im homozygoten Zustand epistatisch zum Hauptgeschlechtsfaktor agieren und somit zur funktionellen Geschlechtsumkehr bei den Fischen führen.

MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK (1995) und MÜLLER-BELECKE (1997) entwickelten diese Theorie und widersprechen dem von HUSSAIN et al. (1994) propagierten System des Hauptfaktors mit nur einem autosomalen Nebenfaktor. Die Autoren gehen von zwei oder mehr autosomalen Faktoren aus, die in Kombination und jeweils homozygot in der Lage sind die Hauptfaktoren XX/XY zu überlagern. Theoretisch wäre so eine Variation der Geschlechterverhältnisse von 0-100% möglich (MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK, 1995).

Das autosomale Genorte für eine Umwandlung des funktionellen Geschlechts verantwortlich sein können, zeigte sich bereits in Untersuchungen innerhalb des Tierstamms *Mammalidae* (SCHERER et al., 1999). Orthologe einiger dieser autosomalen, zur Geschlechtsumkehr befähigten Gene wie z.B. *Sox9*, konnten bei verschiedenen Spezies, unter anderem auch im Genom von *O.niloticus*, lokalisiert werden (FUKADA et al., 1995; TAKAMATSU et al., 1997; GUAN et al., 2000; NANDA et al., 2002; LUTFALLA et al., 2003; NAKAMURA et al., 2003; HETT et al., 2005). Beim Medakafisch wurde eine duplizierte Version des *Dmrt1* Gens, *Dmrt1bY*, als Hauptgen für die Geschlechtsdeterminierung auf dem Y-Chromosom lokalisiert (MATSUDA

et al. 2002). Dabei handelt es sich um das einzig funktionelle Gen auf dem männlichen Y-Chromosom. Auf dem X-Chromosom ist diese Sequenz nicht vorhanden und ausserhalb der geschlechtsbestimmenden Region erweisen sich die Geschlechtschromosomen als homolog (NANDA et al., 2002). NANDA et al. (2003) fanden jedoch männliche Medakafische, die *Dmrt1bY* negativ getestet wurden. Diese Beobachtung ist von besonderem Interesse, da bisher angenommen wurde, dass es sich bei *Dmrt1bY* um den einzigen geschlechtsdeterminierenden Locus handelt. Die negativ getesteten Männchen zeigen eine weitere Besonderheit, in dem sie hohe Weibchenüberschüsse in Anpaarung mit normalen Weibchen aufweisen, wodurch ihnen XX Hauptgeschlechtsfaktoren unterstellt werden können. Das Wiederauftauchen von XX-Männchen in späteren Generationen, in Abhängigkeit von der angepaarten Mutter, deutet stark auf eine erbliche Komponente hin. Die Ergebnisse der Kreuzungstestungen unterstützen nicht die These, dass die von den Autoren unterstellten autosomalen, vermännlichenden Genen, dominant oder rezessiven Erbgängen folgen. Vielmehr sehen die Autoren aufgrund der Kombinationseffekte von *Dmrt1bY*-negativen Vätern verschiedener Herkunft mit ebenso herkunftsungleichen Müttern einen polygenen Hintergrund. Von besonderem Interesse ist jedoch die Tatsache, dass die Autoren vermuten, die Rolle des *Dmrt1bY* sei von eben den zuvor erwähnten autosomalen, geschlechtsmodifizierenden Genen übernommen worden (NANDA et al., 2003). An dieser Stelle sehen KARAYÜCEL et al. (2004) Parallelen zur Spezies *O.niloticus*, obgleich hier noch kein geschlechtsbestimmendes Hauptgen (*major gene*) identifiziert werden konnte.

Die Autoren sehen in ihren Untersuchungen den Beweis für die Existenz mindestens zweier nicht gekoppelter, autosomaler Loci. Einer dieser Genorte sollte gekoppelt an das dominante Allel (*R*) der roten Körperfarbe vererbt werden. Die Arbeitsgruppe KARAYÜCEL et al. (2004) machte dies zum einen, an der Beobachtung von 98,1% rot gefärbten Männchen innerhalb von insgesamt 9,9% Männchen, die aus heterozygot gynogenetischen Anpaarungen stammten, fest. Zum anderen fanden sie in Anpaarungen homozygot isogener Männchen des wildfarbenen Typs (*rr*) mit roten heterozygoten Weibchen einer anderen Herkunft nur rote, weibliche Nachkommen. Das bedeutet, diese Weibchen waren zwar homozygot für die rote Körperfarbe, scheinen jedoch nicht das an die rote Farbe gekoppelte Merkmal für die Geschlechtsumkehr von Weibchen zu Männchen zu tragen. Weiterhin ergab sich in reziproken Kreuzungen von F1-Töchtern als Nachkommen von heterozygot isogenen, roten Männchen

keine signifikante Assoziation des Geschlechts mit der Körperfarbe. Daraufhin schlossen die Autoren, dass es sich hier vermutlich um zwei unabhängige, geschlechtsbestimmende Loci handeln muss, wovon nur einer auf dem gleichen Chromosomenarm liegt wie die Allele für die rote Körperfarbe. Im Gegensatz zur roten Körperfarbe kommen diese nur im homozygoten, rezessiven Zustand zur Ausprägung. Allerdings basieren die von den Autoren KARAYÜCEL et al. (2004) aufgestellten (spekulativen) Hypothesen auf einem sehr geringen Datenumfang. Zudem wird in ihrer Arbeit nicht klar, ob und inwieweit das Poolen der dokumentierten Geschlechterverhältnisse der meiotisch gynogenetischen Nachkommen zulässig war. Des Weiteren ist die Referenz MAIR et al. (1991a) in Bezug auf die von den Autoren für die Berechnung des erwarteten Prozentsatzes an $RRX^M X^M$ Tieren (für homozygot rote Männchen mit XX Hauptgeschlechtstfaktoren und autosomaler, vermännlichender MM Konstellation) herangezogene Rekombinationsrate für einen geschlechtsdeterminierenden Locus sehr fragwürdig. Denn dieser mit 0,698 bezifferte Wert ähnelt zwar den in der Literatur genannten Gen-Centromer Rekombinationsraten für geschlechtsdeterminierende Loci bei anderen Spezies (LINDSLEY et al., 1956; ARMSTRONG, 1984; REINSCHMIDT et al., 1985), er basiert jedoch lediglich auf dem Nachkommengeschlechterverhältnis eines meiotisch gynogenetisch reproduzierten, funktionellen Weibchens (ΔXY). Die Datenbasis erscheint allerdings zu gering um verlässliche Aussagen hiervon ableiten zu können.

Wie auch KARAYÜCEL et al. (2004) feststellen ist bisher wenig bekannt über die Anzahl und Natur autosomaler Loci, die geschlechtsdeterminierende Eigenschaften besitzen. Die Arbeitsgruppe schlussfolgerte weiter, dass es sich um die gleichen Gene handele, die die Geschlechtsumkehr von Männchen zu Weibchen und von Weibchen zu Männchen bedingen. Diese Schlussfolgerung der Autoren basiert auf den folgenden Argumenten:

- (1) Geschlechtsumkehr erfolgte in beide Richtungen innerhalb einer Familie (von vier Familien) mitotisch gynogenetisch reproduzierter ΔXY -Weibchen (EZAZ et al., 2004). Die Geschlechtsumkehr muss somit autosomal und unabhängig von X oder Y verursacht worden sein, da sowohl XX als YY Tiere betroffen waren.
- (2) Es besteht eine hohe positive Korrelation zwischen Männchenanteilen in Kontrollen und temperaturbehandelten Gruppen $r=0,576$, $p<0,05$ und $r=0,368$, $p<0,05$ auf der Grundlage der Daten von BAROILLER et al. (1996d) bzw.

ABUCAY et al. (1999). Das bedeutet, die gleichen oder ein Teil der gleichen Gene sind in beiden Umwelten für die Ausprägung des Geschlechts verantwortlich und bedingen so eine hohe Korrelation (JANZEN, 1992).

- (3) Hohe Temperaturen verursachen die Geschlechtsumkehr in die männliche Richtung bei XX-Genotypen und in die weibliche Richtung bei YY-Genotypen (ABUCAY et al., 1999; KWON et al., 2002). Wenn das unter (2) erwähnte Kriterium für eine Verbindung zwischen autosomaler Geschlechtsumkehr und *esd* akzeptiert werden kann, dann wird auch die These die gleichen Loci seien in die beiderseitige Geschlechtsumkehr involviert, bestärkt.

Dabei bleibt allerdings anzumerken, dass die von KARAYÜCEL et al. (2004) berechneten Korrelationen zwischen den Geschlechterverhältnissen von Kontrollen und temperaturbehandelten Gruppen, zum einen auf einer relativ kleinen Datenbasis von BAROILLER et al. (1996d) ($n=21$ Gelege) beruhen. Zum anderen fehlen Angaben zu Tierzahlen der einzelnen Gelege, was die Beurteilung der teilweise verzerrten Kontrollgeschlechterverhältnisse erschwert. Die Korrelation ist als Quotient der Kovarianzen und des Produkts der adäquaten Standardabweichungen definiert. Voraussetzung für die Berechnung einer Korrelation ist, dass beide Variablen (Geschlechterverhältnisse Kontrolle und Geschlechterverhältnisse Behandlung) mindestens intervallskaliert sind. Das Kriterium dafür, ob eine temperaturbehandelte Prüfgruppe in den Datensatz mit aufgenommen wird, stellt der Chi-quadrat Test (Goodness-of-Fit) der korrespondierenden Kontrolle dar. Ist die Testaussage die Verteilung unterscheidet sich signifikant von 1:1 (im Falle einer XX*XY Anpaarung), so muss diese Gruppe aus dem Datenpool ausgeschlossen werden. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass es hier auf Seiten der Kontrollgruppen eigentlich keine Variation geben kann bzw. dass eben diese nur noch auf Zufall beruht. Daher ist die Berechnung einer Korrelation zwischen Kontroll- und Behandlungsgeschlechterverhältnissen unzulässig und lässt somit die Frage offen, ob autosomale und temperaturabhängige Geschlechtsumkehr ähnliche Genkaskaden bedingen.

BAROILLER et al. (1999) vermuteten neben den Hauptgeschlechtsfaktoren, die Wirkung von Nebenfaktoren bei der Geschlechtsbestimmung dieser Spezies. Diese definierten die Autoren als geschlechtsmodifizierende Faktoren, die durch Interaktion mit der Umwelt ihre Wirkung entfalteten. Wie bereits in Kapitel 2.1.3 dargestellt, haben Nachkommentestungen ergeben, dass auch die *tsd* einer genetischen Kompo-

nente unterliegt (CONOVER & HEINS, 1987; BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001; SAILLANT et al., 2002). Je nach Grad der Thermosensibilität führt eine Temperaturbehandlung, bei 34-36°C für *O. niloticus*, während der kritischen geschlechtslabilen Phase der Geschlechtsdifferenzierung zur Ausbildung des männlichen Geschlechts (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001). Im Gegensatz dazu konnte bei Behandlung von XY- und YY-Brut eine verweiblichende Wirkung beobachtet werden (ABUCAY et al., 1999).

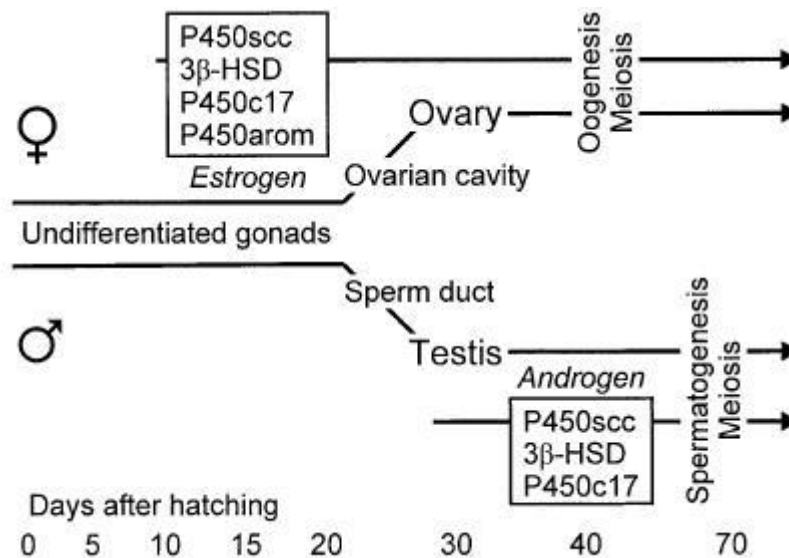
Die Geschlechtsdifferenzierung von Fischen und anderen Nichtsäugervertebraten beruht auf einer Kaskade interagierender enzymatischer Genprodukte und wird massgeblich von der Präsenz endo- als auch exogener Geschlechtshormone beeinflusst. Bereits YAMAMOTO (1969) folgerte, dass die für die Geschlechtsdifferenzierung von Fischen verantwortlichen „Kandidatengene“ in die Produktion von Steroidhormonen involviert sind. Endogene Titer verschiedener Hormone und das Verhältnis ihrer Konzentration zueinander werden als Schlüsselfaktoren für die Geschlechtsdifferenzierung angesehen (HUNTER & DONALDSON, 1983; BAROILLER et al., 1999). Die Applikation von Geschlechtshormonen vor oder während der Geschlechtsdifferenzierung kann die Umkehr des phänotypischen Geschlechts bewirken und somit funktionelle männliche oder weibliche Phänotypen erzeugen (HUNTER & DONALDSON, 1983; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002). Östrogenbehandlungen haben einen feminisierenden Effekt, während exogene Androgene maskulinisierend wirken. Die Überführung der Androgene Testosteron und Androstenodione zu Östrogenen wird katalysiert durch das Enzym Aromatase ($P_{450arom}$), das eine entscheidende Rolle in der Geschlechtsdifferenzierung spielt (BAROILLER et al., 1999; D’COTTA et al., 2001a). Der Einsatz von Aromatase Inhibitoren, welche die Östrogensynthese blockieren, führte zur teilweisen oder vollkommenen Inhibierung der Ovariendifferenzierung und somit zur Maskulinisierung genetisch weiblicher Brut von verschiedenen Fischarten, jeweils in Abhängigkeit der gewählten Konzentration im Futter (PIFFERER et al., 1994; GUIGUEN et al., 1999; KWON et al., 2000). Die paradoxe Verweiblichung³ von YY-Brut, die während der Geschlechtsdifferenzierung bei vermännlichenden Temperaturen (36°C) beobachtet wurde (ABUCAY et al., 1999), konnte durch den diätätischen Einsatz eines Aromatase Inhibitors (Fadrozol-

³ paradoxe Verweiblichung=trotz vermännlichender Wirkung hoher Temperaturen oder vermännlichender Hormone tritt eine funktionelle Feminisierung auf

le™ CGS16949A) verhindert werden. Dieser Effekt zeigt deutlich die Bedeutung des Enzyms Aromatase ($P_{450arom}$) für die temperaturabhängige Geschlechtsdetermination (*tsd*) (KWON et al., 2002). Eine Expression des Gens *Cyp19a*, das für Aromatase kodiert, geht jedem morphologischen Kennzeichen einer Geschlechtsdifferenzierung bei weiblichen Tilapien (*O. niloticus*) oder Regenbogenforellen (*O. mykiss*) voraus (KOBAYASHI et al., 2003; GUIGUEN et al., 1999). Dies verdeutlicht weiter die Relevanz dieses Enzyms innerhalb der Geschlechtsdetermination/-differenzierung.

D´COTTA et al. (2001b) identifizierten mit Hilfe der Differential Display Polymerase Kettenreaktion (DD-PCR) bei der Spezies *O. niloticus* ein Gen (*MM20C*), das unterschiedlich in Kontroll- (27 °C) und Behandlungsgruppen (35 °C) exprimiert wird. In genetisch rein weiblichen Vollgeschwistergruppen und genetisch rein männlichen Vollgeschwistergruppen konnte eine erhöhte Expressierung beobachtet werden, wenn sie einer Temperaturbehandlung unterzogen wurden. Eine eindeutige Identifikation dieses Gens durch den Abgleich mit verschiedenen Gensequenzdatenbanken ist dieser Arbeitsgruppe jedoch nicht gelungen. Die Autoren vermuteten aber vor dem Hintergrund, dass sich das Geschlechterverhältnis der rein weiblichen Behandlungsgruppe (35 °C) stark in Richtung phänotypischer Männchen veränderte, dass das bei erhöhter Wassertemperatur stärker exprimierte Gen *MM20C* eine entscheidende Rolle in der männlichen Geschlechtsdifferenzierung spielen muss. Allerdings ist diese Argumentation nicht gänzlich zulässig, da genau wie in den rein weiblichen auch in den rein männlichen Gruppen eine erhöhte Expressierung dieses Gens festgestellt wurde und in YY- als auch in XY-Gruppen, wenn auch in geringerem Umfang, eine Geschlechtsumkehr von Männchen zu Weibchen durch erhöhte Haltungstemperaturen beobachtet werden konnte (ABUCAY et al., 1999; KWON et al., 2000). D´COTTA et al. (2001b) geben in ihrer Publikation die Geschlechterverhältnisse eben dieser rein männlichen, temperaturbehandelten Prüfgruppen nicht an, weshalb die geäußerte These als unzulässige Verallgemeinerung gewertet werden muss. Hintergrund dieser Kritik ist, dass *MM20C* folglich sowohl vermännlichende als auch verweiblichende Wirkung haben könnte. EZAZ et al. (2004) zeigten, dass in Nachkommentestungen mitotisch gynogenetischer Weibchen mit XX-Hauptfaktoren vermännlichende Effekte und mitotisch androgenetischer Männchen mit YY-Hauptfaktoren verweiblichende Effekte auftreten können, die vermutlich durch die gleichen autosomalen Gene verursacht werden.

Neben den für die Steroidgenese zuständigen Enzymen (siehe Abbildung 2.8) und Genen wurden durch molekulargenetische Untersuchungen zahlreiche an der Geschlechtsdetermination beteiligte Gene identifiziert.



(P450scc=Cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450; 3β-HSD=3β-Hydroxysteroid Dehydrogenase; P450 c17=Cytochrom P450 17α-Hydroxylase/17,20-lyase; P450arom=Cytochrom P450 Aromatase)

Abbildung 2.8: Schematische Abbildung temporärer Veränderungen der Expression steroidogener Enzyme und der Produktion von Östro- und Androgenen während der Geschlechtsdifferenzierung und frühen Gametogenese von *O. niloticus* (nach STRÜSSMANN & NAKAMURA, 2002)

Untersuchungen an diversen Spezies des Tierstamms *Mammalia* dokumentierten die Aktivität von Genen wie z.B. *SRY*, *Sox9*, *DMRT1*, *DAX1*, *SF1*, *WT1*, *AMH* u.a. (siehe Abbildung 2.9) (KOOPMAN, 2001a). Das Y-gebundene Gen *Sry* ist das entscheidende Gen für die Geschlechtsdetermination der Säuger, und ist nicht konserviert in anderen Vertebratengruppen, d.h. es gibt keine Orthologe dieses Gens außerhalb des Tierstamms *Mammalia*.

Sox9 hingegen, ein dem Gen *Sry* sehr ähnliches und auf den Autosomen lokalisiertes Gen (*Sry* related HMG box), ist wie *DMRT1* hoch konserviert über alle Vertebratenklassen und besitzt wichtige Funktionen in der Geschlechtsbestimmung, vor allem bei Säugern.

Beim Menschen können Mutationen im *Sox9*-Gen zu Störungen der Knochenentwicklung und in 75% der Fälle zur Geschlechtsumkehr der betroffenen Patienten führen.

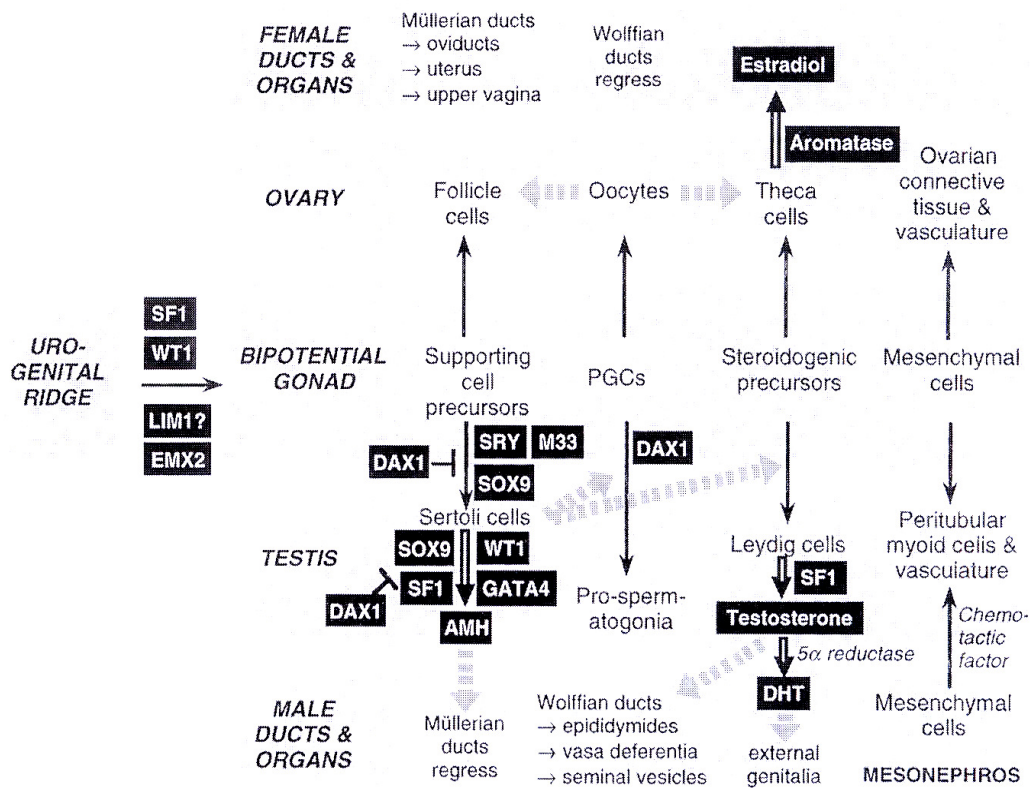


Abbildung 2.9: Mechanismen der Geschlechtsdetermination in der Klasse Mammalia, zelluläre und molekulare Interaktionen (KOOPMAN, 2001a)

Ein Nachweis für eine entscheidende geschlechtsdeterminierende Rolle konnte bei Fischen bisher nicht erbracht werden, aber die spezifische Expression von *Sox9* ist zumindest zu Beginn der geschlechtsdifferenzierenden Prozesse in den Testes erhöht und vermindert in den Ovarien (FUKADA et al., 1995; TAKAMATSU et al., 1997). Untersuchungen an der Spezies *Alligator missipiensis*, die ebenfalls eine umweltabhängige Geschlechtsdetermination aufweist, zeigte ein temperaturabhängiges Expressionsmuster. Zwar konnte die Rolle von *Sox9* bei dieser Spezies aufgrund der spät eintretenden Expression nur als geschlechtsdifferenzierend klassifiziert werden, aber es zeigte sich eine deutliche Erhöhung der Expression bei vermännlichen Temperaturen. In Abhängigkeit von der Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf den Tierstamm *Pisces*, ist *Sox9* ein weiteres Kandidatengen für die *tsd* bei *O.niloticus*.

Molekulargenetische Untersuchungen haben weiterhin genetische Elemente identifiziert, die im quantitativen Kontext als additive Gene wirken, ohne dabei für metabolische Proteine zu kodieren. Regulatorische DNA-Sequenzen und Sequenzen, die für regulatorische Proteine kodieren, kontrollieren den Zeitpunkt, die Menge und den Ort der Genexpression. Genetische Differenzen in Bezug auf regulatorische Mechanismen beeinflussen die Genexpression und sorgen somit für eine Variation der additiv genetischen Werte, als ob es sich um reguläre Allele handeln würde (BENTSEN, 2005).

Jede proteinkodierende Region (Genlocus) kann von einer Vielzahl regulatorischer Mechanismen beeinflusst werden, wobei Interaktionen über das gesamte Genom auftreten. Die Anzahl an Loci, die die quantitativ genetische Variation eines Merkmals beeinflusst, kann somit weit grösser sein, als die Anzahl an genetisch kodierten Proteinen, die an der direkten Ausprägung des Merkmals beteiligt sind (BENTSEN, 2005).

Zusammenfassend sind bisher in der Literatur drei Gene, *Cyp19a* (Aromatase) (D’COTTA et al., 2001a), *MM20C* (D’COTTA et al., 2001b) und *Sox9* (WESTERN et al., 1999) als differentiell exprimiert in Versuchen mit temperaturbehandelten Prüfgruppen verschiedener Vertebraten (Fische, Reptilien) beschrieben worden. Die Frage nach ihrer alleinigen Bedeutung oder dem Zusammenwirken mit anderen Genen ist weiterhin unklar, da bisher, wie im Falle von *MM20C*, sie noch nicht identifiziert werden konnten, oder, wie bei *Cyp19a* und vor allem *Sox9*, die Bedeutung für die geschlechtsdeterminierenden Prozesse noch nicht vollständig geklärt ist. Die Anzahl involvierter Loci bei *tsd* dürfte jedoch weit grösser sein als die bisherigen Studien zu zeigen vermögen, da die intra- und interpopulationsspezifische Variation hinsichtlich dieses Merkmals sehr gross ist (TESSEMA LEMMA, 2001).

Des weiteren hält der augenblickliche Stand der Forschung keine Antwort auf die Frage nach der Verbindung zwischen der genetisch durch Haupt- und Nebenfaktoren bestimmten Geschlechtsdeterminierung und der temperaturabhängigen Geschlechtsdeterminierung, falls hier eine Verbindung besteht, bereit.

2.1.4.5 Konsequenzen für den Selektionserfolg

BENTSEN (2005) hält im Kontext des vorigen Kapitels eine Anzahl von 300 Loci für ein komplexes, polygen bestimmtes Merkmal für nicht unwahrscheinlich. Die *tsd* ist

zweifelloos ein komplexes, heritables Merkmal (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001), ob es sich dabei jedoch um ein polygenes Merkmal handelt und inwiefern Gene mit unterschiedlichen Effekten (ob Haupt- oder Nebeneffekt) existieren und zur Merkmalsausprägung beitragen, ist bisher noch unklar.

Das Ziel einer jeden gerichteten Selektion ist die Veränderung der Genfrequenzen eines heritablen Merkmals an den Loci, die die Merkmalsausprägung in der nächsten Generation beeinflussen (FALCONER & MACKAY, 1996; GJEDREM & THODESEN, 2005). Grundsätzlich gilt, je höher die Anzahl an Loci ist, desto eher bilden sich selbst bei kleinen Unterschieden der Allelfrequenzen genetisch unterschiedliche Populationen für das betrachtete, quantitative Merkmal. Selbst in intensiven Selektionsprogrammen werden so selten Verbesserungen des Populationsmittels um mehr als 0,5 phänotypischen Standardabweichungen pro Generation erreicht. Daher kann bei einer grossen Anzahl an Loci ein nahezu kontinuierlicher Erfolg durch Selektion gemessen werden (BENTSEN, 2005). Die Anzahl an Genen und ihre Effekte weisen eine inverse Beziehung auf, da bei einer gegebenen genetischen Variation wenige Gene einen grossen Effekt, viele Gene jedoch kleine(re) Effekte haben müssen (FALCONER & MACKAY, 1996). Das wiederum bedeutet, dass die Selektionsgrenzen sehr stark von der Anzahl an Genen abhängen (GJEDREM & THODESEN, 2005).

Die Mehrzahl der quantitativen Merkmale ist gekennzeichnet durch viele Gene mit kleinem Effekt, Gene mit grossem Effekt treten in sehr viel geringer Frequenz auf. Wenn nur einige wenige Gene mit jeweils grossem additivem Effekt an der Merkmalsausprägung beteiligt sind, sollten diese durch Selektion sehr schnell fixiert werden (SEHESTED & MAO, 1992). Die verbleibende genetische Varianz eines durch gerichtete Selektion veränderten Merkmals beruht in der Folge nur noch auf den Wirkungen vieler Nebeneffektgene. Die Folgen der Fixierung eines Merkmals mit wenigen Loci nach nur einigen Generationen, bedingt eine Reduzierung der genetischen Varianz und das Ausbleiben eines Selektionserfolgs (FALCONER & MACKAY, 1996).

Polygene Merkmale weisen bestimmte Charakteristika auf, die direkte Auswirkungen auf den Selektionserfolg haben können:

- (1) Haupt- und Nebenfaktoren tragen nicht zu gleichen Teilen zur Merkmalsausprägung bei, wobei Hauptfaktoren (*major genes*) relativ schnell fixiert werden (FALCONER & MACKAY, 1996),

- (2) alle Plusallele kommen mit sehr ähnlicher Frequenz vor, was ebenfalls eine sehr rasche Fixierung dieser Gene durch Selektion bewirkt (BENTSEN, 2005),
- (3) wenn eine sehr grosse Anzahl an Genen vorliegt, ist die Wahrscheinlichkeit, dass diese alle auf verschiedenen Chromosomen liegen relativ gering. Das wiederum heisst, Gene die nah beieinander liegen, werden als „ein“ Gen vererbt, weiter entfernte Gene können über die Generationen rekombinieren, was ihren Effekt verzögert (BENTSEN, 2005),
- (4) nicht additiv genetische Effekte (ausgelöst durch Dominanz), reduzieren die Anzahl der Phänotypen einer Population, während Epistasie genau das Gegenteil bewirkt, nämlich die Erhöhung der Anzahl der Phänotypen. Beide Effekte (Dominanz und Epistasie) können den Selektionserfolg aufgrund von Rekombination interagierender Allele während der Vererbung von einer Generation zur nächsten reduzieren (BENTSEN, 2005).

Neben den durch den Züchter bestimmten Parametern, wie der Selektionsintensität oder der Art der Anpaarung, hat somit auch die Anzahl der Loci des zu verändernden quantitativen Merkmals einen entscheidenden Einfluss auf den Selektionserfolg.

2.1.4.6 Betrachtung der temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse als kontinuierliches Merkmal

Um das Geschlechterverhältnis als Merkmal mit unterliegender quantitativer Basis betrachten zu können, müssen die genetische (*gsd*) und die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung (*tsd*) (BULL, 1983; CONOVER & HEINS, 1987; BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001) als zwei unabhängige Merkmale betrachtet werden. Denn zum einen werden sie in zwei unterschiedlichen Umwelten erfasst und zum anderen wird ihre Verteilung jeweils durch unterschiedliche Mittelwerte und Varianzen bestimmt (FALCONER & MACKAY, 1996). Generell ist bereits das Merkmal Geschlechtsdetermination als solches ein atypisches Merkmal, da das Geschlecht auf zwei Klassen entfällt und nicht auf einer kontinuierlichen Skala gemessen werden kann (BULL, 1983). Um die quantitativ genetischen Grundlagen dieses Merkmals zu erfassen, kann angenommen werden, es handele sich hier um ein Schwellenwertmerkmal (*threshold trait*) mit einer nicht direkt messbaren kontinuierlich verteilten Variablen X (siehe Kapitel 2.1.4.7)

kontinuierlich verteilten Variablen X (siehe Kapitel 2.1.4.7) (BULL et al., 1982; FALCONER & MACKAY, 1996) oder aber man erfasst die Geschlechterverhältnisse als quantitatives Merkmal in dem der relative Anteil an Männchen oder Weibchen ($m/(m+w)$; $w/(w+m)$) in jeder Anpaarung dokumentiert wird (CONOVER & KYNARD, 1982; CONOVER et al., 1992; BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001). Durch die Konvertierung der Häufigkeiten in eine kontinuierliche, prozentuale Variable werden (genetische) Unterschiede zwischen verschiedenen Familien sichtbar und die Variation der Geschlechterverhältnisse wird direkt messbar. Probleme ergeben sich bei dieser Betrachtungsweise lediglich in Hinsicht auf geringe Tieranzahlen in den einzelnen Gelegen, da geringe Beobachtungsanzahlen leicht zu einer Verzerrung der im Verhältnis betrachteten Werte führen.

CONOVER & HEINS (1987) nutzten die relativen Anteile der Weibchen verschiedener temperaturbehandelter Familien zur histogrammischen Darstellung der Variation innerhalb einer Population (zwischen Familien) von *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). Dabei stellten die Autoren eine multimodale Verteilung fest, woraus sie folgerten, es würden hier einige wenige Hauptgeschlechtsfaktoren unterliegen, die nach den mendelschen Gesetzen segregieren. In weiteren Arbeiten an *Menidia menidia* wurde zwar eine hohe phänotypische Variation der Geschlechterverhältnisse vorgefunden, jedoch wurde in diesen Arbeiten (CONOVER & KYNARD; 1982) weder die Ursache der Variation (genetisch oder umweltbedingt) quantifiziert noch die Verteilung der durch *tsd* bestimmten Geschlechterverhältnisse auf Normalität geprüft. Die Autoren trafen lediglich die Annahme, dass hier Unterschiede zwischen Populationen, Familien sowie maternale und paternale Effekten bestünden, quantifizierten die jeweilige Variation jedoch nicht.

BAROILLER et al. (1995b) und TESSEMA LEMMA (2001) stellten ebenfalls eine grosse Variation zwischen Populationen, Familien oder der Elternkombination in Bezug auf die Geschlechterverhältnisse temperaturbehandelter Brut von *O.niloticus* fest. Beide Autoren beobachteten diese Effekte aufgrund der subjektiven Betrachtung der Geschlechterverhältnisse. Zwar testeten sie mittels des Chi-quadrat Goodness-of-Fit Tests, inwiefern sich die behandelten Gruppen von einer 1:1 Verteilung unterschieden, eine statistische Absicherung der Variationsursache zwischen Populationen, Familien, Vater oder Mutter oder eine Überprüfung auf Normalverteilung erfolgte jedoch nicht. Bis auf TESSEMA LEMMA (2001) war allen vorangegangenen Arbeiten eine geringe Anzahl an getesteten Gelegen gemeinsam.

SAILLANT et al. (2002) untersuchten den Einfluss beider Elternteile auf den Weibchenanteil⁴ in temperaturbehandelten Gruppen von *Dicentrarchus labrax* aus statistischer Sicht systematisch. Diese Arbeitsgruppe testete die Geschlechterverhältnisse der behandelten Gruppen auf Normalverteilung und Varianzgleichheit. Die Autoren paarten drei Weibchen und neun Männchen in einem vollständigen Diallel an und analysierten dieses mittels Log-linearer Modelle. Das entsprechende Modell (Gruppe HT) beinhaltete die fünf Faktoren: Geschlecht, Vater, Mutter, Temperaturbehandlung und Becken und deren Interaktion.

Die Nullhypothese bestand zum einen darin, dass Weibchen und Männchen jeweils für sich genommen keinen Einfluss auf die Geschlechterverhältnisse haben. Zum anderen, dass keine Interaktion zwischen Männchen und Weibchen in Bezug auf die Beeinflussung der Geschlechterverhältnisse besteht. Dazu ermittelten die Autoren mittels Mehrfelder-Tafeln (*rxs*-Tafeln) die erwarteten Häufigkeiten in den entsprechenden Zellen des Modells. Die durchgeführten Analysen ergaben einen signifikanten Einfluss der Mutter ($\chi^2=583$, $df=2$, $p<0,001$). Genau wie die Mutter hatte auch der Vater einen statistisch absicherbaren Einfluss auf die Nachkommengeschlechterverhältnisse ($\chi^2=94,6$, $df=94,6$, $p=0,002$). Im Gegensatz zu den Effekten der jeweiligen Elternteile war die Interaktion zwischen Vater und Mutter nicht signifikant ($\chi^2=25$, $df=16$; $p=0,07$). Daraus folgerten die Autoren, der Effekt der Eltern auf die Geschlechterverhältnisse temperaturbehandelter Brut bei hohen Temperaturen (Gruppe HT) sei additiver Natur (SAILLANT et al., 2002).

Das genetische Geschlecht der in dieser Studie verwendeten Elterntiere wurde nicht eindeutig festgestellt, da diese Fische aus Wildfängen stammten. Somit konnte nicht ausgeschlossen werden, dass das genetische Geschlecht (im Falle vorliegender funktioneller Männchen oder Weibchen) einen Einfluss auf die temperaturabhängig ausgeprägten Geschlechterverhältnisse hatte. Wenn aber doch das genetische und das phänotypische Geschlecht der Eltern übereinstimmten, müssten die Ergebnisse durch unterschiedliche Sensibilitäten der Eltern erklärt werden (SAILLANT et al., 2002).

Folglich kann auch die zuletzt beschriebene Studie, aufgrund der genannten Mängel im Versuchsaufbau, keinen Aufschluss darüber geben zu welchen Teilen die Variati-

⁴ der Effekt der Temperatur auf die Geschlechterverhältnisse bei *Dicentrarchus labrax* ist nicht eindeutig geklärt, aber überwiegend bedingen erhöhte Temperaturen höhere Weibchenanteile

on von den verschiedenen Einflussfaktoren abhängt und ob es sich bei dem Merkmal *tsd* um ein quantitatives Merkmal handelt.

2.1.4.7 Genetische Parameter des Merkmals Geschlechterverhältnis und deren Feststellung

Da bisher das Merkmal *tsd* noch nicht als quantitatives Merkmal in der Literatur beschrieben wurde, sind auch die genetischen Parameter wie die entsprechenden Varianzkomponenten, die Heritabilität als auch die genetischen Korrelationen zu anderen Merkmalen bisher nicht geschätzt worden.

BULL et al. (1982) führten auf der Basis der tetrachorischen Korrelation nach Pearson eine Methode ein, um die Heritabilität dimorpher Merkmale mit unterliegender quantitativ genetischer Basis, wie dem hier untersuchten temperaturbestimmten Geschlecht (*tsd*), zu schätzen.

BULMER & BULL (1982) nahmen an, dass das Geschlecht entsprechend eines normalverteilten Faktors X relativ zu einem fixen Schwellenwert determiniert würde. Im Falle der *tsd* unterstellten die Autoren als Schwellenwert die jeweilige Erbrütungstemperatur T . Jede Zygote trägt einen bestimmten Wert X und wird männlich, wenn $X > T$ und weiblich, wenn $X < T$. Somit kann das Geschlechterverhältnis der Population dann als Verhältnis der Tiere mit positiven $X-T$ -Werten angegeben werden (BULL et al., 1982). X ist zusammengesetzt aus einer genetischen und einer Umweltkomponente, mit der Heritabilität h_X^2 . Dabei wird angenommen, dass die gesamte genetische Varianz additiv sei und von vielen verschiedenen Loci determiniert würde, unabhängig von der elterlichen Herkunft dieser Allele.

Das Ziel der Arbeitsgruppe BULL et al. (1982) war die Schätzung der Heritabilität des Merkmals *tsd* an temperaturbehandelten Gruppen der Ouachita Höckerschildkröte (*Graptemys ouachitensis*). Das Problem der Heritabilitätsschätzung im Falle des Merkmals Geschlecht ist, dass der Wert der unterliegenden kontinuierlich verteilten Variable X nicht direkt messbar ist. Individuen können nur den Klassen „männlich“ oder „weiblich“ zugeordnet werden und die Korrelation der X -Werte muss aus den diskreten Werten abgeleitet werden.

Die Intraklassenkorrelation der B-Werte ($b=0$ weiblich und $b=1$ männlich) ρ_B zwischen Verwandten setzt sich wie folgt zusammen, wenn davon ausgegangen wird, eine Population sei unterteilt in Gruppen verwandter Individuen,:

$$\rho_B = \frac{\sigma_g^2}{p(1-p)} \quad (\text{Gleichung 2.2})$$

Das beobachtete Mittel der Populationsgeschlechterverhältnisse p , bei gegebener Familienanzahl f , wird folgendermassen berechnet:

$$p = \frac{1}{f} \sum_i p_i \quad (\text{Gleichung 2.3})$$

Die zur Berechnung der Zwischengruppenvarianz nötigen Summenquadrate S der Geschlechterverhältnisse werden nach Gleichung 2.4 ermittelt:

$$S = \sum_i (p_i - p)^2 \quad (\text{Gleichung 2.4})$$

Der Erwartungswert der Quadratsumme ist,

$$E\left(\frac{S}{(f-1)}\right) = \sigma_g^2 + E\left\{\frac{P_i(1-P_i)}{n}\right\} = \frac{(n-1)}{n} \sigma_g^2 + \frac{P(1-P)}{n} \quad (\text{Gleichung 2.5})$$

Die Zwischengruppenvarianz (σ_g^2) berechnet sich nach

$$\sigma_g^2 = \left(\frac{S}{(f-1)}\right) \frac{n}{(n-1)} - \frac{p(1-p)}{(n-1)} \quad (\text{Gleichung 2.6})$$

wobei:

- σ_g^2 = Zwischengruppenvarianz
- f = Anzahl Familien
- n = Durchschnittliche Anzahl an Fischen pro Familie
- p = Populationsgeschlechterverhältnis
- $p(1-p)$ = Phänotypische Varianz
- p_i = Familiengeschlechterverhältnis
- P = Erwartetes Populationsgeschlechterverhältnis
- P_i = Erwartetes Familiengeschlechterverhältnis
- S = Summenquadrate der Geschlechterverhältnisse

Die tetrachorische Korrelation der X -Werte (ρ_x) mit den B -Werten (ρ_B) kann nun für den speziellen Fall $P=1/2$ errechnet werden (siehe BULL et al., 1982). Für alle übrigen Fälle können die entsprechenden Korrelationen approximativ aus Tabelle 2.7 entnommen werden, wobei nähere Informationen zur Herleitung der Werte BULL et al. (1982) zu entnehmen sind.

Tabelle 2.7: Korrelation der X -Werte (ρ_x) in Abhängigkeit der B -Werte (ρ_B) und des Geschlechterverhältnisses

GV	ρ_x	.1	.2	.3	.4	.5
.1 / .9		.037	.080	.129	.186	.250
.2 / .8		.050	.104	.162	.225	.293
.3 / .7		.058	.119	.181	.247	.318
.4 / .6		.063	.126	.191	.259	.330
.5		.064	.126	.194	.262	.333

(GV=Geschlechterverhältnis)

Die Heritabilität h_x^2 für x kann dann für Vollgeschwister nach $2\rho_x$ und für Halbgeschwister nach $4\rho_x$ geschätzt werden.

In den vier Experimenten der Autoren rangierten die Geschlechterverhältnisse zwischen 0,28 und 0,59, bei einem Mittel von 0,41. Die nach der Berechnung der Korrelation der unterliegenden X -Werte geschätzte Heritabilität belief sich unter der Annahme, dass nur Vollgeschwister vorlagen und sämtliche genetische Varianz additiv war, auf 0,82. Für ein an die Reproduktionsmerkmale gekoppeltes Merkmal erscheint eine Heritabilität von 0,82 sehr hoch. In der Tat, waren die Autoren der Ansicht, dass der ermittelte Schätzwert stark überschätzt war, da die Heritabilität im engeren Sinne, also der Anteil der additiv genetischen Varianz an der gesamten phänotypischen Varianz, auch vom Ort der Nestwahl des Muttertieres, die somit Einfluss auf die Temperatur im Nest nimmt, abhängt. Die Temperatur hat hier einen entscheidenden Anteil an der Ausprägung des phänotypischen Geschlechts der Nachkommen, wodurch natürlich auch die erbliche Komponente der Nestwahl der Mutter die Heritabilität entscheidend beeinflusst (BULL et al., 1982).

JANZEN (1992) führte ebenfalls Versuche zur *tsd* an der Schnappschildkröte *Chelydra serpentina* durch, mit dem Ergebnis, dass auch bei dieser Spezies genetische

Effekte auf die temperaturabhängige Geschlechtsdetermination (*tsd*) nachgewiesen werden konnten.

Die Grundlage der Heritabilitätsschätzung bildete dabei das oben beschriebene Modell von BULL et al. (1982). Im Gegensatz zur Arbeit von BULL et al. (1982) fielen die Heritabilitäten für verschiedene Temperaturregime geringer aus (0,34; 0,60; 0,76; Mittel: 0,56) waren aber nichtsdestotrotz stark positiv, worin der Autor eine Bestätigung für eine hohe additiv genetische Varianz dieses Merkmals sah. Des Weiteren konnten die Autoren mittels Varianzanalyse einen signifikanten Einfluss der Eltern auf die temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse der Nachkommen nachweisen. Allerdings beruhten diese Ergebnisse auf einer nur sehr geringen Anzahl an Familien ($n=15$) mit jeweils nur zwei Tieren. Daher sollten laut Autor diese Ergebnisse unter Vorbehalt interpretiert werden (JANZEN, 1992).

Der einzige Heritabilitätsschätzwert für das Merkmal Geschlechterverhältnis bei *O.niloticus* geht aus der Arbeit von LESTER et al. (1989) hervor. Im Gegensatz zu den zuvor betrachteten Arbeiten basieren die Ergebnisse dieser Autoren auf „rein genetisch“ (*gsd*) ausgeprägten Geschlechterverhältnissen, da die Fischbrut in diesen Versuchen bei Temperaturen von 26-28°C aufgezogen wurde. Diese Temperaturen reichen nicht aus, um die genetische Geschlechtsbestimmung (*gsd*) ausser Kraft zu setzen (BAROILLER et al., 1999). Trotzdem beobachteten die Autoren stark variierende Geschlechterverhältnisse zwischen den vier verwendeten Populationen (Israel, Philippinen, Singapur, Taiwan) sowie zwischen den insgesamt 60 aufgezogenen Familien (2-66% Männchen). Aufgrund dieser Ergebnisse vermuteten die Autoren, dass das Geschlecht dieser Spezies polygen bestimmt würde. Dies ist eine der Grundprämissen für das von BULL et al. (1982) eingeführte Modell zur Schätzung der Heritabilität. Im Mittel aller 60 Familien betrug die Heritabilität 0,22, wobei das 95%ige Konfidenzintervall die Werte 0,14-0,35 umfasste. Für das erste und zweite durchgeführte Experiment der Autoren ergaben sich Werte von 0,09 (Konfidenzintervall: 0,04-0,2) und 0,37 (Konfidenzintervall: 0,22-0,77). Wenn nur Halbgeschwisteranpaarungen zur Schätzung der Heritabilität berücksichtigt wurden, ergab sich ein Wert von 0,26 (Konfidenzintervall: 0,13-0,48). Die Autoren schlussfolgerten, dass die Vererbung des Geschlechts in Form eines Schwellenwertmerkmals mit unterliegender kontinuierlicher Variable X erfolgt. Die Hypothese der Autoren, die Varianz der Männchenanteile sei bedingt durch eine temperaturabhängige Geschlechtsausprägung, kann aufgrund der Wassertemperaturen unterhalb des Schwellenwerts von

34 °C (BAROILLER et al., 1999), wie in der betrachteten Studie dokumentiert, nicht als adäquat angesehen werden. Vielmehr könnten die heterogenen Nachkommen-geschlechterverhältnisse auf die Verwendung von hormonell umgewandelten Eltern-tieren zurückzuführen sein. Des weiteren argumentiert die Arbeitsgruppe LESTER et al. (1989), das von ihnen beschriebene Modell sei polygen, da das betreffende Merkmal einerseits von der Androgenkonzentration und andererseits von den dazugehörigen Rezeptoren abhängig sei. Generell sei es offensichtlich, dass viele Gene in die Hormonproduktion sowie die Regulation der Sekretion und Wirkung involviert seien. Da diese Gene ausserdem noch dem Einfluss der Umwelt unterliegen, bezeichnen die Autoren diese Form der Geschlechtsdetermination als *esd* (*environmental sex determination*), was aufgrund der normalen Aufzuchttemperaturen (26-28 °C) hier nicht zulässig ist (LESTER et al., 1989).

3 Eigene Untersuchungen

3.1 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin zu prüfen, ob der Männchenanteil von Nilbuntbarschen der Art *Oreochromis niloticus* durch Selektion auf die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung (*tsd*) nachhaltig erhöht werden kann. Diese Überprüfung der Vererbarkeit der Temperatursensibilität sollte durch ein Selektionsexperiment über zwei Generationen erfolgen. Ausgehend von einer Basispopulation sollten hoch und schwach sensible Familien selektiert und zur Erstellung zweier divergierender Linien genutzt werden.

Des Weiteren sollte untersucht werden, ob bei Genotypen aus verschiedenen homozygot isogenen Linien das Geschlecht durch eine verlängerte Temperaturbehandlung ebenfalls beeinflussbar ist.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Aufbau der Versuchsanlage

Durchgeführt wurden die Experimente in der Warmwasserkreislaufanlage des Instituts für Tierzucht und Haustiergenetik der Georg-August-Universität, Göttingen. Die Versuchsanlage bestand insgesamt aus vier voneinander unabhängigen Kreisläufen. Zur Erbrütung der befruchteten Tilapiaeier wurde ein speziell für diese Spezies konzipierter Brutschrank, dessen Aufbau in der Arbeit von HABITZKY-BIESTER (1987) beschrieben wurde, eingesetzt.

Die zur Aufzucht der geschlüpften Larven genutzte Anfütterungseinheit bestand aus zwei baugleichen Kreisläufen. Einer der Kreisläufe diente der Aufzucht der Kontrollen bei 28°C Wassertemperatur, wohingegen der zweite Kreislauf die Haltung der Versuchsfische bei einer Wassertemperatur von 36°C erlaubte. Die Aufzucht der Fischlarven erfolgte in Plastikbecken mit zwei Liter Wasservolumen, die an einer Stirnseite gelocht und mit feinen Sieben versehen waren. Diese verhinderten ein Entweichen der Fische aus den Becken. Während der Wachstumsphase wurden die Kontroll-

und Behandlungsgruppen separat in 80 Liter fassenden Becken des vierten Anlagenteils aufgezogen. Die Kreislaufführung des Haltungswassers erlaubte stündlich eine 1,5-fache Umwälzung des gesamten Haltungsvolumens. Ausströmersteine sorgten zusätzlich in den Haltungsbecken für eine ausreichende Sauerstoffversorgung der Fische.

Die während der Versuchsperiode in den verschiedenen Anlagenteilen ermittelten Wasserparameter sind in Tabelle 3.1 dargestellt. Insgesamt lagen die festgestellten Wasserparameter für die Spezies *Oreochromis niloticus* über die gesamte Dauer der Experimente im optimalen Bereich.

Tabelle 3.1: Wasserparameter während der Versuchsperiode

Parameter	Beobachtungsbecken	Brutschrank	Anfütterung	Aufzuchtbecken
Temperatur [°C]	25-28	28	28/36	26-28
O ₂ [ppm]	5,0-7,0	6,0	6,5-7,0	6,5–7,0
NH ₄ [ppm]	<0,40	<0,01	<0,02	<0,30
NO ₃ [ppm]	<0,20	<0,01	<0,15	<0,30

3.2.2 Herkunft der Versuchsfische

Die in dieser Untersuchung genutzten Fische der Spezies *Oreochromis niloticus* stammten aus einer Population des Lake Manzala in Ägypten. Diese am Institut für Tierzucht und Haustiergenetik gehaltene Population wurde bereits für verschiedene Untersuchungen genutzt (KRONERT et al., 1989 ;OLDORF et al., 1989). Zuletzt beschrieb MÜLLER-BELECKE (1997) die genaue Herkunft dieser Population.

In der vorliegenden Untersuchung wurden zwei genetisch unterschiedliche Gruppen der Population Lake Manzala verwendet. Auf der einen Seite dienten ausgezüchtete Fische beider Geschlechter zur Durchführung der Selektionsexperimente. Auf der anderen Seite wurden vier (Linien: I, II, IV, V) der sechs von MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK (1995) erstellten homozygot isogenen Linien verwendet. Dabei repräsentierte jede Linie einen ganz bestimmten Genotyp. Zur Erstellung ge-

netisch rein-weiblicher Kreuzungen zwischen der Vaterlinie II und den Mutterlinien I, VI und V, diente ein genetisch weiblicher, funktioneller Milchner.

3.2.3 Laichfischmanagement

Die in den Experimenten eingesetzten Elternfische waren zur individuellen Erkennung mit Mikrochips versehen. Diese wurden den Fischen nach Anästhesierung mit einer Lösung aus Wasser und 10 ppm Phenoxyethanol implantiert. Die Injektion der Mikrochips in den kranialen Teil der Rückenmuskulatur erfolgte mit Hilfe einer Injektionsnadel. Fische des Selektionsexperiments waren zusätzlich mit einer äusserlich sichtbaren Plastikmarke versehen, die im Bereich des Schwanzstieles in die Rückenmuskulatur eingezogen wurde.

Die Rogner des Selektionsexperiments und der homozygot isogenen Linien wurden getrennt voneinander in transparenten Glasaquarien bei einer Wassertemperatur von 27–28 °C gehalten. Die Besatzdichte in diesen Becken mit 300 Litern Volumen betrug 15 kg/m³. Bei ca. 1,5 Wasserumläufen pro Stunde wurde den Becken eine Wassermenge von 0,1–0,2 l/s zugeführt. Über jedem Aquarium war eine Neonröhre (Fa. Osram, Typ: L 58 W/25) zur Beleuchtung der Becken installiert. Die Steuerung des Lichtzyklus erfolgte über eine Zeitschaltuhr, die es erlaubte einen 12h:12h Tag-Nachtrhythmus zu fahren. Jeweils um 15 Uhr MEZ erfolgte der Wechsel von der Tag- auf die Nachtphase.

Um Verluste aufgrund des aggressiven Territorialverhaltens der Milchner zu vermeiden, wurden diese von Versuchsbeginn an einzeln gehalten. Die Fütterung der Laichfische erfolgte dreimal täglich (*ad libitum*) mit einem handelsüblichen Karpfenfutter (C2 der Firma Skretting, 36% XP, 18% XF).

Die Regulation der Temperatur, der Frischwasserzufuhr und der Wasserstände wurde über eine Mess- und Regeltechnikeinheit der Firma ABB (Typ: CM-ENS) innerhalb der vorgegebenen Parameter gehalten. Etwaige pH-Wert Pufferungen erfolgten manuell durch die tägliche Zugabe von Natriumbikarbonat.

3.2.4 Erstellung der Prüfgruppen

Die in den Versuchen genutzten Laichfische wurden durch Abstreifen der Gonadenprodukte und anschliessender künstlicher Besamung der Eier reproduziert. Dabei wurde die Eigenschaft dieser Spezies, in den späten Abendstunden abzulaichen, gezielt durch das schon beschriebene Lichtprogramm ausgenutzt. Alle Laichereignisse fanden ausschliesslich in der Zeit von 13-15 Uhr statt.

Um laichbereite Rogner zu entdecken, wurden die Fische täglich während des genannten Zeitraums beobachtet. Laichreife Rogner konnten anhand ihrer geschwellenen und rötlich verfärbten Urogenitalpapille identifiziert werden. Weiterhin wies das mit der Laichbereitschaft stark ausgeprägte Territorialverhalten dieser Fische auf ein kurz bevorstehendes Laichereignis hin. Laichbereite Rogner, die diese Merkmale aufwiesen, wurden mit einem Kescher den Becken entnommen und in mit 10 ppm Nelkenöl versetztem Wasser betäubt. Durch mehrere kaudal gerichtete Streifvorgänge des Abdomens konnten die Eier von den sedierte Weibchen gewonnen werden. Die Eier wurden direkt in eine 0,9%ige Kochsalzlösung gestreift, um ein Quellen derselben vor der Befruchtung zu verhindern. Das anschliessende Streifen adäquater Männchen war ohne vorherige Betäubung möglich. Das gewonnene Spermium wurde ebenfalls in 0,9%iger Kochsalzlösung inaktiviert. Die Besamung der Eier erfolgte durch die Vermengung der Geschlechtsprodukte unter Zugabe von 28°C warmen Wasser, wobei nach einer Wartezeit von fünf Minuten jeweils 300 befruchtete Eier in 2 cL Gläser überführt und im Brutschank bei 28°C Wassertemperatur inkubiert wurden. Ein zylindrischer Netzeinsatz verhinderte das Austreten der Eier aus den Gläsern, wobei ein senkrecht von oben eintretender Wasserstrahl für kontinuierliche Bewegung und Versorgung der Eier mit Sauerstoff sorgte.

Erstellen homozygot isogener Prüfgruppen mittels meiotischer Gynogenese

Die Erstellung rein-weiblicher gynogenetischer Nachkommen der homozygot isogenen Linie II erfolgte entsprechend des von MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGENSCHWARK (2000) beschriebenen Verfahrens der meiotischen Gynogenese. Das zur Aktivierung der Eizellen nötige Spermium wurde durch eine 1,5 minütige Bestrahlung mit ultraviolettem Licht der Wellenlänge 254 nm genetisch inaktiviert. Dabei blieb das

Sperma aber befruchtungsfähig. Jeweils 3 ml Sperma wurden mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und auf drei Petrischalen aufgeteilt. Diese wurden dann nacheinander der Bestrahlung unterzogen, um anschliessend das bestrahlte Sperma wieder zu vermischen. Danach erfolgte die Vermengung der von Rognern der homozyot isogenen Linie II gestreiften Eier mit dem inaktivierten Sperma. Die Zugabe von 28°C warmen Wasser hob die Bewegungsunfähigkeit der Spermien auf und führte zur Aktivierung der Eizellen. Fünf Minuten nach der Besamung wurden die Eizellen in ein auf 41°C temperiertes Wasserbad gegeben, wo sie für 4,5 Minuten verblieben. Durch den Hitzeschock wurde der zweite Polkörper in der Eizelle beibehalten (HÖRSTGEN-SCHWARK & PUCKHABER, 1996) und somit die Duplikation des weiblichen Genoms erreicht.

Ein Teil der Eier wurde jeweils zur Erstellung einer haploiden Kontrolle mit dem bestrahlten Sperma besamt, ohne eine anschliessende Schockbehandlung durchzuführen. Die Inkubation der behandelten und unbehandelten Eier erfolgte im Brutschrank bis zum neunten Tag nach der Befruchtung. Die Inaktivierung des paternalen Genoms galt nur als erfolgreich, wenn bis zum neunten Tag alle Larven der haploiden Kontrollen verstorben waren. War diese Bedingung nicht erfüllt, wurden die entsprechenden Gruppen verworfen.

3.2.5 Temperaturbehandlung

Am neunten Tag nach der Befruchtung wurden die Larven dem Inkubator entnommen und in die Anfütterungseinheit umgesetzt. Zu Behandlungsbeginn wurden die Anzahlen jeder Familie auf 110 Fische in der Kontroll- und Behandlungsgruppe standardisiert. Die Temperaturtestung erfolgte in der bereits beschriebenen Anfütterungseinheit in Anlehnung an die Ergebnisse von TESSEMA LEMMA (2001). Temperaturschwankungen im Behandlungskreislauf wurden über Thermostate der Firma Aquatico Ltd., Macroom Irland (Typ: Biotherm 2000) geregelt. Die Wassertemperatur lag während des gesamten Versuchszeitraums innerhalb der für diese Thermostate angegebenen Schwankungsbreite von einem Grad Celsius bei einem Wert von $36^{\circ}\text{C}\pm 0,5$. Die Bestimmung der Wassertemperatur erfolgte zweimal täglich anhand von digitalen Thermometern mit $0,2^{\circ}\text{C}$ Kalibrierungsgenauigkeit.

Jeweils vor dem Umsetzen der Behandlungsgruppen wurden diese sukzessive an die neue Haltungstemperatur adaptiert. Die Dauer der Behandlung betrug insgesamt

zehn Tage, wobei diese neun Tage nach der Befruchtung begonnen wurde. Bei Prüfgruppen, die aus Kreuzungen zwischen homozygot isogenen Linien oder aus meiotisch gynogenetischer Reproduktion der homozygot isogenen Linien stammten, wurde ebenfalls neun Tage nach der Befruchtung mit der Behandlung begonnen. Hier betrug die Dauer der Behandlung jedoch 30 Tage.

Alle Kontrollen wurden weiterhin bei einer Temperatur von $28^{\circ}\text{C}\pm 0,5$ aufgezogen. Die ständige Umwälzung des Haltungswassers sorgte für eine homogene Temperaturverteilung innerhalb der Becken. Den Kontroll- und Versuchsgruppen wurde dreimal täglich ein proteinreiches Futter der Marke Tetra verabreicht (Tetramin Baby/Tetramin Mini; 47% XP, 8% XL).

3.2.6 Wachstumsphase

Nach Beendigung der Temperaturbehandlung verblieben die Behandlungsgruppen zur sukzessiven Adaption an die Haltungstemperatur von 28°C für weitere 24 Stunden in der Anfütterungseinheit. Nach dem Zählen der Fische wurden Kontroll- und Behandlungsgruppen separat in 80 Liter Glasaquarien gesetzt, wo sie bis zur Geschlechtsbestimmung verblieben. Die Fütterung während dieses Haltungsabschnitts erfolgte dreimal täglich. Bis zum 60. Lebenstag wurde ein eiweissreiches Starterfutter der Firma Skretting (F-0, Pro Aqua Brut; 57% XP, 15% XL) verfüttert. Anschliessend wurde bis zum Zeitpunkt der Geschlechtsbestimmung ein 2 mm Karpfenfutter (Skretting, C2 Pro Aqua K18; 36% XP, 18%XL) eingesetzt.

3.2.7 Geschlechtsbestimmung

Die Geschlechtsbestimmung erfolgte frühestens 90 Tage nach der Erstellung der Prüfgruppen. Zur Bestimmung des Geschlechts wurden die genücherten Versuchsgruppen den jeweiligen Becken entnommen und mittels einer überdosierten Betäubungslösung getötet. Den getöteten Fischen wurden die Innereien und anschliessend die dorsal in der Bauchhöhle befindlichen Gonaden entnommen. Die Geschlechtsbestimmung erfolgte anhand der mikroskopischen Beurteilung der auf einem Objektträger gequetschten Gonaden bei 10- bis 40-facher Vergrösserung.

In den Kontrollen wurden jeweils zehn Männchen und zehn Weibchen lebend anhand der Urogenitalpapille gesext und selektiert. Männliche Fische weisen nur an der Spitze der Urogenitalpapille eine Öffnung auf. Die weibliche Urogenitalpapille ist hingegen durch zwei Öffnungen gekennzeichnet, wobei eine dieser Öffnungen schlitzförmig ist.

3.2.8 Selektion der Elternfische

Das Selektionskriterium für die Auswahl der Familien war der Männchenanteil in den temperaturbehandelten Prüfgruppen. Familien, die in den behandelten Gruppen einen Männchenanteil von über 80% aufwiesen, wurden hier zur Erstellung einer hochsensiblen Linie (High) selektiert. Familien, die einen Männchenanteil von etwa 60% erzielten, wurden für die Erstellung einer schwach sensiblen Linie (Low) selektiert. Zur Weiterzucht wurden jeweils die unter Kontrollbedingungen gehaltenen Vollgeschwistergruppen der selektierten Familien verwendet. Alle innerhalb des Selektionsexperimentes genutzten Elterntiere waren mittels Transponder und Plastikmarke gekennzeichnet, um die individuelle Familienzugehörigkeit nachvollziehen zu können.

3.2.9 Durchführung des Selektionsexperiments

Innerhalb des Selektionsexperiments wurden sukzessive zwei Generationen von Fischen erstellt und auf die Temperatursensibilität ihrer Geschlechtsausprägung geprüft. In jeder Generation wurden jeweils die hochsensiblen „High“ und schwach sensiblen „Low“ Familien selektiert und zur Erstellung der Linien und Folgegenerationen genutzt. Als Elterntiere der Folgegeneration dienten jeweils zehn aus den Kontrollen selektierte Weibchen und Männchen. Zum Zeitpunkt des Sexens erfolgte eine Betäubung mit einer Phenoxyethanol-Wasser-Lösung (10 ppm), um den Fischen dann individuelle Plastikmarken in den Schwanzstiel einzuziehen. Anschliessend folgte die Aufzucht dieser Fische bis zur Geschlechtsreife in 800 Liter Becken. Weibchen aus selektierten Familien wurden ab dem Erreichen der Geschlechtsreife in 300 Liter Beobachtungsbecken umgesetzt und künstlich abgestreift. Männchen aus selektierten Familien unterlagen dem selben Verfahren, allerdings erforderte ihr Territorialverhal-

ten eine separate Haltung. Die individuelle Markierung der Fische und das Abstreifen der Gonadenprodukte ermöglichte die gezielte Erstellung bestimmter Anpaarungen. Die Elterngeneration (EG) war die zur Erstellung der Selektionslinien genutzte Basispopulation. Die aus den Nachkommen selektierten hoch und schwach sensiblen Familien bildeten die erste Selektionsgeneration (1.SG). Wiederum aus den Nachkommen der ersten Selektionsgeneration selektierte hoch und schwach sensible Familien bildeten den Laichfischbestand der zweiten Selektionsgeneration (2.SG) (siehe Abbildung 3.1).

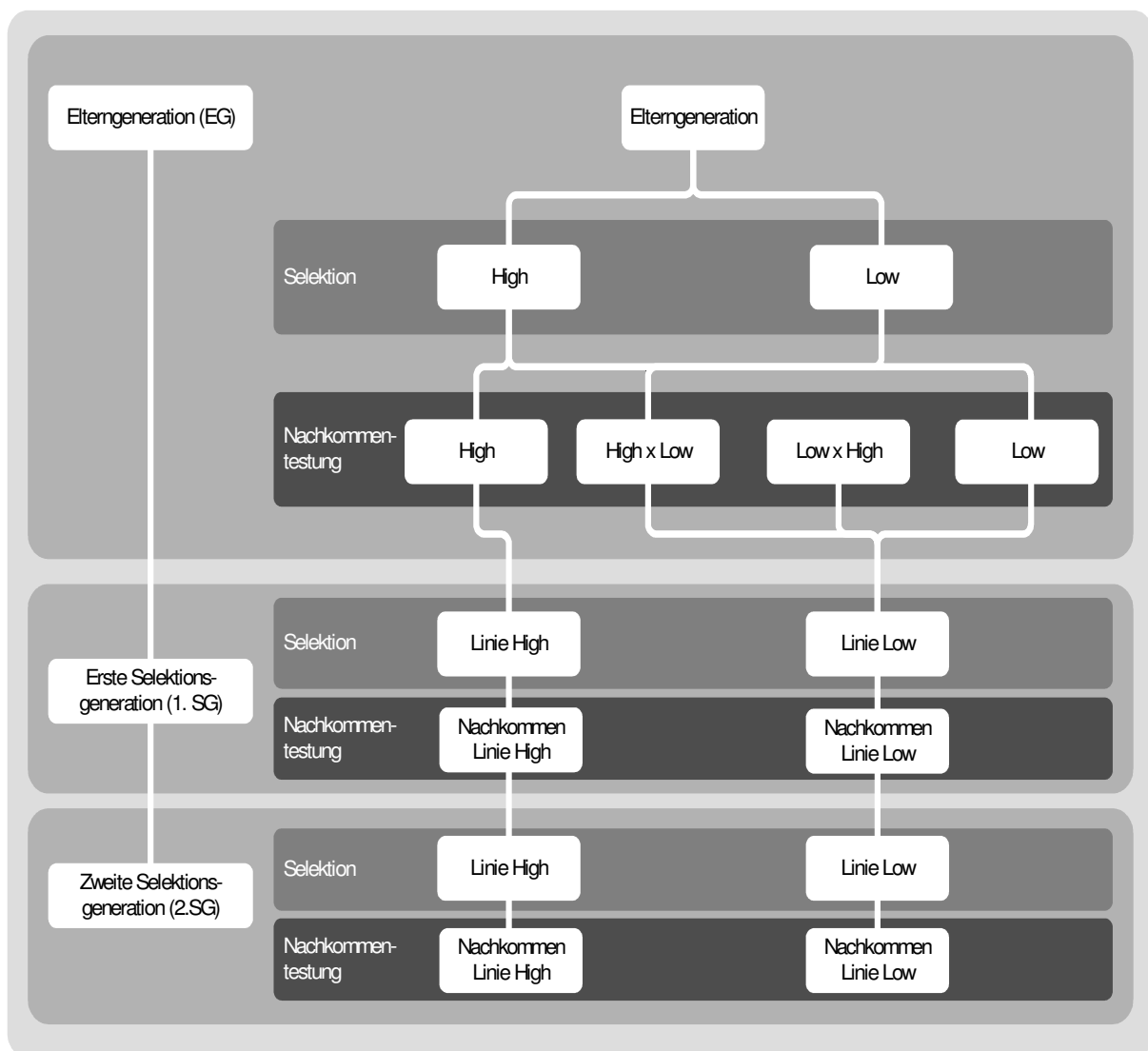


Abbildung 3.1: Versuchsschema des Selektionsexperiments

3.2.9.1 Testung der Elterngeneration

Die Elterngeneration bestand aus 36 Familien, die durch künstliches Abstreifen sukzessive erstellt wurden. Die Auswahl der Elterntiere erfolgte in Form einer zufälligen Stichprobe der Population Lake Manzala.

3.2.9.2 Testung der ersten Selektionsgeneration

Die hoch und schwach sensiblen Rogner und Milchner der ersten Selektionsgeneration wurden in der Form eines vollständigen Diallels angepaart. Dieses beinhaltete die Anpaarung aller Männchen und Weibchen beider Linien (High, Low) miteinander, mit Ausnahme der auf der Diagonalen befindlichen Vollgeschwisteranpaarungen. Dadurch konnte das Diallel in die folgenden vier Anpaarungskombinationen unterteilt werden: High-High, Low-Low, High-Low, Low-High. Dabei bezieht sich die hier erstgenannte Klasse High oder Low auf den Vater, die letztgenannte hingegen bezeichnet die Klassenzugehörigkeit der Mutter (siehe Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2: Diallel der ersten Selektionsgeneration

		Vater	
		High	Low
Mutter	High	High-High	High-Low
	Low	Low-High	Low-Low

3.2.9.3 Testung der zweiten Selektionsgeneration

Die zur Erstellung der hochsensiblen Linie selektierten Familien stammten ausschliesslich aus den Kontrollen der High-High Anpaarungen, während die zur Erstellung der Linie Low selektierten Familien aus den drei übrigen Anpaarungskombinationen ausgewählt wurden. In der zweiten Selektionsgeneration erfolgte jeweils für beide Linien eine separate Dialleltestung. Das erste Diallel beinhaltete die Testung

hochsensibler Väter mit hochsensiblen Müttern, während im zweiten Diallel schwach sensible Väter mit schwach sensiblen Müttern auf die Geschlechterverhältnisse in den Behandlungsgruppen geprüft wurden.

3.2.10 Erhobene Parameter

Zu den während der Versuchsperiode erfassten Daten gehörte die vom Beginn der Temperaturbehandlung bis zum Ende derselbigen dokumentierte Überlebensrate. Für das Selektionsexperiment wurde diese vom 9. bis zum 19. Tag ermittelt, wohingegen die Überlebensrate bei den Nachkommen der homozygot isogenen Linien, aufgrund der 30 tägigen Behandlungsdauer, am 9. und 39. Tag nach der Befruchtung festgestellt wurde. Des weiteren wurde die Überlebensrate vom Beginn der Behandlung (9.Tag) bis zum Tag der Geschlechtsbestimmung erfasst. In der weiteren Analyse sollen diese Variablen als Überlebensrate I (ÜR I) für den Versuchsabschnitt von Tag 9 bis Tag 19 und als Überlebensrate II (ÜR II) für den Versuchsabschnitt von Tag 9 bis zum Sexen bezeichnet werden.

Weiterhin erfolgte in den Versuchen die Erfassung der Geschlechterverhältnisse. Diese werden in der Analyse als relativer Anteil an Männchen in Prozentwerten angegeben. Die Selektionsdifferenzen (SD) in den Generationen wurden durch die Subtraktion des Populationsmittelwerts (\bar{x}_{Pop}) der Männchenanteile vom Mittel des Männchenanteils der als High oder Low selektierten Familien ($\bar{x}_{Sel.}$) errechnet

$$SD = \bar{x}_{Sel.} - \bar{x}_{Pop} \quad (\text{Gleichung 3.1})$$

In der ersten Selektionsgeneration wurden zunächst die Selektionsdifferenzen der Linie Low für alle Anpaarungskombinationen berechnet (Low-Low; High-Low; Low-High), um diese anschliessend über alle Kombinationen zu mitteln. Entsprechend wurde auch bei der Ermittlung des Selektionserfolgs der Linie Low in der ersten Selektionsgeneration verfahren. Der Selektionserfolg (ΔG) wurde aus der Differenz des Nachkommenmittels ($\bar{x}_{NK.}$) und dem Mittel der jeweiligen Elterngeneration (\bar{x}_E), für die Linien High und Low berechnet.

$$\Delta G = \bar{x}_{NK.} - \bar{x}_E \quad (\text{Gleichung 3.2})$$

Da nicht alle Eltern gleichmäßig viele Nachkommen zur folgenden Generation beitragen, musste eine Gewichtung der Leistung des Elternpaares gemäss seiner Nachkommenzahl durchgeführt werden. Diese Gewichtung bezog sich sowohl auf die Selektionsdifferenziale als auch den Selektionserfolg. Das gewichtete Selektionsdifferential (SD_r) wird als realisiertes oder beobachtetes Selektionsdifferential bezeichnet. Dementsprechend wird der gewichtete Selektionserfolg (ΔG_r) auch realisierter oder beobachteter Selektionserfolg genannt.

Das standardisierte Selektionsdifferential wird auch als Selektionsintensität (i) bezeichnet und wurde für die Linien High und Low aus dem Quotienten der gewichteten Selektionsdifferenz (SD_r) und der gewichteten Standardabweichung der Linienmittel (s_{Linie}) in jeder Generation berechnet.

$$i = \frac{SD_{r-high/low}}{s_{Linie}} \quad (\text{Gleichung 3.3})$$

Die realisierten Heritabilitäten (h_r^2) wurden aus den Quotienten aus realisiertem Selektionserfolg (ΔG_r) und realisierter Selektionsdifferenz (SD_r) geschätzt.

$$h_r^2 = \frac{\Delta G_r}{SD_r} \quad (\text{Gleichung 3.4})$$

Zur Berechnung der kumulierten realisierten Heritabilität erfolgte die Kumulation des Selektionserfolgs und der Selektionsdifferenz über alle Generationen, einschliesslich der Elterngeneration, um dann den Quotienten aus kumuliertem Selektionserfolg und kumulierter Selektionsdifferenz zu bilden.

Der Standardfehler der realisierten Heritabilität wurde aus dem Quotienten der Messfehlervarianz (σ_R^2), die sich weiter aus der Drift- (σ_d^2) und Fehlervarianz (σ_e^2) zusammensetzt, und dem kumulierten Selektionsdifferential berechnet. Die Messfehlervarianz errechnete sich approximativ anhand folgender Formel (FALCONER & MACKAY, 1996):

$$\sigma_R^2 = V_P \left(\frac{th_r^2}{N_e} + \frac{1}{M} \right) \quad (\text{Gleichung 3.5})$$

wobei:

- V_P =phänotypische Varianz
- t =Anzahl Generationen
- h^2 =realisierte Heritabilität
- N_e =effektive Populationsgrösse
- M =Anzahl Anpaarungen

Des weiteren wurde das von BULL et al. (1982) entwickelte Modell zur Schätzung der Heritabilität rein polygener Merkmale hier angewendet. Dieses Modell dient speziell der Schätzung der Heritabilität von Schwellenwertmerkmalen, denen eine kontinuierlich verteilte Variable (X) unterstellt wird. Daher unterliegen diesem Modell die folgenden Annahmen:

1. sämtliche genetische Varianz ist additiv (keine Dominanz, Epistasie, maternalen Effekte, Majorgene, geschlechtsgebundenen Gene)
2. das Geschlecht wird von vielen Loci mit kleinem Effekt bestimmt unabhängig von der elterlichen Herkunft dieser Allele

Im Falle der *tsd* ist der Schwellenwert die Behandlungstemperatur T . Jede Zygote besitzt einen bestimmten Wert x und wird männlich, wenn $x > T$. X beinhaltet folglich eine genetische als auch eine Umweltkomponente, mit der Heritabilität h_x^2 . Da die unterliegende kontinuierliche Variable x nicht direkt messbar war, musste die Korrelation der x -Werte aus den diskreten Beobachtungen (männlich $b=0$ und weiblich $b=1$) geschätzt werden. Die Korrelation der B -Werte ρ_B zwischen Verwandten wurde folgendermassen errechnet. Der Mittelwert der B -Werte ist gleich p , dem Populationsgeschlechterverhältnis mit der phänotypischen Varianz $p(1-p)$. Die Kovarianz der B -Werte konnte mit der Zwischengruppenvarianz σ_g^2 der Geschlechterverhältnisse gleichgesetzt werden:

$$\rho_B = \frac{\sigma_g^2}{p(1-p)} \quad (\text{Gleichung 3.6})$$

Die Zwischengruppenvarianz σ_g^2 für das Merkmal *tsd* konnte anhand folgender Formel bestimmt werden:

$$\sigma_g^2 = \left(\frac{S}{(f-1)} \right) \frac{n}{(n-1)} - \frac{p(1-p)}{(n-1)} \quad (\text{Gleichung 3.7})$$

wobei: Populationsmittel Geschlechterverhältnis: $p = \frac{1}{f} \sum_i p_i$

Summenquadratabweichungen $S = \sum_i (p_i - p)^2$

Anzahl Familien: f

Durchschnittliche Anzahl an Fischen in den Gelegen: n

Populationsgeschlechterverhältnis p

Phänotypische Varianz: $p(1-p)=$

Zwischengruppenvarianz: σ_g^2

Der sich aus Gleichung 3.7 ergebende Wert diene dann zur Berechnung der Korrelation ρ_B der B -Werte anhand von Gleichung 3.6. Im Anschluss daran konnte durch Interpolation die Korrelation der x -Werte in Abhängigkeit des Geschlechterverhältnis und der Korrelation der B -Werte (ρ_B) aus Tabelle 3.3 bestimmt werden.

Tabelle 3.3: Korrelation der x -Werte (ρ_x) in Abhängigkeit der b -Werte (ρ_B) und des Geschlechterverhältnisses

GV	ρ_x	.1	.2	.3	.4	.5
.1 / .9		.037	.080	.129	.186	.250
.2 / .8		.050	.104	.162	.225	.293
.3 / .7		.058	.119	.181	.247	.318
.4 / .6		.063	.126	.191	.259	.330
.5		.064	.126	.194	.262	.333

(GV=Geschlechterverhältnis: n Männchen/(n Männchen+ n Weibchen))

Die Heritabilität h_x^2 für die Variable x konnte dann für Vollgeschwister nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$h_x^2 = 2\rho_x \quad (\text{Gleichung 3.8})$$

3.2.11 Statistische Auswertung

Die Analyse der erhobenen Daten erfolgte mittels des Softwarepakets SPSS 11.5 für Windows.

Unterschiede zwischen den Überlebensraten I und II in den Kontroll- und Behandlungsgruppen wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse überprüft. Um gleichzeitig Differenzen zwischen den Behandlungsgruppen und den Generationen abzusichern wurden 2x2 Kontingenztafeln mit Chi-Quadrat Unabhängigkeitstest durchgeführt.

Die Geschlechterverhältnisse der Kontrollgruppen wurden anhand des Chi-Quadrat Goodness-of-Fit Test auf Abweichungen von einem Männchenanteil von 50% überprüft. Konnten statistisch signifikante Abweichungen festgestellt werden, gingen diese Gruppen (Kontroll- und Behandlungsgruppe) nicht in die Analyse ein. Unterschiede der Behandlungsgruppen zur entsprechenden Kontrolle wurden über 2x2 Kontingenztafeln mit anschliessendem Chi-quadrat Unabhängigkeitstest abgesichert. Unterschiede zwischen den Geschlechterverhältnissen wiederholt getesteter Anpaarungen wurden auf die gleiche Weise überprüft. Fishers Exakt Test (zweiseitig) wurde genutzt, um Unterschiede zwischen den Wiederholungen statistisch abzusichern. Die Testung der Geschlechterverhältnisse auf Normalverteilung in den Kontroll- und Behandlungsgruppen erfolgte mittels Kolmogorov-Smirnov Anpassungstest. Zur Varianzanalyse im Diallel der ersten Selektionsgeneration wurde ein lineares Modell mit den Faktoren Behandlung und Anpaarungskombination und deren Interaktion genutzt.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse

4.1.1 Deskriptive Statistik

Insgesamt wurden, wie in Tabelle 4.1 dargestellt, 166 Anpaarungen im Rahmen des Selektionsexperimentes erstellt. Die temperaturbehandelten Gruppen gingen dabei nur in die Auswertung mit ein, wenn sich in der Kontrollgruppe das Geschlechterverhältnis nicht signifikant von 1:1 unterschied (Chi-quadrat Goodness-of-Fit).

Tabelle 4.1: Ergebnisse der deskriptiven Auswertung des Selektionsexperimentes

	EG	1.SG	2.SG	Σ
n Anpaarungen	36	91	39	166
n Fische in den Kontrollen	2062	7919	2731	12712
n Fische in den Behandlungen	2165	8162	2868	12878
n Fische pro Kontrolle Durchschnitt	57	87	70	
n Fische pro Behandlung Durchschnitt	60	90	74	

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration)

Ausgehend von 36 Anpaarungen in der Elterngeneration wurden in der ersten Selektionsgeneration insgesamt 91 Anpaarungen erfolgreich durchgeführt und getestet. In der zweiten Selektionsgeneration wurden insgesamt 26 Vollgeschwistergruppen für die High-High Anpaarungen sowie 13 Low-Low Anpaarungen geprüft.

4.1.1.1 Überlebensraten

Wie in Tabelle 4.2 dargestellt, unterschieden sich die Überlebensraten der Fische vom 9. bis zum 19. Lebenstag in der 1. und 2. Selektionsgeneration nicht signifikant voneinander. Zwar konnten in den beiden Selektionsgeneration um 1-2% höhere Überlebensraten in den Kontrollgruppen beobachtet werden, diese Differenz war statistisch jedoch nicht abzusichern. Die Überlebensraten vom neunten bis zum 90. Tag dagegen waren tendenziell für die Behandlungsgruppen höher, aber auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Weiterhin wiesen die temperaturbehandelten Gruppen Standardabweichungen auf, die mit denen der Kontrollen vergleichbar waren.

Tabelle 4.2: Mittelwerte und Standardabweichungen (\pm) der Überlebensraten in Kontroll- und Behandlungsgruppen der ersten und zweiten Selektionsgeneration

Population	Überlebensrate I (9.-19. Tag) %		Überlebensrate II (9.-90. Tag) %	
	Kontrolle	Behandlung	Kontrolle	Behandlung
1.SG n=91	95,7 \pm 9,7	93,7 \pm 7,7	80,0 \pm 17,5	81,4 \pm 13,1
2.SG n=39	95,3 \pm 5,3	94,5 \pm 5,2	76,9 \pm 14,4	79,3 \pm 13,6

(1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration; Oneway Anova 1.SG ÜR I: $F=2,25$; $p=0,136$; 2.SG ÜRI: $F=0,42$; $p=0,520$; 1.SG ÜRII: $F=0,41$; $p=0,522$; 2.SG ÜRII: $F=0,54$; $p=0,467$; ÜR I Kontrolle: $F=0,53$; $p=0,818$; ÜR II Kontrolle: $F=0,918$; $p=0,340$; ÜR I Behandlung: $F=0,345$; $p=0,558$; ÜR II Behandlung: $F=0,749$; $p=0,389$)

4.1.1.2 Überlebensraten der Genotypen aus homozygot isogenen Linien

Insgesamt konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit 16 heterozygot isogene Prüfgruppen in der auf 30 Tage ausgeweiteten Temperaturbehandlung auf die Temperatursensibilität ihrer Geschlechtsausprägung getestet werden. Weiterhin wurden vier mittels meiotischer Gynogenese erstellte Nachkommengruppen der homozygot isogenen Linie II in der 30 tägigen Temperaturbehandlung geprüft.

Vor allem in den Kontrollgruppen der Klonkreuzungen waren die Überlebensraten vom neunten bis zum 90. Tag sehr unterschiedlich zwischen den einzelnen Linien-

kombinationen (siehe Tabelle 4.3). Mit etwa 77% waren diese in der Kombination der maternalen Linie I mit der paternalen Linie II am höchsten. Diese Anpaarung stellte auch mit insgesamt zehn erfolgreich aufgezogenen Prüfgruppen die grösste Anzahl an Fischen. Wie auch in den Selektionsexperimenten beobachtet, wurden im Vergleich zu den Werten in den Behandlungsgruppen deutlich höhere Überlebensraten von Tag 9 bis 90 in den Kontrollgruppen gefunden. Allerdings war, wie auch in den Kontrollgruppen, ein von der Kreuzung der Linien IxII hin zur Kreuzung der Linien VxII abnehmender Trend der Überlebensraten zu beobachten, wobei die Anzahl an Anpaarungen in den Kreuzungen der Linien IVxII und VxII mit $n=5$ respektive $n=1$ sehr gering war. Die Überlebensraten der meiotisch gynogenetisch erstellten Nachkommenschaften der homozygot isogenen Elternlinie II unterschieden sich im Mittel über die Anpaarungen signifikant zwischen Kontrolle und Behandlung ($p<0,001$). Aus insgesamt vier auf Kontroll- und Behandlungsgruppen aufgeteilten Gelegen konnten aus den temperaturbehandelten Gruppen lediglich 6 Tiere der Bestimmung des Geschlechts unterzogen werden.

Tabelle 4.3: Anzahl an Fischen, Mittelwerte und Standardabweichungen (\pm) der Überlebensraten (ÜR) von Tag 9–90 in den Klonkreuzungen und meiotisch gynogenetisch erstellten Prüfgruppen

Klonlinie		Kontrolle		Behandlung		Anpaarungen
Mutter	Vater	n gesext	ÜR [%]	n gesext	ÜR [%]	n
I	II	497	76,4 \pm 26,9	739	83,3 \pm 14,6	10
IV	II	184	63,6 \pm 20,7	315	74,3 \pm 15,3	5
V	II	13	40,0 \pm 0,0	19	72,7 \pm 0,0	1
II	--	154	67,8 \pm 37,4	6	8,9 ^c \pm 7,5	4

(^c=signifikant verschieden von der Kontrolle $p<0,001$)

4.1.1.3 Test der temperaturabhängigen Geschlechterverhältnisse auf Normalverteilung

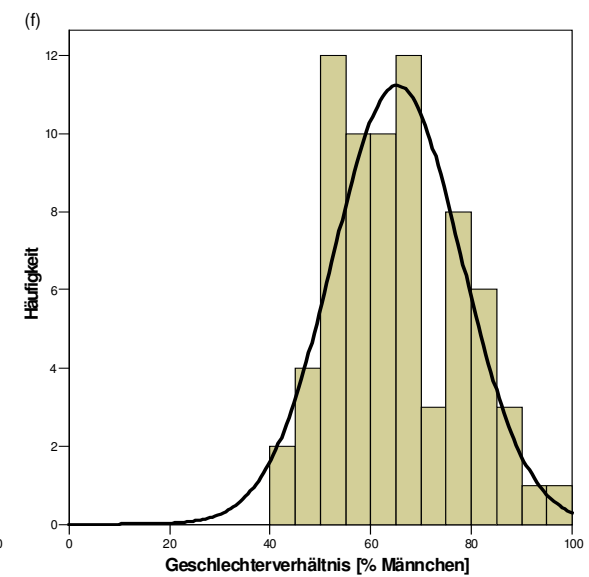
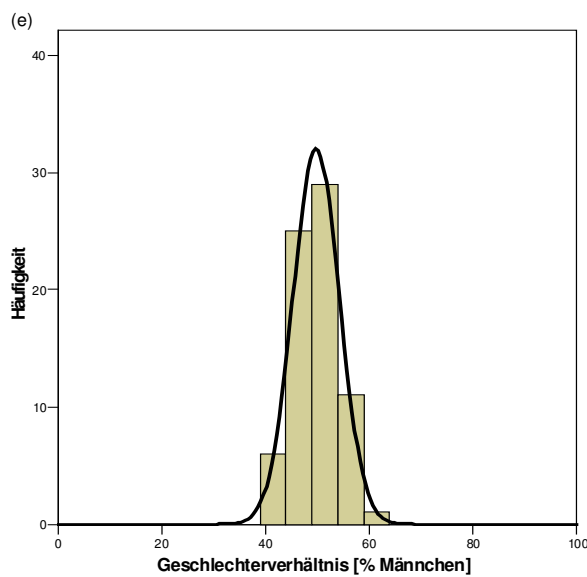
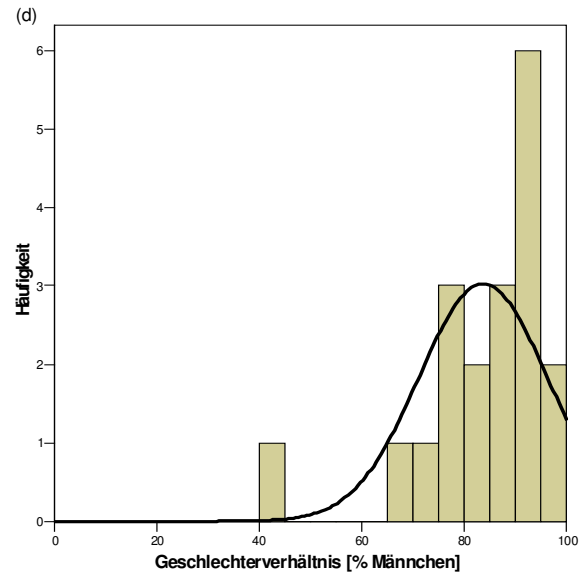
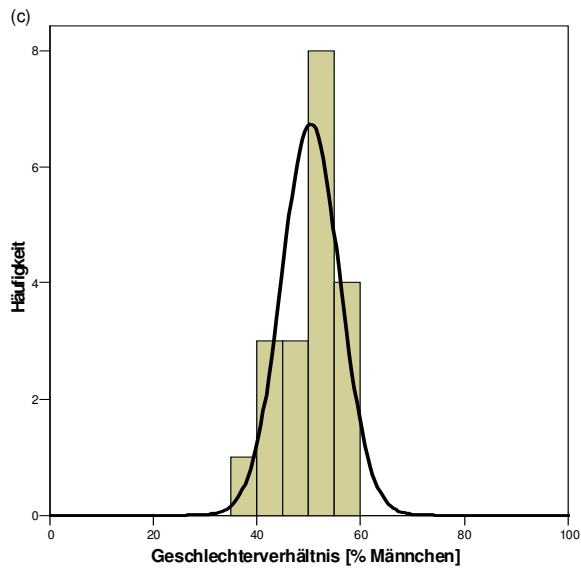
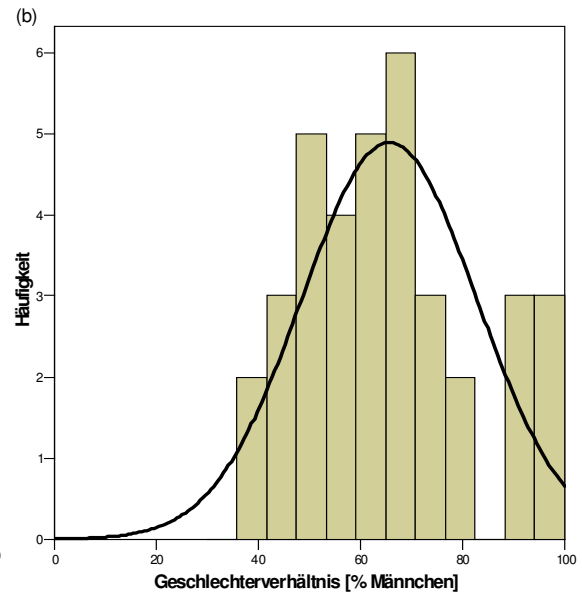
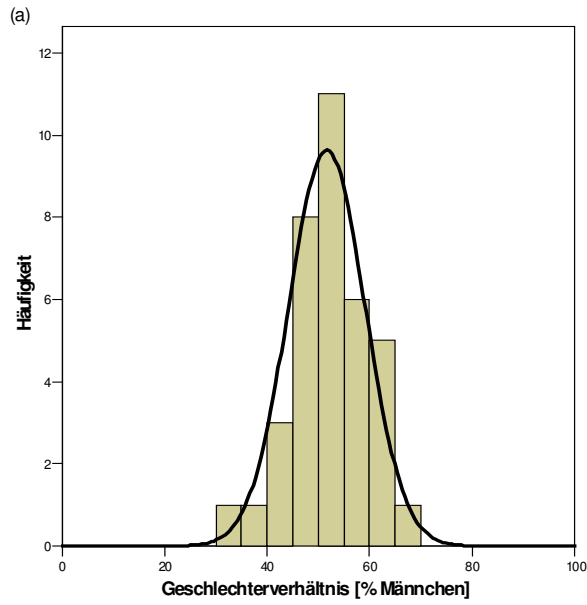
Die Testung des Männchenanteils in Behandlungs- und Kontrollgruppen mittels Kolmogorov-Smirnov (K-S) Anpassungstest ergab eine Normalverteilung der Variablen. In Tabelle 4.4 sind die für die Beurteilung des K-S Tests notwendigen Parameter dargestellt. Jedoch wurden deutliche Differenzen hinsichtlich der Standardabweichungen zwischen Kontroll- und Behandlungsgruppen beobachtet.

Tabelle 4.4: Ergebnisse des Kolmogorov-Smirnov (K-S) Anpassungstests für die durchschnittlichen Männchenanteile in den Kontroll- und Behandlungsgruppen der Linien High und Low in der jeweiligen Generation

		EG	1.SG	2.SG
Kontrolle	% Männchen	51,6 ± 7,4	49,9 ± 4,7	49,8 ± 6,5
	K-S Z	0,543	0,527	0,441
	Asymp. Sign. <i>p</i>	0,930	0,944	0,990
	Kontingenzintervall 95%	49,2-54,2	48,9-50,9	47,7-51,9
	<i>SE</i>	1,3	0,5	1,0
Behandlung	% Männchen	65,6 ± 17,1	69,1 ± 14,7	77,8 ± 19,3
	K-S Z	0,671	0,753	1,125
	Asymp. Sign. <i>p</i>	0,758	0,622	0,159
	Kontingenzintervall 95%	59,8-71,4	66,1-72,2	71,5-84,1
	<i>SE</i>	2,9	1,5	3,1

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration; K-S Z=Kolmogorov-Smirnov Z-Wert; *SE*=Standardfehler; ± =Standardabweichung)

Besonders wird dies in der graphischen Gegenüberstellung der Geschlechterverhältnisse getrennt für die Kontroll- und Behandlungsgruppe deutlich (siehe Abbildung 4.1).



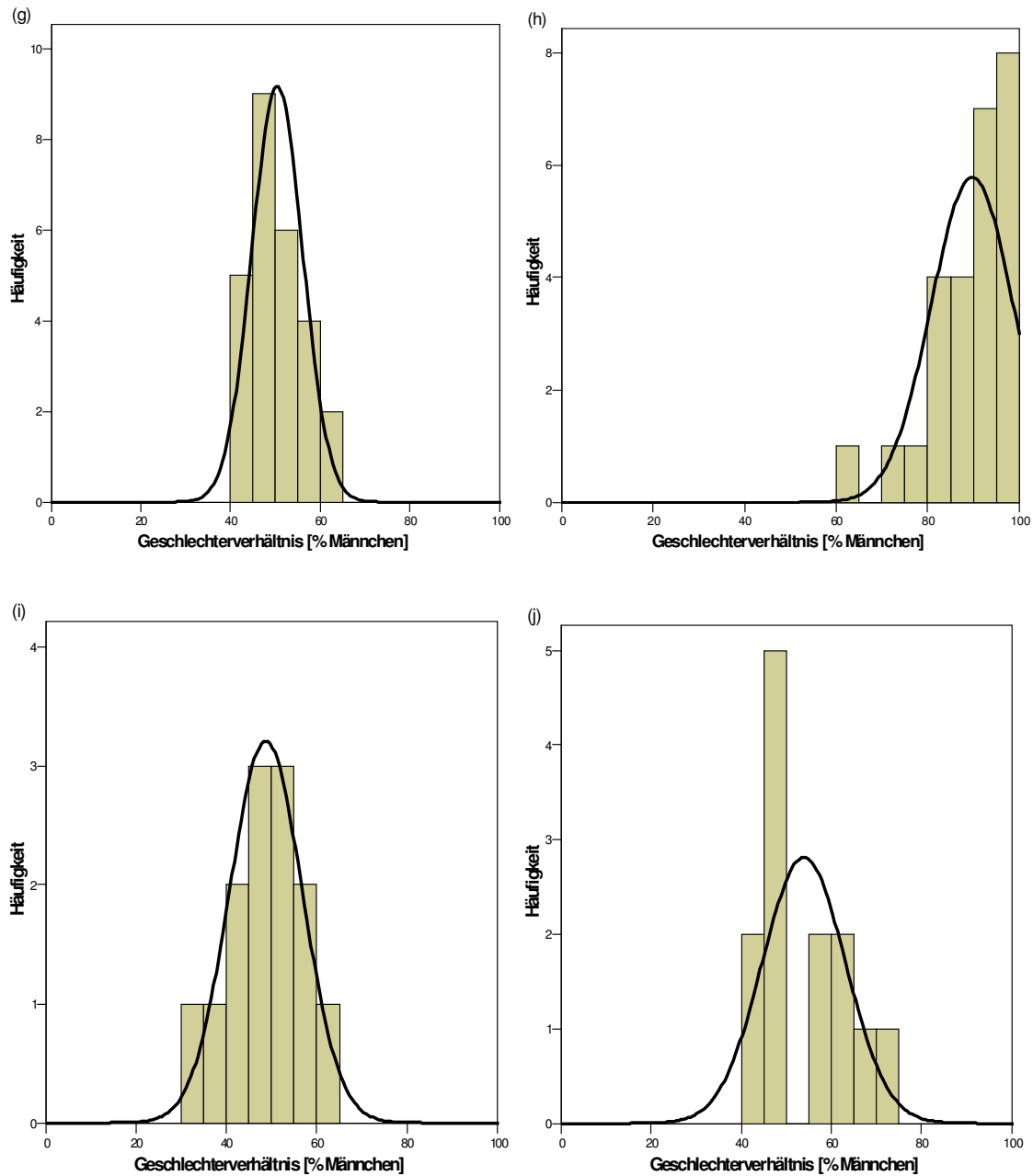


Abbildung 4.1: Histogramme der Geschlechterverhältnisse in den Kontroll- und Behandlungsgruppen der Elterngeneration (a,b), der Linie High der ersten Selektionsgeneration (c,d), der Linie Low der ersten Selektionsgeneration (e,f), der Linie High (g,h) und Low (i,j) der zweiten Selektionsgeneration

Die in Abbildung 4.1 dargestellten Normalverteilungskurven für die Kontroll- und Behandlungsgruppe konnten durch unterschiedliche Mittelwerte und Standardabweichungen beschrieben werden. Das Populationsmittel der behandelten Gruppen in der Elterngeneration war um 14 Prozentpunkte höher als in der entsprechenden Kon-

trolle. Gleichzeitig erhöhte sich auch die Standardabweichung um den Faktor 2,3 im Vergleich zur Standardabweichung in der korrespondierenden Kontrolle.

Ähnliche Werte ergaben sich auch für die erste und zweite Selektionsgeneration, in denen jeweils die Mittel der Normalverteilungskurven der Behandlungsgruppen deutlich in Richtung höherer Männchenanteile verschoben waren (1. SG $\Delta=19,1\%$; 2.SG $\Delta=39,3\%$). Auch die Variabilität der Geschlechtsausprägung änderte sich erheblich unter der von Tag 9 bis 19. erhöhten Aufzuchttemperatur von 36°C . Während sich die Standardabweichung in der Behandlungsgruppe der ersten Selektionsgeneration um den Faktor 3,1 gegenüber der Kontrollgruppe erhöhte, war in der 2. Selektionsgeneration nur eine Verdopplung (Faktor 1,9) der Standardabweichung gegenüber der Kontrollgruppe zu beobachten.

4.1.1.4 Wiederholbarkeit

Insgesamt sechs der in der ersten Selektionsgeneration erstellten High-High Anpaarungen wurden sukzessive zweimal erstellt und in der Temperaturbehandlung getestet. Die in den Kontroll- und Behandlungsgruppen maximal beobachteten Abweichungen zwischen den Wiederholungen, in positiver als auch in negativer Richtung, betragen $-7,6$ bzw. $6,2\%$. Die durchschnittliche Differenz zwischen den Geschlechterverhältnissen der Wiederholungen in den Kontroll- und Behandlungsgruppen war mit $-1,2\%$ bzw. $1,4\%$ sehr gering. Wie aus Tabelle 4.5 ersichtlich, wiesen die Geschlechterverhältnisse nur geringe Differenzen zwischen den Wiederholungen auf.

Tabelle 4.5: Männchenanteile wiederholt getesteter Anpaarungen in den Kontrollen und Behandlungen der ersten Selektionsgeneration

An- paarung	Wdh.	Beh.	n Männchen	n Weibchen	% Männchen	Differenz
1	1	K	45	46	49,5	3,8
1	2	K	37	44	45,7	
1	1	T	59	13	81,9	6,2
1	2	T	56	18	75,7	
2	1	K	27	29	48,2	0,4
2	2	K	22	24	47,8	
2	1	T	46	4	92,0	2,3
2	2	T	52	6	89,7	
3	1	K	50	49	50,5	1,8
3	2	K	37	39	48,7	
3	1	T	54	2	96,4	1,3
3	2	T	58	3	95,1	
4	1	K	14	19	42,4	-7,6
4	2	K	17	17	50,0	
4	1	B	77	11	87,5	-3,2
4	2	B	78	8	90,7	
5	1	K	43	37	53,8	-5,7
5	2	K	44	30	59,5	
5	1	B	91	6	93,8	4,1
5	2	B	26	3	89,7	
6	1	K	53	40	57,0	-0,1
6	2	K	4	3	57,1	
6	1	B	70	7	90,9	-2,3
6	2	B	69	5	93,2	
Durchschnittliche Abweichung in den Kontrollen						-1,2
Durchschnittliche Abweichung in den Behandlungen						1,4

(Wdh.=Wiederholung; Beh.=Behandlung; K=Kontrolle 28°C; B=Behandlung 36°C; Differenz= Geschlechterverhältnis Wiederholung 1 – Geschlechterverhältnis Wiederholung 2, jeweils getrennt nach Anpaarung für Kontrolle und Behandlung)

Auch die in Tabelle 4.6 wiedergegebene Kreuzklassifikation zur Feststellung von Interaktionen zeigte, dass sich die Geschlechterverhältnisse der wiederholt getesteten Anpaarungen nicht signifikant voneinander unterschieden (Kontrolle: $\chi^2=0,515$; Fishers Exakt Test $p=0,492$; Behandlung: $\chi^2=0,515$; Fishers Exakt Test $p=0,292$).

Tabelle 4.6: Kreuzklassifikation der wiederholt erstellten Gelege und des Geschlechts (männlich, weiblich) der Fische, getrennt nach Behandlung (Werte in den Zellen = Summe der Fische aller Anpaarungen n=6)

	Wdh.	Geschlecht		Gesamt
		Männlich	Weiblich	
Kontrolle	1	362	331	693
	2	247	272	546
	Gesamt	636	603	1239
Behandlung	1	624	88	712
	2	523	88	611
	Gesamt	1147	176	1323

(Wdh.=Wiederholung)

4.1.1.5 Anteile selektierter Familien in den Generationen

Aufgrund der unterschiedlichen Anzahlen verfügbarer Familien variierten die Anteile selektierter Familien sehr stark in Abhängigkeit von der Linie und der Generation (siehe Tabelle 4.7).

Tabelle 4.7: Anteile und Anzahlen hochsensibler und schwachsensibler, selektierter Familien in den Anpaarungskombinationen der Generationen

	n	n	%	n	%
	Gesamt	Selektiert High	Selektiert High	Selektiert Low	Selektiert Low
EG	36	5	13,9	6	16,7
1.SG	91	-	-	-	-
High♂-High♀	19	12	63,2	0	0,0
Low♂-Low♀	25	0	0,0	2	8,0
High♂-Low♀	25	0	0,0	2	8,0
Low♂-High♀	22	0	0,0	1	4,5
2.SG	39	-	-	-	-
High♂-High♀	26	8	30,7	0	0,0
Low♂-Low♀	13	0	0,0	8	61,5

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration)

In der Elterngeneration war der Prozentsatz selektierter Familien für die Erstellung der High und Low Linie mit 14% bzw. 17% vergleichbar. In der 1. Selektionsgeneration ergaben sich jedoch deutliche Unterschiede zwischen den selektierten Linien mit 63% in der High Linie und 7% in der Low Linie. Mit 8 Familien, die über 95% Prozent Männchen in den getesteten Nachkommenschaften aufwiesen, konnten insgesamt 31% der Nachkommengruppen der zweiten Selektionsgeneration in der High Linie selektiert werden. In der schwach sensiblen Linie wurden 8 von insgesamt 13 Familien, also 61,5%, selektiert.

4.1.1.6 Männchenanteile in den Generationen

Wie in Tabelle 4.8 dargestellt, lag in den Behandlungsgruppen der Elterngeneration ein Männchenanteil von durchschnittlich $65,6\% \pm 17,1$ vor. Die Elterngeneration zeigte im Vergleich der Selektionsgenerationen die grösste Standardabweichung bezogen auf das Geschlechterverhältnis in den temperaturbehandelten Gruppen.

Tabelle 4.8: Männchenanteile in den Anpaarungskombinationen der Selektionsgenerationen

	Männchenanteil [%]				
	Population	High♂- High♀	Low♂- Low♀	High♂- Low♀	Low♂- High♀
EG [36°C]	65,6 ± 17,1				
EG [28°C]	51,6 ± 7,4				
n	36				
1.SG [36°C]		83,7 ± 12,5	62,3 ± 12,5	60,1 ± 9,7	74,5 ± 11,6
1.SG [28°C]		50,3 ± 5,6	50,0 ± 3,6	50,5 ± 5,1	48,8 ± 4,7
n		19	25	25	22
2.SG [36°C]		89,7 ± 8,9	53,9 ± 9,2		
2.SG [28°C]		50,4 ± 5,7	48,7 ± 8,1		
n		26	13		

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration)

Bei Gegenüberstellung der vier Anpaarungskombinationen in der 1. Selektionsgeneration wird eine starke Heterogenität der Männchenanteile deutlich. Wie aus Tabelle 4.9 ersichtlich, hatte die Einteilung der selektierten Eltern in die Klassen High und Low und deren gezielte Anpaarung in Diallelform (Anpaarungskombinationen: High x High, Low x Low, High x Low, Low x High) einen signifikanten Einfluss auf den Männchenanteil in den Behandlungsgruppen.

Tabelle 4.9: Ergebnisse der Varianzanalyse mit den Faktoren Behandlung und Anpaarungskombination auf die Geschlechterverhältnisse in der ersten Selektionsgeneration

Variationsursache	<i>Df</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Behandlung	1	18392,2	18392,2	234,6	0,001
Anpaarungskombination	3	3788,3	1262,7	16,1	0,001
Beh.*Anp.	3	4140,4	1380,1	17,6	0,001
Fehlervarianz		13642,0			

(*Df*=Freiheitsgrade; *SQ*=Summenquadrate; *MQ*=Mittlere Quadratsumme; *F*=F-Wert; *p*=Signifikanzniveau)

In der 1. Selektionsgeneration waren die High-High Anpaarungen mit 84% Männchenanteil in den Temperaturbehandlungen, wie erwartet, wesentlich stärker sensibel als die übrigen Anpaarungskombinationen. Low-Low Anpaarungen zeigten ebenfalls gemäss der Erwartungen nur eine schwache Sensibilität, wohingegen die Geschlechterverhältnisse der Low-High Anpaarungen erwartungsgemäss im intermediären Bereich lagen. Die Anpaarungen der Kategorie High-Low hingegen sprachen mit einem Männchenanteil von 60% am schwächsten auf die Temperaturbehandlung an, obwohl zumindest die in den Anpaarungen genutzten Väter zuvor als hochsensibel klassifiziert wurden.

Wie in Abbildung 4.2 dargestellt, erreichten 42% aller High-High Anpaarungen ($n=19$) einen Wert von mehr als 90% Männchen in den behandelten Gruppen. Weitere 47% entfielen auf den Bereich von 70-90% Männchen. Nur ein Gelege wies einen Männchenanteil von weniger als 50% auf, was vermutlich trotz der Klassifikation beider Elterntiere als hoch sensibel, auf Kombinationseffekte zurückzuführen sein könnte. Obwohl 84% der Low-Low Anpaarungen im Bereich von 40-70% Männchen lagen, konnten weitere 16% oberhalb der Schwelle von 70% Männchenanteil beobachtet

werden. Die Verteilung der High-Low Anpaarungen glich sehr stark derjenigen der Low-Low Anpaarungen, wobei jedoch keine dieser Familien Männchenanteile von mehr als 70% aufwies. High-Low Anpaarungen zeigten im Gegensatz zu Low-High Anpaarungen mit 41% der Anpaarungen im Bereich von 80-100% Männchen auch sehr hohe Anteile stark sensibler Familien. Die restlichen 59% der Anpaarungen entfielen entsprechend der Erwartungen auf die intermediären Kategorien von 50-70% Männchen.

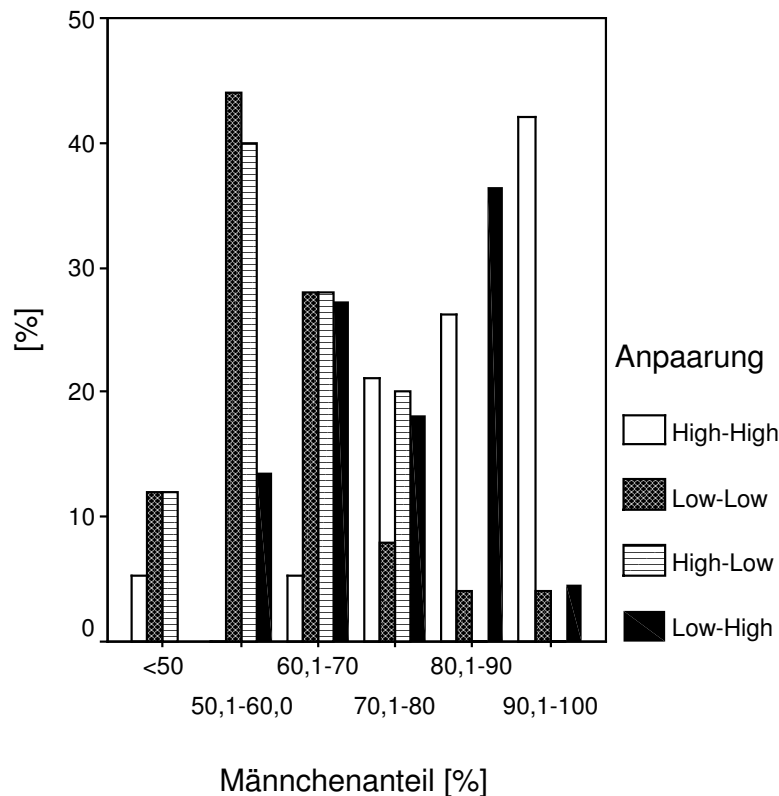


Abbildung 4.2: Verteilung der Männchenanteile in den Behandlungsgruppen der verschiedenen Anpaarungskombinationen in der ersten Selektionsgeneration

Die Nachkommen der 2. SG zeigten tendenziell höhere Sensibilitäten in den High-High Anpaarungen als in der 1. SG. Entsprechend zeichnete sich eine starke Abnahme der Sensibilität in den Low-Low Anpaarungen ab. Abbildung 4.3 stellt den Selektionserfolg in Form einer deutlichen Verschiebung der Verteilung in Richtung höherer Männchenanteile für die Linie High und niedriger Männchenanteile für die Linie Low dar. Bereits nach zwei Generationen erhöhte sich der Anteil von Anpaarungen mit Geschlechterverhältnissen von über 90% von 14% über 42% in der ersten Selekti-

onsgeneration auf über 67% in der zweiten Selektionsgeneration. In der Linie Low war dieser Effekt in der entgegengesetzten Richtung zu verzeichnen.

In den Behandlungsgruppen der ersten Selektionsgeneration erhöhte sich vor allem der Anteil an Familien mit Männchenanteilen von 50-60%, während sich der relative Anteil Familien mit Männchenanteilen von 90-100% gegenüber der Ausgangspopulation signifikant verringerte. Dieser Trend setzte sich in der zweiten Selektionsgeneration fort, hier zeigten 75% aller geprüften Familien Männchenanteile von 50-60%.

Einhergehend mit der Selektion konnte auch eine deutliche Abnahme der Standardabweichung und damit der Variabilität des Merkmals *tsd* beobachtet werden. So war die Standardabweichung in den High-High Anpaarungen der ersten Selektionsgeneration um etwa 30% höher als in der 2. Selektionsgeneration. In der abwärts gerichtet selektierten Low-Linie kam es von der ersten bis zur zweiten Selektionsgeneration entsprechend zu einer 24%igen Reduktion der Standardabweichung für das betrachtete Merkmal *tsd*.

Trotz zwei Generationen Selektion konnte weder eine Veränderung des Populationsmittels noch eine Beeinflussung der Variabilität der Geschlechterverhältnisse in den Kontrollgruppen beobachtet werden (siehe Tabelle 4.8).

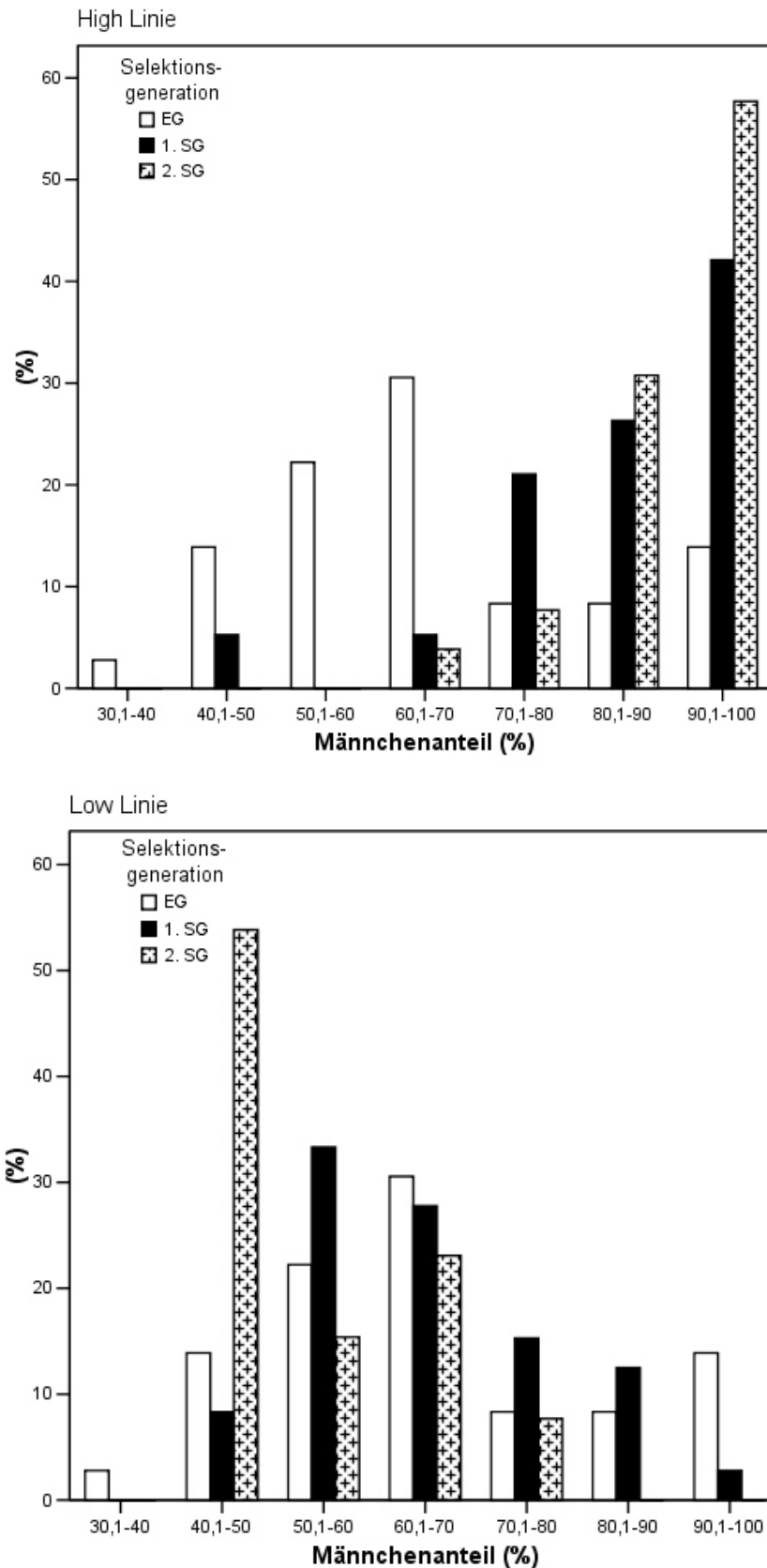


Abbildung 4.3: Verteilung der Geschlechterverhältnisse auf zehn Klassen von 0-100% Männchen für die Linie High (a) und Low (b) (nicht besetzte Klassen nicht aufgeführt)

4.1.1.7 Männchenanteile in Nachkommenschaften verschiedener Genotypen aus homozygot isogenen Linien

Weder Kreuzungen der homozygot isogenen, genetisch rein weiblichen Linien IxII, VlxII und VxII noch Gruppen meiotisch gynogenetisch reproduzierter Weibchen der Linie II wiesen männliche Tiere trotz Ausweitung der Behandlungsdauer in den temperaturbehandelten Gruppen auf (siehe Tabelle 4.10).

Die Überlebensraten in den Kontrollgruppen waren im Durchschnitt 9,7% niedriger als in den Behandlungsgruppen. Daher konnten Mortalitäten in den behandelten Gruppen als Ursache für das Ausbleiben von Männchen ausgeschlossen werden. Ebenso wenig konnte die während des Versuchszeitraumes erreichte Wärmesumme bzw. die Variation der Behandlungstemperatur als Ursache angesehen werden, da während des gesamten Versuchszeitraumes sich die Temperaturen konstant im Bereich von $36\pm 0,5^\circ\text{C}$ bewegten, womit auch, durch die Ausweitung der Behandlungsdauer von 10 auf 30 Tage, die Wärmesumme um ein dreifaches höher war als noch in den Vorversuchen.

Tabelle 4.10: Männchenanteile in den Kreuzungen der verschiedenen homozygot isogenen Linien sowie in gynogenetisch erzeugten Prüfgruppen

Klonlinie		Kontrolle		Behandlung	
Mutter	Vater	n gesext	[% Männchen]	n gesext	% [Männchen]
I	II	497	0	739	0
IV	II	184	0	315	0
V	II	13	0	19	0
II *	--	154	0	6	0

(* = Gynogenetisch erstellte Prüfgruppen)

4.1.2 Genetische Parameter

4.1.2.1 Effektive Populationsgrösse und Inzuchtsteigerungsrate

Im Mittel der Linien High und Low betrug die Inzuchtsteigerungsrate pro Generation (ΔF) 2,2% bzw. 2,6%. Somit wurden die Linien High und Low in etwa gleich stark ingezüchtet. In der ersten Selektionsgeneration wurde zur Erstellung der High Linie eine verhältnismässig geringe Anzahl an Elterntieren eingesetzt. Dadurch war die Inzuchtsteigerungsrate mit $\Delta F=3,9$ relativ hoch. In der Linie Low der ersten Selektionsgeneration war eine breitere Basis an Laichfischen vorhanden. Diese schlug sich in einer im Vergleich zur High-Linie deutlich geringeren Inzuchtsteigerungsrate nieder (ΔF Low=2,1 vs. ΔF High=3,9). In der zweiten Selektionsgeneration wurde in der Low-Linie eine Inzuchtsteigerungsrate von 5% dokumentiert. Der in der High-Linie der zweiten Selektionsgeneration festgestellte Wert war im Vergleich der Linien mit einer Differenz von 2,9% deutlich niedriger.

Tabelle 4.11: Effektive Populationsgrösse (N_e) und Inzuchtsteigerungsrate (ΔF) in Abhängigkeit der Anzahl (n) an Müttern, Vätern in den Linien High und Low

		Väter	Mütter		
Population		n	n	N_e	ΔF
EG	Gesamt	36	36	72,0	0,7
1.SG	High	5	9	12,9	3,9
2.SG	High	12	12	24,0	2,1
Mittel	Linie High	-	-	36,3	2,2
EG	Gesamt	36	36	72,0	0,7
1.SG	Low	9	18	24,0	2,1
2.SG	Low	5	5	10,0	5,0
Mittel	Linie Low	-	-	35,3	2,6

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration)

4.1.2.2 Selektionsdifferenzen

In Tabelle 4.12 sind die Mittel der selektierten Elterntiere im Vergleich zum entsprechenden Gesamtmittel dargestellt.

Tabelle 4.12: Mittel und Standardabweichungen (\pm) der Geschlechterverhältnisse in den Kontrollen und Behandlungen der selektierten Familien der Linien High und Low im Vergleich zum entsprechenden Gesamtmittel

Generation		Männchenanteil [%]			
		High	High _{Sel.}	Low	Low _{Sel.}
EG	Behandlung	65,6 \pm 17,1	84,0 \pm 18,8	65,6 \pm 17,1	63,2 \pm 11,6
	Kontrolle	51,6 \pm 7,5	49,5 \pm 1,7	51,6 \pm 7,5	54,2 \pm 7,2
n		36	5	36	6
1.SG	Behandlung	83,7 \pm 12,5	89,2 \pm 5,8	65,2 \pm 12,8	54,3 \pm 11,7
	Kontrolle	50,4 \pm 5,6	53,1 \pm 4,2	49,8 \pm 4,5	51,5 \pm 3,9
n		19	12	72	5
2.SG	Behandlung	89,7 \pm 8,9	97,8 \pm 2,0	53,9 \pm 9,2	48,9 \pm 5,7
	Kontrolle	50,4 \pm 5,7	51,0 \pm 6,0	48,7 \pm 8,1	48,1 \pm 9,6
n		26	8	13	8

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration; _{Sel.} = Selektiert)

Auffällig war besonders die in der Elterngeneration nach Gleichung 3.1 berechnete Selektionsdifferenz ($\Delta=18,4\%$) zwischen den selektierten Eltern für die Linie High und dem Gesamtmittel der Elterngeneration. In der ersten Selektionsgeneration betrug die Selektionsdifferenz 5,5%, womit sie mit derjenigen der zweiten Selektionsgeneration vergleichbar war (siehe Tabelle 4.13). Gründe für die in der ersten und zweiten Selektionsgeneration niedrigeren Selektionsdifferenzen waren in dem hohen Anteil selektierter sensibler Familien zu sehen. In der Low-Linie war zunächst die in der Ausgangspopulation gemessene Selektionsdifferenz mit lediglich $-2,4\%$ sehr gering. In der 1. Selektionsgeneration wurde aufgrund der scharfen Selektion (5 aus 72 An-

paarungen=7%) eine mit $-11,8\%$ wesentlich höhere Selektionsdifferenz erzielt. In der nächsten Generation (2.SG) wurde dann mit $5,0\%$ ein deutlich geringeres Selektionsdifferential erreicht.

Tabelle 4.13: Erwartete und Realisierte Selektionsdifferentiale (*SD*) in den Kontroll- und Behandlungsgruppen der Linien High und Low

Behandlung	Linie	Generation	<i>SD</i> % Männ-	<i>SD</i> % Männ-	Quotient
			Erwartet	Realisiert	
Kontrolle	High	EG	-2,1	-1,9	0,90
		1.SG	2,7	2,6	0,96
		2.SG	0,6	-0,3	0,50
		kumuliert	1,2	0,4	0,33
Behandlung	High	EG	18,4	16,4	0,89
		1.SG	5,5	5,9	1,07
		2.SG	8,1	8,9	1,10
		kumuliert	32,0	31,3	0,98
Kontrolle	Low	EG	2,6	1,7	0,65
		1.SG	1,7	0,3	0,17
		2.SG	-0,6	0,2	0,37
		kumuliert	3,7	2,2	0,59
Behandlung	Low	EG	-2,4	-2,6	1,08
		1.SG	-11,8	-12,1	1,03
		2.SG	-5,0	-5,3	1,06
		kumuliert	-19,2	-20	1,04

(In Klammern=Werte nur über die Eltern- und erste Selektionsgeneration; EG=Elterngeneration; 1.SG=erste Selektionsgeneration; 2.SG=zweite Selektionsgeneration)

In den Kontrollen waren die Mittelwerte und Standardabweichungen der selektierten Familien mit denjenigen der Population vergleichbar. Somit waren auch die gewichteten kumulierten Selektionsdifferentiale der Linien High und Low in den Kontrollgruppen mit $0,4$ bzw. $2,2\%$ sehr gering. Der Quotient aus der kumulierten realisierten und erwarteten Selektionsdifferenzen betrug $0,33$ in der Linie High. In der Linie Low waren die berechneten Selektionsdifferentiale insgesamt sehr niedrig. Aufgrund dessen

resultierten hier grössere Unterschiede zwischen erwartetem und realisiertem Selektionsdifferential, so dass der Quotient bei einem Wert von 0,41 lag. Der Quotient aus der realisierten und der erwarteten Selektionsdifferenz in den Behandlungsgruppen der Linie High zeigte eine leicht steigende Tendenz ausgehend von der Elterngeneration über die ersten zwei Selektionsgenerationen (EG=0,89, 1.SG=0,96, 2. SG=1,10). Die Kumulation der Selektionsdifferenziale über die Generationen ergab jedoch ein ausgeglichenes Verhältnis der erwarteten und realisierten Werte. In den Behandlungsgruppen der Low Linie wurde keine Erhöhung des realisierten gegenüber dem erwarteten Selektionsdifferential über die Generationen festgestellt. Beobachtete Schwankungen zwischen den Generationen waren marginal.

4.1.2.3 Selektionsintensitäten und -erfolge

Wie in Tabelle 4.14 zu sehen, gab es trotz ähnlicher Anteile (p) selektierter Familien in der Elterngeneration in der High und Low Linie deutlich unterschiedliche Selektionsintensitäten (berechnet nach Gleichung 3.3). Obwohl für die Erstellung der Linie High um nur 4 Prozentpunkte schärfer selektiert wurde, war die Selektionsintensität in der High-Linie der Elterngeneration um den Faktor acht erhöht. In der Folgegeneration wurden in der Low-Linie nur 7% der Familien selektiert, was zu einer Verdoppelung der Selektionsintensität gegenüber der High-Linie führte. In der zweiten Selektionsgeneration steigerte sich die Selektionsintensität entsprechend der schärferen Selektion, wohingegen sich in der Low-Linie ein gegenteiliger Effekt einstellte.

Tabelle 4.14: Beobachteter Selektionserfolg (ΔG) in Abhängigkeit des Anteils selektierter Familien in den Linien High und Low

Generation	Anteil p selektierter Familien		Selektionsintensität ($i=SD/s$)		Beobachteter Selektionserfolg ΔG (% Männchen)	
	High	Low	High	Low	Linie High	Linie Low
EG	0,13	0,17	1,08	0,14	18,1	-3,3
1.SG	0,63	0,07	0,44	0,89	6,0	-11,3
2.SG	0,31	0,62	0,91	0,54	--	--

(s =Standardabweichung des jeweiligen Linienmittels; SD =Selektionsdifferential der jeweiligen Linie)

Insgesamt wurde ein signifikanter Effekt der Anteile selektierter Familien auf den Selektionserfolg, der nach Gleichung 3.2 bestimmt wurde, deutlich. In der Linie High der Elterngeneration bedingte die hohe Selektionsintensität einen sehr hohen Selektionserfolg ($\Delta G=18,1\%$), wohingegen in der Low-Linie durch die geringe Selektionsintensität nur ein Selektionserfolg von $\Delta G=-3,3\%$ resultierte. In der Folgegeneration ergab sich ein gegenteiliger Effekt. Hier bewirkte die in etwa doppelt so hohe Selektionsintensität (im Vergleich zur High-Linie) in Verbindung mit der hohen phänotypischen Standardabweichung fast eine Verdopplung des Selektionserfolgs.

4.1.2.4 Realisierte Heritabilität

Die realisierten Heritabilitäten der Linien als Quotient der gewichteten, kumulierten Werte des realisierten Selektionserfolgs und der realisierten Selektionsdifferenz (siehe Gleichung 3.4), lagen in beiden Linien mit $h^2_R=0,68$ (Linie High) und $h^2_R=0,69$ (Linie Low) auf hohem Niveau (siehe Tabelle 4.15). Der Vergleich der erwarteten mit den realisierten Heritabilitäten zeigte eine deutlich bereinigende Wirkung der Gewichtung vor allem auf den Selektionserfolg. Weiterhin fluktuierten die realisierten Heritabilitäten von Generation zu Generation relativ stark, wobei dieser Trend besonders in der Linie Low ausgeprägt war. In beiden Linien ergab sich ein Anstieg der gewichteten realisierten Heritabilitäten, dabei war jedoch die verzeichnete Zunahme in der Low-Linie höher als in der Linie High. Unabhängig von der Gewichtung unterschieden sich die kumulierten realisierten Heritabilitäten beider Linien jeweils nur um einen Prozentpunkt, so dass das Mittel der Linien für den gewichteten Fall bei 0,69 lag.

Tabelle 4.15: Genetische Parameter der Linien High und Low im Vergleich der Generationen

	Linie	Ungewichtet			Gewichtet		
		Selektions-differential	Selektionserfolg ΔG	Realisierte Heritabilität	Selektions-differential	Selektions-erfolg ΔG	Realisierte Heritabilität
EG	High	18,4	18,1	0,98	16,4	14,7	0,90
	Low	-2,4	-3,3	1,38	-2,6	-1,8	0,70
1.SG	High	5,5	6,0	1,09	5,9	6,2	1,05
	Low	-11,8	-11,3	0,96	-12,1	-11,9	0,98
2.SG	High	8,1			8,9		
	Low	-5,0			-5,3		

Σ	High	32	24,1	0,75	31,2	21,1	0,68
Σ	Low	-19,2	-14,6	0,76	-20	-13,7	0,69

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration; Selektionsdifferenziale und –erfolge sind dargestellt in % Männchen)

4.1.2.5 Standardfehler der realisierten Heritabilität

In Tabelle 4.16 sind die Standardfehler der realisierten Heritabilitäten für die Linien High und Low in den Generationen dargestellt. Wie bereits an der Definition des Standardfehlers (SE) der realisierten Heritabilität deutlich wird (siehe Gleichung 3.5), hängt dieser sehr stark von dem in der Generation erreichten Selektionsdifferential (SD) ab. Dieser Einfluss wurde insbesondere in der Eltern- und der ersten Selektionsgeneration deutlich. Besonders die Linie Low der Elterngeneration sowie die Linie High der ersten Selektionsgeneration wiesen ein im Vergleich relativ geringes Selektionsdifferential auf. Daher nahm der Standardfehler, auch bedingt durch die hohe Messfehlervarianz (σ^2_R) der Linie High (1.SG), hier die höchsten Werte an (siehe Tabelle 4.16). Bis auf die Messfehlervarianz der Linie High in der ersten Selektionsgeneration waren alle anderen Werte auf einem vergleichbaren Niveau. Der Standardfehler der realisierten Heritabilitäten aus der kumulativen Schätzung in den Linien High und Low betrug 0,3 bzw. 0,4.

Tabelle 4.16: Standardfehler der realisierten Heritabilität in Abhängigkeit verschiedener Parameter nach FALCONER & MACKAY (1996)

Generation	Linie	σ_P	σ^2_P	h^2_R	N_e	M	σ^2_R	SD_R	$SE\ h^2_R$
EG	High	17,1	292,4	0,90	72	36	11,8	16,4	0,7
	Low	17,1	292,4	0,70	72	36	11,0	-2,6	4,2
1.SG	High	12,5	156,3	1,05	12,9	19	21,0	5,9	3,6
	Low	12,7	161,3	0,98	24,0	72	8,8	-12,1	0,7
Kumulativ	High								0,3
	Low								0,4

(EG=Elterngeneration; 1.SG=Erste Selektionsgeneration; 2.SG=Zweite Selektionsgeneration; σ_P =Phänotypische Standardabweichung; σ^2_P =Phänotypische Varianz; h^2_R =Realisierte Heritabilität; N_e =effektive Populationsgrösse; M =Anzahl Anpaarungen; σ^2_R =Fehlervarianz des Selektionserfolgs; SD =Selektionsdifferenz in % Männchen; $SE\ h^2_R$ =Standardfehler der realisierten Heritabilität)

4.1.2.6 Heritabilitäten nach dem Schwellenwertmodell

Tabelle 4.17 zeigt die nach dem Schwellenwertmodell von BULL et al. (1982) errechneten Heritabilitäten (siehe Gleichungen 3.6-3.8). Dieses Modell unterstellt eine polygene Ausprägung des betrachteten Merkmals. Zunächst erfolgte die Schätzung der Heritabilität für die Elterngeneration. In der ersten und zweiten Selektionsgeneration wurden die Heritabilitäten getrennt nach den Linien High und Low ermittelt, um anschliessend den Mittelwert über die Generationen als auch über die Linien High und Low zu bilden.

Tabelle 4.17: Heritabilitäten nach Bull et al. (1982) für das Merkmal *tsd* in den Behandlungs- und Kontrollgruppen der Linien High und Low in den Generationen

	Generation	Linie		Gesamt
		High	Low	
Behandlung	EG	--	--	0,37
	1.SG	0,29	0,20	0,25
	2.SG	0,37	0,05	0,21
	Mittel	0,33	0,13	0,28
Kontrolle	EG	--	--	0,00
	1.SG	-0,02	-0,03	-0,02
	2.SG	-0,02	0,03	0,00
	Mittel	-0,02	0,00	-0,01

(EG=Elterngeneration; 1.SG=erste Selektionsgeneration; 2.SG=zweite Selektionsgeneration)

Die gemittelte Heritabilität der Behandlungsgruppen lag mit $h^2=0,28$ auf mittlerem Niveau. Nach einer Reduktion der Heritabilität in der ersten Selektionsgeneration betrug der in der hochsensiblen Linie der zweiten Generation geschätzte Wert 0,37. Die in der aufwärts selektierten Linie berechnete mittlere Erblichkeit des Merkmals *tsd* war um 20 Prozentpunkte höher als diejenige in der Linie Low. Die abwärts gerichtete Selektion resultierte in ebenfalls abnehmender Heritabilität. Diese sank von 0,37 in der Ausgangspopulation auf 0,05 nach zwei Generationen.

Für die korrespondierenden Kontrollgruppen wurden die Heritabilitäten in entsprechender Weise geschätzt. Hier ergaben sich weder zwischen den Generationen noch zwischen den Linien High und Low signifikante Unterschiede. Einige der geschätzten Parameter bewegten sich mit negativen Werten ausserhalb des Definitionsbereichs, wobei keiner dieser Werte sich signifikant von null unterschied.

5 Diskussion

5.1 Diskussion

Das in der vorliegenden Arbeit durchgeführte Selektionsexperiment ist in dieser Form der bisher erste Beweis dafür, dass die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung (*tsd*) aufgrund ihrer Eigenschaften als quantitatives Merkmal, durch gezielte Selektion über mehrere Generationen zur Erstellung hoch (High) und schwach sensibler (Low) Linien genutzt werden kann.

Bereits von vielen Autoren wurde die These aufgestellt, dass die Selektion sensibler bzw. unsensibler Elterntiere zur nachhaltigen Erhöhung der Männchenanteile über Temperaturbehandlung führen könne. Ausserdem könnte die Reduktion der Thermolabilität zur Stabilisierung der in YY-Zuchtprogrammen erzielten Geschlechterverhältnisse beitragen (MAIR et al., 1997; ABUCAY et al., 1999; BAROILLER et al., 1999; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGENSCHWARK, 2002). Die an verschiedenen Fischarten durchgeführten Untersuchungen zur *tsd* veranlassten verschiedene Autoren zu der Hypothese, dass durch gemischtgeschlechtliche Fischbestände entstehende Einbussen⁵ in der Produktivität durch eine einfache Geschlechtsumwandlung der Mastfische durch Veränderung der Aufzuchttemperatur verringert werden könnten (CONOVER & HEINS, 1987; BAROILLER et al., 1993; BAROILLER et al., 1995a,b; CRAIG et al., 1996; ABUCAY et al., 1999; SAILLANT et al., 2002). Diese Vermutung konnte in der vorliegenden Arbeit erstmals auf der Basis eines Selektionsexperimentes über zwei Generationen für eine Versuchspopulation der Spezies *O. niloticus* der Herkunft Manzala (Ägypten) bestätigt werden. Die in früheren Experimenten bei verschiedenen Herkünften dieser Spezies erzielte Ergebnisse waren oft widersprüchlich (BAROILLER et al., 1993; BAROILLER et al., 1995a,b; ARGUE & PHELPS, 1995; ABUCAY et al., 1999). Die zugrundeliegenden Versuchsparameter, wie z.B. der Beginn und die Zeitdauer der Behandlung, die angewandte Temperatur oder die Stichprobengrösse stellten Variationsursachen dar, die die Ergebnisse inkonsistent und somit nicht repräsentativ

⁵ v.a. bezogen auf Tilapien, aber auch bei Lachsartigen und Wolfsbarschen spielt dies eine Rolle

machten (BAROILLER et al., 1995b; ARGUE & PHELPS, 1995; ABUCAY et al., 1999; PHELPS et al., 1999; MORAIS BORGES et al., 2005). Erst TESSEMA LEMMA (2001) konnte durch die systematische Testung der kritischen Versuchsparmeter an repräsentativen Stichprobengrößen, sowie der Testung von Kombinationen unterschiedlicher Genotypen innerhalb und zwischen Populationen richtungweisende und zugleich aussagekräftige Ergebnisse erzielen. Die hier vorliegende Arbeit diene der weiteren Überprüfung der von TESSEMA LEMMA (2001) aufgestellten Hypothesen.

5.1.1 Effekt der Elterntierkombination

Wie auch in früheren Untersuchungen zur Labilität der Geschlechtsausprägung in temperaturbehandelten Gruppen von *O. niloticus* konnte auch in den hier durchgeführten Experimenten ein signifikanter Effekt auf die Geschlechterverhältnisse durch eine erhöhte Aufzuchttemperatur von 36 °C vom 9. bis zum 19. Lebenstag dokumentiert werden (BAROILLER et al., 1993; BAROILLER et al., 1995a,b; ABUCAY et al., 1999; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGENSCHWARK, 2002). Die zugrundeliegenden Versuchsparmeter, wie der Behandlungsbeginn, die Behandlungsdauer sowie die applizierte Temperatur gingen auf empirische Untersuchungen von TESSEMA LEMMA (2001) zurück. Sowohl die Behandlungsdauer als auch der Behandlungsbeginn hatten sich in den Untersuchungen des Autors als optimal herausgestellt, da weder eine Ausweitung der Behandlungsdauer noch eine Verschiebung des Behandlungsbeginns zu einer weiteren Steigerung der Männchenanteile in den behandelten Gruppen führte. Auch die Erhöhung der Behandlungstemperatur auf 38 °C resultierte nicht in höheren Erfolgsraten, reduzierte jedoch die Überlebensraten in den so behandelten Gruppen. BAROILLER et al. (1999) postulierten, die Temperatur von 34 °C stelle einen Schwellenwert dar, der zur nachhaltigen Beeinflussung der Geschlechterverhältnisse (höhere Männchenanteile) während der geschlechtslabilen Phase nicht unterschritten werden dürfe. Niedrige Behandlungstemperaturen (<20 °C) waren indes nicht in der Lage die von Hauptfaktoren bestimmte Geschlechtsdeterminierung ausser Kraft zu setzen und führten somit nicht zu abweichenden Geschlechterverhältnissen (ARGUE & PHELPS, 1995; ABUCAY et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001).

Die in der vorliegenden Untersuchung angewandte Temperatur von 36°C konnte während des gesamten Versuchszeitraumes innerhalb der werkseitig angegebenen Schwankungsbreite der genutzten Thermostate von 1°C gehalten werden. So waren auch die Überlebensraten vom 9. Tag bis zum Ende der Behandlung mit 94% in den Behandlungsgruppen und 95% in den entsprechenden Kontrollgruppen in der ersten und zweiten Selektionsgeneration nicht signifikant verschieden von den bei TESSEMA LEMMA (2001) beobachteten Werten. Weiterhin konnte vom 9. bis hin zum 90. Tag weder zwischen Kontrolle und Behandlung noch zwischen den zwei Selektionsgenerationen ein signifikanter Unterschied der Überlebensraten festgestellt werden, d.h. wie auch bei TESSEMA LEMMA (2001) beobachtet, war die erhöhte Aufzuchttemperatur in den Behandlungsgruppen kein Grund für unterschiedliche Mortalitäten zwischen männlichen und weiblichen Fischen, wie von einigen Autoren vermutet (REFSTIE & GJEDREM, 2005). Unterschiedliche Mortalitäten als Ursache für verzerrte Geschlechterverhältnisse konnten selbst unter Annahme, dass es sich bei allen verstorbenen Tieren um Weibchen handele, nicht bestätigt werden. Auch nach Addition der vermeintlich ausgefallenen Weibchen konnten stark heterogene Geschlechterverhältnisse, verursacht durch die Temperaturbehandlung, dokumentiert werden. Weiterhin ist ein Einfluss der Temperatur auf die Sterblichkeitsrate eher unwahrscheinlich, da diese Buntbarschart auch in ihrem natürlichen Habitat zum Teil extremen Temperaturen von 6,5 bis zu 42°C ausgesetzt ist (BALARIN & HUTTON, 1979).

Der durch die Temperaturbehandlung erzielte Einfluss auf die Männchenanteile wird nicht nur entscheidend von der Population, sondern auch von der Kombination der Paarungspartner innerhalb der Population bestimmt (SULLIVAN & SCHULZ, 1986; CONOVER & HEINS, 1987; BAROILLER et al. 1996c; BAROILLER et al. 1999; PHELPS et al. 1999; ABUCAY et al. 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Der von TESSEMA LEMMA (2001) systematisch untersuchte Effekt von Vätern innerhalb Müttern und umgekehrt zeigte einen signifikanten Einfluss der Mütter als auch der Väter auf die Geschlechterverhältnisse in den temperaturbehandelten Gruppen der Population Lake Manzala. Dieser Effekt konnte entsprechend in der Elterngeneration sowie in der ersten und zweiten Selektionsgeneration der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

In Tabelle 5.1 sind Männchenanteile einzelner Elternkombinationen wiedergegeben. Die von TESSEMA LEMMA (2001) untersuchten Kombinationen der Väter 17 und 1

mit den Müttern 12 und 3 wiesen stark unterschiedliche Männchenanteile auf. Auch die Anpaarung verschiedener Väter (10,12) an die gleiche Mutter bedingte grosse Unterschiede der Geschlechterverhältnisse. Der Autor beobachtete auch bei der Kombination verschiedener Mütter mit einem Vater einen entsprechenden Effekt. Dieser war allerdings nicht so stark ausgeprägt wie in der vorliegenden Arbeit. In der ersten Selektionsgeneration der vorliegenden Untersuchung war ein starker Effekt der Väter innerhalb Mütter und der Mütter innerhalb Väter festzustellen.

Tabelle 5.1: Männchenanteil in den Kontroll- und Behandlungsgruppen ausgewählter Elternkombinationen aus den Untersuchungen von TESSEMA LEMMA (2001) sowie der Eltern- und der ersten Selektionsgeneration der vorliegenden Arbeit

	Vater	Mutter	Behandlung		Kontrolle		χ^2
			n	% Männchen	n	% Männchen	
Tessema-Lemma (2001)	17	12	103	100,0 ^c	130	60,8	3,02
	1	3	63	55,6	71	49,3	0,01
	10	1	329	61,4	246	50,8	0,03
	12	1	335	91,3	325	47,7	0,35
Eltern-generation	9	10	116	96,6 ^c	42	45,2	0,00
	4	5	99	71,7 ^c	57	50,9	0,02
	20	21	79	55,7	74	50,0	0,38
Erste Selektions-generation	1	1	72	81,9 ^c	80	49,4	0,01
	5	1	77	90,9 ^c	93	56,9	0,60
	2	1	82	54,9	86	47,7	0,19
	3	1	69	68,1 ^b	87	51,7	0,01
	5	1	77	90,9 ^c	93	56,9	1,82
	5	4	56	96,4 ^c	99	50,5	0,10
	5	15	86	64,0 ^a	93	50,5	0,10
	5	16	83	56,6	87	48,3	0,17

(a= $p < 0,05$; b= $p < 0,01$; c= $p < 0,001$ gibt den Signifikanzgrad der Differenz zur korrespondierenden Kontrolle an; χ^2 =Chi-quadrat Wert aus Test der Kontrollgruppe gegen eine 1:1 Verteilung; Elterngeneration und erste Selektionsgeneration=vorliegende Arbeit)

Der Männchenanteil der Kombination von Vater 5 mit Mutter 1 betrug 90,9%. Ein anderer Vater (2) angepaart mit der gleichen Mutter (1) zeigte aber nur 54,9% Männchen in der Behandlungsgruppe. Die umgekehrte Anpaarungskombination ergab bei Anpaarung von Vater 5 mit Mutter 4 Männchenanteile von 96,4%, während Vater 5 angepaart mit Mutter 16 lediglich 56,6% Männchen in den Behandlungsgruppen aufwies.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Temperatursensibilität eine stark genetische Komponente aufweist. Dabei haben Mutter und Vater einen entscheidenden Einfluss auf die Temperatursensibilität ihrer Nachkommen. BAROILLER et al. (1999) vermuteten, die Sensibilität nur eines Elters sei ausreichend, um sensiblen Nachwuchs zu produzieren. Diese Hypothese konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigt werden. Die hier erzielten Ergebnisse decken sich mit denjenigen von TESSEMA LEMMA (2001). Der Autor sah ebenfalls beide Elternteile und deren Kombination als entscheidend für die Sensibilität der Nachkommen an.

Insgesamt zeigte sich in der Elterngeneration ein signifikanter Einfluss ($\chi^2=112,9$; $p<0,001$) der Temperatur auf das Geschlechterverhältnis, das im Mittel der 36 Familien einen Wert von 65,6% Männchen erreichte. Im Vergleich zur von TESSEMA LEMMA (2001) an 20 Familien der gleichen Population durchgeführten Testung, die in einem Mittel der Geschlechterverhältnisse von 79,3% resultierte, konnte mit 65,6% Männchen somit nur ein mässiger Erfolg durch die Temperaturbehandlung erzielt werden. Auch ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK (2002) dokumentierten einen im Vergleich wesentlich höheren Mittelwert (79,1%) des Männchenanteils in temperaturbehandelten Gruppen einer nicht domestizierten, lokalen Tilapiapopulation (Lake Victoria, Kenia), wobei die Autoren lediglich elf Gelege prüfen konnten. TESSEMA LEMMA (2001) stellte bei 17 der getesteten 20 Gelege eine signifikante Abweichung der Geschlechterverhältnisse von den entsprechenden Kontrollen fest, während sich in der hier vorliegenden Arbeit lediglich 12 der 36 Anpaarungen als signifikant verschieden von ihren Kontrollen erwiesen. Einerseits zeigten sieben dieser Anpaarungen extreme Männchenanteile von bis zu 100%, die somit auch als hochsignifikant ($p<0,001$) abgesichert werden konnten, andererseits beinhalteten als nicht signifikant unterschiedlich klassifizierte Gelege Temperaturbehandelte Gruppen mit Männchenanteilen von kleiner als 50%.

Der vergleichsweise geringe durchschnittliche Anteil an Männchen in den behandelten Gruppen der Elterngeneration geht vor allem auf die zufällige Selektion der hier verwendeten Elterntiere zurück. TESSEMA LEMMA (2001) zeigte, dass eine hohe Variation zwischen Elterntieren und Kombinationen von Paarungspartnern bezüglich des Merkmals *tsd* in der hier getesteten Population von *O.niloticus* besteht und das somit sowohl hoch sensible als auch unsensible Genotypen vorkommen. Die Geschlechterverhältnisse in den Behandlungsgruppen der in der Elterngeneration gewählten Stichprobe von 36 Familien waren normalverteilt.

Somit hängt der jeweilige Mittelwert und die Standardabweichung des *tsd* Geschlechterverhältnis einer Population von der Auswahl der stichprobenartig selektierten Elterntiere und deren Sensibilität ab. Aufgrund der Tatsache, dass die Anzahl der sich mit der quantitativen Auswertung des Merkmals *tsd* befassenden Studien bisher unzureichend ist und die Stichprobengröße, bezogen auf die Anzahl an Familien, in diesen Studien nicht annähernd an die innerhalb des vorliegenden Experiments ausgewerteten Familienanzahlen heranreicht, gibt es bisher keine repräsentative Vergleichsbasis für die *tsd* Populationsmittelwerte (BAROILLER et al., 1993; BAROILLER et al., 1995a,b; PHELPS et al., 1999; MORAIS BORGES et al., 2005).

5.1.2 Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung als quantitatives Merkmal

Neben der in der Elterngeneration beobachteten Normalverteilung konnten die Geschlechterverhältnisse in der ersten und zweiten Selektionsgeneration als normalverteilt beschrieben werden. Obwohl es sich beim Phänotyp „Geschlecht“ um ein dimorphes Merkmal handelt, kann die Ausprägung dieser dimorphen Variation auf der Basis vieler Loci mit additivem Effekt beruhen (ROFF, 1994). Entsprechend des Umwelt Schwellenwertmodells (*environmental threshold model*) hängt die Expression des Merkmals von einer unterliegenden kontinuierlichen Variablen ab (FALCONER & MACKAY, 1996). Individuen oberhalb eines bestimmten Schwellenwertes auf dieser kontinuierlichen Skala entwickeln sich, wie in der vorliegenden Arbeit, zu Männchen, während Tiere die unterhalb dieser Schwelle bleiben, sich zu Weibchen entwickeln. Dabei kann nun auf zwei verschiedene Weisen argumentiert werden. Auf der einen Seite geht das ursprüngliche *environmental threshold model* von einer unterliegenden kontinuierlich verteilten Variable mit einem fixen Schwellenwert aus (ROFF, 1994). Auf der anderen Seite kann ebenso die im ersten Modell als kontinuierlich

betrachtete Variable fix sein, während der Schwellenwert innerhalb einer Population auf einer kontinuierlichen Skala variiert (HAZEL et al., 1990). Welches der beiden Modelle auf das in der vorliegenden Arbeit untersuchte quantitative Merkmal *tsd* zutrifft, kann aufgrund der erzielten Ergebnisse nicht eindeutig bestimmt werden. Entscheidend ist jedoch die Feststellung, dass es für jeden Genotyp innerhalb einer bestimmten Umwelt einen individuellen Schwellenwert gibt, von dem die Entwicklung des Phänotyps abhängt, unabhängig davon, ob dabei die unterliegende Variable oder aber der Schwellenwert innerhalb der Population normalverteilt ist (ROFF, 1994). Dies kann auch als Ursache für eine Normalverteilung der Geschlechterverhältnisse der temperaturbehandelten Gruppen in den verschiedenen Generationen dieser Untersuchung angesehen werden. Bereits TESSEMA LEMMA (2001) nahm an, dass jeder Genotyp seine individuelle Sensibilität besitzt, die stark von der Kombination und somit dem additiven Effekt der Elterntiere abhängt. Wiederholte Anpaarungen sensibler Genotypen zeigten in den Arbeitsgruppen BAROILLER et al. (1995b) und TESSEMA LEMMA (2001) nur leichte Differenzen (3-4%) bezogen auf die Geschlechterverhältnisse in den temperaturbehandelten Gruppen. Folglich ist das Verhältnis zwischen dem Männchenanteil und der Behandlungstemperatur als stabil zu betrachten. Die in der hier vorliegenden Arbeit in der ersten Selektionsgeneration wiederholt gemessenen Geschlechterverhältnisse zeigten ebenfalls nur leichte Differenzen. Das künstliche Abstreifen der Tilapiarogner könnte einen Einfluss auf die umweltabhängige Geschlechtsausprägung ausüben. Der Zeitpunkt des Abstreifens wurde zwar subjektiv immer anhand der gleichen Indikatoren gewählt (Rötung der Papille; Territorialverhalten des Weibchens), trotzdem kann nicht gewährleistet werden, dass die Eier der wiederholt erstellten Gelege sich nicht in ihrer Entwicklungsphase oder ihren biologischen (Gehalt an Geschlechtshormonen) und morphometrischen Charakteristika (Grösse; Gehalt an Dotter) unterscheiden. NAKAMURA et al. (1998) vermuteten, dass endogene Titer von Geschlechtshormonen bereits als natürliche geschlechtsbestimmende Faktoren wirken. Somit könnten auch unterschiedliche Steroidgehalte der Eier in den wiederholt erstellten Gelegen Einfluss auf die Geschlechtsdetermination der Gruppen die Ursache für leichte Differenzen zwischen einzelnen Wiederholungen sein. DEVLIN & NAGAHMA (2002) postulieren zwar, maternal vererbte Gehalte an Steroidhormonen würden bis zum Zeitpunkt der Geschlechtsdifferenzierung abgebaut, doch ob diese nicht vielleicht bereits zuvor einen Einfluss auf das Geschlecht hätten, sei unklar.

In dieser Studie konnte erstmals eine dem Merkmal *tsd* eindeutig unterliegende erbliche Komponente über drei sukzessive erstellte Generationen nachgewiesen werden. Bereits BAROILLER et al. (1995b) vermuteten, dass diesem Merkmal bei der Spezies *O.niloticus* eine erbliche Komponente unterliege. Genetische Weibchen, die zuvor über eine Temperaturbehandlung bei 36°C zu funktionellen Männchen umgewandelt wurden und somit Nachkommen temperatursensibler Eltern waren, erzeugten ihrerseits temperatursensiblen Nachwuchs. Auch TESSEMA LEMMA (2001) konnte dieses Ergebnis bestätigen, weshalb der Autor vermutete, die Selektion sensibler Elterntiere und deren Anpaarung in einem Zuchtprogramm mit anschließender Temperaturbehandlung könnte ein erfolgversprechender Ansatz zur nachhaltigen Erhöhung der Männchenanteile sein. Bereits die in diesem Experiment in der Eltern- generation erfolgte Klassifizierung hoch sensibler und unsensibler Elterntiere und die anschließende Verpaarung ihrer Nachkommen in der ersten Selektionsgeneration in Diallelform resultierte wie von TESSEMA LEMMA (2001) vermutet in einer signifikanten Erhöhung der Männchenanteile, besonders in der Anpaarung hochsensibler Väter mit hoch sensiblen Müttern (High-High). Wie bereits TESSEMA LEMMA (2001) feststellte, wurde auch in der vorliegenden Untersuchung die Temperatursensibilität sowohl von den selektierten Müttern und Vätern direkt beeinflusst. SAILLANT et al. (2002) vermuteten aufgrund von Diallelanpaarungen zur temperaturabhängigen Geschlechtsbestimmung von Wolfsbarschen (*Dicentrarchus labrax*) die Sensibilität beider Elternteile kombiniere sich in einem simplen additiven Modell. Diese Theorie konnte in der vorliegenden Untersuchung nur zum Teil bestätigt werden.

Die Einteilung der selektierten Elternfische in die Klassen High und Low entsprechend ihrer Temperatursensibilität und die vier Kombinationsmöglichkeiten der zwei Linien innerhalb des Diallels der ersten Selektionsgeneration zeigten deutlich einen additiven Einfluss auf die Geschlechterverhältnisse temperaturbehandelter Nachkommengruppen. Einerseits zeigten alle Anpaarungskombinationen im Mittel der Behandlungsgruppen signifikante Abweichungen der Geschlechterverhältnisse von den entsprechenden Kontrollen ($p < 0,001$). Andererseits unterschied sich der Grad der Sensibilität deutlich zwischen den vier Anpaarungskombinationen ($F=16,1$; $df=3$; $p=0,001$), was sich in heterogenen Mittelwerten der vier Anpaarungskombinationen äusserte. Aus Verpaarung gleicher Genotypen (High-High; Low-Low) resultierten dabei entsprechend der Erwartung hohe bzw. niedrige Abweichungen der Männchenanteile von den Kontrollen (83,7% respektive 62,3%), durch die Verpaarung schwach

sensibler Väter mit hoch sensiblen Müttern (High-Low) konnten intermediäre Werte (74,5%) erzielt werden, während die umgekehrte Kombination (High-Low) entgegen der Erwartungen die geringsten Männchenanteile aller vier Anpaarungskombinationen aufwies (60,1%).

Wird die Anpaarung High-Low zunächst aus der Betrachtung ausgeschlossen, so könnte die Präsenz nur eines in dieser Population von *O.niloticus* segregierenden Majorgens A_1 für die Ausprägung des Merkmals *tsd* verantwortlich sein (siehe Tabelle 5.2).

Tabelle 5.2: Theoretische Effekte der Allele A_1 und A_2

Anpaarung	High-High	Low-High/ High-Low	Low-Low	Genetisches Mittel	Annahme High-Low
Genotypwert	G11	G12	G22		
% Männchen	83,7	74,5	62,3	71,6	ausgeschlossen
% Männchen	83,7	67,3	62,3	68,1	eingeschlossen
p	0,16	0,50	0,36		
σ_g^2				55,5	ausgeschlossen
σ_g^2				51,1	eingeschlossen
Durchschnittseffekte					
	A_1	A_2			
	6,6	-4,4			ausgeschlossen
	5,7	-3,8			eingeschlossen
Additiv genetische Varianz					
	51,1				ausgeschlossen
	38,6				eingeschlossen
Dominanzabweichung					
	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2		
	-1,1	0,7	-0,5		ausgeschlossen
	4,1	-2,7	1,8		eingeschlossen

(σ_g^2 =genetische Varianz; p =Allelfrequenz; G =Genotypwert)

Folglich müssten die Anpaarungen High-High und Low-Low homozygot für den betrachteten Genort sein, wobei die Anpaarung Low-Low die zwei rezessiven Allele A_2A_2 tragen müsste. Unter der Annahme, das Mittel des heterozygoten Genotyps A_1A_2 entspreche nur dem Mittelwert der Anpaarung Low-High (71,6%), würde dies

nahezu auf einen intermediären Erbgang hindeuten. Die als Dominanzabweichung (d) bezeichnete Differenz zwischen der Summe der Durchschnittseffekte der beiden Allele ($A_1=6,6\%$ und $A_2=-4,4\%$) und dem genetischen Mittel ($G=74,2\%$) zum Genotypwert beträgt ausgehend von den Genfrequenzen $p=0,4$ und $q=0,6$ (da insgesamt 35 aus 91 Anpaarungen hochsensibel waren) lediglich 0,7 %. Wird nun die Anpaarung High-Low mit in die Betrachtung einbezogen, ändert sich das Bild grundlegend. Die durchschnittlichen Geschlechterverhältnisse der zwei heterozygoten Anpaarungen High-Low und Low-High (67,3%) reduzieren das genetische Mittel der Population auf $G=68,2\%$, wodurch sich für die heterozygoten Genotypen eine negative Dominanzabweichung von $d=-2,74\%$ ergibt. Die negative Dominanzabweichung deutet stark darauf hin, dass das hier vorgestellte Ein-Locus-Modell nicht ausreichend ist, um den hier unterliegenden Erbgang zu erklären. Folglich müssen mehrere, mindestens aber ein zusätzliches Gen, an der Merkmalsexpression beteiligt sein, die vermutlich durch epistatische Interaktionen zwischen den einzelnen Genen nicht additive Wirkung entfalten. Dieser Effekt könnte die in der Anpaarung High-Low beobachtete negative Abweichung vom Mittel der für das vermeintliche Hauptgen homozygoten Tiere verursachen (FALCONER & MACKAY, 1996). Allerdings bleibt dabei zu beachten, dass die hier getroffenen Annahmen rein hypothetischer Natur sind und weiterer Diallelanpaarungen, um genauere Werte für die Genfrequenzen und Durchschnittseffekte der einzelnen Allele zu erhalten, sowie um nicht additive Genwirkungen schätzen zu können.

TESSEMA LEMMA (2001) führte in seinen Untersuchungen zwar keine Diallelverpaarungen sensibler und unsensibler Genotypen innerhalb der Population Lake Manzala durch, der Autor erstellte jedoch Populationskreuzungen der Herkünfte Manzala und Lake Rudolph, die sich zuvor als stark (79,3% Männchen) bzw. wenig temperatursensibel (61,0% Männchen) erwiesen hatten. Folglich könnte die Kreuzung von Manzala Milchnern mit Lake Rudolph Weibchen mit der hier durchgeführten Anpaarung High-Low verglichen werden, respektive die reziproke Kreuzung von Lake Rudolph Milchnern mit Manzala Weibchen könnte mit der Anpaarung Low-High gleichgesetzt werden. Beide Anpaarungskombinationen zeigten in den Behandlungsgruppen, wie auch in der vorliegenden Arbeit, signifikante Abweichungen der Geschlechterverhältnisse von den Kontrollen. Dabei stellte sich jedoch die Differenz der beiden Anpaarungskombinationen tendenziell als genau entgegengesetzt zum hier vorliegenden Fall dar. Anpaarungen hochsensibler Manzala Männchen mit

schwach sensiblen Lake Rudolph Weibchen (entsprechend High-Low) resultierten in 64,7% Männchen nach Temperaturbehandlung. Demgegenüber erreichte die reziproke Kreuzung (entsprechend Low-High) lediglich einen durchschnittlichen Männchenanteil von 58,2%. Allerdings können diese zu den in der vorliegenden Arbeit konträren Ergebnisse nur unter Vorbehalt als Vergleichsbasis dienen, da sie zum einen auf der Kreuzung zweier unterschiedlicher Populationen beruhen und zum anderen eine andere Stichprobe der Population Manzala sowie eine andere Stichprobengröße repräsentieren.

Weiterhin könnte auch ein maternaler Effekt als Ursache für die in der Anpaarung Low-High im Vergleich zur Anpaarung High-Low höheren Geschlechterverhältnisse in den temperaturbehandelten Gruppen angenommen werden. Auch BULL et al. (1982) und JANZEN (1992) dokumentierten maternale Effekte auf das Merkmal *tsd* bei Sumpfschildkröten. Bei dieser Schildkrötenart spielte vor allem der Ort der Nestwahl eine entscheidende Rolle für die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung. Dieser maternale Einfluss unterliegt zwar ebenfalls einer erblichen Komponente, die die effektive Heritabilität der *tsd* entscheidend reduziert, sie ist aber in dieser Form für den vorliegenden Fall nicht relevant.

Vielmehr ist hier in der höheren Selektionsintensität auf der Vaterseite die Ursache für den schwächeren Effekt in der Anpaarung High-Low zu sehen. Höhere Selektionsintensitäten führen zu einer Reduktion der genetischen Varianz (FALCONER & MACKAY, 1996; GJEDREM, 2005). Aufgrund der breiteren genetischen Basis auf der Mütterseite wiegt folglich der Einfluss der Mütter als Variationsursache schwerer als der Einfluss der Väter. Da also mehr additive Genwirkung von den Müttern ausging, waren die Männchenanteile in den Anpaarungskombinationen mit hochsensiblen Müttern (High-High, Low-High), unabhängig davon an welchen Vater sie angepaart wurden, immer relativ hoch. Dementsprechend hatten auch die schwach sensiblen Mütter in der Anpaarungskombination High-Low einen stärkeren Einfluss auf die Männchenanteile in den Behandlungsgruppen als die Väter. Auf diese Weise könnte der im Vergleich zur Anpaarung Low-High niedrige Männchenanteil in der Anpaarung High-Low erklärt werden.

Neben den Unterschieden zwischen den Anpaarungskombinationen konnten auch Einflüsse der Elterntiere auf die Sensibilität innerhalb dieser vier Klassen im Diallel der ersten Selektionsgeneration dokumentiert werden. Da, wie bereits von

SAILLANT et al. (2002) vermutet, die von beiden Eltern ausgehenden Unterschiede zwischen den Familien der ersten Selektionsgeneration additiv genetisch waren, wenn auch vermutlich nicht ausschliesslich, führte die aufwärts gerichtete Selektion zur Erhöhung bzw. die abwärtsgerichtete Selektion zur Abnahme der Männchenanteile in der zweiten Selektionsgeneration. Da innerhalb dieser Untersuchung nur hoch bzw. schwach sensible Genotypen selektiert wurden, konnten diese zur Erstellung zweier divergenter Linien genutzt werden. Insgesamt wurde durch die über zwei Generationen erfolgte Selektion ein gewichteter kumulativer Selektionserfolg von 21,1% in der hoch sensiblen und -13,7% in der schwach sensiblen Linie erzielt. Bereits CONOVER et al. (1992) eliminierten die *tsd* innerhalb einer Laborpopulationen von *Menidia menidia* binnen sechs Generationen, allerdings entwickelte sich diese Population nicht durch gerichtete Selektion in Richtung des Geschlechterverhältnisses von 50:50, sondern aufgrund der natürlichen Selektion entsprechend des Prinzips von FISHER (1930). Dieses ging davon aus, dass ein natürlicher Selektionsdruck auf das Geschlechterverhältnis in Richtung gleicher Anteile an Männchen und Weibchen existiert. Dieses könnte zum einen dadurch erreicht werden, dass auch Weibchen, die bei hohen Temperaturen aufgezogen werden, temperaturunsensible Gene tragen und diese Gene dann in Abhängigkeit von der Genfrequenz in den Folgegenerationen zur Zunahme der Anzahl unsensibler Weibchen führen. Langfristig würde dies bei allen Temperaturen zu einem Männchenanteil von 50% führen. Somit würde sich das Geschlechterverhältnis unter natürlichem Selektionsdruck immer in Richtung des Minderheitengeschlechts entwickeln (FISHER, 1930; CONOVER et al., 1992). Auch in der vorliegenden Studie konnte in der Linie Low die *tsd* mittels abwärts gerichteter Selektion innerhalb von zwei Generationen erfolgreich reduziert werden.

Wie bereits zuvor erwähnt, gaben CONOVER et al. (1992) in ihren Experimenten zur *tsd* an, dass die Eliminierung derselben in Versuchspopulationen der Spezies *Menidia menidia* innerhalb von nur sechs Generationen lediglich mittels frequenzabhängiger, ungerichteter Selektion gelang.

Die in beiden Linien der vorliegenden Arbeit binnen zwei Generationen erzielten hohen Selektionserfolge deuten ebenso auf einen hohen Anteil additiv genetischer Varianz und somit eine hohe Heritabilität des Merkmals *tsd* hin. Bereits die erste Selektion erbrachte eine Steigerung des Männchenanteils um 18,1% auf 83,7% im Mittel

der High-Linie. Damit lag der gemessene Selektionserfolg nur knapp unter dem Mittel (84,0%) der in der Elterngeneration selektierten Familien. Aus den dokumentierten Selektionserfolgen ergaben sich weitreichende Konsequenzen für die Ermittlung der Heritabilität. Im hier durchgeführten Selektionsexperiment wurde der Quotient aus kumuliertem Selektionserfolg und der kumulierten Selektionsdifferenz zur Bestimmung der realisierten Heritabilität gebildet. Dieser Schätzwert ist unabhängig von genetisch-statistischen Modellen und aufgrund dessen zwischen der Heritabilität im weiteren und der Heritabilität im engeren Sinne einzuordnen (FALCONER & MACKAY, 1996). Per Definition entspricht dieser Schätzwert dem Mittel der Regression der Selektionserfolge auf die Selektionsdifferenzen. Die Gewichtung der Männchenanteile mit den Anzahlen an Fischen pro Anpaarung ergab eine kumulierte realisierte Heritabilität in der Linie High von 0,68. Die mit der Anzahl an Fischen erfolgte Gewichtung in der jeweiligen Einzelanpaarung gewährleistete, dass jede Familie entsprechend ihrer Größe einen Beitrag zum Gesamtmittelwert lieferte und das somit der Quotient aus dem gewichteten (realisierten) und dem beobachteten Selektionsdifferential z.B. Effekte der Selektion auf die Fitness oder Ausfälle in den Einzelanpaarungen verdeutlicht (FALCONER & MACKAY, 1996). Bei den Selektionsdifferenzen in der ersten und zweiten Selektionsgeneration lag der Quotient der realisierten und erwarteten Selektionsdifferenz auf einem Niveau von eins. Daher führte besonders die starke Verzerrung des Selektionserfolgs, die durch stark heterogene Anzahlen an Fischen in den Einzelanpaarungen zustande kamen, zu einer Überschätzung der ungewichteten realisierten Heritabilität.

Generell schwankten die gewichteten realisierten Heritabilitäten von Generation zu Generation, wie auch von GJEDREM (2005) beschrieben. Besonders in der zweiten Selektionsgeneration war der gewichtete Selektionserfolg in beiden Linien sehr hoch und überstieg in der High-Linie die gewichtete Selektionsdifferenz um 5%, obwohl die Selektionsintensität mit $i=0,63$ sehr niedrig war. Somit lagen die in beiden Linien festgestellten realisierten Heritabilitäten mit $h_R^2 = 0,68$ (high) und $h_R^2 = 0,69$ (low) auf einem vergleichbar hohen Niveau.

Insgesamt ist jedoch die realisierte Heritabilität primär eine Beschreibung des Selektionserfolgs und kann somit nicht ohne Einschränkungen als gültiger Schätzwert für die Heritabilität in der Basispopulation, der Elterngeneration, herangezogen werden (FALCONER & MACKAY, 1996). Weiterhin sind Verzerrungen des Heritabilitätsschätzwertes durch eventuelle systematische Einflüsse von Inzucht und/oder Umwelt-

faktoren im Selektionserfolg enthalten, sofern sie nicht mittels Vergleich zu einer nicht selektierten Kontrolllinie korrigiert werden. Da im vorliegenden Versuch weder eine derartige Kontroll- noch eine wiederholt erstellte Selektionslinie produziert wurde, kann auch der für die realisierten Heritabilitäten berechnete Standardfehler dem Ergebnis nicht mehr Aussagekraft verleihen. Zum einen wird die genetische Drift über diesen nicht erfasst (allenfalls nur indirekt über die effektive Populationsgröße bzw. die Messfehlervarianz) und zum anderen gibt dieser über die Varianz, zwischen den Steigungen von Regressionsgeraden wiederholt erstellter Selektionslinien, keine Auskunft (FALCONER & MACKAY, 1996). Somit ist die Aussagekraft der errechneten realisierten Heritabilitäten als Schätzwert für die Erbllichkeit der *tsd* limitiert, vielmehr verleiht sie lediglich den im Vergleich zu den Selektionsdifferentialen sehr hohen Selektionserfolgen Ausdruck. Auch die hier für die Linie High und Low ermittelten Standardfehler von 0,3% bzw. 0,4% sind nur von relativer Bedeutung für die Aussagekraft der ermittelten realisierten Heritabilitäten. Daher sollte, um die Aussagekraft der erzielten Ergebnisse zu erhöhen, mindestens eine Wiederholung des vorliegenden Selektionsexperiments durchgeführt werden. Zufällige Effekte, wie z.B. durch genetische Drift, könnten durch den Vergleich der Selektionserfolge und der Steigungen der Regressionsgeraden (des Selektionserfolg auf die Selektionsdifferenz) erkannt werden.

5.1.3 Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung unter dem Einfluss von Haupt- und einigen Nebenfaktoren

Die Tatsache, dass es sich bei dem betrachteten Merkmal um ein quantitatives Merkmal handelt, dass an die Fitness gebunden ist, lässt eine Heritabilität von 0,69 im Mittel der Linien High und Low (h_r^2 Low=0,69, h_r^2 High=0,68) als sehr hoch erscheinen (BULL et al., 1982; JANZEN, 1992; FALCONER & MACKAY, 1996). Der in der Linie High über beide Selektionsgenerationen erzielte sehr hohe Selektionserfolg geht konform mit der hohen Heritabilität, da der Selektionserfolg in direkter Abhängigkeit zur Heritabilität, der phänotypischen Standardabweichung sowie zur Selektionsintensität steht (ROFF, 1994). Ausgehend von der Elterngeneration führte die Selektion in der Linie High der Folgegeneration zu einer um 27% reduzierten Standardabweichung der *tsd* Geschlechterverhältnisse. In der ersten Selektionsgeneration war trotz geringer Selektionsintensität ($i=0,44$; p selektiert=0,63) der Selektionser-

folg ebenfalls sehr hoch, was auch zu einer weiteren Reduktion der Standardabweichung für das Merkmal *tsd* in der zweiten Selektionsgeneration führte. Diese Ergebnisse sprechen in Anlehnung an die Argumentation von GJEDREM & THODESEN (2005) dafür, dass hier einige wenige Gene mit grossem Effekt für den in den ersten Selektionsgenerationen hohen Selektionserfolg verantwortlich waren. Des Weiteren ist laut Autoren die Abnahme der genetischen Varianz bei Merkmalen mit sehr hohen Heritabilitäten besonders stark ausgeprägt, was in der vorliegenden Arbeit bestätigt wurde, wenn die phänotypische Standardabweichung als Mass für die Abnahme der genetischen Variabilität herangezogen wird. Während die erste Selektion zu einer Reduktion der Standardabweichung um 27% führte, konnte in beiden Linien infolge der zweiten Selektion eine Reduktion der Standardabweichung um fast 30% dokumentiert werden. BULMER (1985) ging in seinen Ausführungen näher auf den Einfluss der Selektion auf die Standardabweichung ein. Der Autor postulierte, dass generell infolge von Selektion die Reduktion der Standardabweichung und Heritabilität in der ersten Selektionsgenerationen höher ausfalle als in den weiteren Selektionsgenerationen, so auch im hier vorliegenden Selektionsexperiment.

FALCONER & MACKAY (1996) unterstellten, dass Hauptgene, die in Populationen segregieren nicht zwangsläufig Effekte von drei Standardabweichungen bewirken müssen, sondern, dass diese Effekte sich durchaus in Bereichen von 0,5-1 Standardabweichungen pro Generation bewegen könnten.

Im vorliegenden Selektionsexperiment lagen die Werte auch im Bereich von 0,50-0,93 (Ausnahme Linie Low EG = 0,11) phänotypischen Standardabweichungen pro Generation. BENTSEN (2005) gab an, selbst in intensiven Selektionsprogrammen seien bei polygener Merkmalsausprägung, die häufig über 100 oder sogar bis zu 300 Gene pro Merkmal einschliessen kann, Änderungen des Populationsmittels in Form eines Selektionserfolgs von mehr als 0,5 Standardabweichungen pro Generation nur schwer zu erreichen.

Bei einer Frequenz eines Hauptgens von $p=q=0,5$ ergibt sich für den Anteil der additiv genetischen Varianz an der gesamten phänotypischen Varianz lediglich ein Anteil von 12,5%, der es schwierig macht, diese Gene trotz ihres hohen Effekts zu identifizieren (FALCONER & MACKAY, 1996), d.h. selbst wenn das Merkmal *tsd* wie hier angenommen, der Wirkung eines bzw. mehrerer Hauptgene unterliegt, könnte(n) deren Effekt(e) maskiert und nicht in Form eines mehrere Standardabweichungen gros-

grossen Effekts zu identifizieren sein. Darüber hinaus können neben diesem auch andere Indikatoren auf den Effekt von Majorgenen hindeuten (BULL, 1983; FALCONER & MACKAY, 1996). Falls ein Gen einen ausreichend grossen Effekt (von mehr als drei Standardabweichungen) hat, sowohl die genetische Hintergrundvariation als auch die Umweltvariation zu überlagern, so wird es eine multimodale Verteilung produzieren (FALCONER & MACKAY, 1996). Im vorliegenden Fall wurden jedoch weder multimodale Verteilungen noch Abweichungen des Merkmals *tsd* von der Normalverteilung beobachtet, wobei allerdings die Stichprobengrösse einen eindeutigen Ausschluss dieses Effekts nicht zulässt. Wenn laut FALCONER & MACKAY (1996) ein Hauptgen in einer Population segregiert, verursacht dieses Heterogenitäten der Varianzen zwischen Familien, da die betreffenden Gene in einigen Familien segregieren in anderen wiederum nicht. So konnten besonders in der Basispopulation (EG) einige selektierte Familien als Varianz verursachend identifiziert werden. Diese Familien mit Männchenanteilen über 90% entsprachen einem Anteil von 13,9% aller getesteten Familien. Im Gegensatz dazu wiesen 70% der Familien Männchenanteile von weniger als 70% in den temperaturbehandelten Gruppen auf. Auch in der ersten Selektionsgeneration konnten Familien, die als High bzw. als Low klassifiziert wurden, als Varianzursache identifiziert werden ($p < 0,001$). Auch innerhalb der Anpaarungskombination High-High wurde eine deutliche Variation verzeichnet (1. SG Anpaarung High-High Mütter: $\chi^2 = 116,4$; $df = 8$; $p = 0,001$; Väter: $\chi^2 = 116,4$; $df = 4$; $p = 0,001$).

Bereits die erste Selektion führte vermutlich, angesichts des hohen Selektionserfolgs, zu einer starken Veränderung der Genfrequenzen der für die *tsd* kodierenden Hauptgene. Die in der Linie High und Low verbleibende Restvarianz war jedoch immer noch so gross, dass sie in der zweiten Selektionsgeneration zu hohen Selektionserfolgen führte. Folglich müssen neben den vermuteten Hauptgenen, mit sehr grossem Effekt, noch weitere Nebengene, die zwar einen geringeren aber trotzdem beträchtlichen Anteil additiver Genwirkung verursachen, segregieren. Auch SEHESTED & MAO (1992) unterstützten diese These mit ihren Untersuchungen. Die Autoren stellten fest, Hauptgene würden infolge von Selektion sehr schnell fixiert, wobei die verbleibende Varianz von vielen Loci mit kleinerem Effekt ausgehe.

Somit könnte, neben anderen Erklärungsmöglichkeiten, der hohe Anteil additiver genetischer Varianz, der sich in Form des hohen Selektionserfolgs sowie der hohen realisierten Heritabilität ($h_r^2 = 0,69$) ausdrückt, Hinweis auf ein oder mehrere Gene sein,

die als Genkomplex aufgrund von enger Kopplung dieser Gene untereinander, einen grossen Effekt auf die *tsd* Geschlechterverhältnisse ausüben (BENTSEN, 2005).

Neben den zuvor aufgestellten Hypothesen könnten aber auch andere Ursachen für den hohen Selektionserfolg bzw. die hohe realisierte Heritabilität angeführt werden. In kleinen Populationen kann häufig starke genetische Drift beobachtet werden. Dieser zufällige Effekt kann grosse Auswirkungen auf den Selektionserfolg haben. Aber auch die zur Schätzung des Erblichkeitsgrades verwandte Methode kann die Ursache für die relativ hohen realisierten Heritabilitäten sein.

Genetische Drift wird als die zufällige Fluktuation der Allelfrequenzen bezeichnet, die auf der stichprobenartigen Beeinflussung der Allele durch Selektion oder aber dem zufälligen Verlust einzelner Allele in kleinen Populationen beruht (ANDERSEN & GJEDREM, 2005). Aufgrund der über die Generationen kumulativen Natur driftbedingter Änderungen der Genfrequenzen (FALCONER & MACKAY, 1996), die sich in der Verschiebung des Populationsmittels ausdrücken, kann auch die hier ermittelte realisierte Heritabilität für den Fall, dass Effekte von Drift bestanden, stark verzerrt sein. Auf der Ebene der Genloci führt die genetische Drift zur Fixierung oder zum Verlust von Allelen, d.h. die Anzahl an heterozygoten Individuen innerhalb der Population nimmt ab (SONESSON et al., 2005). Generell hängt die Anzahl der Heterozygoten in einer Population direkt vom Inzuchtkoeffizienten (F) ab. Besonders in kleinen Populationen von 10-100 Elterntieren ist dieser Faktor von Bedeutung, denn je kleiner die Population ist, desto grösser ist die Wahrscheinlichkeit, dass Allele zufällig verloren gehen bzw. fixiert werden (FALCONER & MACKAY, 1996). Falls sich in der vorliegenden Studie Gene, die sich positiv auf die Temperatursensibilität auswirken, durch genetische Drift in ihrer Frequenz erhöhten, würde dies besonders in der Linie High in der ersten und zweiten Selektionsgeneration von Bedeutung sein. Denn hier wurde im Vergleich zur Elterngeneration ($N_e=72$) nur eine effektive Populationsgrösse von 12,9 (1.SG) bzw. 24 (2.SG) festgestellt. Diese spiegelte sich besonders in der hohen Messfehlervarianz des Selektionserfolgs (σ_R^2) der Linie High in der ersten Selektionsgeneration wieder. Die Messfehlervarianz des Selektionserfolgs (σ_R^2) ist definiert als die Summe der Drift- und Fehlervarianz, die hier approximativ nach FALCONER & MACKAY (1996) geschätzt wurde. Dabei war die Messfehlervarianz in etwa doppelt so hoch wie in der Elterngeneration und der Linie Low in der ersten und zweiten Selektionsgenerationen (1.SG Linie High $\sigma_R^2=21,3\%$).

5.1.4 Die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung als polygenes Merkmal

Das Merkmal *tsd* ist ohne Zweifel ein höchst komplexes, heritables Merkmal (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001). Ob es sich dabei jedoch um ein polygenes Merkmal handelt, wie von BULL et al. (1982) vermutet, und inwiefern Gene mit unterschiedlichen Effekten (ob Haupt- oder Nebeneffekt) existieren und zur Merkmalsausprägung beitragen, ist bisher noch unklar. Tatsache ist, die Geschlechtsdifferenzierung von Fischen und anderen Nichtsäugervertebraten beruht auf einer Kaskade interagierender enzymatischer Genprodukte und wird massgeblich von der Präsenz endo- als auch exogener Geschlechtshormone beeinflusst. Daher dürfte die Expression der für die Steroidgenese kodierenden Loci vermutlich in Wechselwirkung mit in der geschlechtsbestimmenden Kaskade aufwärts exprimierten Genen eine entscheidende Rolle spielen (HUNTER & DONALDSON, 1983; BAROILLER et al., 1999). Neben der temperaturabhängigen Expression des Gens *Cyp19a*, das für Aromatase kodiert (D´COTTA et al., 2001a) konnten in der Literatur bisher zwei weitere Gene *MM20C* (D´COTTA et al., 2001b) und *Sox9* (WESTERN et al., 1999) als differentiell exprimiert in Versuchen mit temperaturbehandelten Prüfgruppen verschiedener Vertebraten (Fische, Reptilien) beschrieben werden. In der Konsequenz bedeutet das, je mehr Loci und je mehr Allele in die *tsd* involviert sind, desto höher ist die Anzahl der daraus resultierenden Klassen, d.h. desto eher nähert sich die Verteilung der Geschlechterverhältnisse einer Normalverteilung (FALCONER & MACKAY, 1996). Die Anzahl der involvierten Loci an der *tsd* dürfte angesichts der hohen intra- und interpopulationsspezifischen Variation dieses Merkmals sehr gross sein (TESSEMA LEMMA, 2001). Entsprechend eines polygenen Merkmals, welches durch viele Loci mit jeweils kleinem Effekt bestimmt wird und somit der Ausbildung vieler Klassen unterliegt, stellte sich das Merkmal *tsd* auch in der vorliegenden Arbeit als normalverteilt dar. Neben dem Kriterium der Normalverteilung erfüllt die *tsd* auch die von BULL (1983) aufgestellten Kriterien eines polyfaktoriell bestimmten Merkmals:

- (1) hohe Variation der Geschlechterverhältnisse zwischen Familien
- (2) mater- und paternale Effekte auf die Ausprägung desselben
- (3) eine Reaktion auf Selektion, wie in der vorliegenden Studie beobachtet

(SULLIVAN & SCHULZ, 1986; CONOVER & HEINS, 1987; BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001). Aus diesem Grund wurde auch die Schätzung der Heritabilität für die polyfaktorielle Geschlechtsbestimmung nach der speziell für das Schwellenwertmerkmal *tsd* entwickelten Methode von BULL et al. (1982) in dieser Studie durchgeführt. Gängige Methoden zur Bestimmung der Heritabilität nutzen die Korrelationen zwischen verwandten Familien oder aber Regressionen der Nachkommen auf die Eltern (BULL et al., 1982; FALCONER & MACKAY, 1996). Da dem durch *tsd* bestimmten Geschlecht als dimorphes Merkmal aber eine kontinuierliche Variable x unterliegt, die jedoch nicht am Phänotyp messbar ist, muss die Korrelation der x -Werte zwischen Verwandten aus den diskreten Werten hergeleitet werden (BULL et al., 1982; BULL, 1983). Allerdings unterliegen dem von diesen Autoren beschriebenen Modell einige Annahmen, die unabhängig vom Merkmal weder überprüfbar noch einfach zu erfüllen sind. So ist es z.B. sehr unrealistisch, dass die gesamte genetische Varianz additiver Natur ist, denn bei einer Vielzahl von Loci treten mit hoher Wahrscheinlichkeit Interaktionen zwischen den Genorten auf. Zum einen können Loci an der Merkmalsausprägung verschiedener Merkmale beteiligt sein (Pleiotropie), zum anderen können sich diese untereinander in ihrer Wirkung verstärken oder abschwächen. Daher erscheint auch die Unterstellung, alle Gene übten den gleichen Effekt aus, sehr unrealistisch. Die Existenz von Hauptgenen oder Genkomplexen wird somit vollkommen vernachlässigt. Des weiteren ist es angesichts der Häufung vieler Allele auf wenigen Chromosomen unwahrscheinlich, dass diese nicht gekoppelt und somit als Genkomplex mit insgesamt grösserer Wirkung vererbt werden (BENTSEN, 2005).

Die Abwesenheit maternaler Effekte und die Einhaltung einer konstanten Temperatur waren weitere Prämissen für die Anwendbarkeit des Schwellenwertmodells. Diese Bedingungen konnten in der vorliegenden Untersuchung vollständig erfüllt werden. Somit konnte dieses Modell bis auf die die Polygenie betreffenden Limitierungen, als eingeschränkt adäquat für das Merkmal *tsd* bezeichnet werden.

Die so ermittelten Heritabilitäten (Mittel über die Generationen: Linie High $h_{Bull}^2=0,33$; Linie Low $h_{Bull}^2=0,13$) lagen insgesamt weit unter der, über die Linie High und Low gemittelten, realisierten Heritabilität von 0,69. Trotzdem war das Niveau der nach BULL et al. (1982) geschätzten Heritabilitäten im intermediären Bereich ($h_{Bull}^2=0,28$) im Mittel der Linien über die Generationen. Dabei war der in der Linie High gefundene Schätzwert im Mittel um 20% höher als der entsprechende Wert in der Linie Low.

Wie auch BULMER (1985) in seinen Ausführungen zusammenfasst, kam es auch im vorliegenden Selektionsexperiment zur Abnahme der additiv genetischen Varianz und damit zu einer Reduktion der Heritabilität in der ersten Selektionsgeneration (EG: $h_{Bull}^2=0,37$; 1.SG: $h_{Bull}^2=0,25$; 2.SG: $h_{Bull}^2=0,21$). Diese Abnahme konnte unabhängig von der Selektionsrichtung in beiden Linien beobachtet werden. BULMER (1985) und FALCONER & MACKAY (1996) gehen auch in späteren Generationen von einer weiteren Reduktion der additiv genetischen Varianz und somit der Heritabilität aus, bis sich schliesslich die Zunahme des Ungleichgewichts bedingt durch die Selektion (durch Veränderung der Genfrequenzen) mit dem Verlust an additiv genetischer Varianz durch die Rekombination in der Balance befindet. Im Gegensatz zu diesen Ausführungen erhöhte sich die Heritabilität in der Linie High jedoch in der zweiten Selektionsgeneration um weitere 8% auf einen Wert von $h_{Bull}^2=0,37$. Das bedeutet obwohl sich im Vergleich zur Basispopulation (EG) die phänotypische Standardabweichung um 48% reduzierte, konnte von der ersten zur zweiten Selektionsgeneration eine Steigerung der additiv genetischen Varianz beobachtet werden. Dies kann, nach der Theorie von BULMER (1985), nur durch eine weitere sehr grosse Veränderung der Frequenzen von Genen mit additiver Wirkung bei gleichzeitig konstantem oder aber reduziertem Verlust von additiv genetischer Varianz durch eine verringerte Rekombinationsrate begründet sein. Andererseits kann auch die Umweltvarianz (Temperaturbehandlung) für den Erhalt quantitativ genetischer Variation sorgen (LEVENE, 1953). In Anbetracht der Ergebnisse von TESSEMA LEMMA (2001) sollte eine Schwankungsbreite von $\pm 0,5^\circ\text{C}$ bei der Temperaturbehandlung keinen Einfluss auf die Ausprägung des Geschlechts haben. Vielmehr könnten zufällige Effekte eine überproportionale Veränderung der Genfrequenzen bewirkt haben.

BULL et al. (1982) und Janzen (1992) ermittelten die Heritabilitäten entsprechend des *tsd* Schwellenwertmodells bei zwei verschiedenen Schildkrötenarten (*Graptemys ouachitensis* und *Chelydra serpentina*), die eine temperaturabhängige Geschlechtsdetermination aufweisen. Die in den Untersuchungen der zwei Arbeitsgruppen geschätzten Heritabilitäten waren generell höher als diejenigen in der vorliegenden Arbeit. JANZEN (1992) fand eine über verschiedene Temperaturregime gemittelte Heritabilität von 0,56, wobei der höchste gemessene Wert bei 28°C mit 0,76 beziffert wurde. BULL et al. (1982) schätzten sogar einen noch höheren Wert von 0,82 für die *tsd* der Schildkrötenart *Graptemys ouachitensis*. Die in beiden Studien ermittelten

Schätzwerte sind jedoch nur unter Vorbehalt als Vergleichsbasis heranzuziehen, da sie zum einen an einer anderen Spezies eines relativ weit entfernten Phylus gemessen wurden. Zum anderen basieren diese Werte auf sehr geringen Stichprobengrößen und geringen Tierzahlen innerhalb Familien (BULL et al. (1982): 20 Familien; 10 Tiere pro Gelege; JANZEN (1992): 15 Familien; 2 Tiere pro Gelege). Weiterhin konnten die Autoren feststellen, dass die Heritabilität für das Merkmal *tsd* in beiden Studien wesentlich durch eine maternale Variationskomponente überschätzt wurden. Der von beiden Arbeitsgruppen als effektive Heritabilität bezeichnete Parameter wurde von den Autoren um die Variationskomponente der Nestwahl durch die Mutter, die unter nicht kontrollierten Bedingungen eine grosse Rolle spielt, bereinigt. BULL et al. (1988) wiesen nach, dass auch die Geckoart *Eublepharis macularius*, die ebenfalls eine temperaturabhängige Geschlechtsdeterminierung aufweist, eine stark erbliche Komponente für den Ort der Nestwahl besitzt. Somit reduzierten sich die von BULL et al. (1982) und JANZEN (1992) geschätzten Heritabilitäten für das Merkmal *tsd* auf Werte von 0,05-0,06. Dieser maternale Effekt ist einerseits für die vorliegende Arbeit von geringerer Bedeutung, da Nilbuntbarsche generell in der Aquakultur unter relativ stark kontrollierten Bedingungen (in Abhängigkeit von der Intensitätsstufe) gehalten werden. Andererseits kommt diese Komponente im vorliegenden Fall durch die Tatsache, dass die Fische künstlich abgestreift wurden und der gesamte Prozess von der Erbrütung bis hin zur Geschlechtsdeterminierung unter kontrollierten Bedingungen stattfand, kaum zum Tragen. Unter natürlichen Bedingungen stellt die Wahl des Laichplatzes sicherlich eine wichtige Komponente für die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung dar, da die Temperaturen in den Habitaten dieser Spezies sehr starken Schwankungen unterliegen können (BALARIN & HUTTON, 1979).

Ob die Wahl des Laichplatzes bei Tilapien erblich ist, wie bei der Geckoart *Eublepharis macularius*, ist bisher ungeklärt. Eine Korrektur der Heritabilität um diesen Faktor erscheint jedoch für diese Spezies überflüssig, da selbst wenn die Temperaturen in den Habitaten sehr stark schwanken (BALARIN & HUTTON, 1979), beziehen diese Schwankungen sich vorrangig auf den jahreszeitlichen Temperaturverlauf.

LESTER et al. (1989) nutzten als bisher einzige Arbeitsgruppe die Methode BULL et al. (1982) zur Bestimmung der Heritabilität der Geschlechtsvererbung bei der Spezies *O.niloticus*, allerdings mit einem grossen Unterschied zu den vorher genannten und zu der hier vorliegenden Studie (BULL et al., 1982; JANZEN, 1992). LESTER et

al. (1989) untersuchten das durch autosomale Faktoren unter Standardaufzuchttemperaturen von 26-28 °C auftretende Geschlechterverhältnis und keine Geschlechterverhältnisse bei hohen Wassertemperaturen (>34 °C). Infolgedessen ist ein Vergleich zu der hier bestimmten Heritabilität des Merkmals *tsd* wenig sinnvoll, da es sich um Merkmale handelt, die in zwei unterschiedlichen Umwelten gemessen wurden, wodurch sich naturgemäß die Heritabilitäten unterscheiden (FALCONER & MACKAY, 1996).

5.1.5 Die Theorie der zwei Merkmale

Die Bestimmung der genetischen Korrelationen zwischen verschiedenen Umwelten für ein gegebenes Merkmal stellt, neben anderen, eine Methode zur Bestimmung von Genotyp-Umwelt Interaktionen dar (VIA, 1984). Geringe genetische Korrelationen bedeuten, dass unterschiedliche Gene an der Ausprägung des Merkmals in den zwei Umwelten beteiligt sind, während hohe positive oder negative genetische Korrelationen bedeuten, dass die Ausprägung des betreffenden Merkmals eine verwandte genetische Basis in beiden Umwelten aufweist (FALCONER & MACKAY, 1996). Verschiedene Autoren nutzten Korrelationen zum Nachweis von Genotyp-Umwelt Interaktionen in Bezug auf das Merkmal *tsd* (JANZEN, 1992; ABUCAY et al., 1999; KARAYÜCEL et al., 2004). Allerdings ist diese Methode statistisch als nicht einwandfrei anzusehen (siehe Kapitel 2.1.4.4), da das Geschlecht unter normalen Aufzuchttemperaturen vorrangig von zwei Hauptgeschlechtsfaktoren bestimmt wird (entsprechend XY), die denen von Säugern in ihrer Wirkung ähneln, jedoch bisher noch nicht lokalisiert werden konnten (MAIR et al., 1997; BAROILLER et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001). Zwar existieren viele Arbeiten über Abweichungen der Geschlechterverhältnisse von einer 1:1 Verteilung bei ausgezüchteten Tilapien, so sind diese aber oft von zufälligen Faktoren wie z.B. geringen Tierzahlen in den Einzelanpaarungen oder aber dem unbewussten Einsatz von Elterntieren mit funktionellem Geschlecht, verursacht. Die Tatsache, dass Abweichungen von einer 1:1 Verteilung in der Regel nur durch die zuvor genannten zufälligen Effekte bedingt sein können, ist gleichbedeutend mit dem Fehlen additiv genetischer Varianz oder einer geringen Penetranz autosomaler geschlechtsumkehrender Loci. Die vorgefundene (Fehler-) Varianz ist somit nicht erblich, d.h. das Merkmal Geschlechterverhältnis besitzt unter Kontrollbedingungen keine quantitativ genetische Basis. Somit weist dieses Merkmal

nur innerhalb einer Umwelt (bei 36 °C Wassertemperatur) eine kontinuierliche genetische Variation auf. Wenn aber das Merkmal in beiden Umwelten nicht mindestens intervallskaliert ist, wird die Kovarianz *per se* positiv, was die von ABUCAY et al. (1999) beobachteten stark positiven genetischen Korrelationen erklärt. Somit kann die Theorie von FALCONER & MACKAY (1996), dass ein Merkmal, das in zwei verschiedenen Umwelten exprimiert wird, genetisch korreliert ist, auf das hier betrachtete Merkmal (Geschlechterverhältnis bei 28 °C bzw. 36 °C) nicht angewendet werden. HAZEL et al. (1990) entwickelten ein weiteres Modell zur Analyse der Beziehung zwischen dimorphen Merkmalen und der Umwelt in der sie exprimiert werden. Die Autoren unterstellten, nicht die dem betrachteten Merkmal unterliegende Verteilung sei fix, sondern der Schwellenwert, der zur Ausprägung des Merkmals führt, sei variabel. Somit unterliege jedem Genotyp ein individueller Wert, an dessen Schwelle die Ausprägung abrupt vom einen (weiblichen) zum anderen (männlichen) Phänotyp umschlägt. Da die Verteilung der Schwellenwerte in beiden Umwelten entlang eines Gradienten per Definition die gleiche sei, folge dass obwohl die Anteile eines Phänotyps zwischen den Umwelten variierten, die Heritabilitäten des Merkmals in beiden Umwelten gleich sein müssten (HAZEL et al., 1990). Daraus schlossen die Autoren, dass auch die phänotypischen Varianzen des Merkmals in beiden Umwelten identisch sein müssten. Laut der Autoren bedeutet eine Variation der Umwelt keine Veränderung des unterliegenden Genotyps, sondern lediglich die Änderung seiner Expression entlang der Skala 0-1, d.h. es wird ein und dasselbe Merkmal gemessen, unabhängig von der Umweltkomponente. Dies macht eine genetische Korrelation zwischen den zwei Umwelten von +1 unabdingbar. Wenn nun all diese Bedingungen erfüllt sind, muss auch die Selektion einen Einfluss auf das Merkmal in beiden Umwelten haben.

FALCONER & MACKAY (1996) stellten die These auf, wann immer die genetische Korrelation ungleich null ist, resultiere die Selektion auf ein Merkmal zu genetischen Veränderungen im anderen Merkmal und umgekehrt. Auch KARAYÜCEL et al. (2004) und ABUCAY et al. (1999) errechneten hohe genetische Korrelationen für das bei zwei verschiedenen Temperaturen (27 °C & 36 °C) ausgeprägte Geschlechterverhältnis der Spezies *O. niloticus* ($r=0,576$, $p<0,05$; $r=0,368$, $p=0,05$), trotz der zuvor erläuterten Einschränkungen dieses Modells. Entsprechend hohe genetische Korrelationen müssten laut ROFF (1994) zu einem hohen korrelierten Selektionserfolg bei den Geschlechterverhältnissen der Kontrollen (28 °C) führen. In der vorliegenden Un-

tersuchung konnte jedoch weder in der Linie High noch in der Linie Low ein aufwärts bzw. abwärts gerichteter Trend der Geschlechterverhältnisse in den Kontrollgruppen beobachtet werden. Auch die Selektionsdifferentiale und Standardabweichungen der Kontrollgeschlechterverhältnisse gaben keinen Hinweis auf einen Einfluss der Selektion. Die Berechnung der Heritabilitäten nach BULL et al. (1982) für die Geschlechterverhältnisse der Kontrollgruppen ergab sowohl in der Linie High als auch in der Linie Low Schätzwerte im Bereich von $0 \pm 0,04$. Das bedeutet, dass keine additiv genetische Varianz für das Merkmal Geschlechterverhältnis bei einer Wassertemperatur von 28 °C existiert. Somit konnte mit der vorliegenden Arbeit der erste Beweis dafür geliefert werden, dass es sich bei den unter verschiedenen Aufzuchttemperaturen von 28 °C bzw. 36 °C ausgeprägten Geschlechterverhältnissen um zwei verschiedene Merkmale handeln muss. Dabei hängt vermutlich die Ausprägung beider Merkmale zunächst von völlig unterschiedlichen Genkaskaden ab, wobei die erhöhte Temperatur zum Ausserkraftsetzen der unter Standardtemperaturen wirkenden Hauptfaktoren führt. Die für die Temperatursensibilität und somit für die *tsd* kodierenden Loci scheinen weitestgehend unabhängig von den Hauptgeschlechtsfaktoren (XX/XY) zu segregieren, da zum einen funktionelle Geschlechter ebenfalls temperatursensibel reagierten (BAROILLER et al., 1995b; TESSEMA LEMMA, 2001). Zum anderen hatte die Selektion temperatursensibler Elterntiere sowohl väterlicher- als auch mütterlicherseits einen additiven Effekt auf die Sensibilität der Nachkommen, wobei die Selektion auf Erhöhung der Geschlechterverhältnisse für das Merkmal *tsd* nicht zu einem korrelierten Erfolg bei den Kontrollgeschlechterverhältnissen führte. Warum aber paradoxerweise bei YY-Genotypen eine verweiblichende Wirkung der Temperaturbehandlung beobachtet wurde, bleibt hingegen unklar (ABUCAY et al., 1999). Die Autoren vermuteten jedoch der Grad der Inzucht könnte in Verbindung mit einer Akkumulation autosomaler, verweiblichender Gene die Geschlechtsdifferenzierung dieser Fische mehr sensibel für Umwelteinflüsse gemacht haben.

Für die Theorie der zwei Merkmale spricht des weiteren, dass die in den Kontroll- und Behandlungsgruppen beobachteten Geschlechterverhältnisse jeweils von unterschiedlichen Mittelwerten und Standardabweichungen geprägt waren. Somit unterliegt die Geschlechtsdetermination der Spezies *Oreochromis niloticus* gewissermaßen der Koexistenz zwei verschiedener Geschlechtsbestimmungsmechanismen, die stark abhängig von der Umwelt sind. Einerseits bestimmen Haupt- und autosomale Nebenfaktoren, die unter normalen Aufzuchtbedingungen (28 °C) denjenigen von

Säugern ähneln, das Geschlecht. Jedoch besteht für die hier wirkenden genetischen Hauptfaktoren keine genetische Variation. Die autosomalen Nebenfaktoren sind nach bisherigem Kenntnisstand nur in homozygot rezessiver Form in der Lage das Geschlecht funktionell umzukehren, wobei nicht geklärt ist, inwieweit eine additive Genwirkung für diese Loci besteht.

Andererseits übernimmt bei hohen Haltungstemperaturen (36 °C) mit der *tsd* ein von den Hauptfaktoren (XX/XY) unabhängiges Merkmal die Wirkung. Die Ausprägung des Merkmals *tsd* scheint ebenfalls von Haupt- und Nebenfaktoren beeinflusst zu werden. Die Frequenz dieser Haupt- und Nebenfaktoren in einer Population unterliegt einer quantitativ genetischen Basis. Somit gibt es sensible und unsensible Genotypen, je nach dem ob und wie viele der temperatursensiblen Haupt- und Nebenfaktoren diese tragen.

Nicht von der Hand zu weisen ist jedoch ein zusätzlicher Einfluss autosomaler Gene, die unabhängig von der Temperatur vor allem bei mitotisch gynogenetischen Nachkommen vermutlich aufgrund der homozygoten Konfiguration dieser rezessiven Gene in additiver Wirkung zur Umkehr des Geschlechts führen können (MÜLLER-BELECKE & HÖRSTGEN-SCHWARK, 1995; MÜLLER-BELECKE, 1997). Das fehlende Bindeglied zwischen der autosomalen Geschlechtsbestimmung und der *tsd* konnte bisher ebenfalls nicht entdeckt werden, so dass nur gemutmasst werden kann, dass es sich um Gene des gleichen Merkmalskomplex handelt. Hinweise auf eine solche Verbindung können lediglich in der sowohl in Richtung vermännlichender als auch verweiblichender Wirkung gerichteten Effekte der *tsd* als auch der autosomalen Loci gesehen werden (ABUCAY et al., 1999; EZAZ et al., 2004; KARAYÜCEL et al., 2004).

5.1.6 Homozygot isogene Linien und die temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung

Die in der vorliegenden Arbeit zur Temperatursensibilität von Kreuzungen rein weiblicher homozygot isogener Linien (I, II, VI, V, siehe MÜLLER-BELECKE, 1997) durchgeführten Experimente brachten im Hinblick auf die von TESSEMA LEMMA (2001) dokumentierten Geschlechterverhältnisse keine reproduzierbaren Ergebnisse. In insgesamt 16 Testkreuzungen der Linien IxII, IVxII und VxII, wobei die letztgenannte Linie jeweils den funktionell männlichen Vater stellte, wurden weder in den Behand-

lungsgruppen noch in den Kontrollen, phänotypische Männchen beobachtet. Die Hypothese, dass eine Ausweitung der Behandlungsdauer auf insgesamt dreissig Tage zu mehr Männchen führen könnte, da auch die hormonelle Geschlechtsumkehr bei den hier eingesetzten homozygot isogenen Linien längere Behandlungsdauern erfordert, konnte nicht bestätigt werden.

TESSEMA LEMMA (2001) fand bei einer Temperaturbehandlung von 36°C für zehn Tage bei den Nachkommen aus Anpaarungen von homozygoten Weibchen der Linien I, IV, V und VI mit einem funktionellen Milchner der Linie II jeweils ein männliches Tier bei der Kombination IxII und IVxII, während die Anpaarungskombination VxII und VIxII nur weibliche Fische aufwies. Wurde die Behandlungsdauer ausgedehnt, traten bei den Nachkommen aller möglichen Anpaarungskombinationen mit der Linie II auf der paternalen Seite (IxII, IIIxII, IVxII, VxII und VIxII) männliche Tiere auf, wohingegen bei allen anderen Anpaarungskombinationen (IxIII, IxVI, IIxIII, IIIxVI, IVxVI, VxVI) sowie in allen Kontrollen nur weibliche Tiere beobachtet wurden. Der Autor interpretierte diese Ergebnisse trotz der geringen Stichprobengrösse als Trend für eine Sensibilität vor allem in der Linie II, da in der Kombination der Linien IxII unter insgesamt zehn Gelegen von sieben Rognern und in der Kombination IVxII unter drei Gelegen von drei Rognern jeweils eine Anpaarung Männchen aufwies. In den Kombinationen IIIxII, VxII und VIxII traten innerhalb von zwei Gelegen von zwei geprüften Rognern Männchen auf. Dabei zeigten die Kombinationen der Linien VxII und VIxII mit insgesamt acht von zehn bzw. 34 von 64 Tieren die höchsten Männchenanteile. Als auffällig interpretierte der Autor, dass wider Erwarten, nicht jeweils alle Tiere eines bestimmten Genotyps zum funktionell männlichen Geschlecht überführt wurden, sondern immer nur ein Teil. Diese zwischen und innerhalb Gelegen auftretende Variation erklärte der Autor über einen möglichen Einfluss der Eigrossenvariation innerhalb und zwischen Gelegen. Weiterhin könne eine von Tier zu Tier unterschiedliche Wärmesumme aufgrund einer heterogenen Wärmeverteilung innerhalb der Behandlungsbecken eine Ursache für das sporadische Auftreten von Männchen innerhalb dieser Prüfgruppen sein. Unter der kritischen Annahme, dass jedem Genotyp ein individueller Schwellenwert unterliegt, muss sich somit dieser Genotyp, sofern er in der exakt identischen Umwelt aufgezogen wird, in den gleichen Phänotyp entwickeln (ROFF, 1994). Somit wäre laut dem Autor die Umweltvarianz die einzige Quelle für eine Veränderung des Phänotyps. KAPLAN & COOPER (1984) vermuten in ihren Ausführungen weitergehend, Individuen bestimmter Genotypen könnten selbst in

exakt der gleichen Umwelt einen unterschiedlichen Phänotyp repräsentieren. Diese als „*adaptive coin flipping*“ bezeichnete Theorie basiert jedoch stark auf vielen zufallsabhängigen Annahmen, so dass die Aussage nicht verallgemeinert werden kann. Wenn Nachkommen aus der meiotisch gynogenetischen Reproduktion der homozygoten Linie II einer Temperaturbehandlung von 30 Tagen bei 36°C ausgesetzt wurden, waren in der vorliegenden Arbeit ebenfalls keine Männchen aufgetreten. Die Ausweitung der Behandlungsdauer auf 30 Tage zeigte hier in Übereinstimmung mit TESSEMA LEMMA (2001) eindeutig, dass Nachkommen aus den hier vorliegenden homozygot isogenen Linien in gynogenetischer Reproduktion unabhängig von der Behandlungsdauer nicht temperatursensibel waren. Dieses Ergebnis würde die These, jeder Genotyp habe seinen eigenen Schwellenwert und somit seine individuelle Sensibilität weiter stärken. Denn wie TESSEMA LEMMA (2001) und auch die hier präsentierten Ergebnisse deutlich machen, besteht die am Institut für Tierzucht gehaltene Population von Nilbuntbarschen der Herkunft Manzala aus temperatursensiblen und unsensiblen Genotypen. Da MÜLLER-BELECKE (1997) zur Erstellung der in dieser Arbeit und bei TESSEMA LEMMA (2001) verwendeten homozygot isogenen Zuchtlinien die gleiche Basispopulation heranzog, wäre eine mögliche Erklärung, dass der Autor zufällig eine Stichprobe mit unsensiblen Genotypen als Gründertieren gezogen hat. Da alle gynogenetischen Nachkommen der jeweiligen Linie einen identischen Genotyp aufweisen, sind diese folglich ebenso wenig sensibel. Allerdings ist diese Theorie nicht in der Lage, die von TESSEMA LEMMA (2001) dokumentierten Ergebnisse zur Verpaarung von Elterntieren, die den gleichen homozygoten Zuchtlinien entstammten, zu erklären. Denn in Anpaarungen von Rognern der Linien II und VI mit Milchnern der gleichen Linie traten Männchen in temperaturbehandelten Gruppen auf, wohingegen in den Kontrollen nur Weibchen beobachtet wurden. Dieses Phänomen ist bisher nicht zu erklären, wobei der einzige Unterschied zwischen den Prüfgruppen jedoch in dem bei gynogenetischer Reproduktion bereits kurz nach der Befruchtung durchgeführten Temperaturschock bestand. Dieser könnte angesichts des hohen Temperaturanstiegs, von 28°C auf 41°C Wassertemperatur, Ursache für die Bildung von Hitzeschockproteinen sein. Bei der Schildkrötenart *Caretta caretta* bewirkte die Aufzucht bei einer Weibchen produzierenden Temperatur von 32°C eine differentielle Bildung von Hitzeschockproteinen in den sich entwickelnden Gonaden (HARRY et al., 1990). Bei einer vermännlichenden Temperatur von 26°C wurden diese hingegen nicht exprimiert. Daher vermuteten die Autoren, die hier ex-

primierten Hitzeschockproteine seien an der Geschlechtsdifferenzierung dieser Spezies massgeblich beteiligt. DIETZ (1994) geht davon aus, Hitzeschockproteine seien an wichtigen regulatorischen Prozessen wie z.B. der Translation oder Aktivierung von zellulären Proteinen beteiligt. Daher kann nicht ausgeschlossen werden, dass während des Hitzeschocks zur gynogenetischen Reproduktion wichtige Stoffwechselfunktionen aktiviert bzw. inaktiviert wurden, die sofort oder zu einem späteren Zeitpunkt wichtige geschlechtsbestimmende oder –differenzierende Prozesse übernehmen. Da die Ergebnisse dieser und der vorangegangenen Arbeit von TESSEMA LEMMA (2001) in vielen Punkten nicht kongruent sind und einige der Ergebnisse des Autors auf nur geringen Stichprobenumfängen beruhen, können hieraus keine eindeutigen Schlüsse gezogen werden. Daher bedarf dieses Feld, das die Testung von homozygoten Linien und deren Kreuzungen sowie die Testung gynogenetisch reproduzierter Nachkommen homozygot isogener Linien beinhaltet weiterer Untersuchungen.

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Studie zum ersten Mal gezeigt werden, dass erfolgreich auf temperaturabhängige Geschlechtsausprägung bei der Spezies *Oreochromis niloticus* selektiert werden kann, was vielfach schon vermutet wurde (ABUCAY et al., 1999; BAROILLER et al., 1999; PHELPS et al., 1999; TESSEMA LEMMA, 2001; ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002). Der in den ersten zwei Selektionsgenerationen erzielte Selektionserfolg ebenso wie die hohe realisierte Heritabilität bestätigen eindeutig, dass dem Merkmal *tsd* eine hohe erbliche Komponente unterliegt.

Aufgrund der Geschlechterverhältnisse in den vier Anpaarungskombinationen der ersten Selektionsgeneration konnte für das Merkmal *tsd* ein intermediärer Erbgang mit Ein-Locus-Modell angenommen werden. Lediglich die Anpaarungskombination Low-High zeigte eine negative Abweichung vom Mittel der Linien High und Low. Einerseits könnte dies auf eine weitaus komplexere genetische Basis hindeuten, die neben additiven Geneffekten auch epistatische Interaktionen vermuten lässt. Andererseits bedarf die in der vorliegenden Untersuchung durchgeführte Diallelanpaarung zunächst einer Wiederholung, um zufällige Effekte als Ursache für die negative Abweichung der Geschlechterverhältnisse in dieser Anpaarungskombination ausschließen zu können. Eine wiederholte Diallelanpaarung mit vollbesetzten Zellen, würde

zusätzlich die Schätzung nicht additiver Genwirkung, ausgehend von Dominanz oder Epistasie, ermöglichen. Somit ist die Wiederholung der Diallelanpaarung von grosser Bedeutung, um den der *tsd* unterliegenden Erbgang genauer analysieren und deuten zu können.

Insgesamt scheint der realisierte Selektionserfolg auf der Wirkung einiger weniger Hauptgene oder einem Genkomplex mehrerer Gene mit hoher additiver Genwirkung zu beruhen. Die in den Linien High und Low der ersten Selektionsgeneration verbliebene genetische Varianz bedingte auch in der zweiten Selektionsgeneration besonders in der Linie High sehr hohe Selektionserfolge. Die Vorrassschätzung des Selektionserfolgs für die dritte Selektionsgeneration, entsprechend der Regression des Selektionserfolgs auf die Selektionsgeneration für die Linie High, führt bereits zum Erreichen des mathematischen Selektionsgrenzen. Entsprechend sinken die Geschlechterverhältnisse der Linie Low der Vorrassschätzung nach unter das Niveau von 50% ab, um dann vermutlich nach 7-8 Selektionsgenerationen entsprechend das untere Selektionsgrenze von 0% Männchen zu erreichen (siehe Abbildung 5.1).

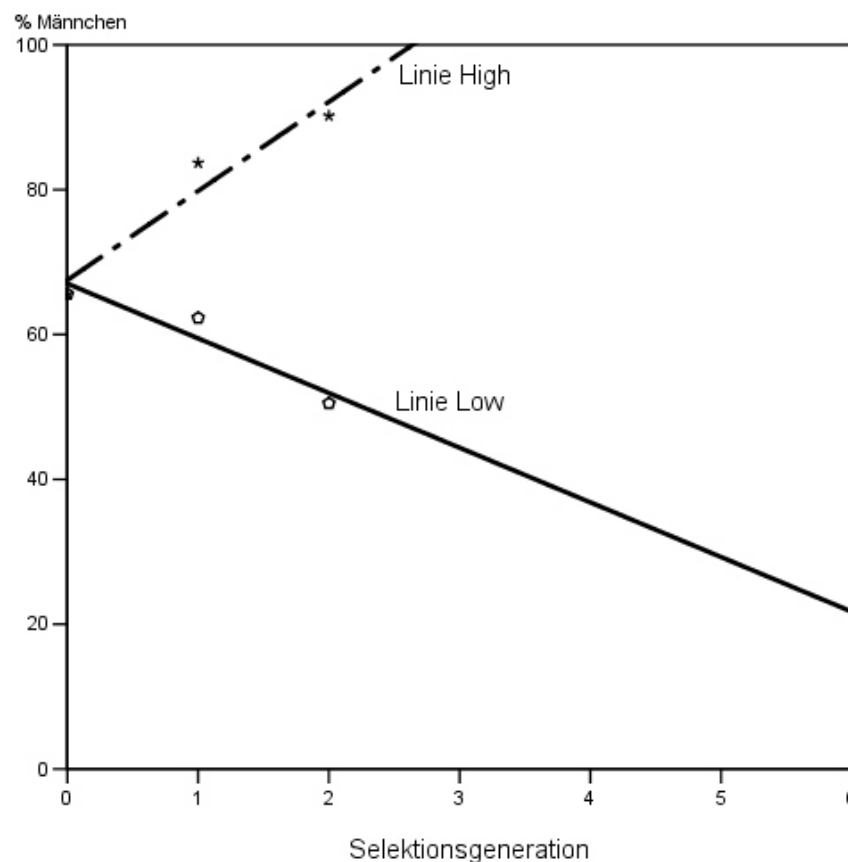


Abbildung 5.1: Selektionserfolge in Abhängigkeit der Selektionsgeneration (SG)

Obwohl die mathematischen Selektionsgrenzen voraussichtlich bereits nach nur wenigen Selektionsgenerationen erreicht sein werden, bedeutet dies nicht die zwangsläufige Erschöpfung der additiv genetischen Varianz des Merkmals *tsd* (ROFF, 1994). Vielmehr wird diese nicht mehr anhand der phänotypischen Expression des betreffenden Merkmals zwischen den temperaturbehandelten Einzelanpaarungen determinierbar sein.

Fraglich ist bisher, ob die abwärts gerichtete Selektion auf das Merkmal *tsd* ein Absinken des Männchenanteils unter die 50% Marke bewirken wird, in dem die Temperaturbehandlung auch eine entgegengesetzte, verweiblichende Wirkung übernimmt. Dieser „paradoxe“ verweiblichende Effekt hoher Temperaturen konnte bereits bei ABUCAY et al. (1999) und KWON et al. (2002) an homogametischen Männchen (YY) beobachtet werden. Auch EZAZ et al. (2004), die vermuteten, dass die autosomale Geschlechtsdetermination und die *tsd* ähnliche Gene rekrutieren, stellten eine autosomale Geschlechtsumkehr in beide Richtungen innerhalb einer Familie (n=4) mitotisch gynogenetisch reproduzierter Δ XY-Weibchen fest. Anhand dieser Beispiele wird deutlich, sofern auch das Beispiel EZAZ et al. (2004) unter der Prämisse es gebe eine Verbindung der autosomalen mit der temperaturabhängigen Geschlechtsbestimmung akzeptiert werden kann, dass die Temperaturbehandlung sowohl eine vermännlichende als auch verweiblichende Wirkung haben kann

Weiterhin konnte diese Arbeit den Nachweis dafür erbringen, dass die Geschlechterverhältnisse in den verschiedenen Haltungsumwelten nicht genetisch korreliert sind, da in den Kontrollgruppen keine durch einen korrelierten Selektionserfolg verursachte Veränderung der durchschnittlichen Geschlechterverhältnisse noch ihrer Standardabweichungen beobachtet werden konnte. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Annahmen einiger mit der *tsd* befassten Arbeitsgruppen (ABUCAY et al., 1999; KARAYÜCEL et al., 2004). Unter Standardbedingungen (28°C) lag die Heritabilität des Merkmals Geschlechterverhältnis bei null.

Die Ergebnisse von Temperaturprüfungen bei ausgeweiteter Behandlungsdauer (30d) gynogenetisch erstellter Nachkommen von homozygot isogenen Elternfischen sowie Kreuzungen aus verschiedenen genetisch rein weiblichen homozygot isogenen Linien entsprachen nicht immer den in vorangegangenen Studien erzielten Ergebnissen (TESSEMA LEMMA, 2001). Es bedarf weiterer Untersuchungen, um abzuklären, ob Nachkommen aus Kreuzungen und gynogenetischer Reproduktion die-

ser Linien männliche Fische in den temperaturbehandelten Gruppen bringen. Außerdem sollten homozygot isogene Linien aus Nachkommen der hochsensiblen Linie erstellt und in Temperaturtestung geprüft werden.

5.1.7 Schlussfolgerungen für weitere Untersuchungen

Die Resultate der vorliegenden Untersuchung sind insgesamt sehr erfolgversprechend, trotzdem dürfen sie zunächst nicht verallgemeinert und direkt auf andere Populationen übertragen werden, obwohl bereits in Wildpopulationen eine stark temperaturabhängige Geschlechtsausprägung dokumentiert wurde (ALTENA & HÖRSTGEN-SCHWARK, 2002). An erster Stelle sollte das hier vorgestellte Selektionsexperiment zur Erhöhung der Männchenanteile mittels Temperaturbehandlung wiederholt werden. Zum einen würde dies zeigen wie hoch die Reproduzierbarkeit dieser Ergebnisse ist oder ob Effekte ausgehend von genetischer Drift dazu beitragen. Zum anderen könnte eine Kontrolllinie gehalten werden, um Drifteffekte exakter determinieren zu können. Weiterhin sollten simultan zu den Temperaturtestungen Wachstumsversuche unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden, um die genetischen Korrelationen des Merkmals *tsd* zu den Wachstumseigenschaften dieser Spezies zu evaluieren und somit mögliche negative Konsequenzen der Selektion auf das Merkmal *tsd* für das Wachstum bereits vor der Implementierung von Zuchtprogrammen ausschliessen zu können.

Wie bereits im hier durchgeführten Experiment sollten die Linien High und Low im vollständigen Diallel angepaart werden, um die Bedeutung nicht additiv genetischer Varianz, vor allem in Form von Dominanzeffekten, zu schätzen. Dabei sollte grosser Wert auf die Besetzung aller im Diallel vorhandenen Subzellen gelegt werden, um in der Analyse varianzanalytische Modelle anwenden zu können. Weiterhin sollten auch die Anzahlen ausgewerteter Fische in den Einzelanpaarungen eine Stichprobengrösse von 100 Fischen pro Behandlungsgruppe nicht unterschreiten, um zufällige Effekte auf die Geschlechterverhältnisse zu reduzieren. Epistatische Genwirkungen hingegen könnten über Rück- oder F₂-Kreuzungen der erstellten Linien geschätzt werden. Diese Massnahmen könnten weitere Informationen hinsichtlich des Erbgangs des Merkmals *tsd* liefern.

Des weiteren könnten besonders sensible bzw. unsensible Fische als Gründertiere zum Aufbau homozygot isogener Linien selektiert werden. Die homozygot isogenen

Mitglieder dieser Linien aus gynogenetischer Reproduktion und Anpaarung müssten wiederum in Temperaturtestung auf die Ausprägung der Geschlechterverhältnisse geprüft werden, um Auswirkungen des angewandten Hitzeschocks bei der Gynogenese im Vergleich zur Anpaarung genauer untersuchen zu können.

Ausserdem würde dieser Ansatz erlauben, zu testen, ob wirklich jedem Genotyp ein individueller Schwellenwert für die zur Geschlechtsumkehr nötige Wärmesumme unterliegt, da jede Linie nur einen bestimmten Genotyp repräsentiert.

Molekulargenetische Methoden könnten zum ersten mal direkt die differentielle Expressierung temperatursensibler Gene sowohl zwischen Behandlungs- und Kontrollgruppe sensibler als auch unsensibler homozygot isogener Nachkommengruppen als auch zwischen sensiblen und unsensiblen Genotypen identifizieren.

Weiterhin sollten die biochemischen und endokrinologischen Stoffwechselwege der Geschlechtsdeterminierung und –differenzierung weitergehend untersucht werden. Die Zusammenhänge zwischen der hormonellen und temperaturabhängigen Geschlechtsumkehr könnte weitere Erkenntnisse über die verschiedenen Mechanismen der Geschlechtsdetermination dieser Spezies bringen. Dazu könnten Einzelanpaarungen ausgezuchteter sensibler und unsensibler Genotypen jeweils auf zwei Behandlungsgruppen und eine Kontrollgruppe aufgeteilt werden. Angenommen temperaturabhängige und hormonelle Geschlechtsumkehr bedienen sich der selben biochemischen und endokrinologischen Stoffwechselwege, dann sollten die Geschlechterverhältnisse in beiden Behandlungsgruppen auf einem vergleichbaren Niveau liegen. Wäre dies nicht der Fall, so könnte von unterschiedlichen Stoffwechselwegen und einer genetisch unterschiedlichen Basis der hormonellen und temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung ausgegangen werden. Somit könnten simultan neben der Sensibilität, Parallelen bzw. Unterschiede in der hormonellen und temperaturabhängigen Geschlechtsbestimmung determiniert werden.

5.1.8 Bedeutung und Aussichten für die Praxis

Seit Entdeckung der Möglichkeit zur Erstellung rein männlicher Tilapienbestände mittels Hybridisierung von HICKLING (1960) stieg die Produktion von Tilapien, wohl auch aufgrund ihres breiten Futterspektrums und der Robustheit gegenüber den Haltungsparemtern, von 17331 t im Jahr 1960 auf ca. 1,8 Mio. t im Jahr 2004 rasant an (FAO, 2006). Nicht nur in den ärmeren Ländern dieser Welt ist diese Spezies eine

beliebte Quelle tierischen Proteins. Längst hat sie auch die Märkte in Europa und den USA aufgrund ihrer wohlschmeckenden und bissfesten Filets erreicht und verzeichnet seither eine stetig wachsende Nachfrage. Obwohl Tilapien bereits als die wichtigste Fischart der weltweiten Aquakultur bezeichnet wurden (FITZSIMMONS, 2000), unterliegt ihre Kultivierung immer noch einigen gravierenden, durch die frühe Geschlechtsreife und ungewollte Reproduktion bedingten Limitierungen, die die Leistung der zumeist extensiven Produktionssysteme entscheidend reduzieren. Daher werden eingeschlechtliche Bestände von den Farmern bevorzugt, wobei jedoch die Methoden zur Erstellung dieser ebenso unzuverlässig wie auch aus Umweltgesichtspunkten abzulehnen sind. Lediglich der Einsatz von YY-Zuchtprogrammen könnte eine Alternative darstellen. Diese ist aber sehr kapital-, zeit- und arbeitsintensiv, was sie im Vergleich zur hier vorgestellten Methode unattraktiv macht.

Die Ergebnisse dieser Studie sind somit Wegbereiter für eine sowohl zuverlässige als auch umwelt- und konsumentenfreundliche Methode, die auf jeglichen Hormoneinsatz verzichtet und trotzdem mit sehr wenig Material- und Kapitaleinsatz durchgeführt werden kann. Auf der einen Seite könnten Farmer in ruralen Gebieten von dieser Methode profitieren, in dem sie die eigene erzeugte Brut während der geschlechtslabilen Phase einer Temperatur von 36°C aussetzen, sofern die Herkunft sich als sensibel erweist. Bereits die Tatsache, dass auch ohne grossartiges Management diese Massnahme zur Erhöhung der Männchenanteile führt, erhöht angesichts des starken Geschlechtsdimorphismus zugunsten der Männchen die Leistung des Gesamtsystems.

Auf einem höheren Managementniveau könnte ein Selektionsindex zur Erstellung temperatursensibler, wachstumsoptimierter Tilapien erstellt werden. Hier könnten in einem integrierten System Zuchtprogramm, Setzlingserzeugung und Mast voneinander getrennt stattfinden. Die Durchführung eines Selektionsprogramms auf Erhöhung der Geschlechterverhältnisse durch Temperaturbehandlung würde zunächst die Identifikation sensibler Elterntiere anhand einer familienweisen Nachkommentestung in Diallelform beinhalten. Dabei müssten jeweils Kontroll- und Behandlungsgruppen getrennt gehalten werden, um die identifizierten sensiblen Familien in Form der nicht behandelten Kontrollgruppen selektieren und als Laichfische für Folgegenerationen nutzen zu können.

Eine nachhaltige Erhöhung der Männchenanteile mittels der hier beschriebenen Methode auf einen Männchenanteil von über 95%, dessen Überschreitung zur effektiven

Unterbindung der Verbuttung nötig ist (LORENZEN, 2000), scheint aufgrund der erzielten Ergebnisse realistisch zu sein. Somit kann die hier entwickelte Methode als sehr aussichtsreich für weitere Effektivitätssteigerungen in der Tilapienproduktion auf eine umweltverträgliche und gleichzeitig konsumentenfreundliche Weise, angesehen werden.

6 Zusammenfassung

Tilapien sind mit einer weltweiten Jahresproduktion von 1,8 Mio. Tonnen eine der wichtigsten in der Aquakultur kultivierten Spezies. Dies ist zum einen bedingt durch ihr breites Futterspektrum. Zum anderen zeichnet sich diese Spezies durch eine sehr grosse Robustheit gegenüber dem Handling und den Haltungsparemtern aus. Das weisse, bissfeste und zugleich wohlschmeckende Fleisch dieser Spezies ist sehr begehrt und erfreut sich einer stetig wachsenden Nachfrage. Trotzdem unterliegt die Kultivierung dieser Spezies in den meist extensiven Haltungssystemen immer noch einigen gravierenden Problemen. Die frühe Geschlechtsreife und das Ablachen in den Teichen führt zu einer unkontrollierten Reproduktion. Dadurch wird die Gesamtleistung dieser Systeme erheblich reduziert. Daher werden eingeschlechtlich männliche Bestände für die Kultivierung bevorzugt. Verschiedene Studien wiesen bereits einen Einfluss der Temperatur auf die phänotypische Geschlechtsdeterminierung von *Oreochromis niloticus* nach und unterstellten diesem Merkmal eine erbliche Basis. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein Selektionsexperiment über zwei Generationen zur Erhöhung der Männchenanteile mittels Temperaturbehandlung durchgeführt. Zur Ermittlung der Temperatursensibilität wurde jeweils eine Kontroll- und eine Behandlungsgruppe vom neunten bis zum zehnten Tag nach der Befruchtung bei 28 °C bzw. 36 °C aufgezogen, um dann nach 90 Tagen die Geschlechterverhältnisse dieser Gruppen zu bestimmen. Das Selektionskriterium war der Männchenanteil in der temperaturbehandelten Vollgeschwistergruppe. Ausgehend von einer Basispopulation mit 36 Familien der Herkunft Lake Manzala wurden so hoch und schwach sensible Familien selektiert und zur Erstellung zweier divergierender Linien genutzt. Die Ergebnisse der zwei Selektionsgenerationen zeigten, dass eine Selektion auf temperaturerhöhte Männchenanteile möglich ist. So wurde in den Behandlungsgruppen der Linie High ein Männchenanteil von 83,7% in der ersten Selektionsgeneration dokumentiert, um dann in der zweiten Selektionsgeneration auf 90,2% anzusteigen. Die Abwärtsselektion hingegen zeigte nach der ersten Selektion nur einen geringen Selektionserfolg. Nach einer weiteren Selektion (2.SG) ergab sich auch in der Linie Low ein hoher Selektionserfolg. Der Männchenanteil in dieser Linie sank von 65,6% auf 54%. Da in den Kontrollen kein korrelierter Selektionserfolg festgestellt wurde, wird davon ausgegangen, es handele sich bei den in zwei

davon ausgegangen, es handele sich bei den in zwei verschiedenen Umwelten ausgeprägten Geschlechterverhältnissen um genetisch nicht korrelierte Merkmale.

Somit bestätigt das vorliegende Experiment, dass die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung einer hoch erblichen Komponente unterliegt, ausgewiesen durch einen hohen Selektionserfolg und eine hohe realisierte Heritabilität von 0,69 in den Linien High und Low. Weiterhin wird aufgrund des hohen Selektionserfolgs vermutet, dass wenige Hauptgene für die temperaturabhängige Geschlechtsausprägung ausschlaggebend sind.

Aufgrund der hier erzielten Ergebnisse scheint somit eine nachhaltige Erhöhung der Männchenanteile auf einen Prozentsatz von über 95%, dessen Überschreitung zur effektiven Unterbindung der Verbutterung nötig ist, mittels der hier beschriebenen Methode, realistisch zu sein.

Die auf 30 Tage ausgeweitete Temperaturtestung von Nachkommen aus homozygot isogenen Linien erbrachte im Gegensatz zu früheren Studien keine männlichen Nachkommen. Dieses Feld bedarf aufgrund der teilweise widersprüchlichen Ergebnisse weitergehender Untersuchungen.

7 Summary

Tilapia are one of the most important species in commercial aquaculture world wide. On the one hand this is due to their ability to utilize a broad variety of food sources. On the other hand tilapia show a high resistance towards poor water conditions and handling stress. The white filets have a very good texture and a delicious taste. Hence, the demand for tilapia is steadily increasing especially in the USA and Europe.

As mixed-sex tilapia stocks are mainly farmed in extensive systems their high fecundity and reproduction rate results in overcrowding in the ponds. Therefore all-male stocks are highly desirable. Previous investigations in this species showed a strong influence of temperature on sex determination with an underlying genetic basis. Thus, losses in productivity due to stunting of mixed sex Nile Tilapia stocks could be alleviated by production of temperature sensitive lines to sustainably increase the proportion of males by temperature treatment. A two generation selection experiment was conducted starting with 36 families of *Oreochromis niloticus* from Lake Manzala (Egypt) as base population. The families were screened for their thermal sensitivity in the following way. After a 9 day incubation period at 28°C, fry were subdivided into a control (28°C) and a treatment group, each containing 110 fish. The treatment group was kept at a temperature of 36°C for 10 days. Thereafter treated fry were gradually adapted to 28°C again. Each treatment and corresponding control group was raised separately till sexing. The percentage of males in treatment groups was the selection criteria and the families showing the greatest surplus in their sex ratios compared to their corresponding control groups were selected. Starting with a basepopulation of 36 Manzala strain fullsib families temperature sensitive and non-sensitive lines were developed. The results clearly indicated selection for temperature dependent sex determination is possible. After on generation of upwards selection a male percentage of 83.7% was obtained. After second selection it further augmented to 90.2% males. In contrast downwards selection showed a weak response to selection after first selection. Showing a decrease in the male percentage to 65.2%. Second selection lead to a high response to selection showing a reduction in male percentage of 11.2% to 54%. Due to the fact that no correlated response to selection was observed

in the control groups, it is argued that temperature sex determination and genetic sex determination can be described as two distinct traits not being genetically correlated. The results obtained showed that selecting for temperature dependent sex ratios is a feasible approach to redundantise hormone feeding to sexually undifferentiated fry. A high response to selection and a realised heritability of 0.69, clearly demonstrated that temperature sex determination has a highly heritable genetic background. Regarding the high response to selection and realized heritability the action of few major genes causing the bulk of additive variation and minor genes causing the remaining additive variance seem to be responsible for expression of temperature sex determination in Nile Tilapia.

Thus, the results obtained showed that it is realistic to obtain a male proportion exceeding 95%, which is necessary to effectively avoid stunting, by means of selection for temperature dependent sex determination.

In contrast, prolongation of temperature treatment to 30 days was not able to induce temperature sex reversal in crosses and meiotic gynogenetic offspring of genetic female homozygous isogenic lines. The present study revealed contradictory results regarding sex ratios obtained from such genotypes in earlier investigations. Therefore, his area of research requires further investigations to eliminate contradictory results.

8 Literaturverzeichnis

- ABUCAY, J.S.; MAIR, G.C.; SIBINSKI, D.O.F. & BEARDMORE, J.A. (1999): Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L.. *Aquaculture* 173, 219-234
- ALTENA, A. & HÖRSTGEN-SCHWARK, G. (2002): Effects of rearing temperatures on Sex Ratios in Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., investigations on a local population from the lake Victoria in Kenya. *Deutscher Tropentag 2002*, Witzenhäusen, p. 184
- ANDERSEN, Ø & GJEDREM, T. (2005): Population genetics. In: T. Gjedrem (ed.). *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 23-44
- ARGUE, B.J. & PHELPS, R.P. (1995): Temperature effect on sex ratios in *Oreochromis niloticus*. *J.Appl.Ichthyol.* 11, 126-128
- ARMSTRONG, J.B. (1984): Genetic mapping in the Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Can. J.Genet.Cytol.* 26, 1-6
- AYLING, L.-J. & GRIFFIN, D.K. (2002): The Evolution of sex chromosomes. *Cytogenet.Genome Research* 99, 125-140
- AVTALION, R.R. & DON, J. (1990): Sex determining genes in tilapia: a model of genetic recombination emerging from sex ratio results of three generations of diploid gynogenetic *Oreochromis aureus*. *J.Fish Biology* 37, 167-173
- AVTALION, R.R., WOJDANI, A. & PRUGININ, Y. (1976): Determination of allogeneic and xenogeneic markers in the genus of Tilapia. II. Identification of *T. aurea*, *T. vulcani* and *T. nilotica* by electrophoretic analysis of their serum proteins. *Aquaculture* 7, 255-265

- AVTALION, R.R. & HAMMERMANN, L.S. (1978): Sex determination in *Sarotherodon* (Tilapia). I. Introduction to the theory of autosomal influence. *Bamidgeh* 30, 110-115
- BALARIN, J.D. & HUTTON, J.P. (1979): Tilapia. A guide to their biology and culture in Africa. Unit of Aquatic Pathobiology, University of Stirling, Scotland
- BAROILLER, J.-F.; FOSTIER, A.; CAUTY, C.; ROGNON, X. & JALABERT, B. (1993): Effects of High rearing temperatures on sex ratio of progeny from sex-reversed males of *Oreochromis niloticus*. In: Pullin, R.S.V., Lazard, J.; Legendre, M; Amon Kothias, J.B. & Pauly, D. (eds.). The third international Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41
- BAROILLER, J.-F.; CHOURROUT, D.; FOSTIER, A. & JALABERT, B. (1995a): Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *J. Exp. Zool.* 273, 216-223
- BAROILLER, J.F.; CLOTA, F. & GERAF, E. (1995b): Temperature sex determination in two tilapia, *Oreochromis niloticus* and the red tilapia (Red florida strain): Effect of high or low temperature. In: Goetz, F.W. & Thomas, P. (eds). Proceedings of the fifth international Symposium on the reproductive physiology of fish. The Univ. Texas Austin, Texas, USA, 2-8 July 1995
- BAROILLER, J.-F. & TOGUYENI, A. (1996a): Comparative effects of a natural androgen, 11 β -Hydroxyandrostendione, and a synthetic androgen, 17 α -Methyltestosterone, on the sex ratios of *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J.Lazard, M.Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (Eds.). The third international symposium on tilapia in aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, pp. 229-237

- BAROILLER, J.-F. (1996b): Significant proportions of unexpected males in progenies from single pair matings with sibling sex reversed males of *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J.Lazard, M.Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (Eds.). The third international symposium on tilapia in aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, pp. 238-245
- BAROILLER, J.-F.; FOSTIER, A.; CAUTY, C.; ROGNON, X. & JALABERT, B. (1996c): Effects of High rearing temperatures on sex ratio of progeny from sex reversed males of *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J.Lazard, M.Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (Eds.). The third international symposium on tilapia in aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41, pp. 246-256
- BAROILLER, J.F.; NAKAYAMA, I.; FORESTI, F. & CHOURROUT, D. (1996d): Sex determination studies in two species of teleost fish, *Oreochromis niloticus* and *Leporinus elongatus*. Zoological studies 35, 279-285
- BAROILLER, J.-F.; GUIGUEN, Y. & FOSTIER, A. (1999): Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. Cell.Mol. Life Sci. 55, 910-931
- BAROILLER, J.-F.; CLOTA, F. & D'COTTA, H. (2000): Genetic and environmental sex determination: Review. Tilapia Aquaculture in the 21st century. Proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia Aquaculture, Rio de Janeiro, Brazil, 3-7 September, 2000
- BENTSEN, H.B. (2005): Polygenic Inheritance. In: T. Gjedrem (ed.). Selection and Breeding Programs in Aquaculture. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 35-43
- BULMER, M.G. & BULL, J.J. (1982): Models of polygenic sex determination and sex ratio evolution. Evolution 36, 13-26
- BULMER, M.G. (1985): The mathematical theory of quantitative genetics. Clarendon Press, London, pp. 262

-
- BULL, J.J. (1983): Evolution of sex determining mechanisms. Benjamin/Cummings, Menlo Park, California, USA pp. 316
- BULL, J.J.; VOGT, R.C. & BULMER, M.G. (1982): Heritability of sex ratio in turtles with environmental sex determination. *Evolution* 36, 333-341
- BULL, J.J.; GUTZKE, W.H.N. & BULMER, M.G. (1988): Nest choice in a captive lizard with temperature-dependent sex determination. *J.Evol.Biol.* 2, 177-184
- BUXTON, C.D. & GARRAT, P.A. (1990): Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: *Sparidae*). *Environ. Biol. Fishes* 28, 113-124
- CALHOUN, E.W. & SHELTON, W.L. (1983): Sex ratios of progeny from mass spawnings of sex reversed broodstock of tilapia nilotica. *Aquaculture* 33, 365-371
- CAMPOS-RAMOS, R.; HARVEY, S.C.; MASABANDA, J.S.; CARRASCO, L.A.P.; GRIFFIN, D.K.; McANDREW, B.J.; BROMAGE, N.R. & PENMAN, D.J. (2001): Identification of putative sex chromosomes in the blue tilapia, *Oreochromis aureus*, through synaptonemal complex and FISH analysis. *Genetica* 111, 143-153
- CAMPOS-RAMOS, R; HARVEY, S.C.; McANDREW, B. & PENMAN, D.J.(2003): An investigation of sex determination in the mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus*, using synaptonemal complex analysis, FISH, sex reversal and gynogenesis. *Aquaculture* 221, 125-140
- CARRASCO, L.A.P.; PENMAN, D.J. & BROMAGE, N. (1999): Evidence for the presence chromosomes in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from synaptonemal complex analysis of XX, XY and YY genotypes. *Aquaculture* 173, 207-218
- CHARLESWORTH, B. (1991): The evolution of sex chromosomes. *Science* 251, 1030-1033

- CHEN, F.Y. (1969): Preliminary studies on the sex-determining mechanism of *Tilapia mossambica* Peters and *T.hornorum* Trewavas. Verh.Intern.Ver.Limnol. 17, 719-724
- CODY, R.P. & BORTONE, S.A. (1992): An investigation of the reproductive mode of the pinfish *Lagodon rhomboides* Linnaeus Osteichtyes Sparidae. Northeast Gulf Sci. 12, 99-110
- CONOVER, D & KYNARD, B.E. (1981): Environmental sex determination: Interaction of temperature and genotype in a fish. Science 213, 577-579
- CONOVER, D. & HEINS, S.W. (1987): The environmental and genetic components of sex ratio in *Menidia menidia* (Pisces: Atherinidae). Copeia, 1987(3), 732-743
- CONOVER, D.O.; VAN VORHEES, D.A. & ETHISHAM, A. (1992): Sex ratio selection and the evolution of environmental sex determination in laboratory populations of *Menidia menidia*. Evolution 46, 1722-1730
- CRAIG, J.K.; FOOTE, C.J. & WOOD, C.C. (1996): Evidence for temperature-dependent sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). Can.J.Fish.Aquat.Sci. 53, 141-147
- D´COTTA, H.; FOSTIER, A.; GUIGEN, Y.; GOVOROUN, M. & BAROILLER, J.-F. (2001a): Aromatase plays a key role during normal and temperature-induced sex differentiation of tilapia (*Oreochromis niloticus*). J.Exp.Zool. 290, 265-276
- D´COTTA, H.; FOSTIER, A.; GUIGEN, Y.; GOVOROUN, M. & BAROILLER, J.-F.(2001b): Search for genes involved in the temperature-induced gonadal sex differentiation in the tilapia, *Oreochromis niloticus*. J.Exp.Zool. 290, 574-585
- DESPREZ, D. & MÉLARD, C.(1998): Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia *Oreochromis aureus*. Aquaculture 162, 79-84

- DEVLIN, R.C.; BIAGI, C.A. & SMAILUS, D.E. (2001): Genetic mapping of Y-chromosomal DNA markers in Pacific salmon. *Genetica* 111, 43-58
- DEVLIN, R.C. & NAGAHAMA, Y. (2002): Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture* 208, 108-364
- DIETZ, T.J. (1994): Acclimation of the threshold induction temperatures for 70-kDA and 90-kDA Heat shock proteins in the fish *Gillichthys mirabilis*. *J.Exp. Biol.* 188, 333-338
- DORIZZI, M.; RICHARD-MERCIER, N. & PIEAU, C. (1996): The ovary retains male potential after the thermosensitive period for sex determination in the turtle *Emys orbicularis*. *Differentiation* 60, 193-201
- EZAZ, M.T.; MYERS, J.M.; POWELL, S.F.; McANDREW, B.J.; PENMAN, D.J. (2004): Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic yy male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L.. *Aquaculture* 232, 205-214
- FALCONER, D.S. & MACKAY, T.F.C. (1996): Introduction to quantitative Genetics. Pearson Education, Essex, England, pp. 464
- FILATOV, D. (2005): Stickleback's view of sex chromosome evolution. *Heredity* 94, 275-276
- FISHELSON, L. (1992): Comparative gonad morphology and sexuality of the *Muraenidae* Pisces Teleostei. *Copeia* 1992, 197-209
- FISHER, R.A. (1930): The genetic theory of natural selection. Cleredon, Oxford (zitiert in Trivers & Willard, 1973).

- FITZSIMMONS, K. (2000): Tilapia the most important aquaculture species of the 21st century. Tilapia Aquaculture in the 21st century. Proceedings of the Fifth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Rio de Janeiro, Brazil, September 3-7, 2000
- FORESTI, F.; OLIVIERA, C.; GALETTI, P.M. & DEALMEIDA TOLEDO, L.F. (1993): Synaptonemal complex-analysis in spermatocytes of tilapia, *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae). Genome 36, 1124-1128
- FUKADA, S.; TANAKA, M.; IWAYA, M; NAKAJIMA, M. & NAGAHAMA, Y. (1995): The Sox gene family and its expression during embryogenesis in the teleost fish, medaka (*Oryzias latipes*). Develop. Growth Differ. 37, 379-385
- GJEDREM, T. (2005): Selection and breeding programs in Aquaculture. Dordrecht, Netherlands, Springer 2005, pp. 364
- GJEDREM, T. & THODESEN, J. (2005): Selection. In: T. Gjedrem (ed.). Selection and Breeding Programs in Aquaculture. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 89-110
- GORDON, M. (1947): Genetics of *Platypecilus maculatus*. IV. The sex determining mechanism in two wild populations of the Mexican Platyfish. Genetics 32, 8-17
- GRIFFIN, D.K.; HARVEY, S.C.; CAMPOS-RAMOS, R.; AYLING, L.-J.; BROMAGE, N.R.; MASSABANDA, J.S. & PENMAN, D.J. (2002): Early origins of the X and the Y Chromosomes: Lessons from tilapia. Cytogenet.Genome Res. 99, 157-163
- GUAN, G.; KOBAYASHI, T. & NAGAHAMA, Y (2000): Sexually Dimorphic Expression of Two Types of DM (*Doublesex/Mab-3*)-Domain Genes in a teleost fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Biochem.Biophys. Res. Com. 272, 662-666

- GUERRERO, R.D. (1975): Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans.Am.Fish.Soc.* 2, 342-348
- GUIGUEN, Y.; BAROILLER, J.-F.; RICORDEL, M.-J.; ISEKI, K.; McMEEL, O.M.; MARTIN, S.A.M. & FOSTIER, A. (1999): Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Mol.Reprod.Develop.* 54, 154-162
- GUILHEME, L.C. (1992): Progeny test in *Oreochromis niloticus* (Trewavas, 1982) submitted to sexual inversion. *Cienc.Prat.* 16, 283-287
- HABITZKY-BIESTER, H. (1987): Vergleichende Untersuchungen zu Erbrütungs- und Aufzuchtmethoden bei Afrikanischen Buntbarschen (*Oreochromis niloticus*). Dissertation, Universität Göttingen
- HAMMERMAN, I.S. & AVTALION, R.R. (1979): Sex determination in Sarotherodon (Tilapia). *Theor.Appl.Genet.* 55, 177-187
- HARRY, J.L.; WILLIAMS, K.L. & BRISCOE, D.A. (1990): Sex determination in loggerhead turtles: differential expression of two *hnRNP* proteins. *Development* 109, 305-312
- HARVEY, S.C.; MASABANDA, J.; CARRASCO, L.A.P.; BROMAGE, N.R.; PENMAN, D.J. & GRIFFIN, D.K. (2002): Molecular-cytogenetic analysis reveals sequence differences between the sex chromosomes of *Oreochromis niloticus*: evidence for an early stage of sex-chromosome differentiation. *Cytogenet. Genome Res.* 79, 76-80
- HARVEY, S.C.; BOONPHAKDEE, C.; CAMPOS-RAMOS, R.; EZAZ, M.T.; GRIFFIN, D.K.; BROMAGE, N.R. & PENMAN, D.J. (2003): Analysis of repetitive DNA sequences in the sex chromosomes of *Oreochromis niloticus*. *Cytogenet. Genome Res.* 101, 314-319

- HAZEL, W.N.; SMOCK, R. & JOHNSON, M.D. (1990): A polygenic model for the evolution and maintenance of conditional strategies. *Proc.R.Soc.Lond.B* 242, 181-187
- HETT, A.K.; JENNECKENS, I. & LUDWIG, A. (2005): Characterisation of *Sox9* in the European Atlantic Sturgeon (*Acipenser sturio*). *J.Heredity* 96, 150-154
- HICKLING, C.F. (1960): The Malacca tilapia hybrids. *J.Genet.* 57, 1-10
- HÖRSTGEN-SCHWARK, G. & PUCKHABER, B. (1996): Neue Technologien in der Fischzucht und –haltung. Cuvillier Verlag Göttingen, pp. 91
- HUANG, X., CHENG, H.; GUO, Y.; LIU, L.; GUI, J. & ZOUH, R. (2002): A conserved family of *doublesex*-related genes from fishes. *J.Exp.Zool.* 294, 63-67
- HUNTER, G.A. & DONALDSON, E.M. (1983): Hormonal sex control and it's application to fish culture. In: Hoar, W.S., RANDALL, D.J. & DONALDSON, E.M. (eds.). *Fish physiology*, Vol. 9 (b). Academic Press, New York, p. 223-303
- HUSSAIN, M.G.; McANDREW, B.J.; PENMAN, D.J. & SODSUK, P. (1994): Estimate gene-centromere recombination frequencies in gynogenetic diploids of *Oreochromis niloticus* (L.) using allozymes, skin colour and a putative sex-determination locus (*SDL-2*). In: A.R. Beaumont (ed.). *Genetics and evolution of aquatic organisms*. Chapman & Hall, London, U.K. pp. 502-508
- ITURRA, P.; MEDRANO, J.F.; BAGLEY, M.; LAM, N.; VERGARA, N. & MARIN, J.C. (1998): Identification of sex chromosome molecular markers using RAPDs and fluorescent *in situ* hybridization in rainbow trout. *Genetica* 101, 209-213
- ITURRA, P.; BAGLEY, M.; VERGARA, N.; IMBERT, P. & MEDRANO, J.F. (2001): Development and characterisation of DNA sequence *OmyP9* associated with the sex chromosomes in rainbow trout. *Heredity* 86, 412-419

- JALABERT, B.; KAMAMACHER, P. & LESSENT, P. (1971): Determinisme du sexes chez les hybrides entre *Tilapia macrochir* et *T.nilotica*. Etude de la sex-ratio dans le srecroisements des hybrides de premiere generation par les especes parentes. Ann.Biol.Anim.Biochem.Biophys. 11, 155-165
- JALABERT, B.; MOREAU, J.; PLANQUETTE, D. & BILLARD, R. (1974): Détermi-nisme du sexe chez *Tilapia macrochir* et *Tilapia nilotica*: action de la méthyltes-tosterons dans l'alimentation des alevins sur la différenciation sexuelle; propor-tion des sexes dans la descendance des males 'inverses'. Ann.Biol.Anim.Bioch.Biophys. 14, 729-739
- JANZEN, F.J. (1992): Heritable variation for sex ratio under environmental sex de-termination in the common snapping turtle (*Chelydra serpentina*). Genetics 131, 155-161
- KALLMAN, K.D. (1965): Genetics and geography of sex determination in the poecilid fish, *Xiphophorus maculatus*. Genetics 50, 151-190
- KAPLAN, R.H. & COOPER, W.S. (1984): The evolution of developmental plasticity in reproductive characteristics: an application of the "adaptive coin flipping" princi-ple. Am. Nat. 123, 393-410
- KARAYÜCEL, I.; EZAZ, T.; KARAYÜCEL, S.; McANDREW, B.J. & PENMAN, D.J. (2004): Evidence for two unlinked "sex reversal" loci in the Nile tilapia, *Oreo-chromis niloticus*, and for linkage of one of these to the red body colour gene. Aquaculture 234, 51-63
- KOBAYASHI, T.; KAJIURA-KOBAYASHI, H. & NAGAHAMA, Y. (2003): Induction of XY sex reversal by oestrogen involves altered gene expression in a teleost, tila-pia. Cytogenet.Genome Res. 101, 289-294

- KOMEN, J. & RICHTER, C.J.J. (1990): Clones of common carp, *Cyprinus carpio*. New perspectives in fish research. Sex control in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Dissertation, Agriculture University Wageningen, pp. 151
- KONDO, M.; NANDA, I.; HORNING, U.; ASAKAWA, S.; SHIMIZU, N.; MITANI, H.; SCHMID, M.; SHIMA, A. & SCHARTL, M. (2003): Absence of the candidate male sex-determining gene *Dmrt1b (Y)* of medaka from other fish species. *Curr. Biol.* 13, 416-420
- KOOPMAN, P. (1999): *Sry* and *Sox9*: mammalian testis-determining genes. *Cell. Mol. Life Sci.* 55, 839-856
- KOOPMAN, P. (2001a): *Sry*, *Sox9* and mammalian sex determination. In: G.Scherer & M. Schmid (eds.). *Genes and mechanisms in vertebrate sex determination*. Birkhäuser Verlag, Basel – Boston – Berlin, 2001, pp.25-56
- KOSSWIG, C. (1964): Polygenic sex determination. *Experientia* 20, 190-199
- KRONERT, U.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G. & LANGHOLZ, H.J. (1989): Prospects for selecting on late maturity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). I. Family studies under laboratory conditions. *Aquaculture* 77, 113-121
- KWON, J.Y.; HAGHPANAH, V; KOGSON-HURTADO, L.M.; McANDREW, B. & PENMAN, D.J. (2000): Masculinization of genetic female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary administration of an aromatase inhibitor during sexual differentiation. *J. Exp.Zool.* 287, 46-53
- KWON, J.Y.; McANDREW, B.J. & PENMAN, D.J. (2002): Treatment with an aromatase inhibitor suppresses high-temperature feminization of genetic male (YY) Nile tilapia. *J.Fish. Biol.* 60, 625-636
- LAHAV, E. (1993): Use of sex reversed females to produce all-male tilapia (*Oreochromis aureus*) fry. *Isr.J.Aquacult.* 45, 131-136

- LAGOMARSINO, I.V. & CONOVER, D.O. (1993): Variation in environmental and genotypic sex determining mechanisms across a latitudinal gradient in the fish, *Menidia menidia*. *Evolution* 47, 487-494
- LESTER, L.J.; LAWSON, K.S; ABELLA, T.S. & PALADA, M.S. (1989): Estimated heritability of sex ratio and sexual dimorphism in tilapia. *Aquacult.Fish.Manag.* 20, 369-380
- LEVENE, H. (1953): Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. *Am.Nat.* 87, 311-313
- LINDSLEY, L.; FRANKHAUSER, G. & HUMPREY, R.R. (1956): Mapping centromeres in the axolotl. *Genetics* 41, 58-64
- LORENZEN, K. (2000): Population dynamics and management. In: Malcolm C.M. Beveridge and Brendan J. McAndrew (Eds): *Tilapias: Biology and Exploitation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande; pp. 505
- LUCCHESI, J.C. (1978): Gene dosage compensation and the evolution of sex chromosomes. *Science* 202, 711-716
- LUTFALLA, G.; CROLLIUS, H.R.; BRUNET, F.G.; LAUDET, V. & ROBINSON-RECHAVI, M. (2003): Inventing a sex-specific gene: A conserved role of *DMRT1* in teleost fishes plus a recent duplication in the medaka *Oryzias latipes* resulted in *DMY*. *J.Mol.Evol.* 57, 148-153
- MAIR, G.C. & ABUCAY, J.S. (2001): Selection approaches for improved genetically male tilapia (GMT[®]) in *Oreochromis niloticus*. Abstracts of Aquaculture 2001, Lake Buena Vista, FL, USA, 21-25 Jan 2001. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA

- MAIR, G.C.; BEARDMORE, J.A. & SIBINSKI, D.O.F. (1989): Experimental evidence for environmental sex determination in *Oreochromis* species. Proceedings of the second Asian Fisheries Forum, Tokyo Japan. The second Asian Fisheries Forum, Tokyo Japan, pp. 555-558
- MAIR, G.C.; ABUCAY, J.S.; SIBINSKI, D.O.F.; ABELLA, T.A. & BEARDMORE, J.A. (1997): Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus*. Can. J.Fish. Aquat.Sci. 54, 369-404
- MAIR, G.C.; PENMAN, D.J., SIBINSKI, D.O.F. & BEARDMORE, J.A. (1991a): Sex determination in the genus *Oreochromis*. 1. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O.niloticus* (L.). Theor.appl.Genet. 82, 144-152
- MAIR, G.C.; PENMAN, D.J., SIBINSKI, D.O.F. & BEARDMORE, J.A. (1991b): Sex determination in the genus *Oreochromis*. 2. Sex reversal, hybridisation, gynogenesis and triploidy in *O.aureus* Steindachner. Theor.appl.Genet. 82, 153-160
- MAJUMDAR, K.C. & McANDREW, B.J. (1983): Sex ratios from interspecific crosses within the tilapias. In: Fishelson, L. & Yaron, Z. (Compilers). International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Tel Aviv University, pp 261-269
- MATSUDA, M.; MATSUDA, C.; HAMAGUCHI, S. & SAKAIZUMI, M. (1998): Identification of the sex chromosomes of the medaka, *Oryzias latipes*, by fluorescence *in situ* hybridization. Cytogenet.Cell.Genet. 82, 257-262
- MATSUDA, M.; SOTOYAMA, S.; HAMAGUCHI, S. & SAKAIZUMI, M. (1999): Male specific restriction of recombination frequency in the sex chromosomes of the medaka, *Oryzias latipes*. Genet.Res. 73, 225-231
- MATSUDA, M; NAGAHAMA, Y. & SHINOMIYA, A. et al. (2002): *DMY* is a Y-specific *DM* domain gene required for male development in the medaka fish. Nature 417, 559-563

- MATSUDA, M. (2003): Sex determination in fish: Lessons from the sex determining gene of the teleost medaka, *Oryzias latipes*. *Develop.Growth Differ.* 45, 397-403
- MELARD, C.; DESPREZ, D. & PHILIPPART, J.C. (1994): Sex control in tilapia: overview and perspectives of 10 years experiences at the aquaculture research station of Tihange. *Cah.Ethol.Fond.Appl., Anim.Hum.* 13, 421-434
- MELARD, C. (1995): Production of a high percentage of male offspring with 17-alpha-ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*: 1. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. *Aquaculture* 130, 25-34
- MORAIS BORGES, A.; COSTA MORETTI, J.O.; McMANUS, C. & SILVA MARIANTE, A. (2005): Produção de populações monossexo macho de tilápia-donilo de linhagem Chitralda. *Pesq. Agropec. Bras.* 40, 153-159
- MÜLLER-BELECKE, A. & HÖRSTGEN-SCHWARK, G. (1995): Sex determination in tilapia (*Oreochromis niloticus*) sex ratios in homozygous gynogenetic progeny and their offspring. *Aquaculture* 137, 57-65
- MÜLLER-BELECKE, A. (1997): Entwicklung homozygoter Zuchtlinien bei Tilapien (*Oreochromis niloticus*). Dissertation, Göttingen.
- MÜLLER-BELECKE, A. & HÖRSTGEN-SCHWARK, G. (2000): Performance testing of clonal *Oreochromis niloticus* lines. *Aquaculture* 184, 67-76
- NAKAMURA, M.; KOBAYASHI, T.; CHANG, X.-T. & NAHAGAMA, Y. (1998): Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J.Exp.Zool.* 281, 362-372
- NAKAMURA, M.; BHANDARI, R.K. & HIGA, M (2003): The role estrogens play in the sex differentiation and sex changes of fish. *Fish Phys.Biochem.* 28, 113-117

- NANDA, I.; KONDO, U.; HORNING, S.; ASAKAWA, C. WINKLER et al. (2002): A duplicated copy *DMRT1* in the sex determining region of the Y-Chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 99: 11778-11783
- NANDA, I.; HORNING, U.; KONDO, M.; SCHMID, M. & SCHARTL, M. (2003): Common spontaneous sex-reversed XX-males of the Medaka *Oryzias latipes*. Genetics 163, 245-251
- OBI, A. (1989): Progeny sex ratios from androgen-treated *Oreochromis hornorum*. J.Aquat. Sci. 4, 41-44
- OHNO, S. (1967): Sex chromosomes and sex-linked genes. Springer-Verlag, Berlin
- OLDORF, W.; KRONERT, U.; BALARIN, J.; HALLER, J.; HÖRSTGEN-SCHWARK, G. & LANGHOLZ, H.J. (1989): Prospects for selecting on late maturity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). I. Strain comparisons under laboratory and field conditions. Aquaculture 77, 123-133
- OWENS, D.WM. & MORRIS, Y.A. (1985): The comparative endocrinology of sea turtles. Copeia 1985(3), 723-735
- PENMAN, D.J.; SHAH, M.S.; BEARDMORE, J.A. & SIBINSKY, D.O.F. (1987): Sex ratios of gynogenetic and triploid tilapia. Tiews, K. (ed.): Proceedings of the world Symposium of selection, hybridization, and genetic engineering in aquaculture, Vol. II, Heenemann, Berlin
- PHELPS, R.P.; ARNDT, J.T. & WARRINGTON, R.L. (1999): Methods for strain variations in sex ratio inheritance and methods for the contribution from the male and female genome to sex inheritance. In: K. McElwee; D. Burke; M.Niles & H. Egna (eds.). Sixteenth annual technical report. Pond Dynamics/ Aquaculture CRSP, Oregon State University, Corvallis, Oregon pp. 65-68

- PIEAU, C. ; DORIZZI, M.; RICHARD-MERCIER, N. & DESVAGES, G. (1998): Sexual differentiation of gonads as a function of temperature in the turtle *Emys orbicularis*: Endocrine Function, Intersexuality and growth. J.Exp.Zool. 281, 400-408
- PIEAU, C. & DORIZZI, M. (2004): Oestrogens and temperature-dependent sex determination in reptiles: all is in the gonads. J.Endocrinology 181, 367-377
- PIFFERER, F.; ZANUY, S.; CARILLO, M.; SOLAR, I.I.; DEVLIN, R.H. & DONALDSON, E.M. (1994): Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes chromosomally female salmon to develop as normal functional males. J. Exp. Zool. 270, 255-262
- PRUGININ, Y. (1967): Report to the government of Uganda on the experimental fish culture project in Uganda, 1965-66. FAO/UNDP (Technical Assistance). Ann. Univ. Abidjan, Ser. E 8, 139-145
- PRUGININ, Y.; ROTHARD, S.; WOHLFARTH, G.; HALVEY, A.; MOAV, R. & HULATA, G. (1975): All male *Tilapia nilotica* x *Tilapia aurea* hybrids. Aquaculture 6, 11-21
- REFSTIE, T. & GJEDREM, T. (2005): Reproductive traits in aquatic animals. In: T. Gjedrem (ed.). Selection and Breeding Programs in Aquaculture. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 114-120
- REINSCHMIDT, D., FRIEDMAN, J.; HAUTH, J.; RATNER, E.; COHEN, M.; MILLER, M.; KROTOSKA, D. & TOMPLINS, R. (1985): Gene-centromere mapping in *Xenopus laevis*. J.Hered. 76, 345-347
- RICE, W.R. (1996): Evolution of the Y sex chromosome in animals. Biosciences 46, 331-343
- ROFF, D.A. (1994): The evolution of dimorphic traits: Predicting the genetic correlation between environments. Genetics 136, 395-401

- SADOVY, Y. & SHAPIRO, D.Y. (1987): Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia* 1987, 136-156
- SAILLANT, E.; FOSTIER, A.; HAFFRAY, P.; MENU, B.; THIMONIER, J. & CHATAIN, B. (2002): Temperature effects and genotype-temperature interactions on sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *J.Exp.Zool.* 292, 494-505
- SARDER, M.R.I.; PENMAN, D.J.; MYERS, J.M. & McANDREW, B.J. (1999): Production and propagation of fully inbred clonal lines in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *J.Exp.Zool.* 284, 675-685
- SCHERER, G.(1999): Introduction: vertebrate sex determination and gonadal differentiation. *Cell.Mol. Life Sci.* 55, 821-823
- SCHOLZ, S; RÖSLER, S.; SCHÄFFER, M.; HORNING, U.; SCHARTL, M. & GUTZEIT, H.O. (2003): Hormonal induction and stability of monosex populations in the Medaka (*Oryzias latipes*): Expression of sex-specific marker genes. *Biology of reproduction* 69, 673-678
- SCOTT, A.G.; PENMAN, D.J.; BEARDMORE, J.A. & SIBINSKI, D.O.F. (1989): The "YY"-Supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. *Aquaculture* 78, 3-4
- SEHESTED, E. & MAO, I.L. (1992): Responses to selection on genotypic or phenotypic values in the presence of genes with major effect. *Theor.Appl.Genet.* 85, 403-406
- SHELTON, W.L.; MERIWETHER, F.H.; SEMENS, K.J. & CALHOUN, W.E. (1983): Progeny sex ratios from interspecific pair spawnings of *Tilapia aurea* and *T.nilotica*. In: L.Fishelson and Yaron, Z. (compilers). *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Tel Aviv University, Tel Aviv, pp. 270-280

- SINCLAIR, A.H.; BERTA, P.; PALMER, M.S. et al. (1990): A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature* 346, 240-244
- SONESSON, A. & WOOLIAMs, J.A. & MEUWISSEN, T.H.E. (2005): Kinship, Relationship and Inbreeding. In: T. Gjedrem (ed.). *Selection and Breeding Programs in Aquaculture*. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 71-87
- STRÜSSMANN, C.A. & NAKAMURA, M. (2002): Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. *Fish Physiol.Biochem.* 26, 13-29
- SULLIVAN, J.A. & SCHULTZ, R.J. (1986): Genetic and environmental basis of variable sex ratios in laboratory strains of *Poeciliopsis lucida*. *Evolution* 40, 152-158
- TAKAMATSU, N.; KANDA, H.; ITO, M.; YAMASHITA, A.; YAMASHITA, S. & SHIBA, T. (1997): Rainbow trout *Sox9*: cDNA cloning, gene structure and expression. *Gene* 202, 167-170
- TESSEMA LEMMA, M. (2001): Sex ratios in tilapia (*Oreochromis niloticus*): Interactions between genotype and temperature. Dissertation, Universität Göttingen pp. 143
- TUAN, P.A.; MAIR, G.C.; LITTLE, D.C. & BEARDMORE, J.A.(1999): Sex determination and feasibility of genetically male tilapia production in the Thai-Chitralda strain of *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 173, 257-269
- VARADARAJ, K. & PANDIAN, T.J. (1990): First report on production of supermale tilapia by integrating endocrine sex reversal with gynogenetic technique. *Curr.Sci. (Bangalore)* 58, 434-441

- VIA, S. (1984): The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. II. Genetic correlations in larval performance within and among host plants. *Evolution* 38, 896-905
- VOLFF, J.-N. & SCHARTL, M. (2002): Sex determination and sex chromosome evolution in the medaka, *Oryzias latipes*, and the Platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Cytogenet. Genome Res.* 99, 170-177
- WANG, L.-H. & TSAI, C.L.(2000): Effects of temperature on deformity and sex differentiation of Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *J.Exp.Zool.* 286, 534-537
- WESTERN, P.S.; HARRY, J.L.; GRAVES, J.A.M. & SINCLAIR, A.H. (1999): Temperature-dependent sex determination: Upregulation of *Sox9* expression after commitment to male development. *Dev.Dyn.* 214, 171-177
- WINGE, O. (1932): The nature of sex chromosomes. *Proc. 6th Int. Congr. Genet.* 1, 343-355
- WINGE, O. (1934): The experimental alteration of sex chromosomes into autosomes and vice versa, as illustrated by *Lebistes*. *Compt. Rend. Lab., Crailsburg. Ser. Physiol.* 21, 1-49
- WOHLFARTH, G.W. & WEDEKIND, H. (1991): The heredity of sex determination in tilapias. *Aquaculture* 92, 143-156
- YAMAMOTO, T. (1969): Sex differentiation. In: *Fish Physiology*, vol. 3, Hoar, W.S. & Randall D.J. (eds.). Academic Press, New York, pp. 117-175

Internetquellen:

FAO (2006)

http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/usr/local/tomcat/FI/5.5.9/fi5/webapps/figis/temp/hqp_57453.xml&outtype=html besucht am 9.5.2006

PHELPS, R.P. (1998): Selection of individuals for sex inheritance characteristics for use in monosex production. *Reproduction control Research 6 (9RCR6)/Study*. Auburn University Oklahoma, Oregon, USA
http://pdacrsp.oregonstate.edu/pubs/workplns/wp_9/9rcr6.html besucht am 27.10.2005

9 Anhang

Tabelle A.1: Rohdaten des Selektionsexperiments

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
0	1	1	0	1	1	1	1	0,0	96	0,0	57,0
0	2	1	0	1	1	1	1	0,0	71	0,0	62,0
0	1	2	0	2	2	2	2	0,0	54	0,0	44,0
0	2	2	0	2	2	2	2	0,0	85	0,0	81,0
0	1	3	0	3	3	3	3	0,0	41	0,0	46,0
0	2	3	0	3	3	3	3	0,0	51	0,0	51,0
0	1	4	0	4	4	4	4	0,0	77	0,0	53,0
0	2	4	0	4	4	4	4	0,0	76	0,0	63,0
0	1	7	0	5	5	5	5	0,0	92	0,0	53,0
0	2	7	0	5	5	5	5	0,0	88	0,0	61,0
0	1	8	0	6	6	6	6	0,0	128	0,0	51,0
0	2	8	0	6	6	6	6	0,0	126	0,0	81,0
0	1	9	0	7	7	7	7	0,0	57	0,0	51,0
0	2	9	0	7	7	7	7	0,0	100	0,0	89,0
0	1	10	0	8	8	8	8	0,0	57	0,0	41,0
0	2	10	0	8	8	8	8	0,0	99	0,0	72,0
0	1	11	0	9	9	9	9	0,0	30	0,0	66,0
0	2	11	0	9	9	9	9	0,0	31	0,0	45,0
0	1	12	0	10	10	10	10	0,0	90	0,0	46,0
0	2	12	0	10	10	10	10	0,0	108	0,0	65,0
0	1	14	0	11	11	11	11	0,0	41	0,0	41,0
0	2	14	0	11	11	11	11	0,0	89	0,0	68,0
0	1	15	0	12	12	12	12	0,0	91	0,0	52,0
0	2	15	0	12	12	12	12	0,0	49	0,0	62,0
0	1	16	0	13	13	13	13	0,0	42	0,0	45,0
0	2	16	0	13	13	13	13	0,0	116	0,0	51,0
0	1	18	0	14	14	14	14	0,0	70	0,0	54,0
0	2	18	0	14	14	14	14	0,0	78	0,0	58,0
0	1	19	0	15	15	15	15	0,0	71	0,0	54,0
0	2	19	0	15	15	15	15	0,0	75	0,0	41,0
0	1	20	0	16	16	16	16	0,0	51	0,0	63,0
0	2	20	0	16	16	16	16	0,0	55	0,0	63,0
0	1	21	0	17	17	17	17	0,0	56	0,0	55,0

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
0	2	21	0	17	17	17	17	0,0	37	0,0	55,0
0	1	22	0	18	18	18	18	0,0	38	0,0	55,0
0	2	22	0	18	18	18	18	0,0	37	0,0	70,0
0	1	24	0	19	19	19	19	0,0	67	0,0	52,0
0	2	24	0	19	19	19	19	0,0	60	0,0	67,0
0	1	26	0	20	20	20	20	0,0	72	0,0	51,0
0	2	26	0	20	20	20	20	0,0	45	0,0	76,0
0	1	28	0	21	21	21	21	0,0	74	0,0	52,0
0	2	28	0	21	21	21	21	0,0	79	0,0	56,0
0	1	29	0	22	22	22	22	0,0	28	0,0	64,0
0	2	29	0	22	22	22	22	0,0	31	0,0	94,0
0	1	30	0	23	23	23	23	0,0	66	0,0	61,0
0	2	30	0	23	23	23	23	0,0	69	0,0	72,0
0	1	31	0	24	24	24	24	0,0	77	0,0	48,0
0	2	31	0	24	24	24	24	0,0	76	0,0	53,0
0	1	32	0	25	25	25	25	0,0	79	0,0	49,0
0	2	32	0	25	25	25	25	0,0	71	0,0	92,0
0	1	33	0	26	26	26	26	0,0	44	0,0	50,0
0	2	33	0	26	26	26	26	0,0	46	0,0	48,0
0	1	35	0	27	27	27	27	0,0	77	0,0	49,0
0	2	35	0	27	27	27	27	0,0	38	0,0	47,0
0	1	36	0	28	28	28	28	0,0	45	0,0	60,0
0	2	36	0	28	28	28	28	0,0	40	0,0	45,0
0	1	37	0	29	29	29	29	0,0	72	0,0	49,0
0	2	37	0	29	29	29	29	0,0	53	0,0	51,0
0	1	38	0	30	30	30	30	0,0	34	0,0	35,0
0	2	38	0	30	30	30	30	0,0	33	0,0	36,0
0	1	39	0	31	31	31	31	0,0	23	0,0	57,0
0	2	39	0	31	31	31	31	0,0	15	0,0	67,0
0	1	40	0	32	32	32	32	0,0	20	0,0	57,0
0	2	40	0	32	32	32	32	0,0	21	0,0	57,0
0	1	41	0	33	33	33	33	0,0	9	0,0	56,0
0	2	41	0	33	33	33	33	0,0	6	0,0	67,0
0	1	42	0	34	34	34	34	0,0	6	0,0	33,0
0	2	42	0	34	34	34	34	0,0	5	0,0	100,0
0	2	43	0	35	35	35	35	0,0	73	0,0	97,0
0	1	44	0	35	35	35	35	0,0	25	0,0	48,0
0	1	45	0	36	36	36	36	0,0	62	0,0	61,0

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
0	2	45	0	36	36	36	36	0,0	33	0,0	100,0
1	1	1	1	1	1	1	2	99,0	91	91,9	49,5
1	2	1	1	1	1	1	2	100,0	72	72,0	81,9
1	1	5	1	1	1	5	5	100,0	93	93,0	57,0
1	2	5	1	1	1	5	5	91,0	77	84,6	90,9
1	1	7	1	2	2	3	4	99,0	18	18,2	38,9
1	2	7	1	2	2	3	4	99,0	73	73,7	74,0
1	1	9	1	2	2	5	5	98,0	77	78,6	44,2
1	2	9	1	2	2	5	5	96,0	89	92,7	69,7
1	1	14	1	3	3	1	2	100,0	80	72,7	51,3
1	2	14	1	3	3	1	2	100,0	106	96,4	76,4
1	1	17	1	3	3	5	5	100,0	99	90,0	46,5
1	2	17	1	3	3	5	5	97,3	97	90,7	43,3
1	1	18	1	4	3	1	2	96,7	66	74,2	56,1
1	2	18	1	4	3	1	2	82,6	50	65,8	92,0
1	1	19	1	4	3	2	5	93,6	100	97,1	45,0
1	2	19	1	4	3	2	5	92,7	65	63,7	92,3
1	1	21	1	4	3	5	5	97,3	99	92,5	50,5
1	2	21	1	4	3	5	5	97,3	56	52,3	96,4
1	1	22	1	5	3	1	2	100,0	57	57,0	54,4
1	2	22	1	5	3	1	2	100,0	85	85,0	82,4
1	1	23	1	5	3	2	5	95,5	103	98,1	51,5
1	2	23	1	5	3	2	5	93,6	96	93,2	78,1
1	1	25	1	5	3	5	5	90,0	64	64,6	53,1
1	2	25	1	5	3	5	5	99,1	90	82,6	93,3
1	1	26	1	6	3	1	2	99,0	66	66,7	57,6
1	2	26	1	6	3	1	2	91,0	72	79,1	90,3
1	1	29	1	6	3	5	5	95,5	93	88,6	53,8
1	2	29	1	6	3	5	5	98,2	96	88,9	88,5
1	1	37	1	7	4	2	5	95,5	93	88,6	41,9
1	2	37	1	7	4	2	5	93,6	98	95,1	86,7
1	1	39	1	8	4	1	2	97,1	129	94,9	52,7
1	2	39	1	8	4	1	2	93,2	122	63,2	77,9
1	1	41	1	8	4	3	4	97,5	55	70,5	56,4
1	2	41	1	8	4	3	4	96,0	65	84,4	95,4
1	1	42	1	9	4	1	2	98,0	33	33,7	42,4
1	2	42	1	9	4	1	2	96,0	88	91,7	87,5
1	1	44	1	9	4	3	4	92,0	80	87,0	53,8

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
1	2	44	1	9	4	3	4	100,0	97	97,0	93,8
1	1	1	2	10	1	6	8	99,3	133	89,3	48,1
1	2	1	2	10	1	6	8	97,6	175	62,5	66,3
1	1	2	2	10	1	7	3	100,0	121	58,2	55,4
1	2	2	2	10	1	7	3	66,7	99	82,5	79,8
1	2	2	2	16	6	6	8	100,0	96	96,0	49,0
1	1	3	2	10	1	8	9	100,0	105	95,5	51,4
1	2	3	2	10	1	8	9	98,2	91	84,3	58,2
1	1	4	2	11	2	6	8	97,0	84	86,6	50,0
1	2	4	2	11	2	6	8	96,0	86	89,6	48,8
1	1	6	2	11	2	8	9	96,0	80	83,3	46,3
1	2	6	2	11	2	8	9	96,0	80	83,3	52,5
1	1	7	2	12	3	6	8	94,8	94	85,5	46,8
1	2	7	2	12	3	6	8	85,5	141	82,5	97,9
1	1	9	2	13	3	6	8	97,3	104	71,2	49,0
1	2	9	2	13	3	6	8	92,7	92	66,2	69,6
1	1	10	2	13	3	8	9	97,3	70	65,4	58,6
1	2	10	2	13	3	8	9	99,1	83	76,1	79,5
1	1	11	2	14	4	6	8	98,2	81	75,0	48,1
1	2	11	2	14	4	6	8	95,5	89	84,8	53,9
1	1	13	2	14	4	8	9	100,0	87	87,0	52,9
1	2	13	2	14	4	8	9	100,0	90	90,0	66,7
1	1	14	2	15	5	6	8	91,8	72	80,9	50,0
1	2	14	2	15	5	6	8	96,9	49	52,1	81,6
1	1	15	2	15	5	7	3	100,0	112	89,6	55,4
1	2	15	2	15	5	7	3	100,0	110	73,3	57,3
1	1	16	2	15	5	8	9	97,0	51	52,6	51,0
1	2	16	2	15	5	8	9	70,0	35	50,0	51,4
1	1	17	2	10	1	9	10	95,0	90	94,7	50,0
1	2	17	2	10	1	9	10	89,1	95	96,9	60,0
1	1	20	2	13	3	9	10	95,5	75	71,4	48,0
1	2	20	2	13	3	9	10	99,1	101	92,7	66,3
1	1	22	2	15	5	9	10	96,4	79	74,5	48,1
1	2	22	2	15	5	9	10	98,2	84	77,8	61,9
1	1	23	2	16	6	6	8	97,0	75	77,3	48,0
1	1	25	2	16	6	8	9	95,6	186	77,8	44,6
1	2	25	2	16	6	8	9	93,2	205	88,0	57,1
1	1	26	2	16	6	9	10	91,8	41	40,6	46,3

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
1	2	26	2	16	6	9	10	57,3	58	92,1	41,4
1	1	27	2	17	7	6	8	99,1	97	89,0	49,5
1	2	27	2	17	7	6	8	98,2	93	86,1	65,6
1	1	29	2	17	7	8	9	100,0	102	92,7	47,1
1	2	29	2	17	7	8	9	99,1	106	97,2	67,0
1	1	30	2	17	7	9	10	97,3	81	75,7	53,1
1	2	30	2	17	7	9	10	98,2	84	77,8	53,6
1	1	31	2	18	6	6	8	98,0	93	94,9	45,2
1	2	31	2	18	6	6	8	94,0	87	92,6	59,8
1	1	33	2	18	6	8	9	100,0	99	90,0	52,5
1	2	33	2	18	6	8	9	98,2	90	83,3	51,1
1	1	34	2	18	6	9	10	60,9	58	86,6	55,2
1	2	34	2	18	6	9	10	89,1	55	56,1	60,0
1	1	1	3	10	1	1	2	98,7	217	73,3	53,5
1	2	1	3	10	1	1	2	95,0	274	96,1	60,2
1	1	2	3	10	1	2	5	95,3	177	61,9	54,2
1	2	2	3	10	1	2	5	98,3	208	70,5	64,4
1	1	3	3	10	1	3	4	100,0	102	97,1	53,9
1	2	3	3	10	1	3	4	100,0	72	72,0	68,1
1	1	4	3	10	1	4	5	100,0	142	94,7	50,7
1	2	4	3	10	1	4	5	94,0	114	80,9	71,1
1	1	6	3	11	2	1	2	73,8	64	84,2	50,0
1	2	6	3	11	2	1	2	76,0	61	77,2	41,0
1	1	8	3	11	2	3	4	91,2	52	83,9	57,7
1	2	8	3	11	2	3	4	98,5	42	62,7	52,4
1	1	10	3	11	2	5	5	91,3	51	60,7	62,7
1	2	10	3	11	2	5	5	90,2	60	72,3	75,0
1	1	12	3	12	3	2	5	95,5	100	95,2	50,0
1	2	12	3	12	3	2	5	92,7	102	100,0	52,0
1	1	16	3	13	3	1	2	97,1	117	69,2	47,0
1	2	16	3	13	3	1	2	98,5	164	81,2	63,4
1	1	18	3	13	3	3	4	100,0	97	88,2	47,4
1	2	18	3	13	3	3	4	100,0	83	75,5	71,1
1	1	20	3	13	3	5	5	95,5	83	79,0	47,0
1	2	20	3	13	3	5	5	99,1	85	78,0	78,8
1	1	21	3	14	4	1	2	99,3	106	69,7	48,1
1	2	21	3	14	4	1	2	95,0	83	87,4	50,6
1	1	22	3	14	4	2	5	97,6	72	86,7	48,6

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
1	2	22	3	14	4	2	5	91,6	80	92,0	45,0
1	1	23	3	14	4	3	4	100,0	75	68,2	46,7
1	2	23	3	14	4	3	4	100,0	87	79,1	54,0
1	1	25	3	14	4	5	5	98,2	103	95,4	50,5
1	2	25	3	14	4	5	5	99,1	106	97,2	46,2
1	1	26	3	15	5	1	2	100,0	93	93,0	50,5
1	2	26	3	15	5	1	2	100,0	86	86,0	64,0
1	1	28	3	15	5	3	4	100,0	86	86,0	40,7
1	2	28	3	15	5	3	4	100,0	89	89,0	57,3
1	1	30	3	15	5	5	5	99,2	95	79,8	57,9
1	2	30	3	15	5	5	5	97,6	136	81,9	68,4
1	1	31	3	16	6	1	2	100,0	87	87,0	48,3
1	2	31	3	16	6	1	2	97,0	83	85,6	56,6
1	1	33	3	16	6	3	4	99,0	14	14,1	57,1
1	2	33	3	16	6	3	4	98,0	84	85,7	59,5
1	1	36	3	17	7	1	2	99,0	96	97,0	50,0
1	2	36	3	17	7	1	2	95,0	84	88,4	59,5
1	1	37	3	17	7	3	4	100,0	86	86,0	50,0
1	2	37	3	17	7	3	4	89,0	76	85,4	63,2
1	1	39	3	17	7	5	5	99,0	94	94,9	47,9
1	2	39	3	17	7	5	5	90,0	72	80,0	72,2
1	1	40	3	18	6	1	2	98,0	92	93,9	53,3
1	2	40	3	18	6	1	2	99,0	96	97,0	57,3
1	1	42	3	18	6	3	4	97,0	50	51,5	40,0
1	2	42	3	18	6	3	4	100,0	92	92,0	52,2
1	1	1	4	1	1	6	8	100,0	94	94,0	45,7
1	2	1	4	1	1	6	8	83,0	78	94,0	66,7
1	1	2	4	1	1	7	3	99,0	86	86,9	47,7
1	2	2	4	1	1	7	3	89,0	82	92,1	54,9
1	1	3	4	1	1	8	9	91,0	87	95,6	51,7
1	2	3	4	1	1	8	9	76,0	69	90,8	68,1
1	1	4	4	2	2	6	8	100,0	95	86,4	46,3
1	2	4	4	2	2	6	8	98,2	70	64,8	58,6
1	1	6	4	2	2	8	9	95,0	30	31,6	56,7
1	2	6	4	2	2	8	9	95,0	82	86,3	62,2
1	1	10	4	3	3	6	8	100,0	100	90,9	42,0
1	2	10	4	3	3	6	8	99,1	80	73,4	66,3
1	1	12	4	3	3	8	9	20,9	20	87,0	55,0

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
1	2	12	4	3	3	8	9	95,5	98	93,3	68,4
1	1	13	4	4	3	6	8	98,0	98	100,0	48,0
1	2	13	4	4	3	6	8	86,0	72	83,7	83,3
1	1	15	4	4	3	8	9	100,0	92	92,0	51,1
1	2	15	4	4	3	8	9	88,0	79	89,8	84,8
1	1	16	4	5	3	6	8	81,8	55	61,1	41,8
1	2	16	4	5	3	6	8	77,3	60	70,6	86,7
1	1	18	4	5	3	8	9	100,0	89	89,0	44,9
1	2	18	4	5	3	8	9	100,0	93	93,0	86,0
1	1	19	4	6	3	6	8	98,0	100	100,0	52,0
1	2	19	4	6	3	6	8	94,0	92	97,9	82,6
1	1	21	4	6	3	8	9	97,3	104	97,2	51,0
1	2	21	4	6	3	8	9	96,4	81	76,4	88,9
1	1	31	4	8	4	6	8	100,0	98	89,1	49,0
1	2	31	4	8	4	6	8	96,4	95	89,6	84,2
1	1	32	4	8	4	7	3	95,5	102	97,1	45,1
1	2	32	4	8	4	7	3	94,5	76	73,1	76,3
1	1	33	4	8	4	8	9	93,0	74	79,6	52,7
1	2	33	4	8	4	8	9	84,0	78	92,9	78,2
1	1	34	4	9	4	6	8	97,0	82	84,5	51,2
1	2	34	4	9	4	6	8	87,0	83	95,4	78,3
1	1	36	4	9	4	8	9	86,0	78	90,7	56,4
1	2	36	4	9	4	8	9	93,0	63	67,7	50,8
1	1	41	4	4	3	9	10	100,0	73	66,4	50,7
1	2	41	4	4	3	9	10	95,5	68	64,8	91,2
1	1	42	4	5	3	9	10	100,0	87	79,1	43,7
1	2	42	4	5	3	9	10	97,3	88	82,2	64,8
1	1	43	4	6	3	9	10	93,6	63	61,2	39,7
1	2	43	4	6	3	9	10	90,0	31	31,3	80,6
1	1	47	4	8	4	9	10	96,4	95	89,6	50,5
1	2	47	4	8	4	9	10	95,5	57	54,3	77,2
2	1	2	1	6	41	2	22	100,0	96	87,3	51,0
2	2	2	1	6	41	2	22	96,4	61	57,5	95,1
2	1	6	1	7	42	4	29	95,5	47	44,8	57,4
2	2	6	1	7	42	4	29	97,3	87	81,3	90,8
2	1	7	1	7	42	5	39	97,3	43	40,2	48,8
2	2	7	1	7	42	5	39	100,0	88	80,0	62,5
2	1	9	1	3	26	1	18	96,7	27	46,6	44,9

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
2	2	9	1	3	26	1	18	93,3	88	89,8	92,6
2	1	12	1	6	41	2	22	99,0	84	80,8	48,8
2	2	12	1	6	41	2	22	97,3	96	89,7	82,3
2	1	28	1	7	42	2	22	100,0	88	80,0	48,9
2	2	28	1	7	42	2	22	94,5	79	76,0	84,8
2	1	32	1	1	18	5	39	93,6	70	95,9	41,4
2	2	32	1	1	18	5	39	97,8	84	95,5	77,4
2	1	33	1	1	18	7	42	90,5	55	96,5	47,3
2	2	33	1	1	18	7	42	91,8	94	93,1	96,8
2	1	34	1	3	26	2	22	100,0	97	88,2	44,3
2	2	34	1	3	26	2	22	100,0	35	87,5	94,3
2	1	36	1	7	42	3	26	93,6	97	94,2	44,3
2	2	36	1	7	42	3	26	88,2	99	102,1	99,0
2	1	37	1	7	42	7	42	97,3	93	86,9	50,5
2	2	37	1	7	42	7	42	94,5	96	92,3	97,9
2	1	39	1	1	18	10	21	97,3	80	74,8	52,5
2	2	39	1	1	18	11	21	97,3	87	81,3	88,5
2	1	42	1	3	26	5	39	96,9	84	90,3	48,8
2	2	42	1	3	26	5	39	96,4	93	87,7	80,6
2	1	56	1	3	26	10	25	90,0	14	77,8	50,0
2	2	56	1	3	26	10	25	93,3	24	85,7	100,0
2	1	61	1	9	1	2	22	95,5	71	67,6	53,5
2	2	61	1	9	1	2	22	89,1	50	51,0	94,0
2	1	65	1	5	39	1	18	95,0	44	77,2	56,8
2	2	65	1	5	39	1	18	98,4	55	87,3	100,0
2	1	75	1	7	42	11	21	89,7	54	77,1	48,1
2	2	75	1	7	42	11	21	87,1	68	91,9	94,1
2	1	89	1	9	1	1	18	100,0	38	74,5	47,4
2	2	89	1	9	1	1	18	86,3	39	88,6	74,4
2	1	93	1	2	22	3	26	92,7	63	61,8	46,0
2	2	93	1	2	22	3	26	83,6	48	52,2	95,8
2	1	96	1	4	29	1	18	84,6	21	63,6	61,9
2	2	96	1	4	29	1	18	94,0	33	70,2	93,9
2	1	103	1	1	18	2	5	93,6	84	58,3	58,3
2	2	103	1	1	18	2	5	90,0	78	78,8	87,2
2	1	106	1	3	26	15	25	98,2	93	86,1	53,8
2	2	106	1	3	26	15	25	98,2	83	76,9	85,5
2	1	110	1	16	5	4	29	92,0	43	93,5	55,8

SG	Beh.	Gel.	Anp.	Mut.	Fam.Mut.	Vat.	Fam.Vat.	Ü.-rat.I	n gesext	Ü.-rat.II	GV
2	2	110	1	16	5	4	29	90,2	45	81,8	91,1
2	1	111	1	3	26	7	42	95,0	46	80,7	60,9
2	2	111	1	3	26	7	42	92,1	32	55,2	100,0
2	1	133	1	5	39	2	22	100,0	80	72,7	40,0
2	2	133	1	5	39	14	22	100,0	68	61,8	89,7
2	1	138	1	5	39	2	22	96,4	90	85,7	48,9
2	2	138	1	5	39	13	22	94,5	93	88,6	84,9
2	1	21	2	17	24	13	33	96,7	60	67,4	38,3
2	2	21	2	17	24	13	33	97,3	89	83,2	47,2
2	1	30	2	15	25	16	4	95,5	101	96,2	61,4
2	2	30	2	15	25	16	4	99,1	96	88,1	43,8
2	1	71	2	13	33	14	16	96,4	92	86,8	43,5
2	2	71	2	13	33	14	16	98,2	49	45,4	46,9
2	1	76	2	15	25	13	33	99,1	95	87,2	55,8
2	2	76	2	15	25	13	33	94,5	86	82,7	43,0
2	1	77	2	15	25	14	16	100,0	83	75,5	49,4
2	2	77	2	15	25	14	16	94,5	86	82,7	59,3
2	1	86	2	15	25	17	24	97,3	88	82,2	53,4
2	2	86	2	15	25	17	24	98,2	64	59,3	48,4
2	1	98	2	16	4	15	25	70,9	56	71,8	32,1
2	2	98	2	16	4	15	25	75,5	81	97,6	46,9
2	1	119	2	13	33	13	33	95,5	84	80,0	51,2
2	2	119	2	13	33	13	33	96,4	77	72,6	55,8
2	1	122	2	14	16	16	4	94,5	51	49,0	43,1
2	2	122	2	14	16	16	4	100,0	85	77,3	70,6
2	1	129	2	13	33	14	16	100,0	89	80,9	53,9
2	2	129	2	13	33	14	16	100,0	85	77,3	62,4
2	1	131	2	16	4	14	16	100,0	64	87,7	46,9
2	2	131	2	16	4	2	16	100,0	85	77,3	65,9
2	1	139	2	14	16	13	33	95,5	82	74,5	47,6
2	2	139	2	14	16	16	33	95,5	87	79,1	48,3
2	1	140	2	13	33	4	16	94,5	84	80,0	57,1
2	2	140	2	13	33	4	16	95,5	95	86,4	62,1

(SG=Selektionsgeneration: 0=Basispopulation; 1=Erste Selektionsgeneration; 2=Zweite Selektionsgeneration; Beh.=Behandlung: 1=Kontrolle 28°C; 2=Behandlung 36°C; Gel.=Gelege; Anp.=Anpaarung: 0=Ausgangspopulation, 1=High-High, 2=Low-Low, 3=High-Low; 4=Low-High; Mut.=Mutter; Fam.Mut.=Familie Mutter; Vat.=Vater; Fam.Vat.=Familie Vater; Ü.-rat I=Überlebensrate I 9.-19 Tag [%]; Ü.-rat.II=Überlebensrate II 9.-90.Tag; GV=Geschlechterverhältnis % Männchen)

10 Danksagung

Mein Dank gilt meiner Familien und ganz besonders meinen Eltern, die mich immer mit voller Kraft unterstützten und mir zur Seite standen. Auch meinen Geschwistern möchte ich sehr herzlich für ihre Unterstützung und ihre stets für meine Probleme offenen Ohren danken.

Für die Überlassung des Themas möchte mich recht herzlich bei Frau Prof. Dr. Gabriele Hörstgen-Schwark bedanken. Ohne die ständige Bereitschaft zur Diskussion und ohne ihre fachspezifischen Ratschläge, wäre ein Gelingen dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Den Arbeitskollegen der Arbeitsgruppe Aquakultur möchte ich meinen grössten Dank aussprechen dafür, dass sie in der ganzen Zeit so hervorragende Arbeit geleistet haben und mir gegenüber immer vollstes Verständnis und grosse Hilfsbereitschaft zeigten. Mein ganz besonderer Dank gilt hier Boris de Lapeyre, der sich mir in unserem Büro nicht entziehen konnte und dem ich viele viele tiefgreifende Diskussionen und Gespräche verdanke, die auch mein Leben bereichert haben. Seine Anregungen, Ideen und seine ständige Hilfsbereitschaft, trugen einen Grossteil zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Zuallerletzt möchte ich Simone, die mit mir durch diese manchmal schwere Zeit ging, von tiefstem Herzen danken. Während der ganzen Zeit stellte sie den Fixpunkt in meinem Leben dar. Sie war es, die mich aufrichtete, wenn ich dachte es ginge nicht mehr weiter. Ihre liebevolle Art, ihr Verständnis und ihre Geduld machten auch diese schwierige Zeit zu einer sehr schönen Erfahrung.

Curriculum Vitae

Name: Stephan Wessels
Adresse: Jüdenstrasse 18, 37 073 Göttingen
Geburtsort: Papenburg
Eltern: Hermann Wessels und Ehefrau Anna, geb. Jansen-Grummel
Geburtsdatum: 20.04.1979

Praktische Erfahrung

Okt. – Dez- 2005
Chiang Mai Inland Fisheries Research and Development Centre, Thailand
DAAD Stipendium, Untersuchungen zur temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung von Tilapien

Okt. 2002 – Feb. 2003
Institut für Tierphysiologie und Ernährung, Universität Göttingen
Wiss. Assistent, Rationsempfehlung und Ganzkörperanalyse von Fischen

Aug. – Sept. 2002
Galway Aquatic Enterprises Ltd., Stofffiskur
Corrandulla, Irland
Praktikum, Salmonidenproduktion (*Salmo salar*, *Salvelinus alpinus*), Familienzuchtprogramm mit integrierter Leistungsprüfung

Aug. – Sept. 2001
Domäne Voldagsen Einbeck, Germany
Praktikum, Geschlossene Kreislaufanlage mit Produktion von europäischem Aal (*Anguilla anguilla*)

Ausbildung:

Mai 2004 – Juli 2006
Universität Göttingen
Dissertation, Selektionsexperimente zur Erhöhung des Männchenanteils bei Nilbuntbarschen (*Oreochromis niloticus*) mittels Temperaturbehandlung

Okt. 2003 – Apr. 2004
Universität Göttingen
M.Sc.agr., Einfluss des Fütterungsregimes auf die Schlachtkörperzusammensetzung triploider und rein männlicher Tilapienpopulationen

Feb. – Sept. 2003
Universidad Politecnica de Valencia, Spanien,
Erasmus Studentenaustausch

Okt. 1999 – Feb. 2003
Universität Göttingen
Studium der Agrarwissenschaften

Juni 1991 – Juli 1998
Gymnasium Papenburg,
Abschluss Abitur