

Bericht über die bisherigen Aktivitäten und Ergebnisse des Forschungsprojektes „Molekulargenetische Rassedifferenzierung für den Deutschen Spitz/ FCI-Klasse 5“

Am 02.10.2006 trafen sich im Institut für Biologie der Universität Kassel fünfundzwanzig (25) engagierte Spitzzüchter, um zusammen mit Privatdozentin Frau Dr. Pfeiffer die Möglichkeiten der Molekulargenetik zu erörtern.

Das Ziel bestand darin es dem Züchter ermöglichen, die Probleme in der Rassezucht der Deutschen Spitzes früher zu erkennen und damit die Wahl von Zuchtpartnern, als auch die Strategie von Zuchtplänen zu erleichtern und sicherer zu machen.

Zunächst gab es einem kurzen Abriss vom aktuellen Wissenstand zur molekulargenetischen Situation Rasse-„Hund“. Hieran anknüpfend wurden dann Forschungsmöglichkeiten innerhalb des Wissenschaftsbereiches „Molekulargenetik“, insbesondere zu dem Verfahren der DNA-Analyse erläutert.

Mit Hilfe von DNA-Analysen kann die Molekulargenetik eine relativ genaue Aussage über den Grad der „Reinerbigkeit“ und somit über die „tatsächliche genetische Vielfalt“ einer Rasse geben.

Bislang standen für diese Aussagen lediglich zwei Schätzwerte zur Verfügung, der Inzuchtkoeffizient und der Ahnenverlustkoeffizient. Beide Werte basierten auf den vorhandenen schriftlichen Ahnennachweisen.

Demgegenüber befasst man sich bei der DNA-Analyse mit dem Erbgut in *direkter* Weise.

Die DNA ist fälschungssicher und kann eindeutig dem Individuum zugeordnet werden und lässt sich zeitlich unbegrenzt archivieren.

Bei der Analyse werden die Übereinstimmungen von so genannten Mikrosatelliten geprüft. Mikrosatelliten sind spezifische Chromosomenabschnitte, die keine wirklich sinnvolle genetische Information enthalten. Diese Mikrosatelliten liegen an bestimmten Stellen auf einem Chromosom und zeigen nach einer speziellen chemischen Reaktion ein charakteristisches Bandenmuster (ähnlich wie Strichcodes auf Warenartikeln). Je näher zwei Hunde miteinander verwandt sind, umso ähnlicher ist das Bandenmuster.

(Auf dieser Grundlage werden z.B. die Abstammungsnachweise durchgeführt)

Mit Hilfe dieser Mikrosatelliten kann für jeden Hund ein „Strichcode“ festgestellt werden und über bestimmte Computer-Programme können die DNA-Analysen in eine Cluster-Analyse eingearbeitet werden.

Diese Cluster-Analyse zeigt im Ergebnis eine 3-dimensionale Wolke (engl. Cluster), wobei jeder untersuchte Hund mittels seiner DNA-Analyse mit einem Punkt in diesem Cluster vertreten ist. Je weiter die Punkte der untersuchten Hunde voneinander entfernt sind, umso weniger sind diese Hunde miteinander verwandt.

Ein Cluster, das sich sehr kompakt zeigt, d.h. alle Hunde-Punkte liegen eng beieinander, deutet auf eine geringe genetische Vielfalt der Rasse hin.

Dagegen weist ein diffuses Cluster (alle Hunde-Punkte zeigen großen Abstand zueinander) auf eine größere genetische Vielfalt der Rasse hin.

So konnten beispielsweise von verschiedenen Hunderassen, im Rahmen einer Doktorarbeit, abgrenzbare Cluster (z.B: Alaskan Malamute, Siberian Husky, Deutscher Schäferhund, Golden Retriever) ermittelt werden.

Am Ende der Veranstaltung beschlossen die anwesenden Teilnehmer, das Forschungsprojekt der molekulargenetischen Rassendifferenzierung mittels DNA-Analyse für die Deutschen Spitze aktiv zu unterstützen.

Folgende Vorgehensweise wurde festgelegt:

- 1) Start des Forschungsprojektes „Molekulargenetische Rassespezifizierung des Deutschen Spitzes/ FCI-Gruppe 5“ durch Sammlung von Blutprobenmaterial vom Deutschen Spitz.
- 2) Sobald ausreichend Proben vorliegen wird eine 1.Cluster-Studie erstellt.
- 3) Nach Fertigstellung der 1.Cluster-Studie findet ein erneutes Treffen der interessierten Spitzfreunde mit Vorstellung und Diskussion der ersten Ergebnisse .

Für die Praxis bedeutete dies, dass alle Teilnehmer aufgerufen waren, innerhalb ihrer Spitzvarietät für entsprechendes Probenmaterial zu werben.

Glücklicherweise die Spitzzüchter sehr engagiert, denn innerhalb von nur 4 Monaten wurden 131 Blutproben aus ganz Europa in dieses Forschungsprojekt eingestellt: 46 Wolfspitze, 43 Großspitze, 21 Mittelspitze, 12 Kleinspitze und 9 Zwergspitze.

Für die teilnehmenden Hundebesitzer bedeutete dies erheblichen zeitlichen und finanziellen Aufwand. Insgesamt haben sich alle Hundebesitzer zusammen mit ca.7.200 € an diesem Forschungsprojekt beteiligt.

Für den 26.03. 2007 wurden alle Teilnehmer und Interessierten des Projektes eingeladen, um die Ergebnisse der 1.Untersuchungsstaffel zu sehen und das weitere Vorgehen zu besprechen.

Folgende Ergebnisse wurden vorgestellt:

- 1) Insgesamt haben 131 Spitze teilgenommen. Für eine aussagekräftige Analyse werden pro Rasse 50 Vertreter benötigt. Da die Spitze sich in 5 Varietäten aufteilen, kann der bisherige Probeneingang für die jeweilige Varietät mehr oder weniger nur als Basis für eine Stichprobe genutzt werden, was bei den folgenden Ergebnissen unbedingt berücksichtigt werden muss.
- 2) Der Gesamt-Cluster aus den Proben aller teilnehmenden Spitze zeigt deutlich 5 verschiedene Einzelcluster, wobei die einzelnen Cluster sich unterschiedlich stark überschneiden, in diesen Schnittbereichen also Gemeinsamkeiten hinsichtlich ihres Genbestandes aufweisen.
- 3) Der Heterozygotiewert (d.h. der Wert, der Auskunft darüber gibt, wie stark sich zwei Hunde unterscheiden) der Probenteilnehmer stellt sich aufgeschlüsselt nach den einzelnen Varietäten unterschiedlich dar.

Im Vergleich zum Heterozygotiewert einer Stichprobe aus Deutschen Schäferhunden, erscheinen die gewonnenen Werte dieser Stichprobe (außer für den Zwergspitz/ Achtung: sehr geringe Datenmenge) auf den ersten Blick zunächst beruhigend.

Der Heterozygotiewert für die Großspitze ist etwas größer als der Wert für die Wolfspitze. Das ist nicht verwunderlich, denn es handelt sich um den gemeinsamen Wert von weißen und schwarzen Großspitzen. Da in der Zuchtordnung des Vereins für Deutsche Spitze die Verpaarung von weißen und schwarzen Großspitzen ausgeschlossen ist bzw. nur unter absoluten Ausnahmebedingungen möglich ist, ist die getrennte Auswertung der weißen und schwarzen Großspitze unumgänglich. Diese Untersuchung wird aktuell durchgeführt. Das Ergebnis steht noch aus. Inwieweit sich der Heterozygotiewert für die Großspitze verändern wird, kann aktuell noch nicht abgeschätzt werden.

- 4) Die teilnehmenden Züchter haben zukünftig die Möglichkeit, ihre Zuchtplanungen bezogen auf die teilgenommenen Hunde genetisch abzusichern.

Beispiel: Ein Züchter möchte seine Hündin mit einem bestimmten Rüden verpaaren. Es gibt noch weitere 2 Rüden, die abstammungsmäßig (Ahnennachweis) zur Hündin passen könnten.

Wenn für alle 3 Rüden die zugehörigen DNA-Analysen vorliegen, dann kann zweifelsfrei der optimale Rüde genetisch gesehen festgestellt werden.

Dem Züchter wird hiermit die Wahl von Zuchtpartnern als auch die Aufstellung von Zuchtplänen erleichtert und abgesichert.

Ob die Welpen auch die Besten werden, das liegt wie immer im Willen von „Mutter Natur“.

Am Ende dieser 2. Veranstaltung zum Thema „Molekulargenetische Rassendifferenzierung mittels DNA-Analyse“ stand für alle Teilnehmer fest, es ist der richtige Weg, um drohenden Inzuchtgefahren, die sich aus der Rassezucht von Hunden ergeben können, frühzeitig planerisch entgegenwirken zu können.

Besonders hervorzuheben ist das große Engagement und die gute Zusammenarbeit unter den Spitzbesitzern, was sich nicht nur in der Probenanzahl zeigte, sondern auch daran, dass die Proben aus sieben europäischen Ländern nach Kassel geschickt wurden.

Es kann nur der Anfang sein, denn für gesicherte wissenschaftliche Aussagen werden pro Varietät mindestens 50 Blutproben benötigt, davon sind wir bei den Mittel-, Klein- und Zwergspitzen noch weit entfernt. Um konkrete Aussagen über die Großspitze machen zu können, insbesondere über die Farbentrennung, ist die Erstellung von separaten Einzelclustern für weiße und schwarze Großspitze notwendig, was zurzeit durchgeführt wird. Diese Einzelcluster sind wegen der Probenanzahl jedoch, wie auch alle anderen bisherigen Ergebnisse, immer als Resultat einer Stichprobe zu sehen.

Fazit:

Es ist daher sehr wichtig, weitere Blutproben zu sammeln, um die Überprüfung der genetischen Variabilität der Rasse Deutscher Spitz zu standardisieren und damit die praxisorientierte Zuchtplanung realisierbar und Erfolg versprechend zu gestalten.

Anbei eine Zusammenstellung der wichtigsten Vortrags-Folien:



Abb. 1: Titel



Abb. 2: Agenda

Der Hund

1. Hypothesen zur Domestikation:

- 12-15.000 Jahren „Torfhund“
- 135.000 Jahren „Ur-Hund“



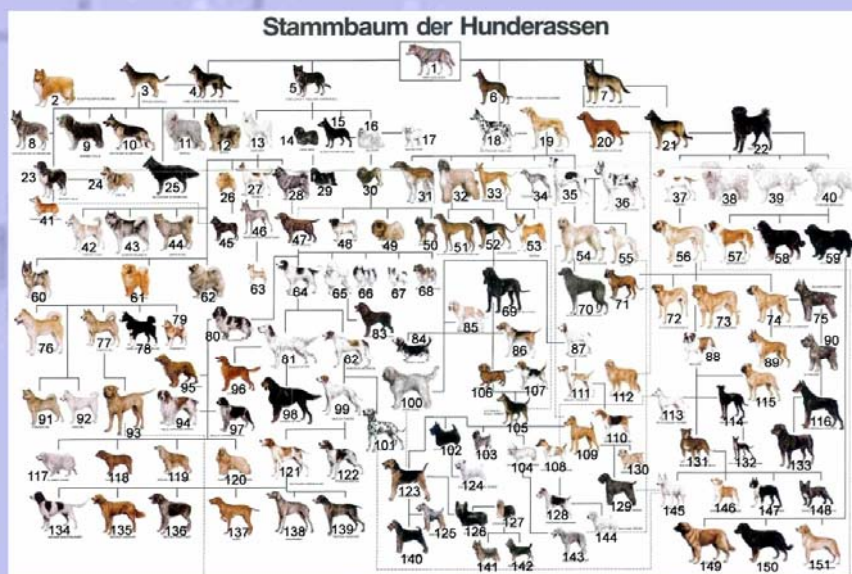
2. Zusammenleben mit dem Menschen: Aussehen, Tätigkeiten: Hütehunde, Begleithunde, Jagdhunde, Wachhunde



3. Hunde mit bestimmten Eigenschaften verpaart → Anhäufung von erblichen Krankheitsmerkmalen



Abb. 3: Ein Rückblick: „Die Domestikation des Hundes“



Weltweit über 400 Hunderassen:
FCI anerkannt sind derzeit 336 Rassen

Abb. 4: Unsere Hunderassen: Die züchterische Vielfalt

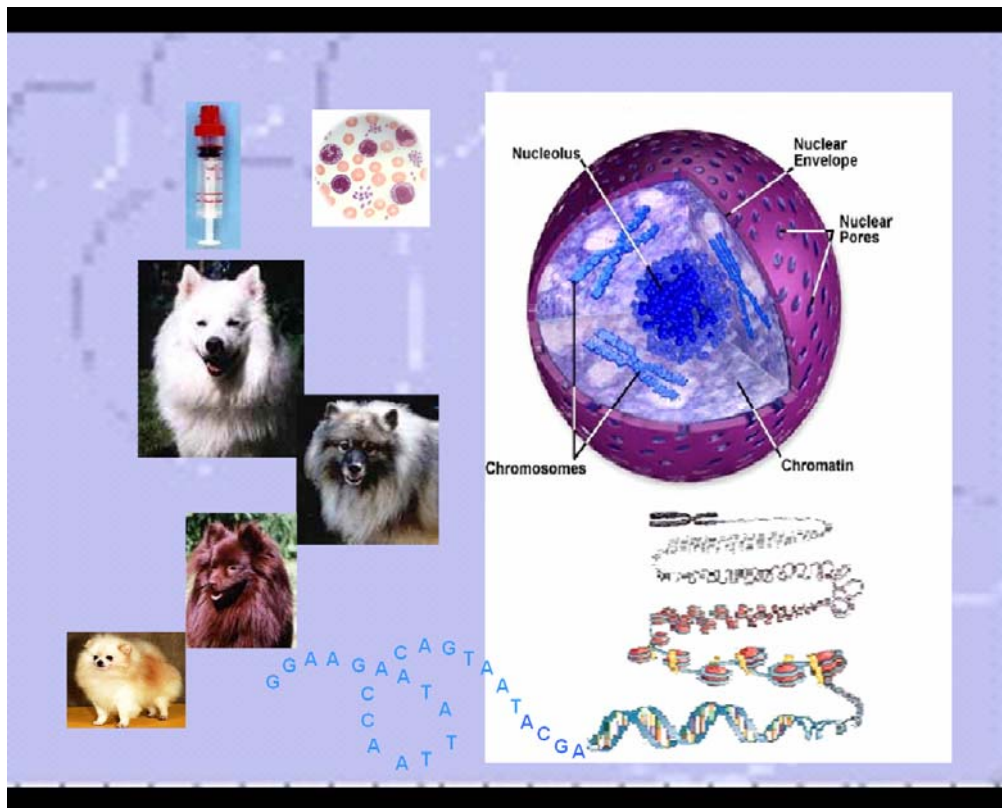


Abb. 5: Unsere Hunde: Die Vielfalt wird über das Erbmolekül (DNA) bestimmt und steckt in jeder Körperzelle

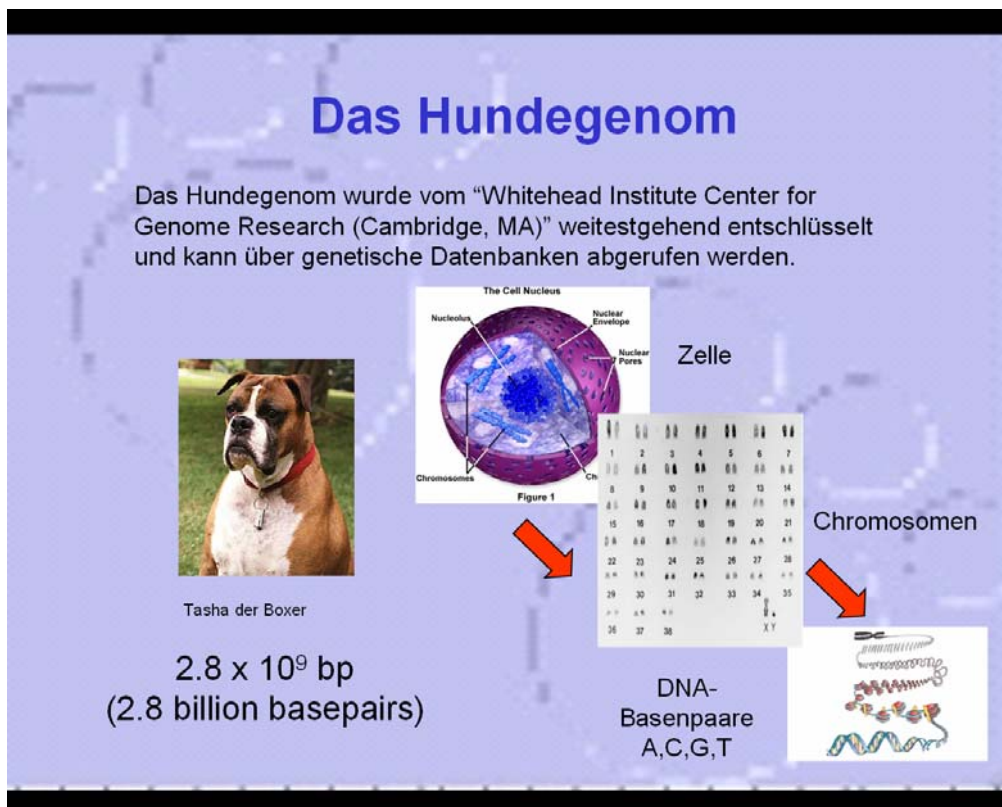


Abb. 6: Das Erbmolekül (DNA) besteht aus 4 Bausteinen, die sich in einer fast unerschöpflichen Vielfalt im Erbmolekül aneinanderreihen.

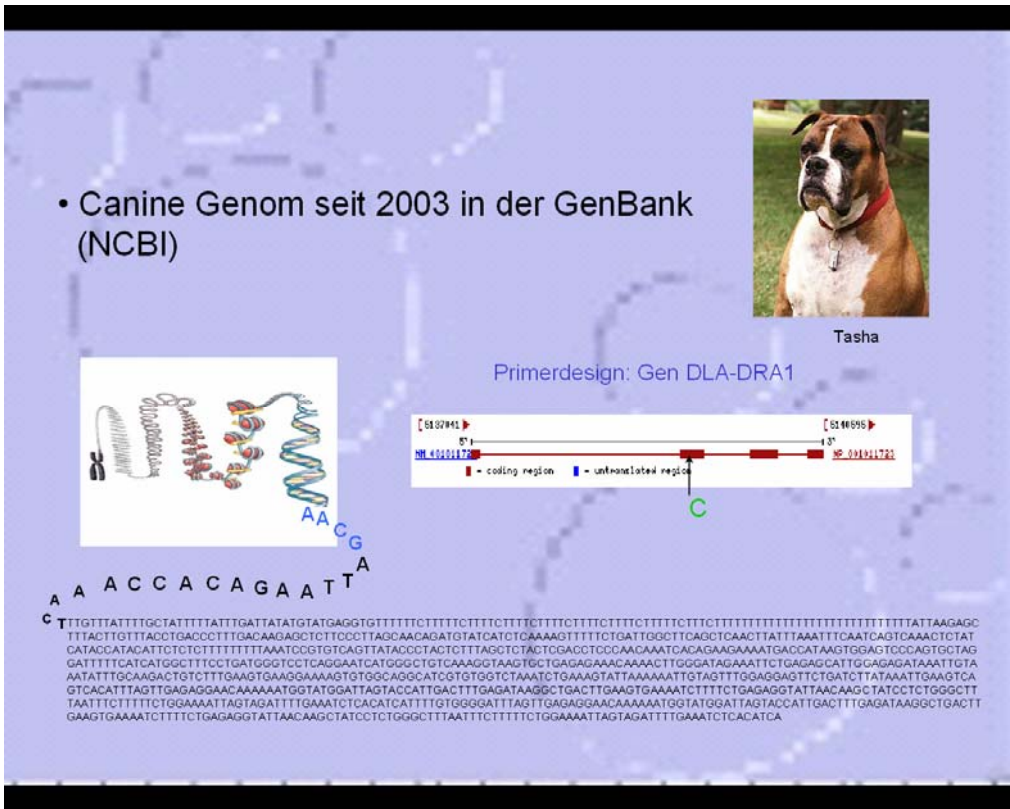


Abb. 7: Das Erbmolekül (DNA) wurde weitestgehend entschlüsselt und kann heute über Datenbanken abgerufen werden.

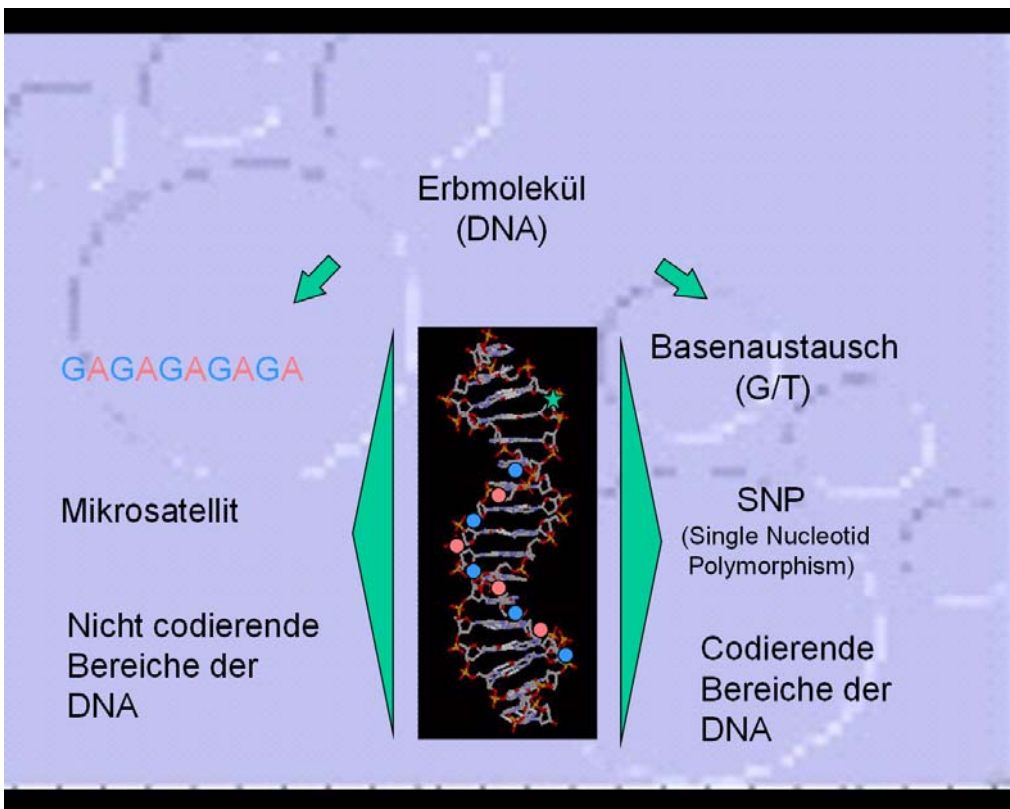


Abb. 9: Von besonderer wissenschaftlicher Relevanz sind Baueigenenarten innerhalb des Erbmoleküls: Mikrosatelliten und SNPs.

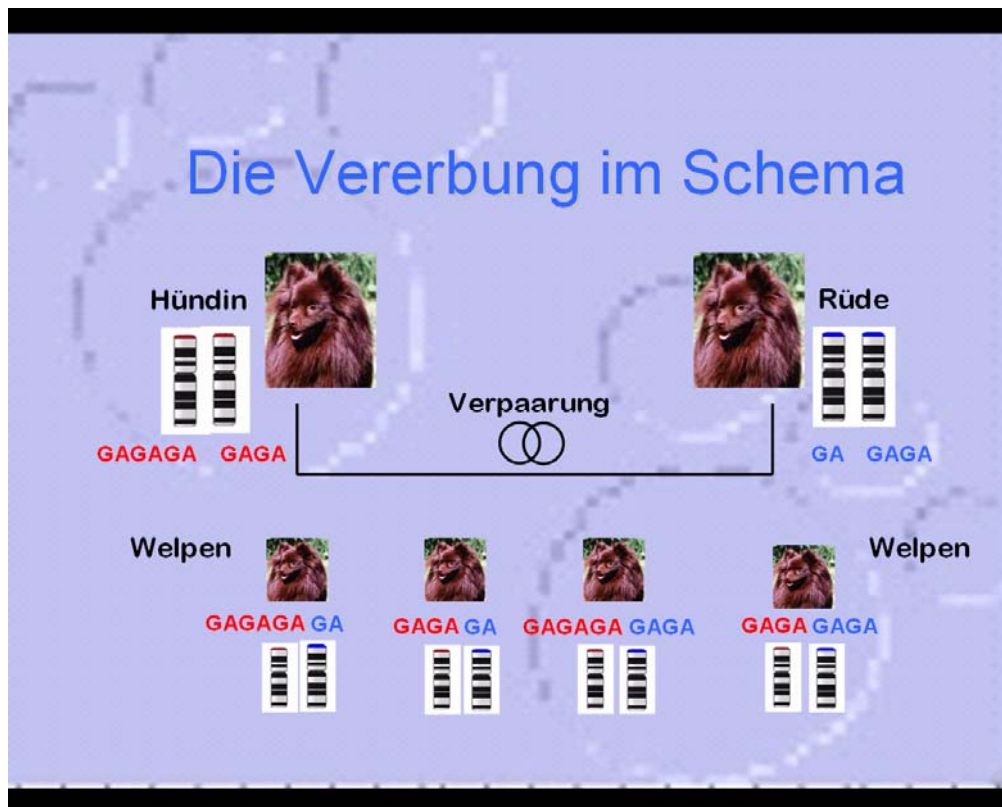


Abb. 9: Die Mikrosatelliten kommen tausendfach verstreut auf dem Erbmolekül vor. Bestimmte Mikrosatelliten folgen der Mendelschen Vererbung. Damit kann die Identität und die Abstammung jederzeit geprüft werden.



Abb. 10: Die Identität- und die Abstammungsprüfung in der Praxis: Von der Probe zum Resultat.

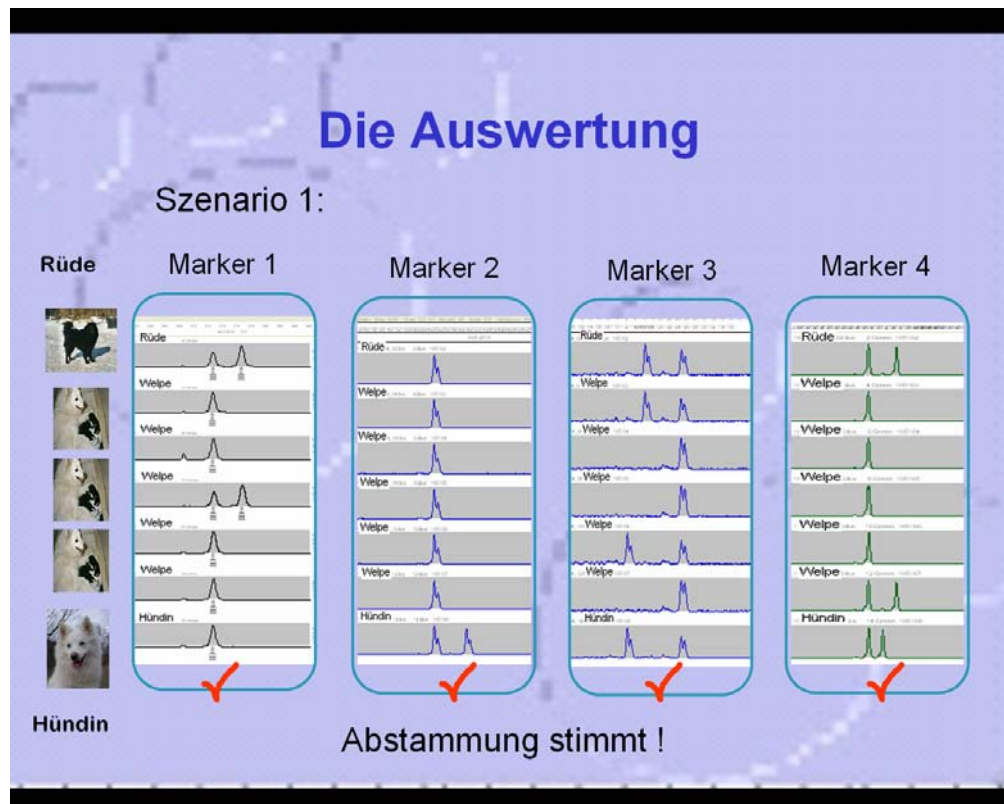


Abb. 11: Die Identität- und die Abstammungsprüfung in der Praxis: Peak – Profile der relevanten Hunde

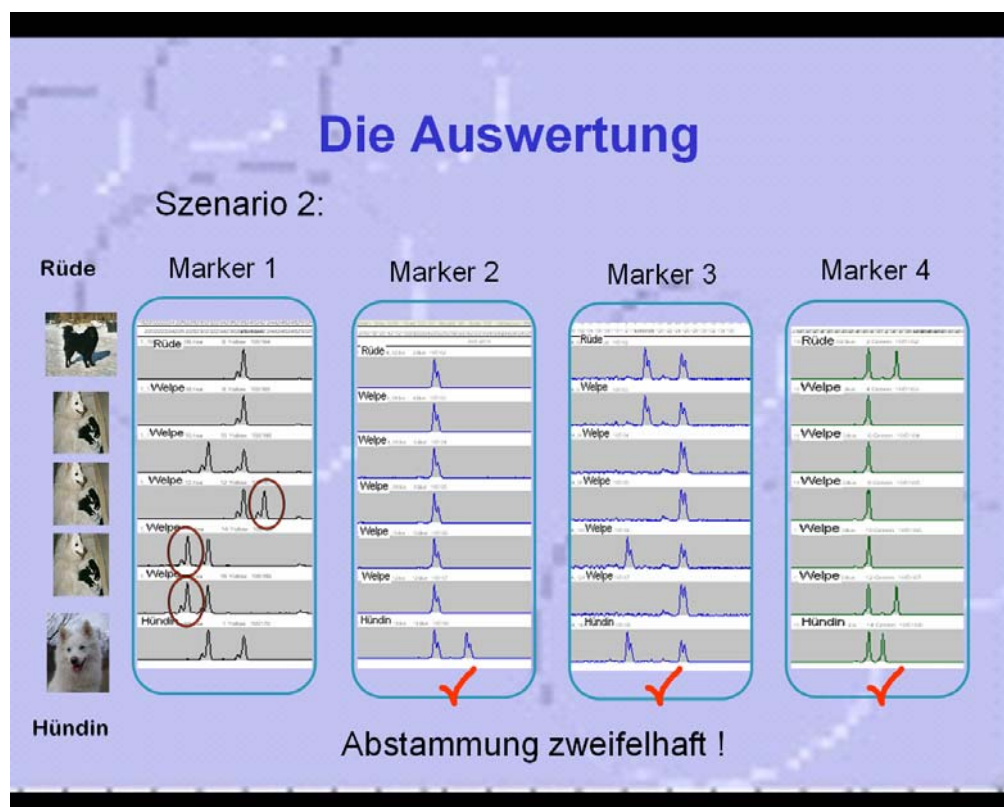


Abb. 12: Die Identität- und die Abstammungsprüfung in der Praxis: Peak – Profile der relevanten Hunde



Abb. 13: Überblick zu den Teilnehmern der Studie



Abb. 14: Aus welchen Ländern die Teilnehmer Proben eingesendet haben

Auswertung der Proben

Parameter

- DNA - Fingerprint mit 10 Loci
- DNA - Datenbank
- Umwandlung in verschiedenen Matrices
- Softwarelösungen für die Berechnungen
- Programm: Genetix Programm: Cervus



Clustererstellung
Genetische Diversität



Heterozygotie

Abb. 15: Wie wurden die Daten erhoben: Untersuchungsmethoden

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse









Heterozygotie: 0,591

Heterozygotie: 0,561

Heterozygotie: 0,610
Heterozygotie: 0,621

Heterozygotie: 0,499

Heterozygotie: 0,578

Vergleich
DSH: 0,394
SibHy: 0,703
GR: 0,530

Abb. 16: Überblick zu den Heterozygotiewerten der Probanden nach Varietät aufgeschlüsselt: Het 1 bedeutet dass sich jedes Tier unterscheidet; eine Het 0 heißt, hier es gibt zwischen den Individuen keine Unterschiede.



Abb. 17: Überblick zu den Ausschlußwahrscheinlichkeiten der Proben Teilnehmer nach Varietät aufgeschlüsselt: A 1 bedeutet dass sich unter 100 Hunden kein 2. Hund mit dem selben genetischen Profil ausfindig machen läßt..



Abb. 18: Genetische Distanzmasse: Je größer die Zahl ausfällt, desto weiter sind die Varietäten voneinander genetisch entfernt.



Abb. 19: Genetische Distanzmasse: Je größer die Zahl ausfällt, desto weiter sind die Varietäten voneinander genetisch entfernt.



Abb. 20: Genetische Distanzmaße: Je größer die Zahl ausfällt, desto weiter sind die Varietäten voneinander genetisch entfernt.

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

Genetische Divergenz: F- Statistik (Fst-Werte)

					
		0,062	0,037	0,092	0,072
			0,090	0,104	0,135
				0,060	0,040
					0,024
					

Vgl:
Row:
Box:
0,35

Abb. 21: Genetische Divergenz: Je größer die Zahl ausfällt, desto weiter sind die Varietäten voneinander genetisch entfernt. Hier ein anderes Rechenmodell

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

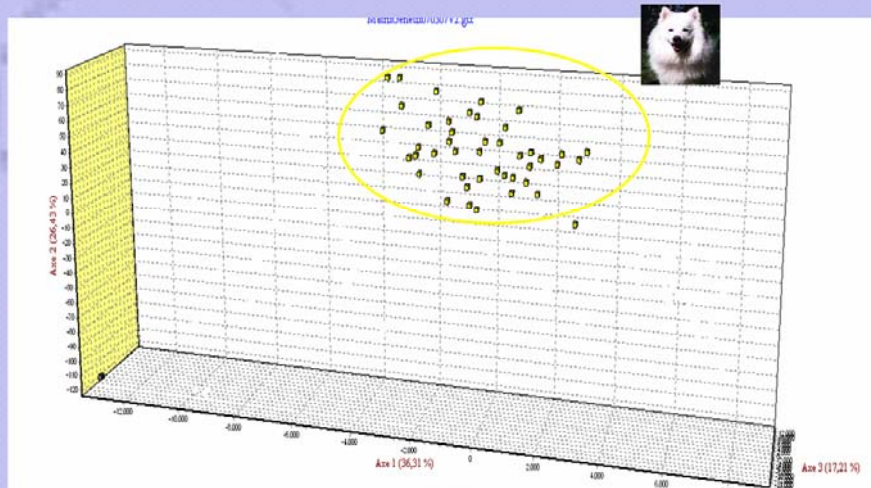


Abb. 22: DNA Cluster aus Proben der teilnehmenden Großspitze.

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

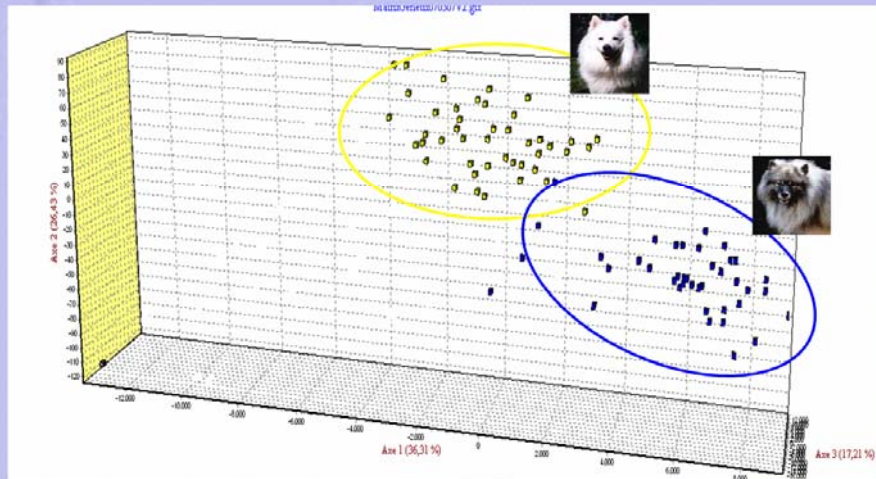


Abb. 23: DNA-Cluster aus Proben der teilnehmenden Großspitze. und Wolfsspitze

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

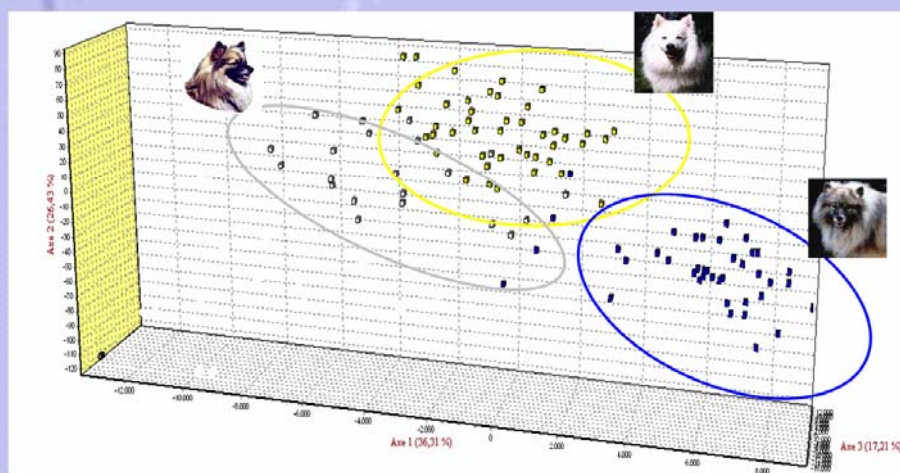


Abb. 24: DNA-Cluster aus Proben der teilnehmenden Großspitze Wolfsspitz und Mittelspitze.

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

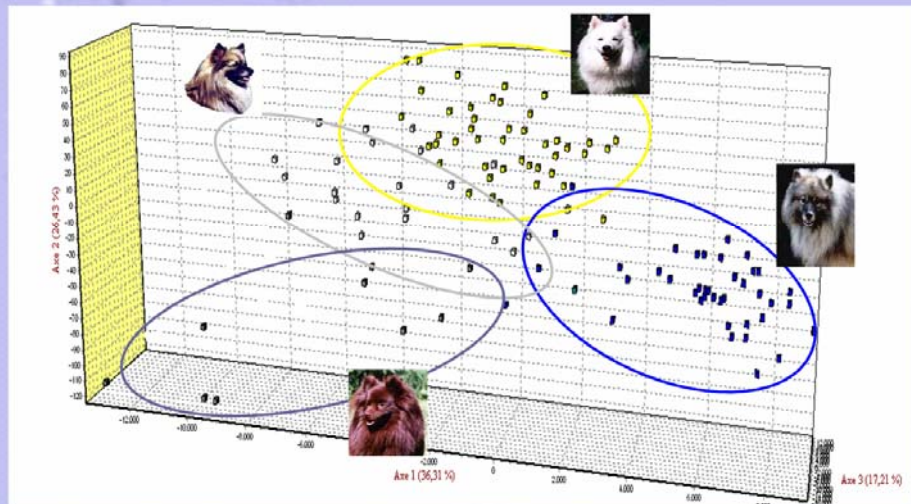


Abb. 25: DNA-Cluster aus Proben der teilnehmenden Großspitze, Wolfspitze und Mittelspitze, Kleinspitze.

2. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Ergebnisse

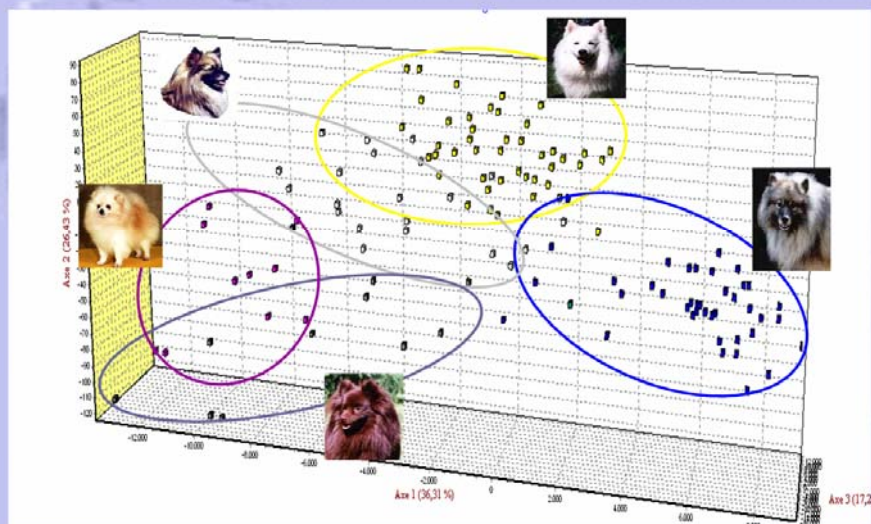


Abb. 26: DNA-Cluster aus Proben der teilnehmenden Großspitze, Wolfspitze und Mittelspitze, Kleinspitze und Pomerians.

3. DNA-Clusteranalysen beim Spitz: Schlussfolgerungen - Anwendbarkeit auf die züchterische Praxis

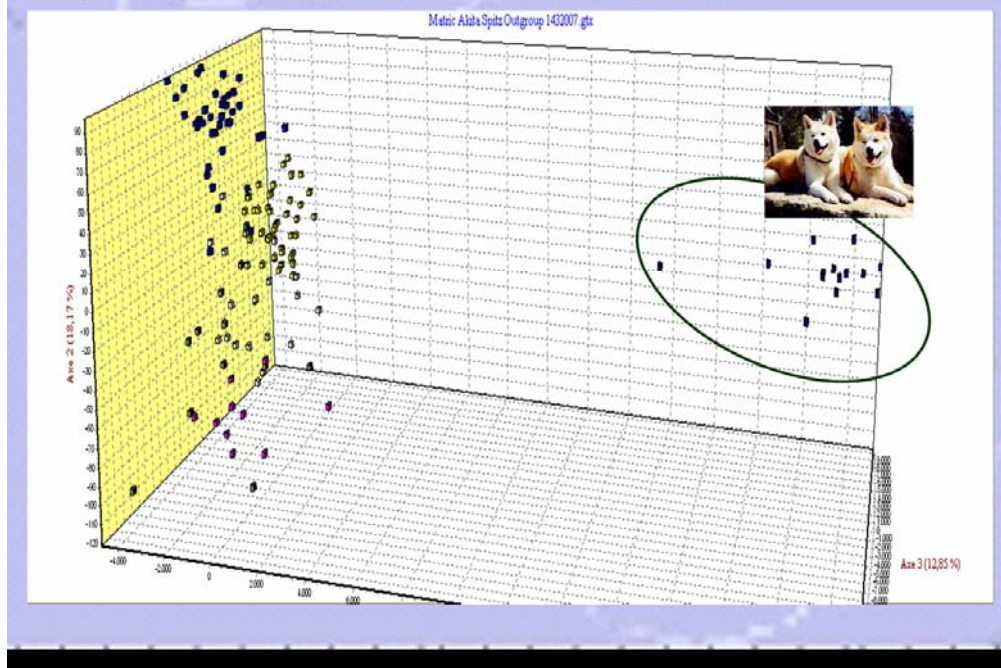


Abb. 27: DNA-Cluster aus Proben der teilnehmenden Spitzvarietäten zu einer Außengruppe betrachtet: Hier Akita.

=