Kynologie

Rassehundezucht auf dem Prüfstand: II
Eine molekulargenetische Bestandsaufnahme

Die Existenz genetischer Variation ist die Voraussetzung jeden züchterischen Handelns. Für die Konservierung genetischer Variation zählt daher die Bewertung genetischer Vielfalt von Rassehunden zu den zentralen Aufgaben zuchtbuchführender Vereine. Da Abstammungsdaten für Zuchttiere oftmals nicht vollständig verfügbar sind, werden alternative Methoden gesucht, um genetische Vielfalt möglichst objektiv und nachhaltig zu erfassen und für die Zuchtlenkung einzusetzen. Eine aktuelle Studie an französischen Zuchtpopulationen, in der auch zwei Spanielrassen berücksichtigt worden sind, beschreibt genetische Vielfalt bei Rassehunden mit Hilfe molekulargenetischer Methoden. Die publizierten Daten liefern wertvolle Einblicke zum gegenwärtigen populationsgenetischen Status der untersuchten Rassehunde.

Molekulare Marker – Werkzeuge zur Erfassung genetischer Vielfalt

Die Existenz genetischer Variation ist die Voraussetzung jeden züchterischen Handelns. Ebenso wie in der Zucht von Nutztieren zählt auch in der Zucht von Rassehunden die Bewertung genetischer Vielfalt zu den zentralen Aufgaben zuchtbuchführender Vereine, um genetische Variation zu konservieren. In der Regel werden genealogische (Abstammungs-) Daten genutzt, um die genetische Vielfalt in einer Population zu bewerten. Als Maßzahlen zur Beurteilung genetischer Diversität werden Schätzwerte für den Inzuchtkoeffizienten sowie die effektive Populationsgröße bestimmt. Die Genauigkeit dieser Schätzwerte wird jedoch wesentlich davon beeinflusst, in welchem Umfang Abstammungsdaten vollständig dokumentiert sind. Die Nutzung molekulargenetischer Marker eröffnet seit einiger Zeit eine weitere Möglichkeit, den Verwandtschaftsgrad innerhalb einer Rasse zu erfassen. Als molekulare Marker werden kurze DNA-Abschnitte bezeichnet, für die man verschiedene Ausprägungen (Allele) zwischen Individuen beobachten kann. Zu den bevorzugten molekularen Markern für die Erfassung genetischer Vielfalt zählen als Mikrosatelliten bezeichnete, kurze DNA-Abschnitte, die auch bei Hunden gleichmäßig im Erbgut verteilt sind. Während der Inzuchtkoeffizient nach Wright als Maß für den Inzuchtgrad eines Individuums oder einer Population den erwarteten Anteil von Genorten mit herkunftsgleichen Allelen beschreibt, erlauben es molekulare Marker, Homozygotie direkt auf Ebene der DNA zu erfassen. Bei der Nutzung molekularer Marker wird hierfür der **Heterozygotiegrad** sowie die durchschnittliche Allelzahl pro Genort als **Maßzahlen zur Bewertung genetischer Vielfalt** genutzt. Dabei gilt: je niedriger der Heterozygotiegrad (Anteil mischerbiger Tiere), desto größer ist die Homozygotie (Reinerbigkeit).

Molekulare Diversität bei Rassehunden

In einer aktuellen Studie wurde die genetische Diversität in verschiedenen französischen Zuchtpopulationen von Rassehunden sowohl mit genealogischen als auch mit molekularen Daten beschrieben [1]. Insgesamt wurden 63 Rassen, welche die 10 FCI-Gruppen repräsentieren, mit 21 Mikrosatellitenmarkern analysiert. Für die FCI-Gruppe 8 wurde u.a. der **English Cocker Spaniel** (CSP) wie auch der **English Springer Spaniel** (SSP) in die Untersuchungen einbezogen. Als Referenzpopulation einer Rasse wurden alle Tiere definiert, die im Zeitraum von 2001 – 2005 geboren worden sind.

Die Zahl der zwischen 2001 und 2005 vom Französischen Kennel Klub (SCC) registrierten Welpen variierte zwischen 42 (Cursinu) und 56583 (Deutscher Schäferhund). Für den CSP wird die Größe dieser Referenzpopulation mit 23464 Hunden angegeben, für den SSP mit 8457 Hunden. Die über alle Rassen gemittelte Generationslänge T wird mit 4,2 Jahren angegeben, für den CSP wurde T mit 4,1 Jahren bestimmt, beim SSP ist T= 4,4 Jahre. Der anhand der Abstammungsdaten geschätzte **durchschnittliche Inzuchtkoeffizient beim CSP** wird mit F**= 2,3%** angegeben, beim **SSP** wurde F**= 2,9%** bestimmt.

Der mit Hilfe von 21 Mikrosatellitenmarkern über alle Rassen und Markergenorte gemittelte Heterozygotiegrad wird 60,2% beziffert. Während beim **SSP** der beobachtete Heterozygotiewert H_o**= 64% über dem mittleren Heterozygotiegrad aller Rassen** liegt, konnte für den **CSP** ein Wert von **lediglich** H_o**= 56%** bestimmt werden. Bei fast 2/3 aller untersuchten Rassen waren die beobachteten Heterozygotiewerte niedriger, als man dies in einer 'idealen' (= zufallspaarenden) Population erwartet hätte. Auch die französischen Zuchtpopulationen des **English Springer und des English Cocker Spaniel zählen zu den Rassen, in denen der beobachtete Heterozygotiegrad niedriger war als der erwarte-**

te Heterozygotiegrad H_e (SSP H_e= 71%, CSP H_e= 65%). Dieser Verlust an Heterozygotie (und der damit einhergehende Anstieg an homozygoten (reinerbigen) Hunden) läßt auf Inzucht schließen. Der aus den angeführten Maßzahlen H_o und H_e berechnete **Inzuchtkoeffizient F_{is}** für die Population des **English Springer Spaniel** beträgt **10,3 %**, für den **English Cocker Spaniel** sogar **13,5 %**. **Damit zählen diese beiden Spanielrassen unter den 63 molekulargenetisch charakterisierten Zuchtpopulationen zu den am stärksten homozygoten (reinerbigen) Rassen.** Ein höherer Inzuchtkoeffizient als beim Cocker wurde lediglich beim Pudel bestimmt (17,3 %), es folgen Whippet (12,5 %) und Deutscher Spitz (11,7 %). Zwischen den molekularen und den genealogischen Daten konnte keine enge Beziehung nachgewiesen werden. Aus der für CSP und SSP angegebenen effektiven Populationsgröße läßt sich für diese Rassen ein **Anstieg des Inzuchtgrades von 0,25% bzw. 0,39% pro Generation** berechnen. Damit zählt insbesondere der CSP, aber auch der SSP zu den Rassen mit sehr niedrigem Anstieg des Inzuchtgrades pro Generation. Zum Vergleich seien hier die Daten für die Rassen mit der höchsten Inzuchtsteigerung/Generation genannt: Braque Saint-Germain (1,7%) Berger des Pyrenees (1,7%), Irish Red Setter (1,1%), Griffon d'arret a poil dur Korthals (1,0%), Weimaraner (1,0%), Deutscher Spitz (0,96%), Pudel (0,92%).

Nicht unerwähnt soll bleiben, dass von den 63 Rassen aus der französischen auch 6 in der populationsgenetischen Studie des Imperial Colleges untersucht worden sind, die ich im ersten Teil meines Berichtes vorgestellt hatte. Für den Langhaar-Collie und den Boxer, für die in den britischen Zuchtpopulationen effektive Populationsgrößen von N_e= 33 bzw. N_e= 45 Tieren geschätzt worden sind [2], liegen die beobachteten Heterozygotiegrade mit H_o= 44% bzw. H_o= 46% ebenfalls am unteren Ende der Skala für die an den französischen Populationen erhobenen Schätzwerte und werden lediglich vom Dobermann (H_o= 38%), Bullterrier (H_o= 41%) sowie Cavalier King Charles Spaniel (H_o= 45%) unterboten. Ein vergleichbares Bild, wenn auch auf etwas höherem Niveau, zeigt sich für die britischen und französischen Subpopulationen der Rassen Golden Retriever (N_e= 67, H_o= 58%), English Springer Spaniel (N_e= 72, H_o= 64%), Deutscher Schäferhund (N_e= 76, H_o= 52%) und Labrador Retriever (N_e= 114, H_o= 58%).

Molekulare Marker – neue Hilfsmittel für das genetische Management von Zuchtpopulationen

Die vorgestellte Untersuchung zeigt, dass es mit Hilfe molekularer Marker möglich ist, den Verwandtschaftsgrad bei Rassehunden zu schätzen. Die Information über das DNA-Profil, den sogenannten genetischen Fingerabdruck eines Hundes, kann für als zusätzliches Selektionskriterium in Zuchtprogrammen herangezogen werden. In der vorgestellten Studie wird ebenfalls deutlich, dass die markergestützte Schätzung des Inzuchtgrades genauer sein kann als die Schätzung auf Grundlage von Abstammungsdaten. Dies trifft insbesondere dann zu, wenn nur unvollständige Informationen über die Abstammungsdaten vorliegen. Bei den untersuchten Spanielrassen fließen beispielweise Pedigree-Informationen aus mehr als ca. 20 Generationen **nicht** in die Schätzung des Inzuchtkoeffizienten ein und führen, leicht nachvollziehbar, zu einer dementsprechenden Unterschätzung des Inzuchtniveaus für die Population.

In Zusammenhang mit der Bewertung genetischer Vielfalt mit Mikrosatellitenmarkern bei Rassehunden ist eine Studie der aktuellen Population der im Verein Hirschmann e. V. gezüchteten Hannoverschen Schweißhunde interessant [3]. In der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. O. Distl an der Tiermedizinischen Hochschule in Hannover wurden 92 Hannoversche Schweißhunde mit 16 SSR-Markern untersucht, die im Hinblick auf Inzuchtgrad, Verwandtschaftskoeffizient und Zusammensetzung der Genanteile von Hannoverschen Schweißhunden aus verschiedenen europäischen Ländern repräsentativ für die Gesamtpopulation sind. In dieser ebenfalls hoch-ingezüchteten (F= 9,2%) und sehr kleinen Population (n= 334 Hunde) konnte eine bemerkenswert große genetische Vielfalt beobachtet werden. Der beobachtete Heterozygotiegrad von H_o= 67,2 % ist sogar höher, als dies bei einer idealen Population zu erwarten wäre (H_e= 66,1 %). Eine mögliche Erklärung für diesen Überschuss an Heterozygoten ist, dass **die Auswahl der Paarungspartner mit dem Ziel erfolgte, die Nachkommen im Hinblick auf Fitness (und damit einhergehend Leistungsfähigkeit) von der Diversität (Verschiedenheit) der elterlichen Genotypen profitieren zu lassen** (sogenannte disassortative Paarung). Die Autoren ziehen aus ihren Beobachtungen den Schluss, dass die Gründertiere der aktuellen Zuchtpopulation offensichtlich aus einem großen Genpool stammen und das die genetische Vielfalt dieses Genpools von den Züchtern im Verlauf der letzten 50 – 100 Jahre konserviert werden konnte.

Im Jagdspanielklub könnte die Nutzung der Information über die molekulare Diversität in den

Zuchtpopulationen ggf. kompensieren, dass die Mehrheit der in der Zucht eingesetzten Spaniels nicht mehr im Hinblick auf ihre Leistungsfähigkeit beurteilt werden. Obwohl eine Schätzung der Verwandtschaft zwischen Einzeltieren ungenau ist, wenn keine hohe Markerzahl (>200) verwendet wird, würde bereits die Analyse von 30-50 Markern die Unterscheidung eng verwandter Tiere (Vollgeschwister, Halbgeschwister und vergleichbare Verwandtschaftsverhältnisse) und nicht direkt verwandter Tiere erlauben [4]. Ebenso wie in den französischen Populationen würden die Markerdaten in den deutschen Zuchtpopulationen zunächst die Möglichkeit eröffnen, den aktuellen populationsgenetischen Status objektiver und verlässlicher zu bewerten, als dies gegenwärtig auf der Grundlage - teilweise sicher lückenhafter - genealogischer Daten möglich ist. Sollte ein ähnlich niedriger Heterozygotiegrad wie in den französischen Populationen beobachtet werden, könnten die mit Hilfe der Mikrosatelliten erstellten genetischen Fingerabdrücke bei der Zuchtplanung als Kriterium berücksichtigt werden, um den Heterozygotiegrad der Welpen systematisch zu erhöhen.

Es muss festgestellt werden, dass beide in dieser Studie berücksichtigten Spanielrassen, nach mehr als 100 Jahren züchterischen Wirkens, zu den am stärksten homozygoten unter den untersuchten Hunderassen zählen. Homozygotie in der Zucht von Rassehunden wird erzielt durch Inzucht. Die Methode der Inzucht wird hauptsächlich eingesetzt, um

1. möglichst viele positive Allele bestimmter, hervorragender Vorfahren in einem Tier zu vereinen
2. genetisch möglichst einheitliche Tiere zu erzeugen. Evtl. sollen durch Paarung zwischen Linien Kreuzungseffekte erzielt werden
3. Erbfehler aufzudecken.

Aus züchterischer Sicht lässt sich aus der beobachteten Steigerung des Anteils homozygoter (reinerbiger) Gene beim Cocker und Springer Spaniel ableiten, dass damit die Vorhersagbarkeit des Auftretens rassetypischer Merkmale für einen Welpen sehr groß ist. Positiv zu bewerten ist die Erkenntnis über den in beiden Spanielrassen beobachteten, sehr niedrigen Anstieg des Inzuchtgrades pro Generation.

Wie bereits im ersten Teil meines Berichtes möchte ich erneut betonen, dass die verschiedenen **Spaniels, anders als andere Hunderassen, weitestgehend keiner gesundheitlichen Beeinträchtigung, auch nicht einem übertriebenem Exterieur unterliegen.** Für einige der bedeutendsten Erbkrankheiten bei Spaniels eröffnen molekulare Gentests dem Züchter die Möglichkeit, den Genotyp von Zuchttieren zu bestimmen und durch Auswahl geeigneter Paarungspartner das gesundheitliche Risiko der Welpen zu minimieren. **Anders als bei anderen Rassehunden haben wir es also in der Zucht von Spaniels gegenwärtig mit einer relativ komfortablen Situation zu tun, die sicherlich hart erarbeitet worden ist.** Nicht umsonst zählt insbesondere der English Cocker Spaniel aufgrund seines positiven Rufes immer noch zu den Rassen mit den höchsten Eintragungszahlen in der Welpenstatistik des VDH.

Dass dieser gegenwärtige Status einer durchgezüchteten Rasse nicht für alle Ewigkeit in Stein gemeißelt sein muss, zeigt ein erst im April diesen Jahres bekannt gemachter Fall von Nebenniereninsuffizienz (Addison's Disease) beim English Cocker [5]. Aufgrund der Schwierigkeit der Diagnose und der Seltenheit der Krankheit sind Kenntnisse über den Erbgang bislang nicht vollständig aufgeklärt. Dass es sich um eine vererbbare Krankheit handelt, scheint jedoch unbestritten zu sein. Wenn wir das 'einfachste Modell' annehmen, welches für Addison's Disease angeführt wird (autosomal rezessiven Erbgang, [6]), müssen beide Eltern des betroffenen Hundes mindestens Erbträger für das Merkmal sein. Besondere Bedeutung erlangt dieser Fall, weil der Vater des Hundes zu den populärsten Deckrüden in Skandinavien zählt, ein klassisches Beispiel mit dem Potenzial für das 'Popular Sire Syndrom' [7]. Jeder der zahlreichen Welpen dieses populären Rüden hatte die gleiche 50%tige Chance, von seinem Vater das Defektallel in die Wiege gelegt zu bekommen. Dies geschah (und geschieht bei seinen in der Zucht eingesetzten Nachkommen, welche diese genetische Bürde tragen, auch weiter!) im Verborgenen. Rein statistisch gesehen ist also die Hälfte aller seiner direkten Nachkommen ebenfalls wieder Erbträger. Da man den Tieren ihre potenzielle genetische Bürde nicht ansieht und auch noch kein molekulares Diagnoseverfahren für diese Krankheit vorliegt, ist es nicht möglich, in geeigneter Weise eine Individualselektion von Erbträgern durchzuführen. Massenselektion der ganzen Linie scheidet ebenfalls aus, um einem, dann sicher als dramatisch zu bezeichnenden, Verlust genetischer Vielfalt zu begegnen und natürlich auch, um die positiven Allele des populären Rüden zu erhalten. Also muss man zunächst mit dem Wissen um diese genetische Bürde leben. Auch wenn ein Outcrossing weder in diesem noch in anderen Fällen eine Garantie liefert, erbgesunde Welpen zu züchten: die **Vermeidung von Inzucht auf diesen Rüden** ist

gegenwärtig die einzig mögliche Option, das Risiko in Zusammenhang mit dieser genetischen Bürde zu begrenzen. **Es sei an dieser Stelle erneut hervorgehoben, dass ein Defektgen nicht durch Inzucht erzeugt wird. Inzucht provoziert lediglich, dass ein Defektgen als solches erkannt wird.** Wenn der Defekt zu einer frühembryonalen Sterblichkeit führt, werden die Würfe kleiner. Wenn durch den Defekt jedoch die Vitalität (Lebenskraft) geschwächt wird, wird es kranke und/oder anfällige Welpen geben, denen nur eine kurze Lebensdauer gegeben oder deren Leben von Krankheiten wie z.B. Nebenniereninsuffizienz oder Epilepsie gezeichnet sein wird.

Wie oben bereits aufgeführt erlaubt praktizierte Inzucht, genetische Bürden aufzudecken. Eine wesentliche Konsequenz bei der Anwendung dieser Zuchtmethode muß es sein, dass die daraus resultierenden Erkenntnisse auch zum Handeln verpflichten. **Ist ein Hund als Erbfehlerträger erkannt, muß dieses Wissen, so wie im aktuellen Beispiel, verfügbar gemacht werden.** Solange dies nicht geschieht, bleibt die provozierte Inzucht problematisch. Wichtig ist es sich bewusst zu machen, dass Erbfehler insbesondere dann eine Rasse belasten, wenn Erbfehlerträger verstärkt in der Zucht eingesetzt werden, ohne dass der betreffende Genotyp bei ihnen und ihren Nachkommen erfasst werden kann.

Zusammenfassung

Mit Hilfe molekularer Marker ist es möglich, den Verwandtschaftsgrad bei Rassehunden zu schätzen. In einer aktuellen Studie konnte auf diese Weise die genetische Diversität bei Rassehunden bewertet werden. Die erhobenen Daten zeigen, dass sowohl der English Springer Spaniel als auch der English Cocker Spaniel zu den Rassen zählen, die durch ein hohes Maß an Homozygotie gekennzeichnet sind. Die Genotypisierung der vom Jagdspanielklub betreuten Zuchtpopulationen mit Mikrosatelliten-Markern zur Erstellung genetischer Fingerabdrücke von Zuchttieren würde die Möglichkeit eröffnen, den gegenwärtigen Status der Populationen im Hinblick auf die vorhandene genetische Vielfalt objektiv zu bewerten und gezielt für die Konservierung genetischer Variation zu nutzen.

Referenzen

[1] Leroy G, Verrier E, Meriaux JC, Rognon X (2009) Genetic diversity of dog breeds: within-breed diversity comparing genealogical and molecular data. Anim. Genet. 2009 Feb 13. [Epub ahead of print]
[2] Calboli FC, Sampson J, Fretwell N, Balding DJ (2008) Population structure and inbreeding from pedigree analysis of purebred dogs. Genetics 179:593-601.
[3] Lüpke L, Distl O (2005) Microsatellite marker analysis of the genetic variability in Hanoverian Hounds. J. Anim. Breed. Genet. 122:131-139
[4] Eding H, Meuwissen T H E (2001) Marker-based estimates of between and within population kinships for the conservation of genetic diversity. J. Anim. Breed Genet. 118:141-159
[5] http://www.manacas.se/eindex.htm 15.4.2009 Thoughts
[6] Sargan DR (2004) IDID: inherited diseases in dogs: web-based information for canine inherited disease genetics. Mamm Genome. 15:503-506
[7] Sharp CA The Price of Popularity: Popular Sires and Population Genetics. http://www.canine-genetics.com/Popular_sires.htm

Anschrift des Verfassers:
Dr. Bernd Hackauf
Feldstr. 16
D-18311 Ribnitz-Damgarten
email: bernd.hackauf@t-online.de