

## Schlussbericht zum Projekt

### "Genanalysen der Schweizer Kaninchenrassen: Schweizer Feh, Schweizer Fuchs und Dreifarbenkleinscheck"

Der Schlussbericht gliedert sich wie folgt:

1. Einleitende Bemerkungen
2. Ziel des Projektes
3. Durchgeführte Arbeiten
4. Resultate
5. Abschliessende Bemerkungen
6. Anhang

#### **1. Einleitende Bemerkungen**

Schweizer Feh, Schweizer Fuchs und Dreifarbenkleinscheck sind Schweizer Kaninchenrassen, deren Zucht im Hinblick auf die weltweite Erhaltung der Biodiversität einen wichtigen Beitrag leisten kann. Jede dieser drei Rassen wird von einer Zuchtorganisation betreut. Wenn Populationen nur kleine Tierzahlen aufweisen, wie es in der Schweiz für viele Haustierrassen zutrifft, kann es alleine schon durch Zufallsereignisse (genetische Drift) in wenigen Generationen zu Unterschieden im Erbmateriale kommen und je kleiner eine Population ist, umso schwieriger wird es, Inzucht völlig zu vermeiden. Gesteigerte Inzucht kann (muss aber nicht) zur Manifestation von rezessiven Erbfehlern und von anderen Problemen (z.B. Fruchtbarkeitsstörungen) führen. Zur Erhaltung von bedrohten und/oder kleinen Populationen versucht man deshalb, den Austausch von Genmateriale innerhalb der Zuchtpopulation zu fördern und die Zahl von männlichen und weiblichen Tiere in der Zucht möglichst hoch zu halten. Dies gilt auch für die Erhaltung der oben erwähnten Kaninchenrassen. Eine sinnvolle züchterische Tätigkeit ist aber nur dann möglich, wenn die genetische Zusammensetzung von diesen Populationen untersucht wurde. Mit diesem Wissen können objektive und optimale Selektionsentscheide getroffen werden, welche der jeweiligen Situation in der Zucht Rechnung tragen.

## **2. Ziel des Projektes**

Das Ziel des Projektes war es, die genetische Zusammensetzung in den 3 Schweizer Kaninchenrassen zu untersuchen und genetische Distanzen zwischen den Rassen und zwischen jeder Rasse und dem Wildkaninchen zu schätzen. Die Resultate sollten darüber Aufschluss geben, ob nachweisbare genetische Unterschiede bestehen und sich die drei Populationen als selbstständige genetische Einheiten, wie man es von Rassen erwarten würde, präsentieren. In vielen anderen Arbeiten wurde nachgewiesen, dass sich eine Art von genetischen Markern (so genannte Mikrosatelliten) besonders gut für obige Fragestellungen eignet. Ausserdem können Mikrosatelliten auch für eine unabhängige Abstammungskontrolle eingesetzt werden, die selber eine Vorbedingung ist, um tierzüchterische Massnahmen optimal umzusetzen.

## **3. Durchgeführte Arbeiten**

### **3.1. Probenerhebung**

Durch Venenpunktion am Ohr wurden von 372 Kaninchen je ca. 0.5 - 1 Milliliter (ml) EDTA-behandeltes Vollblut entnommen. Gleichzeitig wurden für alle Tiere das Geschlecht, die Rasse- und Klubzugehörigkeit, die Ohrmarkennummer und die Adresse des Besitzers erhoben. Ausserdem wurde eine Photographie aller Kaninchen mit ihrer Ohrmarkennummer zu Dokumentationszwecken (z.B. Fellfarbe) gemacht. Um Verwechslungen und andere Fehler zu verhindern, wurden anlässlich der Probenentnahme zwei unabhängige Listen geführt. Im Labor wurde die korrekte Beschriftung aller Proben anhand der Listen überprüft und die Blutproben zentrifugiert, um von jeder Blutprobe auch ein Röhrchen mit Plasma zu haben. Auf diese Weise konnten je eine Plasma- und Blutzellprobe bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C eingefroren werden. Siehe beigelegte Kopie der Tierliste. Von etwa 100 Kaninchen wurden ausserdem ca. 0.5 ml Heparin-behandeltes Vollblut entnommen. Für diese Tiere wurden noch am selben Tag Kurzzeit-Lymphozyten-Kulturen angesetzt und die Chromosomen nach 72 Std. aus den kultivierten Zellen präpariert. Von allen Kaninchen wurde zudem ein Nasentupfer für bakteriologische Untersuchungen entnommen. Von drei Wildkaninchen aus Deutschland wurde die DNA aus Muskelstücken isoliert.

### **3.2. Auswahl der Stichproben**

Nach Überprüfung der Populationsstruktur wurden für jede Rasse 30 möglichst nicht-verwandte Tiere ausgewählt. Übersicht siehe Anhang A. Für die zytogenetischen Untersuchungen wurden total 50 Tiere ausgesucht, um beide Geschlechter aller drei Rassen zu repräsentieren. Übersicht siehe Anhang B. Für die bakteriologischen Untersuchungen wurden alle Proben miteinbezogen.

### **3.3. Isolierung der DNA**

Die DNA der einzelnen Kaninchen wurde mit einer bewährten Standard-Methode aus den weissen Blutkörperchen isoliert. Auf diese Weise konnten sehr grosse Mengen an DNA für alle Kaninchen isoliert werden. Diese DNA kann für weitere umfangreiche Projekte eingesetzt werden.

### **3.4. Bestimmung der Mikrosatelliten-Genotypen**

Die total 31 Mikrosatelliten wurden nach Durchsicht von bereits publizierten Arbeiten in Zusammenhang mit Kaninchenrassen ausgewählt. Es wurde Wert darauf gelegt, dass die selektierten Mikrosatelliten möglichst gleichmässig über das Genom, also über die Chromosomen des Hauskaninchens, verteilt sind. Die Mikrosatelliten wurden einzeln mit Hilfe der PCR vermehrt und deren Allele der Länge nach auf Polyakrylamidgelen (PAGE) aufgetrennt. Geeignete Längenstandards wurden mitgeführt, um die Länge der Allele zu schätzen und identische Allele identifizieren zu können. Die Genotypen aller Mikrosatelliten wurden visuell bestimmt. Vier Mikrosatelliten konnten nicht in die Untersuchungen miteinbezogen werden, weil sie schlecht amplifizierten (INRA 0218, INRA 0318) bzw. monomorph waren (INRA 0274, INRA Y-0326). Die restlichen 27 Mikrosatelliten (Siehe Anhang C) wurden in den Stichproben der drei Rassen und in den drei Wildkaninchen typisiert. Die Resultate wurden für die Schätzung der genetischen Distanzen eingesetzt.

### **3.5. Populationsgenetische Auswertungen**

Die Allelfrequenzen der 27 Mikrosatelliten dienten als Grundlage für die populationsgenetischen Untersuchungen. Mit verschiedenen Programmen wurde die genetische Zusammensetzung der drei Rassen ausgewertet und mit der Wildkaninchengruppe verglichen.

### **3.6. Bakteriologische Auswertungen**

Die Nasentupfer der 372 Kaninchen konnten alle untersucht werden. Es wurde eine semiquantitative Beurteilung von Kulturen für Bordetellen und Pasteurellen durchgeführt. Als Beurteilungsschlüssel für die Kulturen wurde folgende Einteilung vorgenommen: +: 1-30 Kolonien pro Agarplatte; ++: 30-100 Kolonien pro Agarplatte; +++: über 100 Kolonien pro Agarplatte.

## **4. Resultate**

### **4.1. Genetische Untersuchungen**

Die Resultate zeigen, dass die einzelnen Kaninchen aufgrund ihres genetischen Fingerabdruckes ohne Probleme ihrer jeweiligen Rasse korrekt zugewiesen werden können (siehe Anhang D). Dies unterstreicht die Tatsache, dass die Rassen genetisch selbstständige, unterscheidbare Einheiten darstellen. Der Inzuchtgrad der verschiedenen Rassen konnte aufgrund der beobachteten Allelhäufigkeiten geschätzt werden. Dabei ist zu beachten, dass es sich eben nur um eine Schätzung handelt, die immer von der Grösse der Stichprobe und der Populationsstruktur beeinflusst wird. Die Zahlen geben deshalb einen Trend an. Der Inzuchtgrad war in den Rassen Dreifarbenkleinscheck und Schweizer Feh etwa gleich gross (0.18) und grösser als beim Schweizer Fuchs (0.13). Ausserdem konnte der Verwandtschaftsgrad zwischen den drei Rassen und der Verwandtschaftsgrad der drei Rassen mit dem Wildkaninchen geschätzt werden (siehe Anhang E). Hier zeigte es sich, dass Schweizer Feh (0.2335) und Dreifarbenkleinscheck (0.1705) dem Wildkaninchen genetisch ähnlicher sind als der Schweizer Fuchs (0.3895). Die Untersuchungen mit dem Programm STRUCTURE (siehe Anhang F → K=4) unterstützen diese Resultate. Aber es wird auch klar, dass sich beim Schweizer Fuchs Subpopulationen abzeichnen (siehe Anhang F → K=5), die sich mit den unterschiedlichen Fellfarben erklären lassen. Es muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass mehr Wildkaninchen untersucht werden könnten (siehe Punkt 5. Abschliessende Bemerkungen), um die erzielten Resultate zu erhärten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es sich beim Schweizer Feh, Schweizer Fuchs und beim Dreifarbenkleinscheck um drei selbstständige Rassen handelt, deren unterschiedliche Genpools einen wichtigen Beitrag zur Erhaltung der Biodiversität beitragen können.

## **4.2. Zytogenetische Untersuchungen**

Insgesamt wurden 50 Karyotypen untersucht. Es konnten lichtmikroskopisch keine numerischen oder strukturellen Aberrationen nachgewiesen werden. Dieses für die drei Rassen positive Resultat ist ausserordentlich wichtig, weil Abnormalitäten der Chromosomen vererbt werden können und sehr oft in männlichen und weiblichen Tieren zu Fertilitätsstörungen führen können. Dies wiederum kann für die Erhaltung kleiner Populationen zum Problem werden. Weitere Überprüfungen der Chromosomen von Zuchttieren in der Zukunft sind dann sinnvoll, wenn Fehlbildungen oder ein Rückgang der Reproduktionskapazität von den Züchtern gemeldet werden.

## **4.3. Bakteriologische Untersuchungen**

Alle Nasentupfer wurden unter der Leitung von Frau Dr. Albin und Herrn Prof. Hoop am Veterinär bakteriologischen Institut der Vetsuisse-Fakultät Zürich ausgewertet. Alle Kaninchen, von denen Nasentupfer entnommen wurden waren gesund! Das heisst, dass wir im Folgenden von klinisch gesunden Trägern sprechen. Die Resultate sind in Anhang G und Anhang H dargestellt. Erstaunlich ist die grosse Zahl von Kaninchen (42 %), die Träger von Bordetellen sind. Entgegen den Erwartungen waren nur ca. 7 % der Kaninchen Träger von Pasteurellen. Bei erhöhter Stress-Situation könnte es also fast in der Hälfte der Zuchstäten zum Ausbruch von Schnupfen kommen. Um die Bedeutung der bakteriologischen Resultate in einen objektiven Kontext zu stellen, muss mehr Hintergrundinformation direkt bei den Züchtern eingeholt werden (siehe Punkt 5. Abschliessende Bemerkungen).

## **5. Abschliessende Bemerkungen**

### **5.1. Weitere Schritte auf Laborseite**

Wie bereits gesagt, werden wir noch ca. 30 Wildkaninchen mit den 27 Mikrosatelliten nachuntersuchen. Die Probenbeschaffung ist in die Wege geleitet. Damit erhoffen wir uns eine noch bessere genetische Abgrenzung der drei Rassen und eine bessere Schätzung der genetischen Distanzen. Die Fragebogen für die beteiligten Züchter bezüglich Bordetellen/Pasteurellen gehen noch im Januar raus. Damit sollte es möglich werden, die Bedeutung der Bordetellen und Pasteurellen

besser beurteilen zu können. Die Plasmaproben wurden noch nicht auf Antikörper gegen *Encephalozoon cuniculi* untersucht. Diese Arbeiten werden bis Ende März durchgeführt werden in unserem Labor. Über die weiteren Fortschritte werden wir Kleintiere Schweiz auf dem Laufenden halten.

## **5.2. Ausblick**

Die Resultate des Projektes bestätigen, dass es sich bei den drei Populationen Schweizer Feh, Schweizer Fuchs und Dreifarbenkleinscheck um genetisch differenzierte Einheiten handelt, die als selbstständige Rassen bezeichnet werden können. Damit können Schritte eingeleitet werden, um für diese Rassen grundlegende Tierzucht-Werkzeuge wie die Führung eines Herdenbuchs, unabhängige Abstammungskontrolle und Zuchtwertschätzung einzuführen. Eine aktuelle Übersicht über die Zuchttiere, ihre Vorfahren und Nachkommen in Bezug auf Abstammung, Leistungsvermögen und anderen Merkmalen würden die Entscheidungsgrundlage für fundierte Selektionsentscheide bilden. Dadurch würde es auch möglich, angestrebte Zuchtziele zu erreichen. Gleichzeitig bestünden bessere Möglichkeiten, die Inzuchtsteigerung, die für kleine Populationen immer eine Gefahr darstellt, zu kontrollieren und damit direkt die Erhaltungszucht dieser drei Kaninchenrassen abzusichern.

Zürich, den 4. Januar 2010

PD Dr. C. Schelling

## 6. Anhang

### Anhang A: Übersicht der Stichprobe für Schweizer Feh, Schweizer Fuchs und Dreifarbenkleinscheck

Feh	Fuchs	DFKS
Feh 18	Fuchs 8	DFKS 14
Feh 23	Fuchs 9	DFKS 27
Feh 36	Fuchs 13	DFKS 28
Feh 38	Fuchs 42	DFKS 29
Feh 46	Fuchs 43	DFKS 91
Feh 70	Fuchs 44	DFKS 92
Feh 71	Fuchs 45	DFKS 95
Feh 74	Fuchs 57	DFKS 96
Feh 78	Fuchs 58	DFKS 119
Feh 101	Fuchs 59	DFKS 123
Feh 115	Fuchs 61	DFKS 127
Feh 132	Fuchs 62	DFKS 128
Feh 215	Fuchs 148	DFKS 141
Feh 261	Fuchs 149	DFKS 142
Feh 265	Fuchs 201	DFKS 146
Feh 294	Fuchs 203	DFKS 147
Feh 301	Fuchs 211	DFKS 159
Feh 321	Fuchs 214	DFKS 163
Feh 53	Fuchs 82	DFKS 167
Feh 102	Fuchs 221	DFKS 171
Feh 138	Fuchs 233	DFKS 176
Feh 150	Fuchs 239	DFKS 181
Feh 227	Fuchs 241	DFKS 187
Feh 228	Fuchs 256	DFKS 269
Feh 249	Fuchs 279	DFKS 275
Feh 291	Fuchs 288	DFKS 312
Feh 303	Fuchs 351	DFKS 317
Feh 309	Fuchs 356	DFKS 331
Feh 348	Fuchs 361	DFKS 338
Feh 370	Fuchs 368	DFKS 341

### Anhang B: Übersicht Zytogenetik: untersuchte Tiere

Feh	sex	Fuchs	sex	DFKS	sex
Feh 18	1	Fuchs 8	1	DFKS 3	2
Feh 23	2	Fuchs 9	2	DFKS 5	1
Feh 36	1	Fuchs 203	1	DFKS 28	2
Feh 130	2	Fuchs 211	2	DFKS 129	2
Feh 132	1	Fuchs 149	2	DFKS 151	1
Feh 134	2	Fuchs 221	2	DFKS 153	1
Feh 135	2	Fuchs 214	1	DFKS 154	2
Feh 303	1	Fuchs 57	1	DFKS 155	1
Feh 309	2	Fuchs 58	1	DFKS 156	1
Feh 138	2	Fuchs 59	2	DFKS 159	2
Feh 139	2	Fuchs 213	1	DFKS 127	1
Feh 132	1	Fuchs 212	1	DFKS 128	2
Feh 249	1	Fuchs 148	2	DFKS 160	1
Feh 133	1	Fuchs 192	2	DFKS 268	1
Feh 136	2	Fuchs 204	1	DFKS 269	1
Feh 137	2	Fuchs 193	2	DFKS 317	2
Feh 250	1	Fuchs 194	2		

## Anhang C: Übersicht getestete Mikrosatelliten

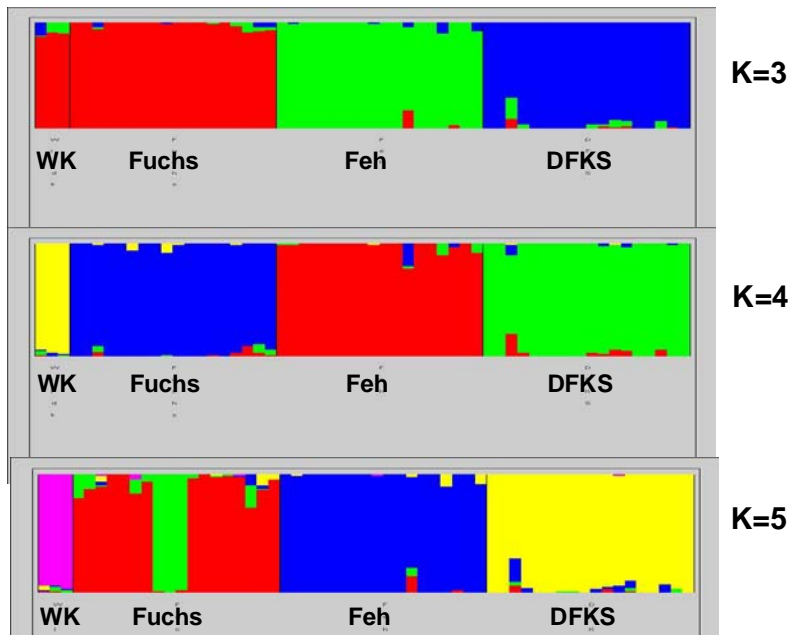
Marker	Chromosom	geeignet	Allele	Länge
INRA 0063	18q	ja	4-4-4	95 bp
INRA 0080	8p	ja	3-2-4	145 bp
INRA 0092	7p	ja	2-1-1	119 bp
INRA 0108	11q	ja	2-3-3	130 bp
INRA 0138	10q	ja	2-1-1	138 bp
INRA 0143	15q	ja	1-1-2	117 bp
INRA 0172	17q	ja	3-2-3	86 bp
INRA 0182	4q	ja	3-2-3	93 bp
INRA 0185	16q	ja	2-2-2	155 bp
INRA 0192	3q	ja	5-1-4	96 bp
INRA 0218	17q	nein	-	86 bp

Marker	Chromosom	geeignet	Allele	Länge
INRA 0219	6p	ja	1-2-2	147 bp
INRA 0241	14q	ja	2-1-3	141 bp
INRA 0260	12q	ja	2-2-1	98 bp
INRA 0274	9p	nein	1-1-1	113 bp
INRA 0297	13q	ja	3-3-3	145 bp
INRA 0309	19q	ja	3-2-2	134 bp
INRA 0329-2	?	ja	4-3-1	120 bp
INRA 0333	4p	ja	2-4-2	182 bp
INRA 0326	Y	ja	sex	232 bp
INRA 0334	X	ja	2-1-1	175 bp

Marker	Chromosom	geeignet	Allele	Länge
INRA 0221	7p	ja	3-3-4	130 bp
INRA 0320	1q	ja	3-2-4	145 bp
INRA 0106	13	ja	4-3-4	170 bp
INRA 0211	5q	ja	4-3-3	200 bp
INRA 0036	3p	ja	3-2-2	200 bp
INRA 0183	11p	ja	3-2-2	220 bp
INRA 0087	12q	ja	6-4-5	261 bp
INRA 0318 <sub>OLA1</sub>	4q	nein	-	93 bp
INRA 0342 <sub>OLAZ</sub>	13q	ja	6-4-3	155 bp
INRA 0329-1	?	ja	3-4-3	120 bp



## Anhang F: Rassenzugehörigkeit II (Structure)



## Anhang G: Bakteriologie

	Anzahl Tiere	% Anzahl Tiere
Bordetella sp.	<b>141</b>	<b>38</b>
Pasteurella sp.	<b>12</b>	<b>3</b>
Bordetella sp. Pasteurella sp.	<b>14</b>	<b>4</b>
Mischflora	<b>7</b>	<b>2</b>
Negativ oder steril	<b>198</b>	<b>53</b>

Bordetella sp.	155	42
Pasteurella sp.	26	7

## Anhang H: Bakteriologie: Zuchtsättenübersicht

