

Mehrfach wurden Rehfamilien untersucht.

Foto: Werner Henkel

# Die genetische Vielfalt der Rehe

„Fingerabdrücke“ des Erbguts erlauben Einblicke in die Verwandtschaft

■ Von Klaus Vollmer, Werner Hecht und Alexander Herzog

**Genetisch gesehen galten die heimischen Rehe bisher als einförmig. Doch moderne genetische Methoden wie der „DNS-Fingerabdruck“ offenbaren eine größere Vielfalt als gedacht – eine „genetische Verarmung“ der Rehe ist zur Zeit nicht zu befürchten. Der Fingerabdruck der DNS verspricht, zu einem wichtigen Instrument des Artenschutzes und der Wildtiergenetik zu werden.**

Den Evolutionsbiologen gelten die Rehe als eine der ältesten Wiederkäuerarten mit einer großen Anpassungsfähigkeit. In Europa besiedelt das Rehwild Wald- und Agrarlandschaften von der Nord- und Ostsee bis zur Waldgrenze im Hochgebirge. Das Sozialverhalten ist plastisch: Manche Tiere leben als Einzelgänger, andere in einer Gruppe, die von einer erfahrenen Geiß geführt wird, wieder andere in ganzjährigen Feldrehgesellschaften. Bei dieser Vielfalt im Verhalten verblüfft die genetische Einförmigkeit, die den Rehen bisher zugeschrieben wurde. Zum Beispiel zeigt das Gen für Hämoglobin keine Variationen. Nur für 18 Prozent aller Genorte wurden Varianten nachgewiesen. Zurückgeführt wurde die scheinbar eingeschränkte genetische Variabilität einerseits auf den sogenannten Flaschenhalseffekt: In der letzten Eiszeit hätten demnach nur wenige Rehe in Rückzugsgebieten überlebt, die dann das Erbgut der folgenden Generationen prägten. Andererseits wur-

de die Möglichkeit diskutiert, daß Rehe sich von vornherein an den gleichförmigen Genorten noch nie voneinander unterschieden haben.

## „Fingerabdrücke“ von Rehen

Ähnliche Muster im Fingerabdruck von Menschen weisen auf Verwandtschaft hin. Nun kann man schlecht von den Hufen eines Rehs einen „Fingerabdruck“ nehmen, aber aus dem Erbgut kann ein Muster gewonnen werden, dessen Aussagekraft dem eines herkömmlichen Fingerabdrucks beim Menschen entspricht. Die notwendige DNS ist in jedem Gewebe mit Zellkernen enthalten; von den Rehen benutzen wir für den genetischen Fingerabdruck Blut- oder Leberzellen. Daraus wird die DNS isoliert und mit einem Enzym in kleine Stücke geschnitten. Das Enzym zerschneidet die Erbsubstanz nicht an beliebiger Stelle, sondern immer an denselben Basenfolgen im genetischen „Text“. Da die Tiere aber nicht genetisch identisch sind wie eineiige Zwillinge, befin-

den sich diese „Schnittstellen“ nicht immer am selben Ort im Text, und die Abschnitte dazwischen können unterschiedlich lang sein. Nach der Enzymbehandlung bleiben also bei den verschiedenen Individuen unterschiedlich lange DNS-Stücke übrig. Sie werden in einem elektrischen Feld der Länge nach aufgetrennt, und bestimmte Stücke werden radioaktiv markiert, damit sie in einem darübergelegten Film Spuren hinterlassen. Stellen, an denen radioaktive DNS zu lie-

gen kommt, werden auf dem Film geschwärzt, so daß ein Muster entsteht, das dem Strichcode für die Scannerkassen im Supermarkt ähnelt (Abbildungen 1 und 2). Genetische Fingerabdrücke unterscheiden sich durch Anzahl, Position und Intensität der Banden. Nur eineiige Zwillinge haben identische Muster. Mit dem DNS-Fingerabdruck lassen sich Strukturen des Erbguts bei Tier- und Pflanzenarten darstellen. Für den Genetiker ist er

ein Instrument, mit dem sich die Verwandtschaftsverhältnisse in einem Bestand erkennen und einzelne Tiere identifizieren lassen. Gegenüber den herkömmlichen Methoden bietet er Vorteile: So können – und das ist wichtig – Proben, wie Blut, Bast, Haarwurzeln oder Schleimhautabstriche, verwendet werden, die ohne größere Belastung der Tiere zu gewinnen sind. Die Brauchbarkeit des DNS-Fingerabdrucks, um die Verwandtschaftsverhältnisse zu ermitteln, wurde erstmals bei einem saarländischen Rehbestand geprüft.

Alexander Herzog studierte Veterinärmedizin in Frankfurt, Gießen und Wien. 1961 wurde er zum Dr. med. vet. promoviert; danach arbeitete er einige Zeit als praktischer Tierarzt in Dithmarschen und St. Moritz (Schweiz), bevor er sich in Gießen und Bern der Wissenschaft zuwandte. Während dieser Zeit habilitierte er sich für das Fach „Vergleichende Erpatothologie“. Seine Arbeitsgebiete sind die Erpatothologie, klassische und molekulare Zytogenetik



sowie die genetische Diagnostik bei Haus- und Wildtieren. Herzog ist Vorsitzender des Arbeitskreises Wildbiologie an der Justus-Liebig-Universität und leitet die Fachgruppe „Tierzucht, Erpatothologie und Haustiergenetik“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft. Zu seinen vielen Ämtern gehört die Mitgliedschaft im Vorstand der Landestierärztekammer Hessen und im Hessischen Landestierschutzbeirat.

## Ein Fingerabdruck entsteht

Die isolierte DNS wird mit einem Enzym – bei unseren Untersuchungen mit dem Restriktionsenzym Hinf I – verdaut, so daß sie in kleinen Fragmenten vorliegt, welche in einem elektrischen Feld getrennt werden (Elektrophorese in einem 1% Agarose-Gel auf 20 cm Trennstrecke bei 1,5 V/cm). Die DNS-Stücke werden vom Gel auf eine Nylonmembran übertragen (HYBOND-N<sup>TM</sup>) und darauf fixiert. Mit Sonden (zum Beispiel des Phagen M13), die mit dem radioaktiven Isotop Phosphor-32 markiert werden, können bestimmte DNS-Stücke auf dem Träger über Autoradiographie auf einem Film dargestellt werden (Hyperfilm-MP<sup>®</sup>). Ein Schwärzungsmuster entsteht, „ähnlich einem Strichcode für die Scannerkassen im Supermarkt.“

### Inselrehe

Wir haben Proben von Rehen der Nordseeinsel Föhr untersucht. Der Rehbestand auf Föhr wurde 1938 für genetische Versuche des damaligen Reichsjagdramtes gegründet. So weiß man, daß die gesamte Population auf eine Ricke und zwei Böcke zurückzuführen ist. Trotz ihrer engen Verwandtschaft haben sich die Rehe gut entwickelt. Daß ihnen die Inzucht geschadet hätte, ist nicht festzustellen. Aus Markierungen wissen wir außerdem, daß die Tiere mit einem Aktionsradius von maximal zwei Kilometern sehr standorttreu sind. Eine Ausnahme machen die einjährigen Böcke, die vor der Brunft auswandern, häufig durch das Watt über zweieinhalb Kilometer bis zur Insel Amrum. Aus einem freilebenden Rehbestand im nordhessischen Knüllgebirge stammen weitere Proben; außerdem wurde eine Familie aus Kreuzungen von Rehen des Knüllgebirges und der Schwäbischen

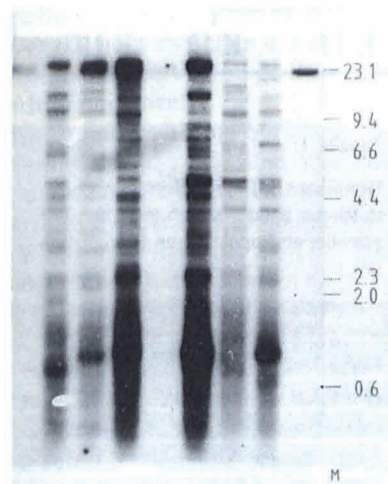


Abbildung 1: Fingerabdruckmuster von Rehen der Nordseeinsel Föhr

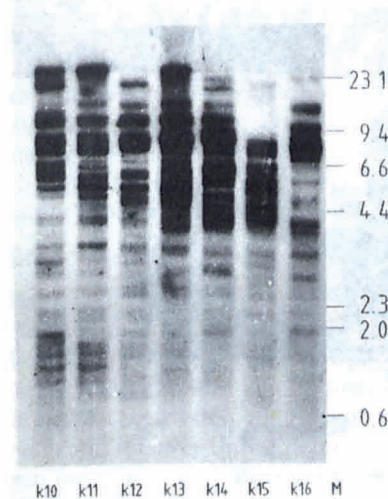


Abbildung 2: Fingerabdruckmuster der Gehegefamilie (Knüll/Schwäbische Alb). Die Verwandtschaftsverhältnisse sind in Abbildung 4 angegeben.

JUSTUS-LIEBIG-  
UNIVERSITÄT  
GIESSEN

Prof. Dr. Alexander Herzog

Institut für Tierzucht und Haustiergenetik  
Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik  
und Zytogenetik  
Hofmannstraße 10  
35392 Gießen  
Telefon (0641) 702-9860 oder -9861

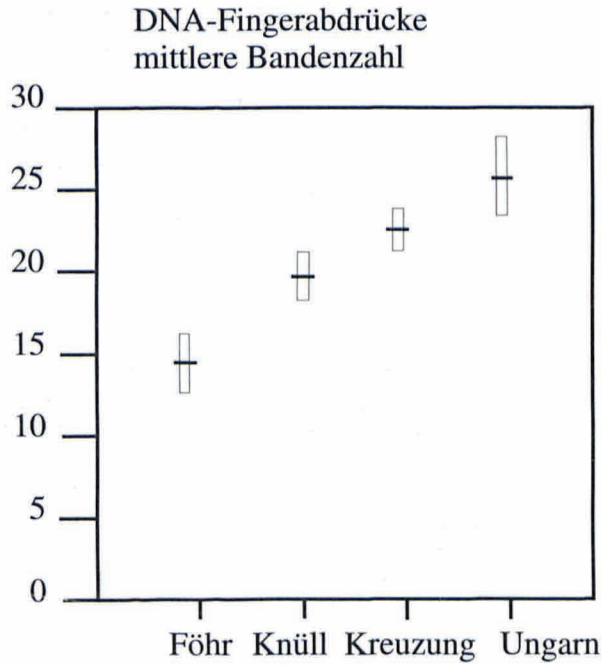


Abbildung 3: Mittlere Bandenzahl der verschiedenen Probandengruppen

Abbildung 4: Stammbaum der Gehegefamilie (Knüll/Schwäbische Alb)

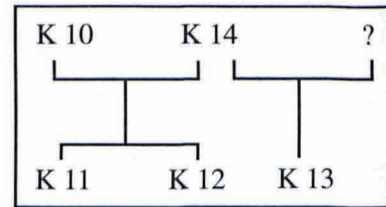


Tabelle 1:

Signifikanz (p) der Differenzen der mittleren Bandenzahlen zwischen verschiedenen Populationen (Varianzanalyse):

Population	p
Föhr – Knüll	0,0003
Föhr – Gehege (Kreuzung)	< 0,0001
Föhr – Ungarn	0,0002
Knüll – Gehege (Kreuzung)	0,0152
Knüll – Ungarn	0,0015
Gehege (Kreuzung) – Ungarn	0,0401

Narkotisierte Tiere wurden tierschutzgerecht zum Felduntersuchungsraum transportiert.



Alb untersucht sowie Gehegerehe verschiedener Herkunft.

### Ähnlichkeit im Bandenmuster

Als Maß für die Verwandtschaft dient uns die Übereinstimmung in den Banden eines DNS-Fingerabdrucks. Bande für Bande werden die Fingerabdrücke zwischen zwei Individuen verglichen. Der prozentuale Anteil an gemeinsamen Banden wird für jeden Vergleich nach einer Formel ermittelt, und der Durchschnitt aller Vergleiche ergibt den Band-Sharing-Index (BSI). „Band sharing“ bedeutet also soviel wie „eine oder mehrere Banden gemeinsam haben“. Der BSI liegt zwischen 0 und 1, wobei der Wert 1 völlige Übereinstimmung anzeigt.

Während der BSI ein Maß zum Vergleich von Individuen oder Populationen ist, bezieht sich die Anzahl der Banden zunächst auf das einzelne Tier. Die Zahl der gut unterscheidbaren Banden liegt bei unserer Untersuchung zwischen 12 und 28 (Abbildungen 1 bis 3). Identische Bandenmuster fanden sich in keiner der Proben. Die geringste mittlere Bandenzahl hatten mit knapp 15 Banden die Rehe von der Insel Föhr, gefolgt von den Knüllreihen mit 20 Banden und den Rehen aus der Kreuzung Knüll/Schwäbische Alb (Stammbaum in Abbildung 4) mit 23 Banden. Bei zwei Rehen ungarischer Herkunft (Vater und Sohn) fand sich die höchste Bandenzahl von 28 beziehungsweise 25 Banden. Im Herkunftsvergleich zeigen sich also große Unterschiede bei den Mittelwerten der Bandenzahl, die statistisch gut abgesichert sind (Tabelle 1 und Abbildung 3).

### Brauchbare Methode

Entgegen der früher geäußerten Skepsis über die Aussagekraft von DNS-Fingerabdrücken, um die genetische Variabilität von Populationen zu beurteilen, halten wir aufgrund unserer Untersuchungen diese Methode für brauchbar. Nur die seit mindestens 50 Generationen getrennten, freilebenden Bestände von der Nordseeinsel Föhr und den Knüllbergen zeigen im Rahmen des statistischen Feh-

JUSTUS-LIEBIG-  
UNIVERSITÄT  
GIESSEN



AOR Dr. Werner Hecht

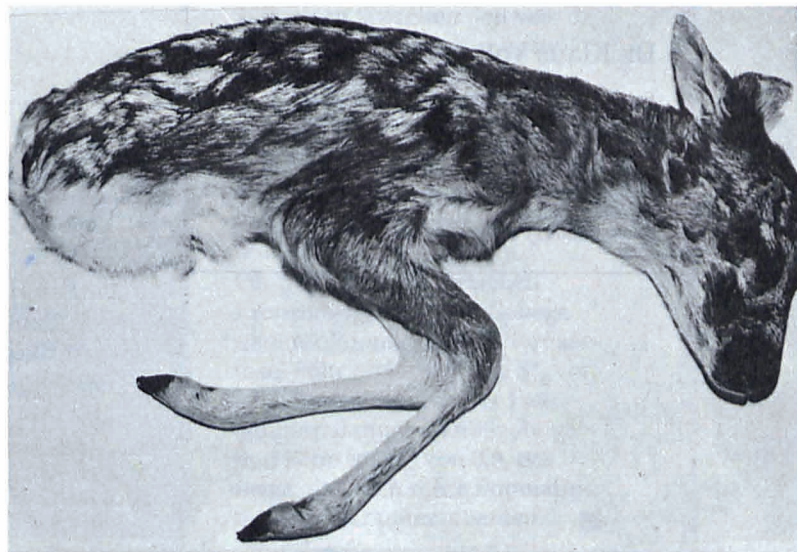
Institut für Tierzucht und Haustiergenetik  
Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik  
und Zytogenetik  
Hofmannstraße 10  
35392 Gießen  
Telefon (0641) 702-9862



Werner Hecht ist seit 1987 im Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik und Zytogenetik der Justus-Liebig-Universität tätig. Zu seiner Arbeit gehört die zytogenetische Diagnostik und Beratung bei Heim- und Nutztieren und die Beschreibung genetischer Variation bei Haus- und Wildtieren, vor allem durch die Analyse mitochondrialer Genome. Er studierte Agrarwissenschaften in Weihenstephan und arbeitete am Institut für Human-genetik in Göttingen.



Abbildung 5 und 6: Auch in der freien Wildbahn treten Farb- und andere Anomalien auf.



lers keinen Unterschied im Band-Sharing-Index. Ihre genetische Variabilität ist damit vergleichbar groß. Aber auch sie lassen sich noch unterscheiden, wenn man die Bandenzahl hinzunimmt mit durchschnittlich 15 Banden bei den Rehen auf Föhr und 20 bei den Tieren der Knüllpopulation. Bei den Inselreihen stimmt eine Bande bei allen Tieren überein, bei den Knüllreihen sind zwei Banden identisch. Hier kommt die verminderte genetische Variabilität zum Ausdruck, wie nicht anders zu erwarten bei einer Gatterpopulation, die nur auf wenige Gründertiere zurückgeht. Die mittlere Bandenzahl pro Population kann im vorliegenden Fall als Indiz für die mit steigender Verwandtschaft ebenfalls zunehmende genetische Einförmigkeit gesehen werden.

Wenn man nur weit genug in der Geschichte zurückgeht, ist natürlich jeder mit jedem verwandt, doch der Vergleich von Tieren unterschiedlicher Herkunft ermöglicht es, einen Hintergrund-BSI zu berechnen als sozusagen artspezifische Variabilität, da diese Tiere zumindest im populationsgenetischen Sinne nicht als verwandt anzusehen sind. Mit steigender Verwandtschaft zwischen zwei In-



Foto: Werner Henkel

dividuen in einer Population steigt der BSI gleichmäßig an, wobei die niedrigsten Werte beim Vergleich der ungarischen mit den deutschen Rehen auftraten.

### Keine „genetische Verarmung“

Mit der Bandenzahl eines Fingerabdrucks und der Ähnlichkeit zwischen den Fingerabdrücken, wie er mit dem BSI gemessen wird, lassen sich Rehfamilien, freilebende Populationen unterschiedlicher genetischer Variabilität und räumlich getrennte Populationen unterscheiden. Die erhobenen Ergebnisse zeigen eindeutig, daß

die Variabilität der Fingerabdrücke beim Rehwild keine „genetische Verarmung“ anzeigt. Es kann davon ausgegangen werden, daß die genetische Variabilität innerhalb dieser Art höher ist, als bisher vermutet wurde. Für eine Bestandsgefährdung durch „genetische Verarmung“, wie häufig befürchtet wird, gibt es nach unseren Untersuchungen keinen Anhaltspunkt.

### Ausblick

Dieses Verfahren kann auch zur Abstammungskontrolle in Gehegezuchten und für den Artenschutz eingesetzt werden, um Verwandtschaftsverhältnisse entweder zu bestätigen oder auszuschließen. Das Artenschutzgesetz wird so einfacher handhabbar, weil im Zweifelsfall schwierige Zuchtkontrollen, vor allem bei Greifvögeln, ersetzt werden können.

Zur Zeit ist es jedoch noch nicht möglich, DNS-Fingerabdrücke mit genügender Zuverlässigkeit elektronisch zu verarbeiten und zu speichern. Für jeden Abstammungsfall müssen daher die betroffenen Tiere untersucht werden. Diese technischen Probleme können aber vermutlich bald gelöst werden.



Der Fachtierarzt für Wildtiere Klaus Vollmer studierte Veterinärmedizin in Gießen und wurde hier promoviert. Seit 1981 arbeitet er in verschiedenen Forschungsvorhaben zur Genetik, Haltung, Pathologie und Ökologie von Wildtieren.

JUSTUS-LIEBIG-  
UNIVERSITÄT  
GIESSEN

### Dr. Klaus Vollmer

Fachtierarzt für Wildtiere (Wildbiologie)  
Institut für Tierzucht und Haustiergenetik  
Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik  
und Zytogenetik  
Hofmannstraße 10  
35392 Gießen  
Telefon (0641) 702-9863

*Der Hessische Minister für Landesentwicklung, Wohnen, Landwirtschaft, Forsten und Naturschutz, der Niedersächsische Minister für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten sowie die Firma Robert Heitkamp stellten über 1,5 Millionen DM, Personal und Gehege zur Verfügung. Damit sollten unter anderem wichtige genetische Methoden wie der DNS-Fingerabdruck in die Wildtiergenetik, den Artenschutz und das Wildtiermanagement eingeführt werden. Beteiligt waren Dr. Klaus Vollmer, Dr. Werner Hecht und Prof. Dr. Alexander Herzog vom Institut für Tierzucht und Haustiergenetik (Fachgebiet Veterinärmedizinische Genetik und Zytogenetik) und der Arbeitskreis Wildbiologie an der Justus-Liebig-Universität.*

## „Band sharing“ und Bandenzahl

Der prozentuale Anteil an gemeinsamen Banden wird für jeden Vergleich nach der Formel  $S_{xy} = 2 N_{xy} / (N_x + N_y)$  ermittelt. Der Durchschnitt aller Vergleiche ergibt den Band-Sharing-Index (BSI). In Tabelle 2 sind die BSI zwischen den untersuchten geographischen Gruppen dargestellt. Der mittlere BSI der räumlich getrennt lebenden Tier verschiedener Herkunft betrug bei 15 Vergleichen  $S_{xy} = 0,268 \pm 0,09$ . Die Überprüfung der BSI mit der Varianzanalyse ergab hochsignifikante Unterschiede zwischen den Probandengruppen ( $p < 0,0001$ ), ausgenommen die Freilandpopulationen Knüllgebirge und Nordseeinsel Föhr, die sich in den BSI nicht unterscheiden ( $p = 0,3987$ ). Das Ausmaß der genetischen Differenzierung in Subpopulationen lässt sich durch Vergleich der mittleren BSI innerhalb zweier Gruppen, sowie dem BSI, ermittelt aus dem Vergleich von Tieren aus beiden Gruppen, schätzen. Dies erfolgt nach der Formel:

$$S^*_{ij} = 1 + BSI_{ij} - (BSI_i + BSI_j) / 2$$

$S^*_{ij}$  = Maß für Differenzierung (bei 1 kein Unterschied)

$BSI_{ij}$  = BSI ermittelt zwischen Tieren aus beiden Populationen

$BSI_i, BSI_j$  = BSI zwischen Tieren innerhalb der beiden Populationen

Tabelle 1:

	SA	BY	SR	U	K
SA	-				
BY	0,37	-			
SR	0,35	0,19	-		
U	0,20	0,16	0,21	-	
K	0,30	0,29	0,26	0,17	-
F	0,24	0,23	0,43	0,19	0,43

BSI von Tieren verschiedener Herkunft (SA = Schwäbische Alb, BY = Bayern, SR = Gehegezuchtgruppe, U = Gödöllö/Ungarn, K = Knüllgebirge, F = Insel Föhr)

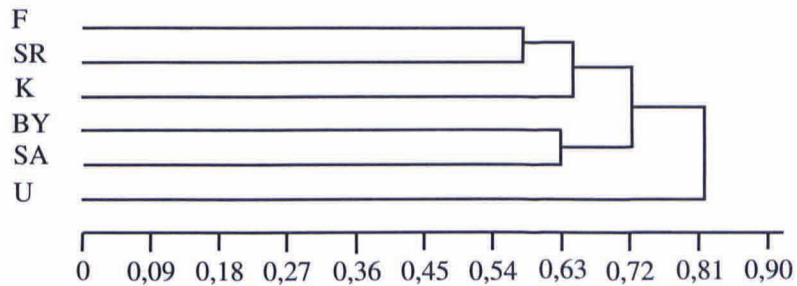


Abbildung 7: Dendrogramm zum Vergleich der genetischen Distanzen (1 - BSI) zwischen den Probandengruppen (SA = Schwäbische Alb, BY = Bayern, SR = Gehegezuchtgruppe, U = Gödöllö/Ungarn, K = Knüllgebirge, F = Insel Föhr)



Für bestimmte Untersuchungen waren zahme Tiere notwendig.

Die „verwandtschaftlichen“ Beziehungen zwischen den verschiedenen Herkünften beziehungsweise geographischen Gruppen lassen sich in einem Dendrogramm, also einem phylogenetischen Stammbaum darstellen (Abbildung 7), wobei der BSI als Ähnlichkeitsmaß Verwendung findet.

Für den Vergleich zwischen Kreuzungsgruppen im Gehege und der Population der Nordseeinsel Föhr ergibt sich ein  $S^*_{ij}$  von 0,63, beim Vergleich der Freilandpopulationen Knüllgebirge und Föhr ein  $S^*_{ij}$  von 0,9, das heißt, daß sich diese Populationen weniger unterscheiden. ■