



Schafe sind bis heute ein wesentlicher Faktor für den Erhalt und die Gestaltung der Kulturlandschaft

Europa ist derzeit mit über 770 bekannten Schafrassen – und somit der Hälfte aller weltweit bekannten Rassen – der Kontinent mit der größten Rassenvielfalt. Die agrarpolitischen Rahmenbedingungen mit der Notwendigkeit einer höheren Produktivität der Schafhaltung in Verbindung mit einem Rückzug aus peripheren Regionen führten jedoch bereits zu einer erheblichen Dezimierung von stark an die Region angepassten Landschaftsrassen. So waren laut Food and Agriculture Organization (FAO) im Jahre 2000 bereits knapp 20 Prozent aller dokumentierten europäischen Schafrassen ausgestorben und etwa 15 Prozent vom Aussterben bedroht.

Von Christina Peter und Georg Erhardt

Landschaftsrassen wie z. B. die Heidschnucke der Lüneburger Heide oder das Bergschaf der Alpenregion sind meist sehr alte Rassen und stark an ihre Ursprungsregion angepasst, häufig aber – im engeren ökonomischen Sinne – weniger produktiv. Um die genetische Vielfalt der Schafrassen zu erhalten, wurde 2001 von der Europäischen Union das Projekt ECONEGENE gefördert. Im Rahmen dieses Projektes wurden in einem Zeitraum von dreieinhalb Jahren über 50 europäische und vorderasiatische Schaf- und Ziegenrassen sowohl auf genetischer Ebene als auch unter Einbeziehung der

Ein Schaf gleicht dem anderen!?

Die genetische Vielfalt der Schafe Europas im Fokus der Molekulargenetiker

geografischen und sozioökonomischen Rahmenbedingungen untersucht.

Die Entstehung der Schafrassen Europas

Vor etwa 11.000 Jahren ging der Mensch in der Region des „Fruchtbaren Halbmonds“, also des heutigen Nahen Ostens, dazu über, Schafe nicht mehr zu jagen, sondern sie zu zähmen, zu domestizieren und für seine Zwecke zu nutzen. Aufgrund seiner geringen Größe und Friedfertigkeit, aber auch durch die Vielfalt der von ihm gewonnenen Produkte wie Fleisch, Milch und Felle und wegen seiner Rolle als Opfertier gehörte das Schaf nach dem Hund zu den ersten domestizierten Tierarten. Vom Nahen Osten aus breiteten sich die Schafe im Zuge der Völkerwanderung über die Türkei nach Europa aus. Von dort aus vollzog sich die weitere Expansion zum einen entlang der Donau, zum anderen entlang der Mittelmeer- und der Atlantikküste bis nach Skandinavien.

Unter dem Einfluss von natürlicher Selektion, aber auch durch den Menschen bildete sich eine Vielzahl von Rassen, so

dass Europa heute mit mehr als 770 dokumentierten Schafrassen 50 Prozent aller weltweit bekannten Rassen beherbergt. Begründet ist diese hohe Zahl unter anderem durch die große landschaftliche Variation: Hochgebirge in den Alpenregionen, Senken in Küstennähe, mediterranes und trockenes Klima in Südeuropa, kontinentales Klima im Südosten, Seeklima an den Küsten. All dies erforderte ein hohes Maß an Anpassungsfähigkeit, und so haben sich unter diesen natürlichen Einflussfaktoren lokale Rassen entwickelt.

Jedoch auch der Mensch wirkte durch seine Bedürfnisse vor allem in den letzten 300 Jahren tierzüchterisch auf die Entwicklung der Rassen ein: Er selektierte auf ein zumeist weißes Wollvlies und auf verschiedene weitere äußerliche Merkmale wie Hornlosigkeit, aber auch auf Marschfähigkeit, da die Schafe in Verbindung mit dem regional und jahreszeitlich unterschiedlichen Futterangebot weite Strecken zurücklegen mussten. Diese Marschfähigkeit ist eine Eigenschaft, die auch heute noch von Bedeutung ist. So werden Schafe (und auch Rinder) in Zentral- und Südspanien mit Beginn der Trockenheit noch

immer über Hunderte von Kilometern in die feuchteren, gebirgigen Regionen Nordspaniens getrieben (so genannte Transhumanz).

Die wirtschaftlichen Rahmenbedingungen insbesondere der letzten Jahrzehnte erforderten jedoch eine höhere Produktivität der Schafe, um ein ausreichendes Familieneinkommen erwirtschaften zu können. Da dies insbesondere in ländlichen Regionen mit der Haltung von Landschafrassen nicht immer möglich war, ging die Schafhaltung in diesen Regionen europaweit stark zurück. Dies hatte zur Folge, dass laut FAO im Jahr 2000 bereits etwa 20 Prozent aller bekannten europäischen Schafrassen ausgestorben und etwa 15 Prozent vom Aussterben bedroht waren.

Maßnahmen gegen den Verlust an Rassevielfalt

Um den Verlust an Arten- und Rassevielfalt aufzuhalten, beschloss die *United Nations Conference on Environment and Development* 1992 in ihrer *International Convention on Biological Diversity* (Agenda 21) die biologische Vielfalt nachhaltig zu schützen. Basierend auf

Molekulargenetische Marker – ein Exkurs

Der Begriff Marker wird vorwiegend in der Genkartierung verwendet. Die Genkartierung macht Angaben darüber, in welcher Reihenfolge die Erbanlagen auf den Chromosomen angeordnet sind. Man unterscheidet eine ganze Reihe molekulargenetischer Marker. So spricht man von immunologischen Markern wie den Blutgruppen und von biochemischen Markern, die Protein- und Enzymvarianten beschreiben. Im Zusammenhang mit dem Thema dieses Artikels befassen wir uns mit DNA-Markern und ihren unterschiedlichen DNA-Sequenzen.

Untersuchte Marker im Rahmen des ECONOGENE-Projekts

SNPs

SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) entstehen durch so genannte Punktmutationen, die zum Austausch einer einzigen Base im Genom führen (z. B. Adenin gegen Cytosin). Tritt diese Punktmutation in einem funktionellen Gen auf, das heißt einem Gen, das eine bedeutende Rolle in Stoffwechselvorgängen spielt, so kann sie im schwerwiegendsten Fall einen Erbdefekt nach sich ziehen. Die Mehrheit der Punktmutationen ist jedoch ohne weitere Konsequenz, da sie nicht zu einer Veränderung der Aminosäuresequenz führen; schließlich kodieren immer verschiedene Basentriplets für die gleiche Aminosäure. Je nach Lokalisation der Mutation treten SNPs in codierenden oder nicht codierenden Regionen des Erbguts auf, den so genannten Exons oder Introns. Exons bilden die Genabschnitte, welche nach der Transkription in einem weiteren Schritt, der Translation, in Aminosäuren übersetzt werden und somit Proteine codieren. Introns hingegen werden zwar zunächst auch transkribiert, aber während des Splicings entfernt, so dass sie nicht in

Aminosäuren bzw. Proteine übersetzt werden.

mt-DNA und Y-Chromosom

Mitochondriale DNA (mt-DNA) zählt zu den Erbinformationen, die sich außerhalb des Zellkerns befindet. Da Spermien nur einige Hundert, Eizellen dagegen mehrere Hunderttausend Mitochondrien enthalten, wird die Erbinformation der Mitochondrien zu nahezu 100 % von mütterlicher (maternal) Seite auf die Nachkommen übertragen. Hierdurch lassen sich durch geeignete Marker vor allem Evolutionsforschungen durchführen. Untersuchungen der mt-DNA von domestizierten Rindern und der ausgestorbenen Wildform (Auerochs) konnten beispielsweise aufdecken, dass europäische Rinder nicht wie bisher angenommen nur von domestizierten Rindern des Nahen Ostens abstammen, sondern dass es auch in Europa zu lokalen Domestikationsereignissen kam (Beja-Pereira et al., 2006). Untersuchungen des Y-Chromosoms weisen dagegen auf väterliche (paternale) Einflüsse hin und finden ebenfalls vor allem in der Domestikationsforschung Anwendung.

Mikrosatelliten

Mikrosatelliten, auch STRs (*Short Tandem Repeats*) oder SSRs (*Simple Sequence Repeats*) genannt, sind sich wiederholende Basensequenzen (z. B. (CA)_n) im Genom aller Eukaryonten. Abgesehen von einigen Ausnahmen treten Mikrosatelliten vorwiegend in den nicht für Proteine codierenden Bereichen des Genoms auf und werden daher häufig als *neutrale* genetische Marker bezeichnet. Während der DNA-Replikation der Mikrosatelliten erfolgt häufig ein Abrutschen (*Slippage*) und eine versetzte Wiederanlagerung der DNA-Polymerase, dem Enzym, das während der Mitose für die Verdopplung der DNA sorgt. Durch diesen Prozess kommt es zu einer Addition bzw. Deletion der Mikrosatellitenmotive und folglich zu einer Änderung der Sequenz. Mikrosatellitenanalysen sind leicht zu automatisieren und kosteneffizient. Deshalb zählen sie heute zu den am häufigsten verwendeten DNA-

Markern. Sie finden in der Identitäts- und Abstammungskontrolle, aber auch bei der Untersuchung genetischer Diversität Anwendung.

Ergebnisse der Mikrosatellitenanalyse sind so genannte Fragmentlängen, die in Basenpaaren angegeben werden und Allele darstellen. Hat ein Tier verschiedene Allele von Vater und Mutter geerbt, so spricht man von einem heterozygoten oder mischerbigen Genotyp, während gleiche Allele zu einem homozygoten oder reinerbigen Genotyp führen.

Der Begriff Mikrosatellit leitet sich übrigens vom Verhalten dieser DNA-Abschnitte in der Dichtegradienten-Zentrifugation ab. Hierbei trennen sich RNA, DNA und die Satelliten-DNA.

Kandidatengene

Als Kandidatengene bezeichnet man Gene, von denen man aufgrund der Funktion der Genprodukte erwarten kann, dass sie an der Ausprägung eines Merkmals (z. B. einer Krankheit) beteiligt sind. Beispielsweise galt das Prionprotein (*PRNP*) lange Zeit als ein Kandidatengene für die Traberkrankheit (Scrapie) beim Schaf. Heute weiß man jedoch mit Sicherheit, dass das *PRNP* die Ursache für die Scrapie-Empfänglichkeit darstellt, so dass das Gen nicht mehr nur ein Kandidat ist. Alle Gene sind aus verschiedenen Regionen aufgebaut. Man unterscheidet unter anderem Exons und Introns. Exons bilden die codierenden Bereiche, welche nach der Transkription in einem weiteren Schritt, der Translation, in Aminosäuren übersetzt werden und somit Proteine codieren. Introns hingegen werden zwar zunächst auch transkribiert, aber während des Splicings entfernt, so dass sie nicht in Aminosäuren bzw. Proteine übersetzt werden.

ten in Norwich (School of Biological Sciences unter der Leitung von Godfrey Hewitt) und Cardiff (School of Biosciences, Biodiversity and Ecological Processes Group unter der Leitung von Michael Bruford) insgesamt 31 Mikrosatelliten untersucht. Auf die Ergebnisse dieser Analysen soll im Folgenden detaillierter eingegangen werden.

Verlust genetischer Vielfalt in Westeuropa

Die Ergebnisse der Mikrosatellitenanalyse ermöglichen es, neben dem Vorkommen von Allelen, Allelfrequenzen für jede Rasse zu berechnen. Diese Allelfrequenzen geben an, wie hoch der Anteil der verschiedenen Allele in jeder Rasse ist. Auf der Basis von Allelfrequenzen werden dann weitere Diversitätsparameter wie genetische Distanzen, Heterozygotiegrade und Inzuchtkoeffizienten berechnet. Heterozygotiegrade geben Aufschluss über den Anteil heterozygoter, d. h. mischerbiger Tiere und weisen auf Einkreuzungen, Inzucht oder so genannte „Flaschenhälse“ hin, die zu einer Verringerung der effektiven Populationsgröße führen.



Abb. 3: Clusteranalysen zeigen eine Unterscheidung zwischen südost- und nordwesteuropäischen Schafrassen

Unsere Analysen ergaben, dass lediglich 5,6 % der genetischen Variabilität zwischen den einzelnen Rassen liegen und somit der größte Teil (94,4 %) der genetischen Vielfalt innerhalb der einzelnen Rassen zwischen den Tieren einer Rasse zu finden ist. Dies verdeutlicht, dass nicht nur Rassenvielfalt erhalten werden sollte, sondern dass auch

die Diversität innerhalb der Rassen von großer Bedeutung ist. Dies wird beispielsweise deutlich anhand der Grauen gehörnten Heidschnucke, die nur eine geringe genetische Vielfalt zwischen den einzelnen Tieren aufweist. Die Ursache hierfür findet sich vorwiegend in der Zuchtgeschichte der Heidschnucken: Anfang des letzten Jahrhunderts sanken die Preise für Schaffleisch und Wolle, während sich gleichzeitig die Rinder- und Schweinezucht ausdehnte. Dies führte zu einer deutlichen Verringerung der Populationsgröße der Heidschnucken, einem so genannten „Flaschenhals“. Die verbliebene Anzahl an Heidschnucken reichte nicht mehr aus, die Lüneburger Heide zu beweiden. Die direkte ökologische Folge war eine zunehmende Verbuschung. Zudem stellte sich heraus, dass andere Schafrassen als die Heidschnucke mit den vorherrschenden Vegetationsbedingungen nicht zurechtkamen. Daraufhin besannen sich die Schafzüchter wieder auf diese alte Rasse, wobei vor allem auch Privatpersonen und Vereinigungen, die am Erhalt der Lüneburger Heide interessiert waren, eine wichtige Rolle spielten. Die Heidschnucke erlebte in den darauf folgenden Jahren eine Renaissance; die Population wuchs, so dass sie heute nicht



Abb. 2: Das Braune Bergschaf ist eine stark vom Aussterben bedrohte Rasse

mehr als bedroht eingestuft wird. Der „Flaschenhals“ führte aber zu einem starken Verlust an genetischer Vielfalt, die in ihrer ursprünglichen Form unwiderrufbar verloren gegangen ist.

Gleichzeitig konnten wir durch unsere Untersuchung aufzeigen, dass auch politische Ereignisse durch so genannte „genetische Drift“ Einfluss auf eine Rasse haben können: So führte die Gründung der DDR im Jahr 1949 zur Bildung zweier separater Rhönschaf-Populationen in Thüringen und Hessen/Bayern, die auch 16 Jahre nach der Wiedervereinigung Deutschlands noch genetisch anhand der Mikrosatellitenresultate nachvollziehbar ist.

Außerdem betrachteten wir die Verteilung der genetischen Vielfalt der Schafe über ganz Europa und den Nahen Osten. Hierbei zeigte die Analyse der Diversitätsparameter, dass die genetische Vielfalt der Schafrassen vom Nahen Osten über Südosteuropa nach Nordeuropa hin abnimmt. Ähnliche Beobachtungen konnten bereits beim Rind gemacht werden (Loftus et al., 1999, Troy et al., 2001) und wurden nun erstmalig auch beim Schaf nachgewiesen. Da Schafe in der Region des Nahen Ostens domestiziert wurden, findet sich hier heute noch die höchste Diversität. Im Zuge der Völkerwanderungen und Ausbreitung der Schafe nach Nordeuropa mit nachfolgender Rassebildung selektierten Mensch und Natur, so dass ein Teil der genetischen Vielfalt sukzessive verloren ging. Diese unterschiedliche Verteilung der genetischen Diversität stützten wir durch Clusteranalysen mit dem Programm STRUCTURE (Pritchard et al., 2000), die eine Unterscheidung zwischen Südost- und Nordwesteuropa verdeutlichen (Abbildung 3).

Sicherung der Lammfleischherkunft

Allelfrequenzen ermöglichen aber auch, Einzeltiere auf ihre Ursprungsrasse hin zu untersuchen und die Zugehörigkeit eines Tieres zu einer Rasse zu überprüfen, da Kreuzungstiere identifiziert wer-

den können. Diese Methode wird unter dem Begriff „Breed assignment“ oder „Rassezuordnung“ zusammengefasst.

Man stelle sich vor, dass jedes Schaf eine Art genetischen Ausweis mit sich trägt, in unserem Falle einen Code aus 31 Mikrosatelliten mit je zwei Allelen, also 62 Zahlen. Diese 62 Zahlen beschreiben den „genetischen Fingerabdruck“ eines Schafes. Das Computerprogramm *GeneClass* (Cornuet et al., 1999) vergleicht nun diesen individuellen „Fingerabdruck“ mit den Allelfrequenzen der verschiedenen Rassen (Vergleichsdatensatz) und gibt für jede Rasse eine Zugehörigkeitswahrscheinlichkeit an.

Die Methode ist besonders bedeutsam für Rassen, in denen keine umfassende Dokumentation der Zuchttiere und der Anpaarungen erfolgt und nicht ausgeschlossen werden kann, dass es zu bewussten oder unbewussten Anpaarungen mit anderen Rassen kam. Anhand des Datensatzes aus dem ECO-NOGENE-Projekt zeigten wir auf, dass gerade die Rassen Mittel- und Nordeuropas wie die Graue gehörnte Heidschnucke, das Rhönschaf und die polnische Heideschafrasse Wrzosowka einen solch eindeutigen Genotyp besitzen, dass es möglich ist, sie von den anderen Rassen abzugrenzen und sie ihrer



Dr. Christina Peter und Prof. Dr. Georg Erhardt

Institut für Tierzucht und Haustiergenetik

Ludwigstr. 21b, 35390 Gießen

Telefon: 0641 99-37621

Email: Christina.Peter@agr.uni-giessen.de

Email: Georg.Erhardt@agr.uni-giessen.de

Christina Peter, Jahrgang 1975, studierte von 1996 bis 2002 Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Seit 2002 war sie als Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Tierzucht und Haustiergenetik tätig. Bis 2005 arbeitete sie im Rahmen des EU-Projekts ECONOGENE und wurde Anfang des Jahres 2006 promoviert. Ihre Dissertation trägt den Titel „Molekulargenetische Charakterisierung von Schafrassen Europas und des Nahen Ostens auf der Basis von Mikrosatelliten“.



Georg Erhardt, Jahrgang 1950, studierte Landwirtschaft (1969–1972) an der Fachhochschule in Nürtingen und anschließend Veterinärmedizin (1972–1977) an der Universität Gießen. Anschließend war er Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Tierzucht und Haustiergenetik. Die Promotion zum Dr. med. vet. erfolgte 1981, die Habilitation für das Fachgebiet „Tierzucht und Haltungsbiologie“ im Jahr 1991. Nach einer Vertretung der Professur für Tierhaltung an der Universität Kiel 1992 und der Professur für Tierzucht und Haustiergenetik an der Universität Gießen ist er seit 1994 als Professor für Tierzucht und Haustiergenetik am Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen tätig. Seit 1999 ist er Geschäftsführender Direktor des Instituts für Tierzucht und Haustiergenetik und war von 1996–1997 Dekan des Fachbereichs Agrarwissenschaften und Umweltsicherung. Seit 1994 war Prof. Erhardt Mitherausgeber und von 1998–2006 Executive Editor des Journal of Animal Breeding and Genetics. Er ist u. a. Mitglied im Sonderforschungsbereich „Landnutzungskonzepte für periphere Regionen“ (SFB 299), im Graduiertenkolleg 455 „Molekulare Veterinärmedizin“, im Forschungsschwerpunkt „Mensch-Ernährung-Umwelt“ sowie im BMBF-ADR-Projekt „Funktionelle Genomanalyse in Tierischen Organismen (FUGATO)“.



Abb. 5: Die Beweidung durch Schafe stellt in Regionen, die für Maschinen schlecht zugänglich sind, häufig die einzige geeignete Nutzungsmöglichkeit dar.

Rasse zuzuordnen. Dies ermöglicht beispielsweise bei der *Lüneburger Heidschnucke*, die eine geschützte Ursprungsbezeichnung nach EU-Verordnung 92/2081/EWG darstellt, eine Überprüfung, ob es sich bei einem Schlachtkörper oder den wertvollen Teilstücken wie der Lammkeule tatsächlich um eine Heidschnucke oder aber um eine Lammkeule aus Neuseeland handelt. Diese Möglichkeiten der Überprüfung sind notwendig und wichtig, damit die erhöhten Anforderungen an Lammfleisch in Verbindung mit regionaler Herkunft/Rasse z. B. nicht durch billigere Importe unterlaufen werden können. Nur so kann sichergestellt werden, dass sich die regionale Erzeugung von Fleisch einer bedrohten Schafrasse nachhaltig und damit positiv für die Rasse, den Betrieb und die Region auswirken kann.

Ausblick

Die hier ausschnittsweise präsentierten Ergebnisse der genetischen Analysen werden derzeit in die Auswertungen der geografischen Daten integriert. Damit sollen für jede Rasse mögliche Zusam-

menhänge zwischen genetischen Markern und geografischen Parametern identifiziert werden, so dass verschiedene Mikrosatellitenallele Hinweise auf eine besondere Anpassungsfähigkeit an unterschiedliche Landschaften, Klimata und Vegetationen geben. Gleichzeitig



Abb. 4: Heidschnuckenkeule oder vom Neuseelandlamm? Mikrosatellitenanalysen ermöglichen eine Unterscheidung

werden dadurch Hinweise auf Chromosomenregionen und die dort vorliegenden Gene erwartet, die in diesem Zusammenhang eine besondere Rolle spielen.

Umfassendes Ziel der Analysen soll sein, Entscheidungsträgern Informationen an die Hand zu geben, mit deren Hilfe Prioritäten für die Erhaltung von

Schafrassen gesetzt werden können. Es sollen hierbei aber nicht nur genetische Merkmale, sondern auch das soziale und ökonomische Umfeld, in dem diese Rasse derzeit angesiedelt ist, einbezogen werden. •

LITERATUR

- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El Barody, M. A. A., MacHugh, D. E., Park, S. D. E., Bradley, D. G. (1999) A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Mol. Ecol.* 8, 2015-2022.
- Troy, C. S., MacHugh, D. E., Bailey, J. F., Magee, D. A., Loftus, R. T., Cunningham, P., Chamberlain, A. T., Sykes, B. C., Bradley, D. G. (2001) Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410, 1088-1091.
- Pritchard, J., Stephens, M., Donnelly, P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
- Cornuet, J.-M., Piry, S., Luikart, G., Estoup, A., Solignac, M. (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* 153, 1989-2000.
- Beja-Pereira, A., Caramelli, D., Lalueza-Fox, C., Vernesi, C., Ferrand, N., Casoli, A., Goyache, F., Royo, L. J., Conti, S., Lari, M., Martini, A., Ouragh, L., Magid, A., Atash, A., Zsolnai, A., Boscato, P., Triantaphylidis, C., Ploumi, K., Sineo, L., Mallegni, F., Taberlet, P., Erhardt, G., Sampietro, L., Bertranpetit, J., Barbujani, G., Luikart, G., Bertorelle, G. (2006) The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 8113-8118.