

Aus der Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung am Forstwissenschaftlichen Fachbereich der Universität Göttingen, Göttingen, – Leiter: Prof. Dr. H. H. Hattemer

Genetische Variation und Differenzierung von drei geographisch isolierten Rotwildpopulationen (*Cervus elaphus* L.) in Niedersachsen¹

Von Th. GEHLE und S. HERZOG, Göttingen

1 Einleitung

Mittlerweile sind für die Gattung *Cervus* L. 1758 eine ganze Reihe populationsgenetischer Fragen mit Hilfe biochemisch-genetischer Methoden bearbeitet worden. Ziel vorliegender Arbeit war die Messung der Distanz unterschiedlicher genetischer Typen innerhalb (genetische Variation) und zwischen (Differenzierung) drei Rotwildpopulationen aus Niedersachsen. Deshalb beschränkte sich die Variationsanalyse auf zwei für Rotwild als in der Literatur relativ einheitlich beschriebene, zumeist biallele Genloci der Enzymsysteme Isocitrat-Dehydrogenase (IDH) und Superoxid-Dismutase (SOD).

Die gezielte Verwendung bekannter Proteinpolymorphismen ist zwingend, da sich nur an diesen sowohl genetische Variation selbst als auch deren zeitliche und räumliche Dynamik erkennen läßt. Generell monomorphe Enzymsysteme müßten damit als Marker ausscheiden.

Um die Ergebnisse mit der genetischen Situation anderer Rotwildpopulationen vergleichen zu können, wurden darüber hinaus vier Untersuchungen (PEMBERTON et al. 1988, HERZOG 1988, HARTL et al. 1990, STRÖHLEIN et al. 1991) reanalysiert.

2 Material und Methoden

Leber- und Nierenproben von insgesamt 136 Stück Rotwild aus den drei geographisch getrennten niedersächsischen Populationen Harz (50 Tiere), Heide (50 Tiere) und Solling (36 Tiere) wurden mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese (STAGE) an den zwei ausgewählten Marker-Enzymsystemen Isocitrat-Dehydrogenase (IDH) und Superoxid-Dismutase (SOD) untersucht (Abb. 1).

Die Organe wurden im Rahmen des Jagdbetriebs direkt nach dem Erlegen der Tiere entnommen, auf -20°C tiefgefroren und in diesem Zustand transportiert. Eine Zwischenlagerung bis zum Weiterverarbeiten der Homogenate erfolgte bei -80°C . Um die Enzyme der Leber- und Nierenzellen möglichst schonend zu behandeln, wurden die Organproben zunächst bei -40°C gelagert, danach nur solange in $+4^{\circ}\text{C}$ Umgebungstemperatur angetaut, bis ein Homogenisieren des Gewebes möglich war. Daraufhin erfolgte ein letztes Einfrieren des so gewonnenen Homogenates bei -30°C .

Um die Proben für die elektrophoretische Trennung vorzubereiten, wurden die tiefgefrorenen Leber- und Nierenhomogenate in einen Homogenatpuffer (80,1 mmol/l TRIS/HCl [1 mol/l], pH 7,3 und 3,2 mmol/l DTT, vgl. Tabelle 1) gegeben. Es entstand ein Gemisch, das die Enzyme aus dem Zellsaft löste und so ein späteres Auftrennen erleichterte.

¹ Eingesetzt wurde ein Druckkostenzuschuß des Ministeriums für Landwirtschaft, Weinbau und Forsten des Landes Rheinland-Pfalz, für den verbindlich gedankt wird. – Die Schriftleitung.

Tabelle 1. Erläuterung zu den im Text und in Tabelle 2 abgekürzten Komponenten

DTT: 1,4-Dithiothreitol ($C_{410}O_2S_2$); **Saccharose:** $C_{12}H_{22}O_{11}$ **Stärke:** $(C_6H_{10}O)_n$
Tris/Citrat: Tris (hydroxymethyl)-aminomethan ($C_4H_{11}NO_3$) / Citronensäure-Monohydrat ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$), Molaritätsangaben beziehen sich auf Tris, pH-Wert-Einstellung mit Citrat

Natriumphosphat: di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) / Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$; angegebene Molaritäten beziehen sich auf Ausgangslösungen, ph-Wert festgelegt durch Mischungsverhältnis

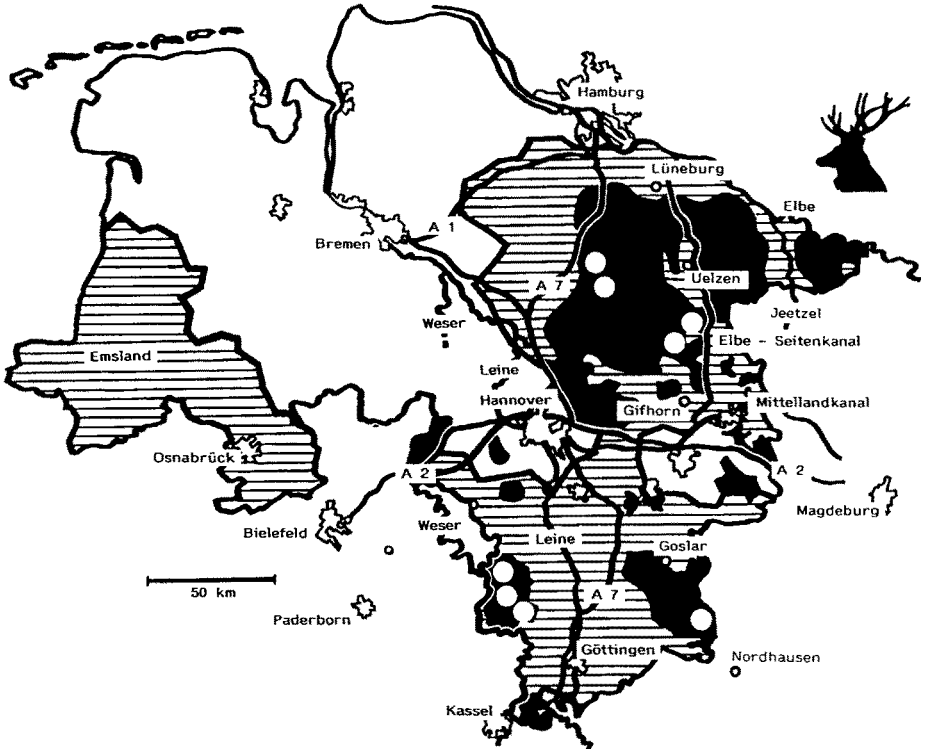


Abb. 1.: Rotwildverbreitung innerhalb der politischen Grenzen Niedersachsens. Schraffierte Flächen zeigen die Verbreitung des Rotwildes nach STROSE (1931), schwarze Flächen zeigen die Rotwildgebiete nach KOLBE (1992). Dazu sind mögliche Migrationsgrenzen wie Flüsse und Autobahnen kartiert. Die weißen Kreise symbolisieren diejenigen Forstämter, deren Rotwildproben untersucht wurden

Zu den Gelkomponenten Stärke und Saccharose wurden 150 ml Gelpuffer gegeben, in siedendem Wasserbad unter ständigem Rühren gelöst, nach 15minütigem Inkubieren bei $100\text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Wasserstrahlpumpe exakuiert und auf eine Glasplatte gegossen (Gelgröße: $230 \times 115 \times 5\text{ mm}$). Tabelle 2 zeigt die genaue Gelzusammensetzung (vgl. Tabelle 1). Das Einsetzen der Proben in die erkalteten Gele erfolgte mit Hilfe von Filterkarton ($4 \times 5\text{ mm}$), getränkt mit dem Homogenat/Homogenatpuffergemisch, in dafür eigens gestanzte Taschen. Die gelelektrophoretischen Trennungen wurden auf umlaufgekühlten Platten bei einer Temperatur von $4\text{ }^\circ\text{C}$ durchgeführt.

Die von HERZOG (1988) nach HARRIS und HOPKINSON (1976) sowie SMITHIES (1955) modifizierte Trennmethode für IDH in Erythrocyten des Rot- und Damwildes konnte für IDH der Leber- und Nierzellen ohne Qualitätsverlust von Darstellung und Trennschärfe

der Banden übernommen werden. Die speziellen Bedingungen für das Proteinsystem sind in Tabelle 2 dargestellt. Nach Ablauf der Elektrophorese wurden die Gele in der spezifischen Farbelösung (HERZOG 1988) bei 38°C im Wärmeschrank solange inkubiert, bis die Bandenmuster deutlich sichtbar waren.

Tabelle 2 Bedingungen der Gelelektrophorese, vgl. Tabelle 1

Protein	Gelpuffer	Gelkomponenten	Elektrodenpuffer	Stromstärke	Dauer(Stunden)
IDH	0,023 mol/l TRIS/ Citrat pH 7,0	11g/100 ml Starke	0,135 mol/l TRIS/ Citrat pH 7,0	85 mA	6
		65,1 mmol/l Saccharose			
SOD	0,006 mol/l Natriumphosphat pH 6,0	12g/100 ml Starke	0,1 mol/l Natriumphosphat pH 6,0	80 mA	12
		70,8 mmol/l Saccharose			

Im Gegensatz zu IDH existierte für SOD in Cervidenleber und -niere in der Literatur aufgrund unvollständiger Angaben keine anwendbare Trennmethode der Stärkegelelektrophorese. Daraufhin wurden die Trennparameter Puffersystem, Pufferkonzentration, pH-Wert der Gel- und Elektrodenpuffer, Stromstärke und die Zeit des Verfahrens variiert.

Das Verfahren, das eine gute Darstellung und Trennschärfe der Banden lieferte, ist aus Tabelle 2 zu entnehmen. Es wurde auf alle Organproben angewandt. Für die spezifische Enzymfärbung ist – abgesehen von der Riboflavinkonzentration mit 10,6 mmol/l – die Lösung von HERZOG (1988) übernommen worden. Nach konstanter Inkubation im Wärmeschrank (30 Minuten, 38 °C) wurden die Gele auf einem Leuchtisch angefarbt.

3 Ergebnisse

3.1 Isocitrat-Dehydrogenase (IDH, E.C. 1.1.1.42)

Entgegen der in Erythrocyten gefundenen Monomorphie des IDH-Enzymsystems (HERZOG 1988) ließen sich sowohl in der Leber als auch in der Niere drei Phänotypen ausscheiden (Abb. 2). Als einfachste genetische Hypothese wird die Aktivität eines durch einen Genlocus mit den Allelen *a* und *b* kodierten dimeren Enzyms angenommen.

Dieses Ergebnis zeigt keinen Widerspruch zu bisherigen Arbeiten (BACCUS et al. 1983, GYLLENSTEIN et al. 1983, DRATCH und GYLLENSTEIN 1985, PEMBERTON et al. 1988). Alle Autoren postulieren an Nieren- und Muskulaturproben – allerdings ohne genetische Analyse – einen autosomalen Locus mit zwei codominanten Allelen.

3.2 Superoxid-Dismutase (SOD, E.C. 1.15.1.1)

Das elektrophoretische Bild der Superoxid-Dismutase weist ebenfalls drei Phänotypen auf (Abb. 3). Intensitätsverteilung und Variationsart des Bandenmusters lassen in Analogie zu IDH auf ein dimeres Enzym schließen, codiert durch einen Genlocus mit zwei Allelen *a* und *b*. Diese genetische Hypothese wird auch für Muskulatur und Niere (GYLLENSTEIN et al. 1983), für Erythrocyten (HERZOG 1988), von HARTL et al. (1990) für Leber und Niere sowie von STROHLFIN et al. (1991) für Muskulatur, Herz und Leber formuliert. GYLLENSTEIN et al. (1983), HARTL et al. (1990) und STROHLFIN et al. (1991) beschreiben – wenn auch ohne genetische Analyse – zusätzlich einen zweiten Genlocus, der sich phänotypisch in einer invarianten Bande äußert und damit für monomorph gehalten wird.

Analog zu PEMBERTON (1988) konnten die genetischen Hypothesen an drei bekannten Gynopädien (Alttier und Kalb) überprüft werden. Die Analyse der Mutterfamilien widerlegt die Hypothese nicht.

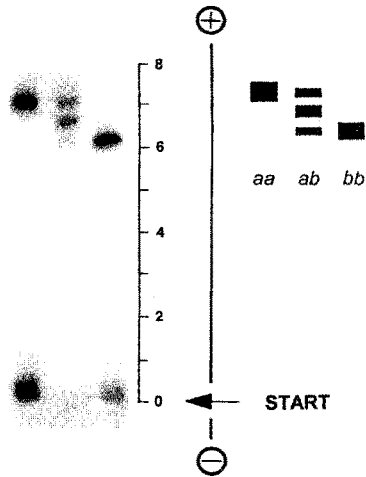


Abb. 2. Zymogramm der beobachteten IDH-Phänotypen des Rotwildes (bedingt durch Enzymfärbung und Bildwiedergabe erscheint die untere Bande des Typs ab schwächer)

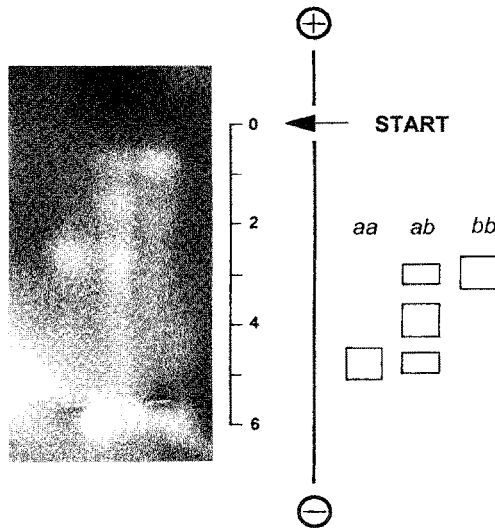


Abb. 3. Zymogramm der beobachteten SOD-Phänotypen (ungleichmäßige Gelfärbung ergibt in der Bildwiedergabe nicht zu bewertende bandeähnliche Schleier)

3.3 Genetische Variation und Differenzierung an den Genloci *IDH* und *SOD*

Das Auftreten genetischer Varianten in Populationen ist definiert als **genetische Variation**, der Begriff **Differenzierung** bezeichnet dagegen den Zustand unterschiedlicher genetischer Strukturen zwischen Kollektiven (HATTEMER et al. 1993).

Das Ausmaß **genetischer Variation** innerhalb der Deme wird hier quantifiziert durch

- den Anteil heterozygoter Genotypen eines Genlocus an allen untersuchten Individuen (**aktueller Heterozygotenanteil H_A**)
- das Verhältnis von aktuellem Heterozygotenanteil zum maximal möglichen (**bedingter Heterozygotenanteil H_C** , Tabelle 3), dabei ist zu beachten, daß erst H_C einen Vergleich

der Heterozygotie zwischen Kollektiven zuläßt. H_A ist abhängig von der Anzahl der Allele eines Genlocus und sagt nichts aus über das Ausmaß realisierter Heterozygotie innerhalb eines Kollektivs.

- die Kombination von absoluter Anzahl und Häufigkeit (effektive Anzahl) der Allele eines Genlocus (**allelische Diversität** v , für biallele Loci nimmt v Werte zwischen 1 und 2 an, Tabelle 3)
- einen Differenzierungsparameter (δ_T^* , Tabelle 3), der die intrapopuläre Variation mit höherer Vergleichbarkeit als v einschätzt, da er zwischen 0 und 1 schwankt; für biallele Loci nimmt das Maß bei Gleichhäufigkeit der Allele jedoch die obere Schranke von 0,5 an, weil die Anzahl der Allele feststeht. δ_T^* ist ein Schätzparameter, verdeutlicht durch den Index *, da in den Differenzierungswert die absoluten Allelfrequenzen eingehen, δ_T^* -Werte sind damit abhängig vom Stichprobenumfang.

Der Grad der Abweichung genetischer Strukturen zwischen den Populationen (**Differenzierung**) läßt sich hier messen über den Anteil nicht gemeinsamer Allele eines Genlocus (**paarweiser allelischer Abstand** d_0 , Tabelle 3). Das Differenzierungsmaß d_0

- erfüllt im Gegensatz zu dem gebräuchlichen Maß D von NEI (1972) die Dreiecks-Ungleichung, d. h. der Abstand zwischen zwei Kollektiven ist begrenzt durch die Summe ihrer Abstände zu einem dritten Kollektiv
- nimmt bei identischer allelischer Struktur den Wert 0 und beim Fehlen gemeinsamer Allele den Wert 1 an
- erzeugt symmetrische Abstände, d. h. für die Populationen i und j , daß $d_{ij} = d_{ji}$.

Dieses Konzept des genetischen Abstandes kann auch angewandt werden, indem man den Anteil nicht gemeinsamer Allele zwischen der j -ten Population und der Vereinigungsmenge aller verbleibenden Populationen ermittelt (**Differenzierung** D_j , Tabelle 3).

Tabelle 3. Variationsparameter. Bedingte Heterozygotie (GREGORIUS et al. 1986), Diversität (GREGORIUS 1978), Differenzierung δ_T^* innerhalb einer Population (GREGORIUS 1987), Paarweiser genetischer Abstand (GREGORIUS 1974) und Differenzierung D_j zwischen Populationen (GREGORIUS 1985)

<p>1. Bedingte Heterozygotie $H_c = \frac{H_A}{2(1-p)}$, wenn $p > 0,5$, mit p = relative Allelhäufigkeit; $[0 \leq H_c \leq 1]$</p>
<p>2. Diversität $v = (\sum_i p_i^2)^{-1}$ mit p_i = relative Häufigkeit des i-ten Allels; hier $[1 \leq v \leq 2]$</p> <p>Es ist zu beachten, daß mit steigender Anzahl der Allele eines Genlocus auch der maximale Wert der Diversität größer werden kann.</p>
<p>3. Differenzierung $\delta_T^* = \sum_i \frac{N_i}{N} \frac{N-N_i}{N-1}$ mit $[0 \leq \delta_T^* \leq 0,5]$ für biallele Loci</p> <p>Dabei ist hier N = die Summe aller Allelträger (entspricht der jeweils doppelten Stichprobengröße, vgl. Tab.4) und N_i = die gefundene absolute Allelhäufigkeit des i-ten Allels (entspricht n in Tab.4).</p>
<p>4. Paarweiser genetischer Abstand $d_0(p, q) = 0,5 \sum_i p_i - q_i$ mit $[0 \leq d_0 \leq 1]$</p> <p>Dabei sind p_i und q_i die relativen Häufigkeiten des i-ten Allels der jeweiligen Populationen p und q.</p>
<p>5. Differenzierung $D_j = 0,5 \sum_i p_i^{(j)} - \bar{p}_i^{(j)}$ mit $[0 \leq D_j \leq 1]$</p> <p>Es bedeuten p_i = relative Häufigkeit des i-ten Allels im j-ten Dem und \bar{p}_i = mittlere Häufigkeit des i-ten Allels in den übrigen (komplementären) Demen.</p>

Am *IDH*-Genlocus treten beide Allele etwa gleich häufig auf (Tabelle 4). Die allelische Diversität v erreicht nahezu den Maximalwert und charakterisiert diesen Verteilungstyp daher als **Majorpolymorphismus** (Tabelle 5). Dagegen zeigt die allelische Struktur des *SOD*-Genlocus eine ausgeprägte Verteilungsschiefe zugunsten des Allels *SOD^b* und wird durch das Diversitätsmaß (Wert erreicht fast die untere Schranke von v) als **Minorpolymorphismus** umschrieben (Tabellen 4 u. 5).

Die vorliegende Stichprobe wurde für die Variation des Enzymsystems *SOD* um die von HERZOG (1988) untersuchte Stichprobe (Harz 16, Heide 24 und Solling 44 Tiere) erweitert (vgl. Tabelle 4). Einerseits kann man die Allele *SOD^a* (interpretiert aus Rotwildphänotyp aa, vgl. Abb. 3) und *SOD^a* (HERZOG 1988) als identisch betrachten, da sie beide aus einem kathodal liegenden, schnellen Bandentyp im elektrophoretischen Bild bestimmt wurden. Andererseits ergab die Prüfung auf Homogenität der genotypischen Strukturen keine Signifikanz (Craddock Floods approximierter χ^2 -Test: Prüfgröße X^2 Harz 0,456, Heide 2,142, Solling 3,446 mit $\alpha = 0,05$, $K = 5,99$, $FG = 2$ nach BORTZ, LIENERT und BOEHNKE 1990).

Darüber hinaus konnten analog unter der Annahme von Allelidentität am Genlocus *SOD* die allelischen Strukturen der Gatterpopulation aus dem hessischen Wildschutzgebiet Rein-

Tabelle 4. Genetische Strukturen innerhalb der Rotwildpopulationen an den Genloci *IDH* (Majorpolymorphismus) und *SOD* (Minorpolymorphismus, erweitert mit Daten von HERZOG 1988). Der Vergleich von genotypischer und korrespondierender Hardy-Weinberg-Struktur ergab keine signifikanten Abweichungen (χ^2 -Anpassungstest mit $\alpha = 0,05$ und $K = 3,881$, $FG = 1$). n = Anzahl und rel. H. = relative Häufigkeit

Genlocus	Harz		Heide		Solling	
	n	rel. H.	n	rel. H.	n	rel. H.
<i>IDH</i>						
Genotypen						
<i>IDH^{aa}</i>	15	0,300	18	0,360	8	0,222
<i>IDH^{ab}</i>	23	0,460	23	0,460	18	0,500
<i>IDH^{bb}</i>	12	0,240	9	0,180	10	0,278
Allele						
<i>IDH^a</i>	53	0,530	59	0,590	34	0,472
<i>IDH^b</i>	47	0,470	41	0,410	38	0,528
χ^2	0,2909		0,1231		0,0006	
<i>SOD</i>						
Genotypen						
<i>SOD^{aa}</i>	5	0,076	1	0,014	4	0,050
<i>SOD^{ab}</i>	16	0,242	7	0,095	17	0,212
<i>SOD^{bb}</i>	45	0,682	66	0,891	59	0,738
Allele						
<i>SOD^a</i>	22	0,197	9	0,061	25	0,156
<i>SOD^b</i>	106	0,803	139	0,939	135	0,884
χ^2	3,6040		2,1671		3,0207	

hardswald (Allel SOD^a = Allel B, 196 Tiere, aus STRÖHLEIN et al. 1991, Tabelle 4), von französischen (Nordvogesen: 164 Tiere, Donon: 108 Tiere) und österreichischen (36 Tiere) Kollektiven sowie von 34 Tieren aus dem Gatter St. Augustin und 344 ungarischen Tieren (Allel $SOD^2 = -SOD-2^{200}$ aus HARTL et al. 1990, Tabelle 5) reanalysiert werden.

Während für den Genlocus IDH nur etwa 50% der maximal kombinierbaren Heterozygoten realisiert sind, weist der H_C -Wert für den Genlocus SOD in den französischen Stichproben und in der Gatterpopulation St. Augustin bereits maximale Heterozygotie aus (Tabelle 4). Auch in den Kollektiven Harz, Heide und Solling kombinieren die Allele gegenüber der Situation am IDH -Genlocus zu einem hohen Anteil heterozygoter Genotypen mit H_C -Werten zwischen 60 und 80%, aber wesentlich niedrigerem Anteil tatsächlich beobachteter Heterozygoten.

Grund dafür ist die Seltenheit des Allels SOD^a bis hin zur Fixierung auf das Allel SOD^b (Monomorphismus) in Österreich und Ungarn. Diese genetischen Profile bestätigt auch die Variation der Differenzierungswerte innerhalb der Populationen. Für den Majorpolymorphismus am IDH -Genlocus erreicht der δ_T^* -Wert sein Maximum, am SOD -Genlocus dagegen nahezu sein Minimum (vgl. Tabellen 3 u. 5).

Tabelle 5. Heterozygotie, Differenzierung und Diversität innerhalb der drei niedersächsischen Populationen an den Genloci IDH und SOD (mit erweiterter Stichprobe aus HERZOG 1988) sowie innerhalb europäischer Kollektive am Genlocus SOD (Reanalyse mit Daten aus HARTL et al. 1990 und STRÖHLEIN et al. 1991)

		H_A	H_C	δ_T^*	v
IDH	Harz	0,460	0,489	0,503	1,993
	Heide	0,460	0,561	0,489	1,937
	Solling	0,500	0,530	0,505	1,994
SOD	Harz	0,242	0,614	0,319	1,463
	Heide	0,095	0,779	0,115	1,129
	Solling	0,212	0,679	0,265	1,357
SOD	Reanalysen	H_A	H_C	δ_T^*	v
	Reinhardswald	0,383	0,927	0,329	1,489
	Nordvogesen	0,024	1,000	0,024	1,024
	Donon	0,037	1,000	0,037	1,037
	St. Augustin	0,117	1,000	0,114	1,125
	Österreich	-	-	-	1,000
	Ungarn	-	-	-	1,000

Für den IDH -Genlocus ist der paarweise allelische Abstand (vgl. Tabelle 3) der Harzpopulation zum Heide- und Sollingkollektiv nahezu identisch (Abb. 4). Den geringsten Anteil gemeinsamer Allele weisen die Heide- und Sollingherkunft auf; der Abstand ist für dieses Paar am größten. Dagegen kehren sich am SOD -Genlocus die Abstandsverhältnisse um. Unter den drei niedersächsischen Populationen nimmt nicht die Harz-, sondern die Sollingpopulation eine Mittelstellung ein, jedoch zeigt die Paarung Solling-Harz an beiden Genloci den geringsten allelischen Abstand.

Zwischen der Rotwildpopulation in Nordhessen (Reinhardswald) und der Heidepopulation wurde der größte Abstand mit knapp 15% nicht gemeinsamer Allele gemessen. Die Abstände der Paarungen Harz-Heide, Heide-Reinhardswald und Harz-Reinhardswald verdeutlichen eine nahezu identische allelische Struktur der Kollektive Harz und Reinhardswald.

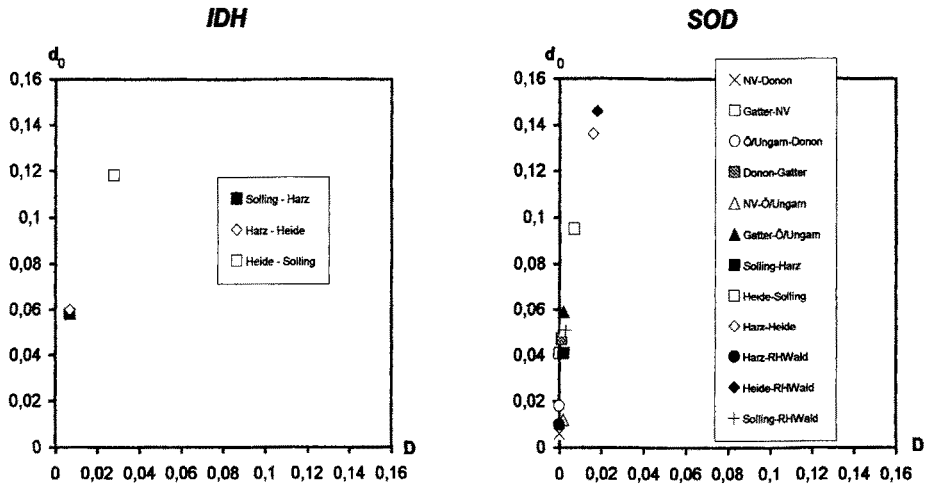


Abb. 4. Paarweise allelische Abstände d_0 und D (NEI 1972) an den Genloci *IDH* und *SOD*. Die Abstände für den Genlocus *SOD* ergeben sich aus der um die von HERZOG (1988) erweiterten Stichprobe sowie aus den Daten von HARTL et al. (1990) und STRÖHLEIN et al. (1991). NV = Nordvogesen, Gatter = Gatter St. Augustin, Ö = Österreich, RHWald = Reinhardswald. Darstellung nach HERZOG (1988)

Die geringsten Abstände weisen die südeuropäischen Herkünfte mit Werten zwischen 1 und 4% auf und korrespondieren damit erwartungsgemäß mit den niedrigen Differenzierungs- und Diversitätswerten aus Tabelle 5.

Darüber hinaus läßt sich aus Abbildung 4 ablesen, daß bei geringen Unterschieden in der Allelhäufigkeit das Maß d_0 Abstände quantifiziert, die das Maß D von NEI (1972) nicht aufzeigt. Auch dieses Ergebnis spricht mit den oben geschilderten Vorteilen für die Verwendung von d_0 zu Lasten von D .

Die Differenzierung zwischen den Populationen zeigt ein neues Bild (Abb. 5). Während beim Vergleich der niedersächsischen Kollektive für *IDH* die Harzpopulation die geringsten Werte aufweist, gilt dies am *SOD*-Genlocus für die Sollingherkunft. Am *IDH*-Genlocus ist der größte Anteil allelischer Variation in der Solling- und Heidepopulation (nahezu gleiche Radien in Abb. 5), am *SOD*-Locus verteilt sich die Variation relativ gleichmäßig mit zunehmendem Anteil gemeinsamer Allele in der Folge Heide-Harz-Solling.

Bei der Betrachtung der Differenzierung von zehn europäischen Kollektiven am Genlocus *SOD* fällt die nordhessische Gatterpopulation Reinhardswald mit knapp 15% nicht gemeinsamer Allele auf (Abb. 5). Bedenkt man, daß STRÖHLEIN et al. (1991) für die Gatterpopulation einen signifikanten Heterozygotenüberschuß zur korrespondierenden Hardy-Weinberg-Struktur fanden mit der Folge eines hohen Anteils allelischer Variation, ist der Vergleich mit einem Kollektiv außerhalb des Gatters (50 Tiere, HERZOG 1988) interessant (Reinhardswald-Nordhessen, Nr. 5 in Abb. 5), das lediglich mittlere D_j -Werte aufweist. Der Grund für den hohen Differenzierungswert der ungarischen Herkünfte ist dagegen deren fehlende Variation (Monomorphismus).

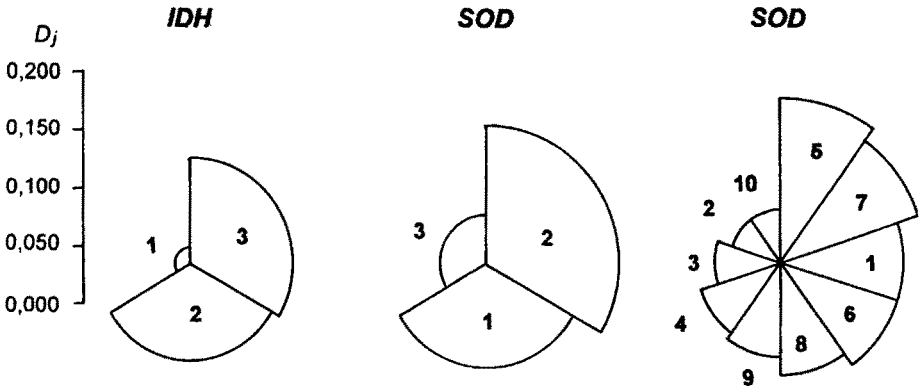


Abb. 5. Differenzen zwischen den Demen Harz, Heide und Solling an den Genloci *IDH* und *SOD* (Allelfrequenzen der Tabelle 4) sowie zwischen den niedersächsischen, hessischen und südeuropäischen Herkünften (rechte Schecke) mit Daten aus HERZOG (1988), HARTL et al. (1990) und STRÖHLEIN et al. (1991). 1 = Harz, 2 = Heide, 3 = Solling, 4 = Reinhardswald, 5 = Gatter Reinhardswald, 6 = Österreich, 7 = Ungarn, 8 = Nordvogesen, 9 = Donon, 10 = Gatter St. Augustin

3.4 Kumulative Verteilung des Heterozygotiegrades

Eine Möglichkeit, über beide Enzym-Genloci (**Multilocus-Betrachtung**) nach Differenzen zwischen den Populationen zu suchen, bot die kumulative Verteilung des Heterozygotiegrades. Der **Heterozygotiegrad** mißt den Anteil heterozygoter Genloci an allen beobachteten Genloci eines Individuums und nimmt für zwei Genloci die Werte 0 (doppelt homozygot), 1 (für einen Locus homozygot, für den anderen heterozygot) und 2 (doppelt heterozygot) an. Die realisierten Häufigkeitsverteilungen der drei Kategorien sind in Abb. 6 dargestellt. Dabei beschränkt sich die Datenbasis auf die in Kapitel 2 genannten Stichprobenumfänge.

Die Multilocus-Verteilungen 0, 1 und 2 wurden zunächst auf Homogenität getestet (Kontingenztafeltest mit Prüfgröße $G = 2,391$; $\alpha = 0,05$, $K = 9,488$ bei $FG = 4$). Danach wird unterstellt, daß die Kollektive Harz, Heide und Solling aus einer Population stammen. Dieses Ergebnis stellt sich auch für die Homogenitätstestung der genotypischen Struktur am *IDH*-Genlocus ein (Kontingenztafeltest mit Prüfgröße $G = 2,391$; $\alpha = 0,05$, $K = 9,488$ bei $FG = 4$), dagegen weisen analoge Tests am Genlocus *SOD* sowohl für die genotypische als auch für die allelische Struktur hochsignifikante Prüfgrößenwerte aus (Kontingenztafeltest mit Prüfgröße $G = 13,781^{**}$; $\alpha = 0,01$, $K = 13,28$ bei $FG = 4$ und Craddock Floods approximierter χ^2 -Test mit Prüfgröße $X^2 = 347,400^{***}$, $\alpha = 0,001$, $K = 13,8$ bei $FG = 2$). Dies verdeutlichen die antagonistischen genetischen Profile beider Enzym-Genloci.

Über den aus Abbildung 6 ermittelten Anteil heterozygoter Individuen für beide Genloci (Kategorie 2) läßt sich die Sollingpopulation mit 11,1% zwischen die Heide- (6%) und Harzpopulation (16,0%) einordnen.

Darüber hinaus soll hier der Frage nachgegangen werden, ob der beobachteten Multilocus-Struktur aus der Kombination der antagonistischen Polymorphismustypen für *IDH* und *SOD* ein bestimmter Assoziationsmodus zugrunde liegt. Denkbar wäre beispielsweise eine adaptive Assoziationsform mit Viabilitäts- oder Fertilitätsvorteil. Die erfolgreicheren Genotypkombinationen müßten sich dann langfristig in einer Reproduktionsgemeinschaft etablieren.

Werden bestimmte Genotypkombinationen bevorzugt, sollte ihre Häufigkeit ähnlich hoch sein wie der maximal realisierbare Anteil doppelt Heterozygoter, der sich aus den beiden Heterozygotenanteilen der Einzellocus-Verteilungen (Marginalverteilungen, für *IDH* Tabelle 4) bilden läßt, ohne dabei die genotypischen Marginalhäufigkeiten zu verän-

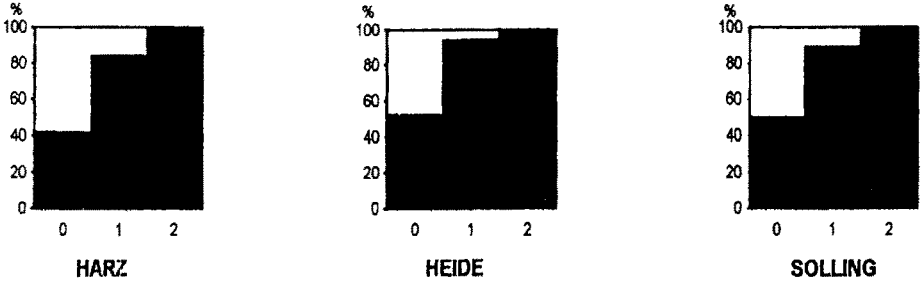


Abb. 6. Kumulative Verteilung des Heterozygotiegrades über die beiden Genloci *IDH* und *SOD*. 0 = Heterozygotiegrad 0 (doppelte Homozygotie, d. h. homozygot für beide Loci); 1 = Heterozygotiegrad 1 (für einen Locus heterozygot, für den anderen homozygot, 3 = Heterozygotiegrad 2 (doppelte Heterozygotie, heterozygot für beide Loci)

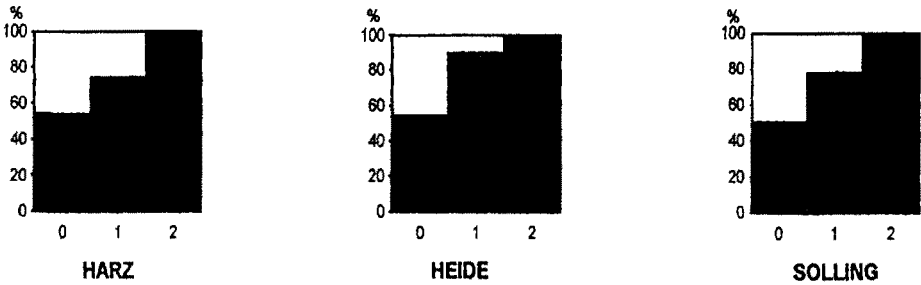


Abb. 7. Referenzverteilung der beiden Genloci *IDH* und *SOD*. Sie ist sowohl für die maximal realisierte doppelte Heterozygotie als auch für vollständig realisierte doppelte Homozygotie identisch (vgl. Abb. 6). 0 = Heterozygotiegrad 0 (doppelte Homozygotie, d. h. homozygot für beide Loci); 1 = Heterozygotiegrad 1 (für einen Locus heterozygot, für den anderen homozygot, 3 = Heterozygotiegrad 2 (doppelte Heterozygotie, heterozygot für beide Loci)

dern. Um die obere Grenze für die Häufigkeit doppelt Heterozygoter ($P(2)_{\max}$) bestimmen zu können, ist zu bedenken, daß $P(2)_{\max}$ in keinem Falle eine der beiden marginalen Heterozygotenhäufigkeiten überschreiten kann. Folglich muß

$$P(2)_{\max} \leq \min \{P(SOD^{ab}), P(IDH^{ab})\}$$

sein. Die Gleichheit wäre dann erreicht, wenn jedes Individuum, welches heterozygot an dem Locus mit dem kleineren Heterozygotenanteil ist, auch an dem anderen Genlocus heterozygot wäre.

Dieser Zustand kann erreicht werden, indem man am zweiten Genlocus jeweils einen Homozygoten durch einen Heterozygoten ersetzt, wenn am ersten Genlocus Heterozygotie vorliegt. Durch den damit verbundenen wechselseitigen Austausch werden, wie gefordert, die Marginalhäufigkeiten nicht verändert. Im Endergebnis wird also jedes einfach heterozygote Individuum an demjenigen Genlocus homozygot sein, welches den kleineren Heterozygotenanteil besitzt:

$$(1) P(2)_{\max} = \min \{P(SOD^{ab}), P(IDH^{ab})\}$$

Die Häufigkeit maximal kombinierbarer doppelt Heterozygoter entspricht also dem Minimum der Heterozygotenanteile der Marginalverteilungen. Die aus dieser ersten Annahme resultierende kumulative Referenzverteilung zeigt Abbildung 7.

Zur Bildung des maximalen Anteils doppelt Homozygoter (Kategorie 0) kann exakt die gleiche Vorgehensweise angewandt werden, wenn man zwischen den beiden Homozygoten einen Genlocus nicht unterscheidet und diese Homozygotenhäufigkeiten anstelle der Heterozygoten verwendet. So erhält man:

$$(2) P(0)_{\max} = \min \{ P(SOD^{aa}) + P(SOD^{bb}), P(IDH^{aa}) + P(IDH^{bb}) \}$$

Danach ist die Häufigkeit maximal kombinierbarer doppelt Homozygoter entsprechend (1) gleich dem Minimum beider Homozygotenanteile. Um die erkennbare Abweichung des tatsächlich realisierten Anteils doppelt quantifizieren zu können, muß auch das denkbare Minimum der Kategorie 2 definiert werden. Wenn analog zu den vor (1) getroffenen Annahmen die Summe der Häufigkeiten der Homozygotenanteile (Anzahl der Genotypen aa u. bb des jeweiligen Locus) größer oder gleich der Häufigkeit doppelt Heterozygoter bleibt, können alle doppelt Heterozygoten durch die Bildung einfach Heterozygoter ersetzt werden, so daß gilt: $P(2) = 0$. Für die hier untersuchten Subpopulationen war diese Voraussetzung gegeben. Kehrt sich das eben genannte Verhältnis um, ist das Minimum doppelt Heterozygoter um die nicht zu substituierenden doppelt Heterozygoten größer:

$$(3) P(2)_{\min} = \max \{ P(SOD^{ab}) + P(IDH^{ab}) - 1, 0 \}$$

Ähnlich wie sich $P(0)_{\max}$ durch Analogieschluß durch $P(2)_{\max}$ ergab, läßt sich $P(0)_{\min}$ aus $P(2)_{\min}$ ableiten:

$$\begin{aligned} (4) P(0)_{\min} &= \max \{ P(SOD^{aa}) + P(SOD^{bb}) + P(IDH^{aa}) + P(IDH^{bb}) - 1, 0 \} \\ &= \max \{ 1 - P(SOD^{ab}) + 1 - P(IDH^{ab}) - 1, 0 \} \\ &= \max \{ 1 - P(SOD^{ab}) - P(IDH^{ab}), 0 \} \end{aligned}$$

Die Position der realisierten doppelt Heterozygoten innerhalb der durch $P(2)_{\min}$ und $P(2)_{\max}$ gesetzten Grenzen ist gegeben durch

$$(5) \frac{P(2) - P(2)_{\min}}{P(2)_{\max} - P(2)_{\min}}, [P(2)_{\min} \leq P(2) \leq P(2)_{\max}]$$

und für die Position der beobachteten Anteils doppelt Homozygoter analog

$$(6) \frac{P(0) - P(0)_{\min}}{P(0)_{\max} - P(0)_{\min}}, [P(0)_{\min} \leq P(0) \leq P(0)_{\max}]$$

Danach ist etwa die Hälfte maximal kombinierbarer doppelt Heterozygoter in den beobachteten Verteilungen jeder Subpopulation realisiert (Harz: 61,5%, Heide: 60,0%, Solling: 50,0%). Der Anteil tatsächlich kombinierter doppelt Homozygoter gemessen am Referenzminimum und -maximum (6) dagegen nimmt vom Harz mit 53,8% über die Heide mit immerhin 80,0% bis zum tatsächlich realisierten Maximum im Solling mit 100,0% zu.

Im Sollingkollektiv liegt also ein Assoziationsmodus mit bevorzugter Bildung doppelt Homozygoter vor, den Trend zur doppelten Homozygotie zeigt ebenso deutlich das Heidekollektiv. Die Harzpopulation hingegen realisiert im Vergleich zu allen Referenzverteilungen etwa die Hälfte der maximal kombinierbaren genotypischen Multilocus-Häufigkeiten.

4 Diskussion

Für den Majorpolymorphismus am *IDH*-Genlocus deuten die in allen drei Populationen etwa gleich häufigen Allele auf ein Allelgleichgewicht hin (Tabelle 4). Unterstellt man Viabilitätsselektion mit Heterozygotenvorteil (**Überdominanz**), konvergieren in effektiv unendlichen Populationen beide Allelhäufigkeiten gegen eine stabile Gleichgewichtsstruktur. Solange Selektionsfaktoren die Relation zwischen den alternativen Homozygoten nicht ändern, gibt jedes reproduzierende Individuum beide Allele mit gleicher Häufigkeit an die

Folgegeneration weiter (geschützter Polymorphismus). Diese Relation kann sowohl symmetrisch mit Allelfrequenzen von etwa 0,500 als auch unsymmetrisch zugunsten der Häufigkeit eines Allels bestehen. Für räumlich und zeitlich wechselnde Viabilitätsbedingungen, die möglicherweise die Relation verschieben, bleibt das Modell so lange gültig, bis der Heterozygotenvorteil verlorengeht. Jedoch ist in extrem kleinen Populationen bei entsprechend schwacher Selektion Allelverlust auch bei Überdominanz durch genetische Drift möglich.

PEMBERTON et al. (1988) fanden an Kälbern (184 Tiere) der demographisch gut untersuchten Rotwildpopulation auf der Hebriden-Insel Rhum (CLUTTON-BROCK 1988) einen Viabilitätsvorteil Heterozygoter. Von allen für *IDH* homozygoten Kälbern überlebte nur ein Anteil von 40%, von den Heterozygoten dagegen 60%. Für beide Allele überlebten homozygote Kälber jedoch nahezu gleich häufig, und es gab viabilitätsspezifische Unterschiede, ein bestimmtes Allel zu tragen (Reanalyse: Vierfelder- χ^2 -Test mit Prüfgröße $X^2 = 0,0695$; $\alpha = 0,05$, mit $K = 3,841$, $FG = 1$). Darauf weisen die Autoren nicht hin. Diese Situation entspricht aber dem Selektionsmodell der Überdominanz. Bei einer hinreichend großen Reproduktionsgemeinschaft würde die Selektion die beiden Allele der Genlocus *IDH* erhalten.

Gegen dieses Modell würde erst die Fixierung auf eines der beiden Allele innerhalb einer großen Population sprechen. Für das europäische Rotwild ist Monomorphie am Genlocus *IDH* allerdings bisher nur gewebespezifisch (Erythrocyten) von HERZOG (1988) beschrieben worden und betrifft höchstwahrscheinlich einen anderen Genlocus. In allen gelelektrophoretisch getrennten Leber- und Nierenproben führte die meist okulare Auswertung der Zymogramme für *IDH* überwiegend zu der genetischen Hypothese eines biallelen Genlocus mit Allelfrequenzen des jeweils häufigsten Allels zwischen 0,132 in einer schottischen Population (DRATCH und GYLLENSTEN 1985) und 0,750 des Allels *IdH-2*¹⁰⁰ in einer ungarischen, wobei jedoch diese hohe Frequenz bei interpretierter Abwesenheit eines extrem seltenen dritten Allels angegeben wurde (HARTL et al. 1990). Dieses seltene Allel *IDH-2*¹¹² fand sich mit einer Frequenz von 0,036 lediglich in der französischen Population (83 Tiere) aus den Nordvogesen. Die Allelfrequenzen der anderen Herkünfte variierten nur geringfügig um 0,500. Ein ausgeprägter Minorpolymorphismus in der am *SOD*-Genlocus vorliegenden Form wurde für europäisches Rotwild am Genlocus *IDH* bisher nicht gefunden.

An dieser Stelle zeigt sich, daß nur die Abbildung der beobachteten Zymogramme einerseits und die Angabe der gefundenen genotypischen Struktur andererseits einen Vergleich der unterschiedlichen Termini in den populationengenetischen Arbeiten zuläßt. Da aber gerade diese Informationen fehlen, ist das hier für *IDH* vorgeschlagene Selektionsmodell der Überdominanz mit Hilfe anderer Publikationen weder zu bestätigen noch abzulehnen.

Ein möglicherweise vorausgegangener Allelverlust mit der Folge von Monomorphie ist eher für *SOD* zu erwarten. Die Reanalysen deuten auf eine **klinale Häufigkeitsabnahme des seltenen Allels *SOD*^a** in Richtung Süden hin (Abb. 8). So ist das Rotwild Österreichs und Ungarns monomorph, das französische Rotwild aus den Vogesen fast auf das Allel *SOD*^b fixiert. Nach der Terminologie von GYLLENSTEN et al. (1983) ergibt sich für das seltenere Allel eines Rotwildkollektivs aus dem Bayerischen Wald (acht Tiere) eine relative Häufigkeit von 0,313. Dies wäre, verglichen mit den relativ hohen Allelhäufigkeiten der Harz- (0,197) und Reinhardswaldpopulation (0,207), der für die Bundesrepublik Deutschland höchste Wert. Eine noch größere Häufigkeit des selteneren Allels ermittelten DRATCH und GYLLENSTEN (1985) in einer schottischen Herkunft (17 Tiere) mit 0,342. Jedoch relativieren sich die Allelfrequenzen aus der süddeutschen und schottischen Stichprobe in Anbetracht der vergleichsweise geringen Anzahl untersuchter Tiere. Die in ihrer allelischen Struktur recht ähnlichen Harz- und Reinhardswaldkollektive (insgesamt 262 Tiere) dürften mit einer Allelfrequenz von 20% innerhalb mitteleuropäischer Rotwildpopulationen den bisher höchsten beobachteten Wert für das seltene Allel *SOD*^a repräsentieren. Die klinale Variation innerhalb Zentraleuropas mit lokal auftretender Monomorphie paßt zum Populationszusammenbruch in Österreich und der Schweiz um 1850 mit nachfolgend enormer Wiederbe-

siedlung (bottle necks). Jedoch bliebe dann ohne Hinweise auf einen bottle neck in Ungarn der Grund für die dortige Monomorphie des Rotwildes offen. Es ist aber zu berücksichtigen, daß offensichtlich ganz Mitteleuropa in der Mitte des 19. Jahrhunderts an Rotwild verarmte. Die Seltenheit des Allels SOD^a könnte abundanzunabhängig einerseits eine Anpassung an das zonal jeweils typische Klima anzeigen, andererseits aber auch auf Selektionsfaktoren hinweisen, die generell dem für das Allel SOD^b homozygoten Rotwild eine höhere Viabilität ermöglichen. Eine über die Generationen fortgesetzte gerichtete Selektion wäre dann die Ursache für den Minorpolymorphismus.

Daß SOD^a auch vergleichsweise extrem hohe Häufigkeiten annehmen kann, zeigen die Ergebnisse aus der irischen Rotwild x Sikawild Hybridpopulation Wicklow mit einer Frequenz von 0,741 (HERZOG 1988). Hier kehrten sich die relativen Häufigkeiten um.

Interessant ist im Literaturvergleich auch eine von DRATCH und GYLLENSTEN (1985) beschriebene Variation am Genlocus SOD der schottischen Population auf der Insel Rhum (häufigstes Allel: 0,890), die schon drei Jahre später von PEMBERTON et al. (1988) für eine

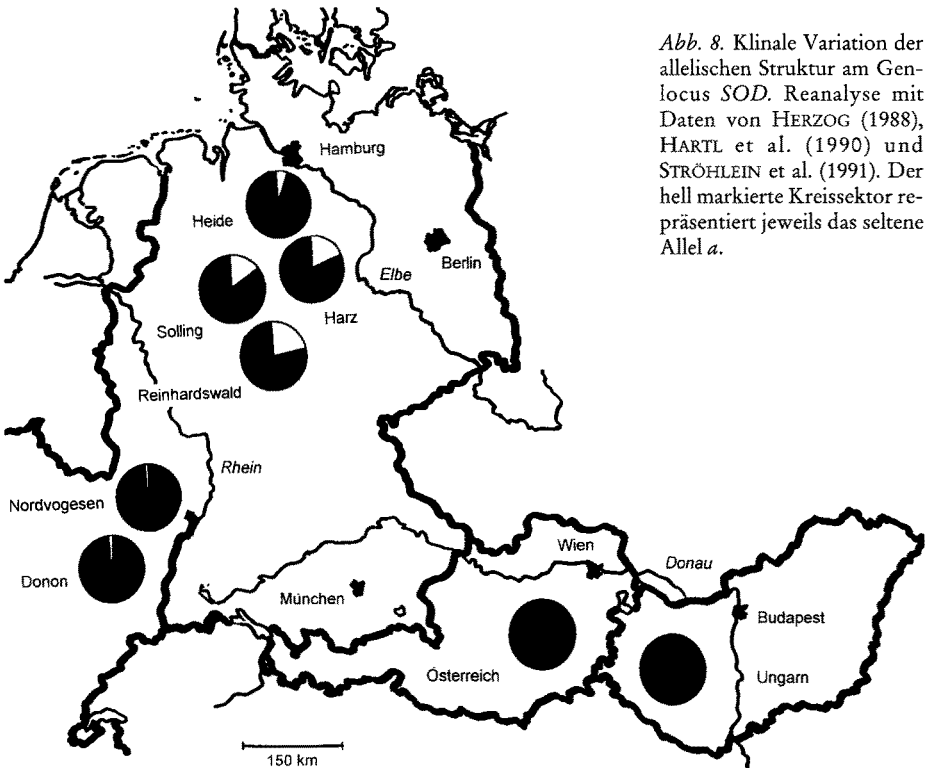


Abb. 8. Klinale Variation der allelischen Struktur am Genlocus SOD . Reanalyse mit Daten von HERZOG (1988), HARTL et al. (1990) und STRÖHLEIN et al. (1991). Der hell markierte Kreissektor repräsentiert jeweils das seltene Allel a .

wesentlich größere Stichprobe aus der Hebridenpopulation nicht mehr gefunden wurde. Darauf gehen die Autoren jedoch nicht ein.

Die Variation am Genlocus SOD innerhalb der französischen, österreichischen und ungarischen Stichproben ist gegenüber der Differenzierung des niedersächsischen Rotwildes um fast eine Zehnerpotenz geringer, lediglich die Werte des Gatters St. Augustin entsprechen denen der Heidepopulation (Tabelle 5). Das Rotwild aus dem Gatter Reinhardswald südlich des Sollings (STRÖHLEIN et al. 1991) zeigt den höchsten Wert mit knapp 33%iger Variation (Reanalyse: $\delta_T^* = 0,329$), das außerhalb des Gatters von HERZOG (1988) untersuchte Kollektiv

(50 Tiere) erreichte eine Differenzierung von 28,5% und liegt damit zwischen der Harz- und Sollingpopulation.

Auffällig ist die hohe Übereinstimmung zwischen Differenzierung und aktuellem Heterozygotenanteil am Genlocus *SOD*. Stellt der H_A -Wert die maximal realisierbare Heterozygotie dar, ist er mit der Differenzierung nahezu identisch (Tabelle 5). Im Bereich relativ hoher Differenzierungswerte nimmt dieser Zusammenhang jedoch ab. So ist der aktuelle Heterozygotenanteil in der Population Reinhardswald größer als die Differenzierung. In der schon erwähnten irischen Rotwild x Sikawild Hybridpopulation (HERZOG 1988) kehrt sich das Verhältnis um ($H_A = 0,161$, $\delta_T^* = 0,387$). Trotz dieser bisher höchsten Variabilität innerhalb einer Herkunft liegt der H_A -Wert bereits im Bereich der Heterozygotie der Heidepopulation. Die kontinuierliche Ordnung der Differenzierung zur allelischen Struktur unterstreicht den klinalen Trend eines Variationsdefizits nach Süden. Abnehmende Häufigkeit des Allels *SOD*^a impliziert geringere intrapopuläre Differenzierung, jedoch paßt die relativ geringe Variabilität der im Norden gelegenen Heidepopulation nicht ganz in dieses Bild. Dagegen erscheint die Differenzierung δ_T^* am Genlocus *IDH* stabil, auch der für bialele Loci hohe Wert in dem Hebridenkollektiv der Insel Rhum unterstützt diese Hypothese ($\delta_T^* = 0,501$, reanalysiert nach PEMBERTON et al. 1988).

Der Anteil gemeinsamer Allele, getrennt für jedes Enzym, ist zwischen den Populationen Harz und Solling am größten. Die paarweisen allelischen Abstände der beiden Herkünfte zum Heidekollektiv liegen etwa um das Zwei- bis Dreifache höher und passen insofern zur realen Distanz zwischen den Populationen (Entfernung Harz-Solling ca. 60 km, von Solling und Harz zur Heide etwa 120 km, vgl. Abb. 1).

Die Abstände allelischer Strukturen am *SOD*-Genlocus zwischen den mitteleuropäischen Populationen zu ihrem Durchschnitt geben zwar eine Übersicht über die Verteilung der Variation, allerdings ohne einen klaren Trend (Abb. 5). Einmal entstehen durch relativ geringe und hohe Frequenzen des Allels *SOD*^a deutliche Unterschiede (z. B. Gatter St. Augustin-Gatter Reinhardswald), im anderen Fall unterscheiden sich die *Dj*-Werte gerade bei solchen Frequenzwechsellern nicht (z. B. Harz-Österreich).

Das Ergebnis der bevorzugten Bildung doppelt Homozygoter für *IDH* und *SOD* bei der kumulativen Verteilung des Heterozygotiegrades in den Demen Solling und Harz kann nicht erklärt werden. Um beurteilen zu können, inwieweit diese Assoziationen schon manifestiert oder aber noch veränderbar sind, wären zeitlich versetzte Wiederholungen genetischer Inventuren erforderlich. Erst die sich aus den Zeitvergleichen ergebende Kontinuität oder der häufige Wechsel bestimmter Assoziationsmodi zwischen den Populationen könnte dann die Suche nach den Ursachen für die Bevorzugung der Assoziation zu doppelt Homozygoten begründen.

Bemerkenswert erscheint schließlich das Ergebnis der Homogenitätsprüfung der kumulativen Heterozygotie. Im Gegensatz zur genotypischen Struktur am *SOD*-Genlocus stammen die Multilocus-Strukturen der niedersächsischen Herkünfte aus einer Grundgesamtheit und gehören danach als Subpopulationen genetisch zu einem Kollektiv. Eher für als gegen dieses Ergebnis sprechen sowohl die wildbiologischen Ergebnisse zum Wanderverhalten des Rotwildes als auch der kontinuierliche Wildwechsel über Flüsse und Autobahnen. So wandern Hirsche etwa doppelt so weit wie die standorttreuen Weibchen mit Maximalentfernungen zwischen 40 und 50 km (RUHLÉ und LOOSER 1991, DRECHSLER 1991). An der nordwestlichen Verbreitungsgrenze der Heidepopulation trennt die Autobahn A7 etwa 170 bis 200 Tiere nach Osten hin ab (vgl. Abb. 1). Seit dem Autobahnbau 1963 kam es dort immer wieder zu Verkehrsunfällen mit Rotwild. Unterführungen, aber auch Flüsse wie die Elbe oder der Elbe-Seitenkanal (Abb. 1) werden als Wechsel benutzt (HAASE, unveröff., NEUMANN und KROPF, pers. Mitt.).

Die Inhomogenität am *SOD*-Genlocus ist augenscheinlich auf das Auftreten des Genotyps *SOD*^{aa} zurückzuführen und dies wohl eine Frage der Stichprobengröße. In diesem

Zusammenhang sind die recht deutlichen Unterschiede zwischen den Subpopulationen hinsichtlich der tatsächlich realisierten Multilocus-Häufigkeiten überraschend, auch wenn die Kombination zu Multilocus-Genotypen nach einem ganz bestimmten Assoziationsmodus von der Frage der Homogenität der drei kumulativen Verteilungen unabhängig ist. Genau diese Unabhängigkeit unterstreicht aber die Bedeutung der Multilocus-Betrachtung, da sie Unterschiede zwischen den Populationen aufdeckt, die sich aus der Analyse der Einzellocus-Verteilungen nicht erkennen lassen.

Der Versuch, aus populationsgenetischen Hypothesen eine Aussage über die genetische Situation des Rotwildes zu erarbeiten, ist selbst unter der Annahme eindeutig bekannter genetischer Strukturen problematisch. Sowohl Veränderungen des Genbestandes als auch damit verbundene Risiken für die Struktur der Population lassen sich weder einschätzen noch quantifizieren. Im Gegensatz zur auffälligen demographischen Variation von Erscheinungsformen (Körpermaße, Gewicht, Färbung, Physiologie, Geweihbildung etc.) und ethologischen Barrieren (Paarungssystem, Rudelbildung, Aktivitätsmuster, Rangordnungen usw.) wurde zwischen den Cerviden eine überraschend hohe genetische Übereinstimmung festgestellt. So hybridisieren beispielsweise Rot- und Sikawild in Irland, das Chromosomenmuster des Damwildes läßt sich nicht von dem des Rotwildes unterscheiden, und der genetische Abstand zwischen Rot- und Damwild kann sogar geringer sein als die genetische Distanz zwischen Populationen innerhalb der beiden Arten (HERZOG 1988). Demnach muß selbst reproduktive Isolation nicht zwangsläufig auch zu größeren genetischen Unterschieden führen, zumindest nicht zu solchen, die mit derzeitigen Methoden beobachtbar sind.

Nicht die reproduktive Isolation an sich, sondern die Größe der isolierten Population ist entscheidend für die Wirkung der selektionsunabhängigen genetischen Drift. Wenn dann eine Situation vorliegt, in der schon viele Allele extrem selten sind, erhöht sich das Risiko für Allelverlust zusätzlich (ZIEHE und HATTEMER 1988). Eine solche Situation könnte für nieder-sächsische Rotwildpopulationen erst auftreten, wenn tatsächlich gerichtete Selektion für die Seltenheit des Allels *SOD^a* verantwortlich und gleichzeitig der *SOD*-Minorpolymorphismus mit einer ganzen Reihe derartiger Polymorphismen gekoppelt wäre. Dafür spricht immerhin die Seltenheit des Allels *Tf^c* am mutmaßlich triallelen Genlocus für Transferrin. Dieses Allel wurde noch um 1972 unter 82 Tieren aus dem Westharz mit einer Frequenz von 0,02 gefunden (BERGMANN 1976), an 16 Tieren 15 Jahre danach schon nicht mehr, lediglich in Nordrhein-Westfalen (Häufigkeit: 0,222) unter 9 Tieren (HERZOG 1988). Abwechselnd gefundene Mono- und Polymorphie dieses Proteins sowohl beim Damwild als auch beim Sikawild sowie fehlende Variation des Transferrins beim Rehwild lassen auch allgemein innerhalb der Cerviden mögliche Anpassungsprozesse vermuten (HERZOG 1988, HERZOG et al. 1993).

Unter natürlicher Selektion können einerseits Allele geschützt werden (Überdominanz), andererseits kann aber auch Allelverlust eintreten (gerichtete Selektion). Am Genlocus *IDH* liegen Anzeichen für Allelverlust nicht vor, wohl aber, wenn auch begrenzt, am Genlocus *SOD*. Allelverlust würde aber erst dann den Reproduktionserfolg und damit die Fitness des Rotwildes vermindern, wenn geringe Variation an sich mit physiologischen Störungen wie beispielsweise der Fertilität gekoppelt wäre.

PEMBERTON et al. (1988) konnten trotz der Hinweise auf Viabilitätsselektion gegen bestimmte, für ein Enzymssystem mutmaßlich kontrollierende Genloci nicht entscheiden, ob die Selektion an genau diesen oder an mit ihnen gekoppelten Loci wirkt. Für den am Genlocus *IDH* vermuteten Viabilitätsvorteil Heterozygoter bleiben alle Zustandsformen der Isocitrat-Dehydrogenase erhalten. Grund dafür könnte umweltunabhängig ein evolutiv längst abgeschlossener Optimierungsprozess auf gerade diese Stoffwechselenzyme sein, d. h. die natürliche Selektion wirkt weniger auf der Ebene der Enzyme als vielmehr auf der Ebene anderer phänotypischer Merkmale. Die Isoenzyme könnten aber ebenso das Ergebnis

embryogenetisch optimierter Stadien sein – in Anbetracht der von IDH und SOD übernommenen essentiellen Funktionen im Stoffwechsel eine durchaus naheliegende Vermutung. Kälber ohne diese Enzyme wären nicht existenzfähig.

Zusammenfassung

Leber- und Nierenproben von insgesamt 136 Rothirschen (*Cervus elaphus*) aus den drei geographisch isolierten niedersächsischen Populationen Harz (50 Tiere), Heide (50 Tiere) und Solling (36 Tiere) wurden zur Quantifizierung der genetischen Variation innerhalb und zwischen den Kollektiven mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese (STAGE) an den zwei ausgewählten Marker-Enzymsystemen Isocitrat-Dehydrogenase (DH) und Superoxid-Dismutase (SOD) untersucht. Für IDH konnte auf die genetische Kontrolle durch einen biallelen Majorpolymorphismus und für SOD durch einen biallelen Minorpolymorphismus geschlossen werden. Die genetische Analyse dreier bekannter Mutterfamilien widerlegte die genetischen Hypothesen nicht.

Es wird angenommen, daß die Rotwildpopulationen Harz, Heide und Solling genetisch aus einem Gesamtkollektiv stammen. Dafür sprechen die erst kurze Isolationsdauer, gemessen an den genetisch wirksamen Zeiträumen der Evolution, die Wildwechsel über Autobahnen und Flüsse sowie die Multilocus-Analyse der Verteilung des Heterozygotiegrades.

Der Vergleich reanalysierter allelischer Strukturen am Genlocus SOD zwischen westdeutschen, französischen, österreichischen und ungarischen Rotwildpopulationen (HERZOG 1988, HARTL et al. 1990, STRÖHLEIN et al. 1991) deutet sowohl auf eine klinale Abnahme des seltenen Allels von Norden nach Süden als auch auf eine entsprechende klinale Differenzierung innerhalb der Populationen hin. Für den Genlocus *IDH* ist wegen europaweit nahezu gleich häufiger Allelfrequenzen und dem von PEMBERTON et al. (1988) gefundenen Viabilitätsvorteil heterozygoter Kälber das Selektionsmodell der Überdominanz wahrscheinlich.

Die Variation der beobachteten Heterozygotenanteile, gemessen an der maximal kombinierbaren Anzahl Heterozygoter, bewegte sich in den drei niedersächsischen Populationen wie in den reanalysierten für jedes Enzymsystem analog zum jeweiligen genetischen Profil und zeigte eine auffällig hohe Übereinstimmung mit der Differenzierung innerhalb der Kollektive.

Für die Verteilung des Heterozygotiegrades der beobachteten genotypischen Multilocus-Strukturen wurde ein Assoziationsmodus zugunsten doppelt Homozygoter gefunden. So assoziieren in der Sollingpopulation alle maximal kombinierbaren doppelt Homozygoten (100%), den Trend zur doppelten Homozygotie zeigt ebenso deutlich das Heidekollektiv (80%), während die Harzpopulation nur etwa die Hälfte maximal kombinierbarer doppelt Homozygoter realisiert (54%). Inwieweit die Assoziation zugunsten der Homozygoten als erfolgreichere und damit adaptive Genotypkombination innerhalb der Reproduktionsgemeinschaften gelten kann, war mit Hilfe dieser Multilocus-Analyse nicht zu beurteilen.

Die genetischen Unterschiede zwischen den Populationen lagen mit Einzellocuswerten von maximal 15% in der von HERZOG (1988) gemessenen Größenordnung. Die gemessenen allelischen Abstände zwischen den niedersächsischen Kollektiven entsprechen dabei in etwa der geographischen Distanz. So sind die Harz- und Sollingpopulationen von der Heidepopulation genetisch weiter entfernt als die beiden Herkunftsorte untereinander. Die geringsten Abstände fanden sich innerhalb der südeuropäischen Herkunftsorte (1 bis 4%).

Summary

Genetic variation and differentiation of 3 geographically isolated populations of red deer (Cervus elaphus L.) in Lower Saxony

Liver and kidney samples from a total of 136 red deer from the 3 geographically isolated populations: Harz (50 animals), Heide (50 animals) and Solling (36 animals) were analyzed to quantify the genetic variations within and between the populations using starch gel electrophoresis (STAGE) of the two marker enzyme systems Isocitrate-Dehydrogenase (IDH) and Superoxide-Dismutase (SOD). For IDH a genetic control through a bi-allelic major polymorphism and for SOD through a bi-allelic minor polymorphism could be concluded. The genetic analysis of 3 known maternal families did not dispute the genetic hypotheses.

It is assumed that the 3 separate red deer populations originated from one and the same collective population. This assumption is supported by the short isolation time in reference to genetically effective

evolutionary time periods, by the numbers of deer crossings across highways and rivers, and by the multi-locus analysis of the distribution of the degree of heterozygosity.

The comparison of re-analyzed allelic structures at the gene locus for SOD among West German, French, Austrian, and Hungarian red deer populations (HERZOG 1988, HARTL et al. 1990, STROHLEIN et al. 1991) indicates a clinal decrease in this rare allele from north to south as well as a corresponding clinal differentiation within the populations. For the gene locus IDH the selection model of over-dominance is probable due to the uniform distribution of this allele frequency throughout Europe and due to the viability advantage of heterozygote calves discovered by PEMBERTON et al. (1988).

The variations in the observed heterozygosity as compared to the maximally combinable number of heterozygotes for each enzyme system corresponds to the respective genetic profiles of the 3 populations investigated in Lower Saxony as well as the re-analyzed populations. A remarkably high correspondence with the differentiation within the collective was observed.

An association mode favouring double homozygotes was found for the distribution of the degree of heterozygosity of the observed genotypic multi-locus structures. In the Solling population all maximally combinable double homozygotes (100%) were associated. This trend was also shown by the Heide collective (80%), while the Harz population only showed 54% of the maximally combinable double homozygosity. To what extent this association in favour of homozygotes is the more successful and adaptive genotype combination within the reproductive communities could not be determined with this multi-locus analysis.

The genetic differences among the populations, individual locus values of maximally 15%, were within the range determined by HERZOG (1988). The measured allelic distances between the populations in Lower Saxony corresponded roughly to the geographic distances between them. Hence, the Harz and Solling populations are genetically further from the Heide population and are genetically closer to each other. The least distances were observed within the south European provenances (1 – 4%).

Transl.: PHYLLIS KASPER

Résumé

Variation génétique et différenciation de trois populations de Cerf (Cervus elaphus L.) géographiquement isolées en Basse-Saxe

Des échantillons de reins et de foie d'un ensemble de 136 cerfs (*Cervus elaphus* L.) issus de trois populations isolées de Basse-Saxe – Harz (n = 50), Heide (n = 50) et Solling (n = 36) – ont été analysés quant à leur variation génétique quantitative, au sein de ces groupes et entre ces groupes, par électrophorèse sur gel (STAGE) et à l'aide de deux systèmes enzymatiques marqueurs, l'isocitrate-déshydrogénase (IDH) et le Superoxyde-dismutase (SOD). Pour l'IDH, on put conclure à un contrôle génétique par un polymorphisme biallélique majeur et, pour le SOD, par un polymorphisme biallélique mineur. L'analyse génétique de trois familles maternelles connues ne contredit pas les hypothèses génétiques.

Il a été admis que les populations du Cerf du Harz, de Heide et de Solling étaient génétiquement issues d'une collectivité génétique commune. La courte durée de l'isolement initial, mesurée d'après les périodes actives de l'évolution, le franchissement des autoroutes et des fleuves par les animaux ainsi que l'analyse des multiloci quant à la distribution du degré d'hétérozygotie militent en faveur de cette hypothèse.

La comparaison de structures alléliques ré-analysées au niveau du locus génique SOD entre des populations de cerfs de l'Allemagne de l'Ouest, de la France, de l'Autriche et de la Hongrie (HERZOG 1988, HARTL et al. 1990, STROHLEIN et al. 1991) montre aussi bien une diminution clinale de l'allèle rare du Nord vers le Sud qu'une différenciation clinale au sein des populations. Pour le locus IDH, en raison de fréquences alléliques pratiquement parallèles dans toute l'Europe et de l'avantage, sur le plan de la viabilité, constaté par PEMBERTON et al. (1968), des faons hétérozygotes, le modèle de sélection par sur-dominance est vraisemblable.

La variation des proportions d'hétérozygotes observées, mesurée par le nombre maximum d'hétérozygotes recombinaux, oscillait dans les trois populations de Basse-Saxe ainsi que dans celles ré-analysées pour chaque système enzymatique de façon analogue au profil génétique du moment et montrait une correspondance élevée avec la différenciation au sein des collectivités.

Pour la répartition du degré d'hétérozygotie des structures de multiloci génotypiques observées, un mode d'association en faveur de doubles homozygotes a été trouvé. Ainsi s'associent tous les homozygotes doubles les plus combinables (100%), la tendance à la double homozygotie se manifeste dans la collectivité de Heide (80%) tandis que la population du Harz ne réalise qu'environ la moitié du nombre maximum d'homozygotes doubles recombinaux (54%). Au moyen de cette analyse multilocus, il ne

fut pas possible d'apprécier dans quelle mesure l'association en faveur des homozygotes comme combinaison génotypique peut passer pour plus profitable et apparaître dès lors comme adaptative au sein des communautés appelées à se reproduire.

Avec des valeurs de loci individuels de maximum 15%, les différences génétiques entre les populations se situaient dans l'ordre de grandeur mesuré par HERZOG (1988). A cet égard, les distances alléliques mesurées entre les collectivités de Basse-Saxe correspondent sensiblement à la distance géographique. Ainsi les populations du Harz et de Solling sont-elles génétiquement plus éloignées de celle de Heide que les deux origines l'une par rapport à l'autre. Les distances les plus faibles furent observées au sein des origines sud-européennes (1 à 4%).

Trad.: S. A. DE COMBRUGGHE

Literatur

- BACCUS, R.; RYMAN, N.; SMITH, M. H.; REUTERWALL, C.; CAMERON, D., 1983: Genetic variability and differentiation of large grazing mammals. *J. Mamm.* **64**, 109–120.
- BERGMANN, F., 1976: Beiträge zur Kenntnis der Infrastrukturen beim Rotwild: Erste Versuche zur Klärung der genetischen Struktur von Rotwildpopulationen an Hand von Serumprotein-Polymorphismen. *Z. Jagdwiss.* **22**, 28–35.
- BORTZ, J.; LIENERT, G. A.; BOEHNKE, K., 1990: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Hong Kong, Barcelona: Springer.
- CLUTTON-BROCK, T. H., 1988: Fortpflanzung beim Rothirsch: Kosten-Nutzen Prinzip. In: *Biologie des Sozialverhaltens*. Heidelberg: Spektrum der Wissenschaft. Verlagsgesellschaft mbH & Co., 144–151.
- DRATCH, P., 1983: Enzyme variation in Scottish red deer, *Cervus elaphus*: population subdivision and its management implications. *Proc. XV Congr. Int. Fauna Cinegetica y Silvestre*. Trujillo, 1981, 279–280.
- DRATCH, P.; GYLLENSTEIN, U., 1985: Genetic differentiation of red deer and north american elk (wapiti). *The Royal Society of New Zealand. Bulletin* **22**, 37–40.
- DRECHSLER, H., 1991: Über das Raumverhalten des Rotwildes im Harz. *Z. Jagdwiss.* **37**, 78–90.
- GREGORIUS, H.-R., 1974: Genetischer Abstand zwischen Populationen. I. Zur Konzeption der genetischen Abstandsmessung. *Silvae Genetica* **23**, 22–27.
- GREGORIUS, H.-R., 1978: The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Mathematical Biosciences* **41**, 253–271.
- GREGORIUS, H.-R., 1985: Measurement of genetic differentiation in plant populations. In: *Population Genetics in Forestry Lecture Notes in Biomathematics No. 60*. Berlin, Heidelberg [u. a.]. Berlin, Springer. 276–285.
- GREGORIUS, H.-R.; KRAUHAUSEN J.; MÜLLER-STARCK, G., 1986: Spatial and temporal genetic differentiation among a seed in a stand of *Fagus sylvatica* L. *Heredity* **57**, 255–262.
- GREGORIUS, H.-R., 1987: The relationship between the concepts of genetic diversity and differentiation. *Theor. Appl. Genet.* **74**, 397–401.
- GYLLENSTEIN, U.; RYMAN, G.; DRATCH, P., 1983: Genetic differentiation in four European subspecies of red deer (*Cervus elaphus* L.). *Heredity* **51**, 561–580.
- HARRIS, H.; HOPKINSON, D. A., 1976: *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*. Amsterdam u. Oxford. Elsevier.
- HARTL, G. B.; WILLING, R.; LANG, G.; KLEIN, F.; LANG, G.; KÖLLER, J., 1990: Genetic variability and differentiation in red deer (*Cervus elaphus* L.) of Central europe. Wien, Strasbourg, Gödöllö. *Genet. Sel. Evol.* **22**, 289–306. –
- HATTEMER, H. H.; BERGMANN, F.; ZIEHE, M., 1993: Einführung in die Genetik für Studierende der Forstwissenschaft. Frankfurt am Main: J. D. Sauerländer's Verlag.
- HERZOG, S., 1988: Cytogenetische und biochemisch-genetische Untersuchungen an Hirschen der Gattung *Cervus* (*Vervidae*, *Artiodactyla*, *Mammalia*). Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Göttingen. Göttingen Research Notes in Forest Genetics 10.
- HERZOG, S.; MUSHÖVEL, Ch.; HERZOG, A., 1993: Lack of genetic transferrin variation in European roe deer (*Capreolus capreolus* Linné). *Zeitschrift für Säugetierkunde* **58**, 155–159.
- KOLBE, H., 1992: Jagdliche Raumordnung in Niedersachsen. *Allgemeine Forstzeitschrift* **47**, 274–275.
- NEI, M., 1972: Genetic distance between populations. *The American Naturalist* **106**, 283–292.
- PEMBERTON, J. M.; ALBON, S. D.; GUINNESS, F. E.; CLUTTON-BROCK, T. H.; BERRY, R. J., 1988: Genetic variation and juvenile survival in red deer. *Evolution* **42**, 921–934.
- RUHLÉ, Ch.; LOOSER, B., 1991: Ergebnisse von Untersuchungen über die Wanderung von Rothirschen (*Cervus elaphus* L.) in den Kantonen St. Gallen und Graubünden (Schweiz) und der Nachbarkantone sowie im Land Vorarlberg (Österreich) und im Fürstentum Liechtenstein. *Z. Jagdwiss.*, **37**, 13–23.
- SMITHIES, O., 1955: Zone electrophoresis on starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochemical Journal* **61**, 629–641.

- STRÖHLEIN, H.; LEWALSKI, H.; HECHT, W.; HERZOG, A., 1991: Elektrophoretische Untersuchungen der Superoxiddismutase-Isoenzyme beim hessischen Rotwild (*Cervus elaphus* L.). Z. Jagdwiss. 37, 35–39.
- STRÖSE, 1931: Ergebnisse einer Umfrage über die Verbreitung einiger wichtiger Wildarten in Deutschland nach dem Stande von 1931. Institut für Jagdkunde. Berlin-Zehlendorf. Deutsche Jäger-Zeitung 34, 139 ff.
- ZIEHE, M.; HATTEMER, H. H., 1988: Genetische Variation und Züchtung von Waldbäumen. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung 159, 88–92.

Anschrift der Autoren: Diplom-Forstwirt Th. GEHLE, Dr. S. HERZOG, Abteilung für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Büsgenweg 2, D-37077 Göttingen