

PETER FAKLER, ARND SCHREIBER, Heidelberg

Enzympolymorphismen bei Rehwild: Adenylatkinase-1 und Mannosephosphat-Isomerase

Einleitung

Obwohl Cerviden zu den populationsgenetisch am intensivsten untersuchten Säugetieren zählen, sind populationsgenetische Zusammenhänge selbst bei unseren einheimischen Hirscharten erst ansatzweise bekannt (DRATCH und PEMBERTON, 1992). Untersuchungen zur Populationsgenetik des Rehs (*C. c. capreolus*) erbrachten eine geographisch vergleichsweise heterogene Verteilung variabler Allele zwischen verschiedenen Populationen, die sich im Ausmaß ihrer genetischen Variabilität zum Teil deutlich unterscheiden (HARTL et al., 1991, 1993; WEHNER et al., 1991; LORENZINI et al., 1993; HEWISON, 1995; FAKLER und SCHREIBER, im Druck). Während die bisher dargestellten Eiweißpolymorphismen das Reh den genetisch variabelsten Huf-tieren zuordnen, finden sich regionale Bestände mit deutlich reduzierter Heterozygotie. Dieses geographische Muster wurde mit dem Verlust seltener Allele beim Kolonisieren neu entstandener Lebensräume durch wenige Gründertiere gedeutet (KURT, 1991). Die publizierten Daten deuten darüber hinaus ein geographisches Gefälle der genetischen Variabilität innerhalb des Verbreitungsgebiets des Rehwildes an: Die höchsten Werte für den Anteil polymorpher Eiweiße und für die Heterozygotie wurden im südöstlichen Mitteleuropa (HARTL et al., 1993) und in Italien (LORENZINI et al., 1993) beobachtet, die niedrigsten Werte in Großbritannien (HEWISON, 1995), Skandinavien (BACCUS et al., 1983) und den GUS-

Staaten (SOKOLOV, 1986). Die einzige publizierte Untersuchung zur Enzymvariabilität in deutschen Rehpopulationen (WEHNER et al., 1991) bezieht eine geringe Zahl eiweißkodierender Genorte ein. Um die populationsgenetische Struktur der häufigsten heimischen Hirschart besser verstehen zu lernen und ein vollständigeres Bild der geographischen Verteilung genetischer Variabilität zu bekommen, sind Untersuchungen weiterer Populationen unterschiedlicher geographischer Herkunft notwendig, wobei der Standardisierung der Elektrophoresen besondere Bedeutung zukommt.

Allozyme, also elektrophoretisch dargestellte allelische Varianten eines Enzyms, gewähren nicht nur Einsicht in Populationszusammenhänge und -geschichte, sondern tragen auch wertvolle Daten für das Management und den Schutz von Wildtierpopulationen bei. Sie bilden die vorhandene genetische Variabilität einer Population ab und zeigen deren Beeinflussung durch arteigene Faktoren der Soziologie, Migration und Dispersion, aber auch anthropogener Einflüsse durch Habitatzerschneidung und selektive Jagd. Darüber hinaus ermöglichen Allozymdaten Aussagen zu taxonomischen Fragen und erwiesen sich als sehr hilfreich beim Erkennen von Hybriden sowie für forensische Untersuchungen (DRATCH und PEMBERTON, 1992).

Allozyme werden durch ihre relative elektrophoretische Mobilität in Gelen typisiert. Die elektrophoretische Wanderung hängt von den gewählten Gelträgern und von den Gel- und

Elektrodenpuffern ab. Daher können elektrophoretische Daten, die in verschiedenen Laboratorien unabhängig erhoben wurden, nur mit Einschränkungen verglichen werden, solange der direkte Abgleich von Referenzproben unterblieb. Uneinheitliche Nomenklatur der Varianten erschwert das Homologisieren von selbst dargestellten polymorphen Allelen mit Literaturdaten zusätzlich. Im Gegensatz zu Publikationen über Allozyme von Weißwedel-, Maultier-, Rot- und Damhirsch, welche mehrere detaillierte Beschreibungen und Abbildungen der allelischen Marker verfügbar machen (vgl. DRATCH und PEMBERTON, 1992), fehlt eine derartige photographische Dokumentation beim Reh bisher gänzlich. Die einzige publizierte Abbildung eines Eiweiß-Elektrophoresemusters zeigt das beim Reh nicht variable Transferrin (HERZOG et al., 1993).

Als einen Beitrag zur besseren Vergleichbarkeit enzymelektrophoretischer Daten beschreiben wir hier zwei polymorphe Enzyme des Rehwildes, einen einfachen biallelischen Polymorphismus der Mannosephosphat-Isomerase sowie das kompliziertere Bandenmuster der ebenfalls biallelischen Adenylatkinase-1.

Material und Methoden

Die untersuchten Rehe entstammen zwei niederländischen Beständen, aus einem Dünenreservat in der Provinz Nord-Holland (Amsterdamer Waterleidingduinen) und aus dem 1953 trockengelegten Polder Flevoland im IJsselmeer. Gewebeproben von im Jagdjahr 1993/1994 erlegten Individuen wurden bis zur Untersuchung bei -20°C gelagert. Kleine Leberstücke von ca. 50 mg wurden in 200 μl 50 mM Tris-HCl pH 7,5 und 10 mM 2-Mercaptoethanol mit Ultraschall aufgeschlossen. Nach Pelletierung der Zellfragmente erfolgte die elektrophoretische Auftrennung der Enzyme in 1%igen horizontalen Agarose-Gelen in Multiphor-Elektrophoresekammern (LKB Pharmacia). Für Mannosephosphat-Isomerase (*Mpi**) wurde als Brückenpuffer 50 mM Tris/50 mM NaH_2PO_4 pH 8,3 verwendet, als Gelpuffer eine Verdünnung (1 : 30) des Elektrodenpuffers. Adenylatkinase (*Ak**) wurde in 200 mM Tris/Citrat pH 8,0 (Brückenpuffer) aufge-

trennt, als Gelpuffer diente eine Verdünnung (1 : 3) dieses Brückenpuffers. Die Elektrophorese erfolgte zunächst für 10 min bei 200 V, anschließend für 60 min (*Mpi**) bzw. 180 min (*Ak**) bei 500 V, jeweils unter Kühlung auf 4°C . Die Färbung der Enzyme erfolgte nach HARRIS und HOPKINSON (1976).

Ergebnisse und Diskussion

Adenylatkinase (E. C. 2.7.4.3) erbrachte bei 51 niederländischen Rehen mehrbandige Zymogramme als Produkte zweier Loci, der langsamer wandernden *Ak-1** und der anodischen *Ak-2** (Abb. 1). Während *Ak-2** bei allen untersuchten Rehen monomorph war, zeigte *Ak-1** zwei Allele, von denen eines (*Ak-1**100) geringere, das andere (*Ak-1**250) größere elektrophoretische Mobilität als *Ak-2** aufwies. Die Aktivitätszone von *Ak-1** tritt in drei Varianten auf, die den beiden homozygoten Genotypen *Ak-1** 100/100 und *Ak-1**250/250 sowie ihrer heterozygoten Kombination *Ak-1**250/100 entsprechen. Mit einer durchschnittlichen Frequenz von $p_{Ak-1*100} = 0,59$ und $q_{Ak-1*250} = 0,41$ ist die Verteilung



Abb. 1 Elektrophoresemuster der Adenylatkinase aus der Leber des Rehes. Spuren 1, 4: Genotyp *Ak-1**250/250. Spuren 2, 3: *Ak-1**100/100. Spur 5: *Ak-1**100/250. Das monomorphe Isoenzym *Ak-2** erscheint in allen Fällen als zusätzliche Einzelbande.



Abb. 2 Zymogramm der Mannosephosphat-Isomerase aus der Leber des Rehes. Spuren 1, 3, 5: Genotyp *Mpi**100/100. Spuren 2, 4: Genotyp *Mpi**100/115.

der beiden Allele in den untersuchten Populationen relativ ausgeglichen.

Die biallelische Mannosephosphat-Isomerase (E. C. 5.3.1.8) erzeugt einbandige Zymogramme bei Homozygoten und eine zusätzliche Bande bei Heterozygoten (Abb. 2). Neben dem Hauptallel *Mpi**100 wurde in Leberhomogenaten aus 51 niederländischen Rehen die Variante *Mpi**115 beobachtet, benannt nach ihrer um 15% größeren elektrophoretischen Wanderstrecke in anodische Richtung. Die relative Aktivität von beiden Banden war bei den Heterozygoten abgeschwächt gegenüber den Homozygoten, wie es bei kodominanter Expression zweier Allele erwartet wird. Das Allel *Mpi**115 war auf zwei heterozygote Rehe beschränkt, 49 weitere waren homozygot für den Genotyp *Mpi** 100/100.

Das Allel *Mpi**115 der Mannosephosphat-Isomerase stimmt in seiner relativen Wandergeschwindigkeit mit der von HEWISON (1995) beschriebenen *Mpi**115 überein, während HARTL et al. (1991) eine seltene *Mpi**-Variante als *Mpi** 120 sowie eine zusätzliche sehr seltene Variante als *Mpi**130 bezeichneten. Die Bezeichnungen der von BACCUS et al. (1983) in ihrem Artenvergleich verschiedener Wiederkäuer und bei Rehwild aus Skandinavien gefundenen *Mpi**-Varianten (*Mpi**117 und *Mpi**128) werden auf ein als Bezugspunkt mit *Mpi**100 bezeichnetes Allel des Weißwedelhirsches referiert. Das schnellere Allel *Mpi**128 wanderte also etwa 10% schneller als *Mpi**117, so daß in diesen skandinavischen Rehen möglicherweise derselbe Polymorphismus vorliegt wie in unseren niederländischen Beständen. Dagegen werden die von LORENZINI et al. (1993) angegebenen Allozym-Varianten italienischer Rehpopulationen ohne Angabe der relativen Wanderstrecken mit Buchstaben benannt, wodurch ein Vergleich nicht möglich ist.

Die relative Wandergeschwindigkeit unseres Allels *Ak*-1* 250 deckt sich mit derjenigen des von HARTL et al. (1991, 1993) aus dem südöstlichen Mitteleuropa beschriebenen, selteneren *Ak*-1*-Allels. Die übrigen publizierten Untersuchungen beziehen diesen Locus entweder nicht ein (BACCUS et al., 1983; SOKOLOV et al., 1986; WEHNER et al., 1991; HEWISON, 1995) oder machen keine Angaben über die relative

Wanderstrecke der gefundenen Allele (LORENZINI et al., 1993). Ob es sich in den Fällen übereinstimmender relativer Wandergeschwindigkeiten (bei unterschiedlichen Trägermaterialien und Puffern) tatsächlich um homologe Varianten handelt, läßt sich jedoch nur durch den Abgleich von typisierten Referenzproben prüfen.

Leider stellt Rehwild dahingehend keine Ausnahme dar, als daß auch bei dieser Art die diversen methodischen Ansätze verschiedener Labors bezüglich Trennmedien oder Puffer, und nicht zuletzt die gewählte Nomenklatur für Allele noch nicht standardisiert wurde. Dadurch wird selbst bei den wenigen Arten des ökologisch, wirtschaftlich und jagdlich wichtigen Schalenwildes der Nutzwert eingeschränkt, den die praktische Hege aus populationsgenetischen Erfassungen von Regionalbeständen ziehen kann. Solange eine standardisierte Typisierung und Nomenklatur für Wildtiergenetik nicht vereinbart werden kann, kann nur die deskriptive Publikation von Zymogrammen dazu beitragen, die allelische Interpretation von Polymorphismen verständlich darzustellen. Nur auf dieser Grundlage wird die Reihung der Befunde regionaler Studien möglich, um einen großmaßstäbigen Überblick der genetischen Struktur von Wildpopulationen zu gewinnen.

Literatur

- BACCUS, R.; RYMAN, N.; SMITH, M. H.; REUTERWALL, C.; CAMERON, D. (1983): Genetic variability and differentiation of large grazing animals. *J. Mammal.* **64**: 109-120.
- DRATCH, P.; PEMBERTON, J. M. (1992): Application of biochemical genetics to deer management: What the gels tell. In: R. D. Brown (Hrsg.): *The biology of deer*: 293-299. Springer-Verlag, New York.
- FAKLER, P.; SCHREIBER, A. (im Druck): Allozyme heterozygosity in roe deer (*Capreolus capreolus*) from two isolated populations in the Netherlands. *Netherlands J. Zool.*
- HARRIS, H.; HOPKINSON, D. A. (1976): *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. Elsevier, Amsterdam.
- HARTL, G. B.; REIMOSER, F.; WILLING, R.; KOLLER, J. (1991): Genetic variability and differentiation in roe deer (*Capreolus capreolus*) of Central Europe. *Génét. Sel. Evol.* **23**: 281-299.
- HARTL, G. B.; MARKOV, G.; RUBIN, A.; FINDO, S.; LANG, G.; WILLING, R. (1993): Allozyme diversity within and among populations of three ungulate species (*Cervus*

- elaphus*, *Capreolus capreolus*, *Sus scrofa*) of Southeastern and Central Europe. Z. Säugetierkunde 58: 352-361.
- HERZOG, S.; MUSHÖVEL, C.; HERZOG, A. (1993): Lack of genetic transferrin variation in European roe deer (*Capreolus capreolus* Linné). Z. Säugetierkunde 58: 155-159.
- HEWISON, A.J.M. (1995): Isozyme variation in roe deer in relation to their population history in Britain. J. Zool. (London) 235: 279-288.
- KURT, F. (1991): Das Reh in der Kulturlandschaft. Berlin: Parey.
- LORENZINI, R.; PATALANO, M.; APOLLINO, M.; MAZZARONE, V. (1993): Genetic variability of roe deer *Capreolus capreolus* in Italy: electrophoretic survey on populations of different origin. Acta Theriol. 38, Suppl. 2: 141-151.
- MANLOVE, M. N.; AVISE, J. C.; HILLSTAD, H. O.; RAMSEY, P. R.; M. H. SMITH; STRANEY, D. O. (1975): Starch gel electrophoresis for the study of population genetics in white tailed deer. Proc. Annual Conf. S.E. Game Fish Comm. 29: 392-403.
- MANLOVE, M. N.; SMITH, M. H.; HILLSTAD, H. O.; FULLER, S. E.; JOHNS, P. E.; STRANEY, D. O. (1976): Genetic subdivision in a herd of white-tailed deer as demonstrated by spatial shifts in gene frequencies. Proc. Annual Conf. S.E. Game Fish Comm. 30: 487-492.
- SOKOLOV, V. E.; SHURKAL, A. V.; DANILKIN, A. A.; PODOGAS, A. V.; RAKITSKAYA, T. A.; MARKOV, G.G. (1986): Comparative analysis of the electrophoretic spectra of blood and muscle-tissue proteins of European (*Capreolus capreolus* L.) and Siberian (*Capreolus pygargus* Pall.) roe-deer. Dokl. Acad. Sci. USSR (Biol. Sci.) 288: 391-393.
- STUBBE, C. (1990): Rehwild, 3. Auflage, Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin.
- WEHNER, J.; MÜLLER, H.P.; KIERDORF, H. (1991): Investigation of the genetic situation of selected Rhineland deer populations with special consideration of changes due to isolation. Z. Jagdwiss. 37: 40-48.

Zusammenfassung

Die elektrophoretische Untersuchung von Enzymen aus der Leber von 51 Rehen zweier getrennter niederländischer Populationen ergibt zwei polymorphe Enzyme, Adenylatkinase-1 und Mannosephosphat-Isomerase. Diese biallelischen Allozym polymorphismen werden beschrieben, um das Homologisieren genetischer Marker bei Rehwild zu erleichtern.

Summary

Title of the paper: Enzyme polymorphism in roe deer: adenylate kinase 1 and mannose phosphate isomerase

Allozyme variability in 51 roe deer (*C. capreolus*) from two populations in the Netherlands consisted of biallelic polymorphisms of two loci, adenylate kinase-1 and mannosephosphate-isomerase. Zymogrammes are depicted to facilitate reference between working groups.

Anschrift der Verfasser:

PETER FAKLER,
DR. ARND SCHREIBER
Universität Heidelberg
Zoologisches Institut I
Im Neuenheimer Feld 230
D-69120 Heidelberg

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Beiträge zur Jagd- und Wildforschung](#)

Jahr/Year: 1996

Band/Volume: [21](#)

Autor(en)/Author(s): Fakler Peter, Schreiber Arnd

Artikel/Article: [Enzympolymorphismen bei Rehwild: Adenylatkinase-1 und Mannosephosphat-Isomerase 179-182](#)