

ALAIN C. FRANTZ, GUSTAV SEILS, JOACHIM LUDWIG, Greifswald

Die Identifizierung von Abwurfstangen eines Rothirsch-Endgeweihes mit Hilfe genetischer Methoden

Schlagworte/key words: *Cervus elpahus*, DNS, Mecklenburg-Vorpommern, Mikrosatelliten, Probability of Identity, Rotwild

1. Einleitung

Das Rotwild als größte und verbreitete Schalenwildart steht nach wie vor im besonderen öffentlichen, jagdlichen und wissenschaftlichen Interesse. Obwohl heute eher ökologische Fragestellungen im Mittelpunkt der angewandten Rotwildforschung stehen (z. B.: TOTTEWITZ & NEUMANN 2010; FRANTZ u. a. 2012; MONZON u. a. 2012), bleibt die Formenvielfalt des imponierenden Geweihes von besonderem Interesse (LUDWIG 1995; HELL u. a. 2008).

So ist es in Rotwildgebieten eine Tradition, nach Abwurfstangen zu suchen. Auf Geweih- und Stangenschauen ergibt sich dann die Möglichkeit, die Entwicklung einzelner Hirsche über Abwurfstangen nachzuvollziehen. Diese Zuordnung basiert auf gutachtlicher phänotypischer Beurteilung (LUDWIG & VOCKE 1990; LOCKOW 1991; LUDWIG 1995).

Aufkommende Zweifel über die Zugehörigkeit können nicht immer mit vergleichenden Mitteln geklärt werden. Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, mit Hilfe individual-spezifischer genetischer Profile zu testen, ob Abwurfstangen einem Endgeweih oder einer Abwurfstange zugeordnet werden können.

2. Material und Methode

Es wurde das genetische Profil eines im Jahre 2009 erlegten Hirsches, sowie das von den drei zugehörigen Abwurfstangen erstellt, die alle aus dem Forstamt Jägerhof, Revier Jägerhof (Vorpommern) stammen. Sowohl die im Jahre 2009 erbeutete Trophäe, als auch die in 2008 gefundene Abwurfstange, hatten eine auffällige Verletzung am Rosenstock (Abb. 1).



Abb. 1 Trophäe mit Abwurfstangen. Unten: Abwurfstangen 2007; Mitte Rechts: Abwurfstange 2008 (mit Rosenstockverletzung). Foto: Christoph Kornmilch

Die beiden im Jahre 2007 gefundenen Abwurfstangen besitzen phänotypische Merkmale, die der Trophäe ähnlich sind. Als wichtige Merkmale für den Vergleich wurden der Abstand und der Abgangswinkel von Aug-, Eis- und Mittelsprossen herangezogen, ferner Form und Ausbildung des Abwurfsiegels (Petschaft) und letztlich Verlauf und Verzweigung von Riefen und Rillen an der Innenseite der Geweihstange, die sich jährlich individuell sehr konstant wiederholen. Über diesen Vergleich konnte angenommen werden, dass alle drei Abwürfe vom gleichen Hirsch stammen.

Für den Test wurde die DNS aus Knochenpulver vom Geweih bzw. von den Abwürfen isoliert, das per Bohrung (2 mm Bohrer) gewonnen wurde. Das genaue Protokoll der DNS-Isolation aus Knochenmaterial ist in FRANTZ u. a. (2008) zu finden.

Mit Hilfe von sieben Mikrosatelliten wurde ein genetisches Profil jeder Probe erstellt. Ein Mikrosatellit ist ein kurzer DNS-Strang, in dem zwei bis vier Nukleotiden 10- bis 100-mal wiederholt auftreten. Wenn, zum Beispiel, das Motiv „CA“ wiederholt würde, bestünde der Mikrosatellit aus der Sequenz „CACACACACACA...“. Mikrosatelliten können zur Identifikation von Individuen verwendet werden, da die Anzahl der Wiederholungen sich bei verschiedenen Individuen unterscheidet und deswegen bei der Genotypisierung DNA-Fragmente unterschiedlicher Länge hervorbringt. Zur Genotypisierung wurden folgende Mikrosatelliten verwendet: *BM1818*, *BM888*, *CSSM16*, *CSSM66*, *ETH225*, *Haut14*, *Inra35* (KUEHN u. a., 2003). Die Protokolle der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden in FRANTZ u. a. (2008) angegeben.

Zusätzlich zu den 4 Geweihproben wurden auch 24 Gewebeproben von Hirschen aus dem Forstamt Jägerhof und dessen Umgebung genotypisiert. Dies wurde parallel untersucht, um Hintergrundinformationen über die genetische Vielfalt beim Rotwild in Ostvorpommern zu erhalten.

Das Programm GENETIX 4.05.2 (BELKHIR, 2004) wurde verwendet, um die Anzahl der Allele pro Locus, sowie die beobachtete (H_o) und erwartete Heterozygotie (H_e) zu errechnen. Der Test auf signifikante Abweichungen vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht wurden für jeden

einzelnen Locus mit Hilfe einer Markov-Ketten Methode im Programm GENEPOP 3.4 (RAYMOND & ROUSSET 1995; 10.000 Dememorisation Schritte, 500 Batches und 10.000 nachfolgende Iterationen) durchgeführt. Der F_{IS} Inzuchtkoeffizient (WEIR and COCKERHAM 1984) wurde mit Hilfe des Programmes SPAGEDI 1.2 (HARDY & VEKEMANS 2002) errechnet und auf signifikante Abweichung von Null mit 10.000 Permutationen von Genotypen getestet. In diese Berechnungen wurden, neben den 24 Referenztieren, auch die zwei genetischen Profile der Geweihstangen und des Endgeweihes (siehe Resultate) mit einbezogen.

Von sechs der hier verwendeten Mikrosatelliten (außer *BM888*) lagen uns aus vorherigen Arbeiten (FRANTZ u. a. 2006; FRANTZ u. a. 2008; DELLICOUR u. a. 2011) genetische Daten aus vier weiteren Rotwildpopulationen vor. Damit war die Möglichkeit gegeben, über diese sechs Loci die genetische Variabilität des Rotwildes in Vorpommern mit anderen europäischen Populationen zu vergleichen. Bei dem zusätzlichen Populationsvergleich handelt es sich um die Nordvogesen (das „Petite Pierre“ Gebiet), Wallonien, Luxemburg und das Saarland. Zusätzlich zu den oben angegebenen Statistiken wurde auch die durchschnittliche „allelic richness“ (A_R) mit Hilfe des Programmes FSTAT v.2.9.3.2 (GOUDET 1995) errechnet. Die A_R zieht die unterschiedliche Größen der Stichproben in Betracht, wenn die Anzahl der Allele pro Locus berechnet werden.

Wenn das Rotwild im vorpommerschen Studiengebiet wider Erwarten eine geringe genetische Variabilität aufweisen würde, kann nicht ausgeschlossen werden, dass zwei Tiere per Zufall das gleiche genetische Profil haben, obwohl sich ein Profil aus sieben verschiedenen Mikrosatelliten zusammensetzt.

Mit dem Programm GIMLET wurde die Wahrscheinlichkeit dieser Möglichkeit mit der Hilfe der „Sibling Probability of Identity (PID_{SIB})“ errechnet. Diese Statistik ermöglicht eine Schätzung, ob die sieben hier verwendeten Mikrosatelliten über genügend Informationsgehalt verfügen, um mit hoher Sicherheit auch Verwandte 1. Grades zu trennen und daher, im Umkehrschluss, Abwürfe mit einem identischen genetischen Profil vom selben Hirsch stammen müssen.

3. Ergebnisse

Alle sieben Marker in der Referenzpopulation aus dem Forstamt Jägerhof (Vorpommern) waren mit zwischen fünf und 11 Allelen pro Locus polymorph. Die Durchschnittswerte für die beobachtete Heterozygotie ($H_o=0,768$) und die erwartete Heterozygotie ($H_e=0,750$) waren sich sehr ähnlich. In der Tat wich der Inzucht-Koeffizient nicht signifikant von Null ab – weder der allgemeine Wert ($F_{IS}=-0,004$; $P=0,948$), noch die Werte der einzelnen Loci (Tabelle 1) – und keiner der Loci zeigte eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht (alle P -Werte ≥ 0.346). Damit ist die genetische Variabilität der Referenzpopulation des Forstamtes Jägerhof mit der Variabilität anderer europäischer Population der freien Wildbahn vergleichbar (Tabelle 2).

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, hatten die Trophäe und die Abwurfstange aus dem Jahre 2008 das gleiche genetische Profil. Die beiden Abwürfe aus dem Jahre 2007 dagegen besaßen zwar ein identisches genetisches Profil. Dieses Profil unterschied sich aber von dem der Endtrophäe und der Abwurfstange 2008. Laut der errechneten P_{ID-SIB} Statistik, lag die Wahrscheinlichkeit bei 0.0016, dass zwei unterschiedliche Tiere das gleiche genetische Profil hatten (Tabelle 3). Das bedeutet, dass mit fast 99,9%iger Sicherheit bestätigt werden kann, dass Proben mit identischen Profil vom selben Hirsch stammen, und folglich zwei verschiedene Hirsche unterschiedliche genetischen Profile haben. Damit ist klar erwiesen, dass beide Passstangen 2007 von einem anderen Hirsch stammen und nicht zur Trophäe gehören.

Tabelle 1 Kennwerte der sieben Mikrosatelliten. N = Stichprobengröße; A = Anzahl der Allele; H_o = beobachtete Heterozygotie; H_e = erwartete Heterozygotie; P -Wert = Wert der angibt, ob F_{IS} signifikant unterschiedlich von Null ist. P_{ID-SIB} Locus = Werte für jeden einzelnen Locus; P_{ID-SIB} kumulativ = Multilocus PID. Die Reihenfolge der Loci in der Tabelle ist nach P_{ID} Wert angeordnet, so dass der Locus mit den höchsten Informationsgehalt an erster Stelle steht.

Locus	N	A	HE	HO	FIS	P-Wert	PID-SIB	
							Locus	kumulativ
BM888	22	11	0.821	0.818	0.027	0.729	0.352	0.352
BM1818	25	8	0.792	0.800	0.010	0.872	0.372	0.131
CSSM66	25	9	0.778	0.760	0.044	0.634	0.380	0.050
ETH225	24	7	0.776	0.792	0.001	0.947	0.381	0.019
Inra35	26	6	0.743	0.808	-0.068	0.540	0.406	0.008
Haut14	26	8	0.680	0.731	-0.056	0.600	0.443	0.003
CSSM16	24	5	0.655	0.667	0.004	0.964	0.468	0.002

Tabelle 2 Vergleich der genetischen Variabilität mit der Referenzpopulation und anderen natürlichen Populationen. Sechs der sieben Mikrosatelliten (außer BM888) wurden in diesen Vergleich mit einbezogen. Für Abkürzungen siehe Tabelle 1.

Population	N	A	AR	HE	HO
Vorpommern	26	7.2	7.1	0.737	0.760
Nord-Vogesen	40	6.7	6.2	0.697	0.660
Wallonien	38	9.0	7.6	0.750	0.739
Luxemburg	60	8.7	7.4	0.758	0.725
Saarland	108	8.0	7.4	0.783	0.758

Tabelle 3 Genetische Profile der Trophäe mit Abwürfen

	Mikrosatelliten													
	BM888		BM1818		CSSM66		ETH225		Inra35		Haut14		CSSM16	
Trophäe	201	234	245	245	170	178	157	157	111	113	106	125	162	162
Stange 2008	201	234	245	245	170	178	157	157	111	113	106	125	162	162
Stange 2007, li	201	234	241	245	170	192	152	165	108	111	106	125	152	162
Stange 2007, re	201	234	241	245	170	192	152	165	108	111	106	125	152	162

4. Diskussion

Mit der Genotypenanalyse lässt sich die Zugehörigkeit von Abwurfstangen eindeutig bestimmen. Das hier vorgestellte Erlebnis belegt ganz eindeutig, dass nur eine der drei Abwurfstangen vom Hirsch mit dem Endgeweih stammt. Es handelte sich hierbei um die Abwurfstange 2008, die (wie das Endgeweih) eine Verletzung am Rosenstock aufwies. Die beiden früheren Abwurfstangen von 2007 hingegen stammen von einem anderen Hirsch.

Die Referenzpopulation aus dem Forstamt Jägerhof (Vorpommern) hat eine relativ hohe genetische Variabilität, die in der gleichen Größenordnung liegt wie die in anderen größeren europäischen Rotwildpopulationen. Es wurden keinerlei Abweichung vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht bei den hier untersuchten genetischen Markern in Vorpommern festgestellt. In dieser Studie konnten deswegen keine Anzeichen für genetische Probleme bei der Population in Jägerhof und Umgebung festgestellt werden.

Durch die Genotypenanalyse erhält die Geweih- und Wachstumsforschung beim Rotwild eine wichtige neue Grundlage. Bisher war der Phänotyp die Basis jagdkundlicher Forschung bei dem ein mehr oder minder großer Umwelteinfluss (Umweltfehler) notgedrungen akzeptiert wurde (LUDWIG, 1995). Es fehlte bei allen phänotypischen Untersuchungen und Vergleichen der genotypische Nachweis. Mit der DNS-Analyse ergeben sich für die Jagdkunde daraus neue Möglichkeiten der Beweisführung. So kann z. B. mit der Genotypisierung der für Abwurfstangen typisch geringe Anteil an Jugendklassen grundsätzlich behoben werden. Obwohl in diesen Altersklassen der größte Abschuss liegt, wissen wir zu wenig über die dynamische Körper- und Geweihentwicklung (siehe aber VAN DEN BERG & GARRICK 1997; KRÜK u. a. 2002).

Eine aus erlegten Einzelhitschen zusammengestellte statische Entwicklungsreihe kann das wirkliche dynamische Wachstum nur nährungsweise erklären. So war z. B. in der Zeitspanne von 27 Jahren in rund 100 ausgewerteten Abwurfstangen des ehemaligen Wildforschungsgebietes Rothemühl das Alter 2 im Bereich der Bronzemedaille nur zweimal, das Alter 3 nur fünfmal vertreten (LUDWIG & VOCKE 1990), obwohl naturgemäß Abwurfstangen junger Hirsche zahlenmäßig häufiger gefunden, aber nicht zugeordnet werden können.

Die entgültige Geweihform eines Hirsches wird erst im höheren Alter sichtbar. Deshalb ist es in der Praxis typisch, dass etwa ab Alter 5 Geweihformen auffallen, die dann in jüngere Alter zurückverfolgt werden. Dazu bedarf es einer größeren Vorratshaltung an Stangen, die aus ökonomischen Gründen nicht realisierbar sind. Erschwerend ist dabei, dass in der Jugend Phänotyp und Genotyp weit auseinander liegen können. Hier besteht eine große Nachweislücke und ein großes Arbeitsfeld für die DNS-Analyse. Ein Genotypen-Datenspeicher könnte den Ausweg darstellen und diese Lücke schließen. Berücksichtigt man den geringen Aufwand für den Jagdausübenden (Knochenpulver mit 2 mm Bohrer aus dem Siegel der Abwurfstange bzw. Rosenstock gezogen), so ist die DNS-Probe sehr ökonomisch und technisch einfach zu gewinnen. Als Rücklauf würde eine leicht lesbare Tabelle der Praxis zur Verfügung stehen.

Eine interessante mögliche Erweiterung des Identifikationsbestimmung wäre die Klärung der Verwandtschaftsgrade adulter Hirsche verbunden mit der Prüfung der Wiederholbarkeit von Geweihmerkmalen wie Endenzahl, Kronenform, Eissprosse, etc. Die Genotypisierung

eröffnet auch die Möglichkeit Verwechslungen zwischen Unterkiefer und Trophäe auszuschließen. Auch die Genotypisierung alter Trophäen wird aus historisch genetischer Sicht ebenfalls von wissenschaftlichem Interesse sein. Letzten Endes kann die entwickelte Methode auf andere Schalenwildarten ausgedehnt werden.

Zusammenfassung

Aufkommende Zweifel über die Zugehörigkeit von Rotwild-Abwurfstangen konnten bisher nicht immer über phänotypische Vergleiche geklärt werden. Zur Lösung dieses Problems wurde ein individual-spezifisches genetisches Profil vorgestellt, basierend auf sieben Mikrosatelliten, mit dem eindeutig Abwurfstangen zugeordnet werden können. Im untersuchten Beispiel stammen zwei Abwurfstangen entgegen den Erwartungen nicht vom Hirsch der Endtrophäe. Durch die Möglichkeit der Genotypenanalyse erhält die Geweih- und Wachstumsforschung beim Rotwild eine neue Grundlage.

Summary

Identification of shed antlers of red deer with genetic methods

It can be difficult to assign shed antlers to individual red deer based on antler phenotype alone. In this study, we generated individual-specific genetic profiles based on seven microsatellites in order to test whether shed antlers originated from the same deer as a specific antler trophy, as suggested by the phenotypic characteristics of the antlers. The genetic profiles showed that, against expectations, two antlers did not originate from the same deer as the trophy. Genetic tools can make an important contribution to the study of antler development in red deer.

Danksagung

Wir möchten uns herzlich bei Prof. Gerald Kerth, Zoologisches Institut der Universität Greifswald, für die finanzielle und materielle Unterstützung bedanken.

Literatur

- BELKHIR, K. (2004): Genetix 4.05.2. University of Montpellier II, Laboratoire Génome et Populations, Montpellier, France.
- DELLICOUR, S.; FRANTZ, A.C.; COLYN, M.; BERTOUILLE, S.; CHAUMONT, F.; FLAMAND, M.C. (2011): Population structure and genetic diversity of red deer (*Cervus elaphus*) in forest fragments in north-western France. – *Conserv. Genet.* **12**: 1287–1297.
- FRANTZ, A.C.; BERTOUILLE, S.; ELOY, M.C.; LICOPPE, A.; CHAUMONT, F.; FLAMAND, M.C. (2012): Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elaphus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). – *Mol. Ecol.* **21**: 3445–3457.
- FRANTZ, A.C.; HAMANN, J.-L.; KLEIN, F. (2008): Fine-scale genetic structure of red deer (*Cervus elaphus*) in a French temperate forest. – *Eur. J. Wildl. Res.* **54**: 44–52.
- FRANTZ, A.C.; TIGEL POURTOIS, J.; HEUERTZ, M.; SCHLEY, L.; FLAMAND, M.C.; KRIER, A.; BERTOUILLE, S.; CHAUMONT, F.; BURKE, T. (2006): Genetic structure and assignment tests demonstrate illegal translocation of red deer (*Cervus elaphus*) into a continuous population. – *Mol. Ecol.* **15**: 3191–3203.
- GOUDET, J. (1995) FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate *F*-statistics. – *J. Hered.* **86**: 485–486.
- HELL, P.; RAJSKÝ, M.; SLAMEČKA, J. (2008): Grenzen des Trophäenwachstums und ihre Bedeutung für das Image der Jägerschaft. – *Beitr. Jagd- u. Wildforsch.* **33**: 75–85.
- HARDY, O.; VEKEMANS, X. (2002): SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. – *Mol. Ecol. Notes* **2**: 618–620.
- KRUK, L.E.B.; SLATE, J.; PEMBERTON, J.M.; BROTHERSTONE, S.; GUINNESS, F.; CLUTTON-BROCK, T. (2002): Antler size in red deer: heritability and selection but not evolution. – *Evolution* **56**: 1683–1695.
- KUEHN, R.; SCHROEDER, W.; PIRCHNER, F.; ROTTMANN, O. (2003): Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). – *Conserv. Genet.* **4**: 157–166.
- LOCKOW, K.-W. (1991): Vorhersage der Geweihentwicklung des Rothirsches – eine Entscheidungshilfe für Wahlabschuss und Hege. – *Z. Jagdwiss.* **37**: 24–34.
- LUDWIG, J. (1995): Wie erblich sind die Dimensionen beim Rotwildgeweih? – *Beitr. Jagd- u. Wildforsch.* **20**: 33–39.
- LUDWIG, J.; VOCKE, G. (1990): Die Vereinfachung einer Wachstumsfunktion, dargestellt am Rothirschgeweih. – *Z. Jagdwiss.* **36**: 219–225.
- MONZON, A.; DA SILVA, S.V.; MANSO, F.T. (2012): Integrating the deer (*Cervus elaphus*) in the Portuguese forests: Impacts and new challenges for forest certification. – *Forest Ecol. Manag.* **267**: 1–6.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. (1995): GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. – *J. Hered.* **86**: 248–249.
- TOTTWITZ, F.; NEUMANN, M. (2010): Untersuchungen zur Lebensraumnutzung des Rotwildes (*Cervus elaphus* L.)

auf der Halbinsel Darß/Zingst im Nationalpark Vorpommersche Boddenlandschaft durch GPS-Satelliten-Telemetrie. – Beitr. Jagd- u. Wildforsch. **35**: 15–32.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. – Evolution **38**: 1358–1370.

Anschriften der Verfasser:

Dr. ALAIN FRANTZ
Zoologisches Institut Universität Greifswald
Johann-Sebastian-Bach Str. 11/12
17489 Greifswald

Aktuelle Adresse:
33, Grand-rue
L-3394 Roeser, Luxemburg

Dr. GUSTAV SEILS
Kurzer Weg 23
D-17493 Greifswald

Dr. JOACHIM LUDWIG
Hans Beimler Str. 13
D-17491 Greifswald

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 2012

Band/Volume: [37](#)

Autor(en)/Author(s): Frantz Alain C., Seils Gustav, Ludwig Joachim

Artikel/Article: [Die Identifizierung von Abwurfstangen eines Rothirsch-Endgeweihs mit Hilfe genetischer Methoden 267-272](#)