

Molekulares Spurenlesen für den Artenschutz: Die Entwicklung eines SNP-Marker-Panels für nicht-invasive Populationsgenetik beim Wisent

Erschienen in:

Nationalpark-Jahrbuch Unteres Odertal (17/Band III), 102-105

Molekulare Analysen der genetischen Diversität sind ein erfolgsversprechendes Werkzeug für das Management zum Schutz bedrohter Arten. Der Wisent (*Bos bonasus*) (LINNAEUS 1758) wurde durch erhebliche Artenschutzbemühungen Anfang des 20. Jahrhunderts vor dem Aussterben bewahrt (KRASIŃSKA & KRASIŃSKI 2013). Die heutige globale Population stammt von insgesamt nur zwölf Gründertieren ab (TOKARSKA et al. 2011, KRASIŃSKA & KRASIŃSKI 2013), wodurch die Art einen starken genetischen Flaschenhals durchlaufen hat. Zwar ist die Population durch eine erfolgreiche Erhaltungszucht und Wiederansiedelungen in angestammten Regionen weltweit wieder auf über 8.400 Individuen herangewachsen (RACZYŃSKI 2019), ist aber weiterhin bedroht durch eine sehr niedrige genetische Variabilität und Inzucht.

Verursacht durch diese niedrige Allelvariabilität, versagen traditionelle molekulare Methoden wie Mikrosatelliten, die für die Bewertung von genetischer Diversität oder für Verwandtschaftsanalysen erforderliche Auflösung für diese Art zu leisten (TOKARSKA et al. 2009, bestätigt durch eigene Analysen). Dies hat genetische Untersuchungen für das *ex situ*-Management oder das nicht-invasive Monitoring von ausgewilderten und isolierten Populationen stark erschwert. Mit dieser Studie habe ich im Rahmen meiner Masterarbeit ein reduziertes SNP-Panel für mikrofluides Genotypisieren von Proben vom Wisent mit niedriger Qualität entwickelt. Solche Proben können Umweltspuren wie Dung, Urin, Speichel oder Haare darstellen. Diese können dann beispielsweise von Nationalpark-Rangern im Feld gesammelt und anschließend im Labor analysiert werden, um so über Ihren Verursacher Aufschluss zu geben. So kann man die Tiere effektiv monitoren, ohne sie fangen oder auch nur stören zu müssen – schließlich ein Primärziel von Auswilderungen.

Insgesamt 96 Stellen im Genom der Wisente, sogenannte SNPs (gesprochen »Snips« für Einzelnukleotid-Polymorphismen, engl.: single nucleotide polymorphisms), sind zu dem neuen SNP-Panel zusammengefasst und ermöglichen (i) Geschlechtsbestimmungen, (ii) Individualisierungen, (iii) Zuordnungen von Elterntieren, (iv) Zuchtliniendiskriminierungen, (v) Evaluierungen der genetischen Diversität und (vi) die Erkennungen anderer Arten. Mit Geschlechtsbestimmungen (i) und Individualisierungen (ii) kann man Individuendatensätze erstellen, um etwa individuelle Wanderbewegungen nachvollziehen oder Populationsgrößen abschätzen zu können. Für artenschutzrelevante Entscheidungen, sowohl für die Erhaltungszucht in Menschenobhut oder bei ausgewilderten Beständen, sind Stammbaumrekonstruktionen (iii) oder die Untersuchung der genetischen Diversität (v) von zentraler Bedeutung. Seit der Gründung der Artenschutzbemühungen beim Wisent ist die Trennung der Flachlandlinie (synonym mit der natürlichen Nominatform *Bos bonasus bonasus*) und der Flachland-Kaukasus-Linie, die auch genetisches Material des mittlerweile ausgestorbenen Bergwisents (*Bos bonasus caucasicus* (TURKIN & SATUNIN 1904)) innehat, ein Management-Maxime (PUCEK et al. 2004). Anhand der SNP-Genotypen lassen

sich die Individuen diesen beiden Zuchtlinien zuordnen, selbst wenn es sich um Hybride beider Linien handelt (iv). Um im Feld genommene Proben initial von anderen Arten, wie dem genetisch ähnlichen Hausrind, unterscheiden zu können, erlaubt das SNP-Panel das Bestimmen anderer Spezies anhand der Genotypen (vi). Zusätzlich zur Entwicklung des Markerpanels, habe ich eine Best Practice-Methode für das Sammeln, Lagern und die DNS-Extraktion von und aus Wisentdung aufgestellt, welches den optimalen Probestyp im Freiland darstellt.

Um eine für die globale Population repräsentative Probensammlung zu garantieren, haben europaweit 37 Kooperationspartner über 1.600 Einzelproben von etwa 300 Wisentindividuen beigetragen. Davon konnte ich im Rahmen meiner Masterarbeit 137 Wisente sowohl aus menschlicher Obhut, als auch aus der Wildnis erfolgreich genotypisieren. Darunter sind auch zwei Kühe und ein Bulle von der Wisentweide bei Schwedt, die von Landwirt Norbert Meene beprobt wurden. Aus derselben Probensammlung konnte ich außerdem zehn weitere Rinderarten (Bovini) (GRAY 1821) in 16 Unterarten/evolutionären Hauptlinien und 116 Individuen genotypisieren. So konnte ich feststellen, dass grundlegende Anwendungen des SNP-Panels, wie der Geschlechtsbestimmung und der Individualisierung über nicht-invasive Proben auch für Amerikanische Bisons (*Bos bison*) (LINNAEUS 1758), Hausrinder (*Bos primigenius*) (BOJANUS 1827), Gaure (*Bos gaurus*) (SMITH 1827) sowie Bantengs (*Bos javanicus*) (DALTON 1823) funktionieren.

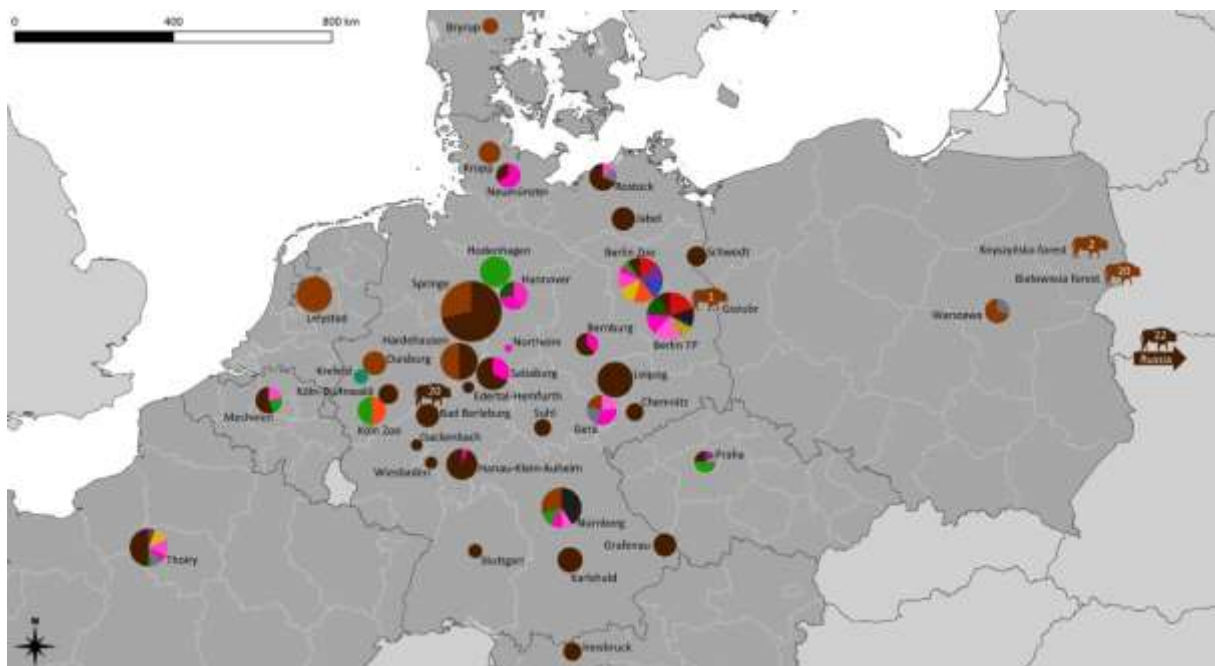


Abb. 1: Herkunftskarte der europaweiten Probensammlung: Die Größe der Tortendiagramme repräsentieren die Probenmenge pro Herkunft (insgesamt: $n = 1613$). Die meisten Einzelproben stammen aus dem Wisentgehege in Springe ($n = 186$), und mit drei Proben, die wenigsten vom Bauernhof Lutze in Northeim. Die Tortenstücke repräsentieren die Anteile der gesammelten Arten/Unterarten/evolutionären Hauptlinien pro Einrichtung. Wisentsymbole repräsentieren Proben von wilden Wisenten und enthalten die Probenmengen in Ziffern. Die exakte Verortung der russischen Proben ist nicht abgebildet aber mit einem Pfeil verwiesen. Unterarten und evolutionäre Hauptlinien einer Spezies teilen ähnliche Grundfarben: braun (Wisent), grün (Amerikanischer Bison), pink (Hausrind), gelb (Gaur) und blau ((Haus-)Wasserbüffel). Länder in denen beprobt wurde, sind mit einem dunklen grau hervorgehoben. Ein roter Pfeil hebt die 20 Proben von der Wisentweide bei Schwedt hervor.

So kann das ursprünglich strikt für Wisente entwickelte SNP-Panel ohne Anpassungen in basalen Fragestellungen für teilweise ebenfalls naturschutzrelevante Wildrindarten sofort angewendet werden. Für solche dafür grundlegenden Forschungsoperationen war die Tagung »Wisente auf Wilder Weide – Arterhaltung und Ökologie« vom 27. bis 28. September 2018 der Brandenburgischen Akademie im Schloss Criewen sehr hilfreich, da solche Zusammentreffen vieler Interessengruppen die Kommunikation unheimlich voranbringen. So hat der Nationalpark Unteres Odertal, der assoziierte Nationalparkverein und die Nationalparkstiftung durch mehrere Aspekte dieses Forschungsprojekt für den Wisent unterstützen können.

Durch die niedrigen Kosten, die hohe molekulare Auflösungskraft, als auch die Anwendbarkeit für verschiedenste Probenotypen, kann das neue SNP-Panel wichtige Aufgaben in den aktuellen Artenschutzbemühungen zum Wisent bewältigen. Dazu gehört ein präzises genetisches Monitoring von wiederausgewilderten Herden, als auch der molekulare Vergleich mit den ältesten Zuchtbuchdaten einer bedrohten Art die mehr als 100 Jahre zurückreichen. Letzteres ermöglichte eine unvergleichbare Gelegenheit dieses neuentwickelte genetische Werkzeug mit bereits vorhandenen Daten abzugleichen. Derzeit wird an einer peer-reviewten wissenschaftlichen Publikation der Studie gearbeitet. Auf einer internationalen Fachkonferenz in Frankfurt am Main traf die Studie bereits auf Interesse (WEHRENBURG et al. 2020). Außerdem kann und wird dieses neue SNP-Panel zum erstmaligen Monitoring wilder Populationen, zurzeit im Rahmen der aktuellen Auswilderungen in Rumänien eingesetzt (WWF Rumänien, Rewilding Europe und der Romanian Wilderness Society (EU-Life-Projekt)).



Abb. 2: Fernab von den Herden der Wildrinder: Die Hauptarbeit der Forschung findet im Labor und am Computer statt. (Foto: A. Ebenezer)



Abb. 3: Wisentbulle »Benno« (Criewen) wurde im Rahmen der hier vorgestellten genetischen Studie auch erfolgreich genotypisiert. (Foto: G. Wehrenberg)

Literatur

- KRASIŃSKA, M. & Z.A. KRASIŃSKI (2013): *European bison*. The nature monograph. 2nd ed. 2013. Springer Berlin Heidelberg. Berlin, Heidelberg. Online accessible: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-36555-3>.
- PUCEK, Z., I.P. BELOUSOVA, M. KRASIŃSKA, Z.A. KRASIŃSKI & W. OLECH (Hg.) (2004): *European bison. Status survey and conservation action plan*. IUCN/SSC Bison Specialist Group; International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. IUCN. Gland, Cambridge. Online accessible: <http://www.loc.gov/catdir/enhancements/fy0739/2005412156-d.html>.
- RACZYŃSKI, J. (2019): *European Bison Pedigree Studbook*. Białowieża.
- TOKARSKA, M., T. MARSHALL, R. KOWALCZYK, J.M. WÓJCIK, C. PERTOLDI, T.N.
- KRISTENSEN, V. LOESCHCKE, V.R. GREGERSEN & C. BENDIXEN (2009): *Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity*. The case of European bison. *Heredity* 103. 326–332. DOI: 10.1038/hdy.2009.73.
- TOKARSKA, M., C. PERTOLDI, R. KOWALCZYK & K. PERZANOWSKI (2011): *Genetic status of the European bison *Bison bonasus* after extinction in the wild and subsequent recovery*. *Mammal Review* 41. 151–162. DOI: 10.1111/j.1365-2907.2010.00178.x.
- WEHRENBURG, G., M. TOKARSKA, C. NOWAK & B. COCCHIARARO (2020): *Bullshit makes sense now: A reduced SNP panel for non-invasive genetic assessment of a genetically impoverished species, the European bison*. 4th Annual Meeting in Conservation Genetics (ConsGen20) – From Genomes to Application. Frankfurt am Main

GERRIT WEHRENBURG, M. Sc
 Zentrum für Wildtiergenetik,
 Senckenberg Forschungsinstitut und Naturkundemuseum Frankfurt
 Clamecystraße 12, 63571 Gelnhausen
 diangeleo@arcor.de