

## Evolution von Anpassungen

### A) Evolution saisonal abhängig gesteuerter Genexpression beim Europäischen Reh (*Capreolus capreolus*)

Wachstumsfaktoren sind an der Regulation von testikulärem Wachstum und Testesverkleinerung (Involution) beteiligt. Dies wird insbesondere bei sich saisonal reproduzierenden Arten deutlich. Um zu erforschen, ob auch Wachstumsfaktoren einer jahreszeitabhängigen Genexpression unterliegen, wurde beim Reh (saisonal reproduzierende Art) die Expression der Wachstumsfaktoren IGF-1, IGF-2, aFGF, bFGF und TGF $\alpha$  im Jahresverlauf mittels RT-PCR untersucht. Zusätzlich wurden die entsprechenden mRNAs mittels *in situ*-Hybridisierung lokalisiert. Dabei konnte gezeigt werden, daß IGF-1, IGF-2 und bFGF im Frühling (Phase des Hodenwachstums) am stärksten exprimiert wurden. Die höchste Konzentration an aFGF mRNA wurde dagegen zwischen Juli (Brunft) und Januar gemessen. TGF $\alpha$  wurde das ganze Jahr über nur in sehr geringen Mengen detektiert. Die Expressionsniveaus der einzelnen Faktoren lagen im Extremfall (IGF-2, TGF $\alpha$ ) um drei Zehnerpotenzen auseinander. Jeder Wachstumsfaktor zeigte eine für ihn typische zelluläre Lokalisierung im Hodengewebe. Die Ergebnisse deuten auf eine spezifische Funktion der verschiedenen Wachstumsfaktoren in der parakrinen Steuerung der Spermatogenese und deren jahreszeitlich abhängiger Regulierung.

#### weitere Publikationen (vor 2003)

Wagener A, Blottner S, Fickel J (2000): Detection of growth factors in the testis of roe deer (*Capreolus capreolus*). ANIMAL REPROD. SCI. 64, 65-75.

Wagener A, Blottner S, Einspanier R, Fickel J (1999): Testicular growth factor expression in seasonal and non-seasonal ruminants. Reproduction in Domestic Animals - Physiology, Pathology, Biotechnology (Eds. Rath, D. & Meinecke, B). Proceedings of the 32<sup>nd</sup> Conference on Physiology and Pathology of Reproduction and of the 24<sup>th</sup> Joint Meeting on Veterinary and Human Medicine, 34(1), 18.

Göritz F, Hildebrandt TB, Broich A, Hermes R, Lengwinat T, Jewgenow K, Fickel J, Reinsch A, Wagener A, Lange A, Gilles M, Blottner S, Hofmann RR (1999): Experimental investigation in embryonic diapause and seasonality of spermatogenesis in European roe deer (*Capreolus capreolus*). Proceedings of the European Roe deer Meeting, 7-10.

Wagener A, Blottner S, Einspanier R, Fickel J (1998): Investigation of growth factors gene expression in the testis of ruminants. ADV. ETHOL. 33, 75.

Wagener A, Fickel J, Gehrke J, Einspanier R, Jewgenow K (1998): Bovine oocyte quality in relation to follicular wall apoptosis and expression of growth factors - preliminary results. J. REPROD. FERTIL. SUPPL. 22 (72a), 28.

### B) Molekulare Mechanismen der Anpassung von Wildwiederkäuern an tanninhaltige Nahrung

Viele zweikeimblättrige Pflanzen produzieren Substanzen (z.B. Tannine), deren Verzehr bei Freßfeinden einen negative Wirkung ausübt. Der Wirkung dieser Substanzen können einige Wildwiederkäuerarten dadurch ausweichen, daß sie Speichelproteine produzieren, die diese Substanzen binden und damit unwirksam machen können. Tannine können in nicht an ihren Verzehr adaptierten Spezies durch ihr Proteinbindungsvermögen die Nahrungsverwertung und damit Wachstum und Gesundheit beeinträchtigen (antinutritive Wirkung). Einige Wiederkäuerarten wie z.B. das Reh (*Capreolus capreolus*), haben in ihrem Nahrungsspektrum viele stark tanninhaltige Pflanzen, leiden aber nicht unter den erwähnten post-digestiven Konsequenzen. Eine Möglichkeit, die antinutritive Wirkung von Tanninen zu neutralisieren, besteht in der Produktion tanninbindender Speichelproteine. Daher wurde der Speichel verschiedener Wiederkäuerarten auf das Vorhandensein tanninbindender Proteine untersucht. Als Referenzspezies wurde das Reh herangezogen.

Die Speichelproteine der *Browser* (Tiere mit einem breiten pflanzlichen Nahrungsspektrum) Reh, Rentier (*Rangifer tarandus*), Damhirsch (*Cervus dama*) und Moschusochse (*Ovibos moschatus*) banden ungefähr doppelt so effektiv an hydrolysierbare Tannine (Referenzsubstanz: Tanninsäure), wie die der untersuchten *Grazer* (Gras- und Rauhfutterfresser) Rind (*Bos taurus*) und Mufflon (*Ovis orientalis musimon*). Diese Abstufung zeigte sich auch bei der Untersuchung der Bindung an kondensierte Tannine (Referenzsubstanz: Quebracho). Eine Ausnahme stellte Mufflonspeichel dar, dieser band ebenso gut an Quebracho wie die Speichelproteine der *Browser*.

Die Analyse der TCA-löslichen Speichelproteine von Reh und Elch ergab einen relativen Prolingehalt von über 35%, während beim Moschusochsen noch 29% gemessen wurden. In Damhirsch- und Rinderspeichel wurden keine prolinreichen Proteine gefunden, was vermuten läßt, daß beim Damhirsch andere Speichelbestandteile für die Tanninbindung verantwortlich sind. Im direkten Vergleich der TCA-löslichen Speichelproteine von Reh und Rind banden die des Rehs 10-25x effektiver an Tannine. Die Tanninbindungskapazitäten der TCA-löslichen Speichelproteine von Moschusochse und Damhirsch waren ebenfalls höher als die des Rindes, aber niedriger als die des Rehs. Die TCA-löslichen Speichelproteine des Rehs sind glykosyliert und können nach Molekulargewicht (MW) und isoelektrischem Punkt (IP) in 5 Gruppen eingeteilt werden (MW 15-50kD, IP 4,0-8,2). Von 15 dieser Proteine konnten die N-terminalen Aminosäuresequenzen ermittelt werden. Ausgehend von diesen Informationen wurden Reh-PRP spezifische mRNAs isoliert und partiell sequenziert. Merkmal der meisten dieser Fragmente war eine homologe C-terminale Sequenz PPPEEQPE<sup>E/Q</sup>SPD E<sup>E/D</sup>SPSE. Die Suche nach Übereinstimmungen der analysierten Sequenzen mit anderen Säugetier-PRPs in der Genbank ergab keine sinnvollen Ähnlichkeiten. Die Ergebnisse stellen einen Ausgangspunkt bei der Analyse der tanninbindenden Proteine anderer Megaherbivoren (z.B. Nashörner) dar.

#### weitere Publikationen (vor 2003)

- Gehrke J, Fickel J, Lechner-Doll M, Hermes R, Flach EJ, Hatt JM, Clauss M (2002): Tannin-binding salivary proteins in three captive rhinoceros species. Proceedings of the Joint Nutrition Symposium [American Academy of Veterinary Nutrition (AAVN), American College of Veterinary Nutrition (ACVN), Comparative Nutrition Society (CNS), European College of Veterinary and Comparative Nutrition (ECVCN), European Society of Veterinary and Comparative Nutrition (ESVCN), and the European Zoo Nutrition Research Group (EZNRG)], 130.
- Clauss M, Gehrke J, Fickel J, Lechner-Doll M, Flach EJ, Dierenfeld ES, Hatt JM (2002): Induction of salivary tannin-binding proteins in captive black rhinoceros (*Diceros bicornis*). Proceedings of the Joint Nutrition Symposium, 131.
- Gehrke J, Fickel J, Lechner-Doll M, Lason K, Clauss M (2002). Salivary tannin-binding proteins are not affected by mid-term feeding history in captive roe deer (*Capreolus capreolus*). Proceedings of the Joint Nutrition Symposium, 132.
- Fickel J, Pitra C, Joest BA, Hofmann RR (1999): A novel method to evaluate the relative tannin-binding capacities of salivary proteins. COMP. BIOCHEM. PHYSIOL. C 122, 225-229.
- Gehrke J, Fickel J (1998): Investigation of tannin binding proteins in ruminant saliva. ADV. ETHOL. 33, 101.
- Fickel J, Göritz F, Joest BA, Hildebrandt T, Hofmann RR (1998): Analysis of parotid and mixed saliva in roe deer (*Capreolus capreolus*, L.). J. COMP. PHYSIOL. B 168, 257-264.