

Import oder sekundäre Domestikation? Der Ursprung der europäischen Hausrinder im Spiegel molekulargenetischer Analysen an neolithischen Knochenfunden

Ruth Bollongino, Joachim Burger und Kurt W. Alt

Einleitung

Die Entwicklung von der aneignenden Lebensweise zur ersten bäuerlichen Gesellschaft stellt eine bedeutende Veränderung in der Menschheitsgeschichte dar. Durch die Erfindung von Haustierhaltung und Ackerbau wurde die Basis für unsere heutige Lebensweise gelegt. Von archäologischer Seite wird die Neolithisierung seit Jahrzehnten intensiv erforscht (z.B. LÜNING 2000). Für den vorderasiatischen und europäischen Raum liegt der Ursprung der produzierenden Lebensweise im Bereich des so genannten Fruchtbaren Halbmondes und in Anatolien, wo ca. 9000 v. Chr. das Neolithikum begann. In den folgenden 4000 Jahren breitet es sich über den Balkan und entlang der Mittelmeerküsten Richtung Mitteleuropa aus. Von Transdanubien bis in den mitteleuropäischen Raum wird das Neolithikum von der Kultur der Linearbandkeramik (LBK) getragen und erreicht ca. 5500 v. Chr. den Rhein. Mit archäologischen Mitteln ist es aber nicht möglich herauszufinden, ob ein Wechsel in den kulturellen Hinterlassenschaften mit einem Verschwinden der alten und dem Auftauchen neuer Bevölkerungen einhergeht. So kann bislang nicht sicher gesagt werden, woher die Neolithiker kamen; ob es sich um weit gereiste Migranten handelt oder eher um eine allmähliche, sukzessive Ausbreitung z.B. durch die Gründung neuer Höfe in der Nähe bereits bestehender Siedlungen (PRICE et al. 2001; GRONENBORN 1999). Die Geschichte der Menschen dieser Zeit ist dabei eng verknüpft mit der ihrer Haustiere. Weit reichende Verbindungen und Handelsbeziehungen konnten mit archäologischen und archäometrischen Methoden zwar nachgewiesen werden, diese geben aber nur indirekt einen Hinweis auf die Herkunft und Mobilität von Mensch und Haustier. Auch von Seiten der Archäozoologie gibt es Hinweise, die für einen Import der Hausrinder aus dem Nahen Osten nach Mitteleuropa sprechen. Dabei wird kontrovers diskutiert, ob es nicht auch sekundäre Domestikationszentren gab und ob gegebenenfalls heimische Auerochsen in Mitteleuropa in bestehende Hausrinderherden eingekreuzt wurden. Diesen Fragen wird in dem hier näher vorgestellten Projekt nachgegangen. An meso- und neolithischen Knochenfunden aus unterschiedlichen geographischen Regionen wird mittels molekulargenetischer Analysen versucht, die Frage der Neolithisierung von archäobiologischer Seite einer Lösung näher zu bringen.

Bisherige Forschungen

Die molekulargenetische Forschung zur Herkunft des Hausrindes beginnt in den 1990er Jahren. Erste Analysen an moderner DNA rezenter Rinderrassen ließen jedoch nur indirekte Rückschlüsse auf die Herkunft mitteleuropäischer Rinder zu. So zeigten LOFTUS et al. (1994) sowie BRADLEY et al. (1996), dass die Aufspaltung der Zebus (*Bos indicus*) von der afrikanisch-europäischen Linie sehr weit zurück liegt und wahrscheinlich auf unabhängige Domestikationsereignisse aus verschiedenen Auerochsenpopulationen zurückzuführen ist. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die genetische Variabilität der heutigen Hausrinder im Bereich des Fruchtbaren Halbmondes, also dem vermuteten Domestikationszentrum der ersten Hausrinder, am größten ist. Diese Daten stützen die Theorie eines Exports von Tieren nach Mitteleuropa. Einen direkten Nachweis für den Ablauf der Neolithisierung können sie jedoch nicht geben. Seit wenigen Jahren erst laufen Versuche, Fragen der Haustiergeschichte direkt an vorgeschichtlichen Proben mittels der Analyse alter DNA (aDNA) zu erforschen. Die ersten Sequenzen neolithischer und bronzezeitlicher Auerochsen wurden Mitte der 1990er Jahre veröffentlicht (BAILEY et al. 1996). Es folgten Arbeiten zur Domestikation von Pferden und Ziegen an prähistorischem Material (LISTER et al. 1998; BAR-GAL et al. 2002). LALUEZA-FOX gelang es zeitgleich, Fragmente einer 6000 Jahre alten Probe des ausgestorbenen *Myotragus balearicus* zu sequenzieren (LALUEZA-FOX et al. 2000). Im Jahr zuvor rekonstruierten MACHUGH et al. (1999) die Herkunft von Hausrindern in einer frühmittelalterlichen Wikingersiedlung in Dublin. Die Forschungen an prähistorischen Rinderknochen zeigen im Vergleich mit rezenten Daten alle ein ähnliches Bild: die geringe genetische Variabilität der prähistorischen Hausrinder weist auf einen »bottleneck« bzw. eine bereits recht gleichförmige Gründerpopulation hin (TURNER et al. 1998; TROY et al. 2001). Überregionale Vergleiche mit rezenten Daten unterstützen dabei die Herkunft des Hausrindes aus dem Gebiet des Vorderen Orients. Eine systematische Bearbeitung neolithischer Knochenfunde entlang des möglichen Ausbreitungsweges, die zur genaueren Rekonstruktion der Entwicklung beitragen könnte, steht jedoch noch aus. Auch war es nach den bisherigen Untersuchungsergebnissen nicht möglich festzustellen, ob es ausschließlich einen Import von Rindern gab, oder ob es nicht doch auf dem weiteren Weg sekundäre Domestikationen oder Einkreuzungen von Auerochsen gab.

Methode

Proben

Eine Übersicht der bearbeiteten Fundorte zeigt Tabelle 1. Bei der Auswahl der Proben wurde darauf geachtet, eine Mehrfachbestimmung einzelner Individuen zu vermeiden. Da es sich bei den Proben aber meistens um Schlachtabfälle aus Siedlungsgruben handelt, ist dieser Umstand nicht mit gleicher Sicherheit wie etwa bei menschlichen Gräberfeldern, wo die Skelette einzeln im anatomischen Verband aufgefunden werden, zu erfüllen. Als Kriterien wurden u. a. aufgestellt, dass die Proben aus jeweils gleichen Knochen einer Körperseite stammen, verschiedene Größen bzw. Alter oder Geschlecht aufweisen oder aus verschiedenen Gruben oder Schichten stammen. Geographisch und zeitlich gesehen sollen Proben aus den Anfängen des Neolithikums vom Vorderen Orient über den Balkan bis nach Mitteleuropa untersucht werden. Die hier vorgestellten Ergebnisse zeigen erst den Anfang des Projektes und beschränken sich daher noch auf den mitteleuropäischen Raum.

Analysierte Genorte

Die Wahl eines geeigneten Genortes hängt in erster Linie von der Fragestellung ab. So lassen sich individuelle Daten, z. B. ein »genetischer Fingerabdruck« oder eine Geschlechtsbestimmung, nur mit Genorten auf den Chromosomen im Zellkern erlangen. Fragen zur Artbestimmung oder Populationsgenetik hingegen sind auch mit einem Teil des Genoms, der sich nicht im Zellkern, sondern in den Mitochondrien befindet, zu beantworten. Das mitochondriale Genom (mtDNA) ist im Gegensatz zur nuklearen DNA (ncDNA) nicht in Chromosomen organisiert, sondern ringförmig. Es wird angenommen, dass die Ringform der DNA eine größere Stabilität verleiht und sie daher besser erhalten bleibt als die nukleare DNA. Des Weiteren finden sich in einer Zelle oft mehrere tausende mitochondrialer Genome. Diese hohe Kopienzahl macht die mtDNA zu einem idealen Genort für Untersuchungen an alter DNA

(adNA), da die Wahrscheinlichkeit, noch intakte DNA zu finden, wesentlich höher ist als bei nuklearen Genorten. Im mitochondrialen Genom finden sich einige Gene, aber auch ein ca. 1100 Basenpaare (bp) langer Abschnitt, der nicht codierend ist. Diese so genannte Kontrollregion, oder auch d-loop, unterliegt daher keinem Funktionsdruck wie codierende Genabschnitte. Mutationen unterliegen hier keiner Selektion und machen das d-loop so zu der Region mit der größten Variabilität innerhalb der mtDNA. Aus diesen Gründen ist das d-loop sehr gut erforscht und der klassische Genort für populationsgenetische Fragestellungen, so dass man bereits auf eine Fülle von Daten für ein breites Spektrum an Spezies zurückgreifen kann. Eine Besonderheit der mtDNA ist, dass sie, bis auf wenige Ausnahmen, nur mütterlicherseits und damit ohne Rekombination vererbt wird. Mit Hilfe von mtDNA gewonnene Daten repräsentieren daher ausschließlich Matrilinearität, die sich aufgrund der fehlenden Rekombination über viele Generationen zurückverfolgen lassen. Auch in der vorliegenden Arbeit wurden mitochondriale Genorte im Bereich des d-loop verwendet. Es wurden drei Abschnitte, die insgesamt den Großteil der variablen Regionen abdecken, untersucht (im Folgenden werden die drei Fragmente als mt-Locus 1–3 bezeichnet). Jedes dieser Fragmente ist kürzer als 200bp, um sicherzustellen, dass auch stark degradierte DNA noch amplifiziert werden kann. Die Begrenzung eines zu untersuchenden Genortes erfolgt über Startermoleküle, so genannte Primer. Die hier verwendeten Primer und ihre Positionen sind in Tabelle 2 aufgelistet.

Ablauf der Analysen

Bei Knochenmaterial wurde der Bereich der Probenentnahme innerhalb der Kompakta gewählt, z. B. bei Langknochen in der Diaphysenmitte. Mit Hilfe einer Diamantsäge wird ein ca. 2 cm² großes Stück entnommen (zu Vorkehrungen gegen Kontaminationen vgl. unten). Das entnommene Probenstück wird pulverisiert und dekalzifiziert. Aus dem Überstand der dabei entstandenen Suspension wird mit Phenol/Chloroform und Filtersäulen die DNA isoliert und gereinigt. Das so ent-

Tab. 1: Bearbeitete Fundorte und ihre Zeitstellung (LBK – Linearbandkeramik).

| Fundort | Datierung | Anzahl erfolgreich bearbeiteter Proben | Fundortkürzel |
|---|----------------------|--|---------------|
| Eilsleben, Ldkr. Bördekreis | Früheste LBK | 4 von 4 | Eil |
| Quenstedt, Ldkr. Mansfelder Land | Bronzezeit | 1 von 1 | Que |
| Goddelau, Kr. Groß-Gerau | Älteste LBK | 3 von 3 | God |
| Nieder Mörlen, Kr. Friedberg | Ältere LBK | 4 von 5 | Nmr |
| Trebur, Kr. Groß-Gerau | Mittelneolithikum | 2 von 2 | Tre |
| Viesenhäuser Hof, Stuttgart-Mühlhausen | jüngere-mittlere LBK | 4 von 8 | Vie |
| Hilzingen, Kr. Konstanz | LBK | 0 von 3 | Hil |
| Svodin, Slowakei | Spätneolithikum | 4 von 4 | Svo |
| Orlovez, Bulgarien | Frühestes Neolith. | 0 von 2 | Orl |

Tab. 2: Mitochondriale Primer. Für den mt-Locus 3 gibt es zwei verschiedene untere Primer, so dass sich je nach Kombination mit dem oberen Primer unterschiedliche Produktlängen ergeben.

| Genort | Primer* | Sequenz (5'-3') | Produktlänge |
|-----------|-----------|-------------------------------------|--------------|
| mtLocus 1 | BosH15902 | gca ccc taa cca aat att aca aac ac | 173 bp |
| | BosL16024 | gtc atg tac ttg ctt ata tgc atg gg | |
| mtLocus 2 | BosH16040 | tat gcc cca tgc ata taa gca a | 156 bp |
| | BosL16153 | cgg cat ggt aat taa gct cgt g | |
| mtLocus 3 | BosH16184 | tac cat gcc gcg tga aac ca | 129 bp |
| | BosL16272 | tga gat ggc cct gaa gaa aga a | |
| | BosL16313 | tcc atc gag atg tct tat tta aga gga | |

* Die Namen entsprechen der Position des 3'-Endes, die Positionen beziehen sich auf die Zählweise des GenBank-Eintrags mit der Accession-No.: NC 001567.

standene Extrakt wird in die PCR (Polymerase-Kettenreaktion) eingesetzt. Mit Hilfe der PCR werden die sehr geringen Mengen alter DNA zu nachweisbaren Quantitäten vervielfältigt. Der Erfolg der PCR kann mit einer Agarosegel-Elektrophorese überprüft werden. Bei einer guten Amplifikation ist die DNA unter UV-Licht als deutliche Bande im Gel sichtbar. Anschließend wird die DNA mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert. Jede der vier Basen der DNA wird dabei durch eine andere Farbe repräsentiert. Die markierte DNA wird während einer Elektrophorese von einem Laser angeregt, die emittierenden Lichtsignale werden von einer CCD-Kamera registriert und als verschiedenfarbige Peaks auf einem Monitor dargestellt. Auf diese Weise kann die Sequenz lesbar gemacht werden. Computergestützt können alle Sequenzen untereinander ausgewertet und auch mit den Datenbanken im Internet (GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) verglichen werden. Bei einigen Stichproben werden nach der PCR zusätzlich noch Klonierungen durchgeführt. Durch die Klonierung können die DNA-Stränge, die bei der PCR entstanden sind, einzeln aufgetrennt und sequenziert werden. Dies hat den Vorteil, dass einzelne Unterschiede in den Sequenzen oder Kontaminanten im Hintergrund isoliert werden können.

Vorkehrungen gegen Kontaminationen und Nachweis der Authentizität

Eine häufig geäußerte Kritik an aDNA-Analysen ist die Gefahr durch moderne Kontaminationen. Strenge Reinlichkeits- und Kontrollstandards sind daher notwendig. Die Labors der Arbeitsgruppe Molekulare Archäologie des Instituts für Anthropologie der Universität Mainz sind ausschließlich für die Bearbeitung alter Proben und deren besondere Anforderungen nach internationalen Maßstäben eingerichtet worden. In der Praxis bedeutet dies, dass die Labore des Prä-PCR-Bereichs weitmöglichst gegen die Außenwelt isoliert werden und das Personal nur durch eine Schleuse, in der die Straßenkleidung gegen Schutzanzüge ausgetauscht wird, in das Labor gelangen kann. Alle Materialien und Proben werden vor der Bearbeitung mit UV-Licht be-

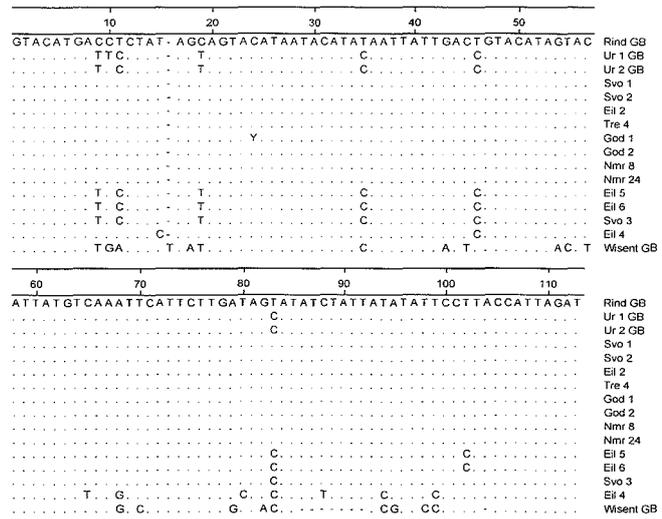
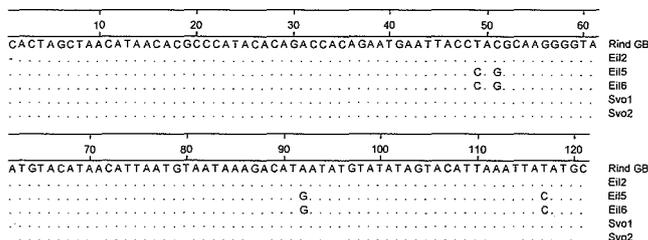
strahlt, um Oberflächenkontaminationen zu entfernen. Während der Nacht werden zusätzlich sämtliche Laborräume mit UV-Licht bestrahlt. Nach der Bestrahlung wird die äußere Knochenoberfläche der Probe entfernt und diese erneut bestrahlt. Auf diese Weise soll vermieden werden, dass Kontaminationen durch vorhergehende Bearbeiter (z.B. durch Archäologen und Archäozoologen) an der Probe haften bleiben. Diese Prozedur ist nötig, da der ideale Weg, nämlich dass Knochenmaterial schon bei der Grabung mit entsprechenden Schutzvorkehrungen zu bergen, meistens nicht eingehalten wird oder eingehalten werden kann. Vor und nach jeder Bearbeitung einer Probe werden Arbeitsplätze und Werkzeuge mit UV-bestrahltem Wasser, Seife und Chlorreiniger gesäubert. Eine weitere mögliche Quelle für Kontaminationen sind Laborchemikalien und -disposalien. Sollte es trotz umfangreicher Schutzvorkehrungen zu einer Kontamination kommen, gibt es verschiedene Maßnahmen, diese zu erkennen. So werden bei allen Arbeitsschritten so genannte Leerkontrollen, die keine DNA enthalten, mitgeführt. Bei Bearbeitung menschlicher Proben sind zusätzlich alle Genotypen der Mitarbeiter bekannt und können bei eventuellen Verunreinigungen identifiziert werden. Bei den Analysen an Rinderproben wurde Wert darauf gelegt, dass die Primer nicht auf menschliche DNA passen, so dass eventuelle Kontaminationen durch Bearbeiter nicht amplifiziert werden können. Nach der Amplifikation der DNA durch die PCR sind die Proben unempfindlich gegenüber Kontaminationen und können wie moderne Proben weiterbehandelt werden. Um eine Kontamination der unbearbeiteten Proben mit PCR-Produkten zu vermeiden, sind der Prä- und Post-PCR Bereich in verschiedenen Gebäuden untergebracht. Beide Bereiche sind durch eine strenge Einbahnstraßenregelung getrennt. Ein zweimaliges Betreten des Spurenlabors am selben Tag ist nicht möglich. Dies ist erst am nächsten Tag nach Duschen und Kleiderwechsel gestattet. Ebenso wichtig wie die Kontaminationsvorbeugung ist der Authentizitätsnachweis der Ergebnisse, d.h., jedes Ergebnis muss reproduzierbar sein. Daher werden von jeder Probe zwei unabhängige Extraktionen durchgeführt, und jedem Extrakt folgen

mindestens zwei Amplifikationen. Auf diese Weise erhält man von jeder Probe vier Ergebnisse, die alle übereinstimmen müssen. Einige Stichproben werden zusätzlich noch kloniert, um die Homogenität des PCR-Produkts zu überprüfen. Bei den im Rahmen dieser Studie durchgeführten Analysen konnten keine Kontaminationen beobachtet werden.

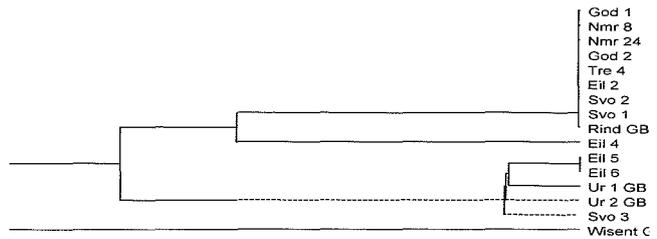
Ergebnisse

Bisher wurde aus 22 Proben von sieben Fundorten erfolgreich DNA amplifiziert (vgl. Tab. 1). Von den Fundorten Hilzingen und Orlovez (Bulgarien) konnte bislang keine DNA amplifiziert werden. Im Folgenden werden nur Ergebnisse vorgestellt, die bereits vollständig reproduziert werden konnten. Mit dem mt-Locus 1 sind bereits fünf Proben untersucht (Abb. 1). Von diesem Fragment sind bislang noch keine Sequenzen von Auerochsen veröffentlicht. Verglichen zu der Sequenz einer modernen Rinderprobe sind die alten Hausrinder identisch, wohingegen die Auerochsen in vier Positionen abweichen. Alle Proben entsprechen hier der morphologischen Speziesbestimmung. Ein ähnliches Bild zeigt sich bei dem zweiten Locus (Abb. 2A). Auch hier entsprechen die archäologischen Rinderproben dem abgebildeten heutigen Haplotyp. Von diesem Locus sind bereits vier Auerochsensequenzen aus Großbritannien veröffentlicht (BAILEY et al. 1996; TROY et al. 2001). Die Auerochsen weichen an mindestens fünf Positionen ab (Position 9, 11, 19, 35, 46), jedoch zeigen sich zwei weitere Haplotypen: ein Auerochse aus Großbritannien (Ur1, Abb. 2A) besitzt an der Position 10 eine Abweichung, und die Proben Eil5 und Eil6 zeigen an der Position 83 eine weitere Variabilität. Auffällig ist die Sequenz der Probe Eil4, welche sich weder dem Hausrind noch dem Auerochsen zuordnen lässt. Als Vergleich wird noch die Sequenz eines rezenten Wisents dargestellt, die aber ebenfalls keine Ähnlichkeit zu Eil4

Abb. 1: Sequenzen des mt-Locus 1. Die Sequenzen sind im Vergleich zu einem modernen Hausrind gezeigt (Rind). Es sind nur die abweichenden Basen dargestellt, identische Positionen sind durch einen Punkt repräsentiert. Die Proben sind mit Fundortkürzeln (s. Tab. 1) und laufenden Nummern versehen. Die rezente Sequenz stammt aus GenBank (GB, Accession-No. Rind: NC-001567). Die alten Hausrinder (Eil2, Svo1 und Svo2) sind identisch mit der modernen Sequenz, bei den Auerochsen (Eil5 und Eil6) zeigen sich vier abweichende Basenpaare.



A



B

Abb. 2: Ergebnisse am mt-Locus 2 (A). Für diesen Locus sind bereits zwei Haplotypen vom Ur bekannt (Ur1, Ur2, GB = GenBank, Accession-No.: Rind: NC-001567, Ur1: AF336745, Ur2: AF336746, Wisent: AF083356). Die Proben Eil5, Eil6 und Svo3 sind mit den Sequenzen vom Ur weitgehend identisch. Das Ähnlichkeitscluster der Ergebnisse (B) zeigt, dass alle Hausrinder und Auerochsen jeweils eine Gruppe bilden. Die Probe Eil4 liegt außerhalb der beiden Gruppen, jedoch näher zu den Hausrindern (weitere Erläuterungen im Text).

aufweist. Ein Vergleich der Eil4-Sequenz mit den Datenbankeinträgen (GenBank) ergab, dass die Probe schon der Gattung *Bos* angehört, aber keine bereits bekannte Sequenz mit ihr vollständig übereinstimmt. Morphologisch wurde die Probe Eil4 als Auerochse bezeichnet. Abgesehen von dieser Probe sind jedoch alle übrigen Sequenzen deutlich als Auerochsen (Eil5 und 6, Svo3) oder als Hausrinder (Svo1 und 2, Eil2, Tre4, God1 und 2, Nmr8 und 24) identifizierbar. Dieselben Daten sind in Abbildung 2B als Ähnlichkeitscluster dargestellt. Die Hausrinder und Auerochsen bilden hier jeweils eine Gruppe, die Probe Eil4 steht allein, jedoch näher zu den Hausrindern als zu den Auerochsen. Der Wisent ist von den anderen Spezies am weitesten entfernt. Auch im mt-Locus 2 entsprechen alle Proben der morphologischen Speziesbestimmung, lediglich die Probe Svo3 zeigt den Genotypen eines Auerochsen, während sie morphologisch als Hausrind identifiziert wurde. Die Ergebnisse des dritten Locus fügen sich insgesamt in das bisher gewonnene Bild (Abb. 3A). Wie bereits beim mt-Locus 1 gibt es auch für das dritte Produktfragment noch keine veröffentlichte Sequenz eines

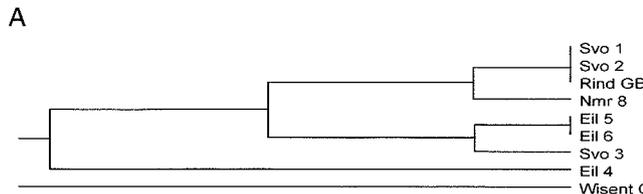
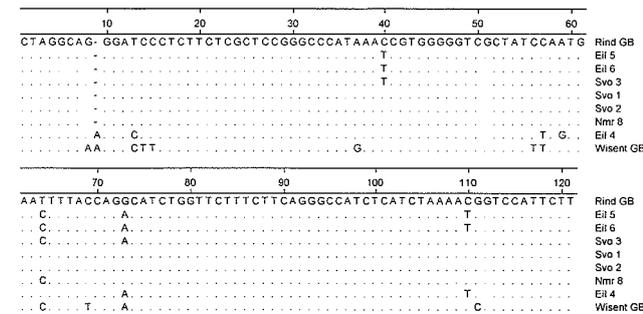
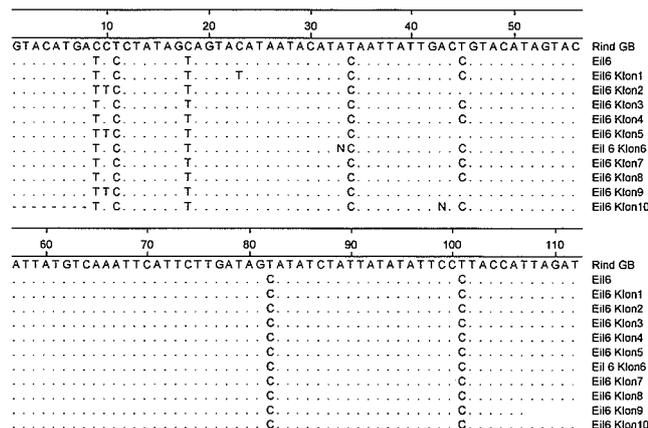


Abb. 3: Ergebnisse am mt-Locus 3 (A; GB = GenBank, Accession-No.: Rind: NC-001567, Wisent: AF083356). Auch hier sind die alten Hausrinder (Svo1, Svo2, Nmr8) mit der modernen Sequenz identisch. Für diesen Locus sind noch keine Aurochsdaten bekannt. Die Aurochsproben weichen an drei (Svo3) bzw. an vier (Eil5, Eil6) Positionen von der Hausrindsequenz ab. Das Ähnlichkeitscluster der Ergebnisse (B) zeigt, dass alle Hausrinder und Aurochs jeweils eine Gruppe bilden. Die Probe Eil4 liegt diesmal nicht näher am Rind, sondern außerhalb der beiden Gruppen.

Aurochs. Auch hier sind die Hausrinder untereinander weit gehend homogen, einzig die Probe Nmr8 zeigt an der Position 64 eine Abweichung. An dieser Stelle weist die Probe Nmr8 nicht ein T, wie bei den anderen

Abb. 4: Ergebnisse der Klonierung eines PCR-Produktes der Probe Eil6. Die dargestellten Sequenzen stammen von dem mt-Locus 2 und wurden wie bei den vorherigen Abbildungen mit einer modernen Hausrindsequenz verglichen. In der zweiten Zeile ist das Ergebnis der direkten Sequenzierung zu sehen, darunter folgen zehn Klone aus demselben PCR-Ansatz. Die Mehrheit der Klone entspricht der direkten Sequenzierung (Klone 3, 4, 6, 7, 8 und 10). Bei Klon 2 zeigt sich an Position 23 ein T anstelle eines C, bei den Klonen 2, 5 und 9 ist an den Positionen 10 und 45 ein T eingefügt (weitere Erläuterungen im Text).



Hausrindern, sondern ein C wie bei den Aurochs auf. Letztere unterscheiden sich insgesamt an drei Stellen (Position 40, 64, 73) von den Hausrindern, die Proben Eil5 und 6 haben sogar eine weitere Abweichung (Position 110). Wie bereits beim mt-Locus 2 ist auch hier die Probe Eil4 völlig andersartig und keiner der anderen Spezies eindeutig zuzuordnen. Ein Ähnlichkeitscluster dieser Sequenzen (Abb. 3B) ergibt das gleiche Bild wie bereits Abbildung 2B, jedoch steht die Probe Eil4 hier näher zu den Aurochs als zu den Hausrindern. Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass die Hausrinder in allen drei Loci untereinander identisch sind, mit Ausnahme der Probe Nmr8 im dritten Locus. Ähnlich ist die Situation unter den Aurochs, auch wenn hier die Variabilität etwas höher liegt. Von der Probe Eil6 werden hier exemplarisch auch die Ergebnisse der Klonierung vorgestellt (Abb. 4). Es zeigen sich bei manchen Klonen einzelne Abweichungen in der Sequenz, jedoch sind weder Kontaminanten mit moderner DNA noch potentielle nukleare Insertionen sichtbar.

Diskussion

Die vorgestellten Ergebnisse zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den Sequenzen von Hausrindern und Aurochs. Die drei mitochondrialen Loci sind geeignete Genorte, um zwischen den beiden Gruppen zu unterscheiden. Auffallend ist jedoch, dass die Variabilität innerhalb der beiden Gruppen sehr gering ist. Das d-loop ist ein populationsgenetisch bekannter Locus, bei dem die meisten Arten über eine Vielzahl unterschiedlicher Haplotypen verfügen. Dies trifft auch auf rezente Hausrindrassen zu. Die geringe Variabilität der neolithischen Hausrinder deutet auf einen so genannten »bottleneck« hin, d.h., die Gründerpopulation der untersuchten Tiere muss sehr klein gewesen sein. Dieses Ergebnis entspricht den Beobachtungen anderer Arbeitsgruppen (TURNER et al. 1998; TROY et al. 2001). Bei den Aurochs zeigt sich eine ähnliche Situation. Zusammen mit den bereits veröffentlichten Daten wird deutlich, dass die Aurochs von Großbritannien bis in die Slowakei und zeitlich vom frühen Neolithikum bis in die Bronzezeit kaum Variabilitäten aufweisen. Eine nahe liegende Erklärung dafür ist sicherlich die letzte Eiszeit, deren Maximalvereisung um 18000 BP zu einer reduzierten Vielfalt der überlebenden Aurochspopulation geführt hat. Sollten also aus den europäischen Aurochs Hausrinder domestiziert worden sein, würden beide Gruppen genetisch sehr einheitlich erscheinen, weil bereits die Ausgangspopulation der Aurochs keine hohe Variabilität aufweist. Die hier vorgestellten bisherigen Ergebnisse lassen Zweifel an einer sekundären Domestikation in Mitteleuropa zu. Sollten die Hausrinder von mitteleuropäischen Aurochs abstammen, wäre eine große Übereinstimmung der mitochondrialen Sequenzen beider Gruppen zu erwarten. Aufgrund der fehlenden Rekombination der DNA bleiben die Matrilinearitäten über viele Generationen hinweg er-

halten und sollten zumindest zu Beginn des Neolithikums kaum von denen der Auerochsen zu unterscheiden sein. Für eine abschließende Bewertung wird es jedoch nötig sein, die Hausrindsequenzen mit den Daten der möglichen Ursprungspopulation, also meso- oder neolithischen Auerochsen aus dem Nahen Osten, zu vergleichen. Die Probe Eil4 weist in den mt-Loci 2 und 3 stark abweichende Sequenzen auf (Abb. 2 u. 3). Ein Vergleich mit den Datenbanken zeigt, dass es sich nicht etwa um eine andere Spezies handelt, sie ist bislang nur nicht eindeutig zuzuordnen. Dabei sind verschiedene Erklärungsmöglichkeiten denkbar (z.B. nukleare Insertionen, unspezifische PCR-Produkte, postmortale Sequenzveränderungen), die in Zukunft noch überprüft werden müssen. Dass es sich einfach um einen Vertreter einer anderen Population handelt, ist insofern unwahrscheinlich, als die beiden anderen Auerochsen aus Eilsleben keine auffällige Sequenz zeigen. Die Ergebnisse der Klonierung der Probe Eil6 (Abb. 4) zeigen deutlich, dass es sich um ein kontaminationsfreies PCR-Produkt handelt. Abweichungen an einzelnen Basen bei der Ergebnisreproduktion (z.B. Auftreten von Thymin anstelle von Cytosin) sind häufig bei alter DNA zu beobachten. Als mögliche Ursachen sind zum einen Fehler in der PCR zu nennen, zum anderen handelt es sich eventuell um Deaminierungen von Cytosin (HOFREITER et al. 2001), d.h. eine liegemilieubedingte Modifikation einzelner Basen. Bei diesem Phänomen ist es nötig, dass die Sequenzen sorgfältig reproduziert und kloniert werden, um entscheiden zu können, welche der Sequenzen nun die authentische ist. So ist z.B. auffällig, dass die Klone 2, 5 und 9 an der Position 10 ein T anstelle eines C haben. Bei dem Ur1 ergibt sich hier ein weiterer Haplotyp (Abb. 2), der möglicherweise noch einmal überprüft werden sollte. Ein weiterer Diskussionspunkt ist die Diskrepanz zwischen morphologischer und genetischer Speziesidentifikation. So wurde die Probe Svo3 morphologisch als Hausrind, genetisch dagegen als Auerochse bestimmt. Dies konnte auch noch bei zwei weiteren Proben aus anderen Fundorten beobachtet werden, die jedoch wegen noch ausstehender Reproduktion hier nicht gezeigt sind. Die unterschiedliche Bestimmung muss jedoch keinen methodischen Fehler darstellen, da es sich bei der mitochondrialen DNA ja nur um den mütterlichen Genotyp handelt. Im Falle der Probe Svo3 ist es also denkbar, dass das Tier eine Auerochsen-Mutter und einen Hausrind-Vater hatte, auch wenn dies eine eher unwahrscheinliche Konstellation ist. Das Tier könnte dann phänotypisch einem Hausrind und genotypisch einem Auerochsen entsprechen. Solche Introgressionen lassen sich aber durch mtDNA allein nicht erkennen. Hierfür ist die zusätzliche Bearbeitung nuklearer Genorte notwendig. Eine andere Erklärung könnte der Sexualdimorphismus geben, der eine deutliche Trennung der beiden Spezies von morphologischer Seite nicht zulässt. In diesem Fall wäre eine molekulare Geschlechtsbestimmung der Proben nötig, die ebenfalls mit nuklearen Markern vorgenommen werden könnte.

Aussichten

Auf der Basis der hier vorgestellten Ergebnisse aus Mitteleuropa werden in einem nächsten Schritt Proben aus den möglichen Ursprungsregionen der Rinder und entlang der entsprechenden Ausbreitungswege analysiert. Zurzeit bearbeiten wir Knochenmaterial von der Balkanhalbinsel und aus dem Nahen Osten. Da die Variabilität der mitochondrialen Genorte zu gering ist, um die Populationen feiner zu unterscheiden, werden nun auch nukleare Genorte hinzugezogen. Mit Hilfe der Kern-DNA wäre es dann auch möglich, die Frage nach Introgressionen bzw. Hybriden zwischen Auerochse und Hausrind zu beantworten. Auf diese Weise können auch die väterlichen Linien rekonstruiert werden. Mit einem zusätzlichen Marker sollen alle Proben einer Geschlechtsbestimmung unterzogen werden, um dem Problem der möglichen morphologischen Fehlbestimmung durch Sexualdimorphismen nachzugehen. Wir glauben, dass wir mit diesen Daten einen wichtigen Beitrag zur Rekonstruktion des Neolithisierungsprozesses auch im Hinblick auf mögliche (sekundäre) lokale Domestikationszentren und zur Einkreuzung von heimischen Auerochsen leisten können.

Zusammenfassung

Die Herkunft der ersten mitteleuropäischen Hausrinder ist nach wie vor nicht völlig geklärt. Die Theorie eines Imports aus dem Vorderen Orient im Zuge der Neolithisierung wird in dem vorgestellten Projekt von molekulargenetischer Seite erforscht. Die Analysen wurden direkt an neolithischen Knochenfunden von Hausrindern und Auerochsen durchgeführt und sollen Auskunft darüber geben, inwiefern Import oder autochthone Domestikation in Mitteleuropa eine Rolle gespielt haben. Es werden erste mitochondriale Sequenzen mitteleuropäischer Hausrind- und Auerochsenknochen verschiedener Fundorte vorgestellt, die eine deutliche genetische Trennung der beiden Gruppen aufzeigen. Innerhalb einer Gruppe zeigen die Sequenzen jedoch kaum Variabilität. Diese Ergebnisse geben deutliche Hinweise auf eine kleine, importierte Gründerpopulation der neolithischen Hausrinder in Mitteleuropa. Zugleich ist auch bei den Auerochsen ein »bottleneck« sichtbar.

Summary

The origin of the first domestic cattle in Central Europe is not yet completely resolved. The project presented here employs molecular genetics to test the hypothesis that cattle were imported from the Near East during the neolithic. The analyses were carried out directly on Neolithic bones from domestic cattle and wild oxen and provides information about the impact of import or autochthonous cattle domestication in Central Europe. We will present our first mitochondrial sequences from

Neolithic bones of Central and Eastern European cattle and aurochs. The results indicate a clear genetic separation of the two groups, though the sequences within each group reveal minimal variability. These data support the hypothesis of an import of domestic cattle in Central Europe during the Neolithic and reveal a bottleneck for the aurochs as well.

Danksagung

Wir danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Finanzierung des Projekts. Für die Bereitstellung der Proben möchten wir Norbert Benecke (Deutsches Archäologisches Institut, Berlin), Hans-Jürgen Döhle (Landesamt für Archäologie Sachsen-Anhalt), Jens Lüning (Institut für Vor- und Frühgeschichte, Universität Frankfurt), Sabine Schade-Lindig (Landesamt für Denkmalpflege Hessen), Elisabeth Stephan (Denkmalpflegeamt Baden-Württemberg) und Hans-Peter Uerpmann (Institut für Ur- und Frühgeschichte, Universität Tübingen) herzlich danken.

Anschriften der Verfasser:

Dipl.-Biol. Ruth Bollongino, Dr. Joachim Burger, Prof. Dr. Kurt W. Alt
Molekulare Archäologie
Institut für Anthropologie
Universität Mainz
Colonel Kleinmann Weg 2
D-55099 Mainz
Tel: +496131-3923574, Fax: +496131-3923,
e-mail: rbollongino@web.de

Literatur

- BAILEY J. F., M. B. RICHARDS, V. A. MACAULAY, I. B. COLSON, I. T. JAMES, D. G. BRADLEY, R. E. HEDGES & B. C. SYKES (1996): Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species. *Proceedings of the Royal Society of London B – Biological Science* 263, 1467–1473.
- BAR-GAL, G. K., H. KHALAILY, O. MADER, P. DUCOS & L. K. HORWITZ (2002): Ancient DNA Evidence for the Transition from Wild to Domestic Status in Neolithic Goats: A case study from the site of Abu Gosh, Israel. *Ancient Biomolecules* 4, 9–17.
- BENECKE, N. (1994): *Der Mensch und seine Haustiere. Die Geschichte einer jahrtausendealten Beziehung*. Stuttgart: Theiss.
- BRADLEY, D. G., D. E. MACHUGH, P. CUNNINGHAM & R. T. LOFTUS (1996): Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A.* 93, 5131–5135.
- GRONENBORN, D. (1999): A Variation on a Basic Theme: The Transition to Farming in Southern Central Europe. *Journal of World Prehistory* 13 (2), 123–210.
- HOFREITER, M., V. JAENICKE, D. SERRE, A. A. HAESLER & S. PÄÄBO (2001): DNA sequences from multiple amplifications reveal artifacts induced by cytosine deamination in ancient DNA. *Nucleic Acids Research* 29, 4793–4799.
- LALUEZA-FOX, C., J. BERTRANPETIT, J. A. ALCOVER, N. SHAILER & E. HAGELBERG (2000): Mitochondrial DNA from *Myotragus balearicus*, an extinct bovid from the Balearic Islands. *Journal of Experimental Zoology* 288 (1), 56–62.
- LISTER, A. M., M. KADWELL, L. M. KAAGAN, W. C. JORDAN, M. RICHARDS & H. F. STANLEY (1998): Ancient and Modern DNA in a Study of Horse Domestication. *Ancient Biomolecules* 2, 267–280.
- LOFTUS, R. T., D. E. MACHUGH, L. O. NGERE, D. S. BALAIN, A. M. BADI, D. G. BRADLEY & E. P. CUNNINGHAM (1994): Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations. *Animal Genetics* 25, 265–271.
- LÜNING, J. (2000): *Steinzeitliche Bauern in Deutschland – die Landwirtschaft im Neolithikum*. Bonn: Rudolf Habelt.
- MACHUGH, D. E., C. S. TROY, F. MCCORMICK, I. OLSAKER, E. EYTHORSDDOTTIR & D. G. BRADLEY (1999): Early medieval cattle remains from a Scandinavian settlement in Dublin: genetic analysis and comparison with extant breeds. *Philosophical Transactions: Biological Sciences* 354, 99–108.
- PRICE, T. D., R. A. BENTLEY, J. LÜNING, D. GRONENBORN & J. WAHL (2001): Prehistoric human migration in the Linearbandkeramik of Central Europe. *Antiquity* 75, 593–603.
- TROY, C. S., D. E. MACHUGH, J. F. BAILEY, D. A. MAGEE, R. T. LOFTUS, P. CUNNINGHAM, A. T. CHAMBERLAIN, B. C. SYKES & D. G. BRADLEY (2001): Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410, 1088–1091.
- TURNER, C. L., A. GRANT, J. F. BAILEY, G. A. DOVER & W. W. BARKER (1998): Patterns of Genetic Diversity in Extant and Extinct Populations: Evidence from Sequence Analysis of Mitochondrial Coding Regions. *Ancient Biomolecules* 2, 235–249.