

**Die Populationsgenetik des Steinkauzes  
(*Athene noctua*)  
in Süddeutschland  
und angrenzenden Gebieten**

**Diplomarbeit**

angefertigt an der Fakultät für Biologie  
der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg  
im Fachbereich für Ökologie und Evolutionsbiologie der Tiere



vorgelegt von

**Johanna Hurst**

im Dezember 2009

Betreuer: PD Dr. H. Martin Schaefer

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>7</b>
2.1	Biologie des Steinkauzes .....	7
2.2	Untersuchungsgebiete.....	8
2.3	Probennahme .....	9
2.4	Extraktion der DNA .....	10
2.5	Mikrosatelliten.....	11
2.5.1	Eigenschaften von Mikrosatelliten .....	11
2.5.2	Entwicklung des Markersystems und Genotypisierung .....	12
2.6	Genetische Geschlechtsbestimmung .....	14
2.7	Auswertung.....	16
2.7.1	Test der polymorphen Primer auf Nutzbarkeit für die Analysen .....	16
2.7.2	Genetische Diversität.....	17
2.7.3	Test auf Populationsrückgang und Flaschenhals.....	18
2.7.4	Genetische Differenzierung.....	18
2.7.5	Individuenbasierte räumliche Struktur .....	20
2.7.6	Isolation durch Distanz.....	21
2.7.7	Geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten.....	22
2.7.8	Genfluss.....	23
2.7.9	Verwandtschaftsanalysen .....	23
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>25</b>
3.1	Genotypisierung .....	25
3.2	Test der verwendeten Marker .....	25
3.3	Geschlechtsbestimmung .....	27
3.4	Genetische Diversität.....	27
3.5	Test auf Populationsrückgang und Flaschenhals.....	27
3.6	Genetische Differenzierung.....	29
3.7	Individuenbasierte räumliche Struktur .....	31
3.8	Isolation durch Distanz.....	33
3.9	Geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten.....	33
3.10	Genfluss.....	34
3.11	Verwandtschaftsanalysen .....	36

---

<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>37</b>
4.1	Genetische Diversität und Inzucht.....	37
4.2	Genfluss und Metapopulation.....	40
4.3	Brutsystem.....	47
4.4	Implikationen für den Schutz des Steinkauzes.....	49
4.5	Ausblick.....	50
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>62</b>
<b>8</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>63</b>
	<b>Erklärung .....</b>	<b>69</b>

## 1 Einleitung

Immer mehr Arten sind weltweit vom Aussterben bedroht, weil ihr Lebensraum zerstört oder fragmentiert wird (Primack 2008). Während Habitatverlust die Populationsgrößen direkt reduziert, führt Habitatfragmentierung zur Isolation kleiner Populationen. Kleine, isolierte Populationen sind stark gefährdet, da sie anfällig für stochastische Effekte sind. Zufällige oder umweltbedingte Schwankungen in den Geburts- und Sterberaten lassen kleine Populationen rasch aussterben. Zudem führt die zufällige Verschiebung von Allelfrequenzen, die genetische Drift, schnell zum Verlust von Allelen und zu einer verringerten genetischen Diversität in kleinen Populationen (Frankham et al. 2002). Auch Inzucht, die Paarung zwischen Verwandten, ist bei geringen Populationsgrößen wahrscheinlich und vermindert die genetische Diversität zusätzlich (Allendorf & Luikart 2007). Eine geringe genetische Diversität führt kurzfristig zu einem verminderten Reproduktionserfolg der Individuen (Reed & Frankham 2003), langfristig verringert sie die Anpassungsfähigkeit von Populationen an veränderte Umweltbedingungen (Frankham et al. 2002). Das Ausmaß der genetischen Diversität einer Population kann deshalb als Maß für ihre Überlebensfähigkeit dienen.

Das Ausmaß der genetischen Diversität einer Population wird beeinflusst durch den Genfluss mit anderen Populationen. Migration zwischen Populationen sorgt dafür, dass genetische Diversität erhalten bleibt und Inzucht vermieden wird. Dadurch sinkt das Aussterberisiko kleiner Populationen (Frankham et al. 2002). Oft ist es der Fall, dass der Genfluss nur von einer großen Quellenpopulation ausgeht, von der Individuen in so genannte Senkenpopulationen mit geringen Reproduktionsraten abwandern (Dias 1996). Quellenpopulationen müssen besonders geschützt werden, da die Senkenpopulationen von den Migranten abhängig sind. Genfluss zwischen Populationen kann zudem die Wiederbesiedlung unbesetzter Habitatfragmente ermöglichen. Ein System aus Populationen, in dem nach lokalen Aussterbeereignissen unter den richtigen Bedingungen eine schnelle Wiederbesiedlung erfolgt, wird Metapopulation genannt (Levins 1969, Hanski 1999). Wiederbesiedlungen können ausbleiben, wenn die Geschlechter unterschiedlich weit abwandern (Proctor et al. 2005). Bei Vögeln legen oft die Weibchen weitere Distanzen zurück (Greenwood 1980, Clark et al. 1997). Dies kann dazu führen, dass Weibchen in unbesiedelten Gebieten keinen Partner finden. Um die Gefährdung räumlich getrennter Populationen zu beurteilen, ist es wichtig, Muster des Genflusses zu kennen und die Wahrscheinlichkeit von Wiederbesiedlungen einschätzen zu können.

Entscheidend dafür, wie schnell genetische Diversität in einer Population verloren geht, ist die effektive Populationsgröße. Diese entspricht der Individuenzahl, die in einer idealen Population das Ausmaß des Verlustes von genetischer Diversität erklären würde (Frankham et al. 2002). Je kleiner sie ist, desto schneller geht genetische Diversität verloren. Die effektive Populationsgröße wird unter anderem durch einen unterschiedlichen Fortpflanzungserfolg der Individuen einer Population beeinflusst. In polygamen Paarungssystemen sind die Fitnessunterschiede zwischen den Individuen oft groß. Dadurch wird die effektive Populationsgröße erheblich vermindert (Bouteiller & Perrin 2000). Besonders bei Vögeln sind die sozialen Väter, die die Brutpflege übernehmen, oft nicht die genetischen Väter (Griffith et al. 2002). Dabei kommt es zu erheblichen inter- und intraspezifischen Unterschieden im Anteil der Fremdvaterschaften (Petrie & Kempenaers 1998). Eine Analyse der genetischen Vaterschaften ist hilfreich, um einschätzen zu können, wie groß die effektiven Populationsgrößen einer Art sind.

Das Migrations- und Paarungsverhalten einer Art lässt sich mit molekularbiologischen Methoden untersuchen. Am häufigsten werden dabei Mikrosatelliten verwendet (Selkoe & Toonen 2006, Allendorf & Luikart 2007). Mikrosatelliten sind aufgrund einer hohen Mutationsrate polymorph und haben einen kodominanten Erbgang, wodurch die Schätzung von Allelfrequenzen möglich wird (Knippers 2006). Die Isolation einer Population wird innerhalb weniger Generationen durch eine Verschiebung der Allelfrequenzen sichtbar (Allendorf & Luikart 2007). Deshalb können Mikrosatellitenanalysen Muster des Genflusses und Effekte von Habitatfragmentierung aufdecken. Zudem eignen sich Mikrosatelliten aufgrund ihrer Polymorphie für die Analyse von Verwandtschaftsverhältnissen (Freeland 2005). Für den Artenschutz werden Studien mit Mikrosatelliten deshalb immer bedeutender.

Der Steinkauz (*Athene noctua*) ist ein Beispiel für eine Art, die in Mitteleuropa stark unter Habitatverlust und -fragmentierung leidet. In Deutschland gilt er mit einem Restbestand von 6000 Brutpaaren als stark gefährdet (Bundesamt für Naturschutz 1998, BirdLife International 2004). Der Steinkauz bevorzugt offenes Land mit ganzjährig niedriger Vegetation. Typischerweise ist er auf Streuobstwiesen anzutreffen, wo er in den Höhlen alter Bäume geeignete Nistmöglichkeiten findet. Die Intensivierung der Landwirtschaft hat im zwanzigsten Jahrhundert größtenteils zum Verlust dieses Biotop-typs geführt (Schönn et al. 1991, Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In den letzten Jahren wurden vielerorts Projekte zum Schutz des Steinkauzes ins Leben gerufen. So hat das Anbringen von Nistkästen und Biotoppflege durch Mähen in einigen Gegenden zu einer Erholung des Bestandes geführt (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Da der Schutz des

Steinkauzes aber oft nur lokal stattfindet, sind die noch verbleibenden Steinkauzbestände räumlich getrennt.

Trotz seiner Gefährdung beschäftigten sich bisher wenige Studien mit dem Migrations- und Paarungsverhalten des Steinkauzes. Es ist weitgehend unbekannt, wie stark die räumlich isolierten Populationen durch Genfluss verbunden sind. Daten von wieder gefangenen beringten Vögeln deuten darauf hin, dass Steinkäuze bei der Abwanderung in der Lage sind große Distanzen zu überwinden (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Schätzungsweise 5 % der Jungvögel legen Strecken von über 100 km zurück. Trotz solcher Abwanderungsdistanzen verlaufen Wiederbesiedlungen schleppend (BirdLife Schweiz 2004). Es gibt Hinweise auf geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten, so entfernten sich in drei Studien die Weibchen etwa doppelt so weit vom Geburtsort wie die Männchen (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Das genetische Paarungssystem des sozial monogamen Steinkauzes wurde bereits in einer Population in Nordrhein-Westfalen untersucht (Müller et al. 2001). Dabei konnten keine Fremdvaterschaften nachgewiesen werden. Unklar ist aber, ob dies für alle Populationen gilt.

Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe eines neu entwickelten Mikrosatellitenmarkersystems die Populationsstrukturen und das Brutsystem des Steinkauzes in Süddeutschland und angrenzenden Gebieten zu untersuchen. Einerseits soll überprüft werden, ob die starke Verringerung der Populationsgrößen bereits zu einer verringerten genetischen Diversität und Inzucht geführt hat. Durch Analyse der genetischen Strukturierung der Populationen soll herausgefunden werden, inwieweit die Populationen durch Genfluss verbunden sind und ob sie eine Metapopulation bilden. Dabei soll auch die Frage beantwortet werden, ob es Quellenpopulationen gibt, die besonders geschützt werden müssen. Zudem soll an Steinkauzfamilien aus der größten Population Baden-Württembergs das genetische Paarungssystem untersucht werden. Die Ergebnisse sollen es ermöglichen, die Gefährdung der Steinkauzpopulationen zu beurteilen und zu entscheiden, ob weiterführende Maßnahmen, z.B. eine bessere Vernetzung der Populationen, notwendig sind.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Biologie des Steinkauzes

Der Steinkauz (Abb. 2.1) gehört in der Ordnung der Eulenvögel (Strigiformes) zur Familie der echten Eulen (Strigidae). Er ist in ganz Eurasien etwa zwischen dem 17. und 30. Breitengrad verbreitet. Sein Primärhabitat befindet sich in den Steppen- und Wüstenregionen Europas und Asiens, wo er in Felswänden geeignete Bruthöhlen findet. Die Besiedlung Mitteleuropas fand vermutlich erst nach Beginn der Waldrodungsperiode im neunten und zehnten Jahrhundert statt. In Deutschland brütet er vor allem in Obstwiesen mit hochstämmigen alten Bäumen. Er benötigt eine niedrige Vegetation, um nach Kleinsäugetern, Insekten und Würmern jagen zu können. Der Steinkauz ist ganzjährig ortstreu und kommt deswegen nur in Höhenlagen vor, in denen die Schneedecke nicht länger als drei Wochen geschlossen ist (Schönn et al. 1991).

Außer bei Partner- oder Bruthöhlenverlust sind die adulten Tiere reviertreu und leben sozial monogam. Ende April legen die Weibchen drei bis fünf Eier, die Jungen schlüpfen Ende Mai. Die Pflege der Jungen wird von beiden Partnern übernommen. Mit etwa drei bis vier Monaten verlassen die Jungvögel das elterliche Revier, um sich selbst einen Partner zu suchen. Dabei lassen sich die meisten im Umkreis von 20 km nieder, doch auch Strecken über 100 km können zurückgelegt werden (Van Nieuwenhuysen et al. 2008).



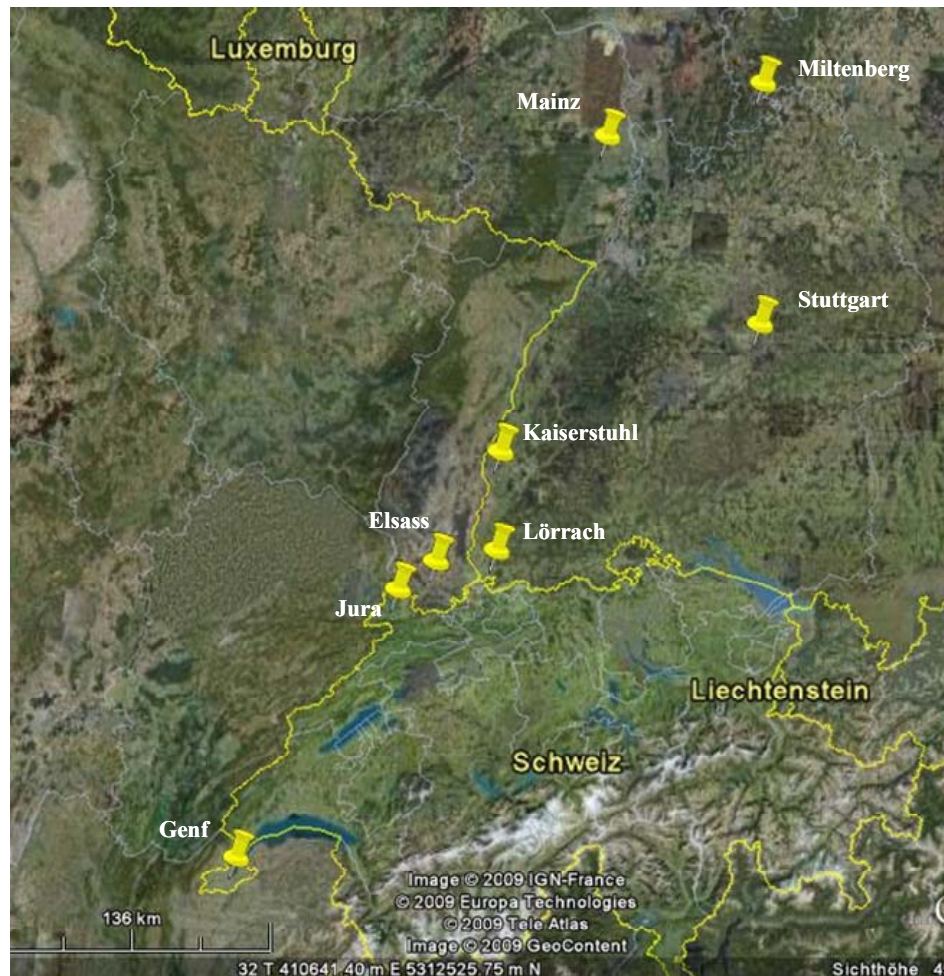
**Abbildung 2.1:** Adulter Steinkauz (rechts) mit einem Jungtier (links).

## 2.2 Untersuchungsgebiete

In dieser Arbeit wurden anhand von Federproben die genetischen Populationsstrukturen des Steinkauzes in Süddeutschland und der Schweiz untersucht. Es wurden Proben in acht Populationen gesammelt, bei Mainz (Rheinland-Pfalz), bei Miltenberg (Bayern), bei Stuttgart, Lörrach und am Kaiserstuhl (alle Baden-Württemberg), bei Genf und im Schweizer Jura (Schweiz) und im Elsass (Frankreich) (Abb.2.2). In Rheinland-Pfalz hat der Steinkauz ein großes Vorkommen von etwa 300 Brutpaaren das sich auch nach Hessen erstreckt (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In Bayern gibt es nur eine einzige Steinkauzpopulation in Unterfranken, die aus etwa 150 Brutpaaren besteht (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In Baden-Württemberg lebt eine große Population im Großraum Stuttgart (200 Brutpaare), kleinere Populationen existieren in der Rheinregion in der Gegend von Offenburg, am Kaiserstuhl (50 Brutpaare) und bei Lörrach (30 Brutpaare) (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Die Population im Elsass besteht aus etwa 50 Brutpaaren (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In der Schweiz sind nur noch drei Regionen mit Steinkauzvorkommen bekannt, die Region Genf (40 Brutpaare), der Schweizer Jura (20 Brutpaare) und das Tessin (5 Brutpaare) (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Somit sind durch die analysierten Proben die Populationen in Süddeutschland und der Schweiz bis auf das Tessin abgedeckt.

Die Habitatbedingungen sind in allen Regionen ähnlich. Offene, strukturreiche Landschaften mit alten Baumbeständen, Baumhecken und alten Gebäuden bieten dem Steinkauz Jagd- und Unterschlupfmöglichkeiten. Aufgrund der geringen Höhenlagen bis 500 m ü. M. gibt es nur an wenigen Tagen im Jahr eine geschlossene Schneedecke, so dass der Steinkauz ganzjährig jagen kann. In all diesen Regionen litt der Steinkauz in den vergangenen Jahrzehnten unter starken Bestandeseinbrüchen, weil sein Lebensraum zerstört wurde (Schönn et al. 1991; BirdLife Schweiz 2004). Durch das Fällen hochstämmiger alter Obstbäume verlor der Steinkauz Nistmöglichkeiten. Weitflächige Getreide- und Maisfelder führten zu erschwerten Jagdbedingungen (Schönn et al. 1991, Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Seit einigen Jahren werden in den Untersuchungsgebieten aber die Steinkauzpopulationen durch Naturschutzverbände und freiwillige Helfer jährlich kontrolliert. Vor allem das Anbringen künstlicher Nistkästen und eine intensive Biotoppflege haben dort in den letzten Jahren zu einer Stabilisierung der Populationsgrößen geführt (Van Nieuwenhuysse et al. 2008).





**Abbildung 2.2:** Regionen, in denen Federproben gesammelt wurden. Karte erstellt mit Google Earth.

### 2.3 Probennahme

Die Steinkauzfedern, die in der vorliegenden Arbeit analysiert wurden, stammen aus den Jahren 2007 und 2009. Die Proben wurden von Mitarbeitern der Steinkauzprojekte in den unterschiedlichen Regionen bereitgestellt: Arnaud Brahier (Jura), Siegmund Hartlaub (Miltenberg), Herbert Keil (Stuttgart), Werner Kneule (Stuttgart), Christian Meisser (Genf), Leander Möbius (Mainz), Franz Preiß (Lörrach), Bertrand Scaar (Elsass), Siegfried Schuch (Mainz), Christian Stange (Kaiserstuhl) und Bruno Ullrich (Stuttgart). In der Region Stuttgart und Mainz wurden bereits im Herbst 2007 bei der Kontrolle der Niströhren Mauserfedern gesammelt. Wurde ein Vogel in der Röhre vorgefunden, so wurden einige Flaumfedern aus der Flanke gezupft. Weitere Federn aus Stuttgart und Mainz und alle Federn aus den übrigen Regionen stammten aus dem Frühjahr 2009. Diese Federn wurden zur Brutzeit gesammelt. Während dieser Zeit werden die künstlichen Niströhren regelmäßig kontrolliert, um die Zahl der Eier und Jungen zu protokollieren und Beringungen vorzunehmen. Um die

Brut nicht zu gefährden, wurden den Vögeln erst Federproben entnommen, wenn die Jungen älter als zwei Wochen waren. Wenn sich die Altvögel in der Röhre aufhielten, wurden die Federn ausschließlich von diesen entnommen. Fehlten die Altvögel, wurden von einem Jungtier Federn entnommen. Das Geschlecht der monomorphen Altvögel wurde anhand des Brutflecks der Weibchen bestimmt. Bei Mauserfedern und Federn, die von im Herbst gefangenen Vögeln stammten, wurde das Geschlecht mit genetischen Methoden festgestellt (siehe Abschnitt 2.6). Von allen Nistplätzen wurden mit Hilfe eines GPS-Geräts die geografischen Koordinaten bestimmt. Die Federproben wurden trocken in Plastiktüten aufbewahrt.

Ausschließlich in der Region Stuttgart wurden Federn von ganzen Familien entnommen, um Verwandtschaftsanalysen durchzuführen. Die Feldarbeit hierzu führte ich im Rahmen einer Pilotstudie der Schweizerischen Vogelwarte Sempach unter Leitung von Dr. Martin Grüebler und Dr. Beat Naef-Daenzer zusammen mit Herbert Keil und Agnes Schärer durch. In einem Untersuchungsgebiet bei Kleinsachsenheim (Kreis Ludwigsburg), in dem im Frühjahr 2009 sieben Steinkauzpaare brüteten, wurden Netze aufgestellt, um die Altvögel zu fangen. Wir umstellten abends die Nistbäume vollständig mit fünf bis sechs Japannetzen. So konnten die Käuze, die am Abend aktiv wurden, im Anflug an das Nest gefangen werden. Jede halbe Stunde wurden die Netze kontrolliert. Den gefangenen Vögeln wurden einige Flaumfedern entnommen, zusätzlich wurden sie für die Pilotstudie vermessen und mit einem Sender versehen. Den Jungen wurden im Alter von etwa drei Wochen Federn entnommen. Von weiteren drei Familien konnten Federn genommen werden, weil bei der Niströhrenkontrolle beide fütternden Alttiere in der Röhre vorgefunden wurden. Zudem waren von drei Brutpaaren schon im April Federn gesammelt worden. Bei einem von diesen wurde im Juni ein anderes Männchen (identifiziert durch die Ringnummer) an der Niströhre vorgefunden, das ebenfalls in die Vaterschaftstests einbezogen wurde. Um die Stichprobe zu erhöhen, wurden von weiteren vier Familien mit jeweils vier Jungvögeln Federn entnommen, bei denen die Väter nicht gefangen werden konnten.

## 2.4 Extraktion der DNA

Für die Extraktion der DNA wurde von jeder Feder ein etwa 0,5 cm langes Stück des Kiels abgeschnitten. Bei Flaumfedern wurden mehrere Kiele vom selben Tier verwendet, um die DNA-Ausbeute zu erhöhen. Die Schere wurde nach jeder Benutzung mit Ethanol in der Flamme sterilisiert. Die DNA wurde aus den Federkielen mit dem DNeasy Blood & Tissue® Kit (Quiagen, Hilden) extrahiert. Die Federkiele wurden zunächst zu 180 µl ATL-Lysis-Puffer in ein Eppendorfröhrchen gegeben. Nach Zugabe von 20 µl Proteinase K wurden die Ansätze über Nacht bei 55 °C im Wärmeschrank inkubiert. Nach gutem Durchmischen wurden dann 200 µl AL-Lysis-Puffer beigegeben und die Lösung 10 min bei 70°C im Heizblock inkubiert. Anschließend wurden 200 µl Ethanol (96 %) hinzugefügt. Nach gründ-

lichem Durchmischen wurde der Ansatz auf eine DNeasy Mini Spin Säule übertragen und 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert. Das Eluat wurde verworfen und nach Zugabe von 500 µl AW1-Puffer wurde die Säule erneut 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert. Es folgte ein dritter Waschschrift mit 500 µl AW2-Puffer und zweimaliger Zentrifugation (3 bzw. 1 min bei 14000 rpm) um sicherzustellen, dass kein Ethanol mehr auf der Säule zurückgeblieben war. Schließlich wurden zweimal 50 µl AE-Elutionspuffer auf die Säule pipettiert, 5 min bei 55°C inkubiert und jeweils 1 min bei 8000 rpm zentrifugiert. Die DNA lag nun im Elutionspuffer gelöst vor und konnte in einem Eppendorfröhrchen bei -23°C gelagert werden. Insgesamt wurden 381 Federn extrahiert (Auflistung mit Herkunftsangaben siehe Anhang).

## **2.5 Mikrosatelliten**

### **2.5.1 Eigenschaften von Mikrosatelliten**

Mikrosatelliten sind die nuklearen Marker, die momentan in der Populationsgenetik am häufigsten verwendet werden (Selkoe & Toonen 2006, Allendorf & Luikart 2007). Es handelt sich dabei um kurze Sequenzen von einem bis zu sechs Basenpaaren, die sich an einem Genort etwa 10 bis 50 Mal wiederholen (Knippers 2006). Aufgrund ihrer hohen Mutationsrate sind Mikrosatelliten polymorph in der Anzahl der Nucleotidwiederholungen. Ein Individuum besitzt also mit hoher Wahrscheinlichkeit zwei unterschiedlich lange Allele. Grund für die hohe Mutationsrate ist, dass es im Bereich der Replikationsgabel sehr leicht zu Leserasterverschiebungen kommt (Knippers 2006). Durch die Nucleotidwiederholungen kommt es zu Fehlpaarungen der DNA-Stränge, die durch Insertionen oder Deletionen repariert werden. Schätzungsweise beträgt die Mutationsrate bei Mikrosatelliten  $10^{-3}$  bis  $10^{-4}$  pro Generation (Allendorf & Luitgart 2007), wohingegen die durchschnittliche Häufigkeit von Punktmutationen auf  $10^{-9}$  bis  $10^{-10}$  pro Generation geschätzt wird (Knippers 2006). Mikrosatelliten sind kodominante Marker, heterozygote und homozygote Individuen können unterschieden werden. Dadurch können auch Allelfrequenzen berechnet werden. Die Vererbung der Mikrosatelliten erfolgt in der Regel nach den Mendelschen Regeln (Freeland 2005). Aus diesen Gründen eignen sich Mikrosatelliten vor allem für die Untersuchung von Populationsentwicklungen in Tier- und Pflanzenpopulationen und für die Analyse von Verwandtschaften. Im Bereich des Naturschutzes konnten Studien mit Mikrosatelliten beispielsweise Migrationsbarrieren aufdecken, da es bei ausbleibendem Genfluss zwischen Populationen schon nach kurzer Zeit zu Verschiebungen in den Allelfrequenzen kommt (z.B. Segelbacher & Storch 2002). Gleichzeitig eignen sie sich für Untersuchungen von Paarungssystemen, da schon mit wenigen Loci Elternschaften bestimmt werden können (Freeland 2005).

### 2.5.2 Entwicklung des Markersystems und Genotypisierung

Um die Mikrosatelliten auf einem Gel nach ihrer Größe auftrennen und sichtbar machen zu können, muss die Mikrosatelliten-DNA in einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt werden. Dazu müssen die flankierenden Basensequenzen am 5'- und 3'-Ende der Mikrosatelliten bekannt sein, um sie als Primer für die PCR nutzen zu können. Die Primerpaare können durch Klonierung und Sequenzierung kleiner DNA-Stücke gefunden werden.

Im Vorfeld dieser Arbeit waren im Labor von PD Dr. Gernot Segelbacher schon Primerpaare für 25 mögliche Mikrosatelliten-Loci für den Steinkauz nach dem Protokoll von Glenn & Schable (2005) von Katja Fleckenstein entwickelt worden (unveröffentlicht). Diese und weitere vier Primerpaare, die für den nah verwandten Kaninchenkauz (*Athene cunicularia*) entwickelt wurden (Korfanta et al. 2002), testete ich an Steinkauz-DNA. Dazu wurde mit jeweils fünf DNA-Proben und einer Kontrolle ohne DNA eine so genannte Touchdown-PCR in einem Mastercycler Gradient (Eppendorf, Hamburg) durchgeführt. Bei der Touchdown-PCR wird die Temperatur, bei der sich die Primer an die DNA-Fragmente anheften (Annealing-Temperatur) bei jedem Zyklus schrittweise abgesenkt. Solange man die optimale Temperatur der jeweiligen Primer nicht kennt, wird dadurch die DNA-Amplifizierung verbessert. Für die PCR wurde ein Ansatz von 10 µl verwendet (Tabelle 2.1).

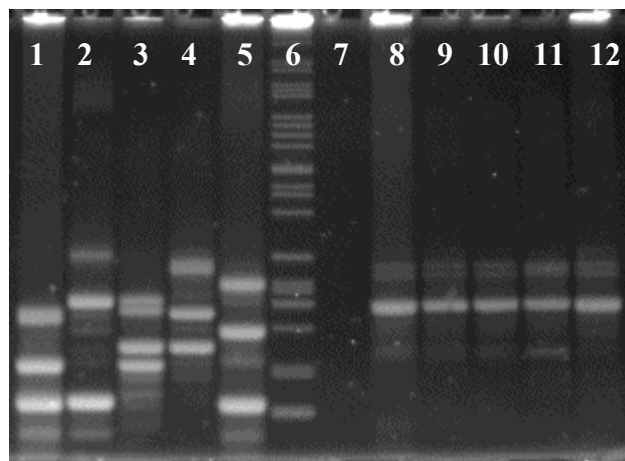
**Tabelle 2.1:** 10 µl Ansatz für die Amplifizierung der Mikrosatellitenloci in einer PCR

	Volumen (1x)
dH <sub>2</sub> O	5,7 µl
CoralLoad PCR Puffer	1,0 µl
dNTPs (10mM)	0,3 µl
Primer Forward	0,5 µl
Primer Reverse	0,5 µl
HotStarTaq <sup>®</sup> Plus DNA-Polymerase (5 units/µl)	0,05 µl
DNA-Extrakt	2,0 µl

Der PCR-Zyklus begann mit einem anfänglichen Denaturierungsschritt von 5 min bei 94°C, es folgten 20 Touchdown-Zyklen mit jeweils 30 s bei 95°C zur Denaturierung des DNA-Strangs, 30 s bei 62 bis 52°C (Abnahme um ein halbes Grad pro Zyklus) zur Anheftung der

Primer an die DNA und 30 s bei 72°C zur Elongation des neuen DNA-Strangs. Anschließend wurden weitere 15 Zyklen bei einer Annealing-Temperatur von 52°C durchgeführt. Zum Schluss wurde die Temperatur in einem letzten Elongationsschritt 5 min konstant bei 72°C gehalten. Die PCR-Produkte wurden bei einer Temperatur von 5°C gelagert. Um zu kontrollieren, ob bei der PCR DNA amplifiziert worden war, wurden zunächst 5 µl der PCR-Produkte auf ein Agarosegel (1,2 %) in TBE-Puffer (0,5 %) aufgetragen. Um die DNA unter UV-Licht sichtbar zu machen, wurde 1 µl des Farbstoffs SYBR<sup>®</sup>-Gold (1:1000) zugefügt. Als Referenz wurde ein 100bp DNA Leiter verwendet. Die Auftrennung der DNA erfolgte bei etwa 70 V und einer Laufzeit von 30 min. Anschließend wurde das Gel unter UV-Licht fotografiert. War die PCR erfolgreich, so trat auf Höhe von 100 bis 200 bp eine deutliche Bande in Erscheinung.

Um zu untersuchen, ob die amplifizierten Loci polymorph sind, wurden die restlichen 5 µl des PCR-Produkts in TAE-Puffer (1 %) auf ein hoch auflösendes Polyacrylamidgel (Spreadex EL 400 Gel, Elchrom Scientific, Cham, Schweiz) aufgetragen, das schon Längenunterschiede von zwei Basenpaaren detektieren kann. Als Referenz diente der Marker M3 (50-622 bp). Bei etwa 55°C und 120 V wurde die DNA mit Laufzeiten von etwa 1 bis 1,5 h (geschätzt nach den Längen der entsprechenden Loci der Individuen, an denen die Marker entwickelt wurden) aufgetrennt. Die Gele wurden anschließend 30 min mit SYBR<sup>®</sup>-Gold (1000fach, 2,5 µl in 50 ml TAE-Puffer) gefärbt und unter UV-Licht fotografiert. Nur Mikrosatelliten, die bei den fünf getesteten Individuen mindestens 3 Allele aufwiesen, wurden für die weiteren Analysen verwendet (Abb. 2.3).



**Abbildung 2.3:** Abgebildet ist die Aufnahme eines Elchrom-Gels mit nach der Größe aufgetrennten DNA-Banden. Zu sehen sind zwei für jeweils fünf Individuen getestete Loci, dazwischen der M3-Marker (Bahn 6) und eine Negativkontrolle (Bahn 7). Der Locus links im Bild ist polymorph (Bahn 1-5), der rechte hat nur ein Allel, alle Individuen sind homozygot (Bahn 8-12).

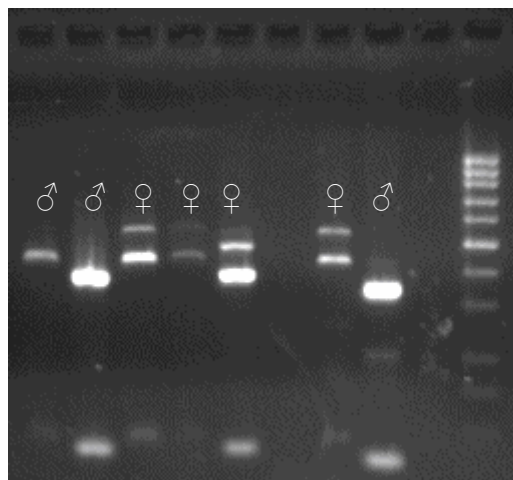
Wenn die Banden nur schwer zu erkennen waren, wurde eine Gradienten-PCR durchgeführt, bei der zehn verschiedene konstante Annealing-Temperaturen zwischen 62 und 52°C getestet wurden. Die Produkte wurden anschließend auf ein Agarosegel (1.2 %) aufgetragen und wie oben beschrieben aufgetrennt. Für die weiteren Proben wurde bei der PCR die konstante Annealing-Temperatur verwendet, bei der die DNA-Banden am stärksten ausfielen.

Zwölf Mikrosatelliten, die alle im Labor von Gernot Segelbacher entwickelt worden waren, erwiesen sich als polymorph. Insgesamt wurden damit 304 Proben genotypisiert (Auflistung mit Herkunftsangaben siehe Anhang). Ausgeklammert wurden Mauserfedern, bei denen die DNA-Ausbeute zu gering war, um deutliche Banden zu erkennen. Außerdem wurde darauf geachtet, außerhalb der Proben für die Vaterschaftstests keine Verwandten, d.h. Eltern und Jungtiere oder Geschwister, zu genotypisieren, da dadurch einige Analysen, z.B. Inzuchtkoeffizienten, verfälscht würden. Für die PCR wurden 96-Well-Platten (twin.tec PCR plate 96, skirted, Eppendorf, Hamburg) benutzt. Neben den Proben, deren Genotyp bestimmt werden sollte, befanden sich auf jeder Platte Leerproben als Negativkontrolle, sowie schon einmal genotypisierte Proben zur Positivkontrolle. Die Allel Daten wurden von Hand ausgelesen. Die Längen der einzelnen Allele wurden mit Hilfe des Markers M3 bestimmt, als Referenzlänge diente die Länge des bei der Markerentwicklung sequenzierten Allels. Bei undeutlichen oder fehlenden Banden wurden die PCR und die Auftrennung der DNA für diese Proben einmal wiederholt. Individuen, bei denen mehr als drei Loci ausfielen, wurden nicht in die Analyse der Daten mit aufgenommen. Um die Fehlerrate bei der Genotypisierung zu bestimmen, wurde für 20 Individuen die Genotypisierung einmal wiederholt.

## 2.6 Genetische Geschlechtsbestimmung

Für die genetische Geschlechtsbestimmung werden Marker benutzt, die auf den Geschlechtschromosomen liegen. Wie beim Menschen gibt es bei den Vögeln zwei Geschlechtschromosomen. Allerdings sind hier die Weibchen heterogam, sie haben zwei verschiedene Geschlechtschromosomen W und Z, die Männchen sind homogam und besitzen zweimal das Z-Chromosom (Knippers 2006). Sowohl auf dem W-, als auch auf dem Z-Chromosom befindet sich ein homologes Chromobox-Helicase-DNA-Binde-Gen (CHD-Gen). Das Primerset P2/P8 (Griffiths et al. 1998) bindet an exonische Regionen dieses Gens, die auf beiden Chromosomen konserviert sind; amplifiziert wird dabei aber unter anderem ein Intron, das auf den beiden Chromosomen unterschiedliche Längen hat. Trennt man die PCR-Produkte auf einem Gel auf, sind bei weiblichen Tieren zwei Banden zu erkennen. Bei Eulenvögeln sind die Längenunterschiede allerdings so gering, dass keine deutliche Auftrennung stattfindet (Griffiths et al. 1998). Deswegen wird das PCR-Produkt zusätzlich mit dem Restriktionsenzym HAEIII verdaut. Nur im Intron des CHD-Gens auf dem W-Chromosom befindet sich eine HAEIII-Schnittstelle (Leppert et al. 2006), so dass Weib-

chen nach dem Verdau ebenfalls durch das Vorhandensein zweier Banden bestimmt werden können (Abb. 2.4).



**Abbildung 2.4:** Zu sehen ist die Aufnahme eines Agarosegels mit aufgetrennten DNA-Banden. Zur Bestimmung des Geschlechts wurden für die PCR die Primer P2/P8 benutzt und das Produkt mit HAEIII verdaut. Zu sehen sind die Banden von 7 Individuen, ganz rechts der 100 bp-Marker. Bei weiblichen Tieren sind zwei Banden zu sehen, bei Männchen nur eine.

Von 90 adulten Tieren, die nicht im Frühjahr gefangen worden oder von denen Mauserfedern gefunden worden waren, wurde das Geschlecht mit genetischen Methoden bestimmt. Der Ansatz für die PCR mit den Primern P2 und P8 erfolgte wie oben beschrieben (Tabelle 2.1). Die PCR begann mit einem 3-minütigen Denaturierungsschritt bei 94 °C, dann folgten 40 Zyklen mit je 30 s Denaturierung bei 94 °C, 45 s Annealing bei 48 °C und 45 s Elongation bei 72 °C. Im letzten Schritt wurde die Temperatur 5 min konstant bei 72°C gehalten. Zum Verdau mit HAE III wurde ein 15 µl-Ansatz verwendet (Tabelle 2.2). Der Ansatz wurde für zwei Stunden bei einer Temperatur von 37 °C im Eppendorf Thermocycler inkubiert. 5 µl des Verdau wurden mit 1 µl SYBR®-Gold (1:1000) auf ein 2,5 %-Agarose-Gel in TBE-Puffer aufgetragen und bei 75 mV aufgetrennt. Die Laufzeit betrug 2 Stunden. War das Ergebnis nicht eindeutig, so wurde die PCR noch einmal wiederholt.

**Tabelle 2.2:** 15 µl Ansatz für den Verdau des PCR-Produkts für die Geschlechtsbestimmung mit dem Restriktionsenzym HAE III.

	Volumen (für einfachen Ansatz)
dH <sub>2</sub> O	6,5 µl
Puffer NEB2 (bzw. 4)	1,5 µl
HAE III	1,0 µl
DNA-Extrakt	6,0 µl

## 2.7 Auswertung

Grundsätzlich wird unterschieden zwischen Analysen, in denen a priori Populationen definiert werden und Analysen, die nur auf den individuellen Genotypen beruhen. Bei allen Auswertungen, für die Populationen vordefiniert werden mussten, wurde mit sechs Populationen gerechnet, Stuttgart (N = 120), Mainz (N = 58), Lörrach (N = 17), Kaiserstuhl (N = 10), Genf (N = 13) und Miltenberg (N = 7). Die jeweils vier Individuen aus dem Jura und dem Elsass wurden aufgrund der geringen Stichprobe nur in Analysen ohne Voreinteilung in Populationen verwendet (N = 233). Die Genotypen von 45 Jungvögeln aus Stuttgart wurden nur für die Verwandtschaftsanalysen verwendet.

### 2.7.1 Test der polymorphen Primer auf Nutzbarkeit für die Analysen

Mikrosatelliten, die für populationsgenetische Analysen eingesetzt werden können, müssen einige Voraussetzungen erfüllen. Die Marker dürfen nicht im Kopplungsungleichgewicht sein, d.h. sie müssen neutral vererbt werden. Zum Kopplungsungleichgewicht kommt es, wenn zwei der verwendeten Mikrosatellitenloci auf einem Chromosom benachbart sind. Dies führt dazu, dass die Unabhängigkeit der Allelarten nicht mehr gegeben ist, da die Genotypen zweier Loci miteinander assoziiert sind. Ein Kopplungsungleichgewicht kann auch auftreten, wenn ein Mikrosatelliten-Locus nahe bei einem selektierten Gen liegt. Es ist ein Hinweis auf nicht-neutrale Vererbung, wenn die Genotypenfrequenzen eines Locus vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) abweichen, selbst wenn die Population groß ist und die Paarungen zufällig sind (Freeland 2005). Bei Allelen im HWE entspricht die beobachtete Heterozygotie  $H_o$  der erwarteten Heterozygotie  $H_e$ , da sich Allel- und Genotypenhäufigkeiten zwischen den Generationen nicht ändern.  $H_o$  wird berechnet als Verhältnis der Anzahl heterozygoter Individuen zur Anzahl aller Individuen. Die erwartete Heterozygotie  $H_e$  berechnet sich aus der an einem Locus gefundenen Allelzahl  $m$  und der Häufigkeit  $x_i$  der einzelnen Allele  $i$  wie folgt:

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^m x_i^2. \quad (1)$$

Problematisch ist auch das Vorhandensein von Nullallelen. Nullallele sind Allele, bei denen eine oder beide Primer-Bindestellen mutiert sind und die somit bei der PCR nicht amplifiziert werden. Dies führt zu einer Überschätzung des Homozygoten-Anteils und kann ebenfalls eine Erklärung für Abweichungen vom HWE sein (Freeland 2005).

Für die Berechnungen wurden die Genotypen aller nicht verwandten Individuen verwendet. Für alle Loci wurde die erwartete und beobachtete Heterozygotie  $H_e$  und  $H_o$  und der PIC-Wert, ein Maß für die Aussagekraft eines Mikrosatellitenlocus, mit CERVUS 3.0.3 (Kalinowski et al. 2007) bestimmt. Zusätzlich wurden eventuelle Abweichungen vom HWE ge-



prüft (Chi-Quadrat-Test) und die Frequenz der Nullallele berechnet. Mit GENEPOP ON THE WEB 4.0 (Raymond & Rousset 1995) wurden die Marker auf Kopplungsungleichgewicht untereinander getestet. Um einen zu hohen Typ I-Fehler aufgrund multipler Tests zu vermeiden, wurde für alle Tests eine strikte Bonferroni-Korrektur durchgeführt, bei der das Signifikanzniveau ( $p = 0,05$ ) durch die Anzahl der Tests geteilt wird. Nur Tests, die das neue Niveau unterschritten, wurden als signifikant gewertet.

### 2.7.2 Genetische Diversität

Um die Gefährdung kleiner Populationen beurteilen zu können, sollte bekannt sein, ob bereits eine starke Verringerung der genetischen Diversität eingetreten ist. Eine geringe genetische Diversität kann ein Hinweis für eine Inzuchtdepression sein und verringert langfristig die Anpassungsfähigkeit einer Population an veränderte Umweltbedingungen. Eine hohe genetische Diversität in kleinen Populationen kann auf Genfluss zwischen den Populationen hinweisen (Frankham et al. 2002).

Schätzungen der genetischen Diversität beruhen auf Allel- und Genotypenhäufigkeiten. Ein einfaches Maß für die genetische Diversität ist die durchschnittliche Anzahl von Allelen pro Locus ( $A$ ). Dieser Wert hängt stark von der Stichprobengröße ab. Die so genannte Allelic Richness ( $A_R$ ) ist ein Maß für die Allelzahl unabhängig von der Stichprobengröße, was den Vergleich zwischen unterschiedlichen Populationen ermöglicht (Petit et al. 1998). Bei der Berechnung von  $A_R$  wird die kleinste Zahl von Individuen, die in einer Population genotypisiert wurde, als Grundlage genommen. Ein weiteres Maß, das ebenfalls stark von der Stichprobengröße abhängt, ist die beobachtete Heterozygotie  $H_o$ . Weniger beeinflusst von der Stichprobengröße ist die erwartete Heterozygotie  $H_e$  (zur Definition von  $H_o$  und  $H_e$  vgl. Abschnitt 2.7.1). Bei Populationen im HWE sollten die über alle Loci gemittelten Werte für  $H_e$  und  $H_o$  gleich groß sein. Der Inzuchtkoeffizient  $F_{IS}$  ist ein Maß für Abweichungen vom HWE. Er berechnet sich aus dem Verhältnis zwischen  $H_o$  und  $H_e$ , gemittelt über alle Loci:

$$F_{IS} = 1 - \frac{H_o}{H_e}. \quad (2)$$

Wenn es einen Überschuss an homozygoten Individuen gibt, wird der  $F_{IS}$ -Wert positiv. Ein Homozygotenüberschuss entsteht durch Inzucht, da es bei Paarungen zwischen verwandten Tieren wahrscheinlicher ist, dass identische Allele aufeinander treffen (Freeland 2005).

Die genetische Diversität wurde für die sechs Populationen getrennt berechnet.  $A$ ,  $H_o$  und  $H_e$  wurden mit dem MICROSATELLITE TOOLKIT 3.1.1. (Park 2001) bestimmt, für die Berechnung der Allelic Richness  $A_R$ , des  $F_{IS}$ -Wertes, sowie den Test auf Abweichung vom HWE wurde das Programm FSTAT 2.9.3.2 (Goudet 2001) verwendet. Der Test auf Abweichung vom HWE beruht auf Permutationen, wobei die Allele zwischen den Individuen einer Population permutiert werden. Es wurden 6600 Permutationen und eine strikte Bonfer-

roni-Korrektur durchgeführt. Mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test wurde paarweise zwischen den Populationen getestet, ob es Unterschiede in Allelic Richness, erwarteter und beobachteter Heterozygotie gibt. Dazu wurde das Statistikprogramm R (R Development Core Team 2005) benutzt. Es wurde ebenfalls eine strikte Bonferroni-Korrektur für multiple Tests durchgeführt. Um einzuschätzen, wie hoch die genetische Diversität der hier untersuchten Populationen ist, wurden in der Literatur Werte für die Allelzahl und die beobachtete und erwartete Heterozygotie von Populationen ungefährdeter Eulenarten gesucht und ein Mittelwert berechnet.

### **2.7.3 Test auf Populationsrückgang und Flaschenhals**

Eine starke Dezimierung der Populationsgrößen oder ein nicht lange zurückliegender Flaschenhals führen zu einer Abnahme der genetischen Diversität. Während die Allelzahlen schnell sinken, bleibt der Heterozygotenanteil aber zunächst noch hoch. Es kommt folglich zu einer Abweichung der beobachteten von der erwarteten Heterozygotie (Freeland 2005). Durch einen Test auf Heterozygotenüberschuss kann somit indirekt ein Verlust genetischer Diversität durch einen starken Populationsrückgang nachgewiesen werden.

Das Programm BOTTLENECK 1.2.02 (Piry et al. 1999) wurde benutzt, um einen Heterozygotenüberschuss zu detektieren. Dabei wird zunächst für jeden Locus die erwartete Heterozygotie, die bei einer konstanten Populationsgröße unter Mutations-Drift-Gleichgewicht zu erwarten wäre, berechnet. Mit Hilfe eines Koaleszenzmodells wird dazu die Abstammung der einzelnen Allele simuliert. Als Mutationsmodelle werden das infinite Allelmodell oder das schrittweise Mutationsmodell verwendet. Das infinite Allelmodell beruht auf der Annahme, dass alle Mutationen mit gleicher Wahrscheinlichkeit auftreten. Beim schrittweisen Mutationsmodell wird davon ausgegangen, dass bei einer Mutation nur eine Wiederholung verloren geht oder dazukommt. Auf Grundlage der ermittelten Allel Stammbäume wird die erwartete Heterozygotie errechnet (Cornuet & Luikart 1996). Der errechnete Wert wird mit der tatsächlich in der Population beobachteten Heterozygotie verglichen.

Die sechs Steinkauzpopulationen wurden auf Heterozygotenüberschuss getestet. Für die Tests wurde zum einen ein reines infinites Allelmodell, zum anderen ein Zwei-Phasen-Modell, das zu 90 % das schrittweise Mutationsmodell und zu 10 % das infinite Allelmodell annimmt, benutzt. Die Simulation wurde 1000 Mal wiederholt, um die Genauigkeit der Schätzung der erwarteten Heterozygotie zu erhöhen. Die Signifikanz der Ergebnisse wurde, wie bei Piry et al. (1999) empfohlen, mit dem Wilcoxon-Rang-Test überprüft.

### **2.7.4 Genetische Differenzierung**

Genetische Drift und Mutationen führen in isolierten Populationen innerhalb weniger Generationen zu einer Auseinanderentwicklung der Allelfrequenzen. Eine Analyse der geneti-

schen Differenzierung zwischen den Populationen ermöglicht es deshalb, Aussagen darüber zu treffen, ob zwischen den Populationen Genfluss herrscht. (Freeland 2005).

Ein Maß für die genetische Differenzierung ist der  $F_{ST}$ -Wert (Fixationsindex) nach Wright (1951). Dieser beruht auf der Annahme, dass in Subpopulationen Allele durch Drift fixiert werden, sich die Allelfrequenzen der Gesamtpopulation aber nicht ändern. Dadurch wird die erwartete Heterozygotie in den Subpopulationen kleiner als in der Gesamtpopulation.  $F_{ST}$  berechnet sich aus  $H_S$ , der mittleren erwarteten Heterozygotie aller Subpopulationen, und  $H_T$ , der erwarteten Heterozygotie der Gesamtpopulation:

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T}. \quad (3)$$

Hohe  $F_{ST}$ -Werte weisen auf eine starke Differenzierung zwischen Populationen hin. Allerdings hängt der  $F_{ST}$ -Wert stark vom Ausmaß der genetischen Variation ab, die bei Mikrosatelliten-Loci generell sehr hoch ist. Doch wenn die Variation in den Populationen bereits groß ist, kann  $F_{ST}$  keine hohen Werte mehr annehmen (Allendorf & Luikart 2007). Um  $F_{ST}$ -Werte dennoch vergleichen zu können, schlägt Hedrick (2005) vor, sie zu standardisieren. Dabei wird das Verhältnis zwischen dem eigentlichen  $F_{ST}$ -Wert und dem aufgrund der vorgefundenen Allelfrequenzen maximal möglichen gebildet.

Die  $F_{ST}$ -Werte wurden paarweise für die sechs Populationen bestimmt. Die Rechnungen wurden mit dem Programm GENETIX 4.5.2 (Belkhir et al. 2001) durchgeführt. Dabei wurde der  $F_{ST}$ -Wert nach Weir & Cockerham (1984) berechnet, der die Allelfrequenzen in Bezug auf die Stichprobengrößen gewichtet. Die Signifikanz der  $F_{ST}$ -Werte wurde mit FSTAT 2.9.3.2 auf Grundlage von 15000 Randomisierungen der Genotypen zwischen den Populationen geprüft. Zusätzlich wurde eine strikte Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Zur Berechnung der maximal möglichen  $F_{ST}$ -Werte wurde das Programm RECODEDATA 0.1 (Meirmans 2006) verwendet.

Um mögliche Populationsdifferenzierungen grafisch sichtbar zu machen, wurde mit GENETIX 4.5.2 eine faktorielle Korrespondenzanalyse über die sechs Populationen durchgeführt. Bei dieser Korrespondenzanalyse werden die Beziehungen zwischen den Allelen der verschiedenen Loci grafisch repräsentiert. Dabei werden zunächst die Zentroide der Populationen und deren Positionen zueinander im zweidimensionalen Raum bestimmt. Jedes Individuum wird dann relativ zum Mittelpunkt der eigenen Population positioniert. Der Abstand zwischen den Positionen zweier Individuen ist ein Maß für deren Ähnlichkeit. Diese Analyse eignet sich vor allem für Stichproben mit geringen  $F_{ST}$ -Werten und vielen Individuen, da vorhandene genetische Unterschiede bei dieser Darstellung besser visualisiert werden (Belkhir et al. 2001).

### 2.7.5 Individuenbasierte räumliche Struktur

Eine weitere Möglichkeit räumliche Populationsstrukturen und mögliche Migrationsbarrieren aufzudecken, besteht darin, nach Substrukturen auf Basis der Genotypen der einzelnen Individuen zu suchen. Dabei wird nach einer Anzahl von Clustern und einer Zuordnung der Individuen in diese Cluster gesucht, so dass die Abweichungen vom HWE am geringsten sind. Durch diese Zuordnungen können auch Migranten aufgespürt werden. Für die Berechnungen wird ein Bayesian Clustering Algorithmus verwendet, um die wahrscheinlichste Anzahl von Clustern zu bestimmen. Bayesische Methoden unterscheiden sich von klassischen statistischen Methoden in zwei wesentlichen Punkten: Zum einen werden Wahrscheinlichkeiten anders definiert. Sie sind hier ein direktes Maß für die Wahrscheinlichkeit, dass eine Hypothese zutrifft. Deswegen muss keine Nullhypothese konstruiert werden. Zum anderen beziehen Bayesische Methoden schon vorhandene Information in die Berechnung der Wahrscheinlichkeiten mit ein (Allendorf & Luikart 2007). Laut Chen et al. (2007) eignen sich die Programme STRUCTURE 2.3 (Pritchard et al. 2000) und TESS 2.1.1 (Durand et al. 2009) in Kombination für die Bestimmung einer räumlichen Populationsstruktur.

Das Programm STRUCTURE 2.3 nutzt ausschließlich genetische Informationen, um die Einteilung in  $K$  Cluster zu testen. Die Wahrscheinlichkeiten für die unterschiedlichen Clusterzahlen  $K$  werden mit einem Markov-Ketten-Monte-Carlo-Algorithmus berechnet. Diese Methode ermöglicht es, auch für große Datenmengen Wahrscheinlichkeiten zu bestimmen. Der Algorithmus sucht für eine gegebene Clusterzahl  $K$  die wahrscheinlichste Einteilung der Individuen in diese  $K$  Cluster. Die Clusteranzahl, die die größten Wahrscheinlichkeitswerte erhält, wird als tatsächliche Clusteranzahl angenommen. Für die Rechnung mit STRUCTURE wurde als Populationsmodell das Admixture-Modell verwendet, in dem davon ausgegangen wird, dass die Individuen eine gemischte Herkunft, d.h. Vorfahren aus unterschiedlichen Populationen, haben können. Für den Markov-Ketten-Monte-Carlo-Algorithmus wurde eine Einstellung von 50000 Burn-In-Schritten und 500000 Wiederholungen gewählt. Für Clusterzahlen  $K = 1-13$  wurden die Rechnungen zehn Mal wiederholt und die Wahrscheinlichkeiten  $L(K)$  gemittelt. Durch den Vergleich von  $L(K)$  lässt sich die korrekte Clusterzahl oft schwer ermitteln (Evanno et al. 2005). Deshalb wurde, wie von Evanno et al. (2005) beschrieben,  $\Delta K$  aus  $L(K)$  berechnet, das die Änderungsrate der Wahrscheinlichkeiten zwischen aufeinander folgenden  $K$ s mit einbezieht.  $\Delta(K)$  berechnet sich in drei Schritten wie folgt:

$$L'(K) = L(K) - L(K - 1) \quad (4)$$

$$L''(K) = |L'(K + 1) - L'(K)| \quad (5)$$

$$\Delta(K) = \frac{L''(K)}{s(L(K))}. \quad (6)$$

$\Delta(K)$  sollte bei der korrekten Anzahl von Clustern ein deutliches Maximum zeigen. Allerdings lässt sich mit dieser Methode die korrekte Clusterzahl nicht finden, wenn es nur ein Cluster gibt (Evanno et al. 2005).

Das Programm TESS 2.1.1 nutzt zur Einteilung in Cluster zusätzlich Informationen über die Herkunft der Individuen. Es wird angenommen, dass bei Individuen, die räumlich benachbart liegen, die Wahrscheinlichkeit hoch ist, dass sie in ein Cluster fallen. TESS setzt abgewandelte Markov-Ketten-Monte-Carlo-Algorithmen ein, die die räumlichen Koordinaten mit einbeziehen. Für jeden Lauf wird die gemittelte Abweichung berechnet. Modelle mit kleinerer Abweichung sollten dabei bevorzugt werden. Die korrekte Anzahl von Clustern  $K$  sollte erreicht sein, wenn die Abweichung nicht mehr geringer wird und die Säulendiagramme, die für jedes Individuum die Anteile an den unterschiedlichen Clustern darstellen, sich zwischen den Läufen nicht mehr ändern. Auch für die Berechnungen mit TESS wurde das Admixture-Modell gewählt. Der Interaktionsparameter  $\psi$ , der angibt, wie stark die geografischen Interaktionen gewichtet werden, wurde auf 0,6 gesetzt, wie von François et al. (2008) vorgeschlagen. Pro Markov-Ketten-Monte-Carlo-Lauf wurden 10000 Burn-Ins und 50000 Wiederholungen gerechnet. Für  $K$  von zwei bis zehn wurden die Rechnungen jeweils zehn Mal wiederholt. Um die Ergebnisse grafisch darzustellen, wurden für die gefundene Clusterzahl noch einmal 100 Läufe durchgeführt und die wahrscheinlichsten 20 mit CLUMPP 1.1.1 (Jakobsson & Rosenberg 2007) gemittelt. Anschließend wurde mit DISTRICT 1.1 (Rosenberg 2004) ein Säulendiagramm der gemittelten Ergebnisse erstellt. Mit dem Statistikprogramm R (R Development Core Team 2005) wurde eine Grafik erstellt, in der die Clusterzugehörigkeiten räumlich dargestellt sind.

### 2.7.6 Isolation durch Distanz

Ein Großteil des Genflusses findet innerhalb kurzer Distanzen statt, da die meisten Jungtiere eher an Orte in der Nähe ihres Geburtsorts abwandern. Dies führt dazu, dass die genetische Differenzierung zwischen Individuen mit zunehmender geographischer Distanz zunimmt. Wright (1942) beschrieb dieses Phänomen als Isolation durch Distanz. Eine Bestimmung der Distanzen, ab denen eine Isolation durch Distanz zu beobachten ist, ermöglicht eine grobe Abschätzung der durchschnittlichen Abwanderungsdistanzen.

Um zu testen, ob eine Isolation durch Distanz existiert, wurden nur Allel Daten der adulten Tiere verwendet ( $N = 213$ ). Da die Jungtiere noch nicht abgewandert sind, würden sie die Analysen verfälschen. Mit dem Programm ALLELES IN SPACE 1.0 (Miller 2005) wurde geprüft, ob eine Korrelation zwischen genetischer und geographischer Distanz besteht. Die genetische Distanz entspricht der von Nei et al. (1983), die Formel wird hier aber auf Individuen anstatt auf Populationen angewendet. Das Programm erstellt Matrizen, die für alle möglichen Paarungen die geografischen bzw. genetischen Distanzen enthalten. Die Signifi-

kanz des Korrelationskoeffizienten  $r$  wird mit einem Manteltest überprüft (Mantel 1967). Der Manteltest testet, ob zwischen zwei Matrizen eine Korrelation besteht. Es wird dabei berücksichtigt, dass die Werte innerhalb einer Zeile und Spalte nicht unabhängig voneinander sind, wie es bei paarweisen Vergleichen der Fall ist. Deshalb werden die Zeilen und Spalten einer Matrix zufällig permutiert und der  $r$ -Wert nach jeder Permutation erneut berechnet. Der Anteil der  $r$ -Werte, die größer oder gleich dem eigentlichen sind, entspricht dem  $p$ -Wert der Korrelation. Insgesamt wurden 1000 Permutationen durchgeführt.

Zusätzlich wurde eine Autokorrelationsanalyse mit dem Programm SPAGEDI 1.2 (Hardy & Vekemans 2002) durchgeführt. Dabei wird der mittlere paarweise Verwandtschaftskoeffizient von Individuen in verschiedenen geografischen Distanzklassen berechnet und mit der geografischen Distanz korreliert. Die Individuenpaare wurden in 15 Distanzklassen eingeteilt, die jeweils etwa die gleiche Anzahl an Paarungen enthalten sollten. Weniger Distanzklassen hätten dazu geführt, dass geringe Distanzen nicht gut aufgelöst würden und Information über die Abwanderungsdistanzen verloren ginge. Der paarweise Verwandtschaftskoeffizient wurde nach Queller & Goodnight (1989) auf Grundlage der Allelfrequenzen aller adulten Individuen berechnet. Dieser Verwandtschaftskoeffizient gewichtet die gemeinsamen Allele zweier Tiere nach der Häufigkeit in der Referenzpopulation (hier alle adulten Individuen). Teilen sich zwei Individuen seltene Allele, so ist die Wahrscheinlichkeit der gleichen Abstammung größer (Freeland 2005). Mit einem Jackknife-Verfahren über die einzelnen Loci wurden Mittelwert und Standardabweichung geschätzt. Die 95 % Konfidenzintervalle wurden durch 1000-fache Permutation der Orte zwischen den räumlichen Gruppen erstellt.

### **2.7.7 Geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten**

Bei vielen Arten gibt es geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten. Bei Vögeln bilden meist die Männchen das philopatrische Geschlecht (Greenwood et al. 1980, Pusey 1987). Das philopatrische Geschlecht lässt sich an einer stärkeren genetischen Strukturierung erkennen, da verwandte Tiere näher beieinander bleiben (Prugnolle & De Meeus 2002, Goudet 2002). Deshalb sollte das philopatrische Geschlecht eine stärkere Isolation durch Distanz zeigen (Peakall et al. 2003).

Um zu prüfen, ob Unterschiede in der Isolation durch Distanz bestehen, wurden die Daten der Männchen und Weibchen getrennt analysiert. Es wurden ausschließlich die Daten adulten Tiere, deren Geschlecht sicher bestimmt werden konnte, verwendet ( $N(\text{Weibchen}) = 136$ ,  $N(\text{Männchen}) = 53$ ). Wie bei den oben beschriebenen Analysen zur Isolation der Distanz (Abschnitt 2.7.6) wurden einerseits der Mantel-Test mit ALLELES IN SPACE 1.0, andererseits die Autokorrelationsanalyse mit SPAGEDI 1.2 für beide Geschlechter getrennt durchgeführt. Bei der Autokorrelationsanalyse wurden die Allelfrequenzen aller adulten

Individuen der Berechnung der Verwandtschaftskoeffizienten zu Grunde gelegt. Für alle Rechnungen wurden ansonsten die gleichen Parameter wie oben beschrieben verwendet.

### 2.7.8 Genfluss

Eine Quantifizierung des Genflusses ist hilfreich, um einschätzen zu können, ob die Migrationsraten ausreichend groß sind, um einen Verlust genetischer Diversität zu verhindern und gleichzeitig limitiert genug, um lokale Anpassungen zu ermöglichen. Die Berechnung unidirektionaler Migrationsraten ermöglicht zudem die Identifikation von Senkenpopulationen, die nur durch Migranten aus Quellenpopulationen überleben können (Dias 1996, Segelbacher et al. 2003b).

Um das Ausmaß des Genflusses zu schätzen, wurde das Programm MIGRATE 3.0.3 (Beerli 2008) verwendet. Die Schätzungen beruhen auf einer Maximum-Likelihood-Methode (Beerli & Felsenstein 1999). Dabei wird die Migrationsrate bestimmt, für die die Wahrscheinlichkeit am größten ist, die beobachteten Daten zu erhalten. Um die wahrscheinlichste Migrationsrate zu finden, konstruiert das Programm mit einem Koaleszenzmodell zufällige genetische Stammbäume. Dabei wird die Herkunft der Allele aller Individuen zurückverfolgt, bis sie in einem gemeinsamen Vorfahr verschmelzen. Das Koaleszenzmodell bezieht auch zufällige Drift und Mutationen mit ein. Auch in diesem Programm wird ein Markov-Ketten-Monte-Carlo-Algorithmus verwendet. In diesem Fall sucht der Algorithmus aus der Menge aller möglichen Allelstrombäume die wahrscheinlichsten. Aus den wahrscheinlichsten Stammbäumen lassen sich dann Muster des Genflusses ableiten. Der Vorteil dieser Methode ist, dass ungleiche Populationsgrößen und asymmetrische Migrationsraten nicht ausgeschlossen werden. Dadurch werden die Schätzungen der Migrationsrate präziser (Allendorf & Luikart 2007).

Für die Berechnungen wurden die Allelindaten der sechs Populationen verwendet. Als Mikrosatellitenmodell wurde das Brownian-Motion-Modell gewählt, das nicht von einer schrittweisen, sondern einer kontinuierlichen Mutation ausgeht. Diese Annäherung ermöglicht schnellere Parameterschätzungen. Für jeden Locus wurden zehn kurze und drei lange Markov-Ketten mit 5000 bzw. 20000 Stammbäumen gerechnet. Zu Beginn jeder Kette wurden zunächst 10000 Stammbäume verworfen, um sicherzustellen, dass die Kette unabhängig vom Startpunkt ist. Zusätzlich wurden 95 %-Konfidenzintervalle für alle Migrationsraten berechnet.

### 2.7.9 Verwandtschaftsanalysen

Die Anwendung molekularer Daten für Verwandtschaftsanalysen hat in den letzten Jahren genauere Einblicke in verschiedene Paarungssysteme ermöglicht. Während Feldbeobachtungen Aufschlüsse über das soziale Paarungssystem geben, kann durch die Analyse von

Mikrosatellitendaten auch das genetische Paarungssystem aufgedeckt werden, das sich oft erheblich vom sozialen unterscheidet (Freeland 2005).

Die Elternschaftsanalysen wurden mit CERVUS 3.0.3 durchgeführt. Die Tests beruhen auf Maximum-Likelihood-Berechnungen. Mit dieser Methode können nicht nur Individuen, die Fehlpaarungen zu den Jungen aufweisen, als mögliche Eltern ausgeschlossen werden, sondern auch, wenn mehrere Individuen keine Fehlpaarungen aufweisen, das wahrscheinlichste Elterntier unter diesen gefunden werden. Die Elternschaftswahrscheinlichkeiten werden auf Grundlage der Allelhäufigkeiten der Gesamtpopulation und dem erwarteten Anteil der gemeinsamen Allele zwischen Eltern und Nachkommen bestimmt. Für jedes mögliche Elterntier wird die Wahrscheinlichkeit berechnet, dass es das genetische Elterntier ist bzw. nicht ist. Von diesen beiden Werten wird das Verhältnis gebildet. Wenn die Identität eines Elterntiers schon bekannt ist, kann dessen Genotyp in die Analysen miteinbezogen werden. Die Sicherheit der Ergebnisse wird dadurch erhöht. Mit Hilfe von simulierten Genotypen von Jungtieren ermittelt CERVUS auf Grundlage der Allelfrequenzen der Population die Signifikanz des Ergebnisses. Dabei wird berücksichtigt, dass möglicherweise Loci falsch typisiert sind oder von den genetischen Eltern keine Proben vorliegen.

Zur Berechnung der Allelhäufigkeiten wurden die Alleldaten aller adulten Individuen der Stuttgarter Population ( $N = 120$ ) benutzt. Zunächst wurden die Mutterschaften überprüft. Dazu wurden 10000 Jungtiere simuliert. Der Anteil an falsch typisierten Loci wurde auf 3 % gesetzt. Als mögliche Mütter wurden nur die sozialen Mütter angegeben, die Wahrscheinlichkeit, dass von den genetischen Müttern Proben genommen wurden, wurde auf 95 % gesetzt. Die Genotypen der identifizierten Mütter wurden dann in die Vaterschaftstests mit einbezogen. Da genetische Monogamie bei den Steinkäuzen wahrscheinlich ist, wurde eine Wahrscheinlichkeit von 90 %, dass der tatsächliche genetische Vater beprobt wurde, angenommen. Als mögliche Väter wurden alle im Jahr 2009 in der Region Stuttgart gefangenen Männchen ( $N = 34$ ) angegeben.

Bei den Familien, bei denen keine Daten zu den Vätern vorlagen, wurde untersucht, ob alle Nachkommen den gleichen Vater haben. Dazu wurden zunächst wie oben beschrieben mit CERVUS 3.0.3 die Mutterschaften verifiziert. Dann wurde mit KINGROUP v2 (Konovalov et al. 2004) getestet, ob es sich bei den Geschwistern um Halb- oder Vollgeschwister handelt. Auch KINGROUP berechnet dazu Wahrscheinlichkeitsverhältnisse auf Grundlage der Allelfrequenzen einer Population. Zur Berechnung der Allelfrequenzen wurden erneut die Alleldaten der Population bei Stuttgart benutzt. Als Nullhypothese wurde angenommen, dass es sich um Vollgeschwister handelt. Die Signifikanz des Ergebnisses wurde mit 10000 Permutationen der Allele zwischen den Individuen getestet.



## 3 Ergebnisse

### 3.1 Genotypisierung

Insgesamt wurden 304 Individuen genotypisiert. Bei 21 Individuen konnten mehr als drei Loci nicht typisiert werden (7,1 %), bei 14 davon handelte es sich um Mauserfedern aus dem Jahr 2007. Diese wurden aus den Analysen ausgeschlossen. Bei weiteren fünf Individuen stellte sich heraus, dass sie sowohl im Jahr 2007 als auch im Jahr 2009 beprobt worden waren. So blieben die Genotypen von 278 Individuen für die Auswertung. 233 wurden für die Populationsanalysen benutzt, 45 Jungtiere aus dem Raum Stuttgart, von denen auch Elterntiere beprobt wurden, wurden ausschließlich für die Verwandtschaftsanalysen verwendet (siehe Anhang für detaillierte Angaben zu den Individuen).

Für insgesamt 20 Individuen wurde die Genotypisierung einmal wiederholt, um die Fehlerrate bei der Typisierung zu bestimmen. In sechs Fällen wurde der Genotyp eines Locus bei der Wiederholung anders bestimmt, was einer Fehlerquote von 3,3 % entspricht.

### 3.2 Test der verwendeten Marker

Zwölf polymorphe Mikrosatellitenloci wurden für die Genotypisierungen verwendet. Für die Überprüfung der Eignung für populationsgenetische Untersuchungen wurden die Alledaten von 233 Individuen verwendet. Da sich bei Locus *Atn6* schon bei den ersten Genotypisierungen ein hoher Homozygotiegrad zeigte, wurden hier nur 124 Tiere genotypisiert. Die zwölf Loci weisen Allelzahlen zwischen fünf und elf auf (Tabelle 3.1). Die beobachtete Heterozygotie liegt zwischen 0,26 und 0,81, die erwartete zwischen 0,62 und 0,8. Nur der Marker *Atn6* zeigt eine starke Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. *Atn6* hat auch als einziger Marker eine stark erhöhte Nullallelfrequenz von 0,49. Auffällig ist, dass alle Weibchen homozygot für diesen Locus sind, was darauf hinweist, dass dieser Marker auf dem Geschlechtschromosom Z liegt. Der PIC-Wert (polymorphic information content), ein Maß für die Nutzbarkeit eines Locus für die Detektion von Variabilität innerhalb einer Population, nimmt Werte zwischen 0,59 und 0,77 an. Ein Kopplungsungleichgewicht zwischen zwei Markern, konnte nicht entdeckt werden. Somit konnten für die Auswertung der Daten elf der zwölf Loci verwendet werden, *Atn6* wurde aus den Analysen ausgeschlossen.



### 3.3 Geschlechtsbestimmung

Von 123 im Frühjahr gefangenen Individuen wurde das Geschlecht optisch über das Vorhandensein eines Brutflecks bestimmt. Bei 100 davon handelte es sich um Weibchen, 23 waren Männchen. Das Geschlecht der restlichen 90 adulten Tiere wurde mit genetischen Methoden bestimmt. Diese Geschlechtsbestimmung war in 66 Fällen erfolgreich (73,3 %), 30 Individuen wurden als Männchen bestimmt, 36 als Weibchen (siehe Anhang zu Angaben über die Herkunft).

### 3.4 Genetische Diversität

Für die sechs Populationen Stuttgart, Mainz, Lörrach, Kaiserstuhl, Genf und Miltenberg wurde die genetische Diversität berechnet. Die über die Loci gemittelten Allelzahlen betragen zwischen 4,25 (Kaiserstuhl) und 6,55 (Mainz) (Tabelle 3.2). Die Allelic Richness, ein Maß für die Allelzahl, das nicht von der Stichprobengröße abhängt, ergab für alle Populationen ähnliche Werte zwischen 3,79 (Kaiserstuhl) und 4,31 (Miltenberg). Die beobachtete Heterozygotie nimmt Werte zwischen 0,69 im Dreiländereck und 0,74 in Genf an. Die erwartete Heterozygotie liegt zwischen 0,70 (Stuttgart) und 0,74 (Genf). Unterschiede in der Allelic Richness, erwarteter und beobachteter Heterozygotie ergaben sich nicht zwischen den Populationen (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test, Bonferroni-korrigiertes Signifikanzniveau  $p = 0,003$ ) (siehe Anhang für die Teststatistiken aller paarweisen Vergleiche). Die Inzuchtkoeffizienten unterscheiden sich in keiner der Populationen von Null. Für fünf andere Eulenarten fanden sich in der Literatur Werte für die genetische Diversität in ungefährdeten Populationen (Tabelle 3.3). Über die fünf Arten gemittelt ergab sich eine Allelzahl von 8,2 und Werte für  $H_o$  und  $H_e$  von 0,60 bzw. 0,70.

### 3.5 Test auf Populationsrückgang und Flaschenhals

Mit dem Programm BOTTLENECK wurde getestet, ob in den Populationen mit Stichproben ab zehn Individuen ein Heterozygotenüberschuss detektiert werden kann. Unter Annahme des infiniten Allelmodells ergab sich ein signifikanter Heterozygotenüberschuss für alle fünf getesteten Populationen Stuttgart, Mainz, Kaiserstuhl, Lörrach und Genf (Zweiseitiger Wilcoxon-Rang-Test,  $p < 0,05$ ). Unter dem Zwei-Phasen-Modell mit einem Anteil der schrittweisen Mutation von 90 % ergaben sich signifikante Ergebnisse für die Populationen Stuttgart und Lörrach (Zweiseitiger Wilcoxon-Rang-Test,  $p < 0,05$ ) (siehe Anhang für eine Auflistung der Signifikanzwerte der einzelnen Populationen).

**Tabelle 3.2:** Die Tabelle zeigt die genetische Diversität aller sechs Populationen. Angegeben sind die Individuenzahl  $N$ , die Allelzahl  $A$ , die Allelic Richness  $A_R$ , die beobachtete Heterozygotie  $H_o$ , die erwartete Heterozygotie  $H_e$  (Standardabweichung jeweils in Klammern) und der Inzuchtkoeffizient  $F_{IS}$  gemittelt über alle Loci. Der  $p$ -Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an,  $F_{IS}$ -Werte zu erhalten, die größer sind als die beobachteten (wenn  $F_{IS} > 0$ ), bzw. kleiner als die beobachteten (für  $F_{IS} < 0$ ), basierend auf 6600 Permutationen.

	A	$A_R$	$H_o$	$H_e$	$F_{IS}$	p
Stuttgart (N = 120)	6,36 (1,36)	4,10 (0,58)	0,70 (0,01)	0,72 (0,02)	0,026	0,06
Mainz (N = 58)	6,55 (1,44)	4,25 (0,61)	0,72 (0,02)	0,73 (0,02)	0,016	0,25
Lörrach (N = 17)	4,91 (1,04)	4,21 (0,60)	0,72 (0,03)	0,73 (0,02)	0,017	0,36
Kaiserstuhl (N = 10)	4,27 (1,01)	3,79 (0,66)	0,70 (0,04)	0,70 (0,01)	-0,007	0,51
Genf (N = 13)	5,00 (1,00)	4,13 (0,77)	0,74 (0,04)	0,72 (0,03)	-0,032	0,25
Miltenberg (N = 7)	4,45 (0,69)	4,31 (0,70)	0,71 (0,05)	0,71 (0,02)	0,001	0,52

**Tabelle 3.3:** In der Tabelle sind für ungefährdete Populationen fünf anderer Eulenarten die Anzahl der genotypisierten Individuen  $N$ , die Werte für die Allelzahl  $A$ , die beobachtete Heterozygotie  $H_o$  und die erwartete Heterozygotie  $H_e$  angegeben. Zusätzlich sind die über die fünf Arten gemittelten Werte für  $A$ ,  $H_o$  und  $H_e$  einschließlich der Standardabweichung angegeben. Die Werte wurden folgenden Quellen entnommen: <sup>1</sup> Brito (2007), <sup>2</sup> Koopman et al. (2004); <sup>3</sup> Thode et al. (2002); <sup>4</sup> Hogan et al. (2007); <sup>5</sup> Proudfoot et al. (2005).

Art	N	A	$H_o$	$H_e$
<i>Strix aluco</i> <sup>1</sup>	20	7,4	0,59	0,68
<i>Aegolius funereus</i> <sup>2</sup>	36	5,6	0,42	0,50
<i>Strix occidentalis</i> <sup>3</sup>	82	9,9	0,80	0,79
<i>Ninox strenua</i> <sup>4</sup>	32	6,9	0,63	0,66
<i>Glaucidium brasilianum</i> <sup>5</sup>	57	10,4	0,58	0,67
Mittelwert (Standardabweichung)		8,2 (2,3)	0,60 (0,14)	0,70 (0,10)

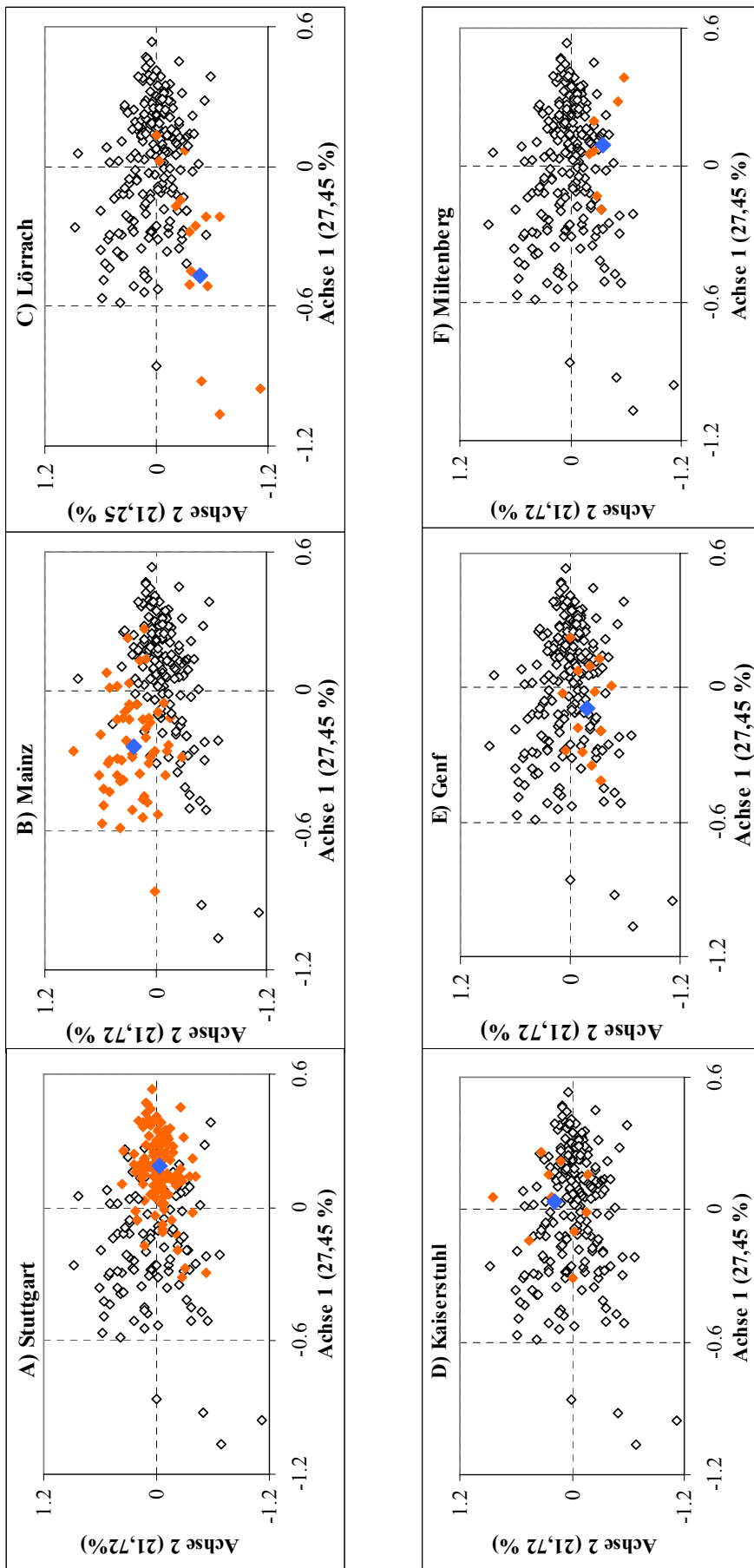
### 3.6 Genetische Differenzierung

Für die sechs Populationen wurden paarweise  $F_{ST}$ -Werte berechnet, um genetische Differenzierungen aufzudecken. Die  $F_{ST}$ -Werte betragen zwischen 0,01 (Mainz-Stuttgart) und 0,07 (Kaiserstuhl - Miltenberg) (Tabelle 3.4). Damit sind sie zwar gering, unterscheiden sich außer bei der Paarung Lörrach/Genf aber dennoch immer von Null. Zusätzlich wurden die standardisierten  $F_{ST}$ -Werte berechnet, die den Anteil der maximal möglichen Differenzierung angeben. Die standardisierten  $F_{ST}$ -Werte betragen zwischen 0,03 (Mainz-Stuttgart) und 0,23 (Kaiserstuhl - Miltenberg).

**Tabelle 3.4:** In der Tabelle sind oberhalb der Diagonalen die paarweisen  $F_{ST}$ -Werte angegeben, alle unterstrichenen Werte sind signifikant (15000 Permutationen, Bonferroni-korrigiertes Signifikanzlevel  $p = 0,003$ ). Unterhalb der Diagonalen sind die standardisierten  $F_{ST}$ -Werte angegeben, die den realisierten Anteil der maximal möglichen Differenzierung darstellen. Zusätzlich ist die Anzahl  $N$  der jeweils genotypisierten Tiere angegeben.

	Stuttgart	Mainz	Lörrach	Kaiserstuhl	Genf	Miltenberg
Stuttgart (N = 120)	---	<u>0,010</u>	<u>0,026</u>	<u>0,024</u>	<u>0,015</u>	<u>0,022</u>
Mainz (N = 58)	0,034	---	<u>0,017</u>	<u>0,030</u>	<u>0,019</u>	<u>0,020</u>
Lörrach (N = 17)	0,094	0,066	---	<u>0,043</u>	0,015	<u>0,032</u>
Kaiserstuhl (N = 10)	0,081	0,105	0,150	---	<u>0,035</u>	<u>0,069</u>
Genf (N = 13)	0,052	0,071	0,056	0,120	---	<u>0,033</u>
Miltenberg (N = 7)	0,079	0,072	0,114	0,231	0,117	---

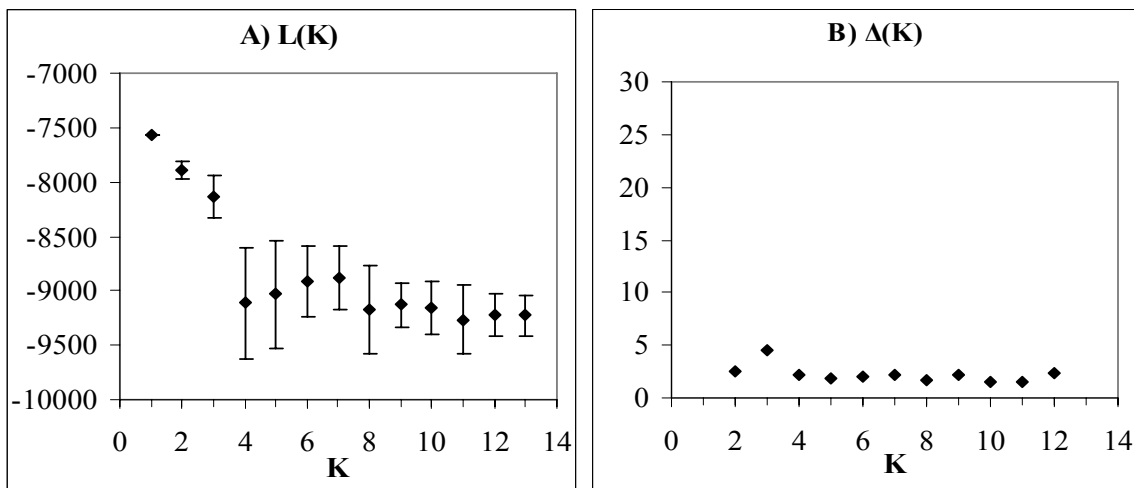
Mit einer faktoriellen Korrespondenzanalyse über die Populationen wurden mögliche Unterschiede zwischen den Populationen grafisch sichtbar gemacht (Abb. 3.1). Zur Übersichtlichkeit ist jede Population in einem eigenen Schaubild dargestellt. Die beiden Achsen beschreiben 27,45 % und 21,72 % der Gesamtvariabilität. Die Unterschiede, die durch die signifikanten  $F_{ST}$ -Werte beschrieben werden, spiegeln sich auch in den Grafiken wieder. Es gibt große Überlappungen zwischen den Populationen, dennoch ist eine Auftrennung der Populationen zu erkennen. Die Populationen Mainz und Stuttgart trennen sich entlang der ersten Achse auf, die Populationen Miltenberg und der Kaiserstuhl entlang der zweiten. Die Individuen aus Lörrach gruppieren sich im linken unteren Bereich der Grafik. Die Population aus Genf ist mittig angesiedelt.



**Abbildung 3.1:** Die Grafiken zeigen die Verteilung der Individuen der unterschiedlichen Populationen im zweidimensionalen Raum (Faktorielle Korrespondenzanalyse über die Populationen). Orangefarbene Rauten bezeichnen die Individuen der jeweils dargestellten Population (A Stuttgart (N=120), B Mainz (N=58), C Lörrach (N=17), D Kaiserstuhl (N=10), E Genf (N=13), F Miltenberg (N=7)), blaue Rauten den jeweiligen Zentroiden, schwarz umrandete Rauten bezeichnen alle anderen Individuen.

### 3.7 Individuenbasierte räumliche Struktur

Mit den Programmen STRUCTURE und TESS wurde nach Populationsstrukturen ohne Voreinteilung der Individuen gesucht. Die Analysen mit STRUCTURE ergaben im Durchschnitt die höchste Wahrscheinlichkeit für nur ein Cluster  $K = 1$  (durchschnittliche Wahrscheinlichkeit  $L(1) = -7573,19$ ) (Abb. 3.2). Um das Ergebnis zu bestätigen, wurde zusätzlich die von Evanno (2005) empfohlene Berechnung von  $\Delta(K)$  durchgeführt. Damit lässt sich nicht direkt sichtbar machen, dass für  $K = 1$  das beste Ergebnis geliefert wird, allerdings ergeben sich für die anderen Werte von  $K$  keine hohen Werte von  $\Delta(K)$ , wodurch indirekt gezeigt wird, dass es keine genetischen Substrukturen gibt (Abb. 3.2). Die fehlenden Substrukturen machte auch die Detektion von Einwanderern unmöglich.

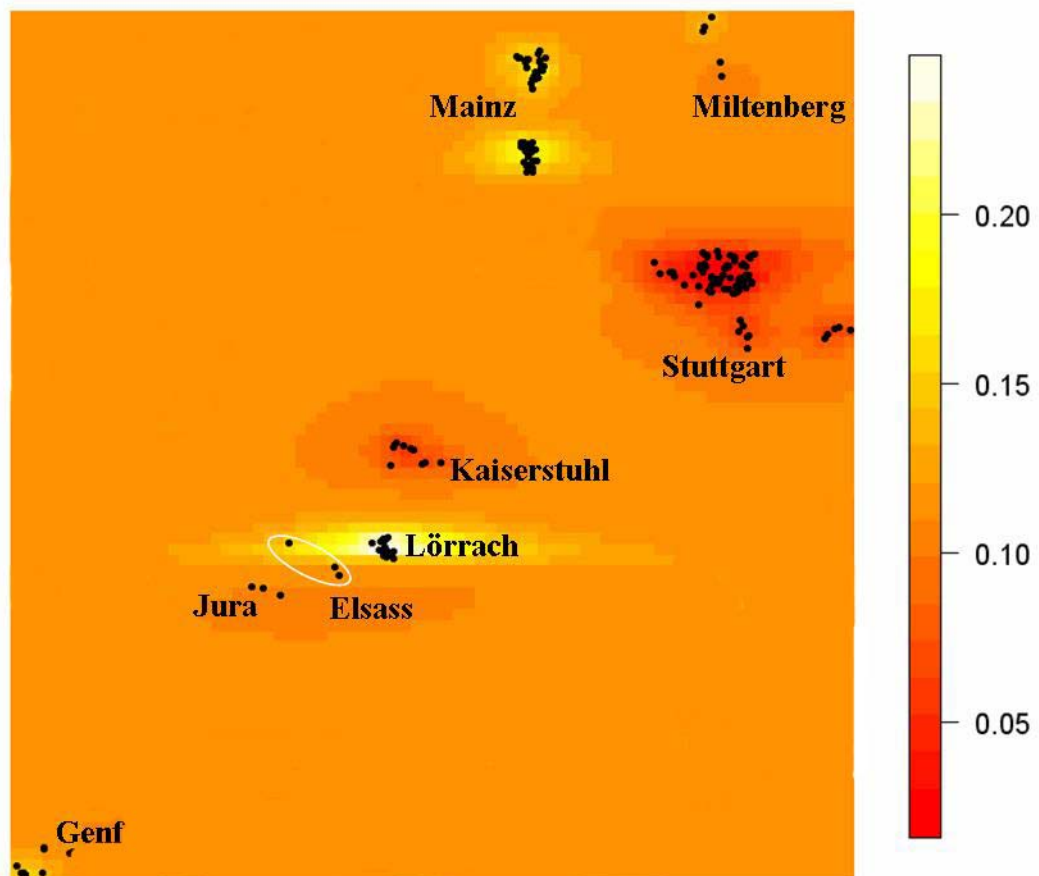


**Abbildung 3.2:** In den Grafiken sind die Ergebnisse der Clusteranalysen mit dem Programm STRUCTURE unter Annahme von  $K$  Clustern ( $K=1-13$ ) zu sehen ( $N=233$ ). A) zeigt die Wahrscheinlichkeits-Werte  $L(K)$  für die einzelnen  $K$ s (Mittelwert und Standardabweichung von 10 Läufen), B) die Änderungsrate  $\Delta(K)$  zur Bestimmung der korrekten Clusterzahl nach Evanno (2005).

Auch mit dem Programm TESS konnte keine deutliche Clusterung der Individuen entdecken. Zwar nehmen die mittleren Abweichungen mit zunehmendem  $K$  ab, die Säulendiagramme, in denen die Anteile der Individuen an den verschiedenen Clustern dargestellt sind, sind aber ab  $K = 2$  stabil. Zur Veranschaulichung wurden für  $K = 2$  100 Läufe gerechnet und die 20 Läufe mit den niedrigsten Abweichungen gemittelt (durchschnittliche Abweichung: 14970,74). Abb. 3.3 zeigt die grafische Darstellung der gemittelten Ergebnisse. Alle 233 Individuen weisen überwiegend Anteile eines einzigen Clusters auf, die Anteile am zweiten Cluster sind gering, treten aber vor allem in den Populationen Mainz und Lörach auf, wie man auch in der räumlichen Darstellung der Clusteranteile erkennen kann (Abb. 3.4).



**Abbildung 3.3:** Das Histogramm zeigt die Ergebnisse der Clusteranalyse mit dem Programm TESS für die Clusterzahl  $K=2$  (gemittelte Ergebnisse der 20 wahrscheinlichsten Läufe aus 100). Jeder Balken entspricht einem Individuum aus den jeweiligen Populationen ( $N=233$ ). Die Farben bezeichnen die Anteile der Individuen an den beiden Clustern, Cluster eins ist rot, Cluster zwei gelb dargestellt.

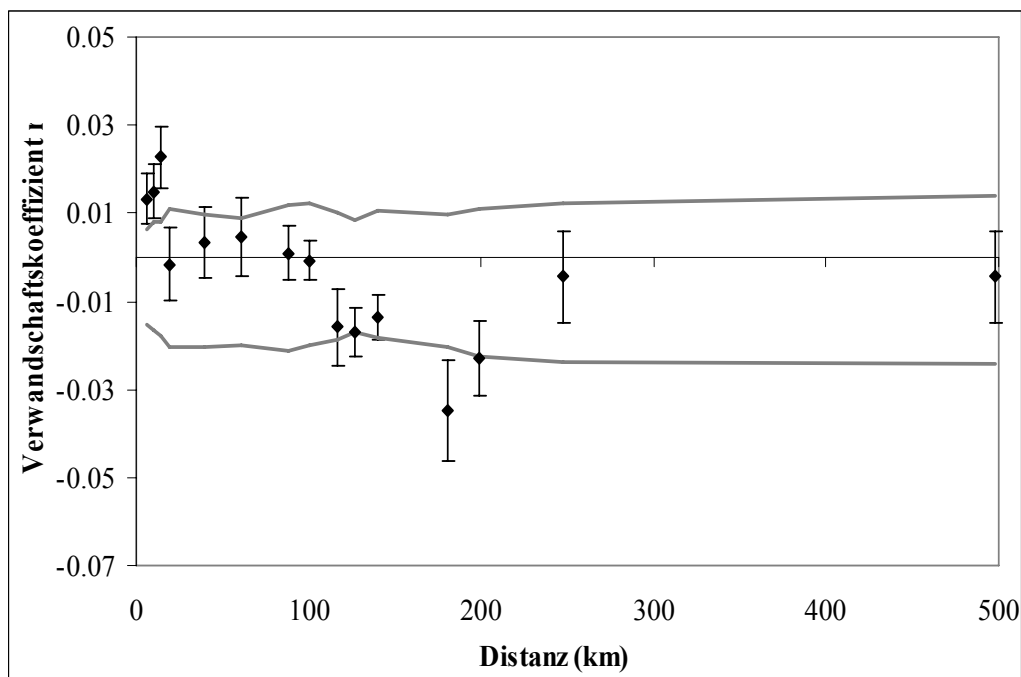


**Abbildung 3.4:** Die Grafik zeigt die räumliche Verteilung der jeweiligen Anteile an den beiden Clustern eins (rot) und Cluster zwei (gelb). Die schwarzen Punkte bezeichnen die einzelnen Individuen ( $N=233$ ). Rote Bereiche haben sehr geringe Anteile an Cluster zwei ( $<0,05$ ), gelbe Bereiche haben höhere Anteile an Cluster zwei (0,2).



### 3.8 Isolation durch Distanz

Um zu testen, ob eine Isolation durch Distanz besteht, wurde mit den Daten von 213 adulten Tieren eine Korrelation zwischen geografischer und genetischer Distanz durchgeführt. Diese erwies sich als signifikant (Manteltest,  $r = 0,068$ ;  $p = 0,01$ ). Bei der Autokorrelationsanalyse wurden alle Individuenpaare in 15 Distanzklassen mit jeweils gleicher Anzahl von Paaren eingeteilt (etwa 1500 Paare pro Distanzklasse) und die mittleren Verwandtschaftskoeffizienten berechnet. Bis zu einer Distanz von 15 km sind die mittleren paarweisen Verwandtschaftskoeffizienten positiv, in den restlichen Distanzklassen unterscheiden sie sich nicht mehr von Null oder werden negativ (Abb. 3.5).



**Abbildung 3.5:** Die Grafik zeigt die Autokorrelation zwischen mittlerer paarweiser Verwandtschaft (nach Queller & Goodnight, 1989) und geografischer Distanz, berechnet für  $N = 213$  adulte Individuen. Schwarze Rauten geben die gemittelten paarweisen Verwandtschaften in unterschiedlichen Distanzklassen an, Balken die Standardabweichung, graue Linien die 95 % Konfidenzintervalle.

### 3.9 Geschlechtsspezifische Unterschiede im Abwanderungsverhalten

Um zu testen, ob sich die Geschlechter in ihrem Abwanderungsverhalten unterscheiden, wurden die Alledaten der Männchen ( $N = 53$ ) und Weibchen ( $N = 136$ ) getrennt analysiert. Bei den Männchen ergab sich eine Korrelation zwischen geografischer und genetischer Distanz ( $r = 0,14$ ;  $p = 0,02$ ), bei den Weibchen war diese Korrelation nicht signifikant ( $r = 0,05$ ;  $p = 0,08$ ). Bei der Autokorrelationsanalyse wurden die Individuenpaare in jeweils 15 Distanzklassen mit gleicher Anzahl von Paaren aufgeteilt (jeweils etwa 95 Paare bei den

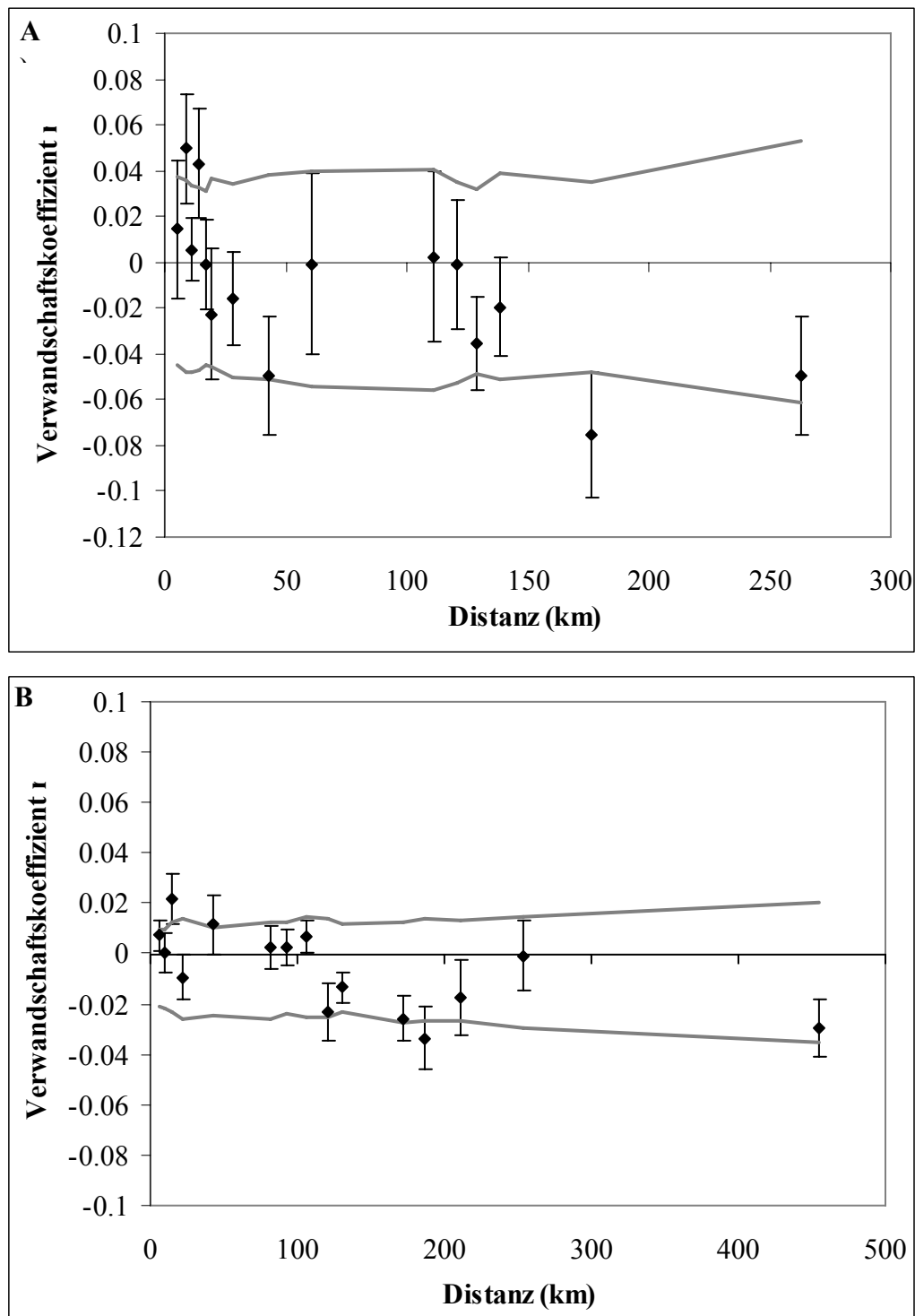
Männchen und 612 bei den Weibchen). Da in der relativ abgelegenen Region Genf keine Federn von Männchen gesammelt wurden, reichen die Distanzklassen der Männchen nur bis knapp 300 km, die der Weibchen bis etwa 450 km. Bei den Männchen liegen die Werte für die mittleren Verwandtschaften zwischen 0,05 und -0,08, bei den Weibchen zwischen 0,02 und -0,03 (Abb. 3.6). Die Männchen zeigen in der zweiten und vierten Distanzklasse bei 9 und 14 km Werte, die signifikant größer sind als Null, bei den Weibchen liegt nur der Wert in der Distanzklasse von 14 km signifikant über Null.

### 3.10 Genfluss

Mit dem Programm MIGRATE sollte herausgefunden werden, wie groß der Genfluss zwischen den Populationen ist und ob er gerichtet ist. Zwischen allen sechs Populationen konnte Genfluss detektiert werden. Die Werte für die Migrationsrate, also die Anzahl der Migranten pro Generation, schwanken zwischen 0,13 (zwischen Miltenberg und Kaiserstuhl) und 4,10 (von Stuttgart nach Mainz), der Median liegt bei 0,84 (Tabelle 3.5). Zwischen einigen Populationen ist der Austausch nicht vollständig symmetrisch, so ergibt sich z.B. ein Genfluss von 4,1 von Stuttgart nach Mainz, aber nur von 2,27 in die andere Richtung. Die Summe der Emigrationsraten liegt zwischen 4,76 und 7,08, somit wandern aus allen Populationen Individuen ab.

**Tabelle 3.5:** Die Tabelle zeigt die unidirektionalen Migrationsraten zwischen den Populationen und die Gesamtsummen der Emigrationsraten jeder Population. Werte in Klammern sind die 95 % Konfidenzintervalle. Zusätzlich ist die Anzahl N der jeweils genotypisierten Individuen angegeben.

		VON					
		Stuttgart	Mainz	Lörrach	Kaiserstuhl	Genf	Miltenberg
NACH	Stuttgart (N = 120)	---	2.27 (1.99-2.59)	1.72 (1.49-2.00)	2.98 (2.64-3.36)	3.65 (3.26-4.08)	1.42 (1.21-1.66)
	Mainz (N = 58)	4.10 (3.60-4.65)	---	1.54 (1.29-1.83)	0.94 (0.76-1.15)	1.58 (1.33-1.88)	1.49 (1.24-1.77)
	Lörrach (N = 17)	0.81 (0.64-1.03)	1.04 (0.83-1.29)	---	0.66 (0.51-0.85)	1.19 (0.97-1.47)	1.06 (0.85-1.32)
	Kaiserstuhl (N = 10)	0.59 (0.47-0.74)	0.87 (0.71-1.06)	0.46 (0.36-0.59)	---	0.39 (0.30-0.50)	0.13 (0.08-0.19)
	Genf (N = 13)	0.57 (0.45-0.71)	0.97 (0.80-1.17)	0.67 (0.54-0.83)	0.39 (0.30-0.51)	---	0.66 (0.53-0.82)
	Miltenberg (N = 7)	0.57 (0.44-0.72)	0.40 (0.30-0.52)	0.48 (0.37-0.62)	0.51 (0.40-0.66)	0.27 (0.19-0.36)	---
	Gesamt	6.63 (5.61-7.85)	5.55 (4.63-6.64)	4.90 (4.05-5.88)	5.49 (4.61-6.53)	7.08 (6.04-8.30)	4.76 (3.92-5.76)



**Abbildung 3.6:** In den Grafiken ist die Autokorrelation zwischen mittlerer paarweiser Verwandtschaft (nach Queller & Goodnight, 1989) und geografischer Distanz für Männchen (Grafik A, N=53) und Weibchen (Grafik B, N=134) dargestellt. Rauten geben die gemittelten paarweisen Verwandtschaften in unterschiedlichen Distanzklassen an; Balken die Standardabweichungen; graue Linien die 95 % Konfidenzintervalle.

### 3.11 Verwandtschaftsanalysen

Die Wahrscheinlichkeiten, dass falsche Elterntiere nicht ausgeschlossen werden können, wurden auf Grundlage der Allelfrequenzen der adulten Tiere aus Stuttgart ( $N = 120$ ) berechnet. Für alle elf Loci zusammen betragen diese 0,0167, wenn kein Elternteil bekannt ist und 0,0007, wenn ein Elternteil bekannt ist.

Insgesamt wurden 14 Familien mit Vätern und Müttern beprobt. Zum Zeitpunkt der Probennahme im Alter von zwei bis drei Wochen hatten die Familien durchschnittlich 2,2 Junge. In einem Fall konnten die Jungen nicht genotypisiert werden, so dass die Vaterschaften nur für 13 Familien bestimmt wurden. Alle pflegenden Mütter konnten ohne Fehlpaarungen als genetische Mütter bestätigt werden. Die Genotypen der Mütter wurden daraufhin für die Vaterschaftstests als bekannt vorausgesetzt. Bei 28 von 29 Jungtieren handelte es sich beim sozialen Vater auch um den genetischen Vater (96,6 %). Einem Jungtier aus Kleinsachsenheim konnte kein genetischer Vater zugeordnet werden, obwohl aus diesem Brutgebiet auch die Väter aller umliegenden Nester beprobt worden waren. Beim wahrscheinlichsten Vater traten drei, beim sozialen Vater vier Fehlpaarungen auf. Im Falle der Familie, bei der im Juni ein zweites Männchen gefunden wurde, war das Männchen, das im April beprobt wurde, genetischer Vater der Jungen.

Zusätzlich wurde für vier Familien mit jeweils vier Jungtieren, bei denen die sozialen Väter nicht beprobt werden konnten, bestimmt, ob es sich dabei um Vollgeschwister handelt. Zunächst wurden auch hier die Mutterschaften verifiziert. In einem Fall gab es eine Fehlpaarung, das Ergebnis war aber trotzdem signifikant. Nur bei einem Geschwisterpaar ergab die Berechnung des Wahrscheinlichkeitsverhältnisses, dass es sich wahrscheinlicher um Halbgeschwister als Vollgeschwister handelt. Bei allen anderen Paarungen wurde die Nullhypothese, dass es sich um Vollgeschwister handelt, nicht zurückgewiesen (siehe Anhang für eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse aller Verwandtschaftsanalysen).

## 4 Diskussion

Genetische Untersuchungen sind für den Schutz bedrohter Arten von großer Bedeutung, da gefährdete Populationen rasch identifiziert und Schutzmaßnahmen ergriffen werden können. Gefährdet sind vor allem Populationen, die durch eine geringe genetische Diversität, ausbleibenden Genfluss zu anderen Populationen und kleine effektive Populationsgrößen charakterisiert sind (Frankham et al. 2002). Der Bestand des Steinkauzes ging in den letzten Jahren in Süddeutschland und angrenzenden Gebieten stark zurück und die verbleibenden Populationen sind räumlich getrennt (Schönn et al. 1991, Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In dieser Arbeit wurden die genetische Diversität, die Populationsstruktur und das Brutsystem des Steinkauzes in Süddeutschland, der Schweiz und dem Elsass (Frankreich) untersucht, um die Gefährdung der Populationen zu bewerten. Die untersuchten Populationen weisen weder eine verringerte genetische Diversität im Vergleich zu anderen Arten auf, noch zeigen sie Anzeichen von Inzucht. Eine geringe Strukturierung der Populationen deutet darauf hin, dass Genfluss für einen Erhalt der genetischen Diversität in den Populationen sorgt. Dabei gibt es keine Hinweise auf eine Quellen-Senken-Dynamik. Nur bei den Männchen ergab sich eine Korrelation zwischen geografischer und genetischer Distanz, was darauf hinweist, dass vor allem die Weibchen den Genfluss zwischen den Populationen vermitteln. Dies könnte dazu führen, dass im Falle des Aussterbens einer Population eine schnelle Wiederbesiedlung ausbleibt. Es wurde nur eine einzige Fremdvaterschaft gefunden. Somit wird die effektive Populationsgröße der Steinkäuze nicht durch Polygamie vermindert. Im Folgenden werden diese Punkte genauer diskutiert und besprochen, welche weiteren Maßnahmen für den Schutz des Steinkauzes getroffen werden sollten.

### 4.1 Genetische Diversität und Inzucht

Eine hohe genetische Diversität ist wichtig für die Überlebensfähigkeit einer Population, da sie die Anpassung an eine sich ändernde Umwelt ermöglicht. Reed und Frankham (2003) zeigten, dass das Ausmaß der genetischen Diversität einer Population positiv mit dem Reproduktionserfolg der Individuen korreliert. In jeder Population geht durch genetische Drift, die zufällige Veränderung von Allelfrequenzen, genetische Diversität verloren. Die Stärke der genetischen Drift wird durch die Populationsgröße bestimmt. Je kleiner eine Population ist, desto schneller nimmt die Diversität ab (Frankham et al. 2002). Vor allem ein starker Bestandsrückgang oder Flaschenhals bringt eine rasche Abnahme der genetischen Diversität mit sich (Waits et al. 2000). In kleinen Populationen erhöht sich auch die Gefahr der Inzucht. Diese kann zur Ansammlung negativer Mutationen und Inzuchtdepression führen

(Madsen et al. 1996). Geringe genetische Diversität und Inzucht sind somit Gründe für die besondere Gefährdung kleiner Populationen. Der Bestand des Steinkauzes in Süddeutschland und der Schweiz ist in den letzten Jahrzehnten stark zurückgegangen (Schönn et al. 1991, Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Ob es dabei auch zu einer Verringerung der genetischen Diversität und Inzucht kam, wurde mit Hilfe der Mikrosatellitendaten untersucht.

Als Maß für die genetische Diversität wurden die Allelzahlen, die Allelic Richness, ein Maß, das die Allelzahlen für die unterschiedlichen Stichprobengrößen korrigiert, und die Heterozygotiegrade errechnet. Für die einzelnen Populationen, Stuttgart, Mainz, Lörrach, Kaiserstuhl, Genf und Miltenberg ergaben sich durchschnittliche Allelzahlen zwischen 4,3 und 6,6. Die Allelic Richness beträgt zwischen 3,8 und 4,3. Die Werte für die beobachtete Heterozygotie liegen zwischen 0,70 und 0,74, für die erwartete Heterozygotie zwischen 0,70 und 0,73. Um zu überprüfen, ob die genetische Diversität des Steinkauzes verringert ist, sollten idealerweise ungefährdete Steinkauzpopulationen, z.B. aus dem Süden Europas, oder historische Proben zum Vergleich herangezogen werden. Da bisher weder Werte aus anderen Populationen noch von Museumsproben vorliegen, werden die in dieser Arbeit erhaltenen Werte mit denen anderer Eulenarten verglichen. Ein solcher Vergleich ist nur begrenzt aussagekräftig, da in den Studien jeweils unterschiedliche Mikrosatellitenmarker verwendet wurden. Diese unterscheiden sich in den Mutationsraten, so dass die Allelzahlen und Heterozygotiegrade sehr unterschiedlich sein können (Selkoe & Toonen 2006). Die über fünf andere ungefährdete Eulenarten gemittelte Allelzahl beträgt  $8,2 \pm 2,3$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), die beobachtete Heterozygotie beträgt  $0,60 \pm 0,14$ , die erwartete Heterozygotie beträgt  $0,70 \pm 0,10$  (Thode et al. 2002, Koopman et al. 2004, Proudfoot et al. 2005, Brito 2007, Hogan et al. 2007). Die in dieser Arbeit ermittelten Werte für die Heterozygotien unterscheiden sich nicht von den Werten der anderen Studien. Die Allelzahlen sind zum Teil geringer, dabei ist aber zu beachten, dass in einigen Populationen nur sehr wenige Tiere genotypisiert wurden. Die Allelzahl hängt stark davon ab, wie viele Tiere genotypisiert werden (Freeland 2005). In den Populationen, bei denen die Stichprobenzahl groß war, gibt es keine Abweichung. Die genetische Diversität der hier untersuchten Populationen scheint also zumindest nicht stark verringert zu sein.

Wenn sich die genetische Diversität durch einen schnellen Bestandsrückgang oder einen Flaschenhals verringert, kommt es in den Populationen zu einem Heterozygotenüberschuss. Der Grund dafür ist, dass die Allelzahlen während eines Flaschenhalses sehr schnell abnehmen, da seltene Allele verloren gehen. Kleine Allelzahlen führen zu einer geringen erwarteten Heterozygotie. Die beobachtete Heterozygotie bleibt aber zunächst noch hoch, bis nach mehreren Generationen mit konstanten Populationsgrößen ein neuer Gleichgewichtszustand eingetreten ist (Cornuet & Luikart 1996, Freeland 2005). Beim Steinkauz konnte ein Heterozygotenüberschuss in den Populationen Stuttgart, Mainz, Lörrach, Kaiserstuhl und Genf unter Annahme des infiniten Allelmodells nachgewiesen werden, in Stuttgart und

Lörrach auch unter dem Zwei-Phasen-Modell. Dieses ist für Mikrosatelliten realistischer, ein Heterozygotenüberschuss lässt sich aber bei schrittweiser Mutation schwerer nachweisen (Piry et al. 1999). Die signifikanten Ergebnisse widersprechen den hohen Werten für die Alleldiversität und für die erwartete Heterozygotie in allen Populationen. Da Mikrosatelliten hoch polymorph sind, ist es aber möglich, dass deren Diversität auch nach einem Flaschenhals noch hoch bleibt. Beim Braunbär in Skandinavien, der um 1930 dort fast ausgestorben war, ergaben Mikrosatelliten-Daten zwar zumindest in einer Population ein Signal für einen Flaschenhals, eine verringerte genetische Diversität im Vergleich zu Populationen aus den USA konnte aber nur mit mitochondrialer DNA nachgewiesen werden (Waits et al. 2000). Der Grund dafür ist, dass mitochondriale DNA maternal vererbt wird, wodurch die effektive Populationsgröße im Vergleich zu nuklearer DNA halbiert ist. Damit verringert sich die genetische Diversität mitochondrialer DNA doppelt so schnell (Freeland 2005). Der signifikante Test auf Populationsrückgang und Flaschenhals ist ein Hinweis, dass die Steinkauzpopulationen durch die starken Abnahmen der Populationsgrößen zumindest einen kleinen Teil der genetischen Diversität verloren haben.

In kleinen Populationen kommt es häufig zu Inzucht, da die Wahrscheinlichkeit sich mit Verwandten zu paaren groß ist (Allendorf & Luikart 2007). Inzucht wird durch einen signifikant positiven  $F_{IS}$ -Wert nachgewiesen, der eine Abnahme des Heterozygotenanteils anzeigt. Der  $F_{IS}$ -Wert unterscheidet sich in keiner der Steinkauzpopulationen von Null. Dies weist darauf hin, dass es in den Populationen keine Inzucht gibt und somit auch keine Probleme durch die Anhäufung negativer Mutationen und Inzuchtdepression zu befürchten sind. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist allerdings zu bedenken, dass die Stichprobengrößen sehr unterschiedlich sind. Um verlässliche Schätzungen des Inzuchtkoeffizienten  $F_{IS}$  zu bekommen, müssten in allen Populationen Proben von ähnlich vielen Individuen entnommen werden. Ein Fehlen von Inzucht lässt sich einerseits dadurch erklären, dass die Populationsgrößen sich in vielen Regionen durch das Anbringen von Nisthilfen schnell wieder erholt haben (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). In einigen untersuchten Populationen, z.B. in Lörrach, ist die Zahl der Brutpaare aber schon seit dreißig bis vierzig Jahren sehr gering (BirdLife Schweiz 2004). Deswegen ist die fehlende Inzucht gerade in den sehr kleinen Populationen auch ein erster Hinweis darauf, dass die Populationen durch Genfluss miteinander verbunden sind und einzelne Migranten Inzucht verhindern.

Genfluss führt dazu, dass auch in kleinen Populationen genetische Diversität erhalten wird. Bei vollständiger Isolation einer Population ist zu erwarten, dass gerade in Populationen, die über mehrere Generationen hinweg klein bleiben, genetische Diversität verloren geht (Frankham et al. 2002). In einer europaweiten Studie mit Auerhühnern (*Tetrao urogallus*) konnte eine deutlich verringerte genetische Diversität in isolierten Populationen, z.B. in den Pyrenäen nachgewiesen werden (Segelbacher et al. 2003a). Die hier untersuchten Steinkauzpopulationen unterscheiden sich weder in der Allelic Richness noch in der beobachte-

ten und erwarteten Heterozygotie voneinander. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die Populationen durch Genfluss verbunden sind, wodurch auch in kleinen Populationen wie Lörrach eine hohe Diversität aufrechterhalten wird. Die Muster des Genflusses werden im folgenden Kapitel diskutiert.

## 4.2 Genfluss und Metapopulation

In fragmentierten Lebensräumen ist eine Vernetzung der Populationen wichtig für das Überleben einer Art. Begrenzter Genfluss, der durch vereinzelte Migranten zwischen den Populationen aufrechterhalten wird, sorgt dafür, dass immer wieder neue Allele in die kleinen Populationen gelangen. Dadurch werden eine Verringerung der genetischen Diversität und eine starke Differenzierung der Populationen verhindert (Allendorf & Luikart 2007). Zugleich ermöglicht aber die Limitierung des Genflusses eine lokale Anpassung an verschiedene Umweltbedingungen (Slatkin 1987, Lenormand 2002). Das Ausmaß des Genflusses ist abhängig von der Ausbreitungsfähigkeit einer Art, den Distanzen zwischen den Populationen und den Populationsgrößen (Allendorf & Luikart 2007). Im Extremfall gibt es Populationen mit sehr geringen Reproduktionsraten, die nur existieren, weil aus großen, stabilen Populationen Migranten einwandern. In diesem Fall spricht man von einer Quellen-Senken-Dynamik (Dias 1996). Genfluss zwischen räumlich isolierten Populationen kann auch dafür sorgen, dass unbesetztes Habitat wiederbesiedelt wird. Wenn es in einem System aus kleinen Populationen, die durch Migration verbunden sind, zu Aussterbeereignissen und Wiederbesiedlungen kommt, spricht man von einer Metapopulation (Frankham et al. 2003, nach der Definition von Levins 1969). Ursprünglich wurde dieses Konzept von Levins (1969) entwickelt, um die Dynamiken von Populationen in ephemeren Habitaten, z.B. kleinen Tümpeln zu erklären. Mit der zunehmenden Fragmentierung von Habitat gewinnt das Konzept aber auch im Artenschutz immer mehr an Bedeutung, da damit die Hoffnung verbunden ist, dass vereinzelte Aussterbeereignisse nicht das Überleben einer Art gefährden (Wiens 1996, Hanski 1999).

Die hier untersuchten Steinkauzpopulationen sind räumlich isoliert, da die Gebiete, die zwischen den Populationen liegen, aufgrund fehlender Nistmöglichkeiten kein geeignetes Habitat bieten (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Dennoch zeigen die Populationen keine Inzucht und eine hohe genetische Diversität. Dies deutet darauf hin, dass zwischen den Populationen Genfluss stattfindet. Ein Ziel dieser Arbeit war es, die Stärke und die Richtung des Genflusses zwischen den Populationen abzuschätzen und zu überprüfen, ob die untersuchten Populationen eine Metapopulation bilden.

Bei begrenztem, aber regelmäßigem Genfluss ist zu erwarten, dass die Populationen nur schwache Strukturierungen zeigen (Allendorf & Luikart 2007). Um die Strukturen der Populationen zu untersuchen, wurden die  $F_{ST}$ -Werte berechnet und eine faktorielle Korrespon-



denzanalyse und Clusteranalysen vorgenommen. Die  $F_{ST}$ -Werte, die ein direktes Maß für die Differenzierungen zwischen Populationen darstellen, liegen zwischen 0,01 und 0,07. Bis auf die Paarung Lörrach-Mainz sind alle  $F_{ST}$ -Werte verschieden von Null. Die standardisierten  $F_{ST}$ -Werte, die den Anteil an der maximal möglichen Differenzierung angeben, liegen zwischen 0,03 und 0,23. Somit sind zwischen 3 und 23 % der maximal möglichen Differenzierungen zwischen den Populationen realisiert. Die  $F_{ST}$ -Werte zeigen also, dass es Strukturierungen gibt, diese aber nicht besonders stark sind. Dabei muss erneut beachtet werden, dass die Stichprobengrößen sehr unterschiedlich sind und die Werte dadurch vorsichtig interpretiert werden müssen. Bei der faktoriellen Korrespondenzanalyse, bei der den einzelnen Genotypen Punkte im Raum zugeteilt werden, ergaben sich ebenfalls nur geringfügige Unterschiede zwischen den Populationen. Die Clusteranalysen, bei denen die Individuen anhand ihrer Genotypen unterschiedlichen Clustern zugeteilt werden sollten, führten zu ähnlichen Ergebnissen. Die Berechnungen mit STRUCTURE ergaben die höchste Wahrscheinlichkeit für nur ein Cluster. Mit dem Programm TESS, dessen Algorithmus die räumlichen Strukturen in die Berechnungen mit einbezieht, wurden kleine Substrukturen gefunden. Die Anteile an einem zweiten Cluster sind höher in den Populationen Lörrach und Mainz, betragen aber nur maximal etwa 20 %. Dieses Ergebnis lässt sich ebenfalls mit geringfügigen Unterschieden in den Allelfrequenzen zwischen den Populationen erklären. Somit zeigen die Analysen zur Populationsstruktur, dass die untersuchten Populationen genetisch schwach strukturiert sind.

Um aus einer schwachen Strukturierung auf aktuellen Genfluss schließen zu können, muss die Möglichkeit ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Strukturen nur historischen Genfluss widerspiegeln und die schwachen Differenzierungen den Beginn einer Auseinanderentwicklung der Populationen darstellen (Bossart & Prowell 1998). Eine solche Auseinanderentwicklung durch Isolation der Populationen hätte allerdings bereits vor einigen Jahrzehnten beginnen müssen, als die Populationsgrößen im Zuge der landwirtschaftlichen Veränderungen rapide absanken (Schönn et al. 1991). Zwar können Steinkäuze über zehn Jahre alt werden, die mittlere Lebenserwartung für bereits geschlechtsreife Vögel beträgt aber dennoch nur 2,8 Jahre (Schönn et al. 1991). Die Generationszeiten sind folglich kurz und es ist somit davon auszugehen, dass eine vollständige Isolation schon innerhalb dieser kurzen Zeit gerade in kleinen Populationen wie Lörrach zu einer verringerten genetischen Diversität geführt hätte. Eine solche Verringerung der genetischen Diversität gegenüber anderen Populationen konnte z.B. an einer isolierten Birkhuhnpopulation in den Niederlanden beobachtet werden, deren Bestand seit Beginn der siebziger Jahre stark abnahm (Larsson et al. 2008). Die ähnlich hohe genetische Diversität in allen Steinkauzpopulationen weist darauf hin, dass aktueller Genfluss die beobachteten Strukturen erklärt.

Schwache Populationsstrukturen, die durch aktuellen Genfluss erklärt sind, erfordern eine gute Ausbreitungsfähigkeit der Art (Bohonak 1999). Wiederfangstudien und Verhaltensbe-

obachtungen deuten darauf hin, dass die Ausbreitungsfähigkeit des Steinkauzes ausreichend groß ist, um Migration in andere Populationen zu ermöglichen. Es ist davon auszugehen, dass der Genfluss zumindest in Mitteleuropa fast ausschließlich durch die Abwanderung der Jungtiere ermöglicht wird. Ganzjährige Beobachtungen zeigten, dass adulte Steinkäuze ihre Territorien auch im Winter nicht verlassen (Finck 1990, Sunde et al. 2009). Bei Jungtieren sind Erkundungsflüge von 40 km nicht selten und dabei können auch Waldstriche überflogen werden, die kein Habitat für den Steinkauz darstellen (Eick 2003). Es existieren sogar Berichte von Individuen, die über 600 km vom Geburtsort entfernt wieder gefangen wurden (Van Nieuwenhuysse et al. 2008). Derartig weite Abwanderungsdistanzen sind aber nicht die Regel. Die beobachteten Strukturen erfordern nicht, dass tatsächlich Steinkäuze direkt zwischen weit entfernten Populationen wie Genf und Mainz wandern. Kontinuierlicher Genfluss zwischen benachbarten Populationen nach dem Schrittsteinmodell (Kimura & Weiß 1964) führt dazu, dass sich Allele weiter verbreiten als einzelne Individuen abwandern. Die Ausbreitungsfähigkeit des Steinkauzes sollte also ausreichend groß sein, um die beobachteten Strukturen durch aktuellen Genfluss zu erklären.

Eine gute Ausbreitungsfähigkeit ist zudem bei Eulen im Allgemeinen nichts Ungewöhnliches. Beim Kaninchenkauz, der einen ähnlichen Lebenszyklus wie der Steinkauz hat, wurden Individuen zweier Unterarten aus Florida (*A. c. floridana*) und dem Westen der USA (*A. c. hypugaea*) genotypisiert (Korfanta et al. 2005). Trotz zunehmender Habitatfragmentierung vor allem bei der westlichen Unterart ergaben sich auch hier keine starken Differenzierungen zwischen den Populationen. Ein ähnliches Ergebnis erbrachte eine Studie über den Raufußkauz (*Aegolius funereus*) (Koopman et al. 2007a). Diese Eulenart bewohnt ausschließlich alte Wälder. Dadurch ist sie in den borealen Nadelwäldern Kanadas und Alaskas flächendeckend verteilt, kommt im Süden der USA aber nur in Hochlagen vor, die voneinander isoliert sind. Eine Genotypisierung von Individuen aus dem gesamten Verbreitungsgebiet in den USA und Kanada ergab keinerlei genetische Strukturierung. Dies zeigt, dass der Raufußkauz in der Lage sein muss, auch weite Flugstrecken durch eine unbewohnbare Matrix zurückzulegen. Das hier erhaltene Resultat für den Steinkauz passt somit gut zu anderen Eulenstudien.

Auch bei Arten mit guter Ausbreitungsfähigkeit wandert gewöhnlich nur ein Bruchteil der Jungtiere über weite Distanzen ab (z.B. Forbes & Hogg 1999). Dadurch nimmt die genetische Distanz zwischen zwei Individuen mit der geographischen Distanz zu, es kommt zur Isolation durch Distanz (Wright 1943). Eine Korrelation zwischen genetischer und geographischer Distanz konnte auch bei den Steinkäuzen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der Autokorrelationsanalyse, bei der die mittleren paarweisen Verwandtschaftskoeffizienten für verschiedene Distanzklassen berechnet wurden, ergaben, dass die Verwandtschaftskoeffizienten mit Werten zwischen 0,01 und 0,02 bis zur Distanzklasse von 15 km signifikant positiv sind. Unter den Individuen, die nur durch eine geringe Distanz getrennt sind, müssen

sich folglich einige nahe Verwandte, z.B. Geschwister oder Eltern und Kinder, befinden. Dieses Ergebnis passt zu den Resultaten aus Wiederfangstudien. Diese ergaben, dass sich nur 5 - 10 % der Jungvögel über 100 km vom Geburtsort entfernen, während die meisten sich in einem Umkreis von 20 km niederlassen (Van Nieuwenhuysen et al. 2008). Es ist also zu erwarten, dass nur wenige Jungtiere pro Generation in andere Populationen abwandern.

Eine Schätzung der Migrantenzahlen wurde mit dem Programm MIGRATE vorgenommen. Dabei werden die gerichteten Migrationsraten zwischen den Populationen errechnet. Die Werte entsprechen der Zahl der Einwanderer pro Generation. Es ergaben sich Werte für die Migrationsraten zwischen 0,1 und 4,1, die mittlere Migrationsrate beträgt 0,8. Insgesamt wandern zwischen 4,8 und 7,0 Individuen pro Generation aus den Populationen ab. Die Zahl der Migranten pro Generation wird geschätzt, indem Stammbäume für die einzelnen Allele erstellt werden. Dadurch reflektiert der geschätzte Wert den Genfluss über einen langen Zeitraum hinweg. Er entspricht nur dann dem aktuellen Genfluss, wenn es ein Migrations-Drift-Gleichgewicht gibt, wenn sich also die Allelfrequenzen in den Populationen über einen langen Zeitraum nicht ändern (Allendorf & Luikart 2007). Da die Populationszahlen der Steinkäuze stark schwankten, trifft diese Annahme für die Steinkäuze nicht zu. Ein weiteres Problem könnte sein, dass nicht alle Populationen, aus denen Einwanderer kommen könnten, beprobt wurden (Bittner & King 2003). Ringfunde zeigen, dass aus der größten Steinkäuzpopulation Deutschlands in Nordrhein-Westfalen Migranten zumindest in die Populationen Mainz und Stuttgart gelangen (Möbius & Keil, pers. Komm.). Weiterhin waren die Stichprobenzahlen zwischen den Populationen sehr ungleich. All dies führt dazu, dass die errechneten Migrationsraten nur als grobe Richtwerte gesehen werden können.

In ihrer Größenordnung entsprechen die Ergebnisse von MIGRATE aber den Ergebnissen der Isolation durch Distanz. Die Generationszeit der Steinkäuze beträgt etwa drei Jahre (Schönn et al. 1991). Durchschnittlich werden etwa zwei Junge pro Brutpaar flügge (Schönn et al. 1991). Die Sterblichkeit der Jungen nach dem Ausfliegen beträgt zwischen 60 % (Eick 2003) und 85 % (Letty et al. 2001). Eine Population von 30 Brutpaaren produziert in drei Jahren also zwischen 30 und 60 Jungtiere, die neue Territorien besiedeln. Nimmt man an, dass, wie in Nieuwenhuysen et al. (2008) angegeben, 5 bis 10 % davon Strecken über 100 km zurücklegen, kann von zwei bis sechs Emigranten pro Generation ausgegangen werden. Dies entspricht grob den aufsummierten Emigrationsraten zumindest der Populationen mit kleinen Populationsgrößen. In den großen Populationen wäre auf Grundlage dieser Rechnung mit mehr Emigranten zu rechnen. Allerdings muss dabei beachtet werden, dass in großen Populationen auch das besiedelte Gebiet größer ist. Dadurch steigt die Wahrscheinlichkeit, dass auch Individuen, die weit abwandern, in der Ursprungspopulation bleiben. Auch theoretische Berechnungen zeigen, dass das Ergebnis von MIGRATE in seiner Größenordnung realistisch ist. Bereits ein bis zwei Einwanderer pro Generation zwischen zwei Populationen genügen demnach, um eine deutliche genetische

Differenzierung zu vermeiden und genetische Diversität zu erhalten (Slatkin 1987, Allendorf & Luikart 2007). Die Ergebnisse sind also auch mit den erhaltenen schwachen Populationsstrukturen konsistent und zeigen, dass begrenzter Genfluss, der durch etwa 5 bis 10 % der Jungtiere einer Generation aufrecht erhalten wird, starke Differenzierungen zwischen den untersuchten Steinkauzpopulationen verhindert.

Weiterhin kann auf Grundlage der Ergebnisse von MIGRATE geprüft werden, ob die Steinkauzpopulationen eine Quellen-Senkendynamik aufweisen (Dias 1996). In diesem Falle wäre zu erwarten, dass nur wenige so genannte Quellenpopulationen Migranten liefern. Diese wandern in Senkenpopulationen, die nur durch die ständige Immigration von Individuen aus anderen Populationen überlebensfähig sind. Solche Senkenpopulationen liegen oft am Rand des Verbreitungsgebiets (Dias 1996). Für den Artenschutz ist einseitiger Genfluss problematisch. Wenn die Immigranten aus den Quellenpopulationen ausbleiben, sterben Senkenpopulationen schnell aus. Die mit MIGRATE errechneten unidirektionalen Migrationsraten deuten darauf hin, dass keine der Steinkauzpopulationen eine Senkenpopulation ist. Die aufsummierten Emigrationsraten zeigen, dass aus allen Populationen, auch aus Randpopulationen wie Miltenberg in Bayern, Individuen abwandern. Somit gibt es keinen deutlichen Hinweis auf eine Quellen-Senkendynamik bei den hier untersuchten Populationen.

Der Vorteil von begrenztem Genfluss ist, dass auch lokale Anpassungen ermöglicht werden (Lenormand 2002, Slatkin 1987). Die genetischen Differenzierungen zwischen den Steinkauzpopulationen sind klein. Natürliche Selektion für lokal wichtige Anpassungen kann aber eine starke Differenzierung in selektierten Genorten bewirken, während an neutralen Loci keine Unterschiede auftreten (Slatkin 1987). Die beobachtete geringe Strukturierung bedeutet somit nicht, dass es keine lokalen Anpassungen in den Steinkauzpopulationen gibt. Wenn der Selektionskoeffizient, ein Maß für die relative Fitness eines Phänotypen, größer als der Anteil der Migranten an der Gesamtpopulation ist, sollte eine lokale Anpassung möglich sein (Slatkin 1987). Bei einem Anteil der Migranten von 5 bis 10 % sollte bei ausreichend großem Selektionsdruck folglich eine Adaptation stattfinden können. Von Vorteil ist dabei auch, dass keine der Populationen eine Senkenpopulation ist, da in diesem Fall die Senkenpopulationen mit Allelen überschwemmt würden, die in den Quellenpopulationen einen Vorteil bedeuten (Lenormand 2002). Inwieweit tatsächlich lokale Anpassungen existieren, könnte eine Analyse der quantitativen genetischen Variation, die tatsächlich Einfluss auf die Fitness der Individuen hat, zeigen (Frankham et al. 2002). Allerdings sind die Habitatstrukturen in allen Untersuchungsgebieten sehr ähnlich. Deswegen sind keine starken lokalen Unterschiede zu erwarten, auch wenn der Genfluss gering genug ist, um lokale Anpassungen zu ermöglichen.

Weiterhin sollte die Frage beantwortet werden, ob die hier untersuchten Steinkauzpopulationen eine Metapopulation bilden, also ob im Falle des Aussterbens einer Population eine Wiederbesiedlung stattfindet (Levins 1969, Hanski 1999). Wiens (1996) geht davon aus, dass für die Wiederbesiedlung unbesetzter Fragmente die Migranzzahlen geringer sein müssen als um die genetische Diversität in den Populationen aufrecht zu erhalten. Das Ausmaß des Genflusses beim Steinkauz sollte also ausreichend groß sein, um Wiederbesiedlungen zu ermöglichen. Dennoch gibt es in Süddeutschland und der Schweiz Regionen, in denen der Steinkauz ausgestorben ist, ohne dass bisher eine Wiederbesiedlung erfolgte. Eine Population bei Friedrichshafen verschwand Anfang der Neunziger Jahre, eine andere bei Basel um das Jahr 2000 (Schaub et al. 2006). Über mögliche Gründe für das Ausbleiben einer Wiederbesiedlung soll im Folgenden diskutiert werden.

Zunächst muss in einem solchen Falle überprüft werden, ob die notwendigen Habitatfaktoren, die eine Art braucht, noch gegeben sind (Wiens 1996). Beim Steinkauz sind die limitierenden Faktoren vor allem die Nistgelegenheiten und Jagdmöglichkeiten (Schönn et al. 1991). In beiden Regionen, Basel und Friedrichshafen, wurden auch weiterhin Niströhren aufgehängt (Birdlife Schweiz 2004), so dass ein Ausbleiben der Wiederbesiedlung nicht durch fehlende Brutmöglichkeiten erklärt werden kann. Biotoppflege durch den Schnitt von Wiesen führt zudem dazu, dass auch geeignete Jagdmöglichkeiten gegeben sind (Birdlife Schweiz 2004). Eine schlechte Habitatqualität sollte somit nicht Grund für die fehlende Wiederbesiedlung sein. Die Wiederbesiedlungswahrscheinlichkeit hängt weiterhin von den Distanzen zu benachbarten Populationen, den Populationsgrößen der benachbarten Populationen und der Ausbreitungsfähigkeit einer Art ab (Hanski 2004). Zu weite Entfernungen zu anderen Populationen sind als mögliche Erklärung zumindest in der Region Basel auszuschließen. Die Population Lörrach liegt nur wenige Kilometer entfernt, eine Distanz, die für den Steinkauz leicht zu überwinden ist. In dieser Arbeit wurde außerdem gezeigt, dass die Population Lörrach Emigranten liefert, eine zu geringe Populationsgröße kann also ebenfalls kein Grund für die ausbleibende Wiederbesiedlung sein.

Ein Faktor, der die Ausbreitungsfähigkeit einer Art limitieren könnte, sind geschlechtsspezifische Unterschiede in den Abwanderungsdistanzen. Diese könnten dazu führen, dass es ankommenden Individuen nicht gelingt einen Geschlechtspartner zu finden (Proctor et al. 2005). Bei Vögeln sind häufig die Weibchen das Geschlecht, das weiter abwandert (Greenwood 1980, Clark et al. 1997). Der Fortpflanzungserfolg der Männchen hängt bei Vögeln in hohem Maße von der Eroberung und Verteidigung eines Territoriums ab. Deswegen profitieren Männchen in stärkerem Maße als Weibchen von einer guten Ortskenntnis (Greenwood 1980, Clark et al. 1997). Für die Weibchen kann es somit vorteilhaft sein abzuwandern, um Kosten, die möglicherweise durch Inzucht entstehen könnten, zu vermeiden (Pusey 1987). Auch beim Steinkauz sind die Männchen ganzjährig territorial, während die Weibchen in den Territorien der Männchen leben (Schönn et al. 1991). Daten aus Wieder-

fangstudien deuten darauf hin, dass Weibchen durchschnittlich etwa doppelt so weit abwandern wie Männchen (Van Nieuwenhuysen et al. 2008).

Falls sich die Abwanderungsdistanzen der Geschlechter unterscheiden, sollten bei getrennter Analyse der Genotypen der adulten Tiere die genetischen Strukturierungen unterschiedlich stark ausfallen (Prugnolle & De Meeus 2002, Goudet et al. 2002). Eine Möglichkeit dies zu untersuchen bietet die Analyse der Isolation durch Distanz (Peakall et al. 2003). Im Falle des Steinkauzes war zu erwarten, dass Männchen eine stärkere Korrelation der geografischen zur genetischen Distanz aufweisen. Tatsächlich ergab sich nur bei den Männchen eine signifikante Korrelation zwischen genetischer und geografischer Distanz, obwohl die Stichprobengröße der Männchen geringer war. Damit ist gezeigt, dass die genetischen Distanzen der Männchen stärker mit der geografischen Distanz zunehmen als die der Weibchen. Bei der Autokorrelationsanalyse sind die gemittelten Verwandtschaftskoeffizienten bei den Männchen trotz einer großen Streuung in den Distanzklassen von 9 und 14 km signifikant positiv; bei den Weibchen ist dies nur bei 14 km der Fall. Die Werte der Verwandtschaftskoeffizienten liegen bei den Männchen zwischen 0,05 und -0,08, bei den Weibchen zwischen 0,02 und -0,03. Die großen Unterschiede bei den Männchen weisen ebenfalls auf eine stärkere Strukturierung und somit auf geringere Abwanderungsdistanzen hin. Die Ergebnisse dieser Arbeit sind somit ein weiterer Hinweis dafür, dass beim Steinkauz die Weibchen weiter abwandern und die Männchen sich Territorien in der Nähe ihres Geburtsorts suchen. Dies könnte ein Grund für die schleppende Wiederbesiedlung sein.

Eine weitere Erklärung für ein Ausbleiben der Wiederbesiedlung kann die Tatsache darstellen, dass abwandernde Individuen sich gerne da ansiedeln, wo bereits andere Territorien besetzt sind. Diese Verhaltensweise ist zwar vor allem von in Kolonien lebenden Arten bekannt, aber auch territoriale Arten könnten Vorteile davon haben (Stamps 1988, Reed & Dobson 1993). Beispielsweise könnten Nachbarn gemeinsam Eindringlinge vertreiben. Rot-schulterstärklinge (*Agelaius phoeniceus*) hatten aus diesem Grund einen höheren Fortpflanzungserfolg, wenn die Besetzung der Territorien sich lange Zeit nicht änderte (Beletsky & Orians 1989). Dies könnte auch beim Steinkauz der Fall sein, der ein Territorium über mehrere Jahre hinweg besetzen kann (Schönn et al. 1991). Wissenschaftliche Untersuchungen, z.B. Experimente mit Tonaufnahmen, wurden aber noch nicht durchgeführt, so dass nicht abschließend geklärt werden kann, ob dieses Verhalten beim Steinkauz ausgeprägt ist.

Somit hält beständiger Genfluss zwischen den hier untersuchten Steinkauzpopulationen die genetische Diversität aufrecht und senkt das Aussterberisiko der Populationen. Trotz regelmäßiger Migration kommt es im Falle von lokalen Aussterbeereignissen aber nicht zu einer schnellen Wiederbesiedlung. Die Gründe dafür konnten nicht abschließend geklärt werden, allerdings muss davon ausgegangen werden, dass sie in spezifischen Verhaltensweisen des Steinkauzes zu suchen sind. Das Ausbleiben einer schnellen Wiederbesiedlung sollte somit

die Regel sein. Die hier untersuchten Steinkauzpopulationen bilden demnach keine Metapopulation.

### 4.3 Brutsystem

Eine Vielzahl molekularer Studien konnte in den letzten Jahrzehnten aufdecken, dass Fremdvaterschaften bei Vögeln sehr häufig sind. Sie treten bei 90 % der Arten auf, selbst bei sozial monogamen Vögeln, bei denen ein Elternpaar gemeinsam die Jungtiere aufzieht, stammen 11,1 % der Jungtiere nicht vom pflegenden Vater ab (Griffith et al. 2002). Der Anteil der Fremdvaterschaften variiert stark zwischen den Arten und zwischen Populationen innerhalb einer Art (Petri & Kempnaers 1998). Für diese Variationen gibt es evolutionäre und ökologische Erklärungen. Ökologische Gründe für einen geringen Anteil an Fremdvaterschaften sind z.B. eine hohe Brutsynchronität (Birkhead & Biggins 1987) oder eine geringe Populationsdichte (Westneat & Sherman 1997). Evolutionäre Gründe stellen die unterschiedlichen Kosten und Nutzen für die Weibchen dar. Profitieren können Weibchen vor allem durch die Paarung mit Männchen, die bessere Gene besitzen (Møller 1988) oder deren Genotyp besser mit dem des Weibchens kompatibel ist (Kempnaers et al. 1999). Mögliche Kosten entstehen unter anderem, wenn sich das Männchen wegen möglicher Fremdvaterschaften weniger an der Aufzucht der Jungen beteiligt (Møller & Birkhead 1993). Bei Eulen investieren die Männchen generell sehr viel in die Brutpflege. Das Weibchen verlässt die Eier während der Brutzeit nur selten und bleibt auch nach dem Schlüpfen längere Zeit bei den Jungen, während das Männchen für Nahrung sorgt. Der Bruterfolg hängt dadurch stark vom Männchen ab (Mikkola 1983). Somit wären die Kosten für das Weibchen in der Ordnung der Eulen sehr hoch, wenn das Männchen aufgrund von unsicheren Vaterschaften weniger investieren würde. Dies könnte zu einem geringen Anteil an Fremdvaterschaften bei Eulen führen.

In einigen Studien an Eulen konnte bereits bestätigt werden, dass Fremdvaterschaften in dieser Vogelordnung selten sind. Beim Waldkauz (*Strix aluco*) wurde in einer Studie mit 137 Jungen eine Fremdvaterschaft entdeckt (0,7 %) (Saladin et al. 2007). Beim Raufußkauz wurde unter 109 Jungtieren keine Fremdvaterschaft nachgewiesen (Koopman et al. 2007b), bei der Waldohreule (*Asio otus*) gab es unter 59 Jungtieren keine Fremdvaterschaft (Marks et al. 1999). Beim Steinkauz fand sich in einer Studie mit 53 Jungtieren, die in Nordrhein-Westfalen mit der Methode des genetischen Fingerabdrucks durchgeführt wurde, ebenfalls keine Fremdvaterschaft (Müller et al. 2001). Bei dieser Methode wird die DNA mit einem Restriktionsenzym verdaut und die Länge der entstehenden Fragmente verglichen. In dieser Studie wies der Steinkauz zudem eine hohe Populationsdichte und eine mäßige Brutsynchronität auf, die vergleichbar war mit der von Singvögeln (Passeriformes), die hohe Fremdvaterschaftsraten haben. Dadurch konnten eine zu geringe Populationsdichte und eine

hohe Brutsynchronität als ökologische Faktoren, die das Fehlen von Fremdvaterschaften erklären könnten, ausgeschlossen werden. Es ist wahrscheinlich, dass das Ausbleiben von Fremdvaterschaften bei Eulen evolutionär durch die männliche Brutpflege erklärt werden kann. Deshalb ist auch in weiteren Steinkauzpopulationen nicht mit einem hohen Anteil an Fremdvaterschaften zu rechnen.

In dieser Arbeit wurde untersucht, wie hoch der Anteil an Fremdvaterschaften in der Steinkauzpopulation bei Stuttgart ist. Dabei war von 29 getesteten Jungtieren aus 13 Familien nur bei einem der soziale Vater nicht mit dem genetischen identisch. Bei jeweils vier Jungtieren aus vier Familien, bei denen keine Federn vom Vater zur Verfügung standen, wurde außerdem geprüft, ob es sich um Vollgeschwister handelt. Nur zwei Individuen wurden als Halbgeschwister identifiziert. Allerdings wurden beide Jungtiere zu den übrigen beiden Geschwistern als Vollgeschwister identifiziert. Das inkonsistente Ergebnis könnte auf die Verwendung zu weniger Mikrosatelliten zurückzuführen sein. In einer Studie mit Hausmäusen, bei denen die tatsächlichen Verwandtschaftsverhältnisse bekannt waren, wurden 20 Mikrosatellitenloci zur Berechnung der Verwandtschaftskoeffizienten verwendet. Hierbei ergab sich, dass Vollgeschwister und Halbgeschwister nur in 80 % der Fälle richtig unterschieden wurden (Blouin et al. 1996). Es ist also anzunehmen, dass sich auch unter den untersuchten Geschwistern keines befand, bei dem der soziale Vater nicht der genetische war. Allerdings kann nicht abschließend geklärt werden, ob der genetische Vater tatsächlich fütterte. Auch in dieser Arbeit war somit der Anteil an Fremdvaterschaften gering, was die Hypothese von der männlichen Brutpflege als Grund für das Ausbleiben von Fremdvaterschaften unterstützt.

Im Fall der nachgewiesenen Fremdvaterschaft bleibt unklar, wer der Vater des Jungtieres war. Bei der betreffenden Familie war zum Zeitpunkt der Probennahme nur noch ein Jungvogel am Leben. Deswegen ist nicht bekannt, ob auch die Geschwister einen anderen Vater hatten. Alle Männchen der umliegenden Nistplätze konnten als genetische Väter ausgeschlossen werden. Es ist möglich, dass ein umherziehendes Männchen ohne Territorium der Vater war. Als zweite Erklärung kann in Betracht gezogen werden, dass der genetische Vater der Jungen verschwand und ersetzt werden musste. Solche so genannten Adoptionen sind selten, treten aber auf (Meek et al. 1991). Muss ein Männchen noch während der Eiablage ersetzt werden, ist das Ersatzmännchen möglicher Vater von zumindest einem Teil der Jungen und sollte bei der Brutpflege helfen. Dies konnte beim Trauerschnäpper (*Ficedula hypoleuca*) gezeigt werden (Alatalo et al. 1983). Aber auch Fälle, bei denen schon geschlüpfte Küken adoptiert wurden, sind bekannt, z.B. beim Rotkehl-Hüttensänger, *Sialia sialis* (Meek & Robertson 1991). Eine Adoption geschlüpfter Küken könnte sich für ein Männchen lohnen, wenn es sich dadurch ein Territorium und eine Brutmöglichkeit für das nächste Jahr sichern kann (Rohwer 1986). Steinkäuze brüten oft mehrere Jahre in Folge im gleichen Territorium mit dem gleichen Partner (Schönn et al. 1991, Van Nieuwenhuysse et



al. 2008). Eine für mehrere Jahre gesicherte Brutmöglichkeit könnte also auch bei Steinkäuzen die Kosten der Brutpflege aufwiegen, auch wenn sich kein eigenes Junges unter dem aktuellen Nachwuchs befindet. In einem Fall wurde im Juni ein anderes Männchen im Territorium gefunden als im April. Als genetischer Vater stellte sich das Männchen im April heraus. Da Steinkäuze territorial sind und fremde Eindringlinge schnell verjagen (Van Nieuwenhuysen et al. 2008), ist es wahrscheinlich, dass der genetische Vater tatsächlich nicht mehr der Besitzer des Territoriums war. Somit könnte das im Juni gefundene Männchen ein Ersatzmännchen gewesen sein. Allerdings konnte nicht beobachtet werden, ob das neue Männchen bei der Fütterung half. Es bleibt also unklar, ob Adoptionen beim Steinkauz vorkommen.

Aus naturschutzbiologischer Sicht ist die geringe Zahl der Fremdvaterschaften für den Steinkauz positiv zu bewerten, da sich dadurch die effektiven Populationsgrößen nicht verringern. Polygamie kann zu unterschiedlichem Fortpflanzungserfolg und dadurch zu einer verringerten effektiven Populationsgröße führen. Bei der sozial monogamen Hausspitzmaus *Crocidura russula* verringerte Polygynie und daraus resultierender ungleicher Fortpflanzungserfolg der Männchen und Weibchen die effektive Populationsgröße auf 60 % der eigentlichen Größe (Bouteiller & Perrin 2000). Beim Steinkauz sollte die Anzahl der Brutpaare auch der tatsächlichen effektiven Populationsgröße entsprechen. Die Tatsache, dass das Ausbleiben von Fremdvaterschaften wahrscheinlich evolutionäre Gründe hat, bedeutet auch, dass in allen Populationen ein ähnlich geringer Anteil an Fremdvaterschaften zu erwarten ist. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Brutpaare in einer Population aus anderen Gründen unterschiedlichen Fortpflanzungserfolg haben und die effektive Populationsgröße dadurch kleiner als die gezählte Populationsgröße ist.

#### 4.4 Implikationen für den Schutz des Steinkauzes

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass Genfluss zwischen den Populationen eine wichtige Rolle spielt, um die genetische Diversität gerade in kleinen Populationen aufrecht zu erhalten. In einer Modellierung der Populationsdynamiken von vier Steinkauzpopulationen in Süddeutschland und der Schweiz gab es zudem Hinweise, dass neben der unterschiedlichen Jungensterblichkeit vor allem Unterschiede in der Immigrationsrate die unterschiedlichen Wachstumsraten zwischen den Populationen erklären. Keine der Populationen war in dieser Modellierung allein überlebensfähig (Schaub et al. 2006). Für diese Immigration sind alle Populationen ähnlich wichtig, da es keine Senkenpopulationen gibt, die nur durch Immigranten überleben. Das Aussterben weniger Populationen könnte also dazu führen, dass durch das Ausbleiben von Migranten auch die übrigen Populationen einerseits durch verringerte genetische Diversität, andererseits durch geringe Wachstumsraten stärker gefährdet sind. Als ein Problem erweist sich in diesem Zusammenhang, dass die Wiederbesiedlung

von Regionen, in denen der Steinkauz ausgestorben ist, problematisch ist. Es ist also ein wichtiges Ziel für den Schutz des Steinkauzes, dass Aussterbeereignisse nicht eintreten und die hier untersuchten Populationen stabil bleiben. Um dies zu erreichen, müssen auch weiterhin künstliche Nisthilfen zur Verfügung gestellt werden und Biotoppflege, z.B. durch Schnitt der Wiesen, betrieben werden. Ohne diese menschliche Unterstützung sind weitere Bestandsrückgänge und letztendlich das Aussterben des Steinkauzes in Deutschland und der Schweiz zu erwarten.

Um eine Isolation und Verlust von genetischer Diversität auf Dauer zu verhindern, sollte es auch ein Ziel sein, die Populationen zu verbinden und eine flächendeckende Besiedlung anzustreben. Die ländlichen Gebiete zwischen den Populationen sollten dem Steinkauz grundsätzlich geeignetes Habitat bieten, sofern ihm auch dort geeignete Nistplätze und Jagdmöglichkeiten geboten werden. Da Neubesiedlungen von unbesetztem Gebiet schwierig sind, müssen aber vor allem die bestehenden Populationen an den Rändern vergrößert werden, indem dort geeignete Bruthabitate geschaffen werden. Die Population Lörrach konnte sich auf diese Weise schon bis Mauchen bei Müllheim ausbreiten und könnte sich in einigen Jahren mit der Population am Kaiserstuhl verbinden (Stange, pers. Komm.). Bei der Schaffung geeigneter Habitate sollten zunehmend alte Baumbestände geschützt und neue Hochstammobstwiesen geschaffen werden, so dass der Steinkauz auf Dauer wieder ausreichend natürliche Nistplätze findet. Eine langfristige Perspektive sollte sein, dass der Steinkauz auf Dauer auch ohne aufwändige, nur auf den Steinkauz gerichtete Artenschutzmaßnahmen bei uns überleben kann.

## 4.5 Ausblick

Es ergaben sich keine Hinweise auf eine drastisch verringerte genetische Diversität oder auf Inzucht in den Steinkauzpopulationen. Da die Stichprobengrößen in den einzelnen Populationen sehr unterschiedlich waren, müssen die Ergebnisse vorsichtig interpretiert werden. In weiteren Studien sollte das Untersuchungsgebiet ausgeweitet werden. Die Ergebnisse für die genetische Diversität könnten besser beurteilt werden, wenn entfernte Populationen, die keinen starken Populationsschwund in den letzten Jahrzehnten erfuhren, ebenfalls genotypisiert würden. Solche Populationen sind beispielsweise im südeuropäischen Raum in Griechenland und auf dem Balkan zu finden, wo der Steinkauz ein anderes Habitat nutzt. Auch Museumsproben sollten genotypisiert werden, um die frühere genetische Diversität mit der heutigen vergleichen zu können. Zudem könnte eine Analyse der mitochondrialen DNA hilfreich sein, um zu prüfen, ob die genetische Diversität verringert ist, da für diese die effektive Populationsgröße kleiner ist.

Die geringe Strukturierung der Populationen weist darauf hin, dass die Populationen durch begrenzten Genfluss verbunden sind. Schätzungsweise wandern zwischen 5 und 10 % der

Jungtiere in andere Populationen ab. Da die Schätzung der Migrationsraten anhand genetischer Daten schwierig ist, sollte die Abwanderung der Jungtiere auch direkt untersucht werden. So kann endgültig ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Strukturen nur ein Resultat von historischem Genfluss sind. Eine aufwändige Telemetriestudie wird momentan von der Schweizerischen Vogelwarte Sempach geplant. Die Telemetrie von etwa 100 Jungvögeln pro Jahr wird die direkte Beobachtung der Abwanderungsprozesse und eine Schätzung der Zahl der Migranten ermöglichen. Dabei können auch wichtige Faktoren für die Habitatwahl identifiziert werden. Der Vergleich der Telemetriedaten von Männchen und Weibchen wird zudem zur endgültigen Klärung der Frage beitragen, ob Weibchen weitere Distanzen zurücklegen als Männchen und dadurch die Wiederbesiedlung unbesetzter Gebiete erschwert ist.

Wie in anderen Studien an Eulenvögeln ergab sich auch in dieser Arbeit ein sehr geringer Anteil an Fremdvaterschaften. Bei Greifvögeln und Eulen ist dies ein typisches Ergebnis, vermutlich da die Männchen viel in die Brutpflege investieren. Es ist deshalb nicht zu erwarten, dass Studien in anderen Populationen ein anderes Ergebnis erbringen würden. Eine vollständigere Probennahme, auch von Eiern und toten Jungvögeln, wäre dennoch sinnvoll, um mehr über die wenigen vorhandenen Fremdvaterschaften zu erfahren. Mit experimentellen Ansätzen, beispielsweise einer Manipulation der Verfügbarkeit von Nahrung, könnte die Hypothese von der männlichen Brutpflege als Grund für das Ausbleiben von Fremdvaterschaften bestätigt werden. Verhaltensbeobachtungen könnten die Frage klären, ob Adoptionen bei Steinkäuzen tatsächlich vorkommen.

## 5 Zusammenfassung

Der Steinkauz (*Athene noctua*) ist ein Höhlenbrüter und ein Bewohner von offenem Grasland. Die Intensivierung der Landwirtschaft führte in den letzten Jahrzehnten in Deutschland und angrenzenden Gebieten zu einem starken Rückgang der Individuenzahlen durch Habitatverlust. Durch Artenschutzmaßnahmen, z.B. das Aufhängen von Niströhren, konnte sich in einigen Regionen der Bestand wieder erholen. Die verbleibenden Populationen sind aber räumlich isoliert. In dieser Arbeit wurden mit Mikrosatellitendaten die genetische Diversität und die Muster des Genflusses der Steinkauzpopulationen in Süddeutschland, der Schweiz und dem Elsass bestimmt. Zudem wurde mit Hilfe von Verwandtschaftsanalysen das Brutsystem untersucht. Die Ergebnisse wurden im Hinblick auf den Artenschutz beurteilt.

1. Die genetische Diversität in den Steinkauzpopulationen ist verglichen mit den Werten fünf anderer, ungefährdeter Eulenarten nicht drastisch verringert. Allerdings wurde in allen Populationen ein Heterozygotenüberschuss nachgewiesen, der auf einen Bestandsrückgang hindeutet. Dies weist darauf hin, dass der Rückgang der Populationsgrößen zumindest zu einem kleinen Verlust an genetischer Diversität geführt hat. Möglicherweise lässt sich dieser mit Mikrosatelliten aufgrund ihrer starken Polymorphie nicht nachweisen.
2. In keiner der Populationen gab es Hinweise für Inzucht. Zudem unterschied sich die genetische Diversität nicht zwischen den untersuchten Populationen. Beide Ergebnisse deuten darauf hin, dass zwischen den Populationen Genfluss stattfindet, da im Falle einer jahrzehntelangen Isolation mit Inzucht und einer Verringerung der genetischen Diversität gerade in kleinen Populationen zu rechnen gewesen wäre.
3. Geringe Differenzierungen zwischen den Populationen und nur kleine Substrukturen bestätigen die Vermutung, dass Genfluss die genetische Diversität in den Populationen aufrechterhält. Es ergab sich eine Isolation durch Distanz, was zeigt, dass nur ein Bruchteil der Individuen bei der Abwanderung weite Strecken zurücklegt. Eine Schätzung der Migrationsraten ergab, dass pro Generation etwa 5 bis 10 % der Jungvögel aus einer Population in andere Populationen abwandern. Dabei wurde auch gezeigt, dass aus allen Populationen Individuen abwandern. Es gibt also keine Hinweise auf eine Quellen-Senken-Dynamik. Da der Genfluss begrenzt ist, sollten auch Anpassungen der Populationen an lokale Umweltbedingungen möglich sein.

4. Bei den Männchen nahm die paarweise Verwandtschaft mit zunehmender geografischer Distanz stärker ab als bei den Weibchen. Dies deutet darauf hin, dass die Männchen sich nahe bei ihrem Geburtsort ansiedeln, während die Weibchen weiter abwandern. Dies könnte ein Grund für die schleppende Wiederbesiedlung unbesetzter Gebiete sein, die beim Steinkauz beobachtet wird. Die hier untersuchten Populationen können somit nicht als Metapopulation, in der auf Aussterbeereignisse eine schnelle Wiederbesiedlung erfolgt, bezeichnet werden.
5. Unter 29 Jungtieren aus 13 Familien wurde eine Fremdvaterschaft gefunden. Bei jeweils vier Jungtieren aus vier Familien ergab sich nur für eine Paarung, dass es sich nicht um Vollgeschwister, sondern Halbgeschwister handelt. Die geringen Fremdvaterschaftsraten sind vermutlich auf einen hohen väterlichen Einsatz bei der Brutpflege zurückzuführen. Die effektive Populationsgröße wird somit bei Steinkäuzen nicht durch Polygamie verringert.
6. Die Ergebnisse zeigen, dass Genfluss zwischen den Steinkauzpopulationen eine wichtige Rolle spielt, um die genetische Diversität in den Populationen aufrecht zu erhalten. Ein Aussterben weniger Populationen könnte somit auch andere Populationen gefährden, zumal eine Wiederbesiedlung schwierig ist. Die Biotoppflege muss also in allen Populationen weitergeführt werden, damit die Bestände stabil bleiben. Langfristiges Ziel sollte eine flächen-deckende Besiedlung sein.

## 6 Literaturverzeichnis

- Alatalo R., Lundberg A. & Stahlbrandt K.** (1983): Do pied flycatcher males adopt broods of widow females? *Oikos*, 41, 91-93.
- Allendorf F.W. & Luikart G.** (2007): *Conservation and the Genetics of Populations* (1. Aufl.). Blackwell Publishing Ltd., Oxford.
- Beerli P. & Felsenstein J.** (1999): Maximum-likelihood estimation of migration rates and effective population numbers in two populations using a coalescent approach. *Genetics*, 152, 763-773.
- Beerli, P.** (2008): *MIGRATE Version 3.0 - A Maximum-Likelihood and Bayesian Estimator of Gene Flow using the Coalescent*. <http://popgen.scs.edu/migrate.html>.
- Beletsky L.K. & Orians G.H.** (1989): Familiar neighbors enhance breeding success in birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 86, 7933-7936.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F.** (2001): *GENETIX, Logiciel sous Windows™ pour la Génétique des Populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier.
- BirdLife International** (2004): *Species Factsheet: Athene noctua*. <http://www.birdlife.org>.
- BirdLife Schweiz** (2004): Artenförderungs-Merkblatt 5: Steinkauz - Bedrohter Vogel des Kulturlands. <http://www.birdlife.ch>.
- Birkhead T.R. & Biggins J.D.** (1987): Reproductive synchrony and extra-pair copulation in birds. *Ethology*, 74, 320-334.
- Bittner T.D. & King R.B.** (2003): Gene flow and melanism in garter snakes revisited: a comparison of molecular markers and island vs. coalescent models. *Biological Journal of the Linnean Society*, 72, 389-399.
- Blouin M.S., Parsons M., Lacaille V. & Lotz S.** (1996): Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. *Molecular Ecology*, 5, 393-401.
- Bohonak A.J.** (1999): Dispersal, gene flow and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74, 21-45.
- Bossart J.L. & Prowell D.P.** (1998): Genetic estimates of population structure and gene flow: limitations, lessons and new directions. *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 202-206.

- Bouteiller C. & Perrin N.** (2000): Individual reproductive success and effective population size in the greater white-toothed shrew *Crocidura russula*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267, 701-705.
- Brito H.B.** (2007): Contrasting patterns of mitochondrial and microsatellite genetic structure among Western European populations of tawny owls (*Strix aluco*). *Molecular Ecology*, 16, 3423-3437.
- Bundesamt für Naturschutz** (1998): Rote Liste gefährdeter Tiere Deutschlands. *Naturschutz und biologische Vielfalt*, Heft 55.
- Chen C., Durand E., Forbes F. & François O.** (2007): Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. *Molecular Ecology Notes*, 7, 747-756.
- Clark A.L., Sæther B.E. & Røskoft E.** (1997): Sex biases in avian dispersal: a reappraisal. *Oikos*, 79, 429-438.
- Cornuet J.M. & Luikart G.** (1996): Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144, 2001-2014.
- Dias P.C.** (1996): Sources and sinks in population biology. *Trends in Ecology and Evolution*, 11, 326-330.
- Durand E., Jay F., Gaggiotti O.E. & François O.** (2009): Spatial inference of admixture proportions and secondary contact zones. *Molecular Biology and Evolution*, 26, 1963-1973.
- Eick M.** (2003): *Habitatnutzung und Dismigration des Steinkauzes Athene noctua. Eine Telemetriestudie in Zusammenarbeit mit der Forschungsgemeinschaft zur Erhaltung einheimischer Eulen e. V. (FOGE), dem Staatlichen Museum für Naturkunde Stuttgart und der Max-Planck-Forschungsstelle für Ornithologie, Vogelwarte Radolfzell.* Diplomarbeit. Universität Hohenheim.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J.** (2005): Detecting the numbers of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611-2620.
- Finck P.** (1990): Seasonal variation of territory size with the little owl (*Athene noctua*). *Oecologia*, 83, 69-75.
- Forbes S.H. & Hogg J.T.** (1999): Assessing population structure at high levels of differentiation: microsatellite comparisons of bighorn sheep and large carnivores. *Animal Conservation*, 2, 223-233.

- François O., Blum M.G.B., Jakobsson M. & Rosenberg N.A.** (2008): Demographic history of European populations of *Arabidopsis thaliana*. *Public Library of Science Genetics*, 4, e1000075.
- Frankham R., Ballou J.D. & Briscoe D.A.** (2002): *Introduction to Conservation Genetics* (1. Aufl.). Cambridge University Press, Cambridge.
- Freeland J.R.** (2005): *Molecular Ecology* (1. Aufl.). John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- Glenn T.C. & Schable N.A.** (2005): Isolating microsatellite DNA loci. *Methods in Enzymology*, 395, 202-222.
- Goudet J.** (2001): *FSTAT, a Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (Version 2.9.3)*. <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Goudet J., Perrin N. & Waser P.** (2002): Tests for sex-biased dispersal using biparentally inherited genetic markers. *Molecular Ecology*, 11, 1103-1114.
- Greenwood P.J.** (1980): Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behavior*, 28, 1140-1162.
- Griffith S.C., Owens I.P.F. & Thuman K.A.** (2002): Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, 11, 2195-2212.
- Griffiths R., Double M.C.; Orr K. & Dawson R.J.G.** (1998): A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7, 1071-1075.
- Hanski I.** (1999): *Metapopulation Ecology* (1. Aufl.). Oxford University Press, Oxford.
- Hardy O.J. & Vekemans X.** (2002): SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2, 618-620.
- Hedrick P.W.** (2005): A standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 59, 1633-1638.
- Hogan F., Burridge C., Cooke R. & Norman J.** (2007): Isolation and characterisation of microsatellite loci to DNA fingerprint the powerful owl (*Ninox strenua*). *Molecular Ecology Notes*, 7, 1305-1307.
- Jakobsson M. & Rosenberg N.A.** (2007): CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23, 1801-1806.
- Kalinowski S.T., Taper M.L., & Marshall T.C.** (2007): Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16, 1099-1006.



- Kempnaers B., Congdon B., Boag P. & Robertson R.J.** (1999): Extra pair paternity and egg hatchability in tree swallows: evidence for the genetic compatibility hypothesis? *Behavioral Ecology*, 10, 304-311.
- Kimura M. & Weiss G.H.** (1964): The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. *Genetics*, 49, 561-576.
- Knippers R.** (2006): *Molekulare Genetik* (9. Aufl.). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Konovalov D.A., Manning C. & Henshaw M.T.** (2004): KINGROUP: a program for pedigree relationship reconstruction and kin group assignments using genetic markers. *Molecular Ecology Notes*, 4, 779-782.
- Koopman M.E., Hayward G.D. & McDonald D.B.** (2007a): High connectivity and minimal genetic structure among North American boreal owl (*Aegolius funereus*) populations, regardless of habitat matrix. *The Auk*, 124, 690-704.
- Koopman M.E., McDonald D.B. & Hayward G.D.** (2007b): Microsatellite analysis reveals genetic monogamy among female boreal owls. *Journal of Raptor Research*, 41, 314-318.
- Koopman M.E., Schable N.A. & Glenn T.C.** (2004): Development and optimization of microsatellite DNA primers for boreal owls (*Aegolius funereus*). *Molecular Ecology Notes*, 4, 376-378.
- Korfanta N.M., Schable N.A. & Glenn T.C.** (2002): Isolation and characterization of microsatellite DNA primers in burrowing owl (*Athene cunicularia*). *Molecular Ecology Notes*, 2, 584-585.
- Korfanta N.M., McDonald D.B. & Glenn T.C.** (2005): Burrowing owl (*Athene cunicularia*) population genetics: A comparison of North American forms and migratory habits. *The Auk*, 122, 464-478.
- Larsson J.K., Jansman H.A.H., Segelbacher G., Höglund J. & Koelewijn H.P.** (2008): Genetic impoverishment of the last black grouse (*Tetrao tetrix*) population in the Netherlands: detectable only with a reference from the past. *Molecular Ecology*, 17, 1897-1904.
- Leppert L., Zadorozhny T.V., Belthoff J.R. & Dufty A.M.** (2006): Sex identification in four owl species from Idaho: DNA and morphometrics. *Journal of Raptor Research*, 40, 43-46.
- Lenormand T.** (2002): Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 183-189.

- Letty J., Génot J.C. & Sarrazin F.** (2001): Viabilité de la population de Chevêche d'Athéna *Athene noctua* dans le parc naturel régional des Vosges du Nord. *Alauda*, 69, 359-372.
- Levins R.** (1969): Some demographic and genetic consequences of environmental heterogeneity for biological control. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 15, 237-240.
- Madsen T., Stille B. & Shine R.** (1996): Inbreeding depression in an isolated population of adders *Vispera berus*. *Biological Conservation*, 75, 113-118.
- Mantel N.** (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27, 209-220.
- Marks J.S. Dickinson J.L. & Haydock J.** (1999): Genetic monogamy in long-eared owls. *The Condor*, 101, 854-859.
- Meek S.B. & Robertson R.L.** (1991): Adoption of young by replacement male birds: an experimental study of eastern bluebirds and a review. *Animal Behavior*, 42, 813-820.
- Meirmans P.G.** (2006): Using the AMOVA framework to estimate a standardised genetic differentiation measure. *Evolution*, 60, 2399-2402.
- Mikkola H.** (1983): *Owls of Europe* (1. Aufl.). T & AD Poyser, Calton.
- Miller M.P.** (2005): ALLELES IN SPACE: Computer software for the joint analysis of inter-individual spatial and genetic information. *Journal of Heredity*, 96, 722-724.
- Møller A.P.** (1988): Female choice selects for male sexual ornaments in the monogamous swallow. *Nature*, 332, 640-642.
- Møller A.P. & Birkhead T.R.** (1993): Certainty of paternity covaries with paternal care in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 33, 261-268.
- Müller W., Epplen J.T. & Lubjuhn T.** (2001): Genetic paternity analyses in Little Owls (*Athene noctua*): Does the high rate of parental care select against extra-pair young? *Journal of Ornithology*, 142, 195-203.
- Nei M., Tajima F. & Tatenno Y.** (1983): Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19, 153-170.
- Park S.D.E.** (2001): *Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection*. Ph.D. Thesis, University of Dublin, Dublin.
- Peakall R., Ruibal M. & Lindenmayer D.B.** (2003): Spatial autocorrelation analysis offers new insights into gene flow in the Australian bush rat, *Rattus fuscipes*. *Evolution*, 57, 1182-1195.

- Petit R.J., El Mousadik A. & Pons O.** (1998): Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology*, 12, 844-855.
- Petrie M. & Kempnaers B.** (1998): Extra-pair paternity in birds: explaining variation between species and populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 52-58.
- Piry S., Luikart G. & Cornuet J.M.** (1999): BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90, 502-503.
- Primack R.B.** (2008): *A Primer of Conservation Biology* (4. Aufl.). Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P.** (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Proctor M.F., McLellan B.N. & Barclay R.M.R.** (2005): Genetic analysis reveals demographic fragmentation of grizzly bears yielding vulnerably small populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272, 240-2416.
- Proudfoot G., Honeycutt R. & Slack R.D.** (2005): Development and characterization of microsatellite DNA primers for ferruginous pygmy-owls (*Glaucidium brasilianum*). *Molecular Ecology Notes*, 5, 90-92.
- Prugnolle F. & De Meeus T.** (2002): Inferring sex-biased dispersal from population genetic tools. *Heredity*, 88, 161-165.
- Pusey A.E.** (1987): Sex-biased dispersal and inbreeding avoidance in birds and mammals. *Trends in Ecology and Evolution*, 2, 295-299.
- Queller D.C. & Goodnight K.F.** (1989): Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43, 258-275.
- Raymond M. & Rousset F.** (1995): GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86, 248-249.
- R Development Core Team** (2005): *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Wien.
- Reed J.M. & Dobson A.P.** (1993): Behavioral constraints and conservation biology: Conspecific attraction and recruitment. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 253-256.
- Reed D.H. & Frankham R.** (2003): Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17, 230-237.
- Rohwer S.** (1986): Selection for adoption versus infanticide by replacement 'mates' in birds. *Current Ornithology*, 3, 353-395.

- Rosenberg N.A.** (2004): DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4, 137–138.
- Saladin V., Ritschard M., Roulin A., Bize P. & Richner H.** (2007): Analysis of genetic parentage in the tawny owl (*Strix aluco*) reveals extra-pair paternity is low. *Journal of Ornithology*, 148, 113-116.
- Schaub M., Ulrich B., Knötzsch G., Albrecht P. & Meisser C.** (2006): Local population dynamics and the impact of scale and isolation: a study on different little owl populations. *Oikos* 115, 389-400.
- Schönn S., Scherzinger W., Exo K.M. & Ille R.** (1991): *Der Steinkauz: Athene noctua* (1. Aufl.). A. Ziemsen Verlag (Die Neue Brehm-Bücherei), Wittenberg-Lutherstadt.
- Segelbacher G. & Storch I.** (2002): Capercaillie in the alps: genetic evidence of metapopulation structure and population decline. *Molecular Ecology*, 11, 1669-1677.
- Segelbacher G., Höglund J. & Storch I.** (2003a): From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology*, 12, 1773-1780.
- Segelbacher G., Storch I. & Tomiuk J.** (2003b): Genetic evidence of capercaillie *Tetrao urogallus* dispersal sources and sinks in the Alps. *Wildlife Biology*, 9, 267-273.
- Selkoe K.A. & Toonen R.J.** (2006): Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9, 615-629.
- Slatkin M.** (1987): Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236, 787-792.
- Stamps J.A.** (1988): Conspecific attraction and aggregation in territorial species. *The American Naturalist*, 131, 329-347.
- Sunde P., Thorup K., Jacobsen L.B., Holsegård-Rasmussen M.H., Ottessen N., Svenné S. & Rahbek C.** (2009): Spatial behaviour of little owls (*Athene noctua*) in a declining low-density population in Denmark. *Journal of Ornithology*, 150, 537-548.
- Thode A., Maltbie M., Hansen L., Green L. & Longmire J.** (2002): Microsatellite markers for the Mexican spotted owl (*Strix occidentalis lucida*). *Molecular Ecology Notes*, 2, 446–448.
- Van Nieuwenhuysse D., Génot J.C. & Johnson D.H.** (2008): *The Little Owl. Conservation, Ecology and Behavior of Athene noctua* (1. Aufl.). Cambridge University Press, Cambridge.

- Waits L., Taberlet P., Swenson J.E., Sandegren F. & Franzen R.** (2000): Nuclear DNA microsatellite genetic analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Molecular Ecology*, 9, 421-431.
- Weir B.S. & Cockerham C.C.** (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 6, 1358-1370.
- Westneat D.E. & Sherman E.W.** (1997): Density and extra-pair fertilizations in birds: a comparative analysis. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41, 205-215.
- Wiens J.A.** (1996): Wildlife in patchy environments: metapopulations, mosaics, and management. In: McCullough DR (Hrsg.): *Metapopulations and Wildlife Conservation* (1. Aufl.), Island Press, Washington.
- Wright S.** (1942): Isolation by distance. *Genetics*, 28, 139-156.
- Wright S.** (1951): The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, 15, 323-354.

## 7 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei PD Dr. Gernot Segelbacher (Forstzoologisches Institut, Universität Freiburg) für die Bereitstellung des spannenden Themas, für die Unterstützung bei allen Fragen zur Laborarbeit und zur Datenauswertung und für das Korrekturlesen meiner Arbeit bedanken.

PD Dr. Martin Schaefer danke ich für die Übernahme der Betreuung meiner Arbeit, für Tipps für das Auswerten der Daten und für das ausführliche mehrfache Korrekturlesen meiner Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herbert und Esther Keil, die mich während meiner dreiwöchigen Feldarbeit ganz selbstverständlich bei sich aufgenommen haben.

Bei Herbert Keil bedanke ich mich außerdem dafür, dass ich ihn drei Wochen bei seinen Kontrollgängen begleiten durfte, um Federn zu sammeln, für durchwachte Nächte und für das stundenlange Suchen der Koordinaten aller Nistplätze.

Bei Martin Grüebl er und Beat Naef-Daenzer von der Schweizerischen Vogelwarte bedanke ich mich, dass ich im Rahmen des Pilotprojektes für die Telemetrie der Steinkäuze Federn von ganzen Familien entnehmen konnte, und für die Mithilfe beim Vogelfang. Ein Dank geht auch an Agnes Schärer, die ebenfalls beim Vogelfang half.

Für das Sammeln und Versenden von Federn möchte ich mich bei Arnaud Brahier (Jura), Siegmund Hartlaub (Miltenberg), Herbert Keil (Stuttgart), Werner Kneule (Stuttgart), Christian Meisser (Genf), Leander Möbius (Mainz), Franz Preiß (Lörrach), Bertrand Scaar (Elsass), Siegfried Schuch (Mainz), Christian Stange (Kaiserstuhl) und Bruno Ullrich (Stuttgart) bedanken.

Ein Dank geht an Lisa Kleinig für die Einführung in die Laborarbeit.

Gregor Rolshausen danke ich für die Ratschläge in statistischen Fragen, Nadine Klauke, Ulrike Pertschy, Heidi Gerbrandt und Verena Glunk für das Korrekturlesen.

Bei Marie Lucas möchte ich mich bedanken für die gute Zusammenarbeit und dafür, dass sie immer ein offenes Ohr hatte.

Julien danke ich, dass er für mich da war und meine schlechten Launen ertrug.

Abschließend danke ich meinen Eltern dafür, dass sie mich während meiner gesamten Studienzeit immer in all meinen Entscheidungen unterstützt haben und ich mich mit allen Problemen an sie wenden konnte.

## 8 Anhang

### Anhang I: Chemikalienliste

**Tabelle 8.1:** Aufgeführt sind die verwendeten Chemikalien und ihre Hersteller

<b>Chemikalie</b>	<b>Hersteller</b>
100bp-DNA-Leiter, äquimolar	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Bioenzym LE Agarose	Bioenzym Scientific GmbH, Oldendorf
DNeasy® Blood & Tissue Kit	QIAGEN GmbH, Hilden
dNTPs Set 1	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Ethanol $\geq 99,8$ %, DAB, reinst	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
H <sub>2</sub> O DEPC behandelt 0,1 %	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
HotStarTaq® Plus	
DNA Polymerase PCR Kit	QIAGEN GmbH, Hilden
M3 Marker	Elchrom Scientific AG, Cham, Schweiz
NEB2 Puffer	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
NEB4 Puffer	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
Primer (0,02 $\mu$ mol)	biomers.net, Ulm
Purified BSA (10 mg/ml)	New England BioLabs GmbH, Frankfurt am Main
Rotiphorese® 10 $\times$ TBE Puffer	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
Rotiphorese® 50 $\times$ TAE Puffer	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe
SYBR® Gold	invitrogen™ Molecular Probes®, Eugene, Oregon, USA

## Anhang II: Liste der Federproben

**Tabelle 8.2:** Aufgelistet sind die Anzahlen aller extrahierten, genotypisierten und für die Analysen verwendeten Proben, getrennt nach Populationen und Jahren, in denen die Proben entnommen wurden. Zusätzlich ist für die genotypisierten Proben angegeben, wie viele Proben jeweils ausgeschlossen wurden, weil weniger als neun Loci typisiert werden konnten, bzw. weil Proben identisch waren. Für die Proben, die in den Rechnungen verwendet wurden, ist außerdem die Zahl der Männchen, Weibchen, der adulten Tiere unbestimmten Geschlechts und der Jungtiere angegeben.

Population	Jahr	Extrahiert	davon:		für Analysen verwendet	davon:			
			Typisiert < 9 Loci	identisch		M	W	Unbestimmte adulte Tiere	Jungtiere
	2007	109	74	10	64	21	34	9	0
Stuttgart	2009	127	106	2	101	19	34	3	45
Rheinland-Pfalz	2007	10	8	4	2	1	0	1	0
	2009	64	56	0	56	10	45	0	1
Lörrach	2009	18	17	0	17	2	15	4	1
Elsass	2009	6	6	2	4	0	0	4	0
Jura	2009	5	5	1	4	0	3	3	1
Kaiserstuhl	2009	20	10	0	10	0	1	0	9
Genf	2009	14	14	1	13	0	4	0	9
Bayern	2009	8	8	1	7	0	0	7	0
Gesamt		381	304	21	278	53	136	31	65



### Anhang III: Testergebnisse des Vergleichs der genetischen Diversitäten und des Tests auf Heterozygotenüberschuss

**Tabelle 8.3:** Aufgelistet sind die Ergebnisse des paarweisen Vergleichs der Allelic Richness, der erwarteten und beobachteten Heterozygotie  $H_e$  und  $H_o$  der einzelnen Loci ( $N=11$ ) zwischen den Populationen mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.  $V$  gibt die Teststatistik an,  $p$  die Signifikanz des Ergebnisses. Das neue Signifikanzniveau nach strikter Bonferroni-Korrektur beträgt  $p = 0,003$ .

Populationen	Allelic Richness		$H_e$		$H_o$	
	V	p-Wert	V	p-Wert	V	p-Wert
Stuttgart - Mainz	26	0,58	24	0,46	27	0,64
Stuttgart - Lörrach	19	0,24	17	0,17	25	0,52
Stuttgart - Kaiserstuhl	47	0,24	48	0,21	32	0,97
Stuttgart - Genf	37	0,76	26	0,58	26	0,58
Stuttgart - Miltenberg	16	0,15	33	1	32	0,97
Mainz - Lörrach	27	0,64	34	0,96	36	0,83
Mainz - Kaiserstuhl	11	0,05	11,5	0,06	27	0,64
Mainz - Genf	28	0,70	34	0,96	39	0,64
Mainz - Miltenberg	37	0,76	26	0,58	32	0,97
Lörrach - Kaiserstuhl	49	0,17	52,5	0,09	44	0,35
Lörrach - Genf	35	0,90	35	0,90	25	0,50
Lörrach - Miltenberg	26	0,58	46	0,28	35	0,89
Kaiserstuhl - Genf	23	0,41	22	0,37	25	0,52
Kaiserstuhl - Miltenberg	10	0,04	24,5	0,48	28	0,69
Genf - Miltenberg	30	0,83	39	0,64	37	0,76

**Tabelle 8.4.:** Aufgelistet ist für jede Population der p-Wert des zweiseitigen Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests auf Abweichungen vom Mutations-Drift-Gleichgewicht unter dem infiniten Allelmodell (IAM) und dem Zwei-Phasen-Modell (TPM).

Population	IAM-Modell	TPM-Modell
	p-Wert	p-Wert
Stuttgart	0,0005	0,0068
Mainz	0,0005	0,1231
Lörrach	0,0005	0,0034
Kaiserstuhl	0,0010	0,2402
Genf	0,0068	0,2061

**Anhang IV: Verwandtschaftsanalysen**

**Tabelle 8.5:** Aufgelistet sind die Ergebnisse der Mutter und Vaterschaftsanalysen. Dabei ist der Neststandort, die ID-Nummer des Jungtiers, der Mutter, des sozialen und des zugeordneten Vaters angegeben (Die ID-Nummer bezieht sich auf die Bezeichnung des DNA-Extraktes des jeweiligen Individuums). Außerdem sind jeweils die Anzahl der Fehlpaarungen (FP) und der Logarithmus des Wahrscheinlichkeitsverhältnisses (LOD-Wert). Signifikante Werte sind mit Sternchen bezeichnet (ermittelt in 10000 Simulationen). Die Vaterschaften wurden unter Kenntnis des maternalen Genotyps ermittelt.

Nest Standort	ID des Jungtiers	ID der Mutter	FP	LOD-Wert Duo (Signifikanz)	ID des sozialen Vaters	ID des zugeordneten Vaters	FP	LOD-Wert Trio (Signifikanz)
Kleinsachsenheim Röhre 7	7369	7367	0	6,45*	7396	7391	3	-3,06
Kleinsachsenheim Röhre 14	7372	7371	0	5,84*	7370	7370	0	9,21*
	7373	7371	0	3,47*	7370	7370	0	12,17*
Kleinsachsenheim Röhre 10	7376	7374	0	9,11*	7375	7375	0	11,30*
	7377	7374	0	10,96*	7375	7375	0	7,74*
Kleinsachsenheim Röhre 22	7384	7382	0	7,62*	7383	7383	0	10,24*
	7385	7382	0	6,75*	7383	7383	0	7,41*
	7386	7382	0	8,75*	7383	7383	0	11,19*
Kleinsachsenheim Röhre 21	7389	7387	0	8,34*	7388	7388	0	10,35*
	7390	7387	0	7,94*	7388	7388	0	8,18*
Kleinsachsenheim Röhre 33	7393	7392	0	6,57*	7391	7391	0	6,56*
	7394	7392	0	5,44*	7391	7391	0	8,02*
	7397	7395	0	4,93*	7396	7396	0	7,89*
Aldingen	7398	7395	0	3,32*	7396	7396	0	7,23*
	7399	7395	0	6,38*	7396	7396	0	7,12*
Remseck1	7402	7401	0	6,33*	7400	7400	0	9,96*
	7403	7401	0	3,75*	7400	7400	0	10,07*
	7407	7404	0	4,83*	7405/7406	7405	0	11,61*
Remseck2	7408	7404	0	3,75*	7405/7406	7405	0	7,20*
	7409	7404	0	6,39*	7405/7406	7405	0	11,39*
Bönnigheim	7412	7411	0	9,41*	7410	7410	0	11,20*
	7413	7411	0	12,23*	7410	7410	0	8,24*
	7416	7414	0	4,88*	7415	7415	0	9,34*
Marbach	7417	7414	0	4,83*	7415	7415	0	11,42*
Rosswag	7420	7418	0	9,40*	7419	7419	0	8,31*
	7421	7418	0	10,85*	7419	7419	0	6,35*

Fortsetzung auf der nächsten Seite

**Tabelle 8.5** Fortsetzung von vorheriger Seite

Nest Standort	ID des Jung-tiers	ID der Mutter	FP	LOD-Wert Duo (Signifi-kanz)	ID des so-zialen Va-ters	ID des zuge-ordneten Vaters	FP	LOD-Wert Trio (Signifi-kanz)
Erligheim	7427	7425	0	7,13*	7426	7426	0	11,56*
	7428	7425	0	4,37*	7426	7426	0	9,01*
	7429	7425	0	5,82*	7426	7426	0	8,05*
Schwieber-dingen	7613	7477	0	2,60*				
	7614	7477	0	2,32*				
	7615	7477	0	3,16*				
	7616	7477	0	7,95*				
Bönnigheim	7617	7462	0	6,44*				
	7618	7462	0	5,71*				
	7619	7462	0	6,45*				
	7620	7462	0	5,76*				
Neckar-weihingen	7621	7461	0	7,88*				
	7622	7461	0	6,84*				
	7623	7461	1	2,55*				
	7624	7461	0	5,51*				
Neckar-weihingen	7625	7473	0	2,40*				
	7626	7473	0	6,68*				
	7627	7473	0	6,47*				

**Tabelle 8.6:** Aufgelistet sind die Ergebnisse der Geschwisteranalysen für die vier Familien, für die der Vater nicht beprobt wurde. Für jede Familie sind der Neststandort und die ID der Jungtiere angegeben (Die ID-Nummer bezieht sich auf die Bezeichnung des DNA-Extraktes des jeweiligen Individuums). Für jedes Geschwisterpaar ist der Logarithmus des Wahrscheinlichkeitsverhältnisses (Wahrscheinlichkeit Halbgeschwister: Wahrscheinlichkeit Vollgeschwister) angegeben. Signifikante Ergebnisse sind mit Sternchen markiert (ermittelt in 10000 Permutationen).

Schieberdingen	7613	7614	7615
7614	0,000		
7615	0,000	0,000	
7616	0,191	0,397	0,058
Bönnigheim	7617	7618	7619
7618	0,013		
7619	0,170	0,003	
7620	0,067	0,073	0,043
Neckarweihingen	7621	7622	7623
7622	0,007		
7623	0,061	0,037	
7624	0,052	0,064	0,003
Neckarweihingen	7625	7626	7627
7626	0,160		
7627	0,293	7,732*	
7628	0,079	2,654	0,000

## Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbständig angefertigt habe. Es wurden nur die in der Arbeit ausdrücklich benannten Quellen und Hilfsmittel benutzt. Wörtlich oder sinngemäß übernommenes Gedankengut habe ich als solches kenntlich gemacht.

---

Ort, Datum

---

Unterschrift