

## Multiple Vaterschaften in Brutten des Seggenrohrsängers *Acrocephalus paludicola*: Erste Ergebnisse des DNA-Fingerprintings

Karl Schulze-Hagen, Ingrid Swatschek, Andrzej Dyrzc und Michael Wink

### Einleitung

LACK (1968) schätzte, daß ca. 92 % aller Vogelarten monogam sind, d. h. daß sie sich zumindest während einer Brutzeit als Paar zusammenfinden und die Brutpflege teilen. Vor allem die Bewohner einfach strukturierter Lebensräume, wie z. B. Röhrichte, weichen aber von dieser Regel ab. So findet man in der Gattung *Acrocephalus* eine kontinuierliche Abnahme der väterlichen Investitionen bei der Aufzucht von Jungen, die von intensiver Teilnahme an der Brutpflege bis hin zu völliger Nichtbeteiligung reicht (LEISLER & CATCHPOLE 1992). Parallel dazu schließen die Paarungssysteme Monogamie in hoher und dichter, weniger nahrungsreicher Vegetation sowie unterschiedliche Grade von Polygynie bis hin zu einer Polygynandrie mit promiskuinere Struktur in offener, sehr nahrungsreicher Vegetation ein. Diese extremste Position wird vom Seggenrohrsänger *A. paludicola* eingenommen, einem Bewohner monotoner, weitflächiger und nahrungsreicher *Carex*-Wiesen, die dauerhaft unter Wasser stehen. Die Männchen sind so gut wie völlig vom Brutgeschäft emanzipiert; die Weibchen ziehen die Brut ganz allein auf (HEISE 1970, WAWRZYNIAK & SOHNS 1977, DYRCZ 1989, 1993, DYRCZ & ZDUNEK im Druck, SCHULZE-HAGEN et al. 1989, SCHULZE-HAGEN 1991).

Freilandstudien von DYRCZ (1989) zeigen, daß sowohl die Aktionsareale (home ranges) der Männchen als auch die der Weibchen sowie deren Nester in der Seggenwiese ungleichmäßig, ja mosaikartig verteilt sind. Peripher gelegene Aktionsareale von Männchen sind bis zu 1,5 ha groß, überlappen sich weit mit denen anderer Männchen und verändern sich ständig in ihrer Lage. Areale in den Zentren der Ballungsgebiete sind dagegen kleiner (0,2 bis 0,5 ha) und dauerhafter. Nach welchen Kriterien die Arealwahl der Weibchen erfolgt (z. B. Vegetationsstruktur, Nahrungsreichtum und/oder auch Männchendichte), ist noch unklar. Da sie ihre Brut allein aufziehen, ist eine Fläche mit hoher Arthropodendichte besonderes bedeutsam. Die Aktionsareale beider Geschlechter überlappen sich, so daß das Verhältnis  $\sigma : \varphi$  in den Zentren von Besiedlungsmosaiken 1 : 3 beträgt; peripher ist es eher umgekehrt.

Die Seggenrohrsänger- $\sigma$  singen während der gesamten Brutsaison, die von Anfang Mai bis in den August dauert, mit nahezu gleicher Intensität. Ebenso scheinen sie immer auf der Suche nach Weibchen und ständig kopulationsbereit zu sein (HEISE 1970, A. DYRCZ unpubl., K. SCHULZE-HAGEN, Volierenbeobachtungen). Die Männchen reagieren zwar aggressiv auf Vorspielen arteigenen Gesangs (CATCHPOLE & LEIS-

LER 1989), territoriale Streitigkeiten zwischen den Männchen konnten jedoch bisher nicht beobachtet werden (WAWRZY尼亚K & SOHNS 1977, A. DYRCZ unpubl.). Auch scheinen sie die Weibchen, mit denen sie kopulieren, nicht gegenüber Konkurrenten zu verteidigen. „Mate guarding“ wie bei Rohrsängern mit biparentaler Brutfürsorge kommt beim Seggenrohrsänger nicht vor, ist auch schon deshalb kaum möglich, weil sich die Seggenrohrsänger-♀ in der unübersichtlichen und bultenreichen Vegetation der Seggenwiese leicht vor einem Männchen verbergen können (K. SCHULZE-HAGEN, Volierenbeobachtungen).

Seggenrohrsänger-♀ fordern ♂ aktiv zur Kopulation auf (K. SCHULZE-HAGEN, Volierenbeobachtungen) und besuchen z. T. mehrere ♂ nacheinander (WAWRZY尼亚K & SOHNS 1977). Die Brutreviere der Weibchen überlappen sich nicht (DYRCZ & ZDUNEK im Druck). Im Gegensatz zu den Männchen zeigen sie deutliche territoriale Aggressivität, wenn sie bei der Nahrungssuche auf ein benachbartes Weibchen stoßen (K. SCHULZE-HAGEN, unveröffentlicht).

Während die soziologischen Aspekte der Interaktionen zwischen Männchen und Weibchen wenigstens teilweise bekannt sind, liegen bisher weder beim Seggenrohrsänger noch bei anderen Arten mit uniparentaler Brutfürsorge Analysen der zugrundeliegenden populationsgenetischen Voraussetzungen vor. Wie sehen die Vaterschaftsverhältnisse bei Seggenrohrsänger-Bruten aus? Kann es einem einzelnen Männchen gelingen, eine gesamte Brut zu fertilisieren oder sind immer mehrere Väter an einer Brut beteiligt? Um diese Fragen zu beantworten, haben wir die Methode des DNA-Fingerprinting mittels „Multilocus“-Sonden eingesetzt, die sich für diese Fragestellungen sehr gut eignet (BURKE et al. 1991).

### Material und Methoden

Das Untersuchungsgebiet ist ein 44 ha großer Ausschnitt einer weitflächigen Seggenwiese im Niederungsgebiet der Biebrza/NE-Polen. Die Bestandsdichte liegt bei ca. 9 singenden ♂/10 ha. Auf der langjährig kontrollierten Fläche wurden nach Möglichkeit alle adulten Seggenrohrsänger mit Farbringen markiert. Im Juni und Juli 1990 wurden die Nester — häufig während der frühen Nestlingsphase — durch z. T. aufwendige Nestbeobachtung vor allem von W. ZDUNEK auffindig gemacht und danach regelmäßig kontrolliert (A. DYRCZ unpubl.). Den etwa 7–9 tägigen Nestlingen aus 28 von insgesamt 41 gleichzeitig besetzten und regelmäßig kontrollierten Nestern wurde aus der Armvene ca. 30 µl Blut entnommen. Ebenso entnahmen wir den mit Japannetzen in Nestnähe gefangenen 28 Müttern sowie allen erreichbaren ♂ (n = 32) Blut und bewahrten dieses in einem modifizierten EDTA-Puffer (ARCTANDER 1988) auf. Bei 18 Bruten gelangen vollständige DNA-Fingerprints von allen Nestlingen (n = 70) sowie deren Müttern.

Molekulargenetische Methoden: Nach Proteinase K-Verdau der Erythrozytensuspension wurde die DNA isoliert, gereinigt und mit dem Restriktionsenzym Hinf I geschnitten. Die Restriktionsfragmente wurden mittels Agarose-Gelelektrophorese aufgetrennt (Gelgröße 22 x 30 cm) und auf eine Nylonmembran durch Kapillarblot übertragen (MANIATIS et al. 1982). Durch Hitzebehandlung wurde die übertragene DNA mit der Nylonmembran kovalent gekoppelt. Die Membran wurde anschließend mit einer synthetischen Oligonukleotid-Sonde ([CAC]5 oder [GAA]5 (Firma Fresenius, Oberursel) hybridisiert. Die Sonden waren mit

Digoxigenin markiert (SWATSCHEK & WINK 1992). Zur Detektion der Oligonukleotid-DNA-Hybridisierungskomplexe wurden die Nylonmembranen mit einer Antikörperlösung (Firma Boehringer, Mannheim) behandelt, die selektiv Digoxigeninreste erkennt. Da an die Antikörper eine Phosphatase gekoppelt war, wurde zur Visualisierung dieser Komplexe anschließend mit einem chromogenen Phosphatasesubstrat inkubiert (SWATSCHEK & WINK 1992). Die Hybridisierungskomplexe (DNA-Banden) wurden so als violettbraune Banden sichtbar, die in ihrer Gesamtheit ein typisches Fingerprint-Muster bilden (Abb.). Die Proben aus einer Familie und die möglicherweise zugehörigen ♀ und ♂ wurden auf einem Gel gemeinsam analysiert, um Unterschiede, die sich aus verschiedenen Gel-Läufen ergeben könnten, eliminieren zu können. Um die Paternitätsverhältnisse zu bestimmen, wurden die DNA-Fingerprints visuell ausgewertet, indem die mütterlichen und putativ väterlichen Banden auf eine durchsichtige Kunststoff-Folie übertragen wurden. Die Lage der Banden wurde mit derjenigen der zugehörigen Jungvögel verglichen. Treten mehrere Banden auf, die bei den Elternvögeln nicht vorkommen, so handelt es sich entweder um Mutationen, die aber extrem selten vorkommen (WESTNEAT 1990) oder aber in der Regel um Banden, die aus einer „extra-pair parentage“ stammen.

Setzt man hohe Heterozygotität und unabhängige Segregation der für die Banden zuständigen Allele, die nach den Mendelschen Gesetzen vererbt werden, voraus, sollte jeweils die Hälfte der Jungvogelbanden von einem der Altvögel stammen. Die jeweils nicht mütterlichen Banden der Jungvögel müssen demnach von den Männchen stammen. Auch wenn das zugehörige Männchen unbekannt ist, kann eine Aussage über die Vaterschaftsverhältnisse gemacht werden. Wenn zwei oder mehr Jungvögel zu 50 % dieselben väterlichen Banden aufweisen, ist mit großer Wahrscheinlichkeit nur ein Männchen beteiligt (Abb. A). Wenn sich jedoch die Bandenmuster (die von Männchen stammen müssen) zwischen den Jungvögeln stark unterscheiden, also keine Übereinstimmung zwischen den informativen Banden (Abb. B, C) besteht, geht die Vaterschaft vermutlich auf ein weiteres Männchen zurück.

Besonders herzlich danken wir W. ZDUNEK für ihre unendlich geduldige Nestersuche in den weiten Seggenwiesen. H. WINKLER führte die statistischen Berechnungen durch und trug zur Verbesserung der ersten Fassung bei. B. LEISLER war uns in allen Stadien des Projektes ein freundschaftlicher und konstruktiver Diskussionspartner. Die molekulargenetischen Ergebnisse sind im Rahmen der Dissertation von I. SWATSCHEK gewonnen worden. Das Projekt wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft gefördert (Wi 719/7-1).

### Ergebnisse und Diskussion

Bei 70 Nestlingen in 18 Brutten war in 66 Fällen das am Nest gefangene Weibchen auch die leibliche Mutter. Technisch bedingt, war die Zuordnung bei 4 Nestlingen nicht eindeutig. Somit fanden wir keinen Hinweis für intraspezifische Nestparasitierung. Dies ist insofern bemerkenswert, als ein großer Teil der Weibchen synchron brütet und in einigen Fällen die Nester nur 6 bis 10 m auseinanderlagen. Auch in anderen bislang durchgeführten DNA-Fingerprinting-Untersuchungen war die intraspezifische Nestparasitierung bis auf *Taeniopygia guttata* und *Progne subis* (Tab. 3) wesentlich seltener als durch Männchen bedingte „Extra-pair parentage“.

Im ersten Untersuchungsgang erwies es sich als sehr schwierig, die 32 gefangenen Männchen ihrem jeweiligen Nachwuchs zuzuordnen. Auch Männchen, die in der Nähe eines bestimmten Nestes gefangen wurden, waren meist nicht die Väter der Jungvögel im betreffenden Nest. Da die Vergleichbarkeit von DNA-Fingerprint-

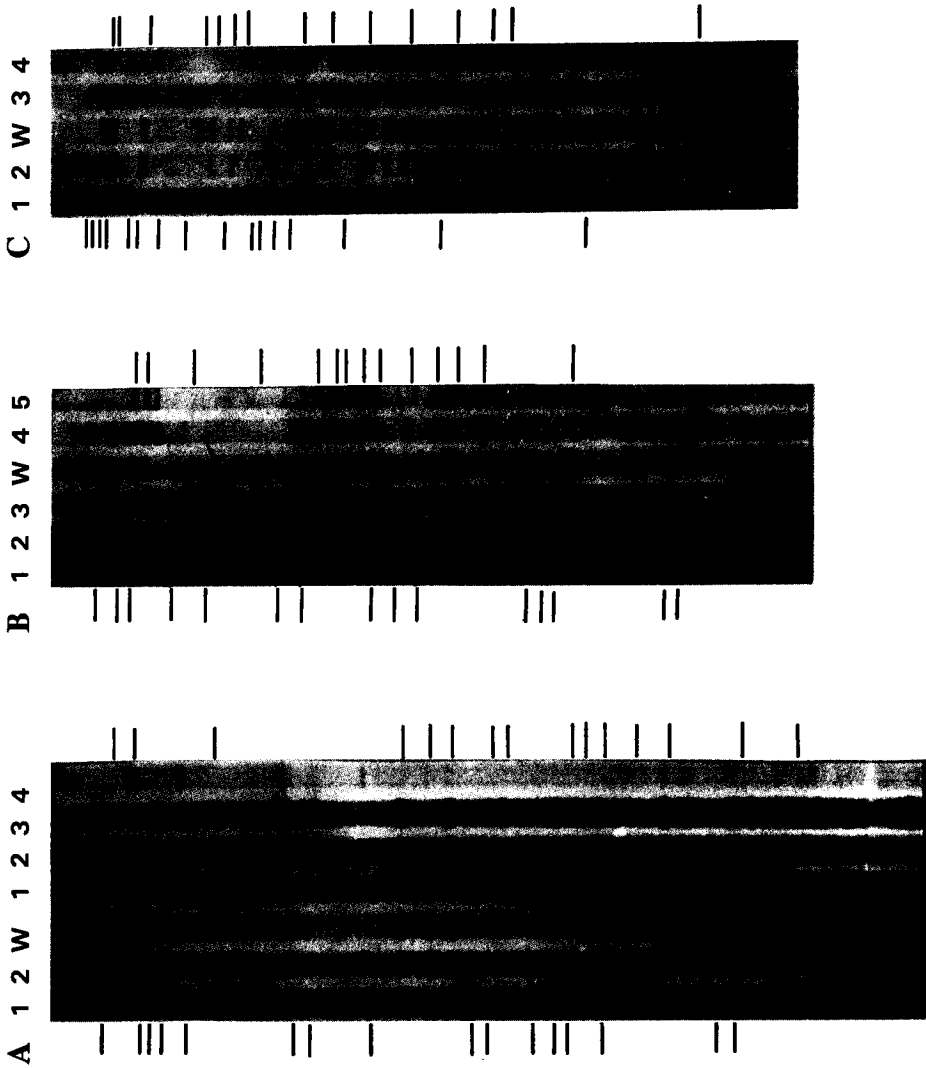
Muster zwischen unterschiedlichen Gelen nicht sehr gut ist, hätte man für eine verlässliche Zuordnung alle 32 Männchen mit jeweils jeder Familie einzeln bearbeiten müssen, also jede Analyse mehrfach wiederholen müssen. Da die Fingerprinting-Methode pro Analysengang relativ viel DNA benötigt (ca. 10–20 µg/Ind.), reichte die jeweils vorhandene DNA-Menge für einen solchen Vergleich bei weitem nicht aus. Zudem fanden wir innerhalb der Population einen relativ hohen Anteil identischer DNA-Banden (Abb.), die auf eine engere Verwandtschaft der Seggenrohrsänger untereinander schließen läßt. Dies verringert die Zahl der auswertbaren DNA-Banden und damit die Chance der eindeutigen Zuordnung eines spezifischen Männchens zu seinen Nachkommen.

Beantwortbar war jedoch die Frage, wieviele Männchen an einer Brut als Väter beteiligt waren (s. Material & Methoden). In der Hälfte der 18 Bruten war nur 1 Männchen der Vater, in der anderen Hälfte waren 2 bis 4 Männchen als Väter nachweisbar (Tab. 1). Bemerkenswert ist, daß multiple Paternität insbesondere bei Bruten mit 4 bis 6 Jungen zu beobachten war. Im Vergleich mit anderen Vogelarten liegt die Rate der „extra-pair paternity“ beim Seggenrohrsänger sehr hoch (Tab. 3).

Tab. 1. Vaterschaftsverhältnisse in 18 Seggenrohrsängerbruten im Juni 1990 auf einer Untersuchungsfläche im Niederungsgebiet der Biebrza/NE-Polen. — Paternity analysis by DNA-fingerprinting in 18 broods of Aquatic Warblers on a study plot on the Biebrza Marshes/NE-Poland during June 1990.

Nestlinge/Brut Brood-size	Zahl der Väter / number of fathers				Summe
	1	2	3	4	
2	2				2
3	5	1	1		7
4	2			2	4
5			3	1	4
6			1		1
	9	1	5	3	18

Wie ist die hohe Rate multipler Vaterschaft zu deuten? Selbst bei einer Reihe von soziologisch monogamen bzw. polygynen Arten ist bekannt, daß die Weibchen z. T. häufig „extra-pair copulations“ (EPC) anstreben (BIRKHEAD & MØLLER 1992). Bei den promiskuinem Verhältnissen im Reproduktionssystem des Seggenrohrsängers könnten es die Weibchen darauf anlegen, mit den besten Männchen zu kopulieren (going shopping for good genes). Dieses Verhalten entspräche der „genetic quality hypothesis“ (BIRKHEAD & MØLLER 1992), für die es bei der Blaumeise *Parus caeruleus* experimentelle Belege gibt (KEMPENAERS et al. 1992). Zusätzlich könnte ein solches Verhalten innerhalb der isolierten und genetisch recht homogenen Seggenrohrsänger-Population auch eine Versicherung gegen Inzuchtdepression darstellen (BROOKER et al. 1990). Umgekehrt könnten starke und erfahrene Weibchen mehr Männchen anziehen als schwache oder unerfahrene Vögel (PARKER 1992). Multiple Vaterschaft könnte in



DNA-Fingerprinting beim Seggenrohrsänger. Beispiele aus 4 Brutten und ihrer Mütter (W). Die Pfeile auf der rechten Bildseite weisen auf die informativen mütterlichen DNA-Banden, die auf der linken Seite auf die der Männchen hin. In A ist ein ♂ Vater von Jungen der ersten (1, 2) wie auch der zweiten Brut (1–4). In B sind 3 Väter (Jungvögel 2 und 3 haben denselben Vater) und in C 4 Väter an einer Brut beteiligt. — DNA-fingerprinting of Aquatic warblers (*Acrocephalus paludicola*). Examples of 4 broods including respective mothers (W). Arrows on the right indicate informative bands of the mother, those on the left the corresponding bands of the respective father(s). A shows nestlings of first (1, 2) and second brood (1–4) fathered by the same male. B illustrates one brood with 3 fathers and C one brood fathered by 4 males.

unserer Population aber auch ganz einfach Resultat einer hohen Männchendichte sein und dort gehäuft auftreten, wo die Areale der Männchen am dichtesten zusammenliegen und lediglich die dort höheren Kopulationschancen widerspiegeln (PARKER 1992, A. DYRCZ et al. unpubl.).

Immerhin war in der Hälfte der 18 Bruten nur ein Vater nachweisbar. In zwei Fällen wurde das Weibchen sogar sowohl in seiner ersten als auch in seiner zweiten Brut von nur einem, und zwar demselben Männchen fertilisiert (Abb. A). Möglicherweise ist eine gewisse Standortstreu die gesamte Brutsaison hindurch für einen Teil der Männchen lohnend. Denn bei der abwanderungsbedingten geringeren Männchendichte ab Juli und dem hohen Anteil an Zweitbruten (A. DYRCZ & W. ZDUNEK unpubl.) hätten sie eine größere Chance zur Kopulation mit den Weibchen der Umgebung bzw. zur Vaterschaft ihrer Nestlinge.

Kleine Bruten (2–3 Nestlinge) hatten stets nur einen Vater und große (5–6 Nestlinge) stets mehrere Väter. Dieser Unterschied ist signifikant ( $p < 0,01$ ; Fisher's exact test). Es läßt sich natürlich nicht mit Sicherheit ausschließen, daß bei kleinen Bruten ebenfalls mehr als ein Männchen beteiligt waren, man ihre „Spuren“ jedoch nicht mehr erkennt, weil die entsprechenden Jungen ausgefallen sind. Die Nester sind sehr gut versteckt und so fanden wir die Mehrzahl leider erst während der Fütterungsphase. Da vollständige Gelege aber immer zwischen 4 und 6 Eier enthalten (SCHULZE-HAGEN 1991), handelt es sich bei kleinen Bruten offensichtlich um solche mit Teilverlusten (unbefruchtete Eier, abgestorbene Embryonen, Verhungern einzelner Nestlinge). Im Vergleich zu den anderen europäischen Rohrsängern liegt die Rate für infertile und abgestorbene Eier bei *A. paludicola* sehr niedrig (A. DYRCZ & W. ZDUNEK unpubl.). Doch warum haben nur die Bruten mit geringer Nestlingszahl einen Vater? Man könnte spekulieren, daß dies mit Inzuchtdepression oder mit Weibchen-Fitness zusammenhängt. Den besseren Weibchen gelingt es, mit mehreren Männchen zu kopulieren und eine höhere Fertilisierungsrate zu erreichen, schwächere oder unerfahrenere dagegen kopulieren mit nur einem Männchen für den Preis einer geringeren Fertilisierungsrate (MADSEN et al. 1992).

In den 9 Bruten mit multipler Paternität zeigt sich, daß die involvierten Männchen meist nur Vaterschaft über einen einzigen Nachkommen (innerhalb eines Nestes)

Tab. 2. Zahl der Nestlinge, die jeweils von 1 Vater abstammen, innerhalb der Bruten mit mehreren Vätern ( $n = 40$  Nestlinge in 9 Bruten). — Number of nestlings originating from a single father in broods with multiple paternity in Aquatic Warblers ( $n = 40$  nestlings in 9 broods).

Zahl der Nestlinge einer Brut, die jeweils von einem Vater abstammen Number of nestlings in multiple paternity broods originating from a single father	n
1	22
2	9
3	9
4	0

erreichten (Tab. 2). Obwohl anzunehmen ist, daß einige Männchen Nachkommen in mehreren Nestern haben, steht dieses Resultat im Gegensatz zum Fertilisationserfolg der Männchen, die Vaterschaft über ganze Bruten erreichten.

Der Seggenrohrsänger zählt zu den Spitzenreitern unter den Arten, bei denen multiple Vaterschaft vorkommt (Tab. 3, BIRKHEAD & MØLLER 1992). Wir kennen kaum ein anderes Beispiel unter den Passeres, in dem 50 % aller Bruten mehr als einen Vater haben, 58 % aller Nestlinge aus solchen Bruten stammen, und keines, in dem 44 % aller Bruten 3 oder gar 4 Väter haben (Tab. 1). Lediglich bei der Heckenbraunelle *Prunella modularis* stammten bis zu 60 % aller Nachkommen aus Bruten mit mehr als einem Vater (fast immer 2 Väter; BURKE et al. 1989) und in einer umfangreichen Studie am Rotschulterstärbling *Agelaius phoeniceus* hatten 6 % aller Bruten 3 sowie 3 % der Bruten 4 Väter (GIBBS et al. 1990, BIRKHEAD & MØLLER 1992). Auch dieser Vergleich ist als Beleg für die Bedeutung einer promiskuienen Komponente im Fertilisationssystem des Seggenrohrsängers zu werten. Bei einer Art mit uniparentaler Aufzucht der Nestlinge ist die hohe Rate multipler Vaterschaft allerdings eher zu erwarten als bei Arten, deren Männchen sich an der Jungenfütterung beteiligen.

Unsere Ergebnisse werfen mehr Fragen auf als sie Antworten geben. Im Hinblick auf die Optimierung des individuellen Reproduktionserfolges sollte es Strategie der

Tab. 3. Zusammenfassung von DNA-Fingerprint-Untersuchungen über Paarungssysteme. EPF = Extra Pair Fertilizations, IBP = Intraspezifischer Brutparasitismus. — Summary of results by DNA-fingerprinting on pairing systems. EPF = extra-pair fertilizations, IBP = intraspecific brood parasitism.

Art	Zahl der untersuchten Jungvögel	Anteil EPF	Anteil IBP	Literatur
Species	Number of young studied	Abundance of EPF	Abundance of IBP	References
<i>Fulmarus glacialis</i>	91	0 %	0 %	HUNTER et al. 1992
<i>Falco eleonorae</i>	59	0 %	0 %	SWATSCHEK et al. 1993
<i>Phylloscopus trochilus</i>	120	0 %	0 %	GYLLENSTEIN et al. 1990
<i>Phylloscopus sibilatrix</i>	56	0 %	0 %	GYLLENSTEIN et al. 1990
<i>Merops apiaster</i>	100	1 %	0 %	JONES et al. 1991
<i>Prunella modularis</i>	133	1 %	0 %	BURKE et al. 1989
<i>Taeniopygia guttata</i>	92	2 %	11 %	BIRKHEAD et al. 1990
<i>Ficedula hypoleuca</i>	135	4 %	0 %	LIFJELD et al. 1991
<i>Haematopus ostralegus</i>	23	5 %	0 %	BURKE et al. 1991
<i>Campylorhynchus nuchalis</i>	69	9 %	0 %	RABENOLD et al. 1990
<i>Passer domesticus</i>	321	10 %	0 %	BURKE et al. 1991
<i>Actitis macularia</i>	111	11 %	0 %	ORING et al. 1992
<i>Parus caeruleus</i>	314	11 %	0 %	KEMPENAERS et al. 1992
<i>Progne subis</i>	52	18 %	17 %	MORTON et al. 1990
<i>F. hypoleuca</i> x <i>albicollis</i>	37	22 %	<1 %	GELTER et al. 1992
<i>Ficedula hypoleuca</i>	38	24 %	2 %	GELTER & TEGELSTRÖM 1992
<i>Agelaius phoeniceus</i>	111	28 %	0 %	GIBBS et al. 1990
<i>Passerina cyanea</i>	63	35 %	0 %	WESTNEAT 1990
<i>Acrocephalus paludicola</i>	70	36 %	0 %	diese Arbeit

Weibchen sein, zuerst einen günstigen Habitatsektor zu finden, der die Alleinaufzucht ihrer Jungen erleichtert. Kopulationen mit mehreren Männchen dienen möglicherweise dazu, die genetische Fitness der eigenen Nachkommen zu erhöhen. Strategie der Männchen ist vielleicht, Flächen mit Nahrungsreichtum und günstigen Nistplätzen zu monopolisieren. Ihr eigentliches Ziel sollte aber sein, Weibchen, sobald diese sich angesiedelt haben, zu monopolisieren (DAVIES 1992). Die mosaikartige und weit überlappende Verteilung der Aktionsareale beider Geschlechter ist ein Hinweis dafür, daß dies zumindest einem Teil der Männchen gelingt. Beide Geschlechter verfolgen also sehr unterschiedlich Interessen. Die Männchen erreichen dabei ihr Ziel auf verschiedenen Wegen, wobei es einigen gelingt, Vaterschaft über ganze Bruten zu erreichen. Andere wiederum sind mit Nachkommen in mehreren Bruten vertreten. Die Unsicherheit der Vaterschaft läßt es für die Männchen offensichtlich nicht lohnend erscheinen, ausgiebiger in die Aufzucht ihrer Nachkommen zu investieren (XIA 1992). Unsere ersten Ergebnisse der DNA-Fingerprinting-Analyse zeigen bereits, daß diese Entscheidung vielfach berechtigt ist.

### Zusammenfassung

Beim Seggenrohrsänger *Acrocephalus paludicola* ziehen die Weibchen ihre Brut allein auf. Offensichtlich ermöglicht der hohe Nahrungsreichtum des Lebensraumes Seggenwiese die uniparentale Aufzucht der Jungen. Sowohl die Männchen als auch die Weibchen streben Kopulationen mit mehreren Partnern an. Um den reproduktive Erfolg der Männchen zu ermitteln, sammelten wir 1990 in der Biebrza-Niederung in NE-Polen bei 70 Nestlingen in 18 Bruten, den zugehörigen 18 Müttern und 32 Männchen der weiteren Nestumgebung Blut für DNA-Fingerprinting-Analysen. Wir fanden eine große Ähnlichkeit aller Fingerprints, die auf einen gewissen genetischen Verwandtschaftsgrad innerhalb der Population schließen läßt. In keinem Fall konnte intraspezifischer Nestparasitismus nachgewiesen werden, d. h. die Weibchen, die am Nest fütterten, waren immer die leiblichen Mütter. In der Hälfte der Bruten war nur ein Vater, in der anderen Hälfte waren zwischen 2 und 4 Väter beteiligt. Alle Bruten mit 5 und 6 Jungen hatten mehrere Väter. Die Nestlingszahl in Bruten mit nur einem Vater war signifikant kleiner als bei Bruten mit mehreren Vätern. Wir kennen bisher kein Beispiel unter den Passeres, in dem 58 % aller Nestlinge aus Bruten stammen, die mehr als einen Vater haben, und in dem in 44 % aller Bruten 3 oder gar 4 Väter beteiligt sind. Bezogen auf alle untersuchten Jungvögel lag die Rate der „extra-pair paternity“ bei 36 %.

### Summary

Multiple paternity in broods of Aquatic Warblers *Acrocephalus paludicola*: First results of a DNA-fingerprinting study

Female Aquatic Warblers always care alone for their broods, whereas males are obviously emancipated from any duties. Prerequisite for the uniparental care of the nestlings is the high abundance of arthropods in the *Carex* vegetation inhabited by Aquatic Warblers. Both sexes strive for copulations with several partners. The reproductive success of the males, which advertize constantly throughout the entire breeding season, was analyzed in this study by DNA-fingerprinting. Blood samples were collected in 1990 in a study plot on the Biebrza marshes/NE-Poland from 70 nestlings of 18 broods, their respective mothers and 32 males. DNA-fingerprint analysis was performed with synthetic multilocus probes ([CAC]5 or [GAA]5) and



immunological methods (anti-digoxigenin antibodies coupled to phosphatase) were employed to visualize hybridized DNA bands. Analyzing 70 nestlings, intraspecific nestparasitism could not be detected in any case, i.e. the female feeding at a nest was always the corresponding mother. Nine of 18 broods originated from one single father, while the other nine broods had two to four fathers respectively. Multiple paternity occurred in all broods with five and six nestlings, whereas we found single paternity exclusively in broods with two to four nestlings ( $p < 0.01$ ; Fisher's exact test). In most broods with multiple paternity the involved males fathered only just one nestling. The degree of multiple paternity in Aquatic Warbler broods was very high: 58 % of nestlings originated from multiple paternity broods and 44 % of all broods were fathered by 3 or even 4 males. Taking all nestlings into account, the 'extra-pair' paternity rate was 36 %.

### Literatur

- ARCTANDER, P. (1988): Comparative studies of avian DNA by restriction fragment length polymorphism analysis: Convenient procedures based on blood samples from live birds. *J. Orn.* 129: 205–216. • BIRKHEAD, T. R., & A. P. MØLLER (1992): Sperm competition in birds. London. • BIRKHEAD, T. R., T. BURKE, R. ZANN, F. M. HUNTER & A. P. KRUPA (1990): Extra-pair paternity and intraspecific brood parasitism in wild zebra finches, *Taeniopygia guttata*, revealed by DNA fingerprinting. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 27: 315–324. • BROOKER, M. G., I. ROWLEY, M. ADAMS & P. R. BAVERSTOCK (1990): Promiscuity: an inbreeding avoidance mechanism in a socially monogamous species? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 26: 191–199. • BURKE, T., N. B. DAVIES, M. W. BRUFORD & B. J. HATCHWELL (1989): Parental care and mating behaviour of polyandrous dunnocks *Prunella modularis* related to paternity by DNA fingerprinting. *Nature* 338: 249–251. • BURKE, T., O. HANOTTE, M. W. BRUFORD & E. CAIRNS (1991): Multilocus and single locus minisatellite analysis in population biological studies. In: T. BURKE, G. DOLF, A. J. JEFFREYS & R. WOLFF, DNA fingerprinting: Approaches and applications: 154–168. Basel. • CATCHPOLE, C. K., & B. LEISLER (1989): Variation in the song of the Aquatic Warbler in response to playback of different song structures. *Behaviour* 108: 125–138. • DAVIES, N. B. (1992): Dunnock behaviour and sozial evolution. Oxford. • DYRCZ, A. (1989): Polygyny in the Aquatic Warbler. *Ibis* 131: 298–300. • Ders. (1993): Nesting biology of the Aquatic Warbler on the Biebrza marshes (NE-Poland). *Vogelwelt* 114: 2–15. • Ders. & W. ZDUNEK (in print): Breeding ecology of the Aquatic Warbler on the Biebrza marshes (NE-Poland). *Ibis*. • GELTER, H. P., & H. TEGELSTRÖM (1992): High frequency of extra-pair paternity in Swedish pied flycatchers revealed by allozyme electrophoresis and DNA fingerprinting. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 31: 1–7. • DIES, & L. GUSTAFSSON (1992): Evidence from hatching success and DNA fingerprinting for fertility of hybrid pied x collared flycatchers *Ficedula hypoleuca* x *albicollis*. *Ibis* 134: 62–68. • GIBBS, H. L., P. J. WEATHERHEAD, P. T. BOAG, B. N. WHITE, L. M. TABAK & D. HOYSACK (1990): Realised reproductive success of polygynous red-winged blackbirds revealed by DNA markers. *Science* 250: 1394–1397. • GYLLENSTEIN, U. B., S. JAKOBSSON & H. TEMRIN (1990): No evidence for illegitimate young in monogamous and polygynous warblers. *Nature* 343: 168–170. • HEISE, G. (1970): Zur Brutbiologie des Seggenrohrsängers. *J. Orn.* 111: 54–67. • HUNTER, F. M., T. BURKE & S. E. WATTS (1992): Frequent copulations as a method of paternity assurance in the Northern Fulmar. *Animal. Behav.* 44: 149–156. • JONES, C. S., C. M. LESSELLS & J. R. KREBS (1991): Helpers-at-the-nest in European bee-eaters (*Merops apiaster*): a genetic analysis. In: T. BURKE, G. DOLF, A. J. JEFFREYS & R. WOLFF, DNA fingerprinting: Approaches and applications: 169–192. Basel. • KEMPENAERS, B., G. R. VERHEYEN, M. VAN DER BROECK, T. BURKE, C. VAN

BROECKHOVEN & A. A. DHONDT (1992): Extra-pair paternity results from female preference for high-quality males in the blue tit. *Nature* 357: 494–496. • LACK, D. (1968): Ecological adaptations for breeding in birds. London. • LEISLER, B. & C. K. CATCHPOLE (1992): The evolution of polygamy in European reed warblers of the genus *Acrocephalus*: A comparative approach. *Ethology, Ecology & Evolution* 4: 225–243. • LIJFELD, J. T., T. SLAGSVOLD & H. M. LAMPE (1991): Low frequency of extra-pair paternity in pied flycatchers revealed by DNA fingerprinting. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 29: 95–101. • MADSEN, T., R. SHINE, J. LOMAN & T. HAKANSSON (1992): Why do female adders copulate so frequently? *Nature* 355: 440–441. • MANIATIS, T. E., F. FRITSCH & J. SAMBROCK (1982): Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbour Laboratory. • MORTON, E. S., L. FORMAN & M. BRAUN (1990): Extra-pair fertilisations and the evolution of colonial breeding in purple martins. *Auk* 107: 275–283. • ORING, L. W., R. C. FLEISCHER, J. M. REED & K. E. MARSDEN (1992): Cuckoldry through stored sperm in the sequentially polyandrous spotted sandpiper. *Nature* 359: 631–633. • PARKER, G. A. (1992): Snakes and female Sexuality. *Nature* 355: 395–396. • RABENOLD, P. R., K. N. RABENOLD, W. H. PIPER, J. HAYDOCK & S. W. ZACK (1990): Shared paternity revealed by genetic analysis in cooperatively breeding tropical wrens. *Nature* 348: 538–540. • SCHULZE-HAGEN, K. (1991): *Acrocephalus paludicola* – Seggenrohrsänger. In: U. N. GLUTZ VON BLOTZHEIM, & K. M. BAUER, Handbuch der Vögel Mitteleuropas, Bd. 12. 252–291. Wiesbaden. • DERS., H. FLINKS & A. DYRCZ (1989): Brutzeitliche Beutewahl beim Seggenrohrsänger. *J. Orn.* 130: 251–255. • SWATSCHKE, I. (1992): Verwandtschaftsanalyse mittels DNA-Fingerprinting. *Bioforum* 15: 147–151. • DIES. & M. WINK (1992): Verwandtschaftsanalyse mittels DNA-Fingerprint. In: M. WINK, Lupinen 1991 – Forschung, Anbau und Verwertung: 66–77. Heidelberg. • SWATSCHKE, I., D. RISTOW, W. SCHARLAU, C. WINK & M. WINK (1993): Populationsgenetik und Vaterschaftsanalyse beim Eleonorenfalken (*Falco eleonorae*). *J. Orn.* 134: 137–143. • WAWRZYNIAK, H., & G. SOHNS (1977): Der Seggenrohrsänger. Neue Brehm-Büch. 504. Wittenberg. • WESTNEAT, D. F. (1990): Genetic parentage in the indigo bunting: a study using DNA fingerprinting. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 27: 67–76. • XIA, X. (1992): Uncertainty of paternity can select against parental care. *Am. Nat.* 139: 1126–1129.

Anschrift der Verfasser: (K. S.-H.) Bergerstr. 163, D(W)-4050 Mönchengladbach 1; (A. D.) Dept. of Avian Ecology, Wroclaw University, Sienkiewicza 21, PL-50-335 Wroclaw; (I. S. & M. W.) Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364, D(W)-6900 Heidelberg