

Populationsgenetik und Vaterschaftsanalyse beim Eleonorenfalken (*Falco eleonora*)

Ingrid Swatschek, Dietrich Ristow, Winfried Scharlau, Coralie Wink
und Michael Wink

Einleitung und Problemstellung

Der Eleonorenfalk (*Falco eleonora*) brütet kolonial auf kleinen Inseln des Mittelmeergebietes und ist in seiner Biologie an den herbstlichen paläarktischen Kleinvogelzug angepaßt (CRAMP & SIMMONS 1980). Aus der Sicht der Populationsgenetik und Evolution ist die Frage interessant, wie die Mitglieder der verschiedenen mediterranen Brutkolonien miteinander und untereinander verwandt sind und ob Genfluß zwischen den Kolonien stattfindet. In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage nach dem Paarungssystem, d. h. ob die Art wirklich ausschließlich monogam ist, wie es Beobachtungen innerhalb der Brutzeit und Farbringablesungen während mehrerer Brutzeiten (RISTOW et al. 1991) implizieren.

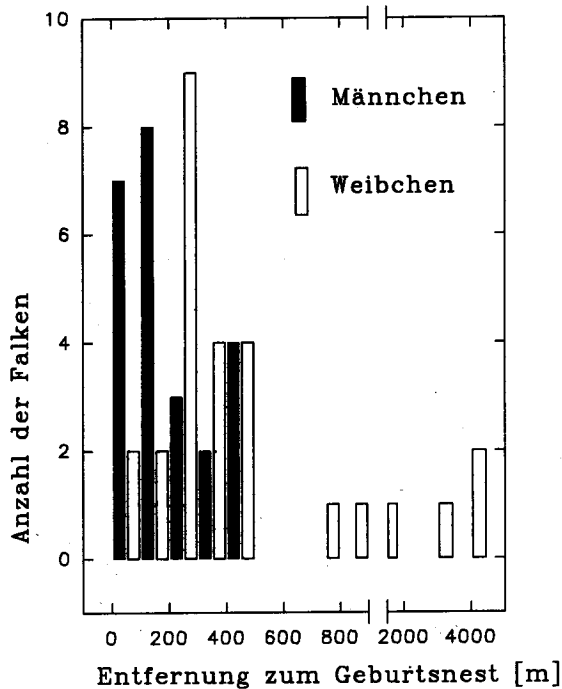


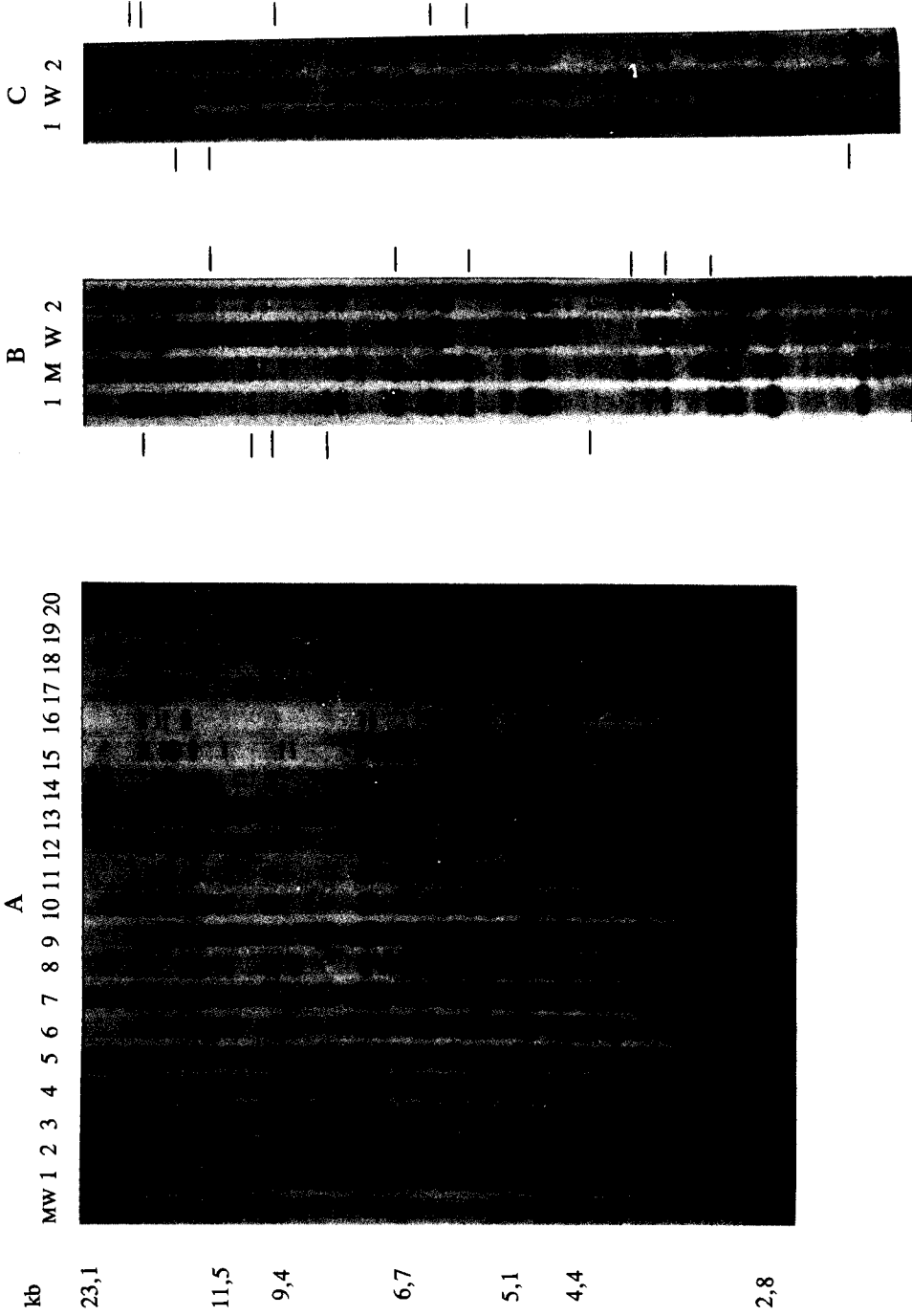
Abb. 1. Philopatry beim Eleonorenfalken. Entfernung zwischen dem Geburtsnest und dem aktuellen Brutplatz. Insel 3 ist 300 x 900 m groß; Inseln 1 und 2 sind 1,5 km und 3–4 km entfernt. — Philopatry of Eleonora's falcon. Distances between natal nests and actual breeding sites. The island studied (No 3) ist 300 x 900 m in size; islands 1 and 2 are 1.5 km or 3–4 km distant, respectively.

Seit über 20 Jahren untersuchen wir die Populationsbiologie und Ökologie des Eleonorenfalken auf einem kleinen Archipel nahe Kreta in der Ägäis, das über 650 Brutpaare beherbergt (RISTOW et al. 1991, WINK et al. 1992). Zwischen 1977 und 1991 haben wir ca 3000 Jungfalken beringt und die jeweiligen Geburtsplätze genau kartiert. Im Sommer 1991 gelang es uns, über 100 brütende Eleonorenfalken am Brutplatz zu fangen. Von diesen Falken waren ca. 50 % beringt, so daß wir genau rekonstruieren können, wann und wo die Falken erbrütet wurden und wo sie sich später zum Brüten einfanden. Wie aus Abb. 1 ersichtlich, ist die Philopatrie bei den beiden Geschlechtern unterschiedlich: Während sich die Männchen bevorzugt in ihrem Geburtsrevier oder in dessen unmittelbarer Nähe ansiedeln (mittlere Entfernung 192 ± 153 m), weisen die Weibchen mit 738 ± 1104 m signifikant (t-Test, $p < 0,05$) größere Ansiedlungsentfernungen auf. Vier weibliche Brutvögel kamen sogar von den umliegenden Nachbarinseln des Archipels, auf denen wir in früheren Jahren ebenfalls einige Jungfalken beringt hatten. Ein gewisser Genfluß kommt also über die Ansiedlung der Weibchen zustande. Wir haben jedoch keinerlei Hinweis für einen Austausch mit Brutkolonien, die weiter als 5 km vom Geburtsort entfernt liegen (RISTOW et al. 1991). Aus den Wiederfunddaten kann man schließen, daß die Bewohner der Inselformationen relativ nah miteinander verwandt sein müssen, da der Genfluß insgesamt sehr gering erscheint und die Philopatrie hoch ist.

Methode

Ausgehend von diesen Beobachtungen haben wir die Methode des DNA-Fingerprintings (WINK et al. 1990, SWATSCHKEK 1992, HOELZEL 1992) eingesetzt, um die Verwandtschaftsverhältnisse beim Eleonorenfalken zu überprüfen. Folgende Versuchsdurchführung hat sich als optimal erwiesen: Nach Isolierung der DNA aus Blutproben wird sie mit dem Restriktionsenzym *Hinf* I geschnitten, um definierte kleinere DNA-Fragmente herzustellen, die mittels langer Agarosegele (20 x 30 cm) elektrophoretisch aufgetrennt werden. Nach der Elektrophorese wird die DNA mittels Kapillarblot auf eine Nylonmembran überführt und daran thermisch gekoppelt. Anschließend erfolgt eine Hybridisierung mit synthetisch hergestellten Oligonucleotidsonden (z. B. L18; GYLLENSTEN et al. 1989), die mit dem Herzglycosid Digoxigenin markiert sind. Die Detektion der Banden erfolgt über einen Digoxigenin erkennenden Antikörper (Firma Boehringer, Mannheim), der mit einer Phosphatase gekoppelt ist. Durch Verwendung

Abb. 2. Beispiele für DNA-Fingerprinting beim Eleonorenfalken. A: Analyse von 20 zufällig ausgewählten Falken (Brutvögel); Banden auf gleicher Höhe deuten auf Verwandtschaft hin und sind für die Berechnung der Bandsharing-Raten wichtig. B: Familie mit 2 Jungen, bei denen Blut von beiden Eltern vorliegt; auf der rechten Seite sind die informativen Banden markiert, die die Elternschaft des Weibchens, auf der linken Seite die des Männchens belegen. C: Familie mit 2 Jungvögeln, bei der nur Blut von einem Elternteil vorliegt (Weibchen); Markierung wie bei B. M: Männchen, W: Weibchen, 1, 2: Jungvögel, MW: Molekulargewichtsmarker. — Examples for DNA fingerprinting of Eleonora's falcons. A: Analysis of 20 randomly selected adult falcons. DNA bands which match between individuals indicate relatedness and are important for the calculation of bandsharing rates. B: Family with 2 young; blood of both parent birds was available. On the right hand side bands are marked which are indicative for parentage of the female; those on the left hand side illustrate male paternity. C: Family with 2 young. Blood available from female only. Markings as in B; M: male, W: female, 1,2: young falcons.



von chromogenen Phosphatase-Substraten können die DNA-Banden visualisiert werden (Abb. 2, SWATSCHKEK & WINK 1992, SWATSCHKEK 1992). Wir haben mit dieser Methode zwei Themenfelder, nämlich das Paarungssystem der brütenden Falken und die Frage der Verwandtschaft innerhalb und zwischen den Brutkolonien des Archipels untersucht.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Unterstützung (Wi 719/7-1) und der griechischen Regierung für die Erlaubnis, die Freilanduntersuchungen durchführen zu können. Die Untersuchung ist Teil 21 einer Serie über die Biologie des Eleonorenfalken.

Ergebnisse und Diskussion

Paarungssystem

Inzwischen mehren sich die Untersuchungen, die zeigen, daß bei monogam lebenden Vögeln sog. Extra-Pair-Fertilizations (EPF) auftreten können (BIRKHEAD & MØLLER 1992, BURKE et al. 1991). Wir hatten erwartet, daß wir dieses Phänomen auch beim Eleonorenfalken finden würden, da die Falkenreviere relativ klein sind und häufig eng benachbart (manchmal im Abstand von nur 5 m voneinander) liegen. 1991 haben wir Blutproben von 17 Falkenfamilien gesammelt. Obwohl wir in vielen Fällen nicht beide Elternteile fangen konnten, ist dennoch eine eindeutige Aussage über die zugrundeliegenden Verpaarungen möglich (Abb. 2). Unsere Fingerprintanalyse (Abb. 3) gab überraschenderweise keinen Hinweis auf intraspezifische Parasitierung oder EPFs, so daß wir davon ausgehen müssen, daß die jeweiligen Brutvögel auch die leiblichen Eltern der betreuten Jungvögel sind. Soweit wir die Literatur überschauen, ist diese Analyse beim Eleonorenfalken die erste diesbezügliche Untersuchung bei freilebenden Greifvögeln, so daß sich unser Befund nicht direkt vergleichen läßt.

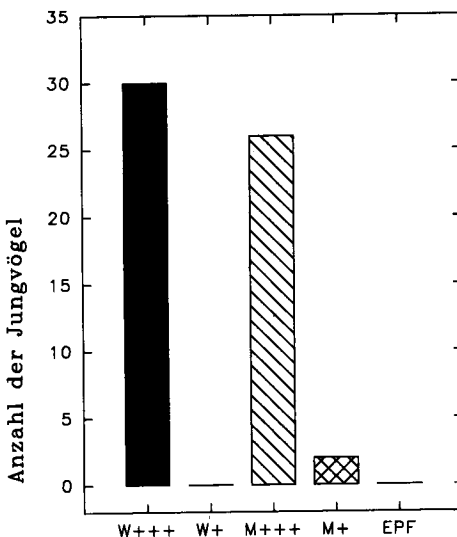


Abb. 3. Auswertung der DNA-Fingerprintdaten von 17 Familien zur Prüfung von „Extra-pair-fertilizations“ (EPF). W+++: Anzahl der Jungvögel, bei denen das am Nest anwesende Weibchen die leibliche Mutter war; W+: Elternschaft wahrscheinlich, aber nicht eindeutig auswertbar; M+++: Anzahl der Jungvögel, bei denen das am Nest anwesende Männchen der leibliche Vater ist; M+: Elternschaft wahrscheinlich, aber wegen technischer Probleme nicht eindeutig auswertbar. — Summary of the analysis of DNA-fingerprinting in 17 families with respect to extra-pair paternity. W+++: number of young for which the parentage of the female is certain; W+: paternity likely but not certain; M+++: number of young falcons which do not derive from EPFs by foreign males; M+: number of young, in which the paternity assessment was difficult because of technical problems. EPF: number of young from extra-pair copulations.

In einer Population des Eissturmvogels (*Fulmarus glacialis*) betrug die Rate der sog. „Extra-Pair Copulations“ (EPC) 2,4 %. Wie die DNA-Fingerprinting-Untersuchung ergab, resultierten aus diesen EPCs in keinem Falle eine Vaterschaft (HUNTER et al. 1992). Offensichtlich wird bei dieser Art durch eine hohe Kopulationshäufigkeit vor der Eiablage die Wahrscheinlichkeit einer Fremdbefruchtung bereits statistisch stark herabgesetzt (BIRKHEAD & MØLLER 1992). Auch beim Eleonorenfalken konnten wir eine hohe Kopulationsrate vor der Eiablage beobachten, so daß möglicherweise hier eine ähnliche Strategie zum Tragen kommt, denn EPCs sind auch von Falken bekannt (SODHI 1991).

Populationsgenetik

Die DNA-Fingerprinting-Methode erlaubt u. U. auch Aussagen zum Verwandtschaftsgrad innerhalb einer Population (REEVE et al. 1990, HOELZEL 1992). Dazu wird verglichen, wieviele DNA-Banden zwischen zwei Individuen identisch sind. Eine „Bandsharing Rate“ von 50 % ist unter Geschwistern und zwischen Eltern und Kindern zu erwarten, nicht verwandte Individuen haben Werte unter 25 %; Werte zwischen 25 und 50 % weisen auf nähere Verwandtschaftsverhältnisse, z. B. zweiten Grades hin. Wie Abb. 2 A zeigt, taucht eine Reihe von Banden bei mehreren der zufällig ausgewählten Altvögeln (alle von Insel 3) auf. Dies kann bereits als Hinweis auf nähere

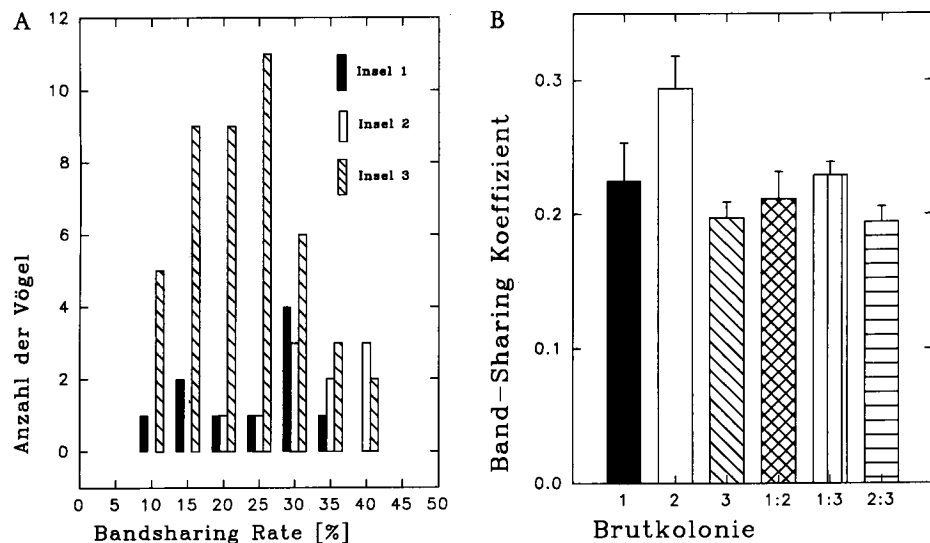


Abb. 4. Auswertung der Bandsharing-Raten beim Eleonorenfalken. A: Einzeldarstellung der Häufigkeiten der Band-Sharing-Raten von Falken der 3 Brutinseln; B: Vergleich der Mittelwerte der Bandsharing-Raten innerhalb und zwischen den Kolonien. — Illustration of bandsharing rates in DNA-fingerprints of Eleonora's falcon. A: Abundance of individual bandsharing rates given for birds of the 3 islands studied; B: Comparison of arithmetic means of bandsharing rates within and between colonies.

genetische Verwandtschaft der Inselpopulation gesehen werden. Genauer wurden die Fingerprints von nicht verwandten Jungvögeln sowie von zufällig ausgewählten Altvögeln der Brutinsel 3 sowie denen der Nachbarinseln zum Vergleich analysiert und untereinander verglichen. Wie aus Abb. 4 hervorgeht, liegen die Mittelwerte der Bandsharing-Raten zwischen 20 und 25 %, d. h. das Gros der Vögel ist nicht nah miteinander verwandt. Bei ca. 24 % der Falken von Insel 3 (vgl. auch Abb. 2 A, 4 A, B; nur hier liegt eine relativ große Stichprobe >50 vor) ist die Bandsharingrate größer als 25 %, d. h. wir müssen davon ausgehen, daß diese Falken der untersuchten Population näher miteinander verwandt sind, als bei einer zufälligen Kombination zu erwarten gewesen wäre. Vergleicht man die Bandenmuster von Falken der drei Inseln miteinander, so liegen die Mittelwerte im gleichen Bereich wie die jene, die innerhalb der jeweiligen Brutkolonien bestimmt wurden. Ferner lassen die Bandenmuster keinen Unterschied zwischen den Inseln erkennen, d. h. der Genfluß innerhalb des Archipels muß, auf einen großen Zeitraum bezogen, so hoch sein, daß eine Zufallsverteilung der Allele, aber keine distinkten Muster resultieren. Die DNA-Fingerprinting-Methode ist zwar für die Untersuchung naher Verwandtschaften, z. B. Vaterschaftsanalysen sehr gut geeignet, jedoch für die Frage des Genflusses zwischen Populationen weniger optimal. Hier sind vermutlich sog. „Single-locus“-Sonden (LONGMIRE et al. 1991) oder die RAPD-Methode vorzuziehen, da sie weniger variable Bandenmuster erzeugen (HOELZEL 1992).

Falls Populationen seit mehreren tausend Jahren getrennt sind, lassen sich Isolationen bereits auf der DNA-Sequenz-Ebene erkennen, wie Analysen des mitochondrialen D-Loops z. B. beim Menschen ergeben haben (HOELZEL 1992). Diese Methode werden wir im nächsten Schritt für die Frage des Genflusses beim Eleonorenfalken einsetzen.

Zusammenfassung

In einer größeren Brutkolonie des Eleonorenfalken der Ägäis siedeln sich die Männchen relativ nahe am Geburtsrevier an (mittlere Ansiedlungsentfernung 192 ± 153 m); die Weibchen zeigen eine etwas größere Dispersion (Ansiedlungsentfernung 738 ± 1104 m) und wandern zu einem kleinen Prozentsatz auch zu den benachbarten Brutkolonien aus. Durch DNA-Fingerprinting mit Oligonucleotidsonden konnte bei 17 Familien mit insgesamt über 60 Jungvögeln gezeigt werden, daß sog. „Extra-Pair-Fertilizations“ und intraspezifischer Brutparasitismus nicht auftreten, d. h. daß die Altvögel am Nest auch die leiblichen Eltern sind. Als Folge der hohen Philopatrie erwiesen sich 24 % der Brutvögel innerhalb einer Inselpopulation als relativ nah verwandt. Mit der eingesetzten DNA-Fingerprinting-Methode kann jedoch nicht die Populationszugehörigkeit erkannt werden.

Summary

Population genetics and paternity analysis of Eleonora's Falcon
(*Falco eleonorae*)

Philopatry was studied in a larger breeding colony of *Falco eleonorae* on an Aegean island. Male falcons settle in or very close to the territory in which they were born (mean distance 192 ± 153 m), whereas females disperse to adjacent territories (mean distance 738 ± 1104 m)

and even colonies to some degree. DNA fingerprinting of 17 families (with a total of over 60 young) revealed that intraspecific brood parasitism and extra-pair fertilizations do not occur although these falcons breed in close vicinity, sometimes only 5 m apart. This means, that the birds feeding at the nest are also the physical parents. Band-sharing coefficients show that the birds within the same colony show some degree of relatedness, but no clear band patterns were evident between different colonies lying within the same island archipelago.

Literatur

- BIRKHEAD, T. R. & A. P. MØLLER (1992): Sperm competition in birds: Evolutionary causes and consequences. London. • BURKE, T., O. HANOTTE, M. W. BRUFORD & E. CAIRNS (1991): Multilocus and single locus minisatellite analysis in population biological studies. In: T. BURKE, G. DOLL, A. J. JEFFREYS & R. WOLFF, DNA fingerprinting approaches and applications: 154–168. Basel. • CRAMP, S., & K. E. L. SIMMONS (1980): Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol. 2. London. • GYLLENSTEN, U. B., S. JAKOBSSON, H. TEMRIN & A. C. WILSON (1989): Nucleotide sequence and genomic organisation of bird minisatellites. *Nucleic Acid Res.* 17: 2203–2214. • HOELZEL, A. R. (1992): Molecular genetic analysis of populations. Oxford. • 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. • LONGMIRE, J. L., R. E. AMBROSE, N. C. BROWN, T. J. CADE, T. L. MAECHTLE, W. S. SEEGAR, F. P. WARD & C. M. WHITE (1991): Use of sex-linked minisatellite fragments to investigate genetic differentiation and migration of North American populations of the Peregrine Falcon (*Falco peregrinus*). In: T. BURKE, G. DOLL, A. J. JEFFREYS & R. WOLFF, DNA fingerprinting approaches and applications: 217–229. Basel. • REEVE, H. K., D. F. WESTNEAT, W. A. NOON, P. W. SHERMAN & F. AQUADRO (1990): DNA fingerprinting reveals high levels of inbreeding in colonies of the eusocial naked mole rat. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 87: 2496–2500. • RISTOW, D., F. FELDMANN, W. SCHARLAU, C. & M. WINK (1991): Population dynamics of Cory's Shearwater (*Calonectris diomedea*) and Eleonora's Falcon (*Falco eleonora*) in the Eastern Mediterranean. In: A. SEITZ & V. LOESCHCKE, Species conservation: a population-biological approach: 199–212. Basel. • SOHDI, N. S. (1991): Pair copulations, extra-pair copulations, and intraspecific nest intrusions in merlins. *Condor* 93: 433–437. • SWATSCHEK, 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. • WINK, M., I. SWATSCHEK, F. FELDMANN, W. SCHARLAU & D. RISTOW. (1990): Untersuchungen von Verwandtschaftsbeziehungen in Vogelpopulationen mittels DNA-Fingerprint. *Vogelwelt* 111: 86–95. • WINK, M., H. BIEBACH, F. FELDMANN, W. SCHARLAU, I. SWATSCHEK, C. WINK & D. RISTOW (1993): Contribution to the breeding biology of Eleonora's falcon (*Falco eleonora*). *Proc. biology and conservation of small falcons* (in press).

Anschriften der Verfasser: (I. S., C. W., M. W.) Inst. für Pharmazeutische Biologie Univ. Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364, DW-6900 Heidelberg; (D. R.) Pappelstr. 37, D(W)-Neuberg; (W. S.) Mathematisches Institut Univ. Münster, D(W)-4500 Münster