Phylogeographische Differenzierung und Verwandtschaftsbeziehungen von Großmöwen der *Larus argentatus – fuscus – cachinnans* Gruppe: Untersuchungen anhand von DNA-Sequenzen der mitochondrialen Kontrollregion

I n a u g u r a l d i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

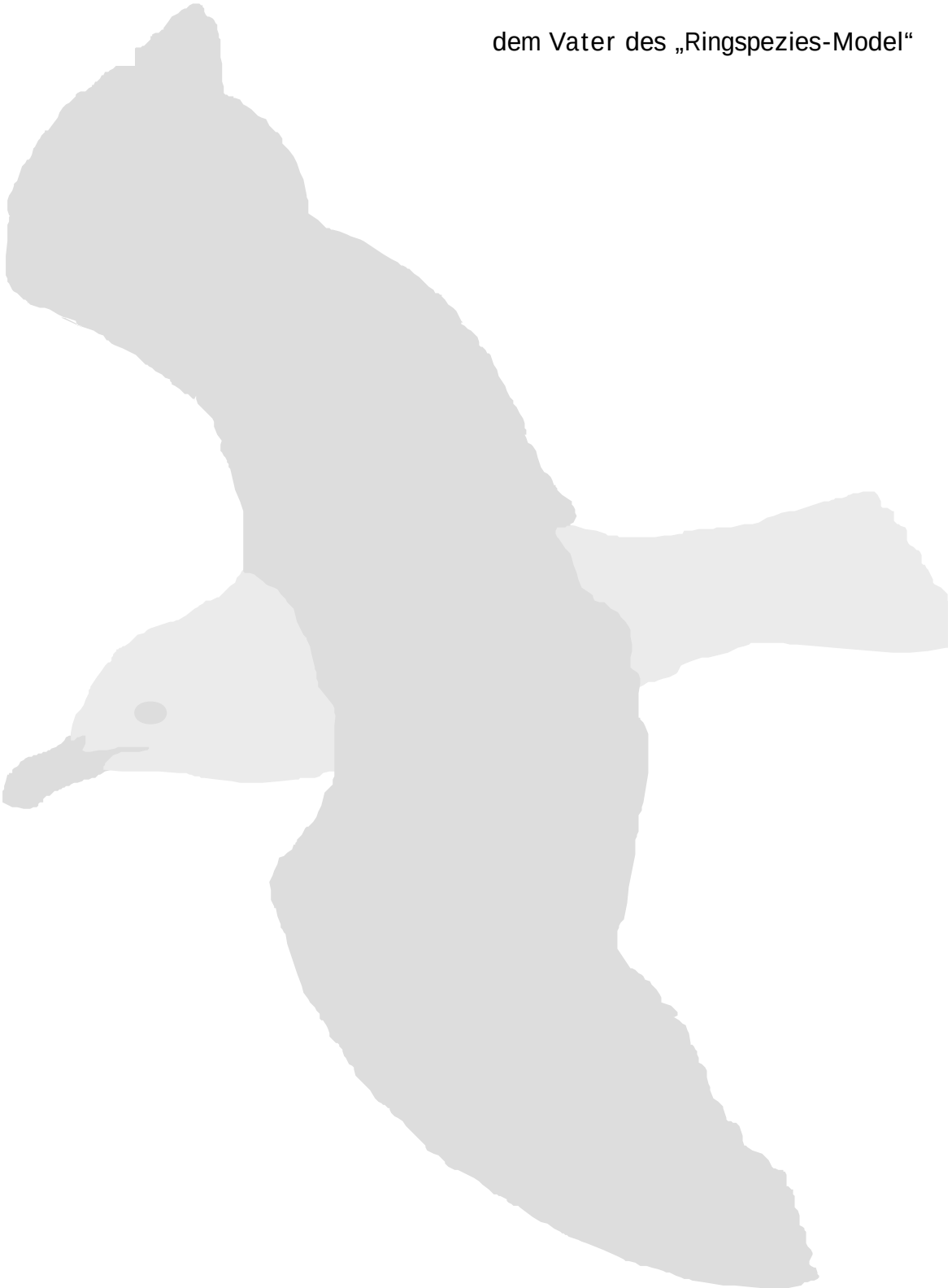
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

vorgelegt von
Dorit Liebers
geboren am 22.06.1969
in Potsdam

Greifswald, 17. Juni 2000

Gewidmet ERNST MAYR,

dem Vater des „Ringspezies-Model“



INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG 1
1.1. DIFFERENZIERUNG UND ARTBILDUNG IN NATÜRLICHEN POPULATIONEN 1
1.1.1. *Was ist eine Art?* 1
1.1.2. *Räumliche Isolationsmechanismen* 2
1.1.3. *Zeitliche Isolationsmechanismen* 3
1.2. DIE GROßMÖWEN DER GATTUNG *LARUS* 4
1.2.1. *Historischer Überblick zur Taxonomie und Systematik* 4
1.2.2. *Neuere Erkenntnisse aus der Feldornithologie* 4
1.2.3. *Stand der bisherigen phylogenetischen Untersuchungen* 5
1.2.4. *Das Ringspezies-Modell nach MAYR* 6
1.3. ZIELSTELLUNG 10

2. MATERIAL UND METHODEN 11
2.1. HINTERGRUND ZUR MOLEKULAREN POPULATIONSGENETIK 11
2.1.1. *DNA - Träger der Erbinformation* 11
2.1.2. *Mitochondrien-DNA und ihre Kontrollregion* 12
2.1.3. *Grundprinzipien der DNA-Sequenzierung* 13
2.1.4. *Mitochondriale Kernkopien* 14
2.2. METHODEN 15
2.2.1. *Sequenzierung der mitochondrialen Kontrollregion* 15
2.2.2. *Verifizierung der mitochondrialen Herkunft der Sequenzen* 16
2.2.3. *Analyse der DNA-Sequenzen* 17
2.2.4. *Stammbaumrekonstruktion* 19
2.2.5. *Analyse der intraspezifischen Populationsstruktur* 20
2.2.5. *Analyse der genetischen Differenzierung zwischen Populationen und Taxa* 23
2.3. PROBENBESCHAFFUNG UND KOOPERATION MIT ANDEREN INSTITUTEN 25
2.4. ÜBERSICHT DER VERWENDETEN COMPUTERPROGRAMME 29

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
***TEIL I:* VARIATIONEN INNERHALB MITOCHONDRIALER SEQUENZEN DER KONTROLLREGION UND IHRE VERIFIZIERUNG** 31
3.1. ZIELSTELLUNG 31
3.2. ERGEBNISSE 31
3.2.1. *Sequenzvariation innerhalb der Domäne I und II der mitochondrialen Kontrollregion* 31
3.2.2. *Parameterbestimmung und Ratenheterogenität* 34
3.2.3. *Test auf „molekulare Uhr“* 35
3.2.4. *Verifikation des mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen* 35
3.3. DISKUSSION 36
3.3.1. *Funktionale Anforderungen an die Kontrollregion* 36
3.3.2. *Vergleichende Sequenzanalyse* 38
3.3.3. *Die Molekulare Uhr* 39
3.3.4. *Verifizierung der mitochondrialen Herkunft der DNA-Sequenzen* 39

4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
***TEIL II:* ERSTNACHWEIS VON REKOMBINATION IN MITOCHONDRIALER DNA BEI VÖGELN** 41

4.1. ZIELSTELLUNG 41

4.2. ERGEBNISSE 42

4.2.1. *Der ATCCC-Block* 42

4.2.2. *Haplotyp-Phylogenie* 44

4.2.3. *Herkunft des rekombinierten Sequenzblocks* 44

4.2.4. *Weitere Duplikationen/ Insertionen* 47

4.3. DISKUSSION 47

4.3.1. *Rekombination in mtDNA – Stand der Forschung* 47

4.3.2. *Alternative Erklärungsmöglichkeiten* 48

4.3.3. *Mögliche Szenarien für Rekombination in mitochondrialer DNA* 49

4.3.4. *Warum wurde Rekombination bisher übersehen?* 50

4.3.5. *Schlussfolgerungen für Populations- und Phylogenieforschung* 50

5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
TEIL III:* PHÄNOTYPISCHE CHARAKTERISIERUNG UND SYSTEMATISCHE STELLUNG DER ARMENIENMÖWE *LARUS ARMENICUS 53

5.1. ZIELSTELLUNG 53

5.2. ERGEBNISSE 53

5.2.1. *Phänotypische Charakterisierung der Brutvögel* 53

5.2.2. *Untersuchung der Mitochondrien-DNA* 59

5.3. DISKUSSION 62

5.3.1. *Ist die Armenienmöwe ein distinktes Taxon?* 62

5.3.2. *Variabilität der phänotypischen Merkmale* 63

5.3.3. *Populationsgenetik* 64

5.3.4. *Schlussfolgerungen zur Systematik und zum Artstatus* 64

6. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
***TEIL IV:* POPULATIONSGENETIK DER „WEIßKOPFMÖWEN“ - GENETISCHE DIFFERENZIERUNG, MOLEKULARE POPULATIONSSTRUKTUR UND PHYLO-GEOGRAPHISCHE BEZIEHUNGEN INNERHALB DER *L. CACHINNANS*-GRUPPE** 67

6.1. ZIELSTELLUNG 67

6.2. ERGEBNISSE 67

6.2.1. *Genetische Differenzierung und Genfluss zwischen den Taxa* 69

6.2.2. *Populationsstrukturen innerhalb der Taxa* 74

6.2.3. *Populationsgeschichte und Haplotyp-Phylogenie innerhalb der Taxa* 81

6.2.4. *Populationsstammbäume und Haplotyp-Phylogenie* 84

6.3. DISKUSSION 86

6.3.1. *Genetische Differenzierung und Genfluss zwischen den Taxa* 86

6.3.2. *Populationsstruktur und Populationsgeschichte innerhalb der Taxa* 89

6.3.3. *Phylogenie der Haplotypen und Populationsstammbäume* 95

7. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
***TEIL V:* GENETISCHE DIFFERENZIERUNG UND VERWANDTSCHAFTS-BEZIEHUNGEN ZWISCHEN SILBER- UND HERINGSMÖWEN** 99

7.1. ZIELSTELLUNG 99

7.2. ERGEBNISSE 99

7.2.1. *Rekonstruktion der Phylogenie nördlicher Großmöwen* 99

7.2.2. *Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb phänotypisch ähnlicher Gruppen von Taxa* 108

7.2.3. *Phylogeographische Differenzierung zwischen sympatrisch brütenden Silber- und Heringsmöwen in Nordeuropa* 112

7.2.4. *Demographie einzelner mitochondrialer Haplotyp-Linien* 114

7.3. DISKUSSION 116

7.3.1. *Überprüfung des Ringspezies-Modell nach MAYR* 116

7.3.2. *Rekonstruktion der Besiedlungsgeschichte NW-Euroas durch Silbermöwen* 119

7.3.3. *Systematische Beziehungen innerhalb der Heringsmöwen* 122

7.3.4. *Die Situation auf Island* 123

8. ERGEBNISSE UND DISKUSSION
***TEIL VI:* GENETISCHE DIFFERENZIERUNG INNERHALB DER EIS- , POLAR- UND MANTELMÖWEN SOWIE DER PAZIFISCHEN TAXA** 125

8.1. ZIELSTELLUNG 125

8.2. ERGEBNISSE 126

8.2.1. *Differenzierung innerhalb der Eismöwen* 126

8.2.2. *Verwandtschaft und Populationsstruktur europäischer Mantelmöwen* 128

8.2.3. *Die pazifischen Taxa* 128

8.3. DISKUSSION 129

8.3.1. *Die "Eismöwen-Problematik"* 129

8.3.2. *Die europäischen Mantelmöwen* 130

8.3.3. *Vorläufige Betrachtungen zur Phylogenie der nordpazifischen Formen* 131

9. ABSCHLIEßENDE DISKUSSION 133

10. ZUSAMMENFASSUNG 139

11. LITERATUR 143

12. ANHANG 154

13. GLOSSAR 164

RÜCKBLICK UND DANKSAGUNG 166

Dekan:	Prof. Dr. K. Fesser
1. Gutachter:	PD Dr. Andreas J. Helbig Vogelwarte Hiddensee
2. Gutachter:	Dr. Peter de Knijff Universität Leiden
Tag der Promotion:	19. Oktober 2000

„Die Möwen sehen alle aus,
als ob sie Emma hießen..."
Ch. Morgenstern

c

1. Einleitung

Großmöwen wurden bisher ausschließlich anhand phänotypischer Merkmale charakterisiert. Aber weder eine helle bzw. dunkle Mantelfarbe noch gelbe bzw. fleischfarbene Füße konnten die Systematik und Taxonomie der *Larus argentatus*-Artengruppe zufriedenstellend klären (HAFFER 1982). In dieser Arbeit habe ich versucht, anhand populationsgenetischer, phylogenetischer und biogeographischer Befunde ein vom Phänotyp unabhängiges, taxonomisches Bild zu entwerfen und die bis in das Pleistozän zurückreichenden Migrations- und Speziationsprozesse nachzuzeichnen. Die vorliegenden phylogeographischen Untersuchungen ermöglichten eine Rekonstruktion evolutionärer Entwicklungslinien in Raum und Zeit unter Berücksichtigung der traditionellen Taxonomie.

1.1. Differenzierung und Artbildung in natürlichen Populationen

1.1.1. Was ist eine Art?

Eine biologische Art ist eine Gruppe von natürlichen Populationen, die von allen anderen solchen Gruppen reproduktiv isoliert ist (MAYR 1963, DOBZHANSKY 1970). Unterscheidbare Populationen werden als „Unterarten" (Subspezies) bezeichnet (SIMPSON 1961). Eine Art, die in mehrere Unterarten (=geographische Rassen) zerfällt, wird polytypische Art oder „Rassenkreis" genannt. Im Gegensatz dazu werden Gruppen ähnlicher Arten, die parapatrisch verbreitet sind, aber entlang ihrer Kontaktzone nicht hybridisieren, als „Superspezies" oder „Artenkreis" bezeichnet.

Das biologische Artkonzept (Biological Species Concept, BSC) geht davon aus, dass es zwischen den reproduktiv isolierten Gruppen von Populationen keinen Genfluss gibt und der „Genpool" einer Art nach außen abgegrenzt ist. Genflussbarrieren können sich aber nur zwischen benachbart vorkommenden (sympatrischen oder parapatrischen) Taxa ausbilden. Bei allopatrischen Taxa, deren Brutareale natürlicherweise durch große geographische Distanzen getrennt sind, kann diese Annahme nicht überprüft werden (MAYR 1963, AMADON 1966). Das phylogenetische Artkonzept (Phylogenetic Species Concept, PSC) definiert Arten als evolutiv eigenständige phylogenetische Linien („ancestral-descendant sequence of populations"), die untereinander „diagnostisch verschieden" sind, d.h. sich in ein oder mehreren Merkmalen unterscheiden (CRACRAFT 1983, SANGSTER et al. 1998).

Das Konzept der Superspezies versucht, die im biologischen Artkonzept unzureichend erklärten Phänomene zu berücksichtigen, und kann als dessen Erweiterung angesehen werden (HELBIG 1997). Jüngste Diskussionen um ein „falsches" oder „richtiges" Artkonzept verdeutlichen, dass es viele Grenzfälle gibt, die mit keinem der vorliegenden Konzepte hinreichend erklärt werden können (SANGSTER 1999). In der vorliegenden Arbeit waren alle Kriterien von Interesse, die unter den beiden

genannten Artkonzepten für die Zuordnung des taxonomischen Rangs von Bedeutung sind. Es stellten sich also Fragen nach

1. dem Grad der reproduktiven Isolation zwischen benachbarten Taxa;
2. dem Grad der Diagnostizierbarkeit und
3. nach der Monophylie der mitochondrialen Haplotypen innerhalb von (phänotypsich abgegrenzten) Taxa.

1.1.2. Räumliche Isolationsmechanismen

Reproduktive Isolation und Genflussbarrieren zwischen Populationen sind die entscheidende Voraussetzung für die Entstehung neuer Arten. Entsprechend der geographischen Ausgangssituation gibt es drei Szenarien, die die räumlichen Verhältnisse zwischen den Populationen widerspiegeln: allopatrische, parapatrische und sympatrische Verbreitung.

Bei allopatrischen, d.h. räumlich getrennten Populationen, gibt es eine geographische Barriere für Genfluss. Es lässt sich schwer einschätzen, ob diese Formen hybridisieren würden, wenn sie in Kontakt kämen. Deshalb ist es willkürlich, ob sie als zwei getrennte Arten betrachtet werden, da eine Überprüfung im Sinne des biologischen Artkonzepts nicht möglich ist. Bei parapatrischer Verbreitung berühren sich die Areale zweier Formen entlang einer schmalen Kontaktzone und es kann zu mehr oder minder ausgeprägtem Genfluss kommen. Ein klassisches Beispiel sind Raben- und Nebelkrähe (*Corvus* [*corone*] *corone*, *C.* [*c.*] *cornix*; MEISE 1928). Von sympatrischer Verbreitung spricht man, wenn zwei Arten im selben Areal vorkommen. Wegen der limitierten Ressourcen ist sympatrisches Vorkommen nur möglich, wenn die Arten ökologisch segregiert sind (Konkurrenz-Ausschlussprinzip), wobei diese Segregation in den meisten Fällen in der vorangegangenen Phase allopatrischer Divergenz entstanden sein dürfte. Artbildung ohne geographische Isolation („sympatrische Artentstehung“) wurde beispielsweise bei phytophagen Insekten und Fischen als wahrscheinlich angesehen (HIGASHI et al. 1999, DIECKMANN & DOEBERLI 1999), aber auch bei Vögeln, wie z.B. den Galapagosfinken, diskutiert (SEGER 1985).

Kommen zwei Populationen sekundär wieder in Kontakt, können in der Kontaktzone abhängig vom erreichten Differenzierungsgrad folgende Situationen eintreten (BEZZEL & PRINZINGER 1990): **1**) Es findet freier Genfluss statt, d.h. die allopatrische Divergenz hat nicht zu reproduktiver Isolation zwischen zwei Populationen geführt. Es wird sich eine klinale Intergradationszone ausbilden und beide Formen gehören zu derselben Art. **2**) Der Genfluss ist eingeschränkt, d.h. es bildet sich eine Hybridzone aus, in der die Hybriden Fitnessnachteile gegenüber den parentalen Phänotypen haben. Die Taxa sind parapatrische Semispezies (Schwesterarten) einer Superspezies. **3**) Es gibt keinerlei Genfluss, d.h. die reproduktive Isolation ist vollkommen. Beide Taxa stellen volle biologische Arten dar. Das sekundäre Einwandern von Allelen über eine Hybrid- oder Kontaktzone (einseitig oder beidseitig) bezeichnet man als Introgression (RIDLEY 1996).

Verändert sich ein Merkmal entlang eines geographischen Transekts nur graduell, spricht man von klinaler Variation (HUXLEY 1939). Eine Kline kann sich über das gesamte Areal einer Art erstrecken und eine einzige Population kann mehreren Klinen unterliegen. Es wurde nachgewiesen, dass mit zunehmendem Breitengrad die Körpergröße wächst (Bergmannsche Regel), die Körperanhänge kürzer werden (Allensche Regel) sowie Pigmentierungen (Glogersche Regel) und Haarlängen (Haar-Regel von

Rensch) entlang bestimmter Faktorengradienten variieren (FUTUYMA 1986). Klinale Variation gilt ebenso für Häufigkeitsänderungen eines Allels (z.B. *Zonotricha leucophrys*, BEZZEL & PRINZINGER 1990). Kline erfahren keine nomenklatorische Beachtung, wenngleich sie häufig mit der geographischen Variation von Unterarten korrelieren. Treffen hingegen die Endglieder einer solchen klinalen Kette von Populationen aufeinander (=Ringspezies), können sich diese wie „gute" Arten verhalten, d.h. es gibt keinen Genfluss.

1.1.3. Zeitliche Isolationsmechanismen

Neben der räumlichen Isolation spielt die zeitliche Isolation eine wesentliche Rolle bei der Artbildung. Die heutige phylogenetische Differenzierung zwischen einzelnen Populationen ist nicht ohne eine rückwirkende Betrachtung der zyklischen Vorgänge im Pleistozän zu verstehen (AVISE et al. 1998).

Im Pleistozän und Holozän, also innerhalb der letzten ca. 1,6 Mio. Jahre, wurden bis zu 20 Eiszeiten nachgewiesen (DAWSON 1992). Jede Eiszeit dauerte etwa 60.000-100.000 Jahre und bestand aus jeweils drei Phasen: Zunahme, Stabilisierung und Rückzug des Eises. Sie wurden von 10.000-20.000 Jahre währenden interglazialen Warmphasen abgelöst (DAWSON 1992, SCHRAG 2000). In den eisfreien Refugien waren die Populationen daher über einen sehr langen Zeitraum isoliert (>100.000 Jahre). Erst in einer interglazialen Warmphase oder im jüngeren Holozän kamen die Populationen sekundär wieder in Kontakt.

Während der letzten europäischen (Weichsel-) Eiszeit, die vor ca. 70.000 Jahren begann und vor 10.000 endete, waren die Britischen Inseln, Skandinavien und die heutige Ostsee fast vollständig vereist (VELICHKO 1984). Die Grenze des Permafrostbodens erstreckte sich in ihrer maximalen Ausdehnung bis an die Gebirge Südeuropas (Pyrenäen, Alpen, Karpaten) und trennte drei Refugien ab: die Iberische Halbinsel, Italien und den Balkan (TABERLET et al. 1998, HEWITT 1999). Aber auch in Nordeuropa gab es mehrere eisfreie Gebiete, die sich u.a. in der zentralen Nordsee, in Nordnorwegen und zwischen Ob und Jenessej befanden (RUTTER 1995). Neben den direkten Auswirkungen auf die eisbedeckten Gebiete war zusätzlich das globale Klima stark beeinflusst. Je nach Volumen und Ausdehnung des Eisschildes fluktuierte der Meeresspiegel in den letzten 18.000 Jahren um bis zu 100m (DAWSON 1992). Das Klima war arid und die Temperaturen schwankten innerhalb kürzester Zeiträume (HEWITT 1999). Diese ökologischen Extreme beeinflussten das jeweils aktuelle Arteninventar und hinterließen sichtbare Spuren in der genetische Zusammensetzung der Populationen (HEWITT 1996).

Anhand der glazialen Vorgeschichte lassen sich drei *a priori* Unterschiede zwischen Populationen der südlichen (nicht-vereisten) und nördlichen (vereisten) Gebiete treffen (AVISE et al. 1998): Nördliche Populationen verfügen über **1**) eine geringere genetische Diversität, **2**) ein relativ „junges" phylogenetisches Alter und **3**) größere Verbreitungsareale. Kolonisierte ein Taxon die gesamte Holarktis aus einem Refugium, unterscheiden sich die benachbarten Populationen sowohl phänotypisch als auch genotypisch nur graduell (=ökologische Speziation, MAYR 1963). Waren die nach Norden emigrierenden Populationen während der Eiszeiten in allopatrischen Refugien isoliert, unterscheiden sich ihre heutigen phylogenetischen Muster, auch wenn die Taxa sekundär sympatrisch oder parapatrisch vorkommen (BERNATCHEZ & WILSON 1998). Die traditionelle Taxonomie, basierend auf phänotypischen Merkmalen, spiegelt daher nicht zwangsläufig die phylogeographischen Beziehungen zwischen den Populationen wider (AVISE 1994).

1.2. Die Großmöwen der Gattung *Larus*

1.2.1. Historischer Überblick zur Taxonomie und Systematik

Die Großmöwen der Gattung *Larus* stehen schon lange im Blickpunkt systematischer Untersuchungen, da Artgrenzen und die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Taxa umstritten sind. Etwa 40 Arten bewohnen die Küstenregionen der Erde, insbesondere der Holarktis (CRAMP & SIMMONS 1983, GLUTZ & BAUER 1982, DEL HOYO et al. 1996). Besonders die Systematik und Taxonomie der *Larus argentatus*-Gruppe ist bisher völlig unklar. Je nach Auffassung und Autor werden zwischen acht und 37 Taxa unterschieden (STEGMANN 1934, HAFFER 1982, DEVILLERS 1983).

Die Ansichten verschiedener Autoren zur Systematik der Großmöwen führen zu keinem einheitlichen Bild (Tab. 1.1). Eine erste umfassende Bearbeitung der Gattung *Larus* erfolgte im Jahre 1925 durch DWIGHT. Er differenzierte mindestens drei rezente Taxa: *argentatus*, *cachinnans* und *fuscus*. Obwohl STEGMANN (1934) sämtliche Taxa zu einer *argentatus*-Gruppe vereinte, verwies er auf „*argentatus* und *fuscus,* die im Begriffe stehen, sich in zwei Arten zu zerspalten". Dem Prioritätsprinzip folgend war jedoch „*fuscus*" (LINNÉ 1758; siehe Anhang A) das namensgebende Taxon (MEINERTZHAGEN 1935). GEYR (1938) differenzierte zwischen *fuscus* und *argentatus*, vermutete aber enge verwandtschaftliche Beziehungen zwischen *smithsonianus* und *argentatus*, den pazifischen Taxa *vegae*, *birulai* und *mongolicus* sowie den gelbfüßigen *michahellis* und *atlantis*. STRESEMANN & TIMOFEEFF-RESSOVSKY (1947) trennten *cachinnans* ab und stellten *atlantis* wieder näher zu *fuscus* (siehe DWIGHT 1922). HAFFER (1982), basierend auf Untersuchungen von P. Devillers, trennte im „Handbuch der Vögel Mitteleuropas" (GLUTZ & BAUER 1982) die „Weißkopfmöwe" (*cachinnans*) von der Silbermöwe (*argentatus*). Die Armenienmöwe (*armenicus*) wurde als eigenständiges Taxon „mit besonderen Merkmalen" differenziert und *vegae* und *birulai* wurden eine Sonderstellung innerhalb der *argentatus*-Gruppe zugesprochen. Dagegen erkannten CRAMP & SIMMONS (1983) nur *argentatus* und *fuscus* den Artstatus zu. DEL HOYO et al. (1996) folgten im Wesentlichen der Klassifizierung von HAFFER (1982), mit Ausnahme von *taimyrensis*, das sie nicht als eigenständiges Taxon anerkannten.

Die Taxonomie der Silbermöwen *L. argentatus sensu stricto* ist noch vollkommen ungeklärt. Die in Nordamerika beheimatete *smithsonianus* soll in jüngster Zeit nach Europa eingewandert sein (HAFFER 1982). In NW Europa kommen heute drei rezente Formen vor: die im Nord-Atlantik brütende *argenteus*, die ostwärts (in der Nord- und Ostsee) von *argentatus* abgelöst wird (GOETHE 1961, BARTH 1968) sowie die gelbfüßige Form „*omissus*", die den Baltischen Raum besiedelt (VOIPIO 1954). Wahrscheinlich besteht eine enge verwandtschaftliche Beziehung zwischen *smithsonianus* und *argenteus*, während die Herkunft von „*omissus*" bisher kontrovers diskutiert wurde (VOIPIO 1968, HAFFER 1982). Kurz, wir sind noch immer mit einer Situation konfrontiert, die GEYR bereits 1938 als „systematische Uferlosigkeit im Möwenknäuel" beklagte.

1.2.2. Neuere Erkenntnisse aus der Feldornithologie

Zur Zeit erleben wir eine regelrechte Renaissance der Möwenforschung. Wohl nie zuvor war das Interesse an der Bestimmung und der Systematik der Großmöwen größer als in den letzten Jahren. Jüngste Untersuchungen brachten einen erheblichen Erkenntniszuwachs hinsichtlich der Abgrenzung mehrerer Formen im Freiland (z. B. *graellsii* von *fuscus*, *michahellis* von *cachinnans*, *heuglini* von

Tabelle 1.1: Taxonomische Gliederung der *Larus argentatus*-Artengruppe nach Ansicht verschiedener Autoren (grau = *argentatus*, grün = *fuscus,* rot = *cachinnans* und gelb = *armenicus*).

"Art"	Taxon	DWIGHT (1925)	STEGMANN (1934)	MEINERTZHAGEN (1935)	GEYR (1938)	STRESEMANN & TIMOFEEFF-RESSOVSKY (1947)	HAFFER (1982)	DEVILLERS (1983)	DEL HOYO et al. (1996)
L. argentatus	*smithsonianus*	arg	arg	fus		arg	arg	arg	arg
	argentatus								
	argenteus	-							
L vegae	*vegae*	arg				cac	cac		
	birulai	-						-	-
L. cachinnans	"*omissus*"	-	-	-				-	-
	mongolicus	-			fus				cac
	barabensis	-	-	-	-	-			
	cachinnans	cac	arg			cac			
L. michahellis	*michahellis*								
	atlantis	fus				fus			
L. armenicus	*armenicus*	-	-	-	-	-	arm		arm
L. fuscus	*taimyrensis*	fus	arg			cac	fus	fus	-
	heuglini	cac							fus
	fuscus	fus	(arg)			fus			
	intermedius		(arg)						
	graellsii		(arg)						

fuscus), der sich inzwischen in detaillierten Dokumentationen der Gefiedervariation dieser Großmöwen manifestiert hat (z.B. GRUBER 1995, 1999; KLEIN & GRUBER 1997, JONSSON 1998a, ESKELIN & PURSIAINEN 1998, RAUSTE 1999). Da die bisherigen Untersuchungen aus den östlichen Brutgebieten ausschließlich in russischer Sprache publiziert wurden (FILCHAGOV 1999, FILCHAGOV & SEMASHKO 1987, FILCHAGOV et al. 1992a, PANOV & MONZIKOV 1999), sind sie westeuropäischen Ornithologen leider oft unzugänglich.

Auf der anderen Seite hat die jüngste Diskussion um Artkonzepte der feldornithologischen Unterscheidung von Möwentaxa Auftrieb gegeben, da die Anwendung des „phylogenetischen" Artkonzepts eine Aufsplitterung in zahlreiche taxonomische Arten verspricht, wie sie z.B. in den Niederlanden schon „offiziell" (d.h. von der dortigen taxonomischen Kommission) angenommen wurde (SANGSTER et al. 1998). Die Zuweisung des Artstatus - unabhängig vom angewendeten Artkonzept - muß aber eindeutigen und nachvollziehbaren Kriterien unterliegen.

1.2.3. Stand der bisherigen phylogenetischen Untersuchungen

Gegenwärtig sind weder die Artgrenzen innerhalb der Silbermöwen noch die Entwicklungsgeschichte und die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen den Taxa geklärt (HAFFER 1982). Die Schwierigkeiten resultieren vor allem aus den widersprüchlichen Ansichten über die Wertigkeit der bisher größtenteils morphologischen Merkmale (MOYNIHAN 1959, SCHNELL 1970a und 1970b). Selbst eine kladistische

Analyse von 117 Skelett- und Integumentmerkmalen konnte die verwandtschaftlichen Beziehungen der weißköpfigen Möwen nicht klären (CHU 1998).

Eine erste Untersuchung zur genetischen Differenzierung von Möwen in NW-Europa führte JOHNSON (1985) anhand von Isoenzymen durch. Er fand jedoch keinerlei interspezifische Unterschiede und folgerte, dass diese Marker zu konservativ evolvierten, um die relativ jungen Differenzierungsprozesse bei Großmöwen widerzuspiegeln. Mit der gleichen Methode untersuchte SNELL (1991a) Silber-, Eis- und Heringsmöwen (*argentatus*, *hyperboreus* und *fuscus*) in ihrer Kontaktzone auf Island. Auch er fand wenig genetische Variabilität und keine artspezifische Differenzierung. Zwar interpretiert SNELL dies als Hinweis auf eine hohe Rate interspezifischen Genflusses, doch ist auch denkbar, dass 1) die verwendeten Marker ungeeignet sind, phylogenetisch so junge Differenzierungen wie zwischen den Großmöwen zu untersuchen und 2) zwischen einigen Taxa zwar nuklearer, aber kein mitochondrialer Genfluss (wegen eingeschlechtlicher Hybridsterilität) stattfindet.

Mittels zufällig amplifizierter polymorpher DNA (= RAPD) untersuchten PANOV & MONZIKOV (1998) eine Mischkolonie östlich von Moskau (Nishni Novgorod). Diese wurde mit Vögeln des reinen Phänotypen vom Weißen Meer (*„omissus“*) und Schwarzen und Kaspischen Meer (*cachinnans*) verglichen. Die Variationen der RAPD-Muster innerhalb der „reinen“ Populationen waren jedoch größer als zwischen den Taxa (MONZIKOV & PANOV 1996, PANOV & MONZIKOV 1999).

Eine erste Untersuchung der Cytochrom *b*-Sequenzen dreier Großmöwen (WINK et al. 1994, HEIDRICH et al. 1996) ergab zwar Hinweise auf eine artspezifische Differenzierung zwischen *L. argentatus*, *L. fuscus* und *L. cachinnans* (=*michahellis*), ging aber von viel zu kleinen Stichproben aus, um verläßliche Aussagen über möglichen Genfluss ableiten zu können (vgl. HELBIG 1994).

Bisher fehlen spezifische Marker, die fein genug sind, um jüngste Differenzierungsprozesse zwischen Populationen nachzuweisen. Es hat sich gezeigt, dass die mitochondriale Kontrollregion (=**D**isplacement-**Loop**) besonders geeignet ist, um zwischen nah verwandten Taxa zu unterscheiden, da sich hier Mutationen schneller anreichern und Unterschiede zwischen den Populationen manifestieren können (Übersicht in BAKER & MARSHALL 1997).

1.2.4. Das Ringspezies-Modell nach Mayr

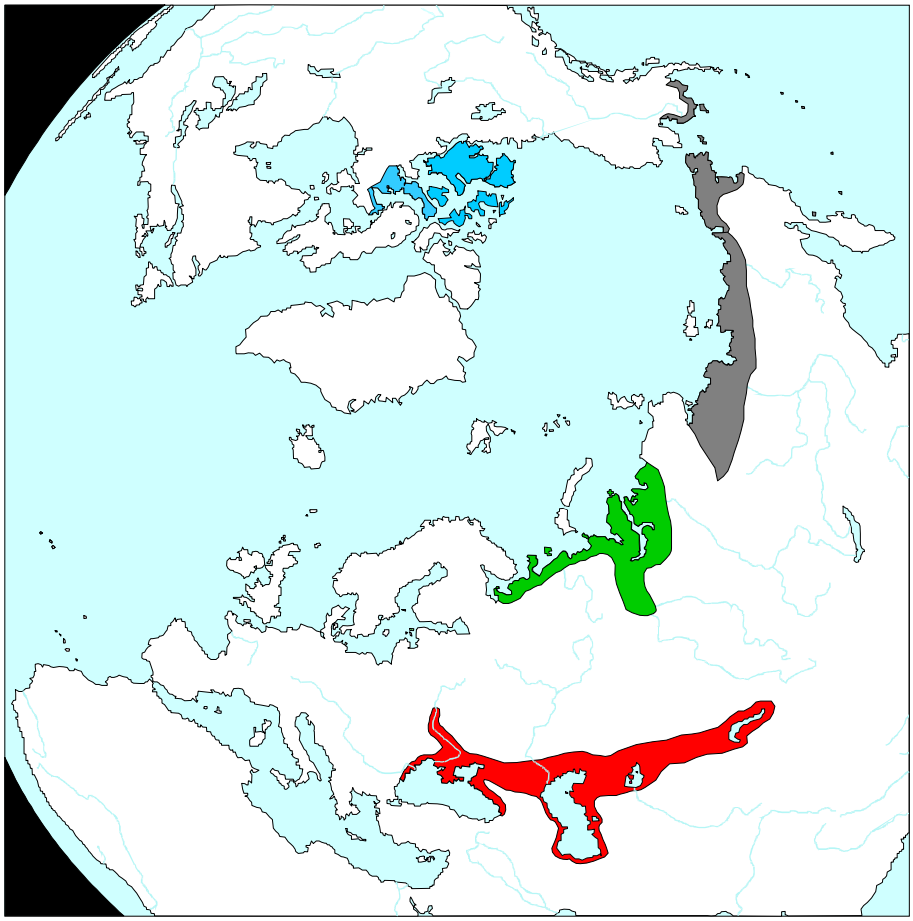
„Eine Ringspezies stellt eine Kette klinal ineinander übergehender Unterarten dar, die eine Schleife oder einen übergreifenden Kreis bilden, dessen Endglieder reproduktiv isoliert sind und sympatrisch leben.“ (MAYR 1963). Die Silbermöwen sind das klassisches Lehrbuchbeispiel für eine Ringspezies (REMANE 1984, SUDHAUS & REHFELD 1992, COCKBURN 1995) und MAYR (1963) beschreibt die Situation wie folgt (siehe Abb. 1.1):

„Augenscheinlich hatte sich das Verbreitungsgebiet von *argentatus* während des Pleistozäns in eine Anzahl Refugien [vier Refugien, siehe Abb. 53 in MAYR 1963] aufgespalten (Abb. 1.1 A).

→

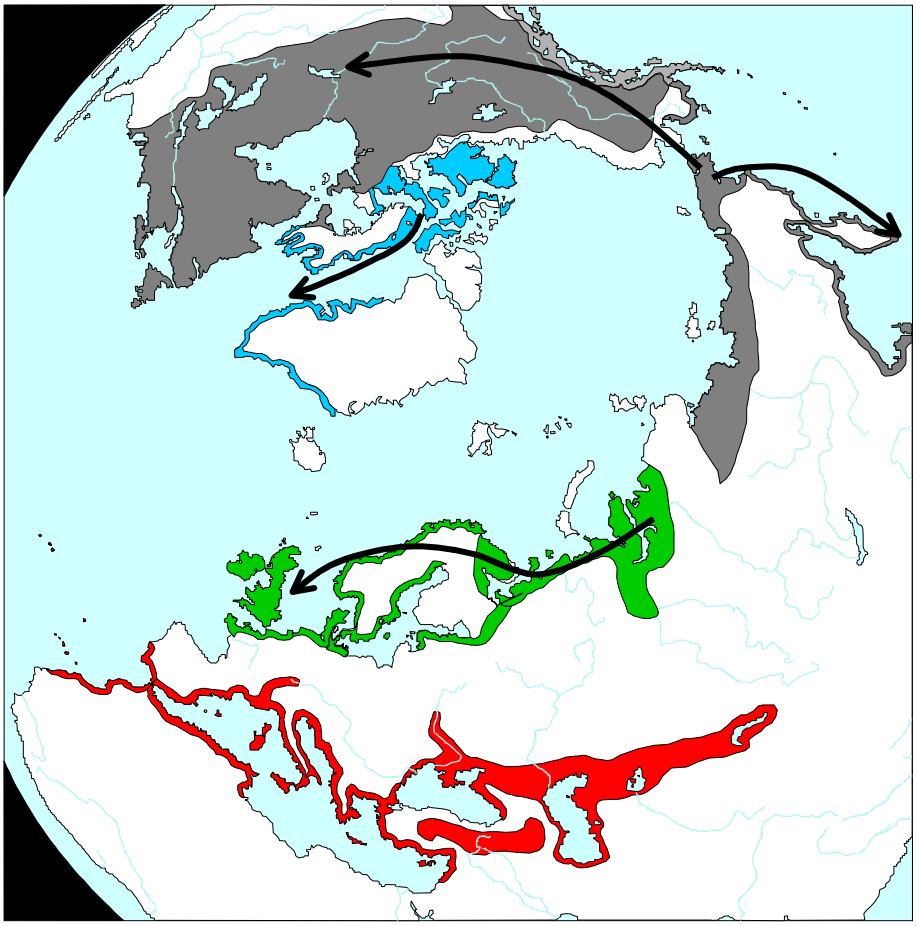
Abb. 1.1: Ringspezies-Modell nach MAYR (1963): **A**) Vier pleistozäne Refugien, nämlich *cachinnans* im aralo-kaspischen Gebiet (rot); *vegae-argentatus* im pazifischen Raum (grau), *fuscus* in Nord-Sibirien (grün) und *glaucoides* in Nordamerika (blau). **B**) Expansion der *cachinnans*-Gruppe in den atlantischen Raum. **C**) Besiedlung der nördlichen Küsten in Amerika (durch *vegae*) und Europa (durch *fuscus*). **D**) Sekundäre Besiedlung NW Europas durch *argentatus* ohne Hybridisierung mit *fuscus*, sowie Vermischung von *vegae* x *cachinnans* (=*mongolicus*) und *argentatus* x *cachinnans* (=“*omissus*“).

A)

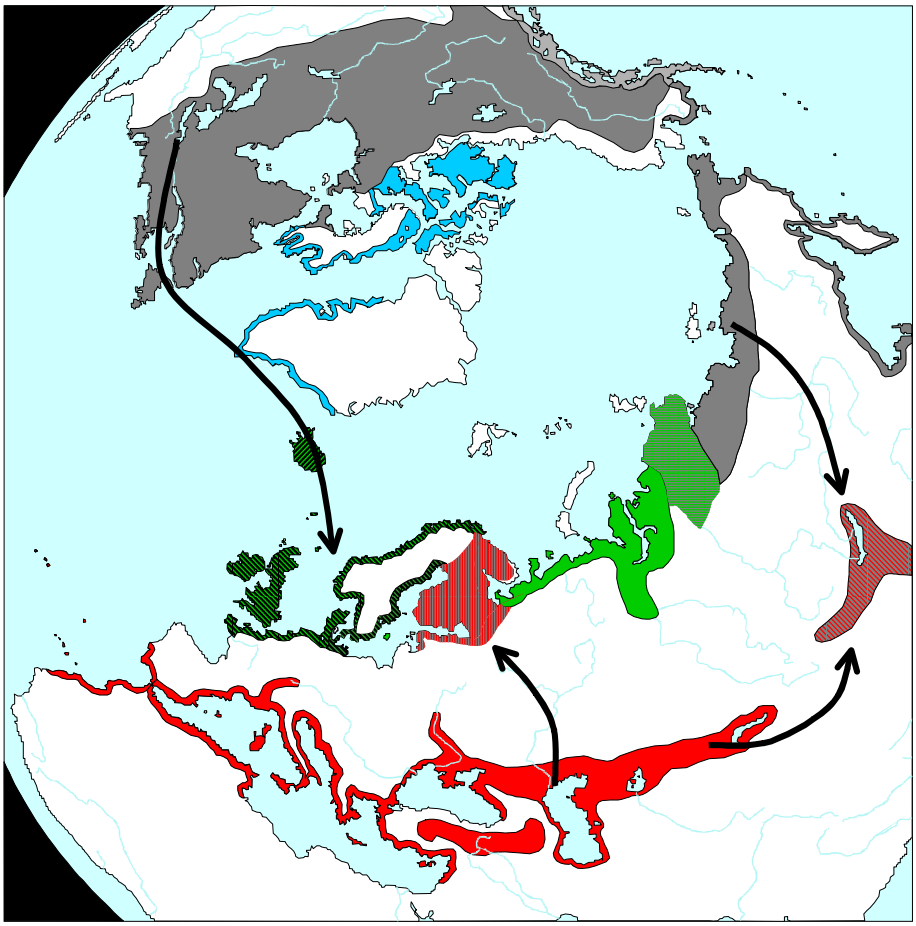


B)

C)



D)



Die gelbfüßige *cachinnans*-Gruppe entwickelte sich in der aralo-kaspischen Region und ließ später die „atlantische *fuscus*-Gruppe“ [MAYR bezieht sich hier auf die Form *atlantis*, Anm. der Verf.] entstehen (Abb. 1.1 B). Die rötlichfüßige Gruppe (*vegae* und Verwandte) entwickelte sich an der asiatischen Pazifikküste und ließ die eng verwandte typische *argentatus* von Nordamerika [=*smithsonianus*, Anm. der Verf.] entstehen (Abb. 1.1 C). Die transatlantische Invasion ist ein relativ junger Vorgang (Abb. 1.1 D). Wo *vegae* und *cachinnans* sich treffen, kommt es zur Vermischung (*mongolicus* ; Abb. 1.1 D), ebenso da, wo *cachinnans* und *argentatus* sich im östlichen Baltikum begegnen („*omissus*“). Da aber, wo *argentatus* und *fuscus* sich entlang der Küsten Europas treffen, leben sie unvermischt Seite an Seite und hybridisieren nur ganz selten. Ein amerikanisches Isolat wurde die Art *L.* glaucoides, die durch purpurne Farbe der Orbitalringe (nicht gelb wie bei der sympatrischen *argentatus*) charakterisiert ist [...]. Als während des Rückzuges des Eises *L. argentatus* in ihr Verbreitungsgebiet eindrang, kam es nicht zur Hybridisierung, sondern zu Biotopausschluss. *L. glaucoides* ist im Wesentlichen ein Felsbrüter längs der Meeresküste, während *L. argentatus* öfters im Landinneren nistet und an weniger steilen Örtlichkeiten...“ Mayr geht nicht explizit auf die *fuscus*-Gruppe ein, nahm aber wohl an, dass sie aus ihrem nördlichen Refugium westwärts expandierte (Abb. 1.1 C).

Drei Hypothesen nach MAYR (1963):

Zusammenfassend lassen sich aus MAYR’S (1963) Konzept drei konkrete Hypothesen ableiten, die in meiner Arbeit einer Prüfung unterzogen werden sollen:

1. Zwischen den südlichen Taxa *cachinnans*, *michahellis* und *atlantis* gibt es klinale Variation.
2. Die Besiedlung Nordamerikas erfolgte durch einen *vegae*-Verwandten aus dem Pazifik.
3. Entstehung von Hybridformen bei sekundärem Kontakt: *mongolicus* ist das Produkt aus *vegae* x c*achinnans*, „*omissus*“ geht auf die Vermischung von *cachinnans* x *argentatus* zurück.

1.3. Zielstellung

Die traditionelle Systematik und Taxonomie von Silbermöwen der *Larus argentatus*-Artengruppe spiegelt die phylogeographischen Beziehungen zwischen den einzelnen Formen nur unvollständig wider. Dies resultiert zum einen aus der Schwierigkeit, die Beziehungen zwischen den phänotypisch differenzierten Taxa zu rekonstruieren. Zum anderen fehlen geeignete genetische Marker, um zwischen nah verwandten Taxa zu unterscheiden. Die Hauptziele dieser Arbeit sind daher:

1. Die Abgrenzung und genaue Charakterisierung der existierenden, bisher phänotypisch unterscheidbaren Populationen und Taxa anhand mitochondrialer DNA-Marker und die quantitative Messung des Differenzierungsgrades zwischen diesen Taxa;
2. die Aufdeckung und klare Begründung von Artgrenzen im Sinne des „biologischen Artkonzeptes“ (sensu MAYR 1963), also durch Messung des potentiell vorhandenen Genflusses (bzw. dessen Einschränkung oder Fehlen) zwischen den Taxa;
3. die Rekonstruktion der phylogeographischen Verwandtschaftsverhältnisse auf der Basis genetischer und phänotypischer Differenzierung.

Im Kapitel 2, Material und Methoden, werden die umfangreichen, statistischen Analysemethoden der molekularen Populationsgenetik vorgestellt. Im Kapitel 3 werden allgemeine Charakteristika der Sequenzvariation untersucht, basierend auf allen 1217 Sequenzen der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion, unabhängig vom taxonomischen Status der Individuen. Die Bestimmung der populationsgenetischen Parameter und die Bestätigung des mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen stehen dabei im Vordergrund. Ferner wird die Sequenzevolution innerhalb der Großmöwen mit der anderer Gruppen anhand der Literatur verglichen.

Im Kapitel 4 wird der Nachweis erbracht, dass es innerhalb der hypervariablen Kontrollregion von Möwen Rekombination gibt, also die Sequenzvariation nicht ausschließlich das Ereignis von Punktmutationen und Drift ist. Diese Erkenntnisse widersprechen der rein klonalen Vererbung mitochondrialer DNA und sind von fundamentaler Bedeutung für die allgemeine Interpretation mitochondrialer Sequenzdatensätze, auch über das Gebiet der Ornithologie hinaus.

Ein Teilaspekt der Systematik der südlichen Möwentaxa, die taxonomische Stellung der Armenienmöwe (*L. armenicus*), wird in Kapitel 5 bearbeitet. In diesem relativ übersichtlichen System zweier parapatrisch brütender Taxa (*armenicus, michahellis*) lassen sich phänotypische und genetische Differenzierung quantitativ und qualitativ gut untersuchen.

Eine umfassende Bearbeitung der südlichen Möwentaxa der Westpaläarktis erfolgte in Kapitel 6. Im Mittelpunkt stand MAYR's Hypothese der klinalen Variation zwischen geographisch benachbarten Taxa unter Berücksichtigung der potentiellen Kontaktzonen zwischen den Formen der südlichen „*cachinnans*"- und der nördlichen „*fuscus*"-Gruppe. Basierend auf der molekularen Populationsstruktur innerhalb der Taxa und den phylogenetischen Beziehungen zwischen den Taxa entwerfe ich ein neues Bild der postglazialen Besiedlungsgeschichte der südlichen Paläarktis.

Wesentliches Ziel der Kapitel 7 und 8 war die mitochondrien-genetische Charakterisierung der in der nördlichen Holarktis brütenden Taxa, insbesondere der zirkumpolar verbreiteten Silbermöwen. Im Mittelpunkt stand die Frage nach der genetischen Differenzierung zwischen sympatrisch verbreiteten Silber- und Heringsmöwen in Europa. Der Vergleich der Populationsstruktur innerhalb der Eis- und Mantelmöwen sowie die Beziehungen zwischen den pazifischen Formen wurden einer ersten Analyse unterzogen (Kapitel 8). Anhand der phylogeographischen Beziehungen zwischen den nördlichen Taxa wird das Ringspezies-Konzept von MAYR erneut evaluiert und die Ausbreitung und Besiedlung der holarktischen Küsten durch Silber- und Heringsmöwen revidiert.

Abschließend werden im Kapitel 9 die vorher im Einzelnen diskutierten Ergebnisse im Kontext einer vergleichenden Studie zwischen mitochondrialen und autosomalen Markern zusammengefasst. Eine Rekonstruktion der „wahren" Phylogenie von Großmöwen wird erst möglich sein, wenn mehrere, unabhängige Untersuchungen zu kongruenten Ergebnissen führen. Die vorliegende Arbeit ist ein wichtiger Meilenstein auf diesem Weg.

2. Material und Methoden

2.1. Hintergrund zur molekularen Populationsgenetik

2.1.1. DNA - Träger der Erbinformation

Die genetische Information ist in der Nukleotidsequenz von Desoxyribonukleinsäuren (=DNA) gespeichert. Die DNA ist aus den Purinbasen Adenin (A) und Guanin (G) und den Pyrimidinbasen Thymin (T) und Cytosin (C) aufgebaut. Die einzelnen Basen sind an Desoxyribose- (Zucker) Moleküle gekoppelt, die über Phosphatbrücken zwischen dem 5'-C-Atom des einen und dem 3'-C-Atom des nächstfolgenden Zuckermoleküls verknüpft sind. Dadurch entstehen lange, unverzweigte Polynukleotidketten, die durch das Zucker-Phosphodiester-Rückgrat zusammengehalten werden und eine definierte 5'-3'-Richtung aufweisen (Abb. 2.1). Die beiden komplementären, antiparallelen Stränge der DNA-Doppelhelix werden über Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den komplementären Basen zusammengehalten. Adenin paart sich mit Thymin über zwei Wasserstoffbrücken, Guanin ist mit Cytosin über drei Wasserstoffbrücken verbunden. [G-C] - Bindungen sind daher stabiler als [A-T] - Bindungen. Die Abfolge der einzelnen Nukleotide bezeichnet man als die Sequenz der DNA (KNIPPERS 1997, ALPHEY 1998). Sie wird standardmäßig in 5'-3'-Richtung wiedergegeben.

Die Masse der genetischen Information ist bei Wirbeltieren im diploiden Chromosomensatz im Zellkern gespeichert. Die Mitochondrien besitzen darüberhinaus ein eigenes, haploides Genom in Form eines ringförmigen DNA-Moleküls. Pflanzen enthalten außerdem cytoplasmatische ct-DNA in den Chloroplasten. Die Endosymbionten-Theorie erklärt das Vorkommen von Erbinformation in den Zellorganellen folgendermaßen: Mit der Zunahme des Sauerstoff-Gehalts in der Atmosphäre fingen bestimmte Prokaryonten sauerstoffverwertende Bakterien ein und inkorporierten sie als intrazelluläre Symbionten (RIDLEY 1996, KNIPPERS 1997). Die Organellgenome der heutigen Eukaryontenzellen enthalten nur einen Teil der Gene, die für ihren eigenen Aufbau notwendig sind. Man schließt daher, dass im Laufe der Evolution häufig Gene aus den Organellen in den Zellkern transferiert wurden (GRAY et al. 1999). Unterstützt wird die Hypothese der "Wanderung von Genen" durch das Auftreten von

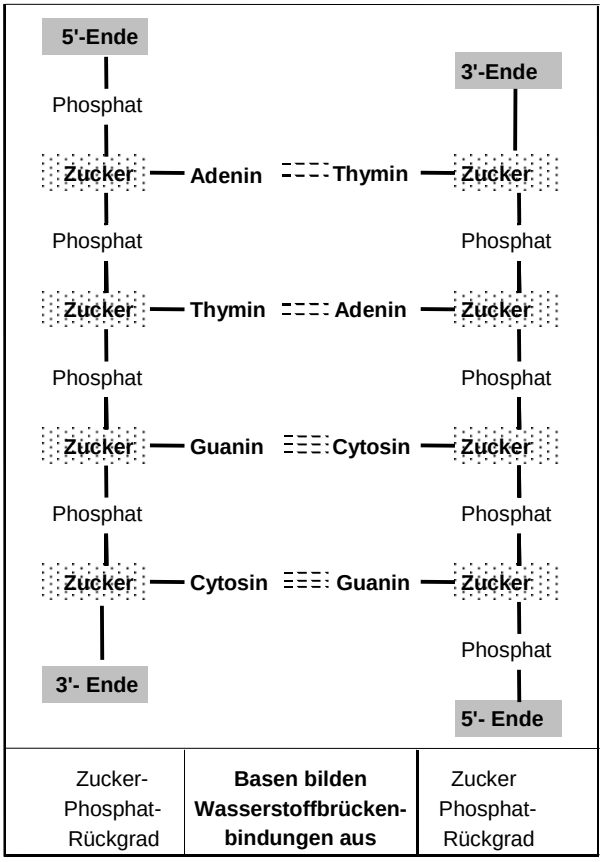


Abb. 2.1: Struktur der DNA-Doppelhelix. Zwei komplementäre, antiparallele Stränge lagern sich über Wasserstoffbrücken zusammen.

mitochondrialen Pseudogenen in der chromosomalen DNA bei vielen Arten (QUINN 1997). Diese Pseudogene sind mitochondrialen DNA-Sequenzen homolog, werden aber nicht transkribiert. Pseudogene können sowohl als molekulare Marker genutzt werden, als auch – wenn unbeabsichtigt co-amplifiziert - zum Problem bei der Sequenzierung von mtDNA werden (s.u.).

2.1.2. Mitochondrien-DNA und ihre Kontrollregion

Die DNA der Mitochondrien (mtDNA) ist durch eine Reihe von Besonderheiten gekennzeichnet:

1) Es ist ein kleines, ringförmiges Molekül, das ca. 16.000 Basenpaare (=bp) lang ist und nur in einfacher Ausfertigung (=haploid) vorliegt;

2) mtDNA wird rein maternal vererbt, d.h. nur mütterliche Linien geben die Information an die Nachkommen weiter (Ausnahmen: biparentale Vererbung z.B. bei *Mytilus* [ZOUROS et al. 1992]; Eindringen paternaler mtDNA bei interspezifischer Hybridisation [SHITARA et al. 1998]);

3) es gibt faktisch keine Rekombination, und die Reparaturmechanismen sind stark eingeschränkt;

4) außerhalb der nicht-kodierenden Kontrollregion (=„D-Loop“ für *displacement loop*), ist die Abfolge der kodierenden Abschnitte bis auf sehr kurze Zwischensequenzen („short intergenic spacer“) lückenlos (MORITZ et al. 1987, GRAY 1989).

Die ringförmige Struktur der Mitochondrien-DNA und die Abfolge der einzelnen Gene ist in Abbildung 2.2 für Vögel dargestellt (nach DESJARDINS & MORAIS 1990). Die Anordnung der mitochondrialen Gene unterscheidet sich zwischen den Organismen (BOORE 1999). Vögel unterscheiden sich von anderen Wirbeltieren durch die typische Abfolge “Cytochrom *b* – ND-6 – Kontrollregion” (plus tRNA-Gene). Die mtDNA der Wirbeltiere weist eine Asymmetrie im [G-C] - Gehalt der beiden Stränge auf. Der “schwere“ H-Strang („heavy strand“) trägt einen hohen Anteil Guanin, für den leichten L-Strang (“light strand“) ist ein „Mangel“ an Guanin kennzeichnend.

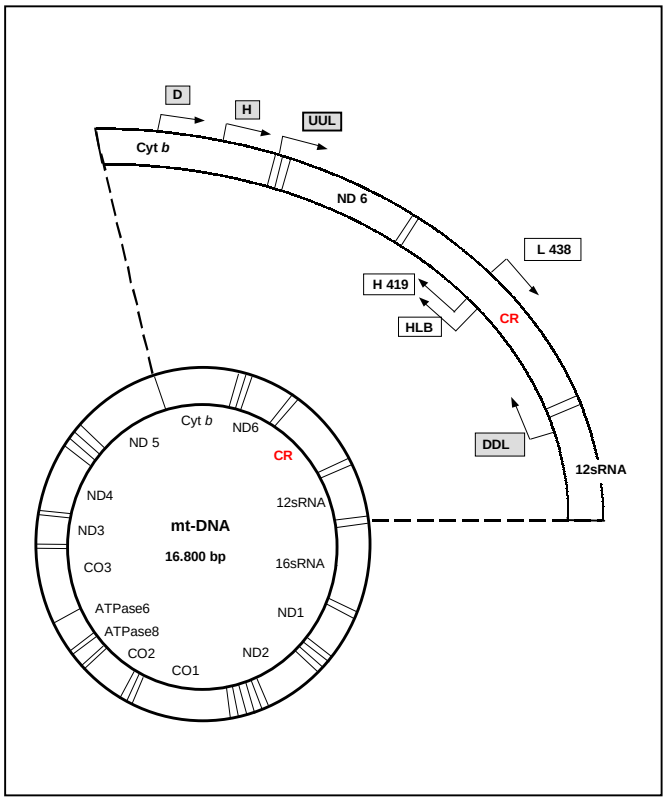


Abb. 2.2: Mitochondrien-DNA. Abfolge der einzelnen Gene nach DESJARDINS & MORAIS (1990). PCR-Primer grau unterlegt, Sequenzierprimer hell. CR = Kontrollregion.

Die kodierenden Abschnitte der DNA unterliegen stabilisierender Selektion (im Hinblick auf die Funktionsfähigkeit ihrer Genprodukte) und können daher nur eingeschränkt mutieren. Dennoch reicht ihr phylogenetisches Auflösungsvermögen bis auf die Ebene der Artdifferenzierung, wie u.a. an Cytochrom *b* - Sequenzen von Vögeln anschaulich gezeigt wurde

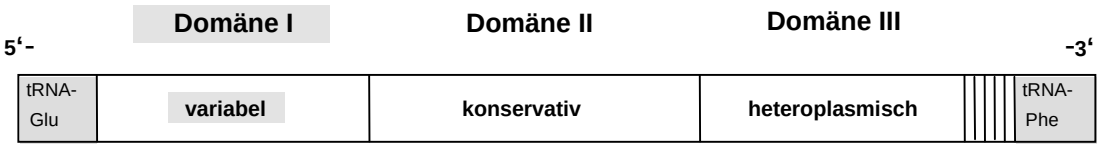


Abb. 2.3: Funktionaler Aufbau der Kontrollregion mit flankierenden tRNA-Genen. 430 Basenpaare der Domäne I wurde in der vorliegenden Untersuchung sequenziert.

(vgl. HELBIG et al. 1993, 1994, 1995, HELBIG & SEIBOLD 1999). Zeitlich jüngere Prozesse wie die genetische Differenzierung zwischen Populationen können anhand kodierender Sequenzen nicht oder nur unvollständig aufgelöst werden. Für Fragestellungen auf dem Niveau von Unterarten bietet sich die nicht-kodierende Kontrollregion an, da sich hier wesentlich schneller Mutationen anreichern. Die Kontrollregion ist für die Replikation des Mitochondrien-Genoms verantwortlich. Die zentrale Domäne II (Abb. 2.3) enthält den Initiationspunkt für die Replikation: Durch die Anlagerung eines ca. 700 bp langen Moleküls an den L-Strang bildet sich ein dreisträngiger DNA-Abschnitt, der den H-Strang verdrängt („*Displacement–Loop*"). Hier beginnt die symmetrische Transkription beider DNA-Stränge. Ein zentraler, konservativer Sequenzblock (conserved sequence block 1, CSB-1) sowie weitere konservative „Sequenzboxen" sind für die Ausbildung der Sekundärstrukturen bei der Replikation verantwortlich (BAKER & MARSHALL 1997). Domäne I und III können hochvariabel sein und eignen sich daher für die Untersuchung nahe verwandter Taxa. Viele Individuen sind jedoch in der Domäne III heteroplasmisch, d.h. die Länge der Domäne variiert zwischen verschiedenen Mitochondrien desselben Individuums. Meist handelt es sich dabei um kurze Sequenzbausteine („repeats"), die unterschiedlich oft dupliziert wurden („variable number of tandem repeats"=VNTR; siehe LUNT et al. 1998). Flankiert wird der D-Loop von den Genen $tRNA^{Glu}$ und $tRNA^{Phe}$, die für den Transport von Glutaminsäure und Phenylalanin verantwortlich sind (DESJARDINS & MORAIS 1990).

Wie Studien zur Populationsgenetik von Vögeln gezeigt haben (z.B. EDWARDS 1993, WENINK et al. 1996, KIDD & FRIESEN 1998, MARSHALL & BAKER 1997), eignet sich der D-Loop besonders für die Untersuchung der Differenzierung nahe verwandter Taxa (Übersicht in BAKER & MARSHALL 1997). In der vorliegenden Arbeit habe ich mich auf die Sequenzierung der Domäne I der Kontrollregion beschränkt, da sie innerhalb und zwischen den Möwentaxa hochvariabel ist. In Domäne II und III wurden keine Variationen gefunden (vgl. CROCHET et al. 2000 und eigene Ergebnisse).

2.1.3. Grundprinzipien der DNA-Sequenzierung

Polymerase-Kettenreaktion

Das Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion (=PCR; MULLIS & FALOONA 1987) ist eine enzymatische Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes zwischen zwei flankierenden Oligonukleotid-Primern, die gegenläufig an komplementäre DNA-Stränge binden (NEWTON & GRAHAM 1994). Die PCR besteht aus drei Zyklen: Denaturierung, Primeranlagerung und Kettenverlängerung. Während der Denaturierung werden die Wasserstoffbrückenbindungen thermisch aufgelöst. An die Einzelstränge lagern sich im zweiten Schritt kurze DNA-Moleküle (=Primer) an, die komplementär zur Sequenz der DNA-Matrize (=Templat) sind. Im letzten Schritt synthetisiert eine hitzestabile DNA-Polymerase unter Zugabe freier

Nukleotide den jeweils komplementären DNA-Strang, indem das 3'-Ende jedes Primers verlängert wird (HOELZEL & GREEN 1998). In jedem Zyklus wird der von den Primern begrenzte DNA-Abschnitt vervielfältigt, der dann seinerseits wieder als Templat zur Verfügung steht. Dies führt zur exponentiellen Zunahme eines definierten DNA-Abschnittes, der anschließend sequenziert (SANGER et al. 1977, HILLIS et al. 1996) oder mit Restriktionsenzymen verdaut werden kann (DOWLING et al. 1996, AVISE 1994).

DNA-Sequenzierung

Bei der Sequenzierung wird die Nukleotidabfolge eines DNA-Abschnittes bestimmt. Die DNA kann dabei entweder chemisch abgebaut (MAXAM & GILBERT 1977) oder enzymatisch synthetisiert werden (SANGER et al. 1977). Heutzutage wird hauptsächlich die "Kettenabbruch-Methode" nach SANGER angewandt. Die zyklische Sequenzierung (=*cycle sequencing*, KRETZ et al. 1995) basiert auf der DNA-Synthese, bei der dieselben Phasen wie bei der PCR durchlaufen werden: Denaturierung, Primeranlagerung und Kettenverlängerung. Im Gegensatz zur PCR wird aber nur ein Sequenzier-Primer eingesetzt, die Synthese verläuft also ausgehend vom Primer immer in dieselbe Richtung. Zusammen mit den freien Nukleotiden werden in geringer Konzentration Stopp-Nukleotide (=Didesoxynukleotid) zugegeben. Die Synthese des komplementären DNA-Strangs endet („Kettenabbruch"), wenn bei der Kettenverlängerung zufällig ein Stopp-Nukleotid eingebaut wird (RAO 1995). Die unterschiedlich langen DNA-Fragmente werden entsprechend ihrer Größe im Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt (HOELZEL & GREEN 1998, HILLIS et al. 1996, ALPHEY 1998).

2.1.4. Mitochondriale Kernkopien

Häufige und wiederholte Insertionen mitochondrialer DNA-Sequenzen in das Kerngenom („*nuclear mitochondrial DNA segments*" = *numts*; QUINN 1997) wurden vielfach nachgewiesen (FUKUDA et al. 1985, LOPEZ et al. 1994, BLANCHARD & SCHMIDT 1996, COLLURA & STEWARD 1995), u.a. auch bei zahlreichen Vogelgattungen (ARCTANDER 1995, QUINN 1997, KIDD & FRIESEN 1998, SORENSON & QUINN 1998). Kernkopien differieren von ihrer mitochondrialen „Stamm-DNA" in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Einwanderung in den Kern, wo sie dann in der Regel langsamer evolvieren als die Mitochondrien-DNA (ZISCHLER et al. 1995, ZHANG & HEWITT 1996a,b).

Kernkopien werden bevorzugt aus bestimmten Gewebetypen amplifiziert (QUINN & WHITE 1987, GREENWOOD & PÄÄBO 1999). Da Vogelblut, im Unterschied zu anderen Wirbeltieren, kernhaltige Erythrozyten enthält, wird bei der Isolierung der Gesamt-DNA mengenmäßig mehr nukleare als mitochondriale DNA gewonnen. Wenn die PCR-Primer nicht selektiv an die mtDNA-Matrize binden, kann es zur Co-Amplifikation von mitochondrialen Sequenzen und deren nuklearen Homologen kommen (KIDD & FRIESEN 1998, SORENSON & QUINN 1998). Diese Gefahr ist um so größer, je kleiner der amplifizierte mtDNA-Abschnitt ist, da kurze Fragmente leichter in den Kern wandern können (HADLER et al. 1983, FUKUDA et al. 1985). Bei Untersuchungen der mitochondrialen Kontrollregion können Kernkopien leicht unbemerkt bleiben, da es kaum möglich ist, diese von hypervariablen Sequenzabschnitten zu unterscheiden (PÄÄBO 1996). Zur Kontrolle des mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen sollten daher

1. DNA aus unterschiedlichen Geweben isoliert,
2. möglichst lange Fragmente amplifiziert (NELSON et al. 1996, BARNES 1994) und
3. die Übereinstimmung der Zielsequenz anhand von Amplifikationen mit unterschiedlichen Primern überprüft werden.

2.2. Methoden

2.2.1. Sequenzierung der mitochondrialen Kontrollregion

DNA-Isolierung

Alle Blut- und Gewebeproben wurden in APS-Puffer (ARCTANDER 1988) oder 95% Alkohol konserviert und bei –20°C gelagert. Die Gesamt-DNA wurde nach der Salzfällungsmethode isoliert (MILLER et al. 1988), ohne Phenol-Chloroform Reinigung. 100µl Blut wurden mit 700µl Puffer *B* (25mM EDTA, 75mM NaCl, 10mM Tris), 100µl 10% SDS und 2µg Proteinase *K* über Nacht bei 55°C inkubiert. Nach Zugabe von $^1/_3$ Volumen gesättigter NaCl-Lösung und zweimaliger Zentrifugation bei 14.000 rpm wurde der Überstand mit 1ml tiefgekühltem Isopropanol versetzt. Die ausfallende DNA wurde in 70% Alkohol gewaschen, luftgetrocknet und in Wasser gelöst.

PCR-Amplifikation

Die PCR-Reaktion wurde im 50µl Volumen durchgeführt. Etwa 3µl (ca. 50µg) DNA wurden mit je 350µM Nukleotid (Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin), 0,5µl PCR-Primer und 2 Units einer Mischung aus thermostabiler Taq-Polymerase und Pwo DNA-Polymerase sowie Reaktionspuffer (Expand™ Long template PCR System, Boehringer Mannheim) versehen und mit destilliertem Wasser auf 50µl aufgefüllt, um eine Endkonzentration von 2,25mM $MgCl_2$ zu erhalten. Nach einer Anfangsdenaturation von 2 Minuten bei 94°C folgten 30 PCR-Zyklen (GeneAmp 2400): 10 s Denaturation bei 94°C, 30 s Primeranlagerung bei 50-55°C und 2,5 Minuten Kettenverlängerung bei 68°C. Die Kettenverlängerung wurde ab dem 11. Zyklus um jeweils 20 s verlängert. Routinemäßig wurden die Primer UUL-DDL (Fragmentlänge: 2.515 bp) und H-DDL (2.869 bp) eingesetzt (Abb. 2.2). Zur Überprüfung der Sequenzen auf ihren mitochondrialen Ursprung wurde zusätzlich bei einigen Individuen mit der Primerkombination D-DDL ein 3.022 bp langes Fragment amplifiziert.

Die PCR-Fragmente wurden im Agarose-Gel mit Ethidiumbromid angefärbt. War nur eine Bande sichtbar, deren Molekulargewicht der gewünschten Länge entsprach, konnte das Produkt direkt sequenziert werden. Wurden mehrere Banden amplifiziert oder entsprach die Länge des Fragments nicht der des gewünschten Produkts, wurde die PCR mit verändertem Temperaturregime wiederholt. In 7µl PCR-Produkt wurden die überschüssigen Primer und Nukleotide mittels Exonuclease I (10 Units) und Shrimp Alkalischer Phosphatase (2 Units) verdaut (PCR-product pre-sequencing kit, Amersham Life Science).

DNA-Sequenzierung

Ein Sequenzier-Kit der Firma Perkin Elmer wurde beim Cycle-Sequencing verwendet (AmpliCycle™ Sequencing Kit). Der „Master mix“ wurde wie folgt angesetzt: 3µl gereinigtes PCR Produkt, 20pmol Sequenzier-Primer, 1,5µl Ci [α-33-P]-dATP; 4µl Cycle-Sequencing Mix (10-fache Konzentration), versetzt mit Reaktionspuffer und Desoxynukleotiden und aufgefüllt auf 30µl mit H_2O. Von diesem Mix wurden je 6µl auf vier Terminationsgefäße aufgeteilt, die jeweils 2µl (Stopp-) Didesoxynukleotide enthielten. Reaktionsprofil für 30 Zyklen: 30 s Denaturierung bei 93°C, 30 s Primeranlagerung bei 55°C und 60 s Kettenverlängerung bei 72°C. Die Reaktion wurde mit 4µl Stopp-Lösung beendet. Die Trennung der Fragmente erfolgte in einem 6% Polyacrylamidgel bei 70 W. Die getrockneten Sequenzgele wurden für 2-3 Tage auf einem hochempfindlichen Röntgenfilm (Kodak BioMax) exponiert und anschließend entwickelt.

Tabelle 2.1: Die verwendeten Amplifizierungs- und Sequenzierprimer: angegeben sind Name, Position (L- (light) und H- (heavy) Strang, entsprechend der Sequenz von *Gallus gallus* [DESJARDINS & MORAIS 1990]) und die Primersequenz.

Name	Position	Sequenz (5'-3')
D	L 15569	ATC-CCA-TTC-CAC-CCC-TAC-TAC-TC
H	L 15722	CAC-ATC-AAA-CCA-GAA-TGA-TAC-TTC-CTA-TT
UUL	L 16076	AAA-ACA-TTG-GTC-TTG-TAA-ACC
L-438	L 438	TCA-CGT-GAA-ATC-AGC-AAC-CC
H-419	H 419	GGG-TTG-CTG-ATT-TCA-CGT-GA
HLB	H 519	GGC-CCT-GAC-ATA-GGA-ACC-AGA-GG
DDL	H 1816	GCA-CCG-CCA-AGT-CCT-TAG-AGT-T

Von Domäne I wurden routinemäßig 430 bp mit Primer HLB sequenziert (Abb. 2.2). Zu Kontrollzwecken wurden in einigen Fällen mit Primer H-419 360 bp sequenziert, womit am 5‘-Ende eine wesentlich bessere Auflösung zu erzielen war. In den Voruntersuchungen wurden zusätzlich 150 bp der Domäne II mit Primer L-438 sequenziert, die jedoch zwischen den Taxa nicht variierten (vgl. CROCHET et al. 2000).

2.2.2. Verifizierung der mitochondrialen Herkunft der Sequenzen

Der mitochondriale Ursprung der Sequenzen wurde anhand folgender Strategien überprüft:

1) Vergleichende Isolierung der Gesamt-DNA und Sequenzierung der Domäne I aus Blut- und Gewebeproben. Ein paralleler Ansatz (mehrere Isolate von einem Individuum) war nicht möglich, jedoch wurde zwischen verschiedenen Isolaten von Individuen derselben Kolonie verglichen. Dies diente zur Überprüfung, ob der relativ geringere Anteil von mtDNA in Blut gegenüber Muskelgewebe zu einer bevorzugten Amplifizierung von Kernkopien aus Blutproben führte (wie bei Schneegänsen gefunden, QUINN & WHITE 1987).

2) Anreicherung mitochondrialer DNA durch Ultrazentrifugation im Caesium-Chlorid-Dichtegradienten (WHITE et al. 1998). Voraussetzung für diese Methode ist eine ausreichende Menge an frischem

Muskelgewebe. Der Vogel muß dafür getötet werden (DESSAUER et al. 1996). Für eine routinemäße Anwendung kam die mtDNA-Isolation im Dichtegradienten nicht in Frage, da die Vögel am Brutplatz lebend gefangen und beringt werden sollten. Vom Royal Ontario Museum Toronto wurden mir 14 Caesium-Chlorid angereicherte mtDNA-Proben zur Verfügung gestellt. Aus alkoholkonservierten Muskelproben derselben Individuen isolierte ich zusätzlich die Gesamt-DNA (s.o.), und beide Templates wurden vergleichend amplifiziert und sequenziert.

3) Amplifizierung mit unterschiedlichen Primer-Kombinationen: Maximal drei verschiedene Fragmente wurden mit den Primern UUL-DDL, H-DDL und D-DDL amplifiziert (Tab. 2.1). Für jene 14 Individuen, von denen sowohl die Gesamt-DNA als auch die Caesium-Chlorid angereicherte mtDNA vorlag, wurden von einem Individuum maximal sechs PCR Produkte amplifiziert. Ziel war, die Sequenzen zwischen verschiedenen Fragmenten zu vergleichen, um mögliche Amplifizierungen von Kernkopien bei bestimmten Primerkombinationen aufzudecken.

2.2.3. Analyse der DNA-Sequenzen*

Sequenzalignement

Die individuellen DNA-Sequenzen wurden im Programm ESEE (CABOT & BECKENBACH 1989) per Hand aligniert, d.h. homologe Sequenzpositionen wurden einander zugeordnet. An den Positionen, wo es zum Verlust (=Deletion) oder Einschub (=Insertion) einzelner Nukleotide gekommen war, mußten Lücken (=gaps) in das Alignement eingefügt werden. Da Lücken in den von mir verwendeten phylogenetischen Analyseprogrammen nicht separat berücksichtigt wurden, sie aber ein starkes phylogenetisches Signal tragen (GIRIBET & WHEELER 1999), wurden sie wie Transversionen behandelt.

Zugrundeliegendes Substitutionsmodell

Beim Vergleich zweier Sequenzen sind die variablen Positionen von besonderem Interesse, da sich hier homologe Nukleotide unterscheiden. Die verschiedenen Substitutionsmuster sind in Abb. 2.4 dargestellt.

Eine Nukleotid-Position kann im Laufe der Evolution mehrfach mutieren (Abb. 2.5.). Bei der Sequenzierung erhält man eine Momentaufnahme der Nukleotidabfolge, und es ist schwierig, den „Ausgangszustand“ zu rekonstruieren.

Verschiedene Substitutionsmodelle wurden für Analyse von DNA-Sequenzen entwickelt (Übersicht siehe LI 1997). Distanz-Matrizen in der vorliegenden Arbeit wurden mit dem Kimura 2-Parameter-Modell (K 2-Parameter) berechnet: Dieses Modell erlaubt multiple Substitutionen an jeder Nukleotidposition und unterscheidet zwischen Transitionen und Transversionen. Der *kappa*-Parameter, d.h. das Verhältnis von Transitionen zu Transversionen, wurde anhand des Datensatzes abgeschätzt (KIMURA 1980).

* Gesamtübersicht der verwendeten Programme, siehe S. 29

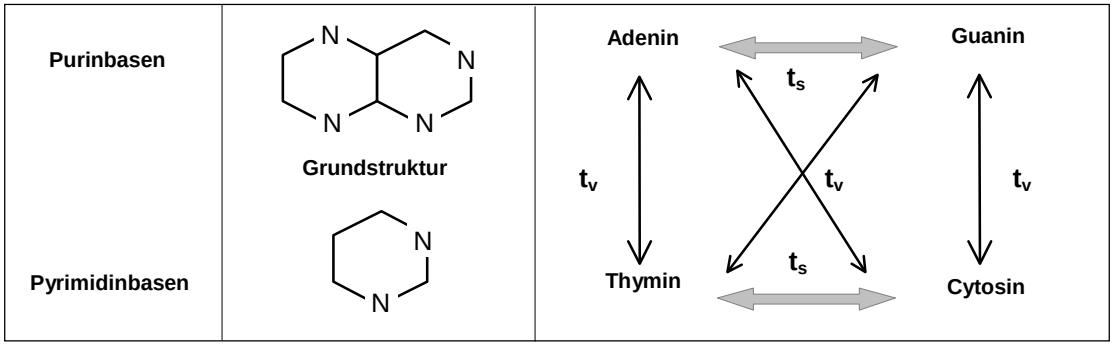


Abb. 2.4: Struktur der Nukleinsäuren und mögliche Substitutionsmuster. Transitionen (t_s) finden innerhalb, Transversionen (t_v) zwischen den Nukleinsäure-Gruppen statt (nach LI 1997).

Bestimmung der Ratenheterogenität

In der Evolution von DNA-Sequenzen unterliegen die einzelnen Nukleotidpositionen unterschiedlichen funktionalen Zwängen. Bei starker funktionaler Beschränkung (=hohem Selektionsdruck auf die Konstanz der Sequenzen) sind Substitutionen unwahrscheinlich, während Positionen, die keiner Funktion unterworfen sind, relativ frei mutieren können (LI 1997). Ein Maß für die Unterschiede in den Substitutionsraten zwischen den Nukleotidpositionen einer DNA-Sequenz ist die Ratenheterogenität. Es wird dabei zwischen der Fraktion invariabler (*theta*) und variabler Positionen unterschieden. Die Verteilung der variablen Positionen wird durch eine Gamma-Funktion dargestellt (UZZEL & CORBIN 1971, WAKELEY 1993). Der Faktor α ist ein Maß für die Heterogenität einer Sequenz: α-Werte < 1 signalisieren starke Ratenheterogenität, d.h. wenige Positionen haben eine sehr hohe Substitutionsrate, während die Mehrzahl der Positionen invariant ist. Gibt es keine Unterschiede zwischen den Substitutionsraten der einzelnen Positionen, nähert sich α dem Wert 1. Für die vorliegenden Sequenzdaten der Möwen wurde der α-Parameter mit einem Maximum-Likelihood-

Position	Sequenz					Substitutionstyp
1	**T**	→	**T**	→	**T**	keine Substitution
2	**C**	→	**T**	→	**T**	Einfache Transition
3	**C**	→	**C**	→	**T**	Einfache Transition
4	**C**	→	**T**	→	**C**	Doppelte Transition
5	**A**	→	**A**	→	**T**	Einfache Transversion
6	**A**	→	**T**	→	**A**	Doppelte Transversion
7	**A**	→	**G**	→	**T**	Transition und Transversion
8	**C**	→	**-**	→	**-**	Deletion
9	**G**	→	**-**	→	**G**	Deletion und Insertion
10	**G**	→	**-**	→	**C**	Deletion und Transition
		Zeit →				

Abb. 2.5: Verschiedene Substitutionsmuster an einzelnen Nukleotidpositionen. Treten Mehrfachmutationen an denselben Positionen auf, werden diese als "mutational hot spots" bezeichnet (PÄÄBO 1996).

Verfahren bestimmt (PUZZLE-Programm, STRIMMER & VON HAESELER 1996). Die Nukleotid-Diversität (π) ist ein Maß für die Mutationsrate (NEI 1987). Sie wurde im Programm DnaSP (ROZAS & ROZAS 1999) für alle Nukleotidpositionen der Domäne I berechnet.

Überprüfung der "molekularen Uhr"

Allen phylogenetischen Altersschätzungen liegt die Annahme zugrunde, dass Substitutionen mit konstanter Rate akkumuliert wurden (ZUCKERKANDL & PAULING 1965). Sofern durch Fossilfunde ein gesichertes Referenzdatum vorliegt, können Aufspaltungsereignisse datiert werden, wobei postuliert wird, dass der Grad der molekularen Differenzierung zwischen zwei Taxa proportional zur Dauer ihrer Trennung ist. Diese Annahme ist nicht unumstritten (NEI 1987, HILLIS et al. 1996) und vor allem dann problematisch, wenn Verwandtschaftsbeziehungen zwischen sehr unterschiedlichen Organismen untersucht werden. Im allgemeinen kann man aber davon ausgehen, dass die Zahl der Positionen, an denen sich zwei Sequenzen voneinander unterscheiden, mit der Zeit zunimmt. Die Raten dieser Zunahme sollten zwischen den Evolutionslinien umso ähnlicher sein, je näher verwandt die betrachteten Organismen sind. Nach einer hinreichend langen Trennung zwischen zwei Sequenzen kann es aber zur Sättigung durch Mehrfachmutationen kommen (BROWN 1983), was einem Verlust an phylogenetischer Information gleichkommt (HELBIG 1999).

Im Programm PUZZLE wurde die Gültigkeit der „molekularen Uhr" überprüft („molecular clock test"; STRIMMER & VON HAESELER 1996). Anhand der Sequenzen wurden zwei Stammbäume errechnet: Im ersten Baum wurde die molekulare Uhr angenommen, d.h. eine lineare Beziehung zwischen molekularer und zeitlicher Divergenz postuliert (einfacheres Modell). Im zweiten Baum wurde diese Proportionalität nicht vorausgesetzt (komplizierteres Modell). Die beiden Bäume wurden im „Likelihood Ratio Test" verglichen, und die molekulare Uhr wurde akzeptiert, wenn der einfachere Baum nicht signifikant schlechtere Wahrscheinlichkeitswerte lieferte als der komplizierte Baum. Nur bei Bestätigung der molekularen Uhr war die Anwendung ultrametrischer Distanzalgorithmen (UPGMA und KITSCH, s.u.) für die Erstellung der Stammbäume gerechtfertigt (LI 1997).

2.2.4. Stammbaumrekonstruktion

Im Stammbaum werden die phylogenetischen Beziehungen zwischen taxonomischen Einheiten („operational taxonomic unit" = OTU), z.B. Haplotypen, Populationen oder Taxa, dargestellt. Von Bedeutung sind dabei das Verzweigungsmuster und die relativen Längen der einzelnen Äste, deren endständige Punkte von den OTU's besetzt werden. Unter Einbeziehung einer Außengruppe kann die „Wurzel" des Baums, d.h. die basalste Aufspaltung, bestimmt werden (z.B. Abb. 5.5). Nur so lässt sich zwischen relativ ursprünglichen und relativ abgeleiteten Evolutionslinien unterscheiden. Im Gegensatz dazu zeigt ein ungewurzelter Baum nur das Verzweigungsmuster innerhalb der untersuchten Gruppe (z.B. Abb. 7.1).

Die vorliegenden Stammbäume wurde anhand der Kimura 2-Parameter Distanz-Matrize und den folgenden Algorithmen in MEGA (KUMAR et al. 1993) bzw. PHYLIP (FELSENSTEIN 1993) berechnet: UPGMA („Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean"; NEI 1987), NEIGHBOR JOINING

(SAITOU & NEI 1987) oder KITSCH (FELSENSTEIN 1973). Die rekonstruierten Stammbäume wurden in TREEVIEW (PAGE 1998) editiert und abschließend in PowerPoint bearbeitet.

Die Wahrscheinlichkeit der Monophylie von Gruppierungen in einem Stammbaum wurde mit Hilfe der „Bootstrap-Analyse“ (FELSENSTEIN 1985) bzw. durch „Likelihood Mapping“ (STRIMMER & VON HAESELER 1997) abgeschätzt. Beim „Bootstrap“ werden durch Zufallsauswahl von Sequenzpositionen mehrere tausend Bäume generiert („resampling method“) und die Zahl der wiederkehrenden, stetigen Gruppierungen gezählt. Beim „Likelihood Mapping“ wird jeder einzelne Ast anhand der zugrundeliegenden Sequenzen daraufhin überprüft, mit welcher Wahrscheinlichkeit sich seine Länge von Null unterscheidet (Abb. 2.6). Ausgehend von einem Daten-Quartett (z.B. vier einzelne Sequenzen oder vier Gruppen von Sequenzen), gibt es jeweils nur drei mögliche Verzweigungsmuster sowie eine nicht-aufgelöste Topologie. Die Maximum-Likelihood Werte wurden für 10.000 Quartette ermittelt und als „Punkte“ in einem Dreieck dargestellt. In den Spitzen des Dreiecks wurden die Punkte für vollständig aufgelöste Topologien eingezeichnet, im Zentrum waren die nicht-aufgelösten Fälle und die dazwischen liegenden Punktwolken repräsentierten intermediäre Verzweigungsmuster. Die Verteilung der Punkte im Raum veranschaulicht, wie stark die einzelnen Topologien unterstützt werden (GS-VIEW, LANG 1998).

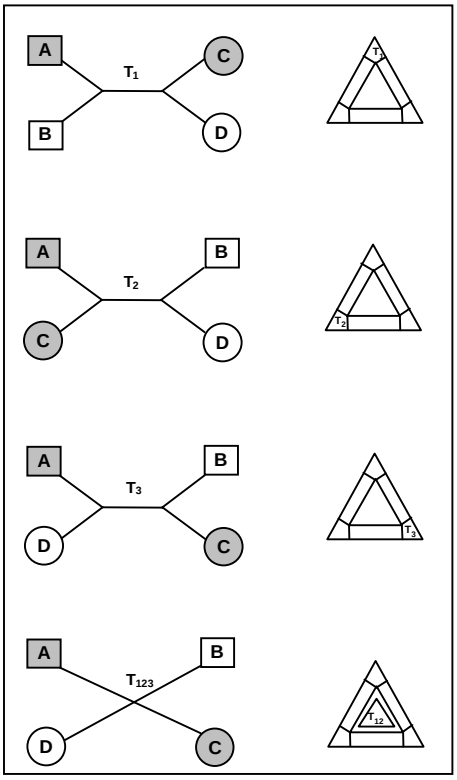


Abb. 2.6: Drei mögliche Baumtopologien für ein Quartet von Sequenzen (T_1, T_2 und T_3) sowie eine nicht-aufgelöste Topologie (T_{123}) (QUARTET PUZZLING; STRIMMER & VON HAESELER 1996).

2.2.5. Analyse der intraspezifischen Populationsstruktur

Jedes Individuum ist durch eine individuelle DNA-Sequenz charakterisiert. Sequenzen, die sich an mindestens einer Nukleotidposition unterscheiden, werden als verschiedene „Haplotypen“ (=mitochondriale Genotypen) bezeichnet. Bei der Rekonstruktion der molekularen Populationsstruktur wurden Vergleiche hinsichtlich der Häufigkeiten und genetischen Ähnlichkeit von Haplotypen innerhalb und zwischen Gruppen (Populationen, Taxa etc.) gezogen. Am Verteilungsmuster der Haplotypen kann man erkennen, ob und in welchem Maße es Austausch (Genfluss) zwischen einzelnen Gruppen gibt. Dazu wurden Individuen z.B. desselben Brutplatzes (=Kolonie), geographisch benachbarte Kolonien desselben Phänotyp (=Population), oder alle Populationen eines Phänotyp (=Taxon) zu Gruppen zusammengefaßt.

Ermittlung der Standardparameter

Populationen oder Taxa wurden durch die folgenden Standardparameter charakterisiert: Zahl untersuchter Individuen (n); Anzahl variabler Nukleotidpositionen (S) und Gesamtzahl der Haplotypen (k). Diversitäts-Indizes wurden mit dem Programm ARLEQUIN (EXCOFFIER et al. 1992) berechnet:

* Genetische Diversität (H): Dies ist die Wahrscheinlichkeit, mit der sich zwei zufällig aus der Stichprobe ausgewählte Haplotypen unterscheiden (NEI 1987);

* Nukleotid-Diversität (π): Ist die Wahrscheinlichkeit, dass sich zwei zufallsmäßig aus der Stichprobe ausgewählte homologe Nukleotide unterscheiden (TAJIMA 1983).

* Mittlerer paarweiser Sequenzunterschied (d): Durchschnittliche Anzahl von Nukleotidpositionen, an denen sich zwei Haplotypen einer Stichprobe unterscheiden.

Abschätzung demographischer Parameter

Informationen über Größe und Alter von Populationen lassen sich anhand der Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede (=Anteil der Nukleotidpositionen, die zwischen zwei Sequenzen differieren [p-Distanz]) und der Verzweigungstiefe im Haplotypen-Stammbaum gewinnen. Die Häufigkeitsverteilungen der p-Distanzen werden als Histogramme dargestellt (Programm DnaSP, ROZAS & ROZAS 1999). Eine unimodale, glockenförmige Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede deutet auf rezentes Populationswachstum hin, zum Beispiel nach einem Bottleneck (ROGERS & HARPENDING 1992, ROGERS 1995). Bimodale Häufigkeitsverteilungen spiegeln das Vorkommen von zwei divergenten DNA-Linien in einer Population wider (MAJORAM & DONNELLY 1994). Ein mehrgipfliger Kurvenverlauf ist für relativ alte Populationen mit konstanter Größe charakteristisch (kein Wachstum, keine Bottlenecks). In diesen Populationen sind ursprüngliche Haplotyp-Linien erhalten geblieben, die untereinander sehr divergieren können (VON HAESELER et al. 1996).

An der Verzweigungstiefe im Haplotypen-Stammbaum lässt sich das relative Alter einer Population abschätzen. Für jede Population (bzw. jedes Taxon) wurde eine Kimura 2-Parameter Distanztabelle berechnet (s.o.) und unter Einbeziehung der Sequenz von *Larus canus* (Außengruppenvertreter) ein Baum berechnet, um die Verzweigungstiefen vergleichen zu können (s. z.B. Abb. 6.5). Im Stammbaum gehen alle Linien auf einen gemeinsamen Vorfahren zurück, den „most recent common ancestor“ (=MRCA). Junge Populationen zeigen ein flaches Verzweigungsmuster (sehr gering divergierende Haplotypen), was einen sehr rezenten MRCA anzeigt; große, konstante Populationen weisen tiefe Verzweigungen (sehr divergente Haplotypen) auf, die ein relativ hohes Alter der Population anzeigen (VON HAESELER et al. 1996).

Ein weiteres Maß für die Populationsdynamik ist der Quotient S/d (=“Expansionskoeffizient“), d.h. das Verhältnis aus variablen Positionen (S) zum mittleren paarweisen Sequenzunterschied (d; VON HAESELER et al. 1996). Große Werte sind typisch für wachsende Population, bei denen viele Substitutionen auf wenige Individuen beschränkt sind. Populationen konstanter Größe haben dagegen einen geringeren „Expansionskoeffizienten“.

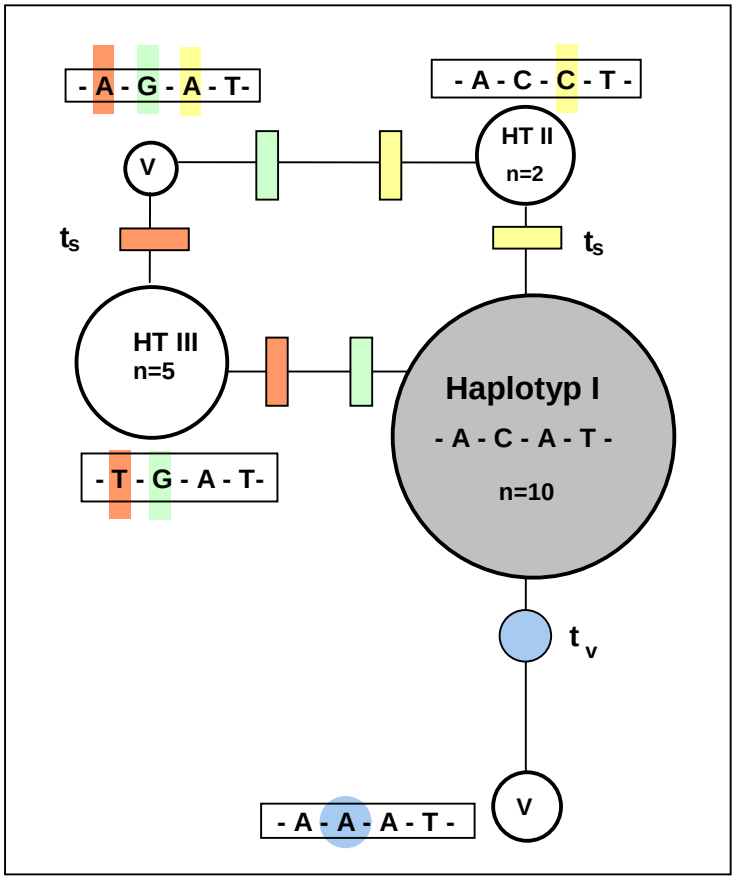


Abb. 2.7: Vereinfachtes Haplotypen-Netzwerk: Im Zentrum der hypothetische Haplotyp Nr. I. Transitionen (t_s) und Transversionen (t_v) sind farbig unterlegt. Bei multiplen Substitutionen an einer Nukleotidposition bilden sich retikuläre Strukturen.

Haplotypen-Netzwerke

Für die Analyse der verwandschaftlichen Beziehungen zwischen Haplotypen wurden mit dem Programm NETWORK (RÖHL 1998) phylogenetische Netzwerke erstellt (BANDELT et al. 1995, 1999). Während im Stammbaum jeder Haplotyp (OTU) an einem distalen Ast sitzt, können OTU's im Netzwerk auch zentrale Positionen einnehmen. Es sind polytome Verzweigungen und retikuläre Verknüpfungen möglich (ein Stammbaum ist dagegen immer dichotom verzweigt). Sehr häufige Haplotypen nehmen meist eine zentrale Postion im Netzwerk ein, während seltene Haplotypen peripher stehen (ARCTANDER et al. 1999).

Ein hypothetisches Haplotypen-Netzwerks ist in Abb. 2.7 dargestellt: Jeder Kreis symbolisiert einen Haplotypen (=eine Sequenz), wobei der Durchmesser der Kreise proportional zur Häufigkeit des Haplotypen ist. Der Abstand zwischen zwei Kreisen (Haplotypen) ist proportional zur genetischen Distanz zwischen den Sequenzen. Kommt es an denselben Nukleotidpositionen zu Mehrfachmutationen, bilden sich retikuläre Verbindungen. In Netzwerken, die zwei Populationen oder Taxa mit teilweise übereinstimmenden Haplotypen repräsentieren, wurden die relativen Häufigkeiten der Haplotypen im Kreis angegeben.

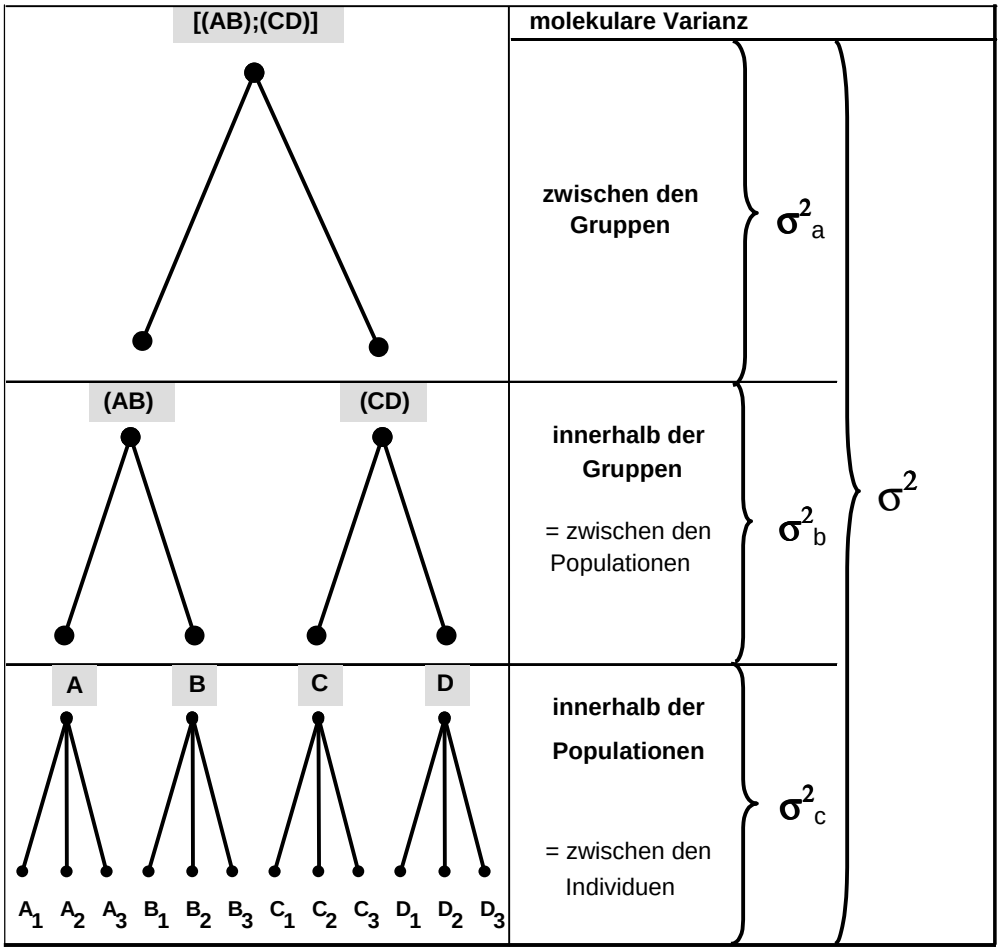


Abb. 2.8: Prinzip der hierarchischen Analyse der molekularen Varianz (AMOVA); ARLEQUIN-Programm, EXCOFFIER et al. (1992), SCHNEIDER et al. (1998).

2.2.5. Analyse der genetischen Differenzierung zwischen Populationen und Taxa

Ein zentrales Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der genetischen Differenzierung zwischen Populationen und Taxa. Im Mittelpunkt stand die Frage, ob und wo es Genflussbarrieren zwischen benachbart brütenden Taxa gibt. Signifikante Unterschiede in den Häufigkeiten der Haplotypen zwischen benachbarten Taxa können entweder eine Genflussbarriere, also (ggf. unvollständige) reproduktive Isolation widerspiegeln, oder das Resultat eines rezenten sekundären Kontakts zwischen Taxa sein, die zuvor in Allopatrie divergierten. Umgekehrt bedeutet das Fehlen signifikanter Unterschiede nicht unbedingt, dass noch heute Genfluss zwischen den Taxa stafffindet. Die Aufspaltung kann erst in jüngerer Vergangenheit stattgefunden haben, die sich bisher aber noch nicht auf dem Niveau der mitochondrialen DNA manifestiert hat.

Analyse molekularer Varianz (=AMOVA)

In der Analyse der Molekularen Varianz (AMOVA) wurde die Gesamtvarianz einer Stichprobe in ihre Einzelkomponenten zerlegt (EXCOFFIER et al. 1992). In Abb. 2.8 ist das zugrundeliegende Prinzip

dargestellt: Basal stehen die Individuen, die im ersten Schritt zu Populationen zusammengefaßt wurden. Die Varianz innerhalb einer Population (σ^2_c) ist ein Maß für die Divergenz zwischen den ihr angehörenden Haplotypen (Individuen). Auf der nächsthöheren Ebene wurden die Populationen zu Gruppen (z.B. Taxa) zusammengefaßt. Die Unterschiede zwischen den Populationen einer Gruppe (eines Taxons) ergaben den Wert (σ^2_b). Im letzten Schritt wurden die Varianzen zwischen den Gruppen (Taxa) ermittelt (σ^2_a).

Im ARLEQUIN-Programm (SCHNEIDER et al. 1998) wurden verschiedene Hypothesen getestet. Ich habe dabei unterschiedliche Kriterien für die Abgrenzung der Gruppen vorgegeben, z.B. die phänotypischen Merkmale von Populationen oder die Ansichten verschiedener Autoren über die Klassifizierungen der Taxa. Ziel der AMOVA war es, mit einer minimalen Anzahl an Gruppen (z.B. Taxa) einem maximalen Anteil der Gesamtvarianz zu erklären.

Populationsdifferenzierung

Ein Maß für die Differenzierung zwischen zwei Populationen ist der F_{ST}-Wert, der aus den Häufigkeiten der Haplotypen berechnet wird (WEIR & COCKERHAM 1984). Um zusätzlich die phylogenetischen Beziehungen zwischen den Haplotypen zu berücksichtigen, wurden im ARLEQUIN-Programm die paarweisen Φ_{ST}-Distanzen zwischen den Populationen berechnet (Kimura 2-Parameter; *kappa*=17; α=0,04). Die Φ_{ST}-Werte wurden im nicht-parametrischen Permuationsverfahren auf Signifikanz getestet (10.000 Permuationen; EXCOFFIER et al. 1992). Eine weitere Kenngröße für die Differenzierung zwischen zwei Populationen ist die Zahl der pro Generation zwischen ihnen ausgetauschten Individuen. Sie ist umgekehrt proportional zum Φ_{ST}-Wert und liefert eine anschauliche Darstellung der Migrationsbewegungen zwischen Populationen bzw. Taxa und dem damit verbundenen Genfluss.

Populationsstammbäume

Die Berechnung der Populationsstammbäume basiert auf den genetischen Distanzen zwischen Gruppen von Sequenzen, z.B. Populationen oder Taxa, zwischen denen es Genfluss geben kann. Als Maß für die genetischen Distanzen zwischen Gruppen dienten die in ARLEQUIN-Programm berechneten linearisierten Φ_{ST}-Werte (SLATKIN 1995). Diese wurden ins Programm PHYLIP (FELSENSTEIN 1993) exportiert, um dort mit Hilfe der Algorithmen UPGMA, NEIGHBOR JOINING oder KITSCH Populationsstammbäume zu erstellen.

Die „Bootstrap-Analyse“ für den Populationsstammbaum erfolgte in mehreren Schritten: Aus den Originalsequenzen wurden in PHYLIP mit der Routine SEQBOOT per Zufallsauswahl 100 Sequenzdatensätze erzeugt und für jeden ein ARLEQUIN-File erstellt. Nach der Berechnung von 100 unabhängigen, linearisierten Φ_{ST}-Distanz-Matrizen wurden diese zurück nach PHYLIP exportiert. Aus den resultierenden 100 UPGMA-Stammbäumen wurde im Programm CONSENSE (PHYLIP) der Konsensus-Baum erstellt, in dem die relativen Häufigkeiten der wiederkehrenden Gruppierungen angegeben wurden.

2.3. Probenbeschaffung und Kooperation mit anderen Instituten

Sämtliche Blut- und Gewebeproben wurden von brütenden Altvögeln oder Küken (eines pro Nest) gesammelt, um die geographische Herkunft der Vögel zweifelsfrei zu belegen. Proben von Vögeln auf dem Zug oder aus den Winterquartieren wurden nicht bearbeitet. Von den gefangenen Altvögeln wurden die morphologischen Standardmaße erhoben (MÜLLER 2000). Für die Analyse der geographischen Variationen im Lautrepertoire von Möwen wurden in den Brutkolonien Tonaufnahmen angefertigt, die Frau Kocum im Rahmen ihrer Diplomarbeit ausgewertet hat (KOCUM 2000).

Eigene Freilandarbeiten führte ich in folgenden osteuropäischen und nordamerikanischen Brutgebieten durch:

- Russland, Nord-Sibirien, Taimyr-Halbinsel: Juli 1995
- Kanada, Ontario, Große Seen: Mai 1996
- Kanada, British Columbia: Juni 1996
- Ukraine, Asow'sches Meer & Sivash: April 1997
- Niederlande, Haarlem & Rotterdam: Mai 1997
- Kasachstan, Baraba-Steppe: Mai 1998
- Russland, Kaspisches Meer: Juni 1998
- Deutschland, Amrum: Juni 1998
- Türkei, Zentral- und Ostanatolien: Mai 1999.

In Tab. 2.2 sind die Herkunft aller untersuchten Möwenproben (vgl. Abb. 2.9) und die Namen der Kollegen aufgelistet, die zur Materialbeschaffung beitrugen und denen mein besonderer Dank gilt. Neben Proben aus den Brutgebieten der reinen Phänotypen wurde auch in Kontaktzonen zwischen zwei Taxa gesammelt. Diese Kolonien sind gekennzeichnet (***).

Hervorheben möchte ich an dieser Stelle die Zusammenarbeit mit Andrej Filchagov vom Institut für Morphologie und Evolutionsbiologie der Tiere in Moskau (Russland), der mehr als 130 Proben aus russischen Brutkolonien zur Verfügung stellte. Allan Baker und Richard Snell vom Royal Ontario Museum Toronto (Kanada) überließen mir knapp 300 Proben zur Analyse, darunter 14 Caesium-Chlorid gereinigte DNA-Isolate. Norman van Swelm und Peter de Knijff, Ornithologische Station Oostvoorne und Universität Leiden (Niederlande), haben mir 180 isolierte DNA-Proben zugesandt.

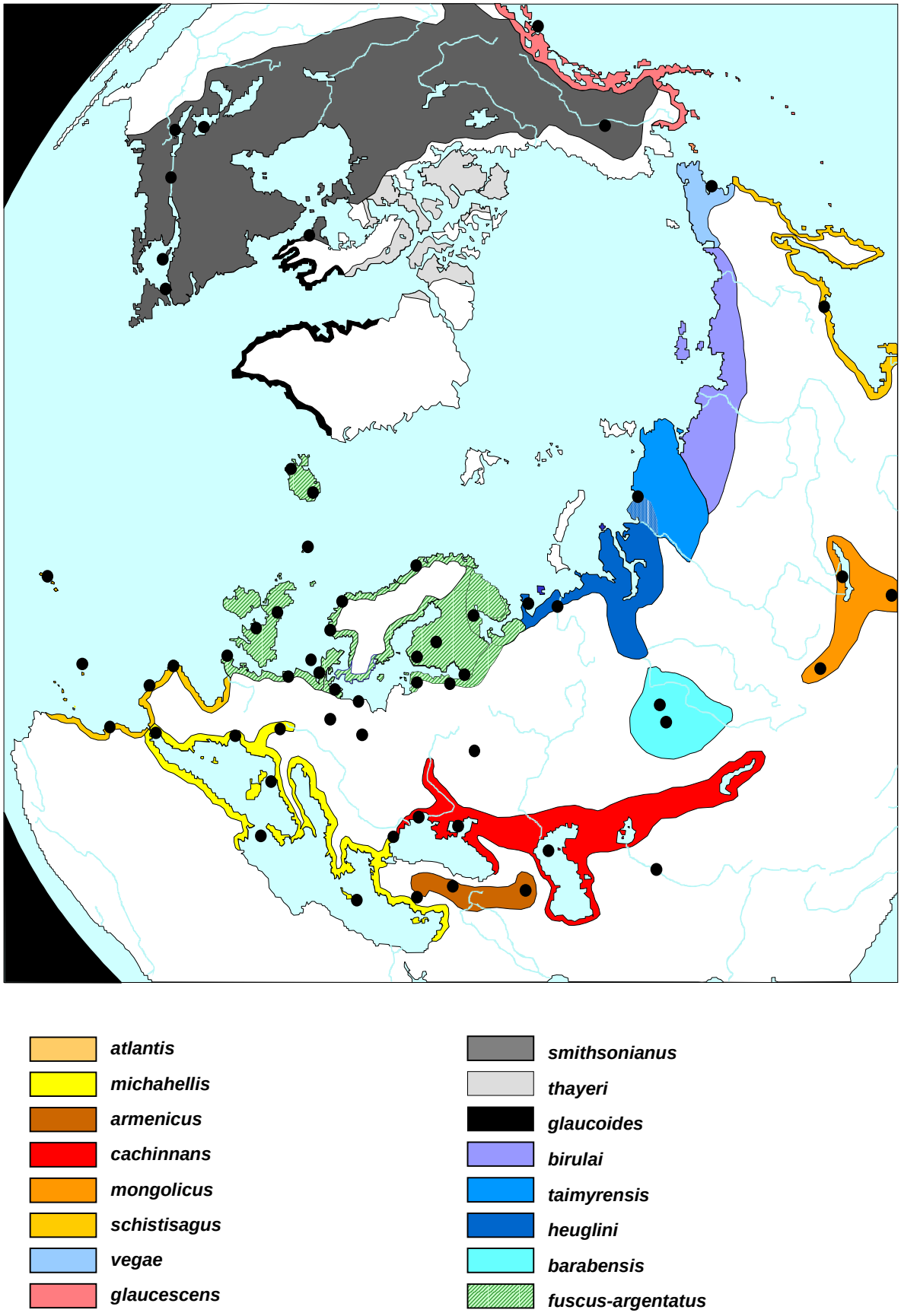


Abb. 2.9: Zirkumpolares Verbreitungsgebiet der *Larus argentatus-fuscus-cachinnans* Artengruppe (verändert nach GLUTZ & BAUER 1982). Die geographische Herkunft der Proben aus den Brutgebieten der einzelnen Taxa ist eingezeichnet (Punkte).

Tabelle 2.2 : Liste aller sequenzierten Großmöwen (n=1217), mit Namen der Taxa, Herkunftsort (*** - gemischte Kolonien), Zahl der untersuchten Proben (n) und Namen der Probensammler.

Taxon	Probenort	n	Koordinaten	Abk.	Gesammelt von
L. argentatus					
smithsonianus	USA, Alaska, Fairbanks	5	64°50'N,147°10'W	smiALA	R.R. Snell
(n=67)	Kanada, NWT, Yellowknife	6	62°40'N,113°20'W	smiNWT	J. Sirois
	Kanada, Ontario, Huron See	7	44°20'N,81°50'W	smiONT	D. Liebers
	Kanada, Ontario, Toronto	9	43°20'N,79°10'W	smiONT	D. Liebers
	Kanada, Ontario, Cornwall	8	45°00'N,74°50'W	smiONT	D. Liebers
	Kanada, NB, Insel Kent	20	44°20'N,65°20'W	smiNBW	R.R. Snell
	Kanada, PEI, Malpeque Bay	12	46°10'N,63°30'W	smiPEI	R.R. Snell
argenteus	Island-West Karlsskali	15	65°00'N,13°20'W	ageICW	R.R. Snell
(n=153)	Island-Ost, Skruder	23	64°10'N,13°20'W	ageICE	R.R. Snell
	Dänemark, Färöer Inseln	11	62°20'N,07°20'W	ageFAR	J.K. Jensen, E. Fritze, R.R. Snell
	Norwegen, Kristiansand	14	58°10'N,06°40'E	ageSNO	T.O. Hansen
	Norwegen, Tromso	20	69°40'N,19°00'E	ageNNO	R.R. Snell
	Frankreich, Finistére	27	48°40'N,03°20'W	ageFRC	R.R. Snell
	Niederlande, Rotterdam	26	51°50'N,04°20'E	ageHOL	N.v. Swelm, F. Cottaar, K. Verbeek
	Deutschland, Helgoland	17	54°30'N,07°40'E	ageHGL	N. Robert
argentatus	Deutschland, Hiddensee	16	54°20'N,13°10'E	argHWS	R. Barth, A.J. Helbig
(n=33)	Polen, Danzig	17	54°20'N,18°50'E	argLOW	M. Zielinski, P. Chylarecki
"*omissus*"	Estland, Matsalu	25	58°30'N,23°10'E	omiEST	K. Rattiste
(n=88)	Finnland, Tvärminne	21	60°50'N,23°00'E	omiFIN	M. Kilpi, A. Filchagov
	Finnland, Saimaa See	12	61°20'N,28°20'E	omiFIN	R. Juvaste, N.v. Swelm
	Russland, Kandalakscha	30	66°50'N,33°20'E	omiWSE	I. Charitonova, V.Bianki, M. Gulmakha, E. Cherenkov
mixed colonies	Deutschland, Senftenberg	27	51°20'N,14°00'E	mixKKL	R. Klein, R. Kaminski
(n=83)	Poland, Warschau	24	51°40'N,21°10'E	mixMIW	M. & D. Bucacinsky
	Russland, Gorki, Sitniki	32	57°50'N,44°20'E	mixCER	A. Filchagov
L. fuscus					
graellsii	Island, Reykjavik	9	64°20'N,22°00'W	graNAT	A. Sigfusson
(n=100)	Dänemark, Färöer Inseln	35	62°20'N,07°20'W	graNAT	J.K. Jensen, E. Fritze, R.R. Snell
	England, Preston	20	54°10'N,02°20'W	graUKD	D. Sowter
	England, Stockport	6	53°30'N,02°30'W	graUKD	P. Stuart
	Niederlande, Rotterdam	25	51°50'N,04°20'E	graEUR	F. Cottaar, K. Verbeek, N.v. Swelm
	Frankreich, Finisére	5	48°30'N,05°20'W	graEUR	R.R. Snell
intermedius	Deutschland, Amrum	14	54°30'N,08°10'E	intAMR	D. Liebers
(n=24)	Norwegen, Vest-Agder	10	58°20'N,06°40'E	intSNO	T.O. Hansen
fuscus	Russland, St. Petersburg	3	59°40'N,28°20'E	fusRUS	A. Filchagov
(n=28)	Russland, Weißes Meer	4	66°50'N,33°20'E	fusWSE	A.E. Cherenkov
	Finnland, Vaasa	10	63°30'N,21°30'E	fusFIN	R. Juvaste
	Finnland, Kuopio	11	62°50'N,27°30'E	fusFIN	R. Juvaste, N.v. Swelm
heuglini	Russland, West-Sibirien	9	67°40'N,44°10'E	heuWSE	P. Mierauskas
(n=26)	Russland, Kanin Halbinsel	14	67°20'N,44°10'E	heuKAN	A. Filchagov
	Russland, Untere Petchora	3	67°00'N,52°30'E	heuPET	V. A Buzun
taimyrensis	Russland, Taimyr, Pjassina	21	74°10'N,86°30'E	taiPJA	C. Unger, D. Liebers

Taxon	Probenort	n	Koordinaten	Abk.	Gesammelt von
L. michahellis					
atlantis	Portugal, Azoren	20	38°50'N,28°10'W	atlAZO	L. Monteiro, R.W. Furness
(n=94)	Portugal, Madeira	20	33°00'N,17°50'W	atlMAD	M.v. Leeuwen, N.v. Swelm
	Portugal, Berlenga Inseln	17	39°50'N,09°50'W	atlBER	M.v. Leeuwen, L. Moreis
	Marocco, Essaouria	7	31°30'N,09°50'W	atlMAR	M.v. Leeuwen, N.v. Swelm
	Spanien, Galizien	30	43°30'N,08°50'W	atlGAL	A. Bermejo
michahellis	Spanien, Gibraltar	11	36°10'N,05°30'W	micGIB	M.v. Leeuwen, N.v. Swelm
(n=78)	Frankreich, Camargue	18	43°30'N,04°50'E	micFRC	R.R. Snell
	Frankreich, Elsaß	12	48°10'N,08°00'E	micELS	M. Boschert
	Italien, Capraia	7	43°00'N,10°40'E	micITA	N. Baccetti
	Malta, Filfla Islet	15	36°10'N,14°50'E	micMAL	J. Sultana, C. Gauci, F. Cottaar
	Griechenland, Kreta	9	35°10'N,25°50'E	micKRT	A.J. Helbig
	Rumänien, Constanta	6	44°20'N,28°30'E	micRUM	R. Klein, A. Buchheim
L. armenicus	Türkei, Ankara, Tuz See	51	38°50'N,33°10'E	armTUZ	A.J. Helbig, D. Liebers
(n=81+16)	Türkei, Beysehir See***	16	37°50'N,31°50'E	armBEY	A.J. Helbig, D. Liebers
	Türkei, Van, Van See	30	38°20'N,43°10'E	armVAN	A.J. Helbig, D. Liebers
L. cachinnans	Rumänien, Istria	7	44°30'N,28°30'E	cacRUM	R. Klein, A. Buchheim
(n=82)	Ukraine, Odessa	9	46°20'N,32°00'E	cacODE	A. Rudenko, N.v. Swelm
	Ukraine, Azow'sches Meer	23	46°40'N,35°20'E	cacUKR	V. Dierschke, D. Liebers
	Russland, Kaspisches Meer	43	45°00'N,48°20'E	cacCSS	T. Tennhardt, D. Liebers
L. barabensis	Russland, Omsk, Tenis See	4	56°20'N,71°40'E	barRUS	W. Jakimenko, A. Filchagov
(n=36+10)	Kasachstan, Tengiz See	32	50°30'N,69°30'E	barKAZ	A.J. Helbig, D. Liebers
	Usbekistan, Tuzkan***	5	40°30'N,67°40'E	barUBK	A. Filatov, Y. Lanovenko
	Usbekistan, Buchara***	5	40°00'N,64°00'E	barUBK	A. Filatov, Y. Lanovenko
L. mongolicus	Russland, Baikalsee	7	52°00'N,105°00'E	monBAI	S. Pyzhiyanov, A. Filchagov
(n=36)	Mongolei, Khubsugul See	5	51°50'N,100°50'E	monCEN	S. Pyzhiyanov, A. Filchagov
	Mongolei, Har Us Nmur	11	47°50'N,92°20'E	monEAS	A. Bräunlich, O. Munhtogtoh
	Mongolei, Choibalsan	13	48°00'N,114°30'E	monWES	A. Bräunlich, O. Munhtogtoh
L. schistisagus	Russland, Magadan	14	59°40'N,151°30'E	schMAG	O. Butorina, S. Andeev
(n=14)					
L. vegae	Russland, Tchokotka, Anadyr	10	64°20'N,176°50'E	vegTSC	O. Butorina
(n=10)					
L. glaucescens	Kanada, British Columbia	8	48°20'N,123°30'W	glcBRC	D. Liebers
(n=8)					
L. glaucoides	Kanada, Baffinland	7	69°00'N,68°00'W	goiNWT	R.R. Snell
(n=8)	Dänemark, Färöer Inseln	1	62°20'N,07°30'W	goiFAR	J.K. Jensen
L. hyperboreus	Russland, Novaya Zemlya	13	70°40'N,54°20'E	hypSIB	V. Kalyakin, A.J. Helbig
(n=92)	Russland, Kanin Halbinsel	4	67°30'N,44°10'E	hypSIB	A. Filchagov
	Spitzbergen, Adventfjorden	23	78°10'N,15°40'E	hypSPB	R.R. Snell
	Dänemark, Färöer Inseln	4	62°50'N,07°50'W	hypFAR	J.K. Jensen
	Island, Bjarnhafnarfjall	24	65°00'N,23°00'W	hypICE	R.R. Snell
	Kanada, Baffinland	24	69°00'N,68°00'W	hypNWT	R.R. Snell

Taxon	Probenort	n	Koordinaten	Abk.	Gesammelt von
L. marinus	Russland, Novaya Zemlya	1	70°40'N,54°40'E	marEUR	V.N. Kalyakin
(n=29)	Deutschland, Hiddensee	1	54°50'N,13°10'E	marEUR	R. Barth, A.J. Helbig
	Dänemark, Sjaeland	4	55°30'N,11°30'E	marEUR	K.T. Pedersen, E. Fritze
	Frankreich, Finistére	1	48°40'N,03°30'W	marEUR	R.R. Snell
	Dänemark, Färöer Inseln	19	62°50'N,07°50'W	marEUR	J.K. Jensen
	Island-Ost, Skruder	2	63°50'N,13°40'W	marEUR	R.R. Snell
	Kanada, New Brunswick	1	44°20'N,65°20'W	marCND	K. Mawhinney
Außengruppe					
L. canus	Niederlande, Rotterdam	3	51°50'N,04°20'E	canOUT	N.v. Swelm

2.4. Übersicht der verwendeten Computerprogramme

ARLEQUIN SCHNEIDER, S., KUEFFER, J.M., ROESSLI, D. & EXCOFFIER, L. 1998. ARLEQUIN: A software for population genetic data analysis. version 1.1. University of Geneva, Switzerland (http://anthropologie.unige.ch/arlequin).

DnaSP ROZAS, J. & ROZAS, R. 1999. DnaSP version3: Integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. Bioinformatics **15**: 174-175. (http://porthos.bio.ub.es/~julio/DnaSP.html)

ESEE CABOT, E.L. & BECKENBACH, T. 1989. Simultaneous editing of multiple nucleic acid and protein sequences with ESEE. Comput. Appl. Biosci. **5**: 223-234.

GS-VIEW LANG, R. 1998. GS-view. version 2.5 (http://www.math.mcgill.ca/~luc/ghostview.html)

MEGA KUMAR, S., TAMURA, K. & NEI, M. 1993. MEGA. Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 1.0. Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.

NETWORK RÖHL, A. 1998. Network version 2b: A program package for calculating phylogenetic networks. Mathematisches Seminar, University of Hamburg. (http://www.fluxus-engineering.com)

PHYLIP FELSENSTEIN, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle. (http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html)

PUZZLE STRIMMER, K. & HAESELER, A. VON 1996. Quartet puzzling: A quartet puzzling maximum-likelihood method for reconstructing tree topologies. Mol. Biol. Evol. **13**: 964-969. (http://www.zi.biologie.uni-muenchen.de/~strimmer/puzzle.html)

TREEVIEW PAGE, R.D.M. 1998. TreeView (Win32) version 1.5.2 (http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/rod.html)

3. Ergebnisse und Diskussion

Teil I: Variationen innerhalb mitochondrialer Sequenzen der Kontrollregion und ihre Verifizierung

3.1. Zielstellung

Die allgemeine Analyse von Sequenzen der mitochondrialen Kontrollregion bei Möwen erfolgte unter vier Gesichtspunkten:

1. Welche molekularen Strukturmerkmale kennzeichnen den Datensatz? Können trotz des nicht-kodierenden Charakters der Kontrollregion funktionale Abschnitte lokalisiert werden?
2. Inwieweit mutieren Nukleotidpositionen unterschiedlich schnell (Ratenheterogenität)?
3. Gilt die Annahme der molekularen Uhr?
4. Wie lässt sich sicherstellen, dass keine mitochondrialen Kernkopien amplifiziert wurden?

Im Mittelpunkt standen die Aufdeckung und Analyse molekularer Wirkungsmechanismen, die die Evolution mitochondrialer Sequenzen der Kontrollregion beeinflussen. Hierfür wurden alle 1217 Sequenzen gemeinsam analysiert, unabhängig vom taxonomischen Status und der geographischen Herkunft der Individuen. Auf systematische Schlußfolgerungen wurde hier verzichtet; sie sind Gegenstand der Kapitel 5-8.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Sequenzvariation innerhalb der Domäne I und II der mitochondrialen Kontrollregion

Von 1217 Individuen der *Larus argentatus-fuscus-cachinnans* Artengruppe (Tab. 2.2) wurde ein 430 bp langes Fragment der Domäne I der Kontrollregion sequenziert. Die einzelnen Nukleotide wurden durchgehend numeriert: Position 1 bei Möwen (Abb. 3.1) entspricht Position 38 der publizierten homologen Sequenz des Alpenstrandläufers (*Calidris alpina*, WENINK et al. 1994) und Position 65 bei der Gryllteiste (*Cepphus grylle*, FRIESEN in BAKER & MARSHALL 1997). Zur Alignierung der Sequenzen mit der Referenzsequenz des Haplotyp hht-001 (Abb. 3.1) mußten drei „Lücken" (gaps) eingefügt werden, die bei der weiteren Analyse wie Transversionen behandelt wurden: an Position 125 in der *michahellis* Gruppe [C→G], an Position 236 in der *cachinnans* Gruppe [G→T] und bei einem *argentatus*-Individuum (ageICE-2099) an Position 121 [G→T]. Zusätzlich wurden von 20 Individuen, die sich in ihren Sequenzen innerhalb der Domäne I stark voneinander unterschieden, 152 Nukleotide der Domäne II sequenziert. In diesem Abschnitt wurde jedoch keinerlei Variation gefunden. Dies bestätigt, dass die Domäne II der Kontrollregion auch bei Möwen sehr konservativ und nicht geeignet ist, um zwischen nahe verwandten Taxa zu unterscheiden (vgl. BAKER & MARSHALL 1997). Die Beschränkung der Untersuchungen auf die Domäne I ist daher gerechtfertigt.

Ein Sequenz-Alignement über alle 582 Nukleotidpositionen der Domäne I und II der mitochondrialen Kontrollregion zeigt Abb. 3.1: Jeweils ein Haplotyp des Cluster I (siehe Abb. 3.2; mic-054 & mic-Cro, *L. michahellis*) und Cluster II (hht-001, *L. argentatus*) sowie die Sequenzen von

Abb. 3.1: Sequenzalignement von 582 Nukleotiden der Domäne I und II der mitochondrialen Kontrollregion. Möwen der Gruppe I (hht-001, *L. argentatus,* siehe Abb. 3.2) und Gruppe II (mic-056, *L. michahellis*; mic_Cro aus CROCHET et al. 2000), verglichen mit den Sequenzen für Alpenstrandläufer (*Calidris alpina*, WENINK et al. 1994) und Grylltеiste (*Cepphus grylle*, FRIESEN in BAKER & MARSHALL 1997). Nummerierung der Nukleotide und Sequenzboxen entsprechend BAKER & MARSHALL (1997): (-) Alignement-gaps; (*) invariable Positionen, **TAS** – Sequenzen (Fettdruck) und die konservative Sequenzboxen F, D und C (farbig).

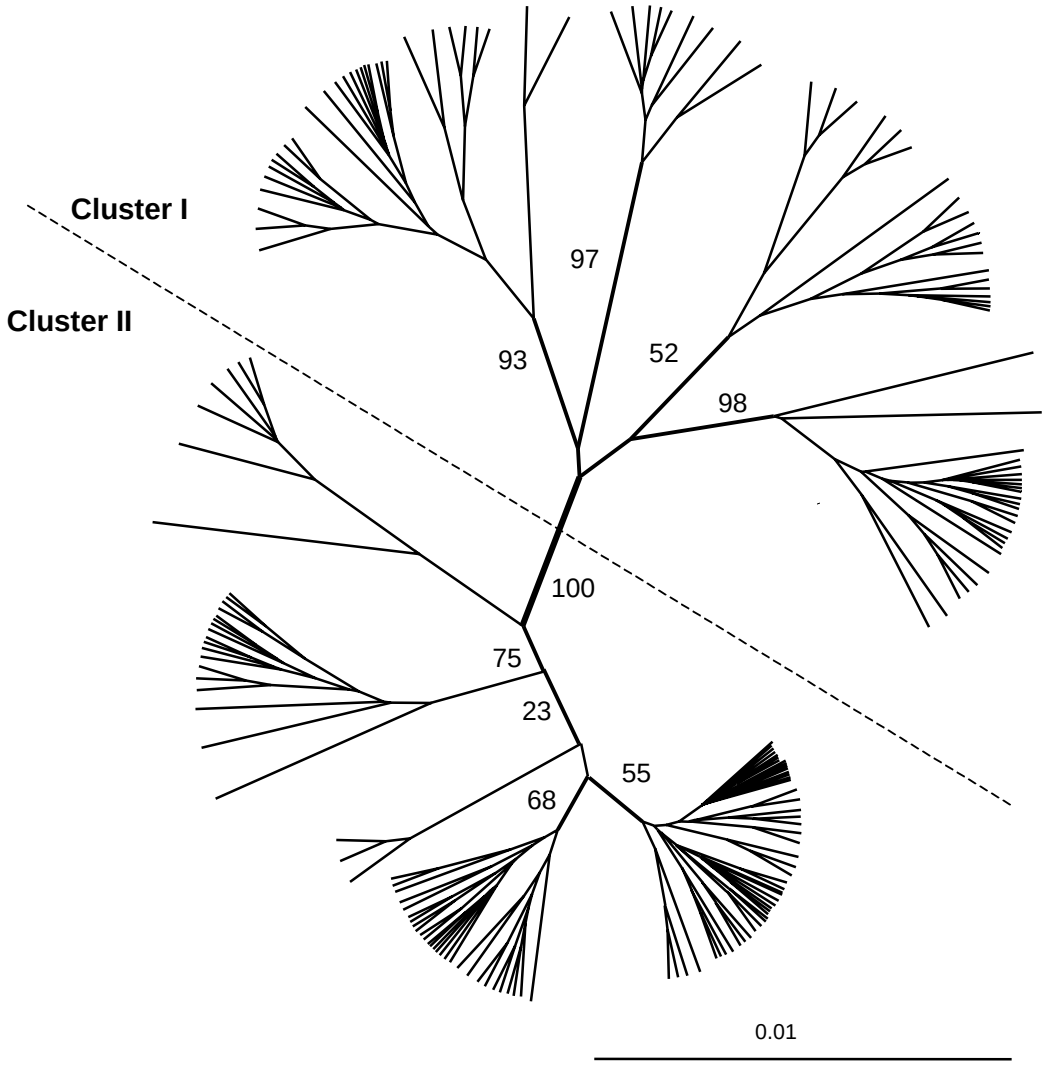


Abb. 3.2: UPGMA-Baum (Kimura 2-Parameter-Distanz) für 196 mtDNA Haplotypen (430 bp der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion, sequenziert in 1217 Individuen). Zahlen an den Ästen: Likelihood-Mapping Werte in % (10.000 unabhängige Quartette).

Alpenstrandläufer (WENINK et al. 1994) und Grylllteiste (FRIESEN in BAKER & MARSHALL 1997) sind enthalten. Die von CROCHET et al. (2000) sequenzierte Weißkopfmöwe (*L. cachinnans = L.michahellis;* mic-Cro) beginnt bei Position 367. In Domäne I wurden drei „Termination Associated Sequences" (TAS-Sequenzen), nämlich 5'-TACAT-3' (Pos. 40-44) und 5'-TATAT-3' (Pos. 50-54 und Pos. 212-216) lokalisiert. In Domäne II gab es drei konservative Sequenzblöcke, die F-Box (Pos. 333-361), D-Box (Pos. 439-463) und C-Box (Pos. 486-514). Die TAS-Sequenzen und die konservativen Sequenzblöcke sind „funktionale Elemente" der mitochondrialen Kontrollregion. Sie spielen bei der Replikation des Mitochondrien-Genoms eine wesentliche Rolle (BAKER & MARSHALL 1997), woraus sich ihre Sequenzkonstanz erklärt.

Die vier am Aufbau der DNA beteiligten Nukleotide unterschieden sich in ihren Häufigkeiten: Cytosin war mit 31% die häufigste Base, Thymin und Adenin waren mit jeweils 27% vertreten, während Guanin nur 15% ausmachte. Von den 430 sequenzierten Nukleotiden waren 370 konstant,

d.h. an 86% der Positionen gab es keine Unterschiede zwischen den 1217 Individuen. An 60 Positionen (14%) wurden Variation gefunden, 41 (9,5%) dieser Positionen waren phylogenetisch informativ (dies schließt *gap*-Positionen ein). Es gab 54 Transitionen, 30 davon zwischen Pyrimidinbasen [C–T] und 24 zwischen Purinbasen [A–G], sowie 6 Transversionen (4x A–C; 2x A–T). Deletionen wurden nur an Positionen beobachtet, an denen es auch Nukleotidunterschiede gab: Pos.121 und 236 hatten [A–G] Transitionen, Pos. 125 eine [A–C] Transversion.

Die 60 variablen Positionen definierten 196 mtDNA Haplotypen (Anhang D), die in der phylogenetischen Analyse zwei deutlich voneinander getrennte Cluster bildeten (Abb. 3.2): Cluster I wurde durch die Taxa *atlantis*, *michahellis*, *armenicus*, *hyperboreus*, *marinus* und "*omissus*" repräsentiert (n=497 Individuen), Cluster II enthielt alle anderen Taxa, nämlich *cachinnans, barabensis, mongolicus, schistisagus, vegae, glaucescens, smithsonianus, glaucoides, argentatus, argenteus, graellsii, intermedius, fuscus, heuglini, taimyrensis* (n=720 Individuen). Die Sequenzen der beiden Cluster unterschieden sich an mindestens sieben diagnostischen Positionen (Pos. 82, 99, 118, 125, 246, 296). Die basale Aufspaltung in zwei distinkte Gruppen wurde im Likelihood-Mapping zu 100% gestützt. Zu systematisch-taxonomischen Schlußfolgerungen dieser ausgeprägten Bifurkation siehe Kapitel 6 bis 8.

Abweichungen von dem beschriebenen Muster wurden bei 11 Individuen gefunden, die im konservativen Block „TAS-II" (Abb. 3.3) ein Substitutionsmuster zeigten, das sich nicht auf Mutation zurückführen lässt. Innerhalb eines 13 bp langen Sequenzabschnittes traten fünf konzertierte Substitutionen auf, die nachfolgend als „ATCCC-Block" bezeichnet werden. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist intraindividuelle Rekombination, die in dieser Arbeit erstmals für Vögel wahrscheinlich gemacht werden konnte (Kapitel 4). Für die weitere Analyse wurden diese fünf Positionen konservativ behandelt, d.h. der Konsensus-Sequenz des Haplotypen Nr. 001 angepaßt.

3.2.2. Parameterbestimmung und Ratenheterogenität

Die Substitutionsparameter wurden im PUZZLE-Programm anhand des "*cachinnans*"-Datensatzes (90 Haplotypen; Kapitel 6) errechnet. Der gesamte Sequenzdatensatz von 196 Haplotypen war für diese Analyse zu groß. Da aber im „*cachinnans*"-Datensatz alle phylogenetischen Linien repräsentiert waren, kann die Allgemeingültigkeit der daraus abgeleiteten Parameterwerte angenommen werden. Transitionen traten 17mal häufiger auf als Transversionen (*kappa*=17,1). Die Häufigkeitsverteilung der Substitutionen entsprach einer negativen Binominalfunktion mit Gamma-Verteilung: Während 14% der Positionen sehr häufig mutierten ("mutational hot spots"), war der Großteil der Positionen (86%) invariant. Der Parameter α für die Gamma-Verteilung hatte einen Wert von α=0,04.

Um die Heterogenität in den Mutationsraten darzustellen, wurde für jede der 430 Nukleotidposition die Nukleotid-Diversität (über alle 196 Haplotypen) berechnet (Abb. 3.3). Häufig mutierende Positionen weisen eine hohe Nukleotid-Diversität auf (z.B. Pos. 65-150). Demgegenüber heben sich deutlich konservative Sequenzblöcke ab, die „funktionale Elemente", nämlich TAS-Sequenzen (TAS-I und TAS-II) oder die F- bzw. D-Box, enthalten.

Parallele oder konvergente Mutationen an homologen Nukleotidpositionen in verschiedenen phylogenetischen Linien führen zu „Homoplasien" (Übereinstimmungen in Sequenzabfolgen, die nicht

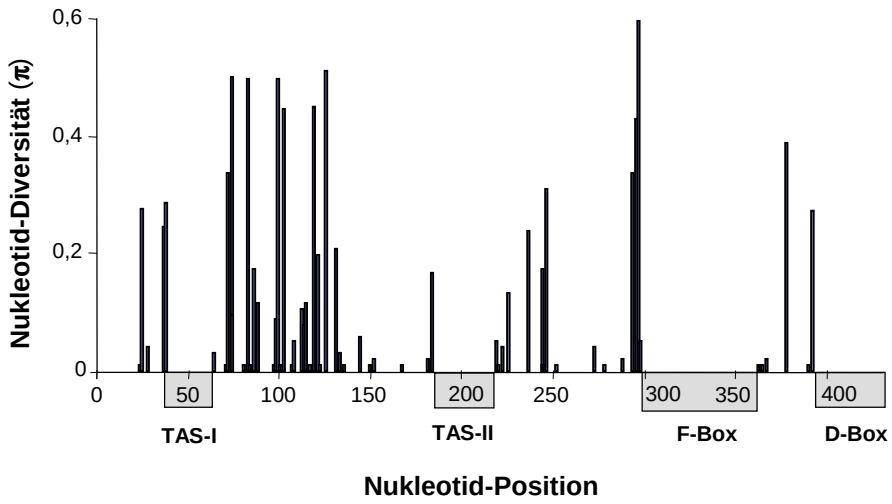


Abb. 3.3: Nukleotid-Diversität (π) für 430 Nukleotid-Positionen der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion in Möwen (196 Haplotypen). Die Lage der konservativen Sequenzblöcke, die funktionale Elemente enthalten, ist unterhalb der x-Achse eingezeichnet: TAS – „Termination Associated Sequences", F-Box und D-Box (vgl. BAKER & MARSHALL 1997).

auf phylogenetischer Verwandtschaft beruhen). Das „infinite site model" war daher für den vorliegenden Datensatz nicht gültig und die Programme GENETREE (GRIFFITH & TAVARÉ 1995) und MIGRATE (BEERLI & FELSENSTEIN 1999) konnten nicht angewendet werden.

3.2.3. Test auf „molekulare Uhr"

Im "Test auf molekulare Uhr" wurde überprüft, ob eine lineare Beziehung zwischen genetischer und zeitlicher Distanz besteht. Im „Likelihood Ratio Test" wurde das einfachere Modell (Annahme der molekularen Uhr) akzeptiert: Der log L Wert (-1490) unterschied sich nicht signifikant gegenüber dem komplexeren Modell (log L= -1443), bei dem keine molekulare Uhr angenommen wurde,.

3.2.4. Verifikation des mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen

Für die vorliegenden Sequenzen musste der Nachweis erbracht werden, dass sie mitochondrialen Ursprungs sind, d.h. dass die beobachtete Variation innerhalb desselben DNA-Abschnittes des Mitochondrien-Genoms evolvierte und nicht auf Co-Amplifizierung mitochondrialer Kernkopien zurückzuführen ist. Alle Sequenzen waren zweifelsfrei zu lesen, was auf homogene PCR-Produkte (Sequenzier-Templates) schließen ließ. Nur an einzelnen Positionen waren entweder zwei (selten drei) parallele Banden zu sehen oder es kam zu Kompressionen, bei denen mehrere Banden "gestaucht" waren (Pos. 62, 174, 217, 294, 346, 368, 380-382 und 390). Hierbei dürfte es sich um primerspezifische Probleme gehandelt haben, da Individuen aller Taxa davon betroffen waren. Im Zweifelsfall wurden diese Positionen konservativ behandelt, d.h. der Konsensus-Sequenz des Haplotypen Nr. 001 angepaßt.

Zur Verifizierung des einheitlichen, mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen wurden zum einen unterschiedliche DNA-Isolate verglichen, zum anderen verschiedene PCR-Strategien angewandt: 1) Aus sieben Kolonien standen sowohl Blutproben als auch Muskelgewebe zur Verfügung: Galizien (*atlantis*), Camargue (*michahellis*), Tuz (*armenicus*), Kasachstan (*barabensis*), Mongolei (*mongolicus*), Taimyr (*taimyrensis*), Weißes Meer („*omissus*“). Die Gesamt-DNA wurde jeweils aus beiden Gewebetypen mit dem Standardverfahren isoliert. 2) Von 14 Proben lag sowohl Gesamt-DNA (Aussalzmethode) als auch im Caesium-Chlorid-Gradienten angereicherte mtDNA vor. Aus beiden Fraktionen wurde die Zielsequenz vergleichend amplifiziert und sequenziert (Anhang B). 3) Zusätzlich zur Standard-PCR (Primer UUL-DDL) wurden 23 Individuen mit den Primerkombinationen D-DDL und 21 Individuen mit Kombination H-DDL amplifiziert (Anhang B).

Im multiplen Alignement der individuellen Sequenzen gab es keine Anhaltspunkte, dass es zur Co-Amplifizierung mitochondrialer Kernkopien gekommen war. Individuen derselben Kolonie, von denen entweder Blut- oder Gewebeproben zur Verfügung standen, zeigten in ihrem mtDNA Muster keine Abweichungen von der populationstypischen Variation und gehörten im Stammbaum demselben phylogenetischen Cluster an. Der Vergleich der mit unterschiedlichen Methoden (CsCl-Gradient, Gesamt-DNA, verschiedene Primerkombinationen) gewonnenen Sequenzen derselben Individuen ergab in keinem Fall Unterschiede. In der Einzelfallprüfung wurden alle Sequenzen eindeutig bestätigt.

3.3. Diskussion

3.3.1. Funktionale Anforderungen an die Kontrollregion

Der Kontrollregion kommt eine wesentliche Funktion bei der Replikation des Mitochondrien-Genoms zu (BROWN 1983, GRAY 1989). Nahe des “Conserved Sequence Block 1“ (CSB-1), innerhalb der Domäne III, beginnt die Replikation: Ein etwa 700 bp langes DNA-Stück bindet an den L-Strang und bildet eine „Dreistrang DNA-Schleife“ („Threestrand **D**isplacement**-Loop**“), die die komplizierte, symmetrische Replikation des ringförmigen Mitochondrien-Genoms initiiert (KNIPPERS 1997). Es wird vermutet, dass sich während der Replikation Sekundärstrukturen in der Kontrollregion ausbilden, vergleichbar den Kleeblatt- oder Haarnadelschleifen der tRNA’s, die thermodynamisch stabilisierend wirken (CLAYTON 1982, QUINN & WILSON 1993). Voraussetzung für Schleifenbildungen sind zwei komplementäre Sequenzabschnitte, die die „Äste“ der Haarnadeln bilden. Den konservativen Sequenzboxen könnte bei der Ausbildung dieser Sekundärstrukturen eine wesentliche Funktion zukommen (QUINN & WILSON 1993, BAKER & MARSHALL 1997). Die Replikation wird an den **“**Termination Associated Sequences” (TAS) der Domäne I beendet.

In dem vorliegenden 430 bp langen Sequenzabschnitt der Domäne I wurden bei allen 1217 Individuen vier konservative Blöcke identifiziert (Abb. 3.3; einzige Ausnahme: 11 Individuen mit ATCCC-Block in TAS-II). Dies ist ein klarer Hinweis auf stabilisierende Selektion. Offenbar enthalten diese Sequenzabschnitte für die Replikation des Mitochondrien-Genoms notwendige „funktionale Elemente“. Inwiefern die F- bzw. D-Box an der Ausbildung von Sekundärstrukturen in der Kontrollregion beteiligt sind, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht.

Tabelle 3.1: Untersuchungen der Populationsstrukturen anhand von Sequenzen der mitochondrialen Kontrollregion in verschiedenen Organismengruppen. Aufgeführt sind die untersuchten Abschnitte der Kontrollregion (Region), Anzahl untersuchter Individuen ($n_{Ind.}$) und sequenzierter Nukleotidpositionen ($n_{Pos.}$) sowie die absolute (S) und relative (%) Anzahl variabler Positionen.

	Taxa	Region	$n_{Ind.}$	$n_{Pos.}$	S	%	Quelle
Menschen	Pazifische Populationen	Domäne I	113	339	91	26,8	REDD & STONEKING 1999
	Pazifische Populationen	Domäne I	452	360	115	31,9	HAGELBERG et al. 1999
	Afrikanische Populationen	Domäne I	241	341	126	37,0	WATSON et al. 1996
	alle Populationen	Domäne I	**4075**	**383**	**176**	**46,0**	MEYER et al. 1999
Säugetiere	Sika-Hirsch (Hokaido)	Domäne I + II	141	602	4	0,7	NAGATA et al. 1998
	Gemeiner Abendsegler	Domäne II	364	339	63	18,6	PETIT et al. 1999
	Buckelwale	Domäne I	91	317	15	4,7	BAKER et al. 1998
	Pottwale	Domäne I, II, III	37	954	12	1,3	LYRHOLM et al. 1996
	Finnwale	Domäne I	402	288	30	10,4	BÉRUBÉ et al. 1998
	Afrikanischer Büffel	Domäne I	196	348	124	35,6	SIMONSEN et al. 1998
	Pferdeantilope	Domäne I + II	15	659	131	19,9	MATTHEE & ROBINSON 1999
	Schwarzbär	Domäne I	118	314	24	7,6	WOODING & WARD 1997
	Känguru	Domäne I + II	34	557	74	13,3	CLEGG et al. 1998
	Seekühe	Domäne I	86	410	51	12,4	GARCIA-RODRIGUEZ et al. 1998
	Dickhornschaf	Domäne I + II	124	515	20	3,9	BOYCE et al. 1999
Vögel	Großmöwen (Holarktis)	Domäne I	**1217**	**430**	**60**	**14,0**	diese Arbeit
	"Süd-paläarktische Möwen"	Domäne I	**580**	**430**	**44**	**10,2**	diese Arbeit
	Alpenstrandläufer (Holarktis)	Domäne I + II	155	608	43	7,1	WENINK et al. 1996
	Drosslinge (Australien)	Domäne I	48	400	21	5,3	EDWARDS 1993
	Gryllteisten	Domäne I + II	128	504	38	7,5	KIDD & FRIESEN 1998
	Fleckenkauz	Domäne I, II, III	73	1105	61	5,5	BARROWCLOUGH et al. 1999
	Hühnervögel (20 Gattungen !)	Domäne I	22	350	115	32,9	KIMBALL et al. 1999
Fische	Schwarzes Schlammfisch	Domäne I, II, III	70	913	236	25,8	GLEESON et al. 1999
	Coregonus	Domäne I, II, III	18	1190	76	6,4	REED et al. 1998
Reptilien	Grüne Meeres-Schildkröte	Domäne I + II	15	650	41	6,3	NORMAN et al. 1994

3.3.2. Vergleichende Sequenzanalyse

Die Kontrollregion ist durch ein komplexes Substitutionsmuster gekennzeichnet (KOCHER & WILSON 1991, WAKELEY 1993, HASEGAWA et al. 1993, PÄÄBO 1996). Ein charakteristisches Merkmal ist die ausgeprägte Ratenheterogenität (BERTORELLE & SLATKIN 1995, YANG 1996, JAZIN et al. 1998, EXCOFFIER & YANG 1999, SULLIVAN et al. 1999, HUELSENBECK & NIELSEN 1999). Die Möwensequenzen unterschieden sich an 14% ihrer Nukleotidpositionen; 86% aller Positionen variierten nicht. Eine deutliche Asymmetrie war zwischen Transitionen und Transversionen sichtbar, wobei Transitionen 17 mal häufiger waren.

Vergleicht man die Anzahl variabler Positionen der Domäne I zwischen Populationen oder Taxa verschiedener Organismengruppen, fallen deutliche Unterschiede auf (Tab. 3.1). Besonders hoch sind die Werte für Säugetiere: In menschlichen Populationen wurden bis zu 46% variable Positionen nachgewiesen (MEYER et al. 1999), vergleichbar hohe Raten sind bei Afrikanischen Büffeln gefunden worden (SIMONSEN et al. 1998). Bei Vögeln hingegen sind die Werte generell wesentlich geringer, mit Ausnahme der Studie von KIMBALL et al. (1999), wo zwischen 20 Gattungen verglichen wurde. Die 21 Möwentaxa der gesamten Holarktis variierten an 14% aller Nukleotid-Positionen. Das entspricht nur knapp einem Drittel der Variation innerhalb menschlicher Populationen (46%).

Die vergleichsweise geringe genetische Divergenz bei Vögeln (auf allen taxonomischen Niveaus) versucht die “Avian Constraint Hypothese” (PRAGER et al. 1974, AVISE & AQUADRO 1982) zu erklären. Danach schafft die hohe Körpertemperatur von Vögeln (39°-42°C, BEZZEL & PRINZINGER 1990) ein extremes physiologisches Milieu, in dem weniger alternative (hitzestabile) Proteinstrukturen Bestand haben, d.h. den Anforderungen an die entsprechenden enzymatischen Funktionen gerecht werden, als es bei niedrigerer Körpertemperatur und damit weniger extremen thermischen Verhältnissen der Fall ist (AVISE 1983, MINDELL et al. 1996). Dieser Selektionsdruck verringert das „evolutiönäre Fenster“ und bewirkt eine Reduktion der sich auf dem Populationsniveau manifestierenden Substitutionsrate (STANLEY & HARRISON 1999).

Die spezifischen Unterschiede von Mutations- und Substitutionsraten (d.h. dem Auftreten von Mutationen und deren Fixierung) müssen bei der Analyse von Sequenzdaten berücksichtigt werden. Vergleiche zwischen den Evolutions- und Speziationsgeschwindigkeiten in verschiedenen Organismengruppen sind mit großer Vorsicht zu interpretieren. Etwa der Schluss, Großmöwen gehören alle einer „Art“ an, da sie insgesamt nur 1/3 der Variabilität von *Homo sapiens* aufweisen, wäre sehr fragwürdig. Es gibt eben keinen „kritischen Wert“ (% Sequenzunterschied), der zwangsläufig biologische Arten (sensu MAYR) voneinander trennt. Wichtiger als der prozentuale Sequenzunterschied ist die Aufdeckung von Genflußbarrieren in den Kontaktzonen zwischen den Taxa, die auf reproduktive Isolation hinweisen. Erst dann ist eine Aufspaltung in verschiedene Arten bzw. Vereinigung zu ein- und derselben Art gerechtfertigt.

3.3.3. Die Molekulare Uhr

In der PUZZLE-Analyse wurde die Gültigkeit der molekularen Uhr für Großmöwen bestätigt. Das „clocklike behaviour“ der Sequenzen rechtfertigte die Anwendung der Baumalgorithmen UPGMA und KITSCH. Die Datierungen zurückliegender Differenzierungsereignisse und die Abschätzung des relativen Alters eines „jüngsten gemeinsamen Vorfahren“ (MRCA) anhand mitochondrialer Daten basierten auf den Annahmen, dass 1) Mutationen mit konstanter Rate akkumuliert werden (ZUCKERKANDL & PAULING 1965); 2) es keine Rekombination gibt (MORITZ et al. 1987, GRAY 1989) und 3) alle Mutationen neutral sind (KIMURA 1991). Sicher trifft keine dieser Annahmen uneingeschränkt zu, es gibt also keine „universale“ molekulare Uhr, doch lässt sich diese Konzept umso verlässlicher anwenden, je enger die untersuchten Evolutionslinien miteinander verwandt sind, je ähnlicher sie also in ihren Evolutionsgeschwindigkeiten sind (z.B. AVISE 1994, HILLIS et al. 1996, ADACHI & HASEGAWA 1996, ZHANG & RYDER 1995, Yang 1996). Die extreme Ratenheterogenität der mitochondrialen Kontrollregion erlaubt keine allgemeingültigen Aussagen über die Mutationsraten (KOCHER & WILSON 1991, WAKELEY 1993, MEYER et al. 1999, EXCOFFIER & YANG 1999). Untersuchungen innerhalb menschlicher Erblinien ergaben, dass die Divergenz zwischen den Sequenzen der Kontrollregion bis zu 250% pro einer Millionen Jahre betragen (HOWELL et al. 1996, PARSONS et al. 1997). Für Fledermäuse (PETIT et al. 1999) und Vögel (QUINN 1992, BAKER & MARSHALL 1997) wurden 20% My^{-1} angenommen, jedoch sind diese Angaben mit großen Unsicherheiten behaftet (AVISE et al. 1998).

Für die Datierung der Speziationsereignisse bei Möwen habe ich auf kodierende Sequenzen zurückgegriffen (HEIDRICH 1998), für die im Gegensatz zu Sequenzen der Kontrollregion relativ verlässliche Eichungen vorliegen. Bei Vögeln wird eine Sequenzdivergenz von 2% My^{-1} angenommen (KLICKA & ZINK 1997). Anhand dieser Rate wurden Differenzierungen zwischen nah verwandten Taxa datiert, z.B. *Anser* vs. *Branta* (SHIELDS & WILSON 1987), *Hippolais* vs. *Acrocephala* (HELBIG & SEIBOLD 1999), innerhalb der nordamerikanischen Vireos (CICERO & JOHNSON 1998) oder atlantischen Buchfinken (MARSHALL & BAKER 1999). HEIDRICH (1998) sequenzierte 1047 bp des Cytochrom *b*-Gens für ausgewählte Großmöwentaxa. Die maximale Divergenz zwischen den zwei phylogenetischen Hauptgruppen (Abb. 3.2) betrug 0,8%. *Michahellis*, Vertreter des Cluster I, und *graellsii* (Cluster II) unterscheiden sich an 8 von 1047 Cytochrom *b*-Nukleotidpositionen. Daraus ergibt sich, dass der basale Split zwischen den zwei Gruppen etwa 400.000 Jahre alt ist.

3.3.4. Verifizierung der mitochondrialen Herkunft der DNA-Sequenzen

Die mitochondriale Herkunft der vorliegenden Sequenzen wurde in drei Schritten überprüft:
1) Isolierung der Gesamt-DNA aus Blut- und Muskelgewebe; 2) Anreicherung mitochondrialer DNA im Caesium-Chlorid Gradienten und 3) PCR- Amplifikation mit mehreren Primerkombinationen.

Die verschiedenen Isolations- und Amplifikationsstrategien resultierten in jeweils eindeutigen, individuellen Sequenzen. Weder in den Original- noch den Vergleichssequenzen gab es Hinweise auf Heteroplasmie (Ausnahme: [het-108] im ATCCC-Block; Kapitel 4). Wenngleich dies keine 100% Garantie für die mitochondriale Herkunft der Sequenzen ist, erscheint bei der Vielzahl der vorliegenden Beweispunkte eine Co-Amplifizierung mitochondrialer Kernkopien ausgeschlossen.

4. Ergebnisse und Diskussion

Teil II: Erstnachweis von Rekombination in mitochondrialer DNA bei Vögeln

4.1. Zielstellung

Mitochondriale DNA-Sequenzen werden inzwischen in großem Umfang in der Populationsgenetik und bei der Rekonstruktion molekularer Phylogenien genutzt (AVISE 1994). Dabei geht man allgemein von ausschließlich klonaler Vererbung über die mütterlichen Linien aus, d.h. im Gegensatz zu autosomaler DNA findet keine Rekombination mit dem väterlichen Erbgut statt (KNIPPERS 1997). Nukleotidunterschiede in der mtDNA werden allein auf Punktmutationen zurückgeführt, die sich mit relativ konstanter Rate ansammeln (ZUCKERKANDL & PAULING 1965). Mitochondriale Marker sind daher sowohl für die Phylogenieforschung als auch für die Datierung molekularer Speziationsereignisse („molekular Uhr“) ein attraktives und häufig verwendetes Werkzeug (z.B. CANN et al. 1987, VIGILANT et al. 1991, HASEGAWA et al. 1993).

In jüngster Zeit wurden vermehrt Sequenzvariationsmuster in der mitochondrialen Kontrollregion entdeckt, die sich durch Punktmutationen und klonale Vererbung allein nicht plausibel erklären ließen (HAGELBERG et al. 1999, EYRE-WALKER et al. 1999a, AWADALLA et al. 1999). Als Erklärung wurde auch Rekombination in Mitochondrien-DNA als Möglichkeit in Betracht gezogen, was eine lebhafte Debatte hervorrief (MACAULAY et al. 1999, EYRE-WALKER 1999b). Sollte sich das regelmäßige Vorkommen von Rekombination mitochondrialer DNA bestätigen, hätte dies weitreichende Auswirkungen auf die Anwendung von mtDNA-Markern in der Populationsgenetik und Phylogenieforschung (HOWELL 1997, WALLIS 1999).

Mein Datensatz von Großmöwen ist in diesem Zusammenhang von besonderem Interesse, weil er neben den humangenetischen Populationsstudien die bisher größte Sammlung von D-Loop-Sequenzen von Vertebraten darstellt. Dabei fanden sich deutliche Hinweise für das Vorkommen von Rekombination, die bisher bei mitochondrialer DNA von Vögeln nicht diskutiert wurden. Im folgenden wird zunächst das Auftreten des mutmaßlich durch Rekombination entstandenen, sogenannten „ATCCC-Motivs“ in der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion von Möwen beschrieben und im Anschluss unter folgenden Fragestellungen erörtert:

1. Welche molekularen Mechanismen ermöglichen Rekombination mitochondrialer DNA?
2. Wie beeinflusst Rekombination die Rekonstruktion mitochondrialer Haplotyp-Phylogenien?
3. Welche Tragweite haben diese Erkenntnisse für die Populationsgenetik und Phylogieforschung allgemein?

4.2. Ergebnisse

4.2.1. Der ATCCC-Block

Von den insgesamt 1217 sequenzierten Möwen-Individuen zeigten 11 (0,9%) einen 13 Basenpaare langen Sequenzblock (Pos. 190-202), der gegenüber der Konsensus-Sequenz fünf Nukleotid-unterschiede aufwies. Diese setzten sich aus einem TCC-Triplett zusammen (Pos. 198-200), bestehend aus zwei Transitionen und einer Transversion, sowie jeweils einer Transition an den Positionen 190 und 202 (Abb. 4.3 A). Der Sequenzblock mit diesen fünf Nukleotidunterschieden wird im folgenden ATCCC-Motiv genannt. Er befindet sich innerhalb des ansonsten völlig invarianten Sequenzblocks TAS-II (Abb. 4.1), der unter den restlichen 1206 Individuen vollkommen identisch war (vgl. Abb. 3.3). Ein Vogel (het-108) war an den betreffenden Stellen heteroplasmisch: die fünf Positionen, die das ATCCC-Motiv ausmachen, wiesen Doppelbanden auf, während alle anderen Nukleotide homoplasmisch waren.

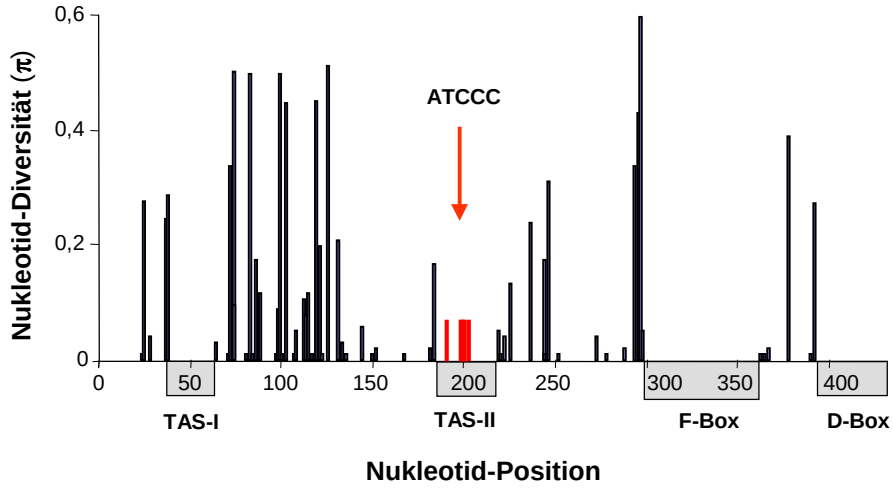


Abb. 4.1: Nukleotid-Diversität (π) für 430 Nukleotid-Positionen der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion in Möwen (vgl. Abb. 3.3). Rote Balken (Pos. 190-202): zusätzliche Nukleotid-Diversität aufgrund des ATCCC-Blocks, möglicher Weise durch Rekombination verursacht.

Die 11 Vögel mit ATCCC-Motiv waren völlig unterschiedlicher geographischer Herkunft und gehörten neun verschiedenen Taxa an (Tab. 4.1). Ihre Sequenzen repräsentierten acht Haplotypen, die abgesehen von den fünf ATCCC-Positionen acht anderen Haplotypen der Stichprobe glichen (vgl. Abb. 4.3 A). Die fünf Nukleotidunterschiede machten 1,2% Sequenzunterschied zur „Stammsequenz“. Dies entspricht nahezu der Hälfte der Sequenzdivergenz, die im Mittel aller paarweisen Vergleiche zwischen den 196 (nicht rekombinierten) Haplotypen meiner Stichprobe auftrat (Modalwert: 2,3%; maximal 19 Unterschiede = 4,4% Sequenzdivergenz).

Tabelle 4.1: Liste der 11 Individuen, die durch einen ATCCC-Block charakterisiert sind: Taxonomischer Status, geographische Herkunft, DNA-Quelle, Referenz- und Haplotyp-Nummer sowie ihre Stellung im phylogenetischen Baum (Cluster I oder II, siehe Abb. 4.3 B).

Taxon	Geographische Herkunft	DNA	Ref. Nummer	Haplotyp	Gruppe
smithsonianus	Kanada, New Brunswick	Gewebe	argNBW_2016	Rek-001	II
argenteus	Norwegen, Vest-Agder	Blut	argSNO_1437	Rek-181	I
"*omissus*"	Finnland, Uusimaa	Blut	argFIN_1347	Het-108*	II
"*omissus*"	Estland, Tallin	Blut	argEST_1208	Rek-172	I
vegae	Russland, Tschukotka	Gewebe	vegTSC_2290	Rek-046	II
graellsii	Großbritannien, Lancashire	Gewebe	graUKD_1306	Rek-011	II
intermedius	Deutschland, Nordsee	Gewebe	intAMR_1247	Rek-011	II
intermedius	Norwegen, Hordaland	Blut	intNOR_2230	Rek-011	II
atlantis	Spanien, Galizien	Blut	atlGAL_1370	Rek-071	I
hyperboreus	Kananda, Baffin Insel	Gewebe	hypNWT_1848	Rek-001	II
marinus	Frankreich, Finistére	Gewebe	marFRC_2159	Rek-149	I

* heteroplasmisch

Da die fünf Nukleotidunterschiede des ATCCC-Motivs immer nur gemeinsam auftraten, war klar, dass sie nicht unabhängig voneinander, sondern nur *en bloc* vererbt wurden. Dies ließ sich formal durch die Berechnung des „Linkage Disequilibrium" zwischen allen Nukleotidpositionen anhand der Formel von HILL & ROBERTSON (1968) bestätigen (im Programm DnaSP): Wenn alle Nukleotidaustausche voneinander unabhängig sind, sind keine Werte von $r^2 = 1$ zu erwarten. Tatsächlich ergab sich aber für 10 Nukleotidpaarungen der Wert 1, d.h. 100% Abhängigkeit von fünf Nukleotidaustauschen untereinander (Abb. 4.2).

Mehrfache Amplifizierungen mit drei verschiedenen Primerkombinationen lieferten für jedes Individuum identische Sequenzen (Anhang B). Eine Co-Amplifizierung mitochondrialer Kernkopien ist aus den bereits diskutierten Gründen auszuschließen (Kapitel 3).

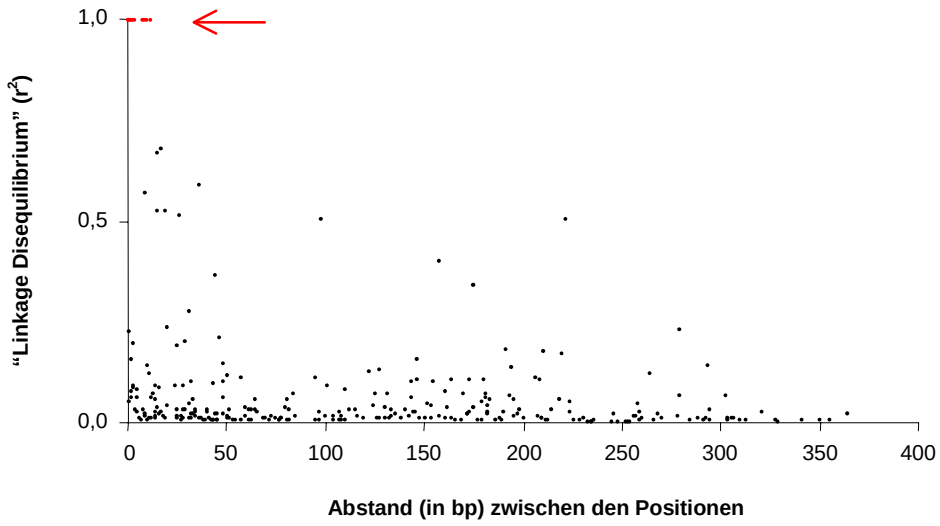


Abb. 4.2: "Unabhängigkeitsindex" (=Linkage Disequilibrium) zwischen den variablen Positionen entlang der 430 sequenzierten Basenpaare der mitochondrialen Kontrollregion (Programm DnaSP). Rote Punkte: Komplettes Linkage (r^2=1), d.h. 100% Abhängigkeit zwischen den fünf Nukleotid-Positionen des ATCCC-Motivs.

4.2.2. Haplotyp-Phylogenie

Um die phylogenetische Stellung der 11 „rekombinierten“ Haplotypen zu untersuchen, wurde ein UPGMA-Baum aller 196 „nicht rekombinierten“ Haplotypen der Gesamtstichprobe erstellt (Abb. 4.3 B). Diejenigen acht Haplotypen, die mit und ohne das ATCCC-Motiv gefunden wurden, sind im Stammbaum farbig markiert. Sie gehörten völlig unterschiedlichen, mitochondrialen Linien an, die untereinander nicht näher verwandt sind. Daher müssen diese Haplotypen mindestens acht Mal unabhängig voneinander entstanden sein. Sie waren jedoch auch in den Populationen, in denen sie gefunden wurden, sehr selten (nicht mehr als ein Individuum pro Population).

Von besonderem Interesse war die Frage, inwieweit der ATCCC-Block die Rekonstruktion der Haplotyp-Phylogenie beeinflusst. Um dies zu untersuchen, wählte ich die acht Haplotypen aus, die mit und ohne ATCCC-Motiv vorkamen, sowie weitere 15 häufige Haplotypen, die sämtliche phylogenetische Cluster im Stammbaum repräsentierten (Abb. 4.3 A). Zwei NEIGHBOR-JOINING Bäume wurden erstellt (Abb. 4.4), beide mit den 15 häufigsten Haplotypen, der eine (A) mit den acht „rekombinierten“ ATCCC-Haplotypen, und der andere (B) mit den acht entsprechenden „Stamm-Haplotypen“. Die Topologien der Bäume unterscheiden sich deutlich voneinander: Individuen mit dem ATCCC-Motiv erscheinen untereinander näher verwandt, als sie es in Wirklichkeit sind, und befinden sich an längeren Ästen als die korrespondierenden „Stamm-Haplotypen“. Die mutmaßliche Rekombination hat also erheblichen Einfluss auf die Topologie des Haplotypstammbaums und führt damit zu falschen Schlussfolgerungen über die Verwandtschaft der mitochondrialen Linien.

4.2.3. Herkunft des rekombinierten Sequenzblocks

In einem ersten Versuch, die Herkunft des 13-bp langen Sequenzabschnittes mit dem ATCCC-Motiv zu klären, wurde nach einer homologen Sequenz gesucht, die als Donor-Sequenz beim Rekombinationsvorgang dienen könnte. Am wahrscheinlichsten erschien es, dass eine solche Donor-Sequenz irgendwo innerhalb des Mitochondriengenoms vorhanden ist, es sich also um intramolekulare Rekombination handelte. Entgegen dieser Annahme fand sich jedoch weder in der kompletten mitochondrialen Kontrollregion von *L. michahellis* (1097 bp; Sequenzen der Domäne II & III freundlicherweise von P.-A. CROCHET zur Verfügung gestellt) noch unter sämtlichen in der EMBL-Datenbank enthaltenen Nukleotidsequenzen ein Abschnitt, der mit dem 13 bp-Block, der das ATCCC-Motiv enthielt, auch nur annähernd übereinstimmte. Es gibt also bisher keinen Hinweis, woher der ausgetauschte Sequenzblock stammen könnte.

Die Lokalisation der Donor-Sequenz muss einem weiterführenden Projekt vorbehalten bleiben. Als erster Schritt dazu wurden zwei ATCCC-spezifische Primer synthetisiert, jeweils einer für den H- und den L-Strang. In Kombination mit Primern des jeweils komplementären Strangs ergaben erste PCR-Versuche bei fast allen getesteten Möwen ein klares Amplifikationsprodukt. Demnach muß eine dem ATCCC-Motiv entsprechende Sequenz im Genom der Möwen vorhanden sein. Bisher ist jedoch unklar, ob sie sich im Mitochondrien- oder im Kerngenom befindet.

A)

	111111111 23377889901111223 8 46713258922348151 3	11122 99900 08902	2222222233 1234499979 8563635672	N	Acc. No.
hht 001	TAGCGTTCTATCCCGCCA	GCTAT	GCGTCCGAGA	229	AJ277127
pac 003	....	.....	......A...	19	AJ276938
pac 004	....	.....	......A.A.	15	AJ276939
pac 005	....	.....	......A.AG	15	AJ276940
gra 011	................T.	.....	....	111	AJ277128
mon 021	.........G........	.....	......A.AG	34	AJ277129
mic 034	....AC..C....T.-..	.....	....T.AT..	22	AJ277130
mic 038	....AC..C...TT.-..	.....	....T.AT..	39	AJ277131
atl 043	....AC..C.C..T.-..	.....	....T..T..	11	AJ277132
pac 046	...T..............	.....	......A...	6	AJ276941
mic 054	..A.AC..C....T.-..	.....	....T.AT..	58	AJ277133
cac 062	.G....C..........C	.....	..T-......	24	AJ276942
cac 061	.G..............C	.....	..T-......	13	AJ277134
atl 071	.GA.AC..C......-..	.....	....T.AT..	9	AJ276943
arm 081	....AC.TC..T.T.-..	.....	.....T.TAG	37	AJ276944
arm 082	....AC.TCG.T.T.-..	.....	.....T.TAG	34	AJ276945
hht 108	....	.....	....T.....	43	AJ276946
hht 114	.GA...............	.....	A.........	26	AJ276947
mar 149	....A...CG....A-..	.....	.T......A.	8	AJ276948
mar 153	....AC..CG....A...	.....	.T.....G..	13	AJ276949
omi 172	A..TAC..CG...T.-..	.....	.....T.G..	87	AJ276950
omi 177	A..TAC..CG...T.A..	.....	.....T.G..	13	AJ276951
omi 181	A..TAC..CG...TA-..	.....	.....T.G..	1	AJ276952
rek 001	....	**ATCCC**	....	2	AJ276953
rek 011	................T.	**ATCCC**	....	3	AJ277135
rek 046	...T..............	**ATCCC**	......A...	1	AJ276954
rek 071	.GA.AC..C......-..	**ATCCC**	....T.AT..	1	AJ276955
het 108	....	**RYYMY**	....T.....	1	AJ276956
rek 149	....A...CG....A-..	**ATCCC**	.T......A.	1	AJ276957
rek 172	A..TAC..CG...T.-..	**ATCCC**	.....T.G..	1	AJ276958
rek 181	A..TAC..CG...TA-..	**ATCCC**	.....T.G..	1	AJ276959

B)

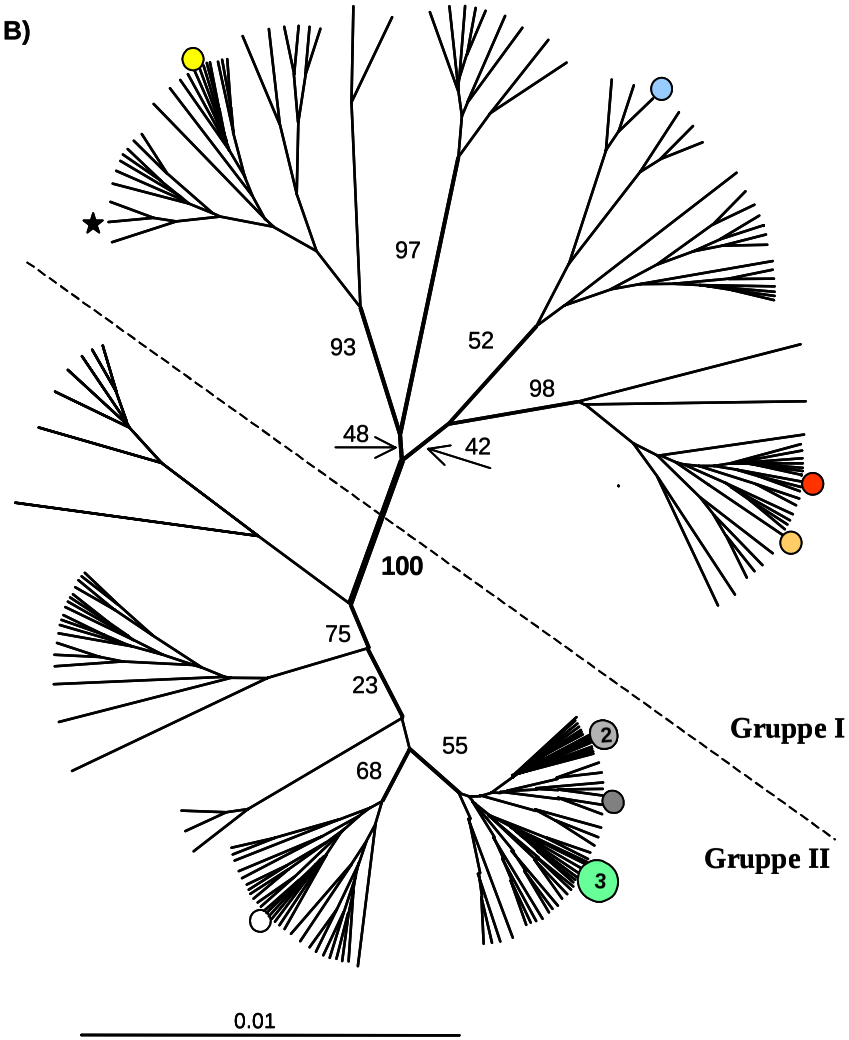


Abb. 4.3: Sequenz-Matrix **(A)** mit den häufigsten Haplotypen der Stichprobe (nur variable Positionen) sowie den acht Haplotypen mit ATCCC-Motiv (Pos. 190-202). Die Farben korrespondieren zwischen den "Stamm-Haplotypen" und den entsprechenden ATCCC-Haplotypen. Zahlen = Position im Sequenzalignemt (Anhang C); N = Häufigkeit des Haplotypen in der Gesamtstichprobe (n=1217 Individuen); Acc.No. = EMBL accession number. **(B)** UPGMA-Stammbaum der 196 mtDNA Haplotypen (K 2-P Distanz) mit Maximum-Likelihood Werten (in %) an den Ästen. Farbige Punkte illustrieren die phylogenetische Position der acht Haplotypen, die mit und ohne ATCCC-Motiv gefunden wurden (vgl. Sequenzmatix in (A); Häufigkeiten > 1 angegeben). * = Haplotyp von Kreta mit ATCCC-Motiv und 20 bp Insertion (bei der Baumberechnung nicht berücksichtigt).

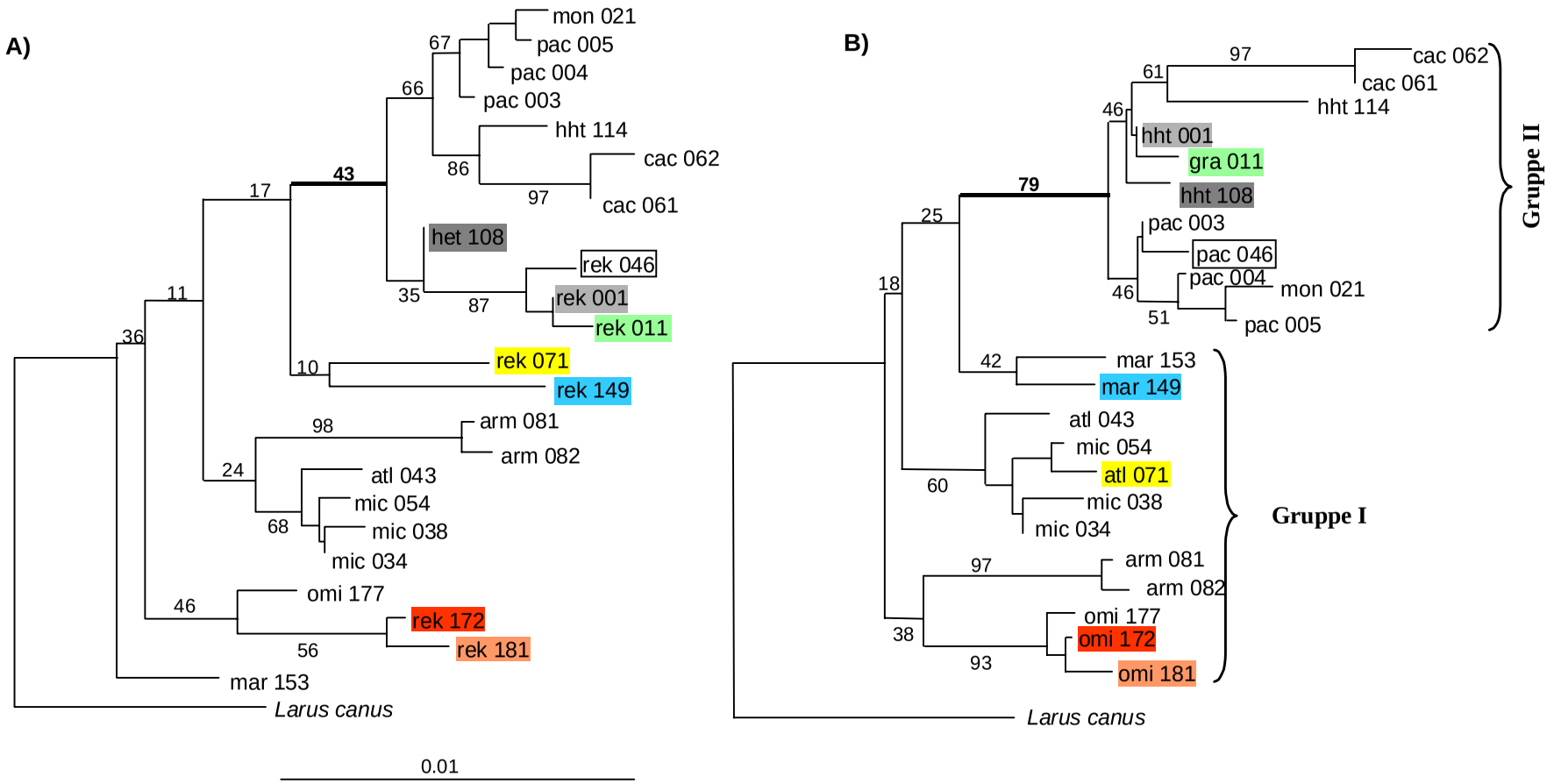


Abb. 4.4: NEIGHBOUR-JOINING Phylogenie ausgewählter Haplotypen von Großmöwen, die den Einfluss von Rekombination illustrieren (Zahlen an den Ästen: Maximum-Likelihood Werte (in %): Die acht Haplotypen, die das ATCCC-Motiv tragen (farb-kodiert), wurden (**A**) berücksichtigt und (**B**) durch die korrespondierenden, nicht-rekombinierten "Stamm-Haplotypen" ersetzt. Außengruppe: Sequenz von *Larus canus*.

*

4.2.4. Weitere Duplikationen/ Insertionen

Bei zwei *L. michahellis* - Individuen aus einer Brutkolonie auf Kreta wurde eine 20-bp lange Insertion zwischen den Positionen 21 und 22 gefunden (Anhang C). Erstaunlicherweise besaßen diese zwei Individuen (die wegen dieser Sequenzanomalie in die allgemeine Analyse nicht einbezogen wurden) ebenfalls das ATCCC-Motiv (Pos. 190-202). Auf einer Länge von 50 Basenpaaren ‚downstream' von der Insertion (in 5'-3'-Richtung) wich die Sequenz der beiden Vögel beträchtlich von allen anderen *michahellis*-Sequenzen ab, nicht aber über diesen Bereich hinaus (Anhang C). Es sieht so aus, als ob in unmittelbarer Nachbarschaft zur Insertion ein Sequenz-Rearrangement stattgefunden hat, denn mit unabhängigen Punktmutation ist die auffällige Häufung von so vielen Nukleotidunterschieden auf einer Länge von nur 50 Positionen nicht zu erklären. Die ungefähre verwandtschaftliche Stellung der zwei Kreta-Individuen ließ sich nur qualitativ abschätzen, indem ich nach dem ihnen ähnlichsten Haplotyp suchte (=mic-034; mit Sternchen im UPGMA-Baum markiert, Abb. 4.3. B).

Ein zufälliges Zusammentreffen dieser beiden auffälligen und sehr seltenen Sequenzanomalien, nämlich der Insertion eines 20-bp langen Fragments und das Auftreten des ATCCC-Motivs, im selben Individuum ist extrem unwahrscheinlich. Man kommt deshalb nicht umhin, einen kausalen Zusammenhang zwischen Insertion und Rekombination zu vermuten. Allerdings lässt sich dieser Zusammenhang bisher nicht plausibel erklären.

4.3. Diskussion

Die Analyse von 1217 Sequenzen der Kontrollregion in Möwen lieferte den bisher deutlichsten Hinweis auf Rekombination im Mitochondriengenom von Vertebraten. In acht phylogenetisch nicht näher verwandten Haplotypen wurden in einem konservativem Sequenzabschnitt fünf konzertierte Basenaustausche gefunden. Dieser Block muss in einem rekombinationsartigen Prozess erworben worden sein, und zwar mindestens acht Mal unabhängig voneinander an genau derselben Stelle innerhalb der Kontrollregion. HAGELBERG et al. (1999) vermuten, dass bestimmte Positionen im D-Loop besonders anfällig für Rekombination sind („recombination hot spots") und auf diese Weise identische Sequenzabschnitte in phylogenetisch unverwandten Linien ausgetauscht werden können. Genau dies scheint auch bei den Möwen der Fall zu sein.

4.3.1. Rekombination in mtDNA – Stand der Forschung

*Intra*molekulare Rekombination, bei der „tandem repeats" der Kontrollregion eine wesentliche Rolle spielen, wurden bisher in Pflanzen, Pilzen (GRAY 1989, SAVILLE et al. 1998) und Nematoden (LUNT & HYMAN 1997) nachgewiesen sowie bei Insekten vermutet (ZHANG et al. 1995). Bei Pflanzen kann es außerdem zum Austausch von mitochondrialen Genomabschnitten durch *inter*molekulare Rekombination kommen, wenn somatische Zellen und deren Mitochondrien verschmelzen (LONSDALE et al. 1988).

Ein direkter Beweis für Rekombination mitochondrialer DNA in Vertebraten liegt bisher nicht vor, jedoch wurde vermutet, dass die hohen Mutationsraten in mütterlichen Linien von Kühen auf Gen-

Konversion zurückzuführen sind (OLIVO et al. 1983). Bei der Analyse von 452 D-Loop Sequenzen des Menschen fanden HAGELBERG et al. (1999) eine seltene Punktmutation, die auf einer pazifischen Insel gehäuft auftrat, dort aber in drei verschiedenen phylogenetischen Linien vorkam. Da ein mehrfach unabhängiges Auftreten einer so seltenen Mutation auf einer einzigen Insel äußerst unwahrscheinlich ist, folgern HAGELBERG et al., dass Rekombination die wahrscheinlichere Erklärung ist. EYRE-WALKER et al. (1999a, b) zeigten, dass es an synonymen 3. Codon-Positionen im Mitochondrien-Genom signifikant mehr Homoplasien gibt, als bei der entsprechenden Anzahl polymorpher Positionen zu erwarten wäre. MAYNARD-SMITH & SMITH (1998) bezeichnen einen solchen Überschuß an Homoplasien als „Markenzeichen für Rekombination". Ein weiteres Charakteristikum für Rekombination ist die von AWADALLA et al. (1999) gezeigte Abnahme des Linkage Disequilibrium (Kopplung zwischen Basenaustauschen) mit zunehmender Entfernung zwischen den Nukleotidpositionen. Alle bisherigen Analysen lieferten jedoch nur indirekte Hinweise auf Rekombination und beziehen sich nur auf einzelne Nukleotidpositionen. In der Kontrollregion von Möwen fand ich dagegen einen Block von mindestens 13 bp Länge, der in einem rekombinations-artigen Prozess ausgetauscht worden sein muß. So klare Hinweise sind bisher von Vertebraten nicht bekannt.

4.3.2. Alternative Erklärungsmöglichkeiten

Eine mögliche Erklärung für den Überschuß von Homoplasien in der mitochondrialen Kontrollregion ist Hypervariabilität einzelner Nukleotidpositionen (WAKELEY 1993, PÄÄBO 1996). Im vorliegenden Datensatz von Möwen war jedoch der Sequenzabschnitt, an dem das ATCCC-Motiv auftrat, ansonsten völlig invariant (n=1206 Individuen). Hypervariabilität an „mutational hot spots" erklärt das ATCCC-Motiv nicht.

Theoretisch gibt es zwei weitere Erklärungsmöglichkeiten: 1) die abweichenden Haplotypen sind mitochondriale Kernkopien und wurden bevorzugt amplifiziert oder 2) der ATCCC-Block ist ein PCR-Artefakt („PCR-jumping"). Kopien mitochondrialer DNA-Sequenzen im Kerngenom sind von vielen Organismen, einschließlich Vögeln, bekannt (QUINN 1997, KIDD & FRIESEN 1998). Unterschiede zwischen der mitochondrialen „Stamm-DNA" und ihrer homologen Kernsequenz sollten sich aber entlang der gesamten DNA-Kopie manifestieren, nicht nur in einem kurzen Ausschnitt derselben (ARCTANDER 1995). Die 11 ATCCC-Individuen unterschieden sich jedoch nur an den fünf genannten Positionen (innerhalb eines 13 bp langen Abschnitts) von anderen Haplotypen derselben Taxa. Ein solches Muster ist mit der Kernkopie-Hypothese nicht vereinbar.

Bei der zweiten Hypothese wird angenommen, dass während der PCR-Amplifikation die Polymerase zwischen verschiedenen DNA-Matrizen hin und herspringt, wodurch chimäre Amplifikationsprodukte entstehen. Dies ist besonders bei sehr alter DNA (ancient DNA) ein Problem, die meist hochgradig degradiert ist und wo PCR-Produkte vor der Sequenzierung kloniert werden müssen (DESALLE et al. 1993). Ich verwendete bei meiner Arbeit an Möwen jedoch ausschließlich frisch isolierte DNA und sequenzierte die PCR-Produkte direkt (ohne Klonierung). Alle Sequenzen waren auf ganzer Länge eindeutig lesbar, für heterogene Amplifizierungen gab es keine Hinweise (einzige Ausnahme: Haplotyp het-108, der an den fünf Positionen des ATCCC-Blocks heteroplasmisch erschien). Es ist extrem unwahrscheinlich, dass durch PCR-jumping ein

Rekombinationsereignis vorgetäuscht wurde, weil dazu die Polymerase bei jeder Amplifizierungsrunde zweimal an genau denselben Stellen zwischen zwei Matritzen hin- und herspringen müßte. Warum dies nur bei 11 der 1217 Individuen passiert sein soll, die mit identischer Methodik bearbeitet wurden, entbehrt jeder plausiblen Erklärung.

Keiner der drei hier diskutierten Mechanismen (Hypervariabilität, mitochondriale Kernkopien oder „PCR-jumping“) liefert eine plausible Erklärung für die Entstehung des ATCCC-Motivs. Die Annahme von Rekombination bleibt als wahrscheinlichste Lösung übrig. Allerdings ist bisher der Ursprung der Donor-Sequenz unbekannt, da weder in der Kontrollregion von Möwen (nur eine komplette Sequenz von *L. michahellis* vorhanden) noch in einer anderen publizierten Sequenz ein homologer DNA-Abschnitt identifiziert werden konnte.

4.3.3. Mögliche Szenarien für Rekombination in mitochondrialer DNA

Damit Rekombination stattfinden kann, müssen zwei Grundbedingungen erfüllt sein: 1) die entsprechende Enzymausstattung muß vorhanden sein und 2) homologe DNA-Abschnitte müssen physisch in Kontakt kommen, d.h. zeitgleich im selben Organell vorliegen. Homologe DNA-Abschnitte könnte es **a**) innerhalb desselben Mitochondriengenoms geben, z.B. nach einer vorherigen Duplikationen, **b**) im Genom anderer Mitochondrien desselben Vogels (im Fall von heteroplasmischen Individuen) oder **c**) im Kerngenom, wenn dort Kopien mitochondrialer Genopmabschnitte existieren. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass alle drei Möglichkeiten durchaus realistisch sind. Mitochondrien besitzen eine Enzymausstattung, mit der Rekombination prinzipiell möglich ist (THYAGARAJAN et al. 1996). Bei Säugetieren können Mitochondrien in bestimmten Stadien der Embryogenese verschmelzen und sich später wieder teilen (SMITH & ALCIVAR 1993), womit theoretisch die Möglichkeit zu intermolekularer Rekombination gegeben wäre. Ein Austausch homologer Abschnitte würde aber nur dann zu Sequenzunterschieden führen, wenn Heteroplasmie vorliegt, also verschiedene mtDNA-Genome im selben Individuum. Dies kann durch das Eindringen väterlicher Mitochondrien in die Eizelle bei der Befruchtung, das sogenannte „paternal leakage“, geschehen (ANKEL-SIMONS & CUMMINS 1996), doch scheint dieses Phänomen nur bei interspezifischen Hybriden vorzukommen (KANEDA et al. 1995), während im Normalfall die in die Eizelle eingedrungene väterliche mtDNA während der frühen Ontogenese aktiv eliminiert wird (SHITARA et al. 1998). Im allgemeinen ist Heteroplasmie sehr kurzlebig, da sich mitochondriale Linien innerhalb weniger Generationen aussortieren und nur eine Linie im Individuum fixiert wird (HOWELL et al. 1996, SHITARA et al. 1998). Bei Möwen ist zwar interspezifische Hybridisation mit „paternal leakage“ denkbar, doch keines der potentiell hybridisierenden Taxa der nördlichen Hemisphäre besitzt das ATCCC-Motiv an der entsprechenden Stelle der Kontrollregion.

Zwei weitere Szenarien sind möglich: 1) *Intra*molekulare Rekombination zwischen verschiedenen nicht-kodierenden Bereichen des Mitochondrien-Genoms und 2) *Inter*molekulare Rekombination zwischen mitochondrialer DNA und einer nuklearen Donor-Sequenz. In der Kontrollregion selbst wurde kein homologer ATCCC-Sequenzblock gefunden, aber er könnte in einem anderen, nicht-kodierenden Abschnitten der mtDNA lokalisiert sein. Duplikationen der Kontrollregion und nachfolgende Translokationen im Mitochondrien-Genom wurden für zahlreiche Organismen nachgewiesen (BOORE 1999), aber es ist nicht bekannt, ob im mt-Genom von Möwen ein Duplikat der

Kontrollregion vorkommt. Andererseits könnte zwischen der Kontrollregion der mtDNA und einer mitochondrialen Kernkopie eine genügend große Divergenz bestehen, die im Falle von *inter*molekularer Rekombination das abweichende Substitutionsmuster in verschiedenen phylogenetischen Linien erklärt. Bisher ist jedoch völlig unklar, wie es zu Rekombination zwischen mtDNA und nuklearer DNA kommen könnte.

4.3.4. Warum wurde Rekombination bisher übersehen?

Hinweise auf Rekombination in mitochondrialer DNA gibt es mittlerweile in allen Organismengruppen, die daraufhin genauer untersucht wurden. Um so erstaunlicher ist, dass die Anwendung mitochondrialer Marker in populationsgenetischen und phylogeographischen Studien nicht kritischer hinterfragt wird. Es gibt wahrscheinlich zwei Gründe, warum Rekombination bisher übersehen wurde: In den hochvariablen Sequenzabschnitten der Kontrollregion ist es nahezu unmöglich, auf Rekombination zurückzuführende Variation von Punktmutationen an „mutational hot spots“ zu unterscheiden (PÄÄBO 1996). Wenn aber, wie im Möwenbeispiel, Rekombination in konservativen, d.h. funktional bedeutsamen Sequenzblöcken auftritt, dürfte starke Selektion gegen die Vermehrung solcher Haplotypen wirksam werden. Obwohl das ATCCC-Motiv mehrfach in verschiedenen phylogenetischen Linien gefunden wurde, war es in der gesamten Stichprobe sehr selten (nur 0,9%). Der konservative Sequenzblock TAS-II mit der „Termination-associated Sequence“ ist für die Replikation des Mitochondrien-Genoms von Bedeutung. Durch mögliche Interaktionen zwischen der Terminationssequenz und dem ATCCC-Block könnten für diese Individuen Fitnessnachteile entstehen, so dass die entsprechenden Haplotypen in der Population nicht zunehmen. Genau wie die Duplikation ganzer Mitochondrien-Genome sehr selten und auf wenige Individuen beschränkt ist (MORITZ & BROWN 1987), wird Rekombination in konservativen Sequenzabschnitten sehr kurzlebig und nur in großen Stichproben nachweisbar sein. Solch umfangreiche Daten lagen bisher nur vom Menschen vor. In der Tat wurde Rekombination mitochondrialer DNA von Vertebraten auch erst vermutet, als große Stichproben (mehrere hundert) Sequenzen der menschlichen Kontrollregion analysiert wurden (HAGELBERG et al. 1999).

Ein zweiter Punkt betrifft die Sequenzdivergenz der ausgetauschten DNA-Abschnitte. Findet Rekombination zwischen homologen Sequenzen statt, die sich nicht oder nur geringfügig voneinander unterscheiden, ist dieser Vorgang nicht erkennbar. Im Falle der Möwen wurde dagegen ein relativ großes Fragment (13 bp Länge) mit fünf Nukleotidunterschieden ausgetauscht. Da die Wahrscheinlichkeit für Rekombination sinkt, je größer die Divergenz zwischen zwei Sequenzabschnitten ist, dürften so offensichtliche Fälle wie das ATCCC-Motiv nur selten vorkommen.

4.3.5. Schlussfolgerungen für Populations- und Phylogenieforschung

Unabhängig davon, welcher molekulare Mechanismus für das rekombinationsartige Substitutionsmuster mitochondrialer DNA verantwortlich ist – der Nachweis dieses Phänomens hat weitreichende Bedeutung für phylogeographische und populationsgenetische Studien, die sich mitochondrialer Marker bedienen. Die nicht-kodierenden (funktionsfreien) Sequenzabschnitte der Kontrollregion sind in besonderem Maße betroffen, da hier mögliche Rekombination nicht durch

Selektion ausgemerzt wird. Zusätzlich könnte die Ausbildung der Dreistrang-DNA-Schleife während der Replikation Rekombination erleichtern, da die stabile Doppelhelix-Struktur im D-Loop aufgelöst wird (ZHANG et al. 1995, LUNT & HYMAN 1997).

Die Einbeziehung rekombinierter Haplotypen (oder Sequenzabschnitte) in die Datenanalyse beeinträchtigt zwangsläufig die Abschätzungen der intra- bzw. interspezifischen Populationsparameter und führt zu fehlerhaften Berechnungen der Anzahl variabler Positionen, Sequenzdiversitäten oder Coalescense-Zeiten (Alter des jüngsten gemeinsamen Vorfahren). Auf dem interspezifischen Niveau würde die Abschätzung von Genflussraten und molekularer Divergenz verfälscht. Schließlich beeinflusst Rekombination die Rekonstruktion von Haplotypen-Phylogenien.

Besondere Bedeutung kommt der Rekombinationsproblematik im Zusammenhang mit der Diskussionen um den jüngsten gemeinsamen Vorfahren (MRCA) des modernen Menschen zu. Die Kalibrierung der mtDNA-Uhr basiert nämlich auf der Annahme, dass es keine Rekombination gibt, alle Mutationen neutral sind und mit konstanter Rate akkumuliert werden (HASEGAWA et al. 1993, VON HAESELER et al. 1996). Der fundamentale Grundsatz „recombination does not happen in animal mitochondrial DNA“ (CANN et al. 1987, VIGILANT et al. 1991) wird durch meine Ergebnisse erheblich in Frage gestellt.

5. Ergebnisse und Diskussion

Teil III: Phänotypische Charakterisierung und systematische Stellung der Armenienmöwe *Larus armenicus*

5.1. Zielstellung

Die Armenienmöwe *Larus armenicus* wurde von BUTURLIN (1934) als Unterart von *Larus taimyrensis* beschrieben. Ihre Zugehörigkeit zur *Larus argentatus-fuscus-cachinnans*-Gruppe gilt allgemein als gesichert (HAFFER 1982, CRAMP & SIMMONS 1983), doch ist ihr Status als eigenständige Art bisher unzureichend begründet, ihre phylogenetische Verwandtschaft unklar (meist wurde *taimyrensis* oder *barabensis* als nächstverwandt betrachtet), und selbst ihre feldornithologische (phänotypische) Charakterisierung ist widersprüchlich. Dies liegt vor allem an dem Mangel gründlicher Untersuchungen im Brutgebiet, wovon bisher nur zwei aus Armenien vorliegen (FILCHAGOV 1993, BUZUN 1993). Trotz zunehmender Freilandbeobachtungen in den letzten Jahren wurden wenig klärende Erkenntnisse über die systematische Stellung der Armenienmöwe gewonnen. Dies ist um so erstaunlicher, als die benachbart brütenden Formen *michahellis* und *cachinnans* intensiv bearbeitet wurden (KLEIN & BUCHHEIM 1997, GARNER et al. 1997, JONSSON 1998a), wobei die phänotypische Abgrenzung von Armenienmöwen dabei keine Beachtung fand. Im vorliegenden Kapitel verfolge ich daher drei Ziele:

1. Quantitative Beschreibung einiger im Freiland erkennbarer phänotypischer Merkmale und ihrer Variationsbreite zur Brutzeit nach Beobachtungen im Mai/Juni 1999;
2. Bestimmung der stammesgeschichtlichen Verwandtschaft von *armenicus* in Relation zu *michahellis*, *cachinnans, barabensis* und *taimyrensis* anhand mitochondrialer DNA und
3. Prüfung, ob mitochondrialer Genfluss (Introgression) von benachbarten Taxa (*michahellis*, *cachinnans*) in die *armenicus*-Population nachzuweisen ist.

Die Ergebnisse sollen u.a. Aufschluss darüber geben, ob sich der Artstatus für *L. armenicus* hinreichend begründen lässt.

5.2. Ergebnisse

5.2.1. Phänotypische Charakterisierung der Brutvögel

Insgesamt wurden in der Türkei drei Kolonien untersucht: 1) der bisher einzig bekannte Brutplatz der Armenienmöwe in Zentral-Anatolien am Tuz Gölü, 120 km südlich von Ankara (ca. 400 Brutpaare); 2) eine 40-50 Brutpaare große Kolonie am Beysehir Gölü, 180 km südwestlich des Tuz Gölü und 90 km nördlich der Mittelmeerküste (Südwest Türkei) und 3) die wohl bekannteste Armenienmöwen-Kolonie im größten Anatolischen Hochlandsee, dem Van Gölü in Ost-Anantolien (Insel Çarpanak mit 2.000 Brutpaaren).

Die adulten Möwen am Tuz und Van Gölü gehörten demselben Phänotyp an, der zwar in mehreren Einzelmerkmalen variierte, aber einen homogenen Gesamteindruck machte (im folgenden

A)

B)

Abb. 5.1: Adulte Armenienmöwen, Insel Çarpanak, Van Gölü, Juni 1999. **A)** Brutvogel mit rundem Kopf und steiler Stirn, relativ kleinem Schnabel und “freundlichem” Gesichtsausdruck, wahrscheinlich Weibchen. **B)** Armenienmöwe mit flacher Stirn, großem Schnabel, heller Iris und “grimmigem” Gesichtsausdruck, wahrscheinlich Männchen. *(*Fotos: *A.J. Helbig)*

„*armenicus*-Phänotyp“ genannt, Abb. 5.1). Die Beschreibung von *armenicus*-Brutvögeln basiert hauptsächlich auf den Beobachtungen am Van Gölü, da es sich hierbei um das Kerngebiet ihrer Verbreitung handelt.

Tabelle 5.1: Häufigkeiten der Merkmalsausprägungen unbefiederter Körperteile bei adulten Armenienmöwen am Tuz und Van Gölü. Irisfarbe: hell = ungefleckt gelblichweiß oder max. 10% dunkel gefleckt; mittel = 10-50% dunkel gefleckt; dunkel = > 50% gefleckt.

	Tuz	Van	%
schwarzer Schnabelfleck			
ausgeprägt	182	259	95,2
blass	?	19	4,1
fehlend	2	1	0,7
Beinfarbe			
satt gelb	10	38	35,6
blass gelb	0	87	64,4
Irisfarbe			
hell	1	23	13,9
mittel	4	69	42,2
dunkel	5	71	43,9

Schnabelfärbung: Das auffälligste Merkmal bei Armenienmöwen war die auch zur Brutzeit ausgeprägte schwarze Subterminalbinde des Schnabels, die in ihrer Form und Ausdehnung beträchtlich variierte (Tab. 5.1). Bei mehr als 95% aller Vögel war sie deutlich sichtbar und erstreckte sich halbmondförmig über den Oberschnabel, bei vielen Vögeln reichte sie mehr oder weniger deutlich bis auf den Unterschnabel. Bei etwa 5% der genau untersuchten Vögel (n=463; Tab. 5.1) war sie nur schwach erkennbar. Einem Altvogel am Van Gölü fehlte definitiv jegliche schwarze Schnabelmarkierung, bei zwei von 182 Vögeln am Tuz Gölü war sie (aus größerer Entfernung im Spektiv) nicht erkennbar. Der rote Gonysfleck war auf dem Unterschnabel deutlich ausgeprägt und reichte meistens marginal bis auf den Oberschnabel. Die Schnabelspitze war deutlich heller als der proximale Hauptteil des Schnabels, meist blass gelblich bis weißlich, was dem Schnabel ein vierfarbiges Aussehen verlieh. **Beinfarbe**: Alle Altvögel hatten gelbe Beine, aber es waren deutlich zwei Typen unterschiedlicher Farbsättigung zu erkennen: Typ 1 war satt gelb wie bei *michahellis* zur Brutzeit (35% der Vögel), Typ 2 blass gelb, z.T. mit einem grau-grünlichen Ton (64%; n=135; Tab. 5.1) wie bei vielen *cachinnans.* **Iris**: Bei den Altvögeln kamen sämtliche Übergänge zwischen einer völlig ungefleckten, gelblichweißen Iris über verschiedene Dichten dunkler Fleckung bis hin zu einer ganz dunkelbraunen Iris vor. Am häufigsten war die Iris zu etwa 50% oder mehr dunkel gefleckt (44%, n=173; Tab. 5.1). Bei Vögeln in der Hand zeigte sich, dass auch eine ganz hell erscheinende Iris noch kleine dunkle Flecken aufweisen konnte, eine ganz dunkel erscheinende Iris in Wirklichkeit auf hellem Grund besonders dicht dunkel gefleckt war. Der Lidring war bei allen Vögeln orangerot. **Kopfform:** Die Kopfform war nicht einheitlich: Altvögel hatten entweder eine ausgeprägt runde Kopfform mit relativ steiler Stirn, oder eine flache Stirn und einen kantigeren Nacken (Abb. 5.1). Da erstere meist kleiner und kurzschnäbliger erschienen und oft je zwei Altvögel unterschiedlichen Typs eng zusammenstanden, liegt der Schluss nahe, dass der rundköpfige Typ in erster Linie Weibchen, der flachstirnige Typ Männchen repräsentierte. **Handschwingen:** Der Schwarzanteil der Handschwingen war relativ ausgedehnt und erstreckte sich immer auf die äußeren sieben Handschwingen, bei manchen Vögeln auch auf den Schaftbereich einiger Großer Handdecken. Damit ist der Schwarzanteil der Flügelspitze deutlich größer als bei *cachinnans*, aber nur wenig größer als bei *michahellis*. Ein weißer Subterminalfleck („Spiegel“) war bei der Mehrzahl der Vögel nur

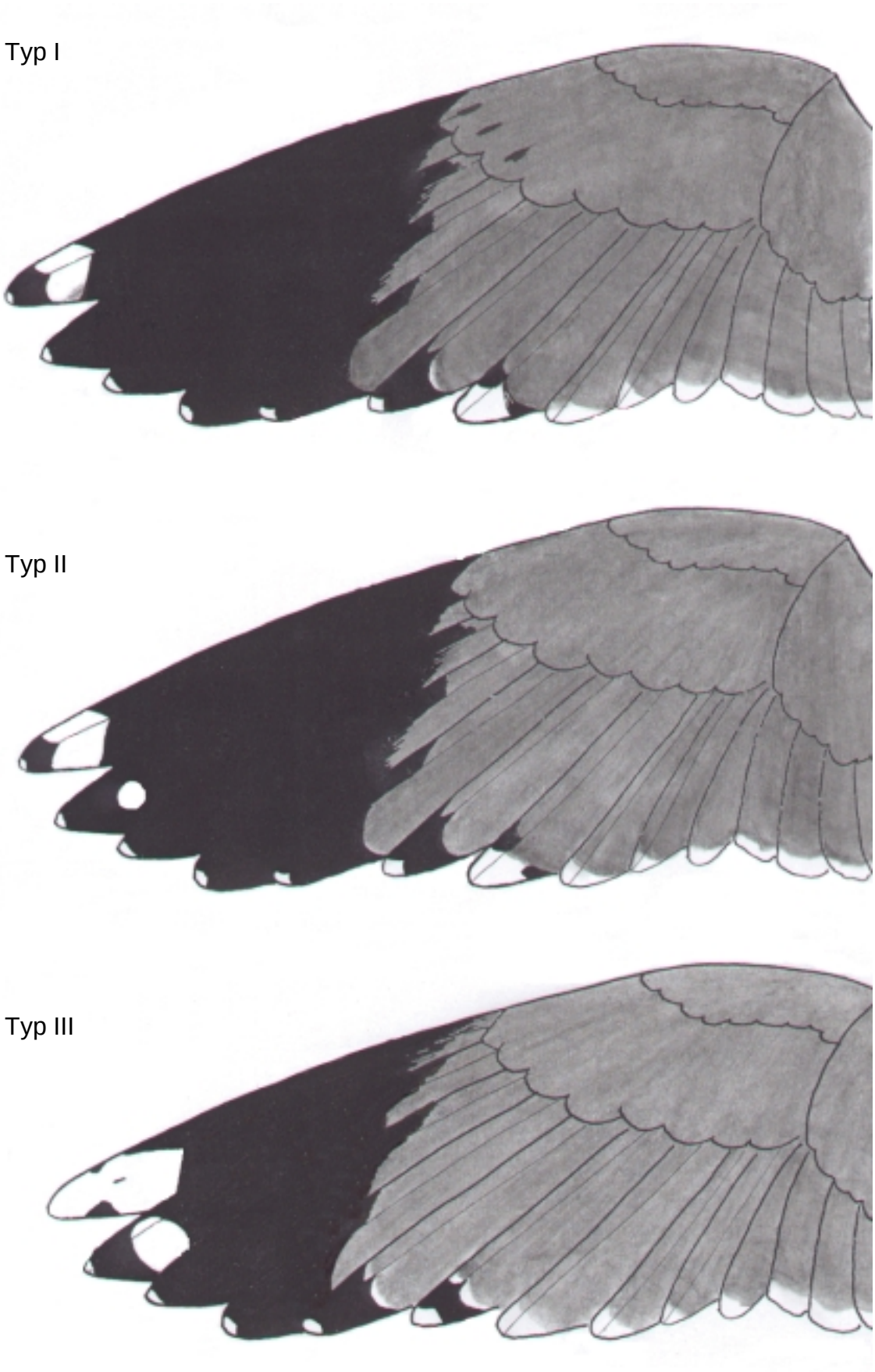


Abb. 5.2: Schema der drei Handschwingen-Typen von Mittelmeer- und Armenienmöwen. Typ I - weißer Subterminalfleck nur auf H 10; Typ II - zusätzlicher, weißer Fleck auf H 9; Typ III - weißer Subterminalfleck auf H 10 mit weißer Spitze zusammengeflossen, weißer Fleck auf H 9 erstreckt sich bis auf die Außenfahne. (Zeichnung: *D. Liebers*)

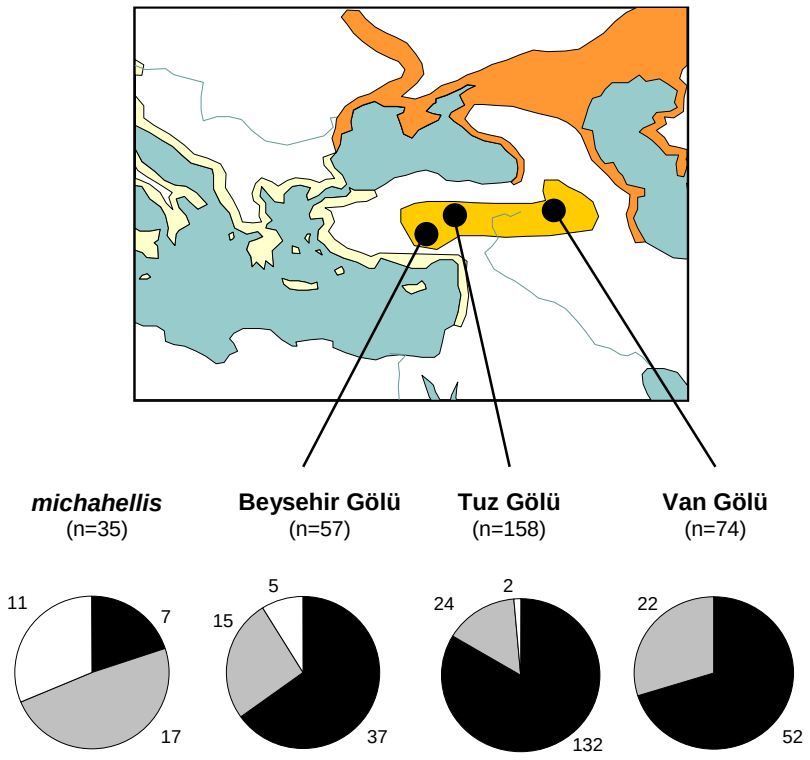


Abb. 5.3: Häufigkeitsverteilung der drei Handschwingen-Typen bei *michahellis* (verschiedene Orte im Mittelmeerraum) und in den drei türkischen Kolonien. *Schwarz*: Typ I; *Grau*: Typ II; *Weiß*: Typ III (vgl. Abb. 5.2).

auf der äußersten, 10. Handschwinge (H 10) vorhanden (Tuz/Van 79%; n=232), wo er sich meist über Außen- und Innenfahne erstreckte (Abb. 5.2, Typ I), bei einigen Individuen aber sogar auf die Innenfahne beschränkt war. Bei 20% der Vögel am Tuz/Van hatte zusätzlich die Innenfahne von H 9 einen meist kleinen, runden, weißen Fleck (Abb. 5.2, Typ II). Ein dritter Typ, bei dem weißer Subterminalfleck und weiße Spitze der H 10 zusammenflossen und sich der weiße Fleck der 9. Handschwinge (H 9) bis auf die Außenfahne erstreckte (Abb. 5.2, Typ III), kam nur am Tuz Gölü zweimal (0,9%) vor. In der Häufigkeit dieser drei Typen (Abb. 5.3) besteht zwischen den drei türkischen Binnenlandkolonien einerseits und der Mittelmeermöwe andererseits ein signifikanter Unterschied (χ^2=23,9; d.f.=1, $V_{99,9\%}$=10,8; p<0,001). Das heißt, die Armenienmöwe hat deutlich weniger Weiß in den beiden äußeren Handschwingen als die Mittelmeermöwe. **Mantelfarbe:** Die Sättigung der Graufärbung von Flügeloberseite, Mantel und Rücken („Mantelfarbe“) lässt sich nur in der Hand im Vergleich mit einer standardisierten Graustufenskala (Kodak) objektiv beurteilen. Sieben von zehn am Tuz Gölü gefangenen Altvögeln hatten Graustufe 8, zwei waren dunkler (8,5), einer heller (7,5). Das ist im Mittel etwas dunkler als *michahellis* (6-7), aber identisch mit *barabensis* (eigene Beobachtungen aus Kasachstan). **Morphometrie**: Trägt man für *armenicus*, *michahellis* und *cachinnans* die Flügellänge gegen die Kopf-Schnabellänge auf (wegen des Größenunterschieds für die Geschlechter getrennt; Abb. 5.4), so zeigt sich, dass in beiden Geschlechtern Armenienmöwen im Mittel die kleinsten Werte aufweisen. Es gibt eine gewisse Überschneidung der Werte mit *michahellis*, aber die Schwerpunkte der Verteilungen scheinen deutlich getrennt zu sein, d.h. *armenicus* ist in

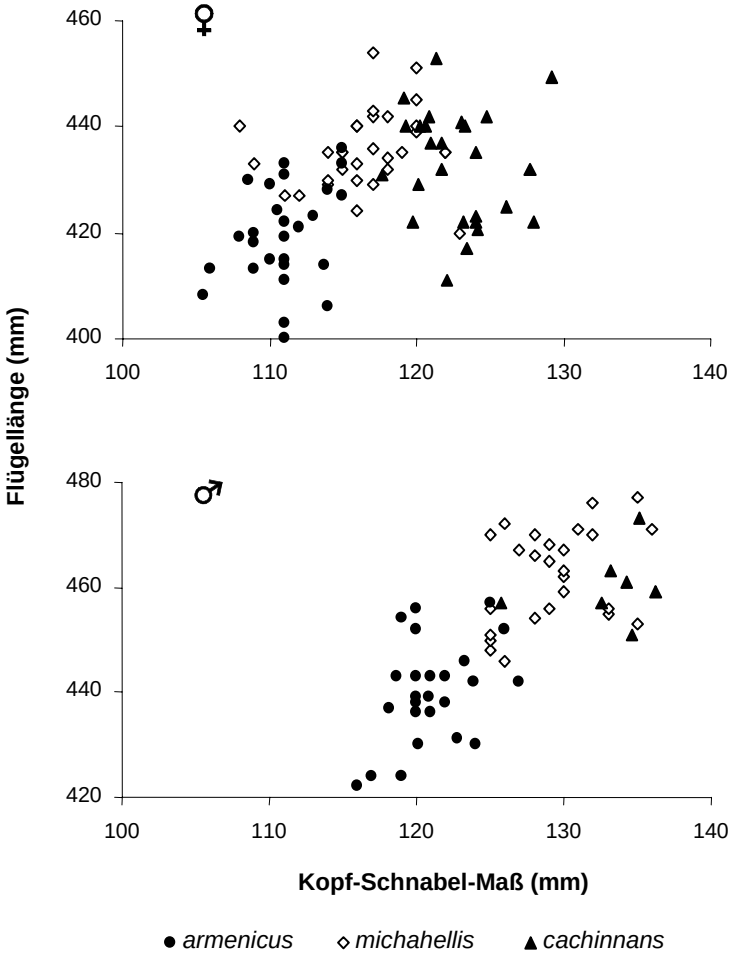


Abb. 5.4: Körpermaße von Armenien-, Mittelmeer- und Steppenmöwen (Flügellänge gegen Kopf-Schnabellänge), getrennt für beide Geschlechter. Für *armenicus* wurden neben eigenen Daten von 10 Vögeln Werte von BUZUN (1993) vom Sevan-See, Armenien, übernommen.

diesen Maßen kleiner als *michahellis* und *cachinnans*. Die Überschneidung in der Flügellänge zwischen den Taxa ist bei Weibchen größer als bei Männchen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten: Adulte Armeniemöwen zur Brutzeit besitzen einen etwas dunkleren Mantel als *L. cachinnans*, die Handschwingen haben einen vergleichsweise hohen Schwarzanteil (etwas mehr als *michahellis*, deutlich mehr als *cachinnans*) aber kleinere weiße Subterminalflecken, generell gelbe Beine, etwa 95% der Vögel haben einen deutlich ausgeprägten schwarzen Fleck am Oberschnabel. Die Irisfarbe variiert von ganz hell bis ganz dunkel, die Kopfform ist in erster Linie vom Geschlecht abhängig; Körpergröße und Kopf-Schnabellänge unterscheiden sich deutlich zwischen den Geschlechtern und sind im Mittel geringer als bei *michahellis* und *cachinnans*.

Im Gegensatz zum Tuz und Van Gölü waren die phänotypischen Merkmale von Brutvögeln am Beysehir wesentlich heterogener. „Typische“ *michahellis*-Phänotypen waren von „typischen“ *armenicus*-Vögeln zu unterscheiden, doch gab es viele Individuen, bei denen die Übergänge in den Merkmalen fließend waren. Vögel vom *michahellis*-Typ erschienen besonders groß, beide Geschlechter hatten eine relativ flache Stirn und einen „kantigen“ Hinterkopf, einen auffällig großen roten Gonysfleck, der weit auf den Oberschnabel reichte, sehr helle Iriden und große weiße Spiegel auf H 10 und H 9 (Typ III, Abb. 5.2). Wenigstens eine Spur von Schwarz am Schnabel war bei fast allen Vögeln erkennbar, die Schnabelspitze war aber vom selben intensiven Gelb wie die Schnabelbasis.

5.2.2. Untersuchung der Mitochondrien-DNA

Für populationsgenetische Untersuchungen wurden 51 Blut- und Gewebeproben am Tuz Gölü (davon 10 Altvögel), 16 am Beysehir Gölü und 30 am Van Gölü gesammelt. Zum Vergleich wurde Material von vier weiteren Großmöwentaxa herangezogen, gesammelt jeweils an Brutplätzen: *Larus michahellis* östliches Mittelmeer (Malta, Kreta; n=24) und Rumänische Schwarzmeerküste (Constanta, n=6); *Larus cachinnans* Schwarzes Meer (n=39) und nördliches Kaspisches Meer (n=43); *Larus* (*ssp.*?) *barabensis* Tengiz-See, Kasachstan (n=32); *Larus (fuscus?) taimyrensis* Taimyr-Halbinsel, Russland (n=21).

Unter den insgesamt 97 sequenzierten Möwen aus den Kolonien am Beysehir, Tuz und Van Gölü wurden zwölf verschiedene Haplotypen gefunden. Drei dieser Haplotypen waren identisch mit solchen, die bei *L. michahellis* im Mittelmeer vorkommen, die anderen neun wurden nur in den drei türkischen Binnenlandkolonien gefunden.

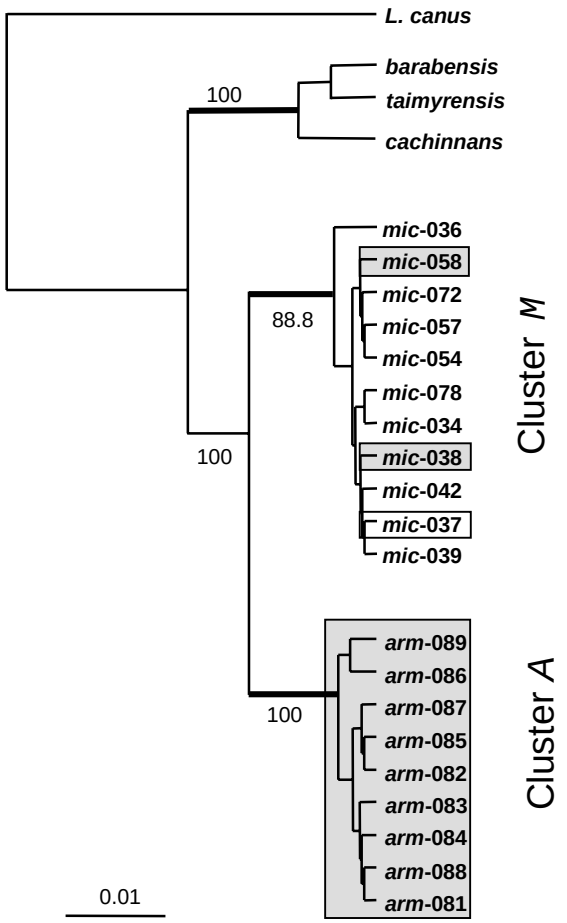


Abb. 5.5: Mitochondriale Haplotyp-Genealogie. Cluster *M* = Haplotypen, die bei *michahellis* im östlichen Mittelmeer und an der südwestlichen Schwarzmeerküste gefunden wurden. Grau unterlegt: Haplotypen, die am Tuz und Van Gölü vorkamen. Eingerahmter Typ im Cluster *M* = Haplotyp, der am Beysehir, nicht aber an Tuz und Van Gölü gefunden wurde.
Von den Taxa *cachinnans, taimyrensis, barabensis* und *L. canus* (als Außengruppenvertreter) wurde je ein repräsentativer Haplotyp aufgenommen. Die Zahlen über den Ästen sind die Likelihood-Mapping Werte in % (PUZZLE, STRIMMER & VON HAESELER 1997).

Phylogenie der Haplotypen

Die rekonstruierte Genealogie der *michahellis/armenicus*-Haplotypen (Abb. 5.5) zeigt zwei distinkte Cluster. Ein Cluster (*A*) enthält neun Haplotypen, die ausschließlich bei *armenicus* am Tuz und Van Gölü gefunden wurden. Das andere Cluster (*M*) besteht aus elf Haplotypen, die alle bei *michahellis* im östlichen Mittelmeer vorkommen, von denen aber zwei (mic-038; mic-058) auch am Tuz und Beysehir Gölü und ein dritter (mic-037) nur am Beysehir Gölü gefunden wurde.

Die Häufigkeitsverteilung der beiden Haplotypgruppen in den untersuchten Kolonien zeigt Abb. 5.6 (Cluster *M* = weiß; Cluster *A* = schwarz). Es wird deutlich, dass *armenicus*-typische Haplotypen (schwarz) nicht bei *michahellis* im Mittelmeer oder am Schwarzen Meer vorkommen, wohl aber umgekehrt *michahellis*-typische Haplotypen in der phänotypisch reinen *armenicus*-Kolonie am Tuz Gölü vorhanden sind (14% der Vögel) und in der phänotypisch gemischten Kolonie am Beysehir Gölü sogar 62% ausmachen. Am Van Gölü wurden unter 30 sequenzierten Vögeln keine *michahellis*-typischen Haplotypen gefunden, was aber nicht ausschließt, dass sie dort dennoch vorkommen (und in größeren Stichproben nachweisbar wären).

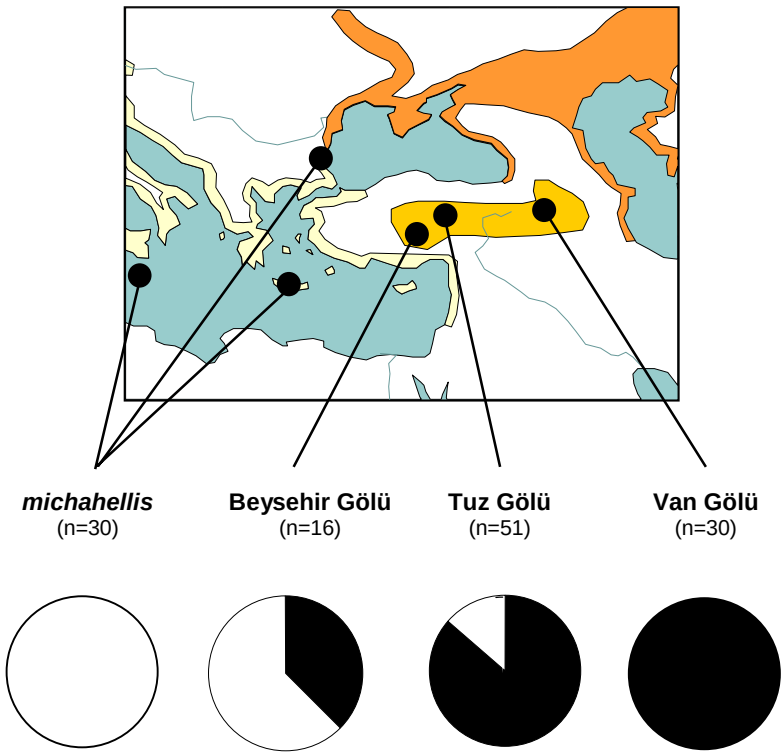


Abb. 5.6: Häufigkeitsverteilung der drei mitochondrialen Haplotypen aus Cluster *A* und *M* (siehe Abb. 5.5) in den drei untersuchten türkischen Brutkolonien und bei *L. michahellis* im östlichen Mittelmeer bzw. an der südwestlichen Schwarzmeerküste. *Weiß*: Cluster *M*; *Schwarz*: Cluster *A* in Abb. 5.5.

Dieses Ergebnis zeigt, dass es zumindest einseitigen Genfluss (Introgression) von der *michahellis*-Population in die *armenicus*-Population hinein gibt. Ob auch Genfluss in der umgekehrten Richtung stattgefunden hat, muss noch genauer untersucht werden (die bisherigen *michahellis*-Stichproben

sind zu klein und reichen östlich nur bis Kreta). Der Genaustausch hat jedenfalls nicht zu einer völligen Vermischung der Haplotypen zwischen den beiden Taxa geführt und ist offenbar (noch) nicht bis in den östlichen Teil des *armenicus*-Brutgebiets (Van Gölü) vorgedrungen. Tatsächlich sind die phänotypisch reinen *armenicus*-Kolonien (Tuz, Van) genetisch hochsignifikant von *L. michahellis* (östliches Mittelmeer, Schwarzes Meer) differenziert (AMOVA: Φ_{ST}=0,7857; p<0.0001).

Die Sequenzdivergenz zwischen den in der Türkei gefundenen Haplotypen der beiden Gruppen *M* und *A* veranschaulicht Abb. 5.7. Paarweise Vergleiche zwischen Sequenzen desselben Clusters sind schwarz dargestellt, zwischen Sequenzen verschiedener Cluster weiß. Zwischen den beiden Haplotypgruppen unterscheiden sich die Sequenzen um sechs bis elf Nukleotide, im Mittel um 8,6, das entspricht einer mittleren Sequenzdivergenz von 2,0% (n=430 Nukleotide). Dieser Wert ist nicht mit den meist in der Literatur angegebenen Werten für das Cytochrom *b*-Gen oder das gesamte Mitochondriengenom zu vergleichen, da die Evolutionsgeschwindigkeit der Domäne I der Kontrollregion wesentlich höher ist (vgl. Kapitel 3).

Die Darstellung zeigt, dass Armenienmöwen in der Türkei genetisch nicht einheitlich sind (denn dann wäre die Verteilung eingipfelig), sondern zwei deutlich verschiedenen genetischen Linien (Haplotypgruppen) angehören. Eine dieser Linien besteht aus drei Haplotypen (Abb. 5.5, Cluster *M*, grau markiert bzw. eingerahmt), die bei *L. michahellis* weit verbreitet sind und mit Sicherheit auf Introgression (Genfluss) zwischen Mittelmeer- und Armenienmöwe zurückzuführen sind.

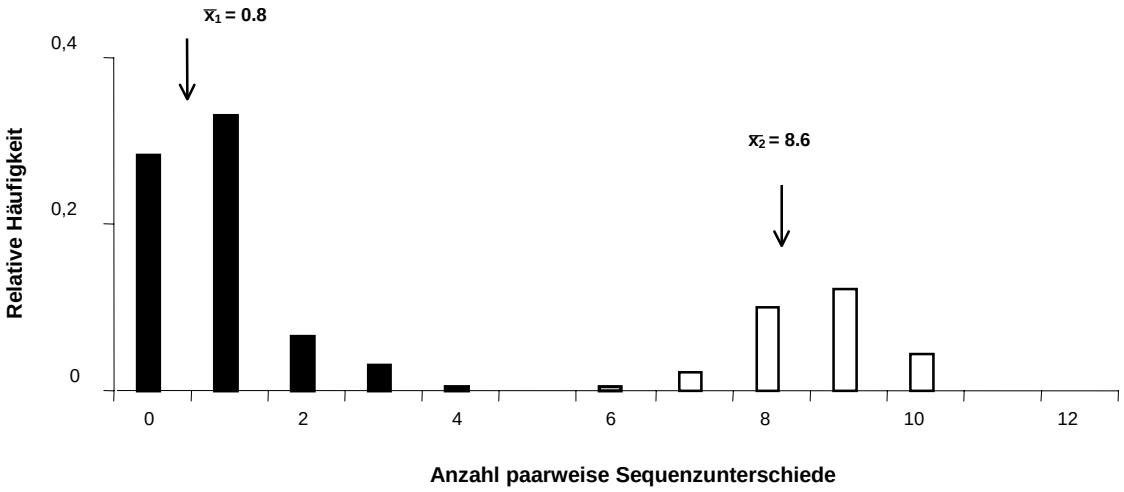


Abb. 5.7: Relative Häufigkeit paarweiser Sequenzunterschiede zwischen den 97 mitochondrialen Haplotypen, die insgesamt in den drei türkischen Kolonien Tuz, Van und Beysehir Gölü gefunden wurden. *Schwarze Säulen*: Anzahl Nukleotidunterschiede zwischen Haplotypen desselben Clusters (Abb. 5.5); *Weiße Säulen*: Unterschiede zwischen Haplotypen verschiedener Cluster.

Verwandtschaft der Taxa

Der Haplotyp-Stammbaum (Abb. 5.5) enthält zum Vergleich je einen repräsentativen Vertreter von drei weiteren Taxa, deren mögliche Verwandtschaft zu *armenicus* in der Literatur diskutiert wurde (*cachinnans*, *barabensis*, *taimyrensis*). Diese drei sind gegenüber *michahellis/armenicus* gesichert monophyletisch, d.h. dass unter den hier untersuchten fünf Formen *michahellis* das Schwestertaxon von *armenicus* ist. Die Armenienmöwe ist also eindeutig mit der Mittelmeermöwe nächstverwandt, nicht mit Steppenmöwe (*cachinnans*), Barabamöwe (*barabensis*) oder Tundramöwe (*taimyrensis*).

5.3. Diskussion

5.3.1. Ist die Armenienmöwe ein distinktes Taxon?

Die Armenienmöwe ist mit der Mittelmeermöwe nächstverwandt. Die Brutgebiete beider Formen kommen am Südrand des anatolischen Hochplateaus in Kontakt, und Introgression ist nachgewiesen. Deshalb interessiert hier in erster Linie die Frage, wie scharf sich diese beiden Taxa voneinander trennen lassen.

In allen untersuchten Einzelmerkmalen unterscheiden sich Armenienmöwen nur graduell von Mittelmeermöwen. Durchgehende qualitative Unterschiede wurden nicht gefunden. Am ehesten kommt als qualitativer Unterschied der schwarze Schnabelfleck in Frage: Er ist bei adulten *michahellis* zur Brutzeit selten (genaue quantitative Angaben fehlen!), bei *armenicus* dagegen häufig (>98%) und meist (93%) deutlich ausgeprägt. Um Altvögel mit hoher Wahrscheinlichkeit (>99%) nach dem Phänotyp korrekt einem der beiden Taxa zuordnen zu können, benötigt man jedoch mindestens zwei Merkmale. Den höchsten diagnostischen Wert haben das Vorhandensein einer schwarzen Schnabelmarkierung und die Zeichnung der Handschwingenspitzen (H 10 / H 9). Phänotypisch intermediäre Vögel (hinsichtlich Schnabelfärbung, Handschwingenmuster, Graustufe des Mantels) kommen an mindestens einem Brutplatz (Beysehir Gölü) häufiger vor, sind aber im Kernareal von *armenicus* sehr selten (<1%).

Körpermaße (Flügellänge, Kopf-Schnabel-Länge, Tarsus, Mittelzehe) sind zur Unterscheidung nur brauchbar, wenn das Geschlecht bekannt ist und zeigen auch dann noch erhebliche Überlappung zwischen *michahellis* und *armenicus* (vgl. Abb. 5.4). Andere in der Literatur genannte Merkmale (Irisfarbe, Kopfform, Mantelfarbe) sind zur Unterscheidung dieser beiden Taxa allenfalls schwache Hilfskriterien.

Phänotypisch ist *armenicus* auch *barabensis* sehr ähnlich, doch sind die Brutgebiete geographisch völlig voneinander getrennt und die Taxa mitochondrien-genetisch zu 100% diagnostizierbar (nach bisher vorliegenden Stichproben von 32 *barabensis* und 97 *armenicus*). Das heißt natürlich nicht unbedingt, dass sie sich wie biologische Arten verhalten würden, wenn ihre Brutgebiete durch Arealveränderungen in Kontakt kämen. Feldornithologisch sind adulte *barabensis* von *armenicus* nur anhand einer Kombination von Schnabel- und Handschwingenmerkmalen zu unterscheiden: *barabensis* fehlt zur Brutzeit normalerweise eine schwarze Schnabelbinde, dagegen hat sie häufiger auf zwei Handschwingen einen weißen Subterminalfleck (statt nur auf H 10).

5.3.2. Variabilität der phänotypischen Merkmale

Schnabelfärbung

In der Ausprägung des schwarzen Schnabelflecks gibt es eine hohe Variationsbreite, sowohl innerhalb einzelner Brutkolonien als auch zwischen den Jahreszeiten (außerhalb der Brutzeit ist der schwarze Fleck im Mittel deutlicher ausgeprägt als zur Brutzeit; GRANT 1987, SATAT & LAIRD 1992, SHIRIHAI 1996). Ein Grund für diese saisonale Variation könnte darin liegen, dass der rote Gonysfleck, der eine wichtige Funktion als Schlüsselreiz für die um Futter bettelnden Küken hat (GOETHE 1937, TINBERGEN 1958), durch die Reduktion des schwarzen Flecks zur Brutzeit stärker hervortritt.

Andere Merkmale

STEGMANN (1934) und VAURIE (1965) verwiesen auf eine breite Variation der Mantelfarbe bei adulten Armenienmöwen, was für die türkischen Kolonien nicht bestätigt wurde. Hier war die Mantelfarbe sehr einheitlich. Mit einem Wert von 8 auf der Kodak-Skala war der Mantel der türkischen Brutvögel im Mittel etwas dunkler als bei *michahellis* vom Mittelmeer (Grauwerte 6-7), deutlich dunkler als bei *cachinnans* vom Schwarzen Meer (Grauwerte 5-6, JONSSON 1998a), aber nicht zu unterscheiden von *barabensis* (Grauwerte 8; eigene Daten aus Kasachstan). Dies scheint der Hauptgrund zu sein, warum verwandtschaftliche Beziehungen von *armenicus* vor allem zu *barabensis* und *taimyrensis* vermutet wurden (BUTURLIN 1934, STEGMANN 1934, FILCHAGOV 1993, BUZUN 1993, BOURNE 1993, 1996), die einen ähnlich dunkel grauen Mantel haben, nicht aber zu *michahellis*, mit der *armenicus* in Wirklichkeit nächstverwandt ist.

Das Färbungsmuster der Handschwingen ist mit dem hohen Schwarzanteil *michahellis* am ähnlichsten, doch haben 80% der *michahellis*-Vögel einen zweiten weißen Fleck auf der H 9 und mehr Weiß in der Spitze von H 10 (Abb. 5.2). Die Anzahl der Handschwingen mit weißem Subterminalfleck ist, anders als es JONSSON (1998a) für *barabensis* suggeriert, kein sicheres Geschlechtsmerkmal: Die molekulare Geschlechtsbestimmung von 21 *barabensis*-Vögeln aus Kasachstan zeigte, dass bei beiden Geschlechtern Vögel mit einem oder zwei weißen Subterminalflecken vorkommen. Dasselbe gilt für *armenicus* (n=10 molekular geschlechtsbestimmte Individuen).

Der Wert von Irisfarbe (angeblich immer dunkel) und Kopfform (angeblich immer rundlich mit steiler Stirn) als Kennzeichen adulter Armenienmöwen wurde bisher völlig überbewertet. Die Irisfarbe unterliegt breitester Variation von ganz hell bis ganz dunkel, die Kopfform ist geschlechtsabhängig. Als Grund für die auffällige Fehleinschätzung bei der Kopfform wäre denkbar, dass in Israel, wo die meisten Studien zur Bestimmung der Armenienmöwe durchgeführt wurden (HUME 1983, GRANT 1987, SATAT & LAIRD 1992, SHIRIHAI & CHRISTIE 1996), hauptsächlich Weibchen überwintern, die eine rundere Kopfform und kleinere Schnäbel besitzen. Unterschiede im Zugverhalten zwischen den Geschlechtern sind auch bei anderen Großmöwen bekannt (R. KLEIN, pers. Mitt.) und könnten durchaus zu einer weitgehenden Trennung der Geschlechter im Winterquartier führen.

5.3.3. Populationsgenetik

Die Daten zur mitochondrialen Populationsgenetik der Armenienmöwe zeigen deutlich, dass es asymmetrische Introgression von der (offenbar von Süden her) ins anatolische Binnenland einwandernden Mittelmeermöwe in die *armenicus*-Population hinein gibt. Nicht der hohe Anteil von *michahellis*-Haplotypen am Beysehir Gölü ist dafür ausschlaggebend, denn dies ist eindeutig eine gemischte Kolonie, und es gelang nicht, die beprobten Küken (und damit die Haplotypen) dem einen oder anderen Phänotyp der Eltern zuzuordnen. Am Tuz Gölü jedoch, wo phänotypisch ausschließlich Armenienmöwen brüten, sind *michahellis*-Haplotypen ebenfalls mit 14% vertreten, d.h. hier sind entsprechende Allele in die *armenicus*-Population eingewandert. Dies bedeutet, dass weibliche Hybriden zwischen beiden Arten fertil sind (mtDNA wird nur über Weibchen vererbt) und sich zumindest mit Armenienmöwen tatsächlich rückkreuzen.

Allerdings scheint diese Introgression (noch?) nicht bis ins ostanatolische Kernbrutgebiet von *armenicus* vorgedrungen zu sein. Vielmehr nimmt die Häufigkeit von *michahellis*-Haplotypen von West (Beysehir) nach Ost (Van) stark ab. Dies könnte bedeuten, dass die Introgression ein relativ junger Prozess ist, Mittelmeermöwen also erst in jüngster Vergangenheit ins anatolische Binnenland einzuwandern begannen. Ähnliche Einwanderungstendenzen ins Binnenland sind für diese Art auch in Mitteleuropa dokumentiert (Schweiz, Bodensee, Österreich, Bayern, Oberrheinebene: GÉROUDET 1968, DVORAK 1991). Es wäre aber auch möglich, dass zusätzlich eine intrinsische Genflussbarriere (z.B. Paarungs- oder Fertilitätsschranken) die Introgression zwischen *michahellis* und *armenicus* einschränkt, doch lässt sich dies bisher nicht nachweisen.

5.3.4. Schlussfolgerungen zur Systematik und zum Artstatus

Die Armenienmöwe ist eindeutig das Schwestertaxon der Mittelmeermöwe *L. michahellis* (mit den Subspezies *michahellis* und *atlantis*). Sie hat einen Grad der Differenzierung (von der Mittelmeermöwe) erreicht, der zwischen dem voller Biospezies und Subspezies liegt. Die reproduktive Isolation von *L. michahellis* ist unvollständig, es findet zumindest einseitig Genfluss von *michahellis* zu *armenicus* statt. Abseits des Kontaktgebiets (Beysehir Gölü) sind Altvögel zur Brutzeit anhand einer Kombination von mehreren phänotypischen Merkmalen zu fast 100% diagnostizierbar, aber nicht alle Merkmale sind im Freiland anwendbar, da sie entweder sichere Geschlechtsbestimmung (Körpermaße) oder eine sonagraphische Analyse der Rufe (KOCUM 2000) voraussetzen. Alle zur Charakterisierung von *armenicus* herangezogenen morphologischen Einzelmerkmale (Kopfform, Größe, Schnabelfärbung, Flügelmuster) weisen auch innerhalb einzelner Brutkolonien breite, kontinuierliche Variationen auf, deren Extreme mit der jeweiligen für *michahellis* typischen Merkmalsausprägung übereinstimmen. Nur die Kombination mehrerer dieser Merkmale, insbesondere im Winter, wenn der schwarze Schnabelfleck bei *armenicus* stärker ausgeprägt ist, macht eine Abgrenzung der meisten Individuen von *michahellis* möglich. Dabei bleibt jedoch unbekannt, welcher Anteil von Individuen aus klassischen *armenicus*-Brutgebieten auch im Winter von *michahellis* nicht zu unterscheiden ist.

Somit erfüllt die Armenienmöwe die beiden Kriterien für biologischen Artstatus (Diagnostizierbarkeit, reproduktive Isolation) nur zum Teil: Im Kontaktbereich mit *L. michahellis* gibt es intermediäre Phänotypen und (wenn auch eingeschränkten) Genfluss. Ein drittes Kriterium, das für

den Status als phylogenetische Art von Bedeutung ist, nämlich die Monophylie der mitochondrialen Haplotypen, ist aufgrund von Introgression nicht erfüllt (Abb. 5.5), eine direkte Folge der fehlenden reproduktiven Isolation. Die Armenienmöwe ist daher keine volle biologische Art. Ob man ihr den Rang einer Semispezies (=nicht völlig reproduktiv isoliertes Taxon, das mit seinem Schwestertaxon in eingeschränktem Genaustausch steht) zubilligt, ist eine willkürliche Entscheidung. Dafür sprechen drei Gründe: Fast alle Vögel in Brutgebieten, wo typische *armenicus*-mtDNA (Haplotyp-Cluster *A*, Abb. 5.5) vorherrscht, lassen sich einem Phänotyp zuordnen (schwarzer Schnabelfleck, weißer Spiegel nur auf H 10, relativ geringe Kopf-Schnabel-Maße), der von *michahellis* (und allen anderen Taxa) erkennbar verschieden ist. In diesen Kerngebieten ist also der Grad der Diagnostizierbarkeit sehr hoch. Trotz anhaltenden (oder in jüngerer Vergangenheit erneut eingetretenen), zumindest einseitigen Genflusses lässt sich eine deutliche genetische Differenzierung zwischen *michahellis* und *armenicus* nachweisen. Ob dies allein darauf beruht, dass der sekundäre Kontakt zwischen beiden sehr rezent, die genetische Vermischung also noch unvollständig ist, oder ob zusätzlich intrinsische Genflussbarrieren (Paarungs- oder Fertilitätsschranken) dafür verantwortlich sind, ist bisher völlig unbekannt.

In der Haplotyp-Phylogenie sind *armenicus*-Typen zwar gegenüber *michahellis*-Typen nicht monophyletisch, aber es gibt eine sehr deutliche Spaltung in zwei Haplotypencluster. Die genetische Divergenz zwischen den beiden Clustern (im Mittel 2,0%) ist im Vergleich zu anderen Großmöwen beträchtlich (zum Vergleich *cachinnans* vs. *barabensis*=1,2%; *taimyrensis* vs. *barabensis*=0,2%, aber *michahellis* vs. *cachinnans*=3,0%, siehe Tab. 6.4).

Demnach ist die Einstufung der Armenienmöwe als Semispezies gut begründet. Mittelmeer- und Armenienmöwe stehen also in einem ähnlichen Verhältnis zueinander wie Rabenkrähe *Corvus corone corone* und Nebelkrähe *C. c. cornix*, bei denen ebenfalls keine auffälligen Fertilitätsschranken bekannt sind, wobei allerdings der geographische Kontakt zwischen den beiden Möwenarten viel enger begrenzt ist. Die heutige Situation zwischen *michahellis* und *armenicus* könnte auch vergleichbar sein mit der zwischen Silber- und Heringsmöwe in den 1920er und 1930er Jahren, als die Heringsmöwe auf den westfriesischen Inseln einwanderte und dort über mehrere Jahre vereinzelt mit der Silbermöwe hybridisierte (HAVERSCHMIDT 1942, HAFFER 1982, GOETHE 1991). Im Lauf der Jahrzehnte hat die Häufigkeit solcher Hybridisation eindeutig abgenommen. In welche Richtung sich die Beziehungen zwischen Mittelmeer- und Armenienmöwe entwickeln werden, Etablierung einer stabilen Hybridzone (wie bei den Krähen) oder Verstärkung der reproduktiven Isolation (wie bei Silber- und Heringsmöwe), ist völlig offen.

6. Ergebnisse und Diskussion

Teil IV: Populationsgenetik der „Weißkopfmöwen“ - Genetische Differenzierung, molekulare Populationsstruktur und phylogeographische Beziehungen innerhalb der *L. cachinnans* - Gruppe

6.1. Zielstellung

Traditionell wurden die Möwen der Paläarktis unterteilt in hellmantlige Silbermöwen (*L. argentatus*), die in Europa und Nordamerika brüten, und dunkelmantlige Heringsmöwen (*L. fuscus*), die in NW-Europa sympatrisch mit Silbermöwen vorkommen. Eine dritte, ebenfalls hellmantlige Form, die „Weißkopfmöwe“ (*L. cachinnans*), bewohnt die südliche Paläarktis und wurde lange Zeit als Unterart der Silbermöwe angesehen (STEGMANN 1934, DEVILLERS 1983, IL'ICEV & ZUBAKIN 1990). DWIGTH (1925) verwies erstmals auf die Sonderstellung von *cachinnans* und trennte sie als eigenständige Art ab. Die Unterteilung der Großmöwen in drei Arten, nämlich *argentatus*, *fuscus* und *cachinnans*, wird mittlerweile allgemein akzeptiert (STRESEMANN & TIMOFEEFF-RESSOVSKY 1947, HAFFER 1982, DEL HOYO et al. 1996). Zunehmend sind die „Weißkopfmöwen“ ins Blickfeld der Ornithologen gerückt, da sich die westlichen Formen (*atlantis* und *michahellis*) von der östlichen Nominatform *cachinnans* (*sensu stricto*) phänotypisch recht deutlich unterscheiden (GRUBER 1995, KLEIN & BUCHHEIM 1997).

In diesem Kapitel beschäftige ich mich ausschließlich mit der Populationsgenetik der südlichen „Weißkopfmöwen“, die von den atlantischen Inseln bis zur Mongolei brüten. In den Gebieten, wo es potentiellen Kontakt zu nördlichen, dunkelmantligen Formen gibt, wurden diese ebenfalls berücksichtigt: an der spanisch-französischen Atlantikküste brüten *atlantis*/*michahellis* mit *graellsii* lokal sympatrisch, und im zentralen Teil Sibiriens sind die Brutgebiete von südlichen (*cachinnans, barabensis* und *mongolicus*) und nördlichen Möwen (*heuglini, taimyrensis*) benachbart. Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

1. Gibt es Genflussbarrieren zwischen geographisch benachbarten Populationen?
2. Welche molekularen Populationsstrukturen lassen sich anhand mitochondrialer Sequenzdaten ableiten?
3. Welche phylogenetischen Verwandtschaftsverhältnisse kennzeichnen die Beziehungen zwischen den Populationen und Taxa?

6.2. Ergebnisse

In die Analyse wurden 580 Individuen der sechs „südlichen“ Taxa (*atlantis michahellis*, *armenicus*, *cachinnans*, *barabensis*, *mongolicus*) und der drei nördlichen Taxa (*graellsii*, *heuglini*, *taimyrensis*) einbezogen (Abb. 2.9, Tab. 2.2). Die 36 untersuchten Brutkolonien wurden anhand ihrer phänotypischen Merkmale und geographischen Verbreitung in 21 Populationen bzw. neun Taxa zusammengefaßt (Tab. 6.1) Am Beysehir Gölü in der SW Türkei (armBEY) und in Usbekistan (barUBK) war keine eindeutige Zuordnung der Individuen zu einem Phänotyp möglich. Am Beysehir brüteten *armenicus* und *michahellis*, in Usbekistan *cachinnans* und *barabensis* in gemischten

Tabelle 6.1: Geographische Herkunft der 580 untersuchten Individuen (siehe Abb. 2.9). Einteilung der 36 Kolonien in 23 Populationen und neun phänotypisch differenzierte Taxa (HAFFER 1982). Individuen aus gemischten Kolonien (*) konnten keinem einheitlichen Phänotypen zugeordnet werden und wurden nicht in die Analyse einbezogen.

Brutkolonie	n=	Population	Taxon	Phänotyp
Azoren	20	atlAZO		
Madeira	20	atlMDR		
Marokko	7	atlMAR	***atlantis***	
Portugal	17	atlBER	(n=94)	
Galizien	30	atlGAL		
Gibraltar	11			
Frankreich	18	micWeM		
Elsaß	12	(n=48)		
Italien	7		***michahellis***	**"*cachinnans*"-Gruppe**
Kreta	15	micEaM	(n=78)	
Malta	9	(n=30)		- hellgrauer Mantel
Rumänien	6			
Tuz See	51	armTUZ	***armenicus***	- brütet in der Süd-Paläarktis, von den atlantischen Inseln bis zur Mongolei
Van See	30	armVAN	(n=81)	
Beysehir See	16	armBEY*	--	
Rumänien	7	cacBLS		
Odessa	9	(n=16)	***cachinnans***	
Asow'sches Meer	23	cacUKR	(n=82)	
Kaspisches Meer	43	cacCSS		
Omsk	4	barKAZ	***barabensis***	
Kasachstan	32		(n=36)	
Usbekistan	10	barUBK*	--	
Ost-Mongolei	11	monEAS		
Baikalsee	7	monCNT	***mongolicus***	
Zentral-Mongolei	5	(n=12)	(n=36)	
West-Mongolei	13	monWES		
Island	9	graNAT		
Färöer-Inseln	35	(n=44)		
Nord-England	20	graUKD	***graellsii***	**"*fuscus*"-Gruppe**
Zentral-England	6	(n=26)	(n=100)	
Holland	25	graEUR		- dunkler Mantel
Frankreich	5	(n=30)		
West-Sibirien	9		***heuglini***	- brütet in der Nordwest-Paläarktis, von Island bis Taimyr
Kanin Halbinsel	14	heuKAN	(n=26)	
Petchora	3			
Taimyr	21	taiPJA	***taimyrensis***	

Kolonien. Sofern im Text nicht anders vermerkt, wurden Individuen dieser Gebiete bei den weiteren Analysen nicht berücksichtigt.

Innerhalb der hier untersuchten Teilgruppe (n=580 Individuen) waren 44 der 430 sequenzierten Positionen variabel (10,2%), 34 (7,9%) davon waren phylogenetisch informativ. Nur bei vier Substitutionen handelte es sich um Transversionen, alle anderen Nukleotidaustausche waren Transitionen (siehe Kapitel 3). Es wurden 90 distinkte Haplotypen identifiziert (HT 01 – HT 90; Anhang D und E). Zum Vergleich: die Gesamtstichprobe von 1217 Individuen umfaßte 196 Haplotypen und 75 variable Positionen.

6.2.1. Genetische Differenzierung und Genfluss zwischen den Taxa

Die Zusammensetzung und die Häufigkeiten der Haplotypen zeigten eine klare geographische Struktur (Abb. 6.1). Alle neun phänotypisch distinkten Taxa waren auch mitochondrien-genetisch signifikant voneinander differenziert, mit Ausnahme von *heuglini* vs. *barabensis* (Tab. 6.3). In der molekularen Varianzanalyse (AMOVA) wurde überprüft, welche Gruppierung der Populationen das Maximum der molekularen Varianz erklärt (Tab. 6.2).

Hypothese A - 2 Gruppen: Traditionelle Einteilung der Taxa in die hellmantlige *cachinnans* Gruppe mit den Taxa *atlantis michahellis*, *armenicus*, *cachinnans*, *barabensis* und *mongolicus* sowie eine zweite, dunkelmantlige *fuscus* Gruppe (*graellsii*, *heuglini* und *taimyrensis*). Nur 24,3% der Gesamtvarianz ließ sich auf Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen zurückführen (Tab. 6.2, Spalte A), während 60,5% der molekularen Varianz zwischen den Populationen innerhalb der zwei Gruppen bestand.

Hypothese B – 3 Gruppen: Die südlichen „Weißkopfmöwen“ wurden in zwei Gruppen unterteilt, wobei die westlichen, atlantisch-mediterranen Taxa (*atlantis michahellis* und *armenicus*) und die zentralasiatischen Taxa (*cachinnans*, *barabensis* und *mongolicus*) den nördlichen Taxa (*graellsii*, *heuglini* und *taimyrensis*) gegenübergestellt wurden. Diese Gruppierung verdoppelte den Anteil der erklärten Varianz zwischen den Gruppen auf 60,5% (Tab. 6.2, Spalte B). Die Unterschiede zwischen den Taxa einer Gruppe waren mit 25,2% noch immer sehr hoch.

Hypothese C – 9 Gruppen: Jedes Taxon wurde unabhängig von allen anderen Taxa gruppiert, entsprechend der phänotypisch-taxonomischen Grenzen zwischen den Populationen. Bei der Einteilung in neun Gruppen erhöhte sich der Anteil der erklärten Varianz zwischen den Gruppen auf 81%, während die Varianz innerhalb der Taxa nur noch 2,6% betrug (Tab. 6.2, Spalte C).

Hypothese D – 6 Gruppen: Da die mitochondrien-genetischen Unterschiede zwischen einigen phänotypisch differenzierten Taxa gering sind, wurde die Zahl der Gruppen auf sechs reduziert, nämlich (1) *atlantis-michahellis*; (2) *armenicus*; (3) *cachinnans*; (4) *mongolicus*; (5) *barabensis-heuglini-taimyrensis* und (6) *graellsii* (Tab. 6.2, Spalte D). Der Anteil erklärter Varianz zwischen den Gruppen betrug nun 81,9%, d.h. mit einer minimalen Anzahl von sechs Gruppen ließ sich ein Maximum der Gesamtvarianz auf Unterschiede zwischen den Gruppen zurückführen.

Tabelle 6.2: Analyse der Molekularen Varianz (AMOVA) der *L. cachinnans* - *L. fuscus*-Gruppe. Einteilung der 21 untersuchten Populationen in **A)** zwei Gruppen: südliche "*cachinnans*" und nördliche "*fuscus*"; **B)** drei Gruppen: atlantisch-mediterrane "*michahellis*" (*atlantis, michahellis* und *armenicus*), zentralasiatische "*cachinnans*" (*cachinnans, barabensis* und *mongolicus*) und Nordwest-Paläarktische "*fuscus*" (*graellsii, heuglini* und *taimyrensis*); **C)** entsprechend den neun phänotypisch differenzierten Taxa und **D)** sechs Gruppen, nämlich (1) *atlantis-michahellis;* (2) *armenicus;* (3) *cachinnans;* (4) *mongolicus;* (5) *heuglini-taimyrensis-barabensis*; (6) *graellsii.*

Molekulare Varianz	**(A)** 2 Gruppen	**(B)** 3 Gruppen	**(C)** 9 Gruppen	**(D)** 6 Gruppen
zwischen den Gruppen	24,3%	60,5%	81,0%	81,9%
innerhalb der Gruppen	60,5%	25,2%	2,6%	2,6%
innerhalb der Populationen	15,2%	14,3%	16,4%	15,5%

Tabelle 6.3: Mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen den Taxa (AMOVA für alle paarweisen Vergleiche). *Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen (p*<0,05*);* **-***:* keine signifikante Differenzierung*;* **+***:* signifikante Differenzierung zwischen den Populationen. *Unterhalb der Diagonalen:* Φ_{ST}-Werte (Kimura 2-P-Distanz, α=0,04, t_s:t_v=1:17).

	atl	mic	arm	cac	bar	mon	gra	heu	tai
atlantis		+	+	+	+	+	+	+	+
michahellis	0,134		+	+	+	+	+	+	+
armenicus	0,736	0,775		+	+	+	+	+	+
cachinnans	0,750	0,784	0,808		+	+	+	+	+
barabensis	0,799	0,868	0,873	0,367		+	+	-	+
mongolicus	0,839	0,890	0,860	0,634	0,857		+	+	+
graellsii	0,847	0,894	0,902	0,554	0,526	0,856		+	+
heuglini	0,783	0,855	0,862	0,371	0,031	0,841	0,461		+
taimyrensis	0,753	0,824	0,839	0,364	0,148	0,706	0,483	0,088	

Mit anderen Worten: Die taxonomischen Grenzen, basierend auf phänotypischen Merkmalen wie Mantel- oder Beinfarbe, spiegeln sich auch in der molekularen Differenzierung zwischen den Taxa wider. Einzige Ausnahme war *barabensis*, die trotz ihrer dunkleren Mantelfarbe und südlichen Verbreitung den Formen der nördlichen Eismeerküsten (*heuglini* und *taimyrensis*) näher stand (s.u.).

Als Maß für die genetische Differenzierung zwischen benachbarten Populationen, oder anders ausgedrückt, für die Genflussraten zwischen den Populationen, wurden die Φ_{ST}-Werte der AMOVA (Tab. 6.3), die Häufigkeiten der Haplotypen pro Population und Taxon (Abb. 6.1) sowie die Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede (Abb. 6.2, Tab. 6.4) herangezogen. Der Grad der Differenzierung war in den einzelnen Kontaktzonen sehr unterschiedlich:

1) Vollkommene Segregation (Trennung) der mitochondrialen Haplotypen wurde zwischen *michahellis* und *cachinnans* gefunden. Beide Taxa kommen am westlichen Schwarzen Meer in Kontakt und sind phänotypisch voneinander differenziert (KLEIN & BUCHHEIM 1997). Obwohl >80 Proben pro Taxon (gesamtes Brutgebiet) untersucht wurden, ließ sich keine mitochondriale Introgression nachweisen.

2) Fast vollständiges Fehlen mitochondrialen Genflusses wurde zwischen *graellsii* und *michahellis*/*atlantis* an der nordöstlichen Atlantikküste nachgewiesen. *Graellsii* überwintert in den Brutgebieten von *atlantis*, und immature *graellsii* bleiben auch in den Sommermonaten im südlichen Nordatlantik. Zunehmend brüten *graellsii* und *michahellis* sympatrisch an der französischen Atlantikküste (YÉSOU 1991). Zwei *graellsii*-Haplotypen wurden in der *atlantis* Stichprobe nachgewiesen (n=94), einer auf den Berlenga Inseln vor Portugal, der andere in Marokko. Beide Kolonien liegen außerhalb des Brutgebietes von *graellsii*. Zwar wurde bereits mehrfach Hybridisierung zwischen *atlantis* und *graellsii* beobachtet, aber möglicherweise waren diese beiden Individuen auch phänotypische „reine“ *graellsii* (so dass Introgression nicht als sicher angesehen werden kann; VAN SWELM, pers. Mitt.).

3) *Michahellis* und *atlantis* sind durch viele gemeinsame Haplotypen charakterisiert (Abb. 6.1 & Abb. 6.7), die sich aber in ihren Häufigkeiten signifikant zwischen den Taxa unterscheiden (Tab. 6.3).

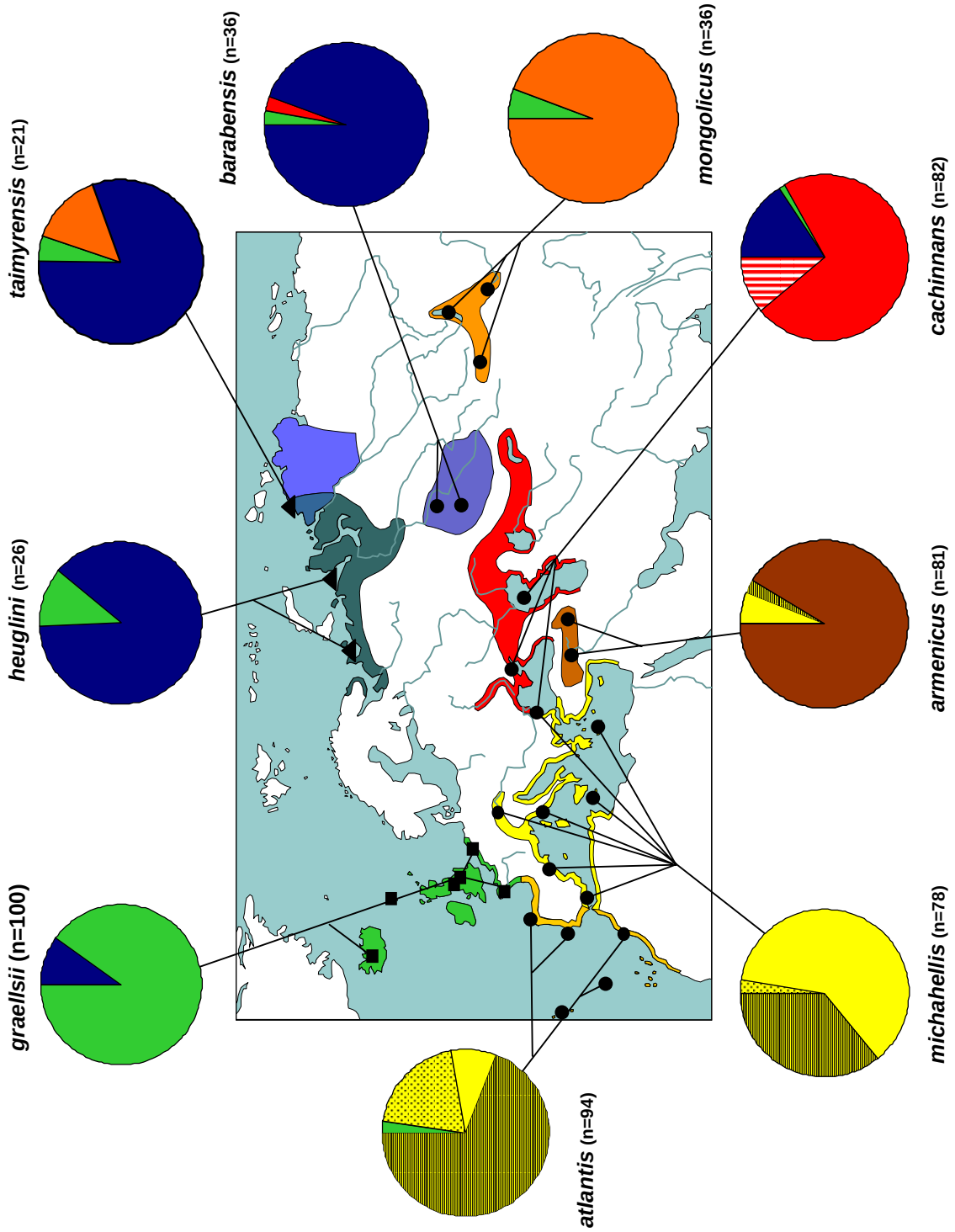


Abb. 6.1: Relative Häufigkeiten von mitochondrialen Haplotypen (430 sequenzierte Basenpaare der Kontrollregion). Populationen desselben Phänotypen wurden gruppiert, d.h. alle atlantischen Populationen zu *atlantis;* alle mediterranen Populationen, die Binenlandkolonie vom Oberrhein und die Dachbrüter vom westlichen Schwarzen Meer zu *michahellis*; die türkischen Brutvögel vom Tuz und Van Gölü zu *armenicus*; alle *cachinnans*-Kolonien vom Schwarzen und Kaspischen Meer; *barabensis* aus Kasachstan; *mongolicus* aus der Mongolei und vom Baikalsee sowie die nördlichen Taxa *taimyrensis*, *heuglini* und *graellsii*.

Tabelle 6.4: Paarweise Sequenzunterschiede zwischen den Haplotypen der untersuchten Taxa (einfache p-Distanz, keine Korrektur für Transversionen). *Oberhalb der Diagonalen:* Werte in % (bezogen auf 430 sequenzierte Positionen der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion). *Unterhalb der Diagonalen:* Mediane der Nukleotidunterschiede.

	atl	mic	arm	cac	bar	mon	gra	heu	tai
atlantis		0,46	1,86	3,02	2,09	2,56	2,33	2,09	2,09
michahellis	2		1,86	3,02	2,09	2,56	2,33	2,09	2,09
armenicus	8	8		3,48	2,79	2,56	2,79	2,79	2,79
cachinnans	13	13	15		1,16	1,86	1,40	1,16	1,16
barabensis	9	9	12	5		0,93	0,23	0,23	0,23
mongolicus	11	11	11	8	4		1,16	0,93	0,93
graellsii	10	10	12	6	1	5		0,23	0,48
heuglini	9	9	12	5	1	4	1		0,23
taimyrensis	9	9	12	5	1	4	2	1	

4) Bei der Armenienmöwe wurde einseitiger Genfluss von *michahellis* in das Brutgebiet von *armenicus* beobachtet (Kapitel 5). Die Stichprobe aus der Tuz Gölü – Population enthielt 13,7% *michahellis*-Haplotypen (n=51), während die Population am östlicher gelegenen Van Gölü zu 100% aus *armenicus*-Haplotypen bestand (n=30). In keiner der beiden Kolonien waren *michahellis*-Phänotypen zu beobachten (LIEBERS & HELBIG 1999). Am Beysehir Gölü brüten beide Formen gemeinsam, aber es bleibt ungeklärt, ob es zu Hybridisierung kommt oder ob die Vögel in „reinen Paaren" sympatrisch brüten.

5) Die östlichen Taxa *cachinnans*, *armenicus*, *barabensis* und *mongolicus* sind genetisch signifikant voneinander differenziert. Da über die genaue Ausdehnung der jeweiligen Brutgebiete wenig bekannt ist, wissen wir nicht, inwiefern die einzelnen Formen in geographischen Kontakt kommen. *Cachinnans* und *armenicus* sind vollkommen allopatrisch, zwischen ihnen wurde keine Introgression festgestellt. Zwischen *cachinnans* und *barabensis* beschrieb JOHANSEN (1960) klinale Intergradation, d.h. fließende Übergänge in einer sekundären Kontaktzone, jedoch fand ich nur einen *cachinnans*-Haplotyp in der Stichprobe von *barabensis* (n=36). Die *cachinnans*-Stichprobe (n=82) bestand zu 16% aus dem Haplotypen Nr. 01, der in den nördlichen Populationen dominierte (61% in *heuglini*, 38% in *taimyrensis*) und den 81% aller *barabensis*-Vögel trugen. Es kann daher nicht unterschieden werden, ob der Haplotyp Nr. 01 durch Introgression aus dem Norden (*heuglini*) oder Osten (*barabensis*) in die *cachinnans*-Population eingewandert ist. Phänotypisch trugen die Brutvögel aus der Ukraine und vom Kaspischen Meer ausschließlich *cachinnans*-Merkmale (eigene Beobachtungen).

In Usbekistan (Brutgebiet von *cachinnans*; GLUTZ & BAUER 1982) wurden in zwei 300 km voneinander entfernten Kolonien entweder *barabensis*- oder *cachinnans*-Haplotypen gefunden (n=5 pro Kolonie). Da keine Informationen über die phänotypischen Merkmalsausprägungen dieser Brutvögel vorliegen, ist unklar, ob *barabensis* und *cachinnans* hier in getrennten Kolonien leben bzw. sich assortativ verpaaren, oder ob es in Usbekistan zu Hybridisierung kommt.

Die Segregation mitochondrialer Haplotypen zwischen *barabensis* und *mongolicus* betrug nahezu 100%. Die Herkunft des Haplotypen Nr. 11 in der westlichen *mongolicus*-Population (zwei Individuen, Abb. 6.1), typisch für die nördlichen *fuscus*-Taxa (siehe Kapitel 7), bleibt unklar. In *barabensis* wurde dieser Haplotyp bei einem Individuum gefunden.

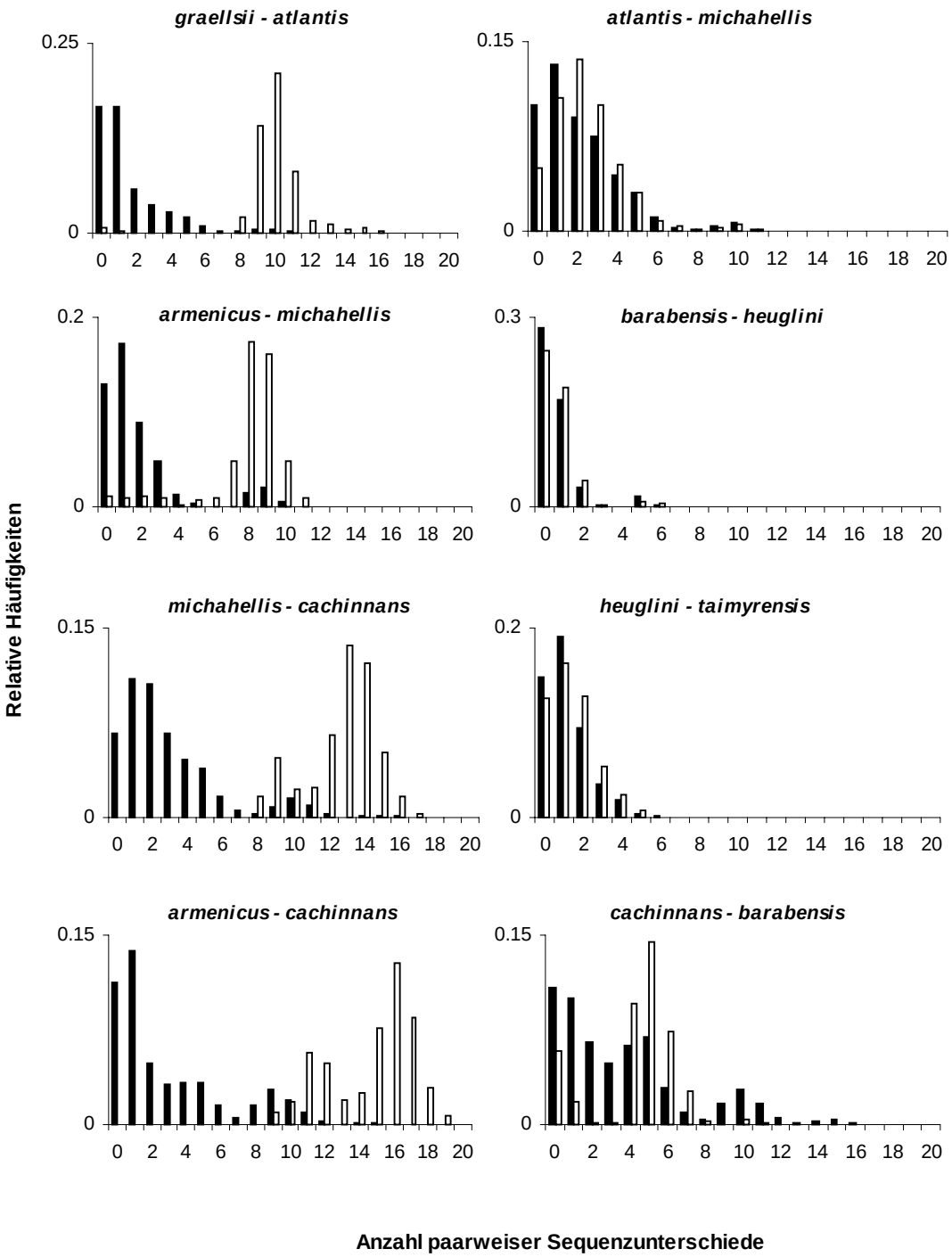


Abb. 6.2: Relative Häufigkeit paarweiser Sequenzunterschiede (einfach p-Distanz, keine Korrektur für Transversionen) zwischen geographisch benachbarten Taxa.

Schwarze Säulen: Summe der relativen Sequenzunterschiede innerhalb der zu vergleichenden Taxa; *Weiße Säulen:* Summe der relativen Sequenzunterschiede zwischen den Taxa (siehe Tab. 6.4).

6) Erstaunlicherweise wurde auf der mitochondrialen Ebene keine Differenzierung zwischen *barabensis* und *heuglini* festgestellt (Tab. 6.3). Der Haplotyp Nr. 01 dominierte in beiden Taxa (81% bzw. 61%), und war auch bei *taimyrensis* häufig (38%). Es ist nicht bekannt, ob die Brutareale von *heuglini* und *barabensis* in Kontakt kommen, aber andauernder Genfluss ist unwahrscheinlich, da sich die Taxa phänotypisch unterscheiden und keine Nachweise von *heuglini*-artigen Individuen aus den *barabensis*-Brutkolonien (und umgekehrt) vorliegen (STEGMANN 1934, JOHANSEN 1960).

Die Divergenz zwischen den mitochondrialen Haplotypen in geographisch benachbarten Taxa wurde anhand der Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede dargestellt (Abb. 6.2). Der Grad der Divergenz der Haplotypen innerhalb (schwarze Balken) und zwischen den Taxa (offene Balken) variierte beträchtlich: Bei manchen Vergleichen gab es zwei deutlich getrennte Häufigkeitsmaxima, z. B. *graellsii* vs. *atlantis* oder *armenicus* vs. *michahellis*, bei anderen aber nahezu perfekte Überlappung, z. B. *barabensis* vs. *heuglini* oder *heuglini* vs. *taimyrensis*. Die Zahl der Nukleotidpositionen, an denen sich die Haplotypen zweier Taxa entlang des 430 bp langen Abschnitts der Kontrollregion im Mittel (Median) unterschieden, variierte von einer bis zu 15 Positionen (Tab. 6.4). Das entspricht einem maximalen Sequenzunterschied von 3,5% in der Domäne I der Kontrollregion. Interessanterweise wurde zwischen den Taxa, die am stärksten divergierten (*cachinnans* vs. *armenicus* und *cachinnans* vs. *michahellis*), kein mitochondrialer Genfluss nachgewiesen, während zwischen weniger differenzierten Formen (z.B. *michahellis* vs. *armenicus*) offensichtlich eingeschränkter Genfluss vorkommt.

6.2.2. Populationsstrukturen innerhalb der Taxa

Die Populationsstruktur innerhalb der Taxa, d.h. die genetische Differenzierung zwischen Populationen desselben Phänotyps, wurden in drei geographischen Gruppen analysiert: den atlantisch-mediterranen, zentralasiatischen und den nordwest-paläarktischen Formen.

Die atlantisch-mediterranen Formen *atlantis, michahellis*, *armenicus*

Die Populationsdifferenzierung innerhalb der atlantis/*michahellis*-Gruppe entsprach nicht vollkommen den taxonomischen Grenzen (Abb. 6.3). Innerhalb von ***atlantis*** (Tab. 6.5) war die Population der Azoren signifikant differenziert von der Madeiras. Andererseits gab es weder eine Differenzierung zwischen den Populationen von Madeira und Marokko noch zwischen den Azoren und Galizien. Nah verwandt mit der letzten Gruppe (Azoren/Galizien), aber dennoch signifikant verschieden, waren die Vögel der portugiesischen Küste (Berlenga-Inseln). Die geographische Entfernung zwischen den *atlantis*-Kolonien korreliert nicht mit der Φ_{ST}-Werten (r^2=0,22; p=0,55 [95%, FG=8], n.s.).

Die geographische Verteilung der Haplotypen unter den Populationen (Abb. 6.3) spiegelt die Grenzen zwischen den Taxa nicht eindeutig wider: In den 12 *atlantis/michahellis*-Populationen wurden 28 Haplotypen gefunden (sowie Haplotyp Nr. 11, der auf Introgression von *graellsii* zurückzuführen ist). Im UPGMA-Stammbaum (Abb. 6.3 A) bilden sie vier Cluster, die Segregation zwischen den Populationen zeigen. Die mit Nr. 43 verwandten Haplotypen (weiß in Abb. 6.3 A) und die Haplotypen Nr. 66 und Nr. 76 (punktiertes Muster) kamen hauptsächlich auf Madeira und in Marokko vor. Die mit Nr. 38 verwandten Haplotypen (graue Schraffur) wurden nur im Mittelmeer sowie am Oberrhein und

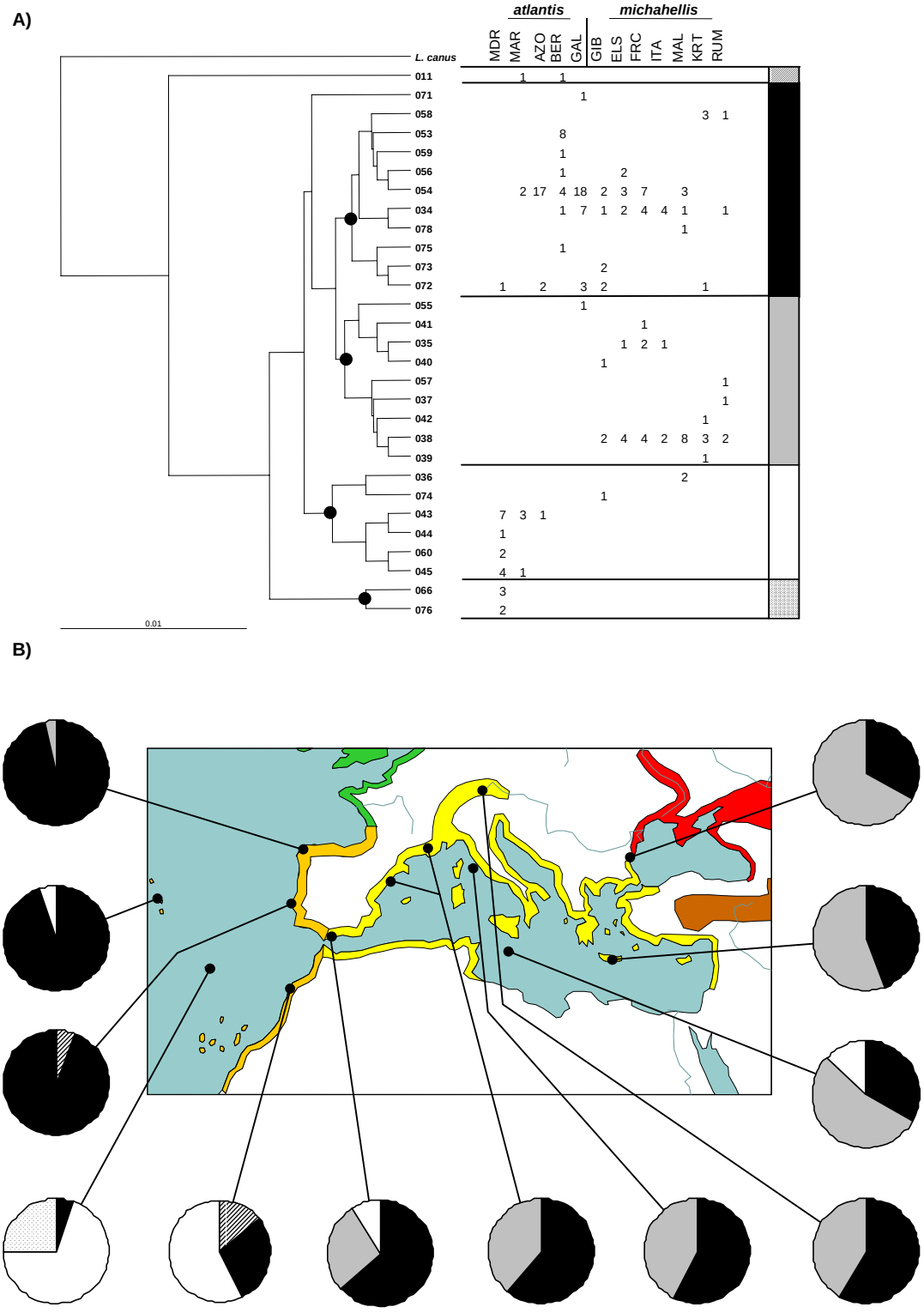


Abb. 6.3: A) Stammbaum aller Haplotypen (UPGMA, Kimura 2-P-Distanz, α=0,04), die in den Taxa *atlantis* oder/ und *michahelis* gefunden wurden. Häufigkeiten der Haplotypen pro Kolonie und Kodierung der vier Haplotyp-Untergruppen. **B)** Relative Häufigkeiten der einzelnen Haplotyp-Untergruppen in den 12 *atlantis*/ *michahellis*-Kolonien (Abkürzungen siehe Tab. 6.1).

Tabelle 6.5: Mitochondrien-genetische Differenzierung (AMOVA) zwischen den untersuchten *atlantis* (atl), *michahellis* (mic) und *armenicus* (arm) Populationen (Abkürzungen, siehe Tab. 6.1).
Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen (p<0,05); **-**: keine signifikanten Differenzierung; **+**: signifikante Differenzierung zwischen den Populationen. *Unterhalb der Diagonalen:* Φ_{ST}-Werte (Kimura 2-P-Distanz, α=0,04, t_s:t_v=1:17).

	MDR	MAR	BER	GAL	AZO	GIB	FRC	ELS	ITA	MAL	KRT	RUM	BEY	TUZ	VAN
atlMDR		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
atlMAR	0,08		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
atlBER	0,37	0,27		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
atlGAL	0,38	0,47	0,16		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
atlAZO	0,37	0,47	0,17	0,01		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
micGIB	0,24	0,29	0,21	0,12	0,18		-	-	+	+	-	-	+	+	+
micFRC	0,29	0,33	0,26	0,19	0,32	0,11		-	-	-	-	-	+	+	+
micELS	0,27	0,29	0,22	0,18	0,30	0,10	-0,04		-	-	-	-	+	+	+
micITA	0,20	0,22	0,33	0,44	0,63	0,21	0,02	0,05		-	-	-	-	+	+
micMAL	0,27	0,29	0,34	0,38	0,48	0,21	0,06	0,04	0,00		-	-	+	+	+
micKRT	0,26	0,30	0,26	0,27	0,35	0,11	0,05	0,02	0,10	0,05		-	+	+	+
micRUM	0,26	0,25	0,28	0,39	0,52	0,16	0,05	0,01	0,11	-0,02	-0,10		-	+	+
armBEY	0,31	0,20	0,36	0,41	0,39	0,28	0,26	0,23	0,14	0,19	0,20	0,13		+	+
armTUZ	0,70	0,66	0,74	0,77	0,76	0,73	0,73	0,72	0,69	0,70	0,72	0,70	0,40		-
armVAN	0,84	0,87	0,91	0,94	0,95	0,92	0,93	0,93	0,94	0,92	0,92	0,93	0,63	0,06	

im westlichen Schwarzen Meer gefunden. Die Haplotypen des „schwarzen“ Clusters dominierten vor allem auf den Azoren, in Galizien und an der portugiesischen Küste (Berlenga-Inseln), machten aber auch im Mittelmeer über 50% aus. Der dominierende Haplotyp Nr. 54 war auf den Azoren zu 85% vertreten (n=17), während er in Galizien 60% ausmachte (n=18) und auf Berlenga 24% (n=17). D.h. die „klassische“ *atlantis*-Population der Azoren erscheint mitochondrien-genetisch näher mit den Populationen aus Galizien und vom Mittelmeer verwandt als mit *atlantis* von Madeira und Marokko. Die mitochondrialen Daten stützen daher die traditionelle Abgrenzung von *atlantis* nicht: Vielmehr weisen die mitochondrialen Verteilungsmuster innerhalb der phänotypisch einheitlichen Populationen der atlantischen Inseln auf eine signifikante Differenzierung zwischen nördlichen (Azoren, Galizien) und südlichen (Madeira, Marokko) Populationen hin.

Die sieben ***michahellis***-Populationen des Mittelmeeres und vom Oberrhein waren untereinander mitochondrien-genetisch nicht differenziert, weder zwischen dem westlichen und östlichen Mittelmeer, noch zwischen dem Mittelmeer und dem oberen Rheintal (jüngste Ansiedlung im Elsaß) oder dem Mittelmeer und dem westlichen Schwarzen Meer (Tab. 6.5). Die Zuordnung der Vögel von Gibraltar, dem Kontaktgebiet zwischen *atlantis* und *michahellis*, ist nicht eindeutig. Die Φ_{ST}-Werte zwischen Gibraltar und allen *atlantis*-Populationen waren signifikant (Tab. 6.5). Zu den Vögeln der benachbarten französischen Mittelmeerküste wurden keine Unterschiede festgestellt, während die Φ_{ST}-Werte zwischen Gibraltar und Italien/Malta wiederum signifikant waren.

In der Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) wurden die 12 *atlantis/michahellis*-Populationen folgendermaßen gruppiert (Tab. 6.6):
Hypothese A – 2 Gruppen: *atlantis* von den Azoren, Madeira, Marokko, Portugal und Galizien gegen alle *michahellis* vom Mittelmeer, Oberrhein und westlichen Schwarzen Meer.

Tabelle 6.6: Analyse der Molekularen Varianz (AMOVA) innerhalb der *atlantis-michahellis*-Gruppe. Einteilung der 12 untersuchten Populationen **A)** in zwei Gruppen: *atlantis* (Madeira, Marokko, Azoren, Berlenga und Galizien) und *michahellis;* **B)** in drei Gruppen: nördliche *atlantis* (Azoren, Galizien, Berlenga), südliche *atlantis* (Madeira, Marokko) und michahellis sowie **C)** in vier Gruppen: zusätzlich zur Unterteilung in nördliche und südliche *atlantis* auch eine Trennung zwischen westlichen *michahellis* (Gibraltar, Frankreich, Elsaß, Italien) und östlichen *michahellis* (Malta, Kreta, Rumänien).

	(A)	**(B)**	**(C)**
Molekulare Varianz	*atlantis, michahellis*	*atlantis (Nord), atlantis (Süd), michahellis*	*atlantis (Nord), atlantis (Süd), michahellis (West) michahellis (Ost)*
zwischen den Gruppen	8,8	**26,5**	**24,3**
innerhalb der Gruppen	20,1	5,6	5,3
innerhalb der Populationen	71,1	67,9	70,4

Hypothese B – 3 Gruppen: *atlantis* wurden unterteilt in nördliche (Azoren, Galizien, Portugal) und südliche (Madeira, Marokko) Populationen.

Hypothese C – 4 Gruppen: neben der Unterteilung in nördliche und südliche *atlantis* wurde zusätzlich *michahellis* in östliche und westliche Populationen unterteilt.

In allen drei Fällen waren ca. 70% der molekularen Gesamtvarianz innerhalb der Populationen fixiert. Bei der Einteilung in eine *atlantis*- und eine *michahellis*-Gruppe (Hypothese A) wurden nur 8% der Varianz zwischen diesen Gruppen gefunden. Bei einer Unterteilung in nördliche und südliche *atlantis* (Hypothese B) verdreifachte sich der Anteil erklärter Varianz zwischen den Gruppen auf 26,5%. Eine weitere Unterteilung in westliche und östliche *michahellis* (Hypothese C) änderte das Ergebnis nicht.

In den drei ***armenicus***-Populationen (Kapitel 5) nahm die Introgression von *michahellis* Haplotypen mit der geographischen Entfernung vom Mittelmeer ab (Abb. 5.6). Am Beysehir Gölü, 100 km nördlich vom Mittelmeer und durch das Taurus Gebirge getrennt, machten *michahellis*-Haplotypen 62,5% aus (n=16). Am Tuz Gölü, 250 km vom Mittelmeer entfernt, wurden nur noch 13,7% (n=51) *michahellis*-Haplotypen gefunden, während die Van Gölü – Population (540 km) zu 100% (n=30) aus *armenicus*-Haplotypen bestand. Die phänotypisch reinen *armenicus*-Populationen vom Van und Tuz Gölü waren mitochondrien-genetisch nicht signifikant voneinander differenziert (Tab. 6.5), während die Kolonie vom Beysehir Gölü von den phänotypischen *armenicus*-Populationen differenziert war, nicht aber von *michahellis* aus Italien und Rumänien.

Im Haplotypen-Netzwerk der atlantisch-mediterranen Gruppe (Abb. 6.4 A) wurden nur Haplotypen mit einer Häufigkeit von n≥2 berücksichtigt. *Armenicus*-Haplotypen (weiß) bildeten ein separates Cluster (Nr. VII), während die verbleibenden Haplotypen nicht mit taxonomischen Einheiten korrelierten. Es gab drei dominante Haplotypen: HT 54 (n=56) wurde in allen *atlantis*/*michahellis*-Populationen gefunden; HT 34 (n=21) kam bei *michahellis* und den nördlichen *atlantis*-Populationen vor (Galizien, Berlenga), während HT 38 (n=35) im gesamten Mittelmeer sowie am Beysehir und Tuz Gölü gefunden wurde. Auffällig war die extreme Divergenz innerhalb der „südlichen“ *atlantis*-Populationen (Madeira und Marokko): Die Haplotypen bildeten zwei distinkte Cluster im Netzwerk, die sich stärker voneinander unterschieden als alle anderen Haplotypen der *atlantis*/*michahellis*-Gruppe. Deutlich erkennbar ist die Introgression von *graellsii* (vgl. dazu aber 6.2.1).

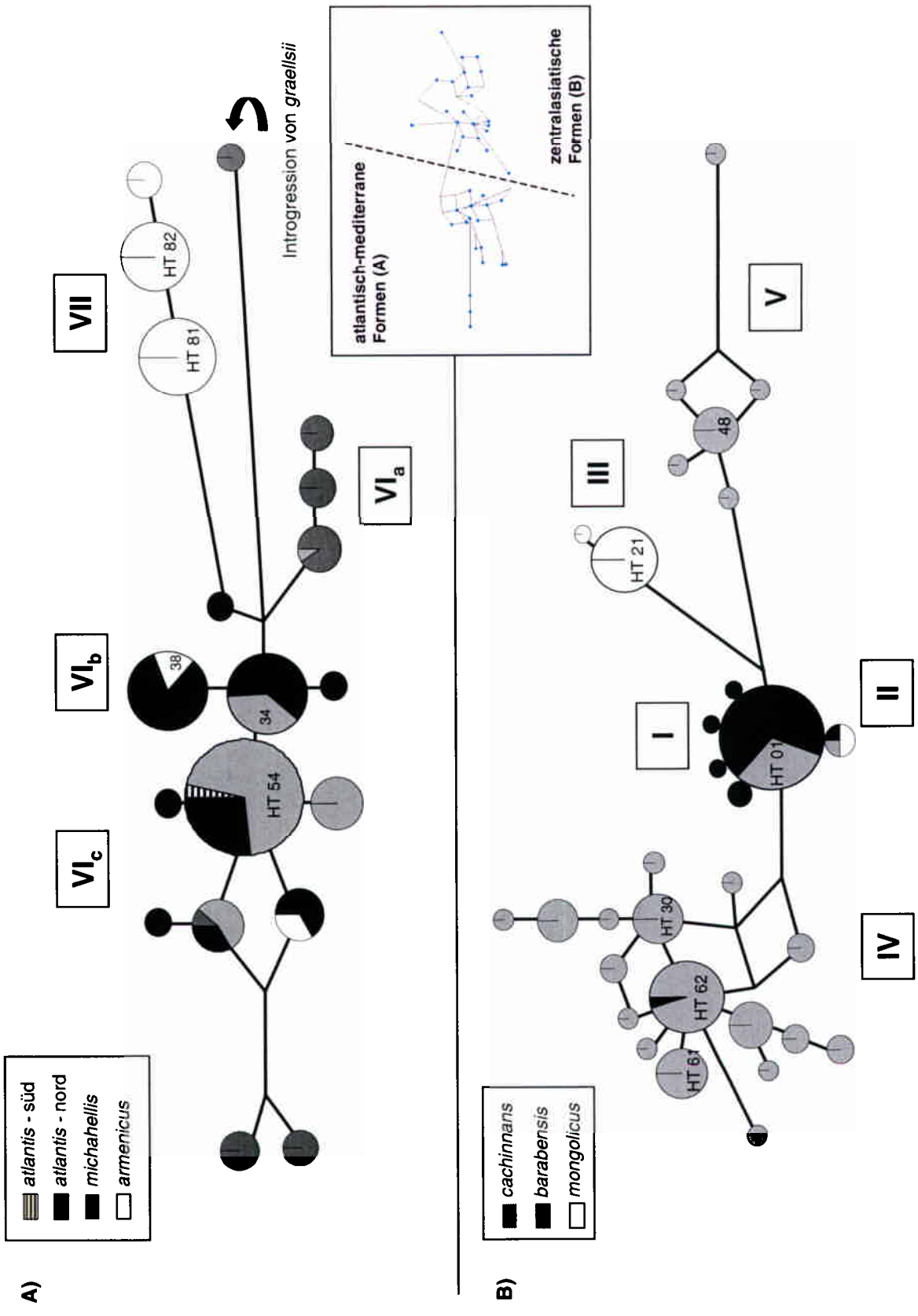


Abb. 6.4: Haplotypen-Netzwerke der südlichen Möwen (Network 2.b; RÖHL 1998). Kleine Box, rechts: Gesamtnetzwerk für alle Haplotypen (Häufigkeit n≥2). **A**) Haplotypen der atlantisch-mediterranen Gruppe (*atlantis michahellis*, *armenicus*); Häufigkeit n ≥1 (n=235 Individuen); **B**) alle Haplotypen der zentralasiatischen Gruppe (*cachinnans*, *barabensis*, *mongolicus*; n=154 Individuen). Die Abstände zwischen den Kreisen sind proportional zur Anzahl der Nukleotidaustausche zwischen den Sequenzen. Die Größe der Kreise ist proportional zur Häufigkeit der Haplotypen; Nummerierung und Sequenzen der Haplotypen siehe Anhang D und E; die Farben der Torten kodieren für jeweils ein Taxon, getrennt nach atlantisch-mediterranen und zentralasiatischen Taxa. Die römischen Zahlen entsprechen der Nummerierung der phylogenetischen Cluster im Haplotypen-Stammbaum (siehe Legende Abb. 6.7).

Die zentralasiatischen Formen *cachinnans, barabensis* und *mongolicus*

Die ***cachinnans***-Populationen vom Schwarzen, Asow'schen und Kaspischen Meer waren untereinander nicht differenziert (Tab. 6.7), obwohl das Schwarze Meer durch eine 500 km breite Landbrücke vom Kaspischen Meer getrennt ist. Über die großen Flüsse Don und Wolga gibt es eine fast durchgängige Gewässerverbindung zwischen beiden Meeren, so dass möglicherweise anhaltender Genfluss einer Differenzierung zwischen den Populationen der beiden Meere entgegenwirkt.

Sowohl *barabensis* als auch *mongolicus* zeigten eine sehr einheitliche Zusammensetzung ihrer Haplotypen (Abb. 6.1). Bei ***barabensis*** dominierte Haplotyp Nr. 01 (81%); alle weiteren Haplotypen dieser Population unterschieden sich nur an je einer Nukleotidposition vom Haplotyp Nr. 01 (Anhang D). ***Mongolicus*** war nahezu monomorph, und obwohl die Kolonien der West- und Ostmongolei ca. 2.000 km voneinander entfernt sind, waren sie nicht voneinander differenziert (Tab. 6.7). In allen drei *mongolicus*-Kolonien dominierte Haplotyp Nr. 21 (insgesamt 91%).

Die Diversitätsunterschiede zwischen den zentralasiatischen Taxa spiegeln sich im Haplotypen-Netzwerk wider (Abb. 6.4 B), das aus vier getrennten Clustern besteht: Die *cachinnans*-Haplotypen zerfielen in die zwei Cluster IV und V, die sich stark voneinander unterschieden, aber beide diagnostisch für *cachinnans* waren (Abb. 6.7). Der zentrale Haplotyp Nr. 01 wurde bei *cachinnans* und *barabensis* beobachtet. Die Haplotypen der *mongolicus*-Gruppe bildeten das distinkte Cluster III, das den geographisch und taxonomisch eigenständigen Status von *mongolicus* reflektiert.

Die nordwest-paläarktischen Formen *graellsii, heuglini* und *taimyrensis*

Weder zwischen den ***graellsii***-Populationen des nordöstlichen Atlantik, noch zwischen den ***heuglini*** Populationen aus Nordwest-Sibirien wurden Unterschiede in der Zusammensetzung der Haplotypen gefunden (siehe Abb. 7.5). Es gab also keine geographische Differenzierung innerhalb dieser Taxa. Eine Sonderstellung nahm ***taimyrensis*** vom Pjassina-Delta in West-Taimyr ein: Sowohl phänotypisch als auch mitochondrien-genetisch war die Population nicht einheitlich (eigene Beobachtungen auf Taimyr). Neben den „typischen" nördlichen Haplotypen (Cluster I) wurden auch Haplotypen des pazifischen Clusters gefunden (siehe Kapitel 8), die möglicherweise auf Introgression von den östlichen Taxa *birulai* und *vegae* zurückzuführen sind.

Tabelle 6.7: Mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen den zentralasiatischen Populationen der Taxa *cachinnans, barabensis* und *mongolicus* (AMOVA für alle paarweise Vergleiche).
Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen ($p<0,05$); **-**: keine signifikante Differenzierung; **+**: signifikante Differenzierung zwischen den Populationen. *Unterhalb der Diagonalen*: Φ_{ST}-Werte (Kimura 2-P-Distanz, $\alpha=0,04$, $t_s:t_v=1:17$).

		cachinnans			***barabensis***	***mongolicus***		
		cacBLS	cacUKR	cacCSS	barKAZ	monEAS	monCNT	monWES
Schwarzes Meer	cacBLS		-	-	+	+	+	+
Asow'sches Meer	cacUKR	0,099		-	+	+	+	+
Kaspisches Meer	cacCSS	0,005	0,045		+	+	+	+
Kasachstan	barKAZ	0,419	0,644	0,376		+	+	+
Ost-Mongolei	monEAS	0,634	0,762	0,611	0,897		-	-
Zentral-Mongolei	monCNT	0,644	0,768	0,616	0,899	0,000		-
West-Mongolei	monWES	0,533	0,691	0,536	0,772	0,056	0,065	

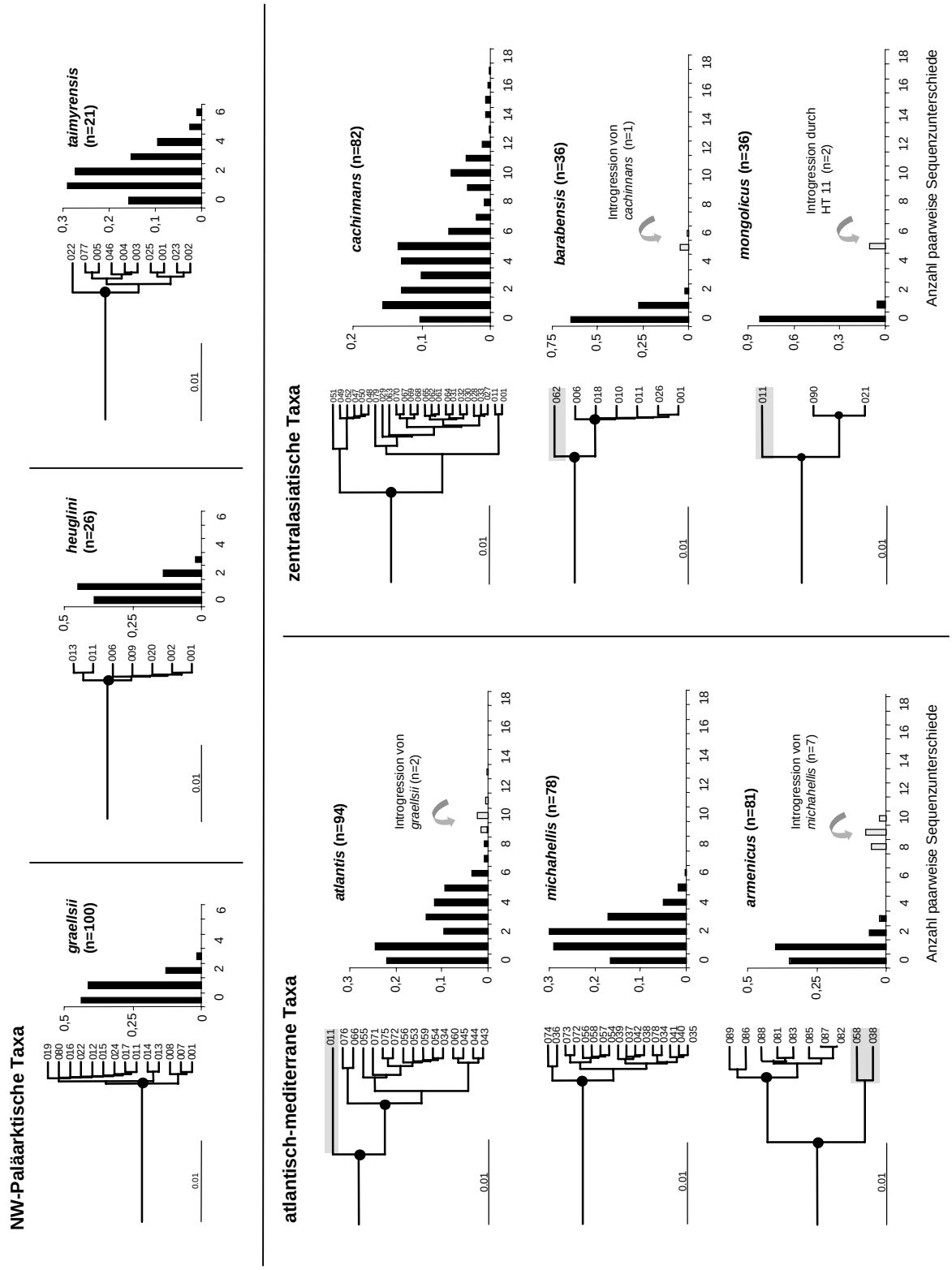


Abb. 6.5: Vergleich der Verzweigungstiefen im Haplotypen-Stammbaum (Kimura 2-Parameter-Distanz, KITSCH-Algorithmus; Außengruppe jeweils *L. canus* - nicht gezeigt) mit den relativen Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede (einfache p-Distanz) für die atlantisch-mediterranen Taxa, die zentralasiatischen Taxa und die Taxa der NW-Paläarktis.

6.2.3. Populationsgeschichte und Haplotyp-Phylogenie innerhalb der Taxa

Informationen über demographische Veränderungen innerhalb der Taxa wurden aus den Verzweigungsmustern der Haplotypen-Stammbäume und der Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede (Abb. 6.5) gewonnen. Die maximale Kimura 2-Parameter-Distanz zwischen den Haplotypen eines Taxons ist ein Maß für die Verzweigungstiefe im Haplotypen-Stammbaum (Tab. 6.8) und spiegelt das relative Alter des jüngsten gemeinsamen Vorfahren (=MRCA) wider (Abb. 6.5). Aufschluss über das relative Alter eines Taxons gibt zusätzlich der „Expansionskoeffizient" (Tab. 6.8), das ist der Quotient aus der Anzahl variabler Positionen und der mittleren Zahl Nukleotidunterschiede (S/d). Im Falle von rezenter Introgression (in den Taxa *atlantis, armenicus*, *barabensis*, *mongolicus*; grau unterlegte Haplotypen in Abb. 6.5), sind die Parameter sowohl für den gesamten Datensatz (inklusive der introgressierten Haplotypen) als auch für den „reinen" Datensatz (unter Ausschluss der eingewanderten Haplotypen) angegeben.

Bezüglich der Verzweigungsmuster im Haplotypen-Stammbaum und der Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede wurden zwei Extreme beobachtet (Abb. 6.5): Zum einen gab es Taxa, die durch ein flaches Verzweigungsmuster, also einen relativ jungen gemeinsamen Vorfahren und eine unimodale Häufigkeitsverteilung charakterisiert waren. Zu dieser Kategorie gehörten die nördlichen Taxa *graellsii* und *heuglini* und bei Vernachlässigung der introgressierten Haplotypen die südlichen Taxa *barabensis*, *mongolicus* und a*rmenicus*. Das andere Extrem ist *cachinnans*, das von allen Taxa das tiefste Verzweigungsmuster aufwies und eine mehrgipflige, weit gestreute Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede zeigte. Eine ähnlich aufgefächerte, zweigipflige Häufigkeitsverteilung fand sich bei *atlantis*, dessen Verzweigungsmuster auch bei Vernachlässigung der Introgression durch *graellsii* das zweittiefste (nach *cachinnans*) war. Intermediäre Häufigkeitsverteilungen, die unimodal aber breiter gefächert waren, mit entsprechenden mittleren Verzweigungstiefen im Haplotypen-Stammbaum zeigten *michahellis* und *taimyrensis*. Geographisch benachbarte Formen unterschieden sich oft erheblich in der Tiefe ihrer Verzweigungsmuster (z.B. *atlantis* vs. *graellsii*, *atlantis* vs. *michahellis*) und zusätzlich in ihrer Haplotyp-Diversität (besonders *cachinnans* vs. *barabensis*). Diese Unterschiede weisen auf eine sehr unterschiedliche demographische Historie der jeweiligen Taxa hin.

Mittels *t*-Test nach NEI (1987, S. 183) wurde anhand folgender Formel die Nukleotid-Diversität zwischen den Taxa verglichen:

$$t = \frac{|h_1 - h_2|}{(V(h)_1 + V(h)_2)^{1/2}}$$

Um zwischen „taxon-spezifischer" Diversität und Verzerrungen durch jüngste Introgression zu unterscheiden, wurden die paarweisen *t*-Werte mit und ohne introgressierte Haplotypen errechnet (Tab. 6.9). *Cachinnans* hatte mit Abstand die höchste Nukleotid-Diversität, signifikant größer als die aller anderen Taxa, mit Ausnahme von *atlantis* und *taimyrensis*. *Atlantis,* neben *cachinnans* das einzige Taxon mit mehrgipfliger Häufigkeitsverteilung in den paarweisen Sequenzvergleichen, hatte die zweitgrößte Nukleotid-Diversität. Beide Taxa, *cachinnans* und *atlantis*, müssen also relativ alt sein und über relativ lange Zeit große Weltpopulationen gehabt haben, in denen sich diese bemerkenswerte mitochondrien-genetische Vielfalt erhalten konnte. Wahrscheinlich gingen sie ursprünglich aus zwei getrennten Refugien hervor: *cachinnans* aus dem aralo-kaspischen Gebiet und *atlantis* aus dem atlantischen Raum.

Tabelle 6.8: Diversitäts-Parameter der einzelnen Taxa: Anzahl untersuchter Individuen (n); Anzahl der Haplotypen (HT) und Zahl der variablen Positionen (S); Haplotyp-Diversität (h) mit Varianz V(h) und Nukleotid-Diversität (π) mit Varianz V(π); durchschnittliche Zahl paarweiser Sequenzunterschiede (d) und "Expansionskoeffizient" aus variablen Positionen zur Anzahl Sequenzunterschiede (S/d) sowie maximale Kimura 2-Parameter-Distanz im Haplotypen-Stammbaum der Taxa (KITSCH Algorithmus; Abb. 6.5). *Zahlen in Klammern*: Werte bei Vernachlässigung der introgressierten Haplotypen.

Taxon	n		HT		S		h	V (h)	
atlantis	94	*(92)*	16	*(15)*	24	*(18)*	0,78	0,04	*(0,7; 0,04)*
michahellis	78		17		13		0,83	0,03	
armenicus	81	*(74)*	10	*(8)*	14	*(7)*	0,66	0,03	*(0,60; 0,03)*
cachinnans	82		25		22		0,90	0,02	
barabensis	36	*(35)*	7	*(6)*	9	*(5)*	0,35	0,10	*(0,3; 0,10)*
mongolicus	36	*(34)*	3	*(2)*	6	*(1)*	0,16	0,08	*(0,06; 0,05)*
graellsii	100		14		13		0,56	0,06	
heuglini	26		7		6		0,61	0,10	
taimyrensis	21		10		10		0,84	0,07	

Taxon	π	V (π)		d		S/d		maximale K 2-P	
atlantis	6,07	3,6	*(5,61; 3,4)*	2,55	*(2,35)*	9,4	*(7,6)*	0,037	*(0,024)*
michahellis	4,07	2,7		1,71		7,6		0,017	
armenicus	4,79	3,0	*(1,75; 1,5)*	2,01	*(0,74)*	7,0	*(9,5)*	0,027	*(0,010)*
cachinnans	9,91	5,5		4,16		5,3		0,042	
barabensis	1,44	1,3	*(0,82; 0,9)*	0,61	*(0,35)*	14,8	*(14,5)*	0,015	*(0,005)*
mongolicus	1,42	1,3	*(0,14; 0,4)*	0,60	*(0,06)*	10,1	*(16,8)*	0,015	*(0,012)*
graellsii	1,75	1,5		0,73		17,7		0,010	
heuglini	1,88	1,6		0,79		7,6		0,007	
taimyrensis	4,40	2,9		1,85		5,4		0,015	

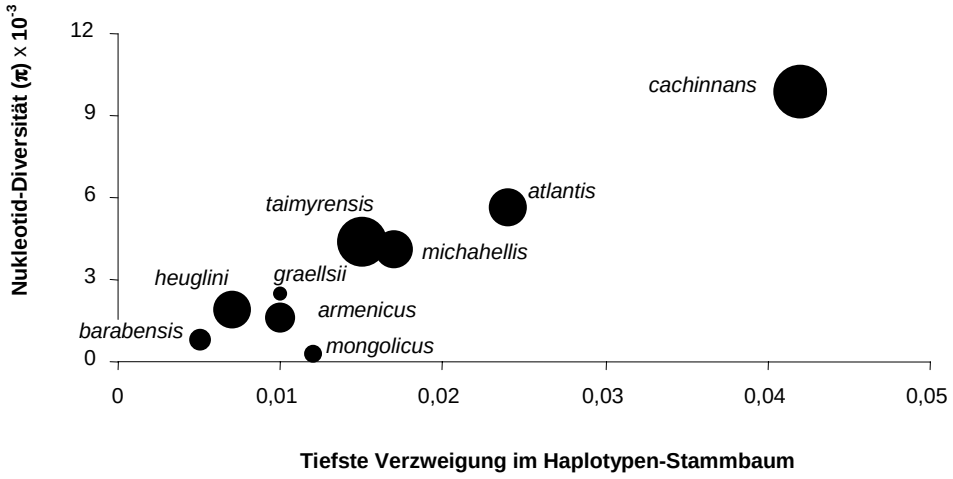


Abb. 6.6: Nukleotid-Diversität (π) x10^{-3}, aufgetragen gegen tiefste Verzweigung im Haplotypen-Stammbaum (Kimura 2-Parameter-Distanz; ohne Introgression, siehe Abb. 6.5). Die Größe der Kreise ist umgekehrt proportional zum "Expansionskoeffizienten" S/d, vgl. Tab. 6.8.

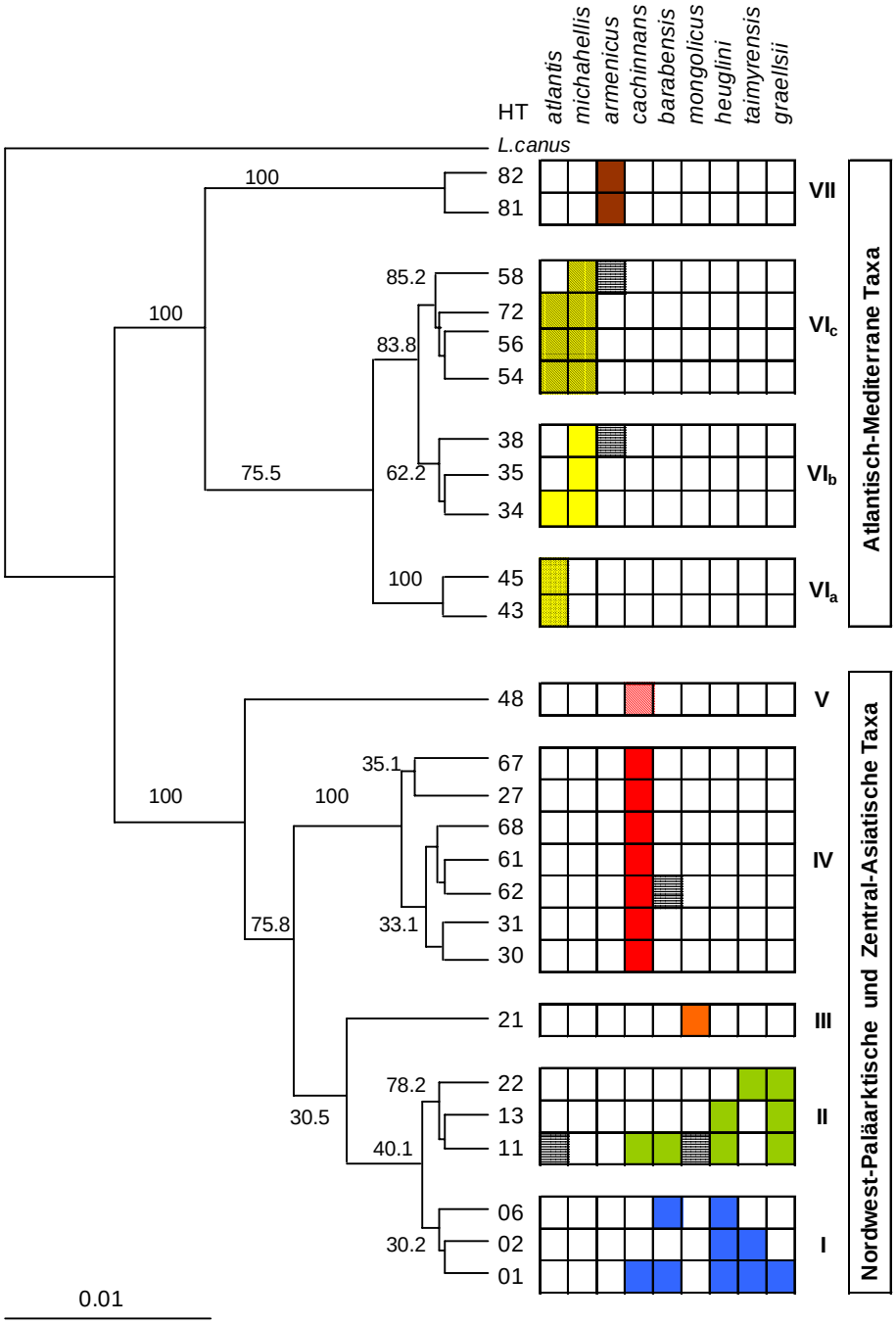


Abb. 6.7: KITSCH-Phylogenie der 26 Haplotypen, die in mindestens zwei Populationen nachgewiesen wurden. Zahlen an den Ästen: Likelihood-Mapping Werte (in %). Linke Spalten: Vorkommen der Haplotypen innerhalb der Taxa farbig markiert. Graue Kästchen - rezente Introgression. Römische Zahlen links - Nummerierung der phylogenetischen Cluster. Cluster I & II: NW-Paläarktische Taxa (*graellsii, heuglini, taimyrensis, barabensis*); Cluster III: *mongolicus*; Cluster IV & V: *cachinnans*; Cluster VIa-VIc: *atlantis-michahellis*; Cluster VII: *armenicus* (vgl. Abb. 6.4).

Barabensis, *mongolicus* und *graellsii* fallen durch einen hohen „Expansionskoeffizienten“ (Tab. 6.8) auf: Diese drei Formen besitzen ein flaches Verzweigungsmuster im Haplotypen-Stammbaum und unimodale Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede (Abb. 6.6). Insgesamt deuten diese Befunde darauf hin, dass sie erst in jüngster Vergangenheit ihre heutigen Verbreitungsgebiete besiedelt und sich dabei sehr schnell vermehrt haben. In Abb. 6.6 wurde die Nukleotid-Diversität der „reinen“ Taxa (Vernachlässigung der introgressierten Haplotypen) gegen ihre tiefste Verzweigung im Stammbaum aufgetragen. Am deutlichsten waren die Unterschiede zwischen *cachinnans* auf der einen und *barabensis*, *graellsii*, *heuglini* und *mongolicus* auf der anderen Seite. Die große Streuung zwischen den Taxa ist ein weiteres Indiz für die sehr unterschiedliche demographische Geschichte der Populationen.

Tabelle 6.9: Nei's *t*-Test für paarweise Vergleiche der Nukleotid-Diversitäten zwischen den Taxa (NEI 1987). *Oberhalb der Diagonalen:* ohne introgressierte Haplotypen. *Unterhalb der Diagonalen:* alle Haplotypen, die in einem Taxon gefunden wurden.

	atl	mic	arm	cac	bar	mon	gra	heu	tai
atlantis		0,80	0,50	1,27	2,08 *	2,10 *	1,92	1,83	0,65
michahellis	0,62		0,30	2,04 *	1,32	1,33	1,14	1,06	0,14
armenicus	1,75	1,14		1,75	1,61	1,62	1,44	1,36	0,16
cachinnans	1,44	2,04 *	3,09 **		3,24 **	3,25 **	3,09 **	3,01 **	1,90
barabensis	2,46 *	1,87	0,69	3,75 **		0,02	0,18	0,26	1,44
mongolicus	2,82 **	2,26 *	1,20	4,03 **	0,60		0,20	0,28	1,45
graellsii	1,75	1,14	0,00	3,09 **	0,60	1,33		0,08	1,27
heuglini	1,67	1,06	0,08	3,01 **	0,67	1,26	0,08		1,19
taimyrensis	0,48	0,14	1,26	1,90	1,97 **	2,35 **	1,27	1,19	

* = Signifikanz p<0,05; ** = Signifikanz p< 0,01.

6.2.4. Populationsstammbäume und Haplotyp-Phylogenie

Die phylogenetischen Beziehungen zwischen den neun Möwentaxa wurden zum einen auf der Ebene der Haplotypen („Haplotypen-Stammbaum“, Abb. 6.7) untersucht, zum anderen auf dem Populationsniveau („Populationsstammbaum“, Abb. 6.8). Der Haplotypen-Stammbaum wurde für die 26 Haplotypen errechnet, die in mindestens zwei Populationen vorkamen (Anhang E). Der Populationsstammbaum (Abb. 6.8), basierend auf SLATKINS linearisierten Φ_{ST}-Distanzen (ARLEQUIN-Programm), wurde mit Hilfe des UPGMA-Algorithmus für die 21 Populationen ermittelt (Konsensusbaum aus 100 Bootstrap-Datensätzen, vgl. S. 24).

Auffällig in beiden Bäumen war die basale Bifurkation zwischen den atlantisch-mediterranen Taxa einerseits und den nordwest-paläarktisch/zentralasiatischen Taxa andererseits. Likelihood Mappping stützte die basale Verzweigung im Haplotypen-Stammbaum zu 100%, d.h. es gibt eine klare phylogenetische Trennung zwischen *atlantis*/*michahellis* und *armenicus* auf der einen und den restlichen sechs Taxa auf der anderen Seite. Die letzte Gruppe enthält sowohl südliche, hellmantlige (*cachinnans*, *barabensis*, *mongolicus*) als auch nördliche, dunkelmantlige (*heuglini*, *taimyrensis* und *graellsii*) Formen.

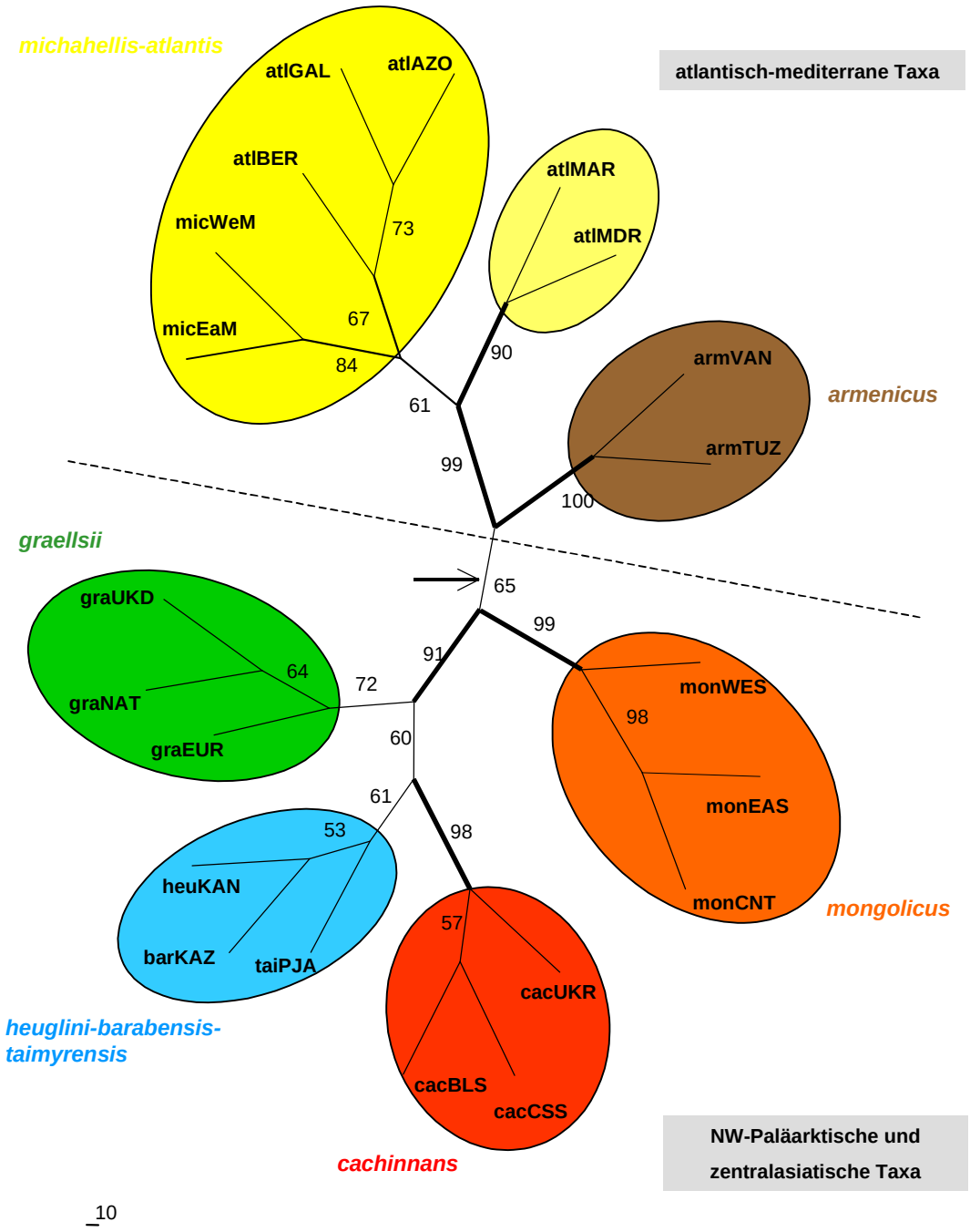


Abb. 6.8: Konsensusbaum (aus 100 Bootstrap-Datensätzen) für 21 Populationen der *L. cachinnans* - *L. fuscus* Gruppe (SLATKIN's linearisierte Φ_{ST}-Werte, α=0,04, ARLEQUIN-Programm; UPGMA-Algorithmus). Bootstrap-Werte über 90% sind fett hervorgehoben. Schwarzer Pfeil: hypothetische Wurzel (*L. canus* als Außengruppe, hier nicht gezeigt). Abkürzungen der Populationen siehe Tab 6.1.

Im Populationsstammbaum (Abb. 6.8) wurde der basale Split bestätigt. Die Äste *michahellis*/*atlantis* und *armenicus* wurden zu 99% bzw. 100% von allen anderen Taxa getrennt. *Mongolicus* bildete in 99% aller Fälle eine monophyletische Gruppe und nimmt eine gewisse Sonderstellung ein (Zuordnung zur zentralasiatischen Gruppe nur mit 65% gestützt). C*achinnans* weist ebenfalls einen sehr hohen Bootstrap-Wert (98%) auf. Die Monophylie der nordwest-paläarktischen Taxa wurde mit 72% für *graellsii* und 61% für die *heuglini-barabensis-taimyrensis*-Gruppe gestützt. Im Populationsstammbaum spiegeln sich genau jene sechs Gruppen wider, die in der AMOVA eine maximale Partitionierung der molekularen Gesamtvariation erklären (Tab. 6.2, Spalte D).

Auffällig ist, dass keines der untersuchten Taxa im Haplotypen-Stammbaum durch eine monophyletische Gruppe von Haplotypen repräsentiert ist (Abb. 6.7). Ursachen dafür können ancestrale Polymorphismen, unvollständiges Lineage Sorting und/ oder anhaltender Genfluss zwischen den Taxa sein. In einigen Fällen ist Introgression offensichtlich (graue Kästchen, Abb. 6.7), z.B. die zwei *michahellis*-Haplotypen (Nr. 58 und Nr. 38) in *armenicus*, der *cachinnans*-Haplotyp Nr. 62 in *barabensis* oder der Haplotyp Nr. 11 in *atlantis* und *mongolicus*. In anderen Fällen scheint die Aufspaltung in rezente Taxa so jung zu sein, dass diese Formen noch immer über einen großen, gemeinsamen Genpool verfügen (*barabensis*, *heuglini*, *taimyrensis*). In einem dritten Fall, dem paraphyletischen Status von *cachinnans* im Haplotypen-Stammbaum, ist ein ancestraler Polymorphismus die wahrscheinlichste Erklärung. In allen untersuchten *cachinnans*-Populationen (Schwarzes, Asow'sches und Kaspisches Meer) kamen Haplotypen der beiden distinkten, phylogenetischen Linien IV und V vor (vgl. Netzwerk, Abb. 6.4). Die bei *barabensis*, *heuglini*, und *taimyrensis* (Cluster I und II) dominierenden Haplotypen entwickelten sich wesentlich später aus einem (dem heute noch vielfältigsten) dieser ancestralen *cachinnans*-Haplotypencluster. Wahrscheinlich sind die relativ rezenten Haplotyp Nr. 01 und Nr. 11 erst in jüngster Zeit wieder in die *cachinnans* Population eingewandert.

6.3. Diskussion

6.3.1. Genetische Differenzierung und Genfluss zwischen den Taxa

Anhand der Häufigkeiten und geographischen Verteilung der mitochondrialen Haplotypen wird deutlich, dass es klare Genflussbarrieren zwischen einzelnen Taxa gibt (Abb. 6.1), z.B. zwischen *atlantis* und *graellsii* im NE-Atlantik und zwischen *michahellis* und *cachinnans* an der westlichen Schwarzmeerküste, wo diese Taxa jeweils sympatrisch bzw. parapatrisch brüten. Sie müssen also zumindest teilweise (über maternale Linien) reproduktiv voneinander isoliert sein. Signifikante Populationsdifferenzierung konnte ich auch zwischen den allopatrischen Taxa *armenicus* vs. *cachinnans*, *cachinnans* vs. *barabensis* und *cachinnans* vs. *mongolicus* nachweisen. Da diese Formen geographisch getrennt sind, kann nicht überprüfen werden, ob sie reproduktiv isoliert sind oder ob sie hybridisieren würden, wenn sie in Kontakt kämen. Zwischen *atlantis* und *michahellis* wurde eingeschränkter Genfluss beobachtet, und im Kontaktgebiet von *michahellis* und *armenicus* kam es zu einseitiger Introgression (Kapitel 5). Die zentralasiatische Form *barabensis* ist trotz klarer

phänotypischer Differenzierung (Mantelfarbe) von der nördlichen *heuglini* mitochondrien-genetisch nicht differenziert. Insgesamt zeigen diese Befunde, dass die Hypothese der klinalen Variation (MAYR 1963) innerhalb der „Weißkopfmöwen", die schon phänotypisch nicht zutrifft, auch auf mitochondrien-genetischer Ebene nicht gestützt wird.

Die deutliche Genflussbarriere zwischen *atlantis* und *graellsii* ist von besonderem Interesse, da beide Formen sehr ähnliche Jugendkleider haben (DWIGHT 1922, GLUTZ & BAUER 1982). An der französischen Atlantikküste beobachtete YÉSOU (1991) vier *graellsii* x *atlantis*/*michahellis* Mischpaare, aber entweder legten die Weibchen keine Eier, oder es schlüpften keine Jungen. Weitere Nachweise von Hybridisierung zwischen *graellsii* x *atlantis*/*michahellis* liegen von der portugiesischen und nord-spanischen Atlantikküste vor (PATERSON 1997) sowie aus Holland (COTTAAR 1996, VAN SWELM 1998) und Südengland (GARNER 1997). Trotz dieser gelegentlichen Hybridisierung, über deren Genflussfolgen wenig bekannt ist, brüten die beiden Formen mittlerweile stellenweise sympatrisch, so dass eine starke Reproduktionsbarriere angenommen werden muss (TEYSSÉDRE 1984, MARION et al. 1985, YÉSOU 1991). Auf mitochondrialer Ebene unterscheiden sich *graellsii* und *atlantis* sehr deutlich (2,3% mittlere Divergenz der Haplotypen, Tab. 6.4), und es gab keine eindeutigen Hinweise auf Genfluss (die zwei *graellsii*-Haplotypen in Portugal bzw. Marokko stammten mit großer Wahrscheinlichkeit von Mischpaaren [VAN SWELM, pers. Mitt.]). Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass es in geringem Umfang zu Introgression von *graellsii* in das Brutgebiet von *atlantis* gekommen ist. Außerdem wurden hier ausschließlich die weiblichen Linien betrachtet, so dass keine Aussagen über den Genfluss zwischen männlichen Linien gemacht werden können.

Die zweite, klare Genflussbarriere wurde am westlichen Schwarzen Meer gefunden. Obwohl *michahellis* und *cachinnans* hier parapatrisch brüten, waren die Haplotypen waren zu 100% segregiert. C*achinnans* und *michahellis* unterscheiden sich deutlich in Körperproportionen und Gefiedermerkmalen (KLEIN 1994, KLEIN & BUCHHEIM 1997, KLEIN & GRUBER 1997). Die mitochondrialen Daten stützen somit die von KLEIN & BUCHHEIM vorgeschlagene Anerkennung zweier Allospezies von „Weißkopfmöwen" – nämlich die Unterteilung in „Mittelmeermöwe" (*michahellis*) und „Steppenmöwe" (*cachinnans*).

Im zentralen Teil Sibiriens brüten fünf phänotypisch differenzierte Taxa: sowohl die südlichen *cachinnans*, *barabensis* und *mongolicus* (helle Mantelfärbung) als auch die nördlichen Taxa *heuglini* und *taimyrensis* (dunkler Mantel) sind nach den Φ_{ST}-Werten signifikant voneinander differenziert (Tab. 6.7). Die Grenzen ihrer Brutgebiete sind nur unzureichend bekannt (CRAMP & SIMMONS 1983, HAFFER 1982). *Cachinnans* brütet im Osten bis zum Balchasch-See und wird durch das Altai-Gebirge von *mongolicus* getrennt (IL'ICEV & ZUBAKIN 1990, DEL HOYO et al. 1996). *Mongolicus* brütet an den ostasiatischen Seen, sowohl in der Mongolei als auch am Baikal-See (VAURIE 1964). Das Brutgebiet von *barabensis* ist auf die kasachischen und südrussischen Steppen beschränkt, wobei es keine scharfe Grenze in der Verbreitung zu *cachinnans* gibt (JOHANSEN 1960). *Heuglini* ist auf die Eismeerküste westlich der Taimyr-Halbinsel beschränkt (FILCHAGOV & SEMASHKO 1987, FILCHAGOV et al. 1992a), während *taimyrensis* an den Küsten und im Binnenland Taimyrs brütet (FILCHAGOV et al. 1992b).

Die Herkunft des Haplotyp Nr. 01 in der c*achinnans*-Population (16%) kann nicht geklärt werden. Sowohl eine Einwanderung aus Norden (*heuglini*, *fuscus*, *argentatus*) als auch von Osten (*barabensis*) ist denkbar. Jedoch lieferten die Ergebnisse aus der Kontaktzone von *cachinnans* - *barabensis* in Usbekistan erste Hinweise, dass möglicherweise assortative Verpaarung den Genfluss zwischen den zwei südlichen Taxa einschränkt. In zwei 300 km voneinander entfernten Kolonien wurden nämlich entweder *cachinnans*- oder *barabensis*-Haplotypen nachgewiesen. Aus diesem Kontaktgebiet fehlt jedoch eine detaillierte Analyse der phänotypischen Merkmale, so wie sie inzwischen aus der Türkei für *armenicus* und *michahellis* vorliegt (LIEBERS & HELBIG 1999).

Eine enge Verwandtschaft zwischen *barabensis* und *heuglini*/*taimyrensis* wurde aufgrund phänotypischer Merkmale bereits VON STEGMANN (1934), DEMENTIEV & GLADKOV (1951) und FILCHAGOV (1993) vermutet. PANOV & MONZIKOV (2000) vertreten die Meinung, *barabensis* sei das Produkt sekundärer Introgression, wobei c*achinnans*-Gene in die *heuglini*-Population eingewandert sind. Sie schlagen vor, *barabensis* den Status eines eigenständigen Taxons zuzusprechen, das nächstverwandt mit *heuglini* ist. Die mitochondrialen Daten zeigen ein etwas anderes Bild (Abb. 6.1): *Cachinnans*-typische, „rote" Haplotypen wurden nur in einem *barabensis*-Individuum (n=36) vom Tengiz-See gefunden, während die in *barabensis* und den nördlichen Taxa dominierenden „blauen" Haplotypen auch in 17% der untersuchten *cachinnans*-Population vorkamen. Mitochondrien-genetisch sind *cachinnans* und *barabensis* signifikant differenziert (Tab. 6.3), d.h. auf maternaler Ebene findet kein oder nur eingeschränkter Genfluss zwischen beiden Taxa statt, während *barabensis* und *heuglini* mitochondrien-genetisch nicht differenziert waren. Anhand der Flügelmuster fand MÜLLER (2000) ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen *cachinnans* und *barabensis*. Die südliche Form *barabensis* könnte also durch eine relativ rezente Besiedlung der kasachischen Steppen aus Richtung Norden von *heuglini* abzuleiten sein.

Der bei m*ongolicus* dominierende Haplotyp Nr. 21 gehört dem pazifischen Cluster an (Abb. 7.2 B). Höchstwahrscheinlich ist das zentralasiatische Festland erst in jüngster Zeit von einer kleinen Gründerpopulation vom Pazifik her besiedelt worden. Bei *taimyrensis* gehörten 15% der Haplotypen („oranger" Anteil in Abb. 6.1) ebenfalls dem pazifischen Haplotyp-Cluster an (vgl. Abb. 7.2 B und 7.3 B). Leider liegen keine Proben der östlich von Taimyr brütenden Form *birulai* vor, doch ist Taimyr möglicherweise aus östlicher Richtung entlang der Eismeerküste, also vom Pazifik aus besiedelt worden. Auf diesem Wege sind offenbar die *vegae*-typischen („orangen") Haplotypen bis nach Taimyr vorgedrungen, wo sie heute mit den westlichen, *heuglini*-typischen („blauen") Haplotypen zusammen vorkommen (siehe Kapitel 7).

Die AMOVA zeigt deutlich (Tab. 6.2), dass die traditionelle Einteilung der Populationen in zwei Taxa, nämlich südliche *cachinnans* und nördliche *fuscus*, nur knapp ein Viertel (24,3%) der gesamten mitochondrien-genetischen Varianz erklärt. Werden die 21 Populationen dagegen in sechs Gruppen (Taxa) eingeteilt, steigt der Anteil der erklärten Varianz zwischen den Gruppen auf 81,9%. Die Unterteilung in die phänotypisch differenzierbaren Gruppen (1) *atlantis-michahellis*, (2) *armenicus*, (3) *cachinnans*, (4) *mongolicus*, (5) *heuglini-taimyrensis-barabensis* und (6) *graellsii* spiegelt also die mitochondrien-genetischen Unterschiede am besten wider. Zwischen diesen sechs Gruppen muß es reproduktive oder geographische Barrieren geben, die Genfluss (weitgehend) verhindern und das geographische Verteilungsmuster der mitochondrialen Haplotypen aufrechterhalten. Dieses Bild

widerspricht dem der klinalen Variation, wie es MAYR's Ringspezieskonzept postuliert (MAYR 1963). Vielmehr scheinen früher geographisch getrennte Taxa an mehreren Stellen sekundär wieder in Kontakt gekommen zu sein, wo sie sich als teilweise oder vollständig reproduktiv isoliert erwiesen. Solche sekundären Kontaktzonen bestehen an der französischen Atlantikküste (*graellsii* vs. *michahellis*/*atlantis*, YÉSOU 1991), in der SW-Türkei (*michahellis* vs. *armenicus*, LIEBERS & HELBIG 1999, Kapitel 5) und an der westlichen Schwarzmeerküste (*michahellis* vs. *cachinnans*, KLEIN & BUCHHEIM 1997). Vermutlich gibt es auch in Usbekistan und Süd-Kasachstan (*cachinnans* vs. *barabensis*) und Ost-Kasachstan (*cachinnans* vs. *mongolicus*) sekundären Kontakt. Über das Verhalten der Taxa in diesen Gebieten liegen aber keine Informationen vor.

Die einzige mit der vorliegenden Untersuchung an Möwen vergleichbare Populationsstudie bei Vögeln führten WENINK et al. (1994, 1996) an Alpenstrandläufern (*Calidris alpina*) durch. Von den sechs beschriebenen Unterarten (*pacifica, arctica, schinzii, alpina, sakhalina* und *arcticola*) untersuchten sie 155 Individuen aus 13 Populationen, die aus fünf geographischen Großräumen stammten (Kanada, Europa, Zentral-Sibirien, Ost-Sibirien, Alaska). In der AMOVA resultierten 76,3% der molekularen Varianz aus Unterschieden zwischen den fünf geographischen Großräumen und nur 21,4% aus Unterschieden innerhalb der Populationen. Die geographischen Großräume korrespondierten in etwa mit den morphologisch differenzierten Unterarten (*arctica, schinzii* und *arcticola* waren genetisch nicht differenziert). Zusätzlich ließ sich anhand der mtDNA im arktischen Kanada eine neue Unterart (*hudsonia*) abgrenzen.

Damit ist beim Alpenstrandläufer eine erstaunlich deutliche mitochondrien-genetische Populationsstruktur ausgebildet, die der innerhalb von mir untersuchten Weißkopfmöwen-Gruppe nahe kommt. Anhand der bei Möwen deutlicheren phänotypischen Differenzierung sind hier Genflussbarrieren leichter erkennbar. Es ist aber nicht auszuschließen, dass auch beim (phänotypisch weniger differenzierten) Alpenstrandläufer schon unvollständige reproduktive Barrieren existieren.

6.3.2. Populationsstruktur und Populationsgeschichte innerhalb der Taxa

Die Populationsgeschichte der Taxa wurde anhand der Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede und der Verzweigungstiefe im Haplotypen-Stammbaum rekonstruiert (Abb. 6.5). Unimodale Häufigkeitsverteilungen weisen auf sehr rezentes, exponentielles Populationswachstum hin (ROGERS & HARPENDING 1992). Die Haplotypen unterscheiden sich nur an wenigen Nukleotidpositionen, d.h. die mtDNA-Linien gehen auf einen relativ jungen gemeinsamen Vorfahren im Stammbaum zurück (SLATKIN & HUDSON 1991, VON HAESELER et al. 1996). Diese Situation traf auf die nördlichen Taxa *graellsii*, *heuglini* (und *taimyrensis*) zu. Bei einer bimodalen Häufigkeitsverteilung repräsentieren die kleineren Werte die Sequenzunterschiede innerhalb der Taxa, während die größeren Werte Unterschiede zwischen phylogenetisch divergenten Haplotyp-Linien widerspiegeln (MAJORAM & DONNELLY 1994). Bei *armenicus*, *barabensis* und *mongolicus*, die dieses Muster zeigten, ist das offensichtlich auf Introgression zurückzuführen. Unterscheiden sich die Sequenzen einer Population an zahlreichen Nukleotidpositionen, entstehen multimodale Häufigkeitsverteilungen und die relative Zeit seit der Divergenz der Haplotypen ist länger. Dieses Szenario ist charakteristisch für alte Populationen, die über lange Zeiträume eine konstante Populationsgröße hatten (ROGERS &

HARPENDING 1992, HARPENDING et al. 1993). In meiner Untersuchung trifft diese Charakterisierung für *cachinnans* und *atlantis* (eingeschränkt auch für *michahellis*) zu.

Im folgenden Abschnitt wird die Populationsgeschichte der südlichen Taxa im phylogeographischen Kontext erörtert. Eine detaillierte Analyse von *armenicus* erfolgte bereits im Kapitel 5. Die Populationsstruktur der nördlichen Taxa (*argentatus-fuscus* Komplex) wird im Kapitel 7 diskutiert. Folgendes Szenario liegt der Diskussion zugrunde: Möwen waren und sind ausgesprochene Küstenvögel (GLUTZ & BAUER 1982). Im Pleistozän (vor ca. 400.000 Jahren) gab es zwei geographisch getrennte, hypothetische „Ur-Formen": eine im Atlantischen Ozean, die andere im aralo-kaspischen Gebiet (Abb. 6.9). Der Atlantik war nur indirekt von den nachfolgenden Eiszeiten betroffen (Änderungen von Klima oder Meeresspiegel), während das zentralasiatische Festland unter dem direkten Einfluss der vorstoßenden und sich wieder zurückziehenden Eismassen stand (DAWSON 1992). Weitere Einwanderungen von Möwen in das Binnenland begannen wahrscheinlich erst im Holozän, als sich hier infolge der menschlichen Besiedlung die Nahrungs- und Brutbedingungen für Möwen positiv veränderten. Heute brüten Möwen auch weit im Binnenland (Kasachstan, Mongolei, Anatolien), jedoch wurde dieser Lebensraum wahrscheinlich erst in jüngster Zeit sekundär besiedelt.

Der „atlantisch-mediterrane Formenkreis"

Traditionell werden die Populationen der atlantischen Inseln, der marokkanischen und portugiesischen Küste (=*atlantis*) von denen des Mittelmeergebietes (=*michahellis*) unterschieden (STEGMANN 1934, VOLSØE 1951, GLUTZ & BAUER 1982). Charakteristisch für *atlantis* sind die dunklere Mantelfärbung, die relativ längeren Flügel und die ausgeprägte, schwarze Flügelspitze mit reduziertem oder fehlendem weißen Spiegel auf der 9. Handschwinge (DWIGHT 1922, CRAMP & SIMMONS 1983).

Meine mitochondrien-genetischen Ergebnisse zeigen jedoch ein etwas anderes phylogeographisches Bild: Im Atlantik besteht ein signifikanter Unterschied zwischen südlichen und nördlichen *atlantis*, d.h. die Stichproben von Madeira und den Azoren wiesen keine gemeinsamen Haplotypen auf (Tab. 6.5, Abb. 6.3). Andererseits war die Zusammensetzung der Haplotypen auf den Azoren nahezu identisch mit der in Galizien, während die portugiesische Population von allen anderen signifikant differenziert war. Die große Diversität innerhalb der südlichen *atlantis*-Populationen (Madeira/Marokko; Abb. 6.4 A) deutet darauf hin, dass sich in diesem Raum ein altes Refugium von Großmöwen befand. *Michahellis* besitzt im Unterschied zu *atlantis* eine geringere Nukleotid-Diversität und ein flacheres (=jüngeres) Verzweigungsmuster der Haplotyp-Linien, was den rezenteren Ursprung der Mittelmeerpopulation belegt. Zusammen mit der Haplotyp-Phylogenie (Abb. 6.7) zeigt dies klar, dass die Vorfahren von *michahellis* der *atlantis*-Population entstammten, und vom Atlantik her ins Mittelmeer eingewandert sind!

Die Zugehörigkeit der Armenienmöwe zur atlantisch-mediterranen Gruppe wurde erstmals im Rahmen dieser Arbeit anhand phänotypischer und molekulargenetischer Merkmale sicher nachgewiesen (Kapitel 5; LIEBERS & HELBIG 1999). Wahrscheinlich sind die Vorfahren von *armenicus* zu einem sehr frühen Zeitpunkt von der atlantischen „Ur- Form" ausgehend ins Mittelmeer eingewandert (R1 – Abb. 6.9). In einer späteren Eiszeit wurde das Mittelmeer durch den sinkenden Meeresspiegel an der tunesisch-sizilianischen Schwelle geteilt (DAWSON 1992). Nach anfänglicher Isolation im östlichen Teil

des Mittelmeeres könnte eine weitere Austrocknung die Besiedlung das anatolisch-armenischen Hochlandes durch Vorläufer der heutigen *armenicus*-Population begünstigt haben.

Schwierig bleibt die Frage, warum sich die nördlichen und südlichen *atlantis*-Populationen signifikant unterscheiden, während die Populationen der Azoren und Galizien identisch sind. Drei Szenarien sind denkbar:

1) Die Azoren waren im Pleistozän nicht besiedelt, und die Einwanderung von Möwen fand erst in jüngster Zeit von der Iberischen Halbinsel aus statt. Es gibt jedoch keine Hinweise, dass es während der Eiszeiten so starke ökologische Unterschiede zwischen den nördlichen und südlichen atlantischen Inseln gab, die ein solches Szenario wahrscheinlich machen würden (DAWSON 1992).

2) Die Azoren waren von derselben, ursprünglichen *atlantis*-Population besiedelt wie Madeira, aber infolge genetischer Drift dominieren heute auf den nördlichen und südlichen atlantischen Inseln unterschiedliche Haplotypgruppen. Die nachfolgende Kolonisierung des Mittelmeeres erfolgte von den Azoren aus über die Iberische Halbinsel (Galizien). Obwohl von Madeira einerseits und den Azoren und Galizien andererseits hinreichend große Stichproben vorlagen (20 bzw. 30 untersuchte Individuen), wurden keine gemeinsamen Haplotypen gefunden (Abb. 6.4 B). Es ist unwahrscheinlich, dass nur im Süden „ursprüngliche“ und im Norden nur „abgeleitete“ Haplotypen überlebt haben.

3) Es gab auch auf den Azoren eine ursprüngliche *atlantis*-Population, die aber im Pleistozän infolge extremer Schwankungen des Klimas und/ oder des Meeresspiegels zusammenbrach. Erst sekundär wurden die Azoren und die nördliche Iberische Küste von Vögeln aus dem Mittelmeerraum wiederbesiedelt. Die rezenten, nördlichen *atlantis*-Populationen sind daher jünger als die südlichen *atlantis*.

Die mitochondrien-genetischen Daten lassen sich am besten mit der letzten Hypothese zur Deckung bringen. Die Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede der Azoren-Population (Daten nicht gezeigt) ist unimodal, der Haplotyp Nr. 54 dominiert mit 85%. Auch auf Galizien ist dieser Haplotyp zu 60% vertreten. D.h. sowohl die Azoren als auch Galizien wurden wahrscheinlich erst in jüngerer Zeit besiedelt, und die rezenten nördlichen Population lassen sich nicht von den „ursprünglicheren“, südlichen *atlantis*-Populationen ableiten. Obwohl die *atlantis*-Populationen untereinander phänotypisch nicht differenziert sind (GLUTZ & BAUER 1982), unterscheidet sich offenbar ihre Populationsgeschichte. Einschränkend ist allerdings zu bedenken, dass anhand der mtDNA nur die Historie der maternalen genetischen Linien rekonstruiert werden kann. Es ist denkbar, dass über die männlichen Linien durchaus Genfluss zwischen den atlantischen Inseln stattfindet (vgl. DE KNIJFF et al. 2000).

Die sieben *michahellis*-Populationen vom Mittelmeer, Oberrhein und Schwarzen Meer waren mit Ausnahme der Vögel von Gibraltar nicht differenziert (Φ_{ST}-Werte, Tab. 6.5). Dies bestätigt auf mitochondrialer Ebene, dass die Besiedlung des mitteleuropäischen Binnenlandes (Oberrhein, Elsaß) vom westlichen Mittelmeer aus erfolgte (GÉROUDET 1968). Die drei östlichen Kolonien Malta, Kreta und Rumänien wiesen sieben Haplotypen auf, die im Westen fehlten (Nr. 36, 37, 39, 42, 57, 58, 78; Abb. 6.3 A). Drei dieser Haplotypen, nämlich Nr. 37, 28, 58, wurden auch im Brutgebiet von *armenicus* gefunden (Kapitel 5). Somit lassen sich die Immigrationswege von *michahellis* in das

mitteleuropäische und anatolische Binnenland auf der mitochondrien-genetischen Ebene recht deutlich verfolgen.

Um das Bild von der Besiedlungsgeschichte der atlantischen Inseln und der Iberischen Küste zu vervollständigen, müssen weitere Populationen, insbesondere von den Kanarischen Inseln, analysiert werden. Die bisherigen Ergebnisse zeigen aber, dass die Differenzierung zwischen den atlantischen und mediterranen Populationen gering ist. Obwohl sich einige Populationen signifikant unterscheiden (Φ_{ST}-Werte), gibt es Genfluss zwischen den Taxa.

Ist die „Kantabrische Weißkopfmöwe" ein distinktes Taxon?

Die in der Literatur beschriebene Form „*lusitanius*" an den nordspanischen Küsten soll sich in Struktur und Habitus von *michahellis*-Vögeln des Mittelmeeres unterscheiden (JOIRIS 1978). CARRERA et al. (1993) und TEYSSÉDRE (1984) schlugen daher vor, sie als Unterart von *michahellis* abzutrennen, obwohl es Überlappungen in allen Merkmalen gibt (DUBOIS 1986).

Die mitochondriale DNA zeigt folgendes Bild: Die Möwen aus Galizien (und den Azoren) sind von allen anderen *atlantis/michahellis*-Populationen signifikant differenziert. Die zwei häufigsten Haplotypen in Galizien (Nr. 54 & 34; 53% bzw. 23%) machen im westlichen Mittelmeer jeweils 27% und im östlichen Mittelmeer 10% bzw. 66% aus. Das heißt, auch wenn sich die Populationen anhand der Φ_{ST}-Werte signifikant unterscheiden, bilden sie im Netzwerk und im Stammbaum keine selbständigen Cluster (im Gegensatz z.B. zu *armenicus*). Obwohl der Genfluss zwischen dem Mittelmeer und der nordspanischen Population sicher durch die geographische Barriere der Iberischen Halbinsel eingeschränkt ist, gibt es keine Hinweise auf eine phylogenetische Differenzierung.

Die alljährlichen Wanderungen von *michahellis* nach der Brutzeit Richtung Norden und Nordwesten (bis nach England, Dänemark, Skandinavien; CARRERA et al. 1993) legen nahe, dass die Besiedlung der nordspanischen (und französischen) Atlantikküste aus dem westlichen Mittelmeer heraus erfolgte. Dabei könnten durch Gründereffekte deutliche Verschiebungen in den Haplotypfrequenzen aufgetreten sein. Die heutigen atlantischen Populationen (sowohl der Iberischen Halbinsel als auch der atlantischen Inseln) bestehen hauptsächlich aus Standvögeln, d.h. bei ausreichendem Nahrungsangebot bleiben sie auch im Winter in ihren Brutgebieten (BERMEJO et al. 1986, BEAUBRUN 1993, PURROY 1997). Dies erklärt offenbar die niedrige Genflussrate zwischen den Populationen (CARRERA et al. 1993). Eine taxonomische Abspaltung der nordspanischen Form „*lusitanius*" wird aber auf mitochondrien-genetischer Ebene nicht gestützt.

Der „zentralasiatische Formenkreis"

Die zentralasiatischen Taxa unterscheiden sich in ihrer Populationsstruktur wesentlich voneinander: *Cachinnans* ist mit Abstand das älteste Taxon, dagegen zeigen *barabensis* und *mongolicus* Spuren von sehr rezentem Populationswachstum und sind offenbar erst in jüngster Zeit in das asiatische Binnenland eingewandert.

Die Eiszeiten haben in der Populationsstruktur von *cachinnans* deutliche Spuren hinterlassen: Im Haplotypen-Netzwerk gibt es drei distinkte Cluster (Nr. I, IV und V in Abb. 6.4 B). Sie lassen sich

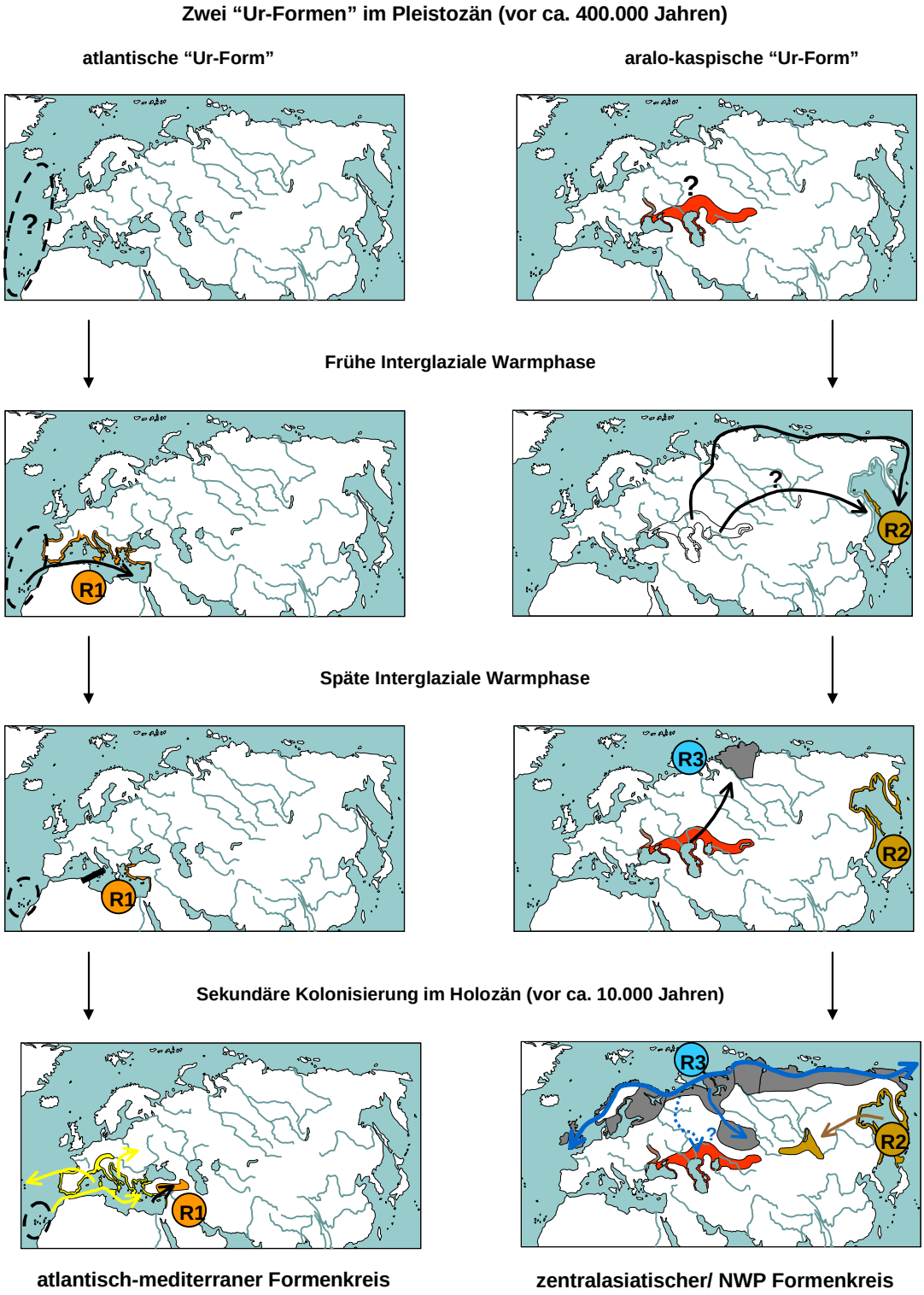


Abb. 6.9: Hypothetisches Bild der inter- und postglazialen Besiedlungsgeschichte der Paläarktis, ausgehend von zwei geographisch getrennten Refugien im atlantischen und aralo-kaspischen Raum. Zwischen den Entwicklungsfolgen innerhalb des atlantisch-mediterranen und zentral-asiatisch/ NW-Paläarktischen (NWP) Formenkreises besteht keine zeitlich Kopplung.

auf mehrere, zeitlich versetzte Expansionsphasen zurückführen, bei denen es zu Emigration und Immigration kam. Auswandernde Individuen wurden bei erneuter Vereisung möglicherweise vom Kerngebiet isoliert, während bereits differenzierte Haplotypen in einer Warmphase sekundär in die Kernpopulation zurückkehrten. Der aralo-kaspische Raum wies während der Eiszeiten ein relativ arides Klima auf, und es sammelten sich dort abfließendes Schmelzwasser und Nährstoffe (GRICHUK 1984, DAWSON 1992). Die über lange Zeiträume stabilen ökologischen Bedingungen bewirkten, dass dieses Gebiet sowohl Quelle („source") als auch Sammelbecken („sink") für migrierende Individuen war. Die heutigen Populationen des Schwarzen und Kaspischen Meeres sind mitochondrien-genetisch nicht voneinander differenziert, obwohl sie durch eine 500 km breite Landbrücke getrennt sind und sich das Zugverhalten der Jungvögel vom Schwarzen Meer (Unterart „*ponticus*") und Kaspischen Meer (Unterart „*cachinnans*") unterscheidet (unveröff. Ringfundmaterial und direkte Beobachtungen in Mitteleuropa). In keiner anderen geographischen Region war die Populationsstruktur eines Taxons so von den Eiszeiten geprägt wie im aralo-kaspischen Raum. Folgendes hypothetische Bild lässt sich anhand der mitochondrialen Daten rekonstruieren (Abb. 6.9.):

Ausgehend von einem Refugium im aralo-kaspischen Raum breiteten sich Möwen in einer frühen interglazialen Warmphase nach Norden und/ oder Osten aus und emigrierten später in den Pazifik. Sie wurden dort isoliert (R2 – Abb. 6.9) und bildeten einen eigenen, pazifischen Formenkreis um *L. vegae* (siehe Kapitel 8). Erst im jüngeren Holozän wurden die Mongolei und Süd-Russland vom Pazifik aus besiedelt, und zwar von den Vorfahren der heutigen Form *mongolicus*. *Mongolicus* bildet ein distinktes Cluster im Haplotypen-Netzwerk (Abb. 6.4 B) und zeigt deutliche Spuren von rezentem Populationswachstum (Abb. 6.5). Entweder ist *mongolicus* auf eine kleine Gründerpopulation zurückzuführen, oder sie hat in jüngster Zeit einen Bottleneck durchlaufen. Bisher ist *mongolicus* nicht wieder mit der „Stammform" *cachinnans* in Kontakt gekommen. Inwiefern die rezenten Taxa reproduktiv isoliert sind, kann daher nicht überprüft werden.

Während einer späteren Warmphase, aber vor dem Beginn der Weichsel-Eiszeit, wurde eine zweite Population im eisfreien Jenessej-Ob Gebiet am Nordmeer isoliert, die „Vorläufer" der heutigen *heuglini* (R3 – Abb. 6.9). Dass dieses Gebiet als eiszeitliches Refugium auch für andere Arten Bedeutung hatte, zeigt das Vorkommen der dort endemischen Rothalsgans *Branta ruficollis* (JOHANSEN 1960). Nach dem Ende der Weichsel-Eizeit (vor ca. 10.000 Jahren) wuchsen die nördlichen Populationen explosionsartig an. Zunächst breitete sich *heuglini* sehr schnell westwärts aus und differenzierte sich phänotypisch zur *fuscus*, *intermedius* und *graellsii*. Erst jetzt kamen dunkelmantlige *graellsii* im NW-Atlantik mit der südlichen *atlantis* in Kontakt.

Die Ostexpansion von *heuglini* war hingegen deutlich verzögert, da Nordamerika in der letzten (Wisconsin) Eiszeit von mächtigeren Eismassen als Eurasien bedeckt war, die später als in Europa abtauten (PIELOU 1991). Nach dem Rückzug des Wisconsin-Eisschildes besiedelte die offenbar von *heuglini*-Vorfahren (nicht *vegae*-Vorfahren!) abgeleitete Form *smithsonianus* sehr schnell weite Teile des nördlichen Nordamerikas. Später überquerte *smithsonianus* von Ostkanada aus den Nordatlantik und besiedelte Island und NW-Europa. Hier differenzierte sich die Einwandererpopulation zu *argentatus* (mit *argenteus*), die heute sympatrisch mit Heringsmöwen brütet (s. Kapitel 7, Abb. 7.8).

Die südliche Ausbreitung von *heuglini* in die zentralasiatischen Steppen, wo sie sich zu *barabensis* differenzierte, fand erst vor relativ kurzer Zeit statt. *Barabensis* zeigt deutliche Spuren von

jüngstem Populationswachstum, zurückgehend auf eine vermutlich kleine Ausgangspopulation, da die genetische Variabilität nach wie vor gering ist. *Heuglini* und *barabensis* sind phänotypisch differenziert: die nördliche Form *heuglini* ist größer und hat eine hellere Mantelfarbe als die südliche *barabensis*. Die fehlende Differenzierung auf mitochondrialer Ebene zeigt, dass sich die phänotypischen Unterschiede relativ schnell durch lokale Selektion herausgebildet haben und wahrscheinlich Anpassungen an den jeweiligen Lebensraum darstellen (Bergmann'sche und Gloger'sche Regel; RIDLEY 1996). Deutliche phänotypische Unterschiede ohne mitochondrien-genetische Differenzierung sind auch von anderen Vogeltaxa bekannt (vgl. ZINK & AVISE 1990, DEGNAN & MORITZ 1992).

Die Entwicklung der Haplotypen-Cluster V und VI in *cachinnans* kann bisher nicht genau erklärt werden. Im Haplotypen-Stammbaum wird deutlich, dass Cluster V älter als Cluster IV ist. Möglicherweise waren die Populationen, in denen sich diese Haplotypgruppen herausbildeten, zu einem sehr frühen Zeitpunkt einmal geographisch getrennt und haben sich erst später wieder vereint. Nach dieser Vorstellung wäre die Paraphylie von *cachinnans* im Haplotypen-Stammbaum auf einen ancestralen Polymorphismus und unvollständiges Lineage Sorting zurückzuführen. Heute ist das Cluster IV in der *cachinnans*-Population deutlich häufiger als Cluster V.

Die in Abb. 6.9 dargestellten, hypothetischen Ausbreitungs- und Differenzierungsprozesse der atlantisch-mediterranen und zentralasiatischen/nordwest-paläarktischen Möwengruppen infolge eiszeitlicher Arealexpansion und –kontraktion verliefen zeitlich nicht unbedingt parallel. Es ist denkbar, dass einige Taxa zusätzliche interglaziale Expansionsphasen durchlebten, die keine Spuren auf der mitochondrialen Ebene hinterlassen haben, oder weitere, interglaziale Refugien besiedelten, die bisher nicht entdeckt wurden.

6.3.3. Phylogenie der Haplotypen und Populationsstammbäume

Der Stammbaum der 26 häufigsten Haplotypen und der Populationsstammbaum sind deutlich dichotom. Die atlantisch-mediterrane Gruppe ist im Haplotypen-Stammbaum zu 100% von der zentralasiatischen/nordwest-paläarktischen Gruppe getrennt. Mit Ausnahme der zwei *graellsii*-Haplotypen bei *atlantis* gibt es keine Hinweise auf rezenten Genfluss zwischen diesen Gruppen.

Innerhalb der Gruppen wird jedoch kein Taxon von monophyletischen Haplotyp-Gruppen repräsentiert. Das Vorkommen gemeinsamer Haplotypen zwischen den Taxa lässt sich entweder auf ancestrale Polymorphismen und unvollständiges Lineage Sorting zurückführen, oder auf (ggf. länger zurückliegende) Hybridisierung und Introgression (NEIGEL & AVISE 1996, AVISE 1994). Das Lineage Sorting zwischen Populationen ist ein stochastischer Prozess, bei dem die Haplotypen durch genetische Drift entweder aussterben oder häufiger werden (TAJIMA 1983, AVISE et al. 1983). Wenn Populationen im Zustand nicht abgeschlossenen Lineage Sortings untersucht werden, also noch von der Stammpopulation ererbte Polymorphismen des betrachteten Markers aufweisen, sind gemeinsame Haplotypen nicht unbedingt ein Indiz für Hybridisierung oder Introgression (AVISE et al. 1983, PARKER & KORNFIELD 1993).

Weiterhin beeinflussen demographische Faktoren die Verteilung von Haplotypen zwischen den Taxa. Die Zeit, die notwendig ist, bis die Haplotypen einer Population den monophyletischen Zustand erreichen, hängt von der effektiven Zahl reproduktiver Weibchen ab (N_e) und beträgt für mitochondriale Marker $4N_e$ (NEIGEL & AVISE 1986). Zusammenbrüche einer Population („Bottlenecks“) oder Besiedlung eines neuen Lebensraums durch wenige „Gründerindividuen“ reduzieren vorübergehend die effektive Zahl reproduktiver Weibchen einer Population und beschleunigen das Lineage Sorting. *Cachinnans*, *atlantis* und *michahellis* tragen keine Anzeichen von Bottlenecks in ihrer Populationsgeschichte (Abb. 6.5, Abb. 6.6). Es erscheint also durchaus plausibel, dass ihre Paraphylie im Haplotypen-Stammbaum und im Netzwerk auf ancestralen Polymorphismen beruht, die sich bis heute erhalten haben. Auf der anderen Seite zeigen *armenicus*, *barabensis* und *mongolicus* deutliche Spuren von Bottlenecks und rezenter Besiedlung ihres heutigen Brutareals, was sich in der Ausbildung monophyletischer Cluster im Netzwerk widerspiegelt (bei Vernachlässigung der offensichtlichen Introgression, Abb. 6.4).

Sowohl im Netzwerk als auch im Stammbaum wird deutlich, dass der Grad der morphologischen Differenzierung zwischen den Taxa nicht zu 100% mit den Unterschieden auf der mitochondrialen Ebene korreliert. Die klassische Taxonomie der Gruppe, basierend u.a. auf Mantel- und Beinfärbung, spiegelt sich auf der mitochondrien-genetischen Ebene nicht durchgängig wider. Anstelle einer (phänotypisch erkennbaren) Aufteilung in nördliche (*fuscus*) und südliche (*cachinnans*) Taxa, gibt es phylogenetisch eine basale Zweiteilung zwischen westlichen (*atlantis*, *michahellis*, *armenicus*) und östlichen Formen. In der letzten Gruppe sind sowohl hellmantlige (*cachinnans*, *barabensis*, *mongolicus*) als auch dunkelmantlige Formen (*heuglini*, *taimyrensis*, *graellsii*) vertreten. Dies zeigt, dass die Mantelfarbe, wahrscheinlich sogar alle phänotypischen Merkmale, wesentlich jünger sind und sich als Anpassung an den Lebensraum relativ schnell selektiv verändert haben. Morphologische Merkmale allein spiegeln daher die Phylogenie der Großmöwen nur unvollständig wider.

Vergleichbare Szenarien, bei denen die mitochondrien-genetische Populationsstruktur nicht die geographischen oder traditionellen taxonomischen Beziehungen widerspiegelt, sind bei Vögeln nicht selten und wurden z.B. bei Seaside-Sparrows (*Ammodramus maritimus*; AVISE & NELSON 1989), Mourning Doves (*Zenaida macrouca*; BALL & AVISE 1992), Haarigen Spechten (*Picoides pubescens*, BALL & AVISE 1992), Birkenzeisigen (*Carduelis flammea, C. hornemanni*; SEUTIN et al. 1995) und Darwin-Finken (FREELAND & BOAG 1999, PETREN et al. 1999) gefunden. Bei australischen Brillenvögeln (*Zosterops*) waren morphologisch wenig differenzierte Formen mitochondrien-genetisch deutlich differenziert. Umgekehrt zeigten morphologisch differenzierte Formen sehr wenig mitochondriale Divergenz (DEGNAN & MORITZ 1992).

Das Vorkommen eines Haplotypen in zwei oder mehreren Taxa und die fehlende Monophylie der Haplotyp-Linien innerhalb eines Taxons können auch auf historischen Genfluss zwischen den Taxa zurückzuführen sein. Bei den Großmöwen lassen die Ergebnisse aber vermuten, dass phänotypische Merkmale hier schwache Marker für die Rekonstruktion der phylogenetischen Verwandtschaft sind. Wie für andere Gattungen gezeigt wurde, kann Selektion sehr schnell phänotypische Merkmalsänderungen hervorrufen, die nicht historische, sondern kleinräumige, ökologische

Beziehungen zwischen morphologisch differenzierten Formen widerspiegeln (GRANT & GRANT 1997, SATO et al. 1999). Mitochondriale Marker sind zwar vom Phänotypen unabhängig und erlauben die Rekonstruktion phylogenetischer Beziehungen zwischen Populationen und Taxa, aber sie repräsentieren ausschließlich die Phylogenie der weiblichen Linien. Sie sind somit nicht mehr und nicht weniger als ein Puzzlestein, der einen Ausschnitt der „wahren Geschichte“ widerspiegelt.

7. Ergebnisse und Diskussion

Teil V: Genetische Differenzierung und Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Silber- und Heringsmöwen

7.1. Zielstellung

In den folgenden zwei Kapiteln dieser Arbeit wurden alle Großmöwen untersucht, die nördlich des 50. Breitengrades brüten. Im Kapitel 6 wurde bereits gezeigt, dass es zwischen den „Weißkopfmöwen“ der südlichen Paläarktis deutliche Genflussbarrieren gibt und das Modell von MAYR (1963) die rezente Verbreitung der Taxa nicht erklärt. In der „nördlichen“ Holarktis sind Großmöwen zirkumpolar verbreitet, und das Ringspezies-Modell war bisher die einzige Erklärungshypothese für das sympatrische Vorkommen von hellmantligen Silbermöwen und dunkelmantligen Heringsmöwen in NW-Europa. Anhand der DNA-Sequenzen von 15 Taxa sollen die folgenden Fragen untersucht werden:

1. Welche phylogenetischen Beziehungen bestehen zwischen den phänotypisch unterscheidbaren Großmöwen der nördlichen Holarktis?
2. Inwieweit sind die sympatrisch brütenden oder sekundär in Kontakt kommenden „nördlichen“ Taxa auf der mitochondrien-genetischen Ebene differenziert?
3. In welchen Glazialrefugien waren die „nördlichen“ Möwen isoliert? Lässt sich die Besiedlung der nördlichen Breiten anhand der Verteilungsmuster mitochondrialer Haplotypen rekonstruieren?
4. Liefert das Ringspezies-Modell eine adäquate Erklärung für die postglaziale Ausbreitung der nördlichen Taxa?

7.2. Ergebnisse

In diesem Kapitel wurden vier Silbermöwen-Taxa aus Nordamerika (*smithsonianus)* bzw. Europa *(argenteus, argentatus,* „*omissus*“) sowie fünf Heringsmöwen-Taxa der NW-Paläarktis (*graellsii, intermedius, fuscus, heuglini*, *taimyrensis*) untersucht (Tab. 7.1). Die Eismöwen-Populationen (*hyperboreus*) aus Nordamerika und Europa, die Polarmöwe (*glaucoides*) aus der kanadischen Arktis, die Mantelmöwe (*marinus*) aus dem nördöstlichen Atlantik sowie die „pazifischen“ Formen *vegae, schistisagus, glaucescens* werden im Kapitel 8 separat diskutiert. Die Ergebnisse sollen aber an dieser Stelle einer gemeinsamen Analyse unterzogen werden, da es zwischen den hier behandelten „nördlichen“ Taxa enge phylogenetische Beziehungen gibt.

7.2.1. Rekonstruktion der Phylogenie nördlicher Großmöwen

Bei den insgesamt 784 untersuchten Großmöwen-Individuen der „nördlichen“ Teilgruppe wurden 143 Haplotypen gefunden (zum Vergleich: bei den 1217 Individuen aller 21 Taxa waren es 196 Haplotypen). Der Haplotypen-Stammbaum (Abb. 7.1) zeigt zwei große phylogenetische Gruppen, deren jeweilige Monophylie durch Likelihood-Mapping zu 100% gestützt wird. Diese basale

Tabelle 7.1: Geographische Herkunft der 784 untersuchten nördlichen Großmöwen (siehe Abb. 2.9). Einteilung der phänotypisch differenzierten Gruppen in 15 Taxa und 34 Populationen.

Phänotyp	Taxon	Brutkolonie/ Herkunft	n=	Population
***argentatus* - Gruppe**	***smithsonianus*** (n=67)	Alaska	5	smiALA
		Ontario	30	smiONT
		New Brunswick	20	smiNBW
		Prince Edward Insel	12	smiPEI
Holarktische Silbermöwen	***argenteus*** (n=153)	Island-Westküste	15	ageICW
		Island-Ostküste	23	ageICE
- hellgrauer Mantel		Färöer Inseln	11	ageFAR
- fleischfarbene Beine		Nord-Norwegen	14	ageNNO
- helle Iris		Süd-Norwegen	20	ageSNO
		Frankreich	27	ageFRC
		Holland	26	ageHOL
		Helgoland	17	ageHGL
	argentatus (n=33)	Heuwiese	16	argHWS
		Weichselmündung	17	argLOW
	"omissus" (n=88)	Estland	25	omiEST
		Finnland	33	omiFIN
		Weißes Meer	30	omiWSE
***fuscus* - Gruppe**	***graellsii***	Nord-Ost Atlantik	100	graATL
Heringsmöwen	***intermedius***	Südliche Nordsee	24	intNOS
	fuscus	Finnland & Russland	28	fusFIN
- dunkler Mantel	***heuglini***	Nord-West Sibirien	26	heuKAN
- gelbe Beine	***taimyrensis***	Taimyr-Halbinsel	21	taiPJA
"Pazifische" - Gruppe	***vegae***	Tschukotka	10	vegTSC
	schistisagus	Magadan	14	schMAG
	glaucescens	British Columbia	8	gcsBRC
Polarmöwe und Eismöwe	***glaucoides***	Baffinland	7	goiATL
		Färöer Inseln	1	goiATL
	hyperboreus	Kanada, Baffinland	24	hypNWT
		Island	28	hypICL
		Spitzbergen	23	hypSPB
		Sibirien	17	hypSIB
Mantelmöwe	***marinus***	Russland, Dänemark, Island	29	marNAT
"Mischkolonien"		Klein Koschen	27	mixKLK
		Mittlere Weichsel	24	mixMIW
		Gorki, Sitniki	32	mixCER

Aufspaltung entspricht der Trennung, die auch bei den südlichen „Weißkopfmöwen“ gefunden wurde (vgl. Kapitel 6). Die beiden Großgruppen von Haplotypen werden im folgenden nach ihrer geographischen Verbreitung als **atlantisch-mediterrane Gruppe (I)** und als **asiatisch-holarktische Gruppe (II)** bezeichnet. Sie setzen sich aus jeweils mehreren Haplotyp-Untergruppen („Clustern“) zusammen, die zum Zweck der leichteren Identifizierbarkeit nach den Taxa benannt sind, in denen sie vorherrschen (obwohl ihr Vorkommen nicht auf diese Taxa beschränkt ist!). In den Abbildungen 7.1 und 7.2 sind diese Haplotyp-Cluster zudem farbig kodiert.

Die **atlantisch-mediterrane Gruppe I** besteht aus einem „*michahellis*-Cluster“ (gelb ohne Schraffur; Haplotypen herrschen bei Mittelmeermöwen *L. michahellis* vor) und zwei „nördlichen“ *argentatus*-Clustern, deren Haplotypen z.T. auch bei der Mantelmöwe („nördliche“ *argentatus* I; „gelb-gestreift“) bzw. bei paläarktischen Eismöwen (nördliche“ *argentatus* II; „gelb-punktiert“) vorkommen.

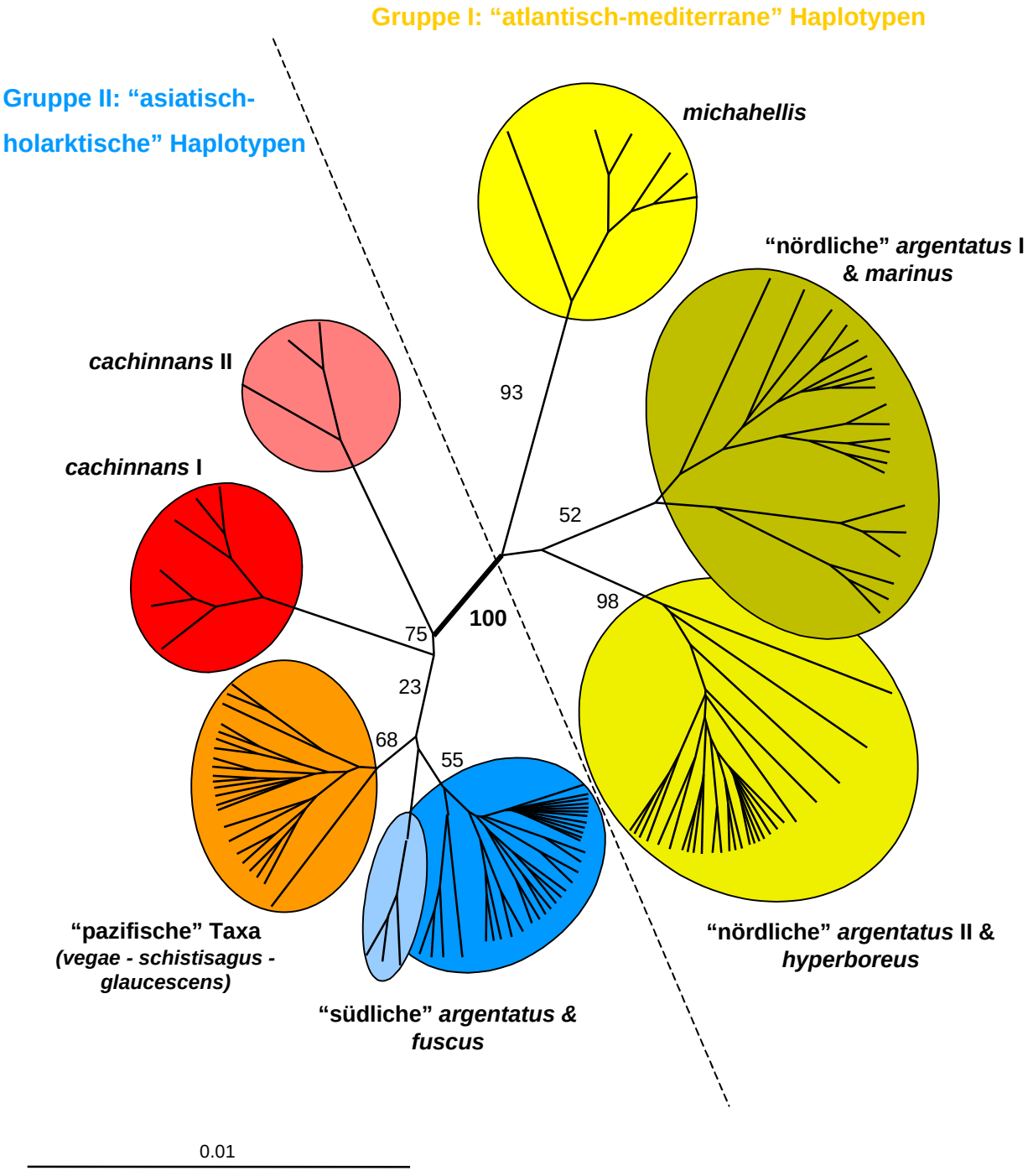


Abb. 7.1: Stammbaum der 143 Haplotypen (430 Basenpaare der mitochondrialen Kontrollregion), die in 784 sequenzierten Individuen der 15 nördlichen Großmöwentaxa gefunden wurden (UPGMA-Algorithmus, Kimura 2-P-Distanz). Geographische Herkunft und Anzahl untersuchter Individuen, siehe Tab. 7.1. Zahlen an den Ästen: Likelihood-Mapping Werte in % (10.000 unabhängige Quartette, PUZZLE-Programm).

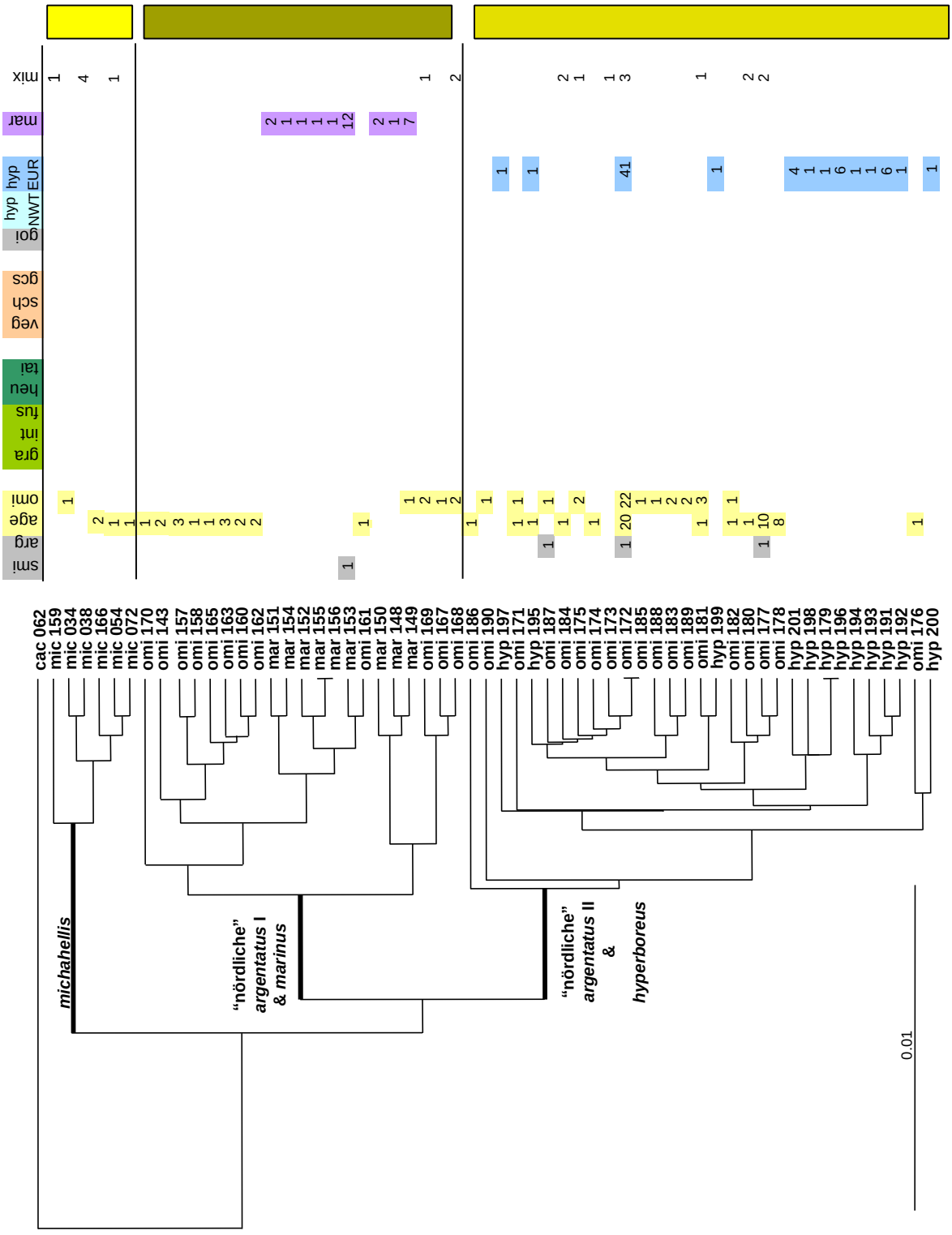


Abb. 7.2: Haplotypen-Stammbaum (Kimura 2-P-Distanz, UPGMA-Algorithmus), Häufigkeiten der Haplotypen, Farbkodierung für einzelne Cluster von Haplotypen wie in Abb. 7.1 (Balken rechts). Abkürzungen: Silbermöwen-Gruppe: *smithsonianus* (smi), *argentatus* (arg), *argenteus* (age), "*omissus*" (omi); Heringsmöwen-Gruppe: *graellsii* (gra), *intermedius* (int), *fuscus* (fus), *heuglini* (heu), *taimyrensis* (tai); pazifische Taxa *vegae* (veg), *schistisagus* (sch) und *glaucescens* (gcs); Polar- und Eismöwen: *glaucoides* (goi), *hyperboreus* aus NE-Kanada (hypNWT) und Europa (hypEUR) sowie Mantelmöwen (*marinus* – mar) und Kolonien des europäischen Binnenlandes (mix).

A) Stammbaum aller atlantisch-mediterranen Haplotypen der Gruppe I ("gelbe Haplotypen") mit *cachinnans* als Außengruppe (cac-062). Haplotypen dieser Gruppe sind auf "nördliche" Silbermöwen-Populationen, Mantelmöwen und Eismöwen aus Europa beschränkt.

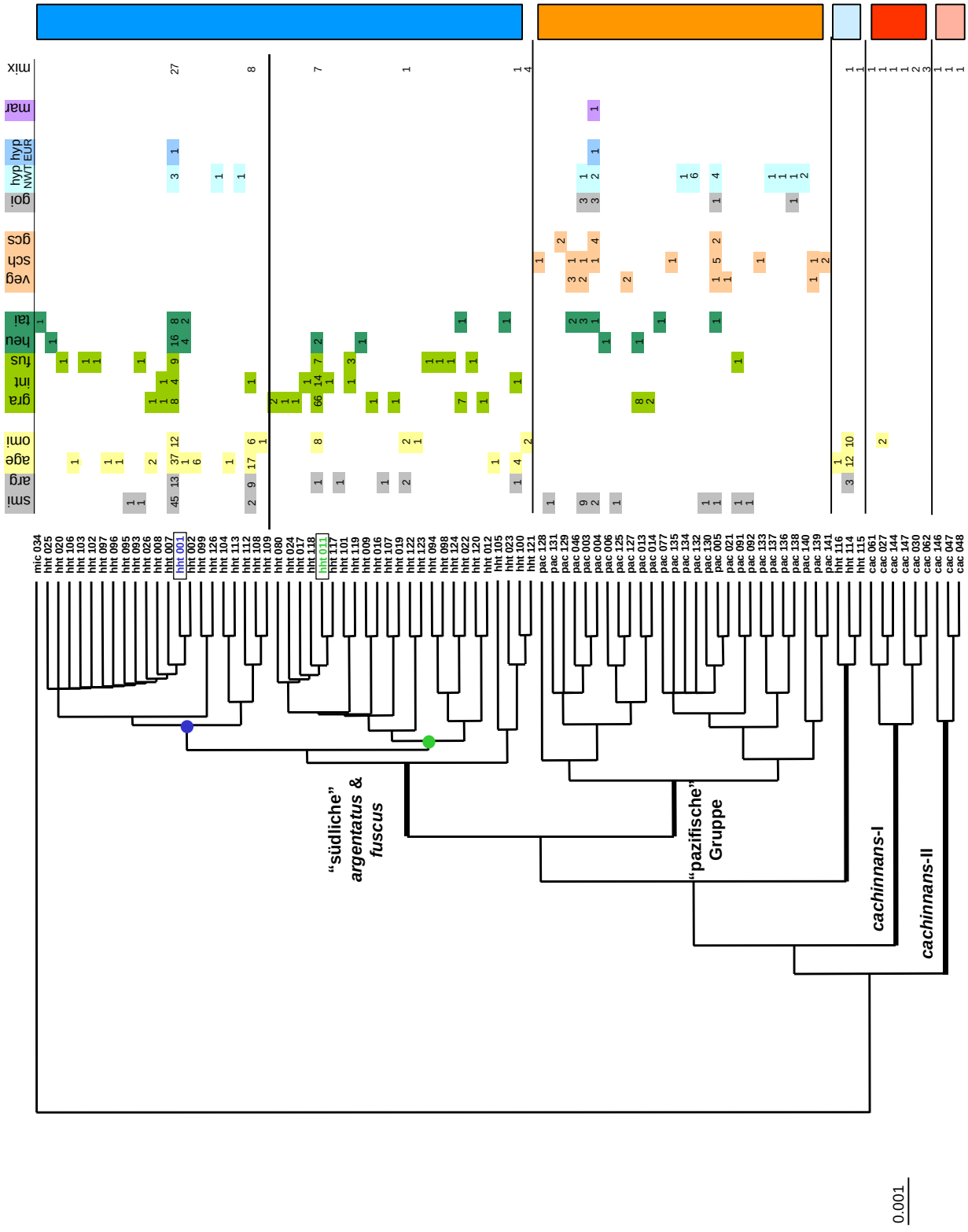


Abb. 7.2 B) Stammbaum aller asiatisch-holarktischen Haplotypen der Gruppe II ("blaue" und "orange" Haplotypen sowie klassische *cachinnans*-Haplotypen in "rot") mit *michahellis* (mic-034) als Außengruppe. "Blaue" Haplotypen dominieren in Silber- und Heringsmöwen, während "orange" Haplotypen für die "pazifischen" Taxa charakteristisch sind. Haplotypen der Steppenmöwe (*cachinnans*) wurden nur in den osteuropäischen Binnenlandkolonien gefunden.

Die **asiatisch-holarktische Gruppe II** umfasst ein Cluster der Silber- und Heringsmöwen („südliche *argentatus & fuscus;* „blau“ und „hellblau“), eine Gruppe „pazifischer“ Haplotypen (*vegae, schistisagus, glaucescens;* „orange“) sowie zwei *cachinnans*-Cluster („rot“), die bereits in Kapitel 6 (Abb. 6.7, Cluster IV & V) besprochen wurden.

Zunächst war die Frage von Interesse, welche Haplotypen bei welchen Taxa vorkommen und inwieweit eine Segregation der mitochondrialen Haplotypen zwischen den (phänotypisch abgegrenzten) Taxa gegeben ist. Dazu wurde die absolute Häufigkeit aller Haplotypen in den jeweiligen Taxa - getrennt für die phylogenetischen Gruppen I und II – in Abb. 7.2 angegeben und ihre relative Häufigkeit in den einzelnen Populationen auf Kartendarstellungen (Abb. 7.3, 7.4) projiziert.

Grundsätzlich lässt sich feststellen, dass keines der hier betrachteten Möwentaxa im mitochondrialen Stammbaum durch ein monophyletisches Haplotypcluster repräsentiert ist. Dennoch gibt es eine z.T. sehr deutliche, z.T. weniger ausgeprägte Segregation der Haplotypen zwischen den Taxa, die die genetische Differenzierung der Großmöwenformen untereinander widerspiegelt.

Die Silbermöwen der Westpaläarktis erwiesen sich als mitochondrien-genetisch äußerst heterogene Gruppe: Bei ihnen kommen – mit deutlichen geographischen Häufigkeitsunterschieden – Haplotypen von vier verschiedenen Clustern aus beiden Hauptgruppen (I und II) vor: Bei den Silbermöwen Nordeuropas (Island, Färöer, Norwegen, Weißes Meer) herrschen Haplotypen zweier Cluster der Gruppe I vor (Abb. 7.1 & 7.2: gelb-gestreift, gelb-punktiert), von denen das eine Cluster auch Haplotypen der Mantelmöwe enthält, das andere auch solche der Eismöwe (paläarktische Population). Die Relationen dieser beiden Großmöwenarten zur Silbermöwe, von der sie sich phänotypisch problemlos abgrenzen lassen, sind jedoch auf mitochondrien-genetischer Ebene völlig verschieden: Während bei paläarktischen (nicht nearktischen!) Eismöwen derselbe Haplotyp dominiert wie bei den nördlichen Silbermöwen (Nr. 172, bei *hyperboreus* 60%, n=68), besitzen Mantelmöwen von zwei Ausnahmen abgesehen Haplotypen, die bei Silbermöwen fehlen (nur zwei *marinus*-Haplotypen wurden je einmal bei *smithsonianus* [Nr. 153] bzw. *omissus* [Nr. 149] gefunden). Zwischen den paläarktischen Eismöwen und nördlichen Silbermöwen gibt es keine deutliche Segregation der mitochondrialen Haplotypen. Die Population vom Weißen Meer („*omissus*“) ist mitochondrien-genetisch nicht von den europäischen Eismöwen differenziert (siehe Tab. 8.1).

Michahellis-typische Haplotypen (**Gruppe I**: „*michahellis*-Cluster“, Abb. 7.2 A) wurden nur bei wenigen Silbermöwen aus NW-Frankreich, Ost-Island und einem Vogel vom Weißen Meer (Abb. 7.3 A) gefunden sowie in möglichen *michahellis x argentatus* – Mischkolonien (Abb. 7.2 A). Haplotypen der Gruppe I fehlen völlig bei Heringsmöwen, den pazifischen Taxa sowie Eis- und Polarmöwen in Nordamerika.

Die Haplotypen der **asiatisch-holarktischen Gruppe II** („blaue“ und „orange“ Farbkodierung, Abb. 7.2 B) zeigen zwischen einigen Taxa deutliche Segregation. „Blaue“ Haplotypen kamen zwar sowohl bei Silber- als auch bei Heringsmöwen vor, jedoch in unterschiedlichen Häufigkeiten (Abb. 7.2). Andererseits fehlten „blaue“ Haplotypen in den pazifischen Taxa und waren bei paläarktischen Eismöwen selten (7%). Für *vegae*, *schistisagus* und *glaucescens* (pazifische Gruppe) sind dieselben

„orangen“ Haplotypen charakteristisch wie für Polar- und Eismöwen in Nordamerika. Daran ist nicht nur die schwache bzw. fehlende Segregation zwischen den Arten überraschend, sondern vor allem der krasse mitochondrien-genetische Unterschied zwischen paläarktischen und nearktischen Eismöwen (vgl. Kapitel 8).

„Hellblaue“ argentatus-Haplotypen (Abb. 7.2) waren auf europäische Silbermöwen beschränkt, während typische *cachinnans*-Haplotypen („rot“) nur in Binnenlandkolonien (mittlere Weichsel, Estland und in Gorki, östlich von Moskau) vorkamen, wo sie offensichtlich auf rezente Einwanderung von Steppenmöwen aus dem Schwarzen und Kaspischen Meer zurückzuführen sind. Bei Mantelmöwen wurde bis auf eine Ausnahme (Nr. 004) kein Haplotyp der Gruppe II gefunden.

Die geographische Häufigkeitsverteilung der Haplotypen ist in Abb. 7.3 dargestellt. Dabei wurden sämtliche Haplotypen eines Clusters zusammengefasst (= Farbkodierung), wobei möglicherweise kleinräumige Differenzierungen zwischen geographisch benachbarten Populationen unberücksichtigt blieben (vgl. Abschnitt 7.2.2). Bei den **Silbermöwen** (Abb. 7.3 A) zeigen die relativen Häufigkeiten der „gelben“ (atlantisch-mediterrane Gruppe I) bzw. „blauen“ Haplotypen (asiatisch-holarktische Gruppe II) eine deutliche geographische Differenzierung: In Nordamerika und bei den südlichen *argentatus*-Populationen Europas (Frankreich, Holland, Deutschland, Polen) dominieren Haplotypen der Gruppe II („blau“), während in den NW-paläarktischen *argentatus*-Populationen (Island, Färöer, Norwegen und Weißes Meer) Haplotypen der Gruppe I („gelb“) überwiegen. Besonders auffällig ist die Differenzierung zwischen geographisch relativ nah benachbarten Populationen der Nordsee: „gelbe“ Haplotypen dominieren in Südnorwegen (80%, n=20), während ihr Anteil in Holland nur 7,7% (n=26) und auf Helgoland 17,6% (n=17) beträgt. In der östlichen „*omissus*“-Population vom Weißen Meer dominiert ebenfalls der „gelbe“ Haplotyp (93%, n=30), während „blaue“ Haplotypen den Hauptanteil in Finnland (73%, n=33) und Estland (64%, n=25) ausmachen.

Die fünf **Heringsmöwen-Taxa** (Abb. 7.3 B) sind untereinander nah verwandt. Hier fällt auf, dass nach Osten der Anteil pazifischer (“oranger“) Haplotypen zunimmt. Aber auch zwischen den fünf Heringsmöwen-Taxa gibt es eine deutliche geographische Differenzierung, die sich in unterschiedlichen Häufigkeiten der Haplotypen des „blauen“ Clusters äußert (Abb. 7.4). Andererseits dominieren in der Heringsmöwengruppe ebenso wie bei den südlichen *argentatus*-Populationen (Abb. 7.3 A) „blaue“ Haplotypen. Dies könnte zweierlei bedeuten: Entweder sind Silber- und Heringsmöwen phylogenetisch sehr nah verwandt und ihre phänotypische Differenzierung (Mantelfarbe, Lautäußerung, Zugverhalten) ist so jung, dass sie sich auf mitochondrien-genetischer Ebene (noch) nicht manifestiert hat. Oder es gab in relativ junger Vergangenheit massiven Genfluss zwischen diesen Taxa, der erst jüngst durch Ausbildung effektiver Paarungsbarrieren unterbrochen wurde, so dass das mitochondriale Lineage Sorting noch unvollständig ist.

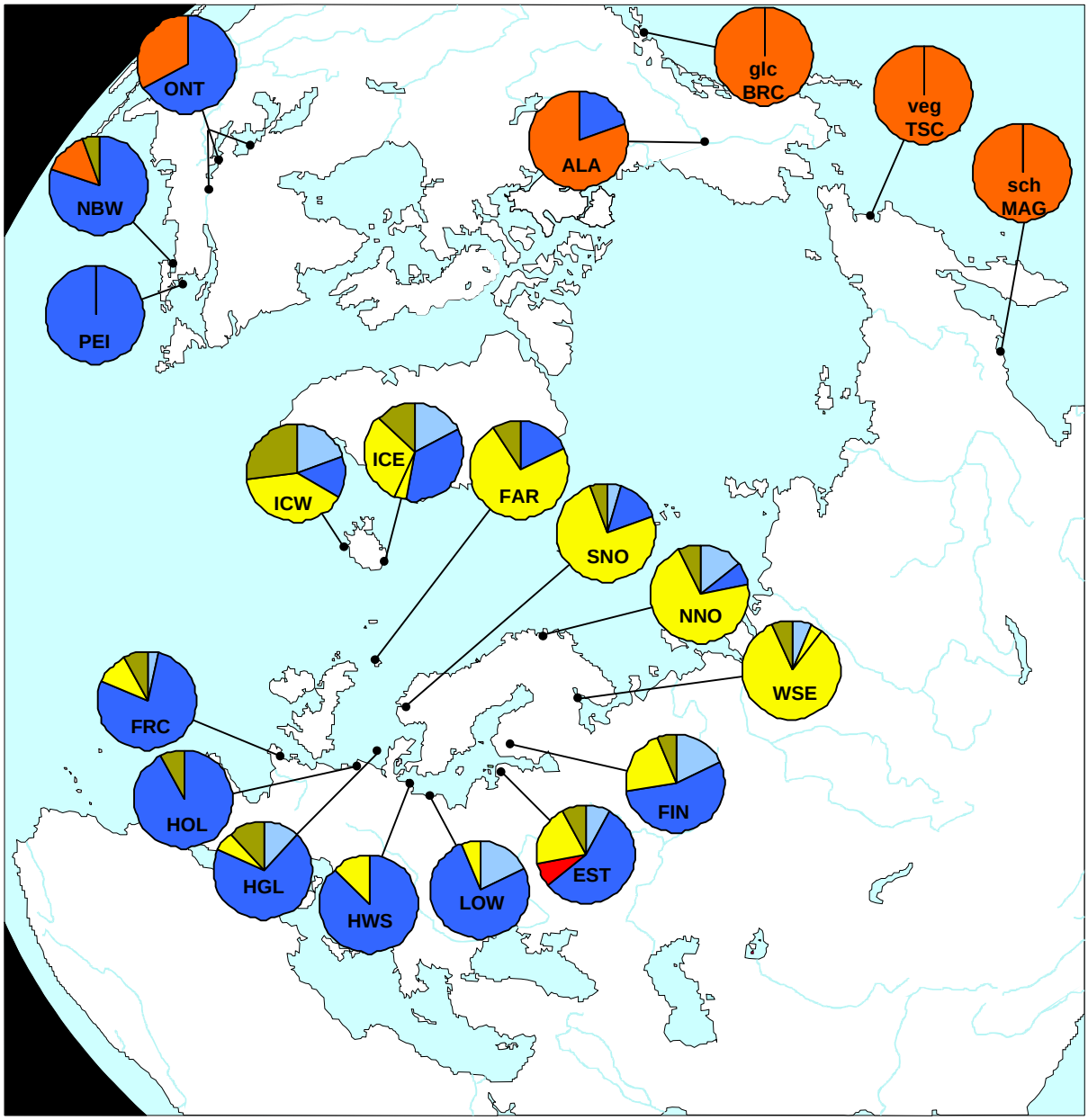


Abb. 7.3: Relative Häufigkeiten der mitochondrialen Haplotypen (430 sequenzierte Basenpaare der Kontrollregion) bei Möwen der nördlichen Holarktis. Geographische Herkunft und Anzahl untersuchter Individuen sowie Abkürzungen siehe Tab. 7.1. Farbkodierung entsprechend der großen Haplotypen-Cluster in Abb. 7.2, wobei jeweils nah verwandte Haplotypen zusammengefaßt wurden. Die phylogeographische Differenzierung zwischen geographisch benachbarten und phänotypisch gleichen Populationen wurde hierbei vernachlässigt (siehe aber Taxon-Stammbäume, Abb. 7.4 - 7.6).

A) Populationen der Silbermöwen-Gruppe: *smithsonianus* (ALA, ONT, NBW, PEI), *argenteus* (ICW, ICE, FAR, SNO, NNO, FRC, HOL, HGL), *argentatus* (HWS, LOW) und "*omissus*" (EST, FIN, WSE) sowie die pazifischen Taxa *schistisagus* (schMAG), *vegae* (vegTSC) und *glaucescens* (glcBRC).

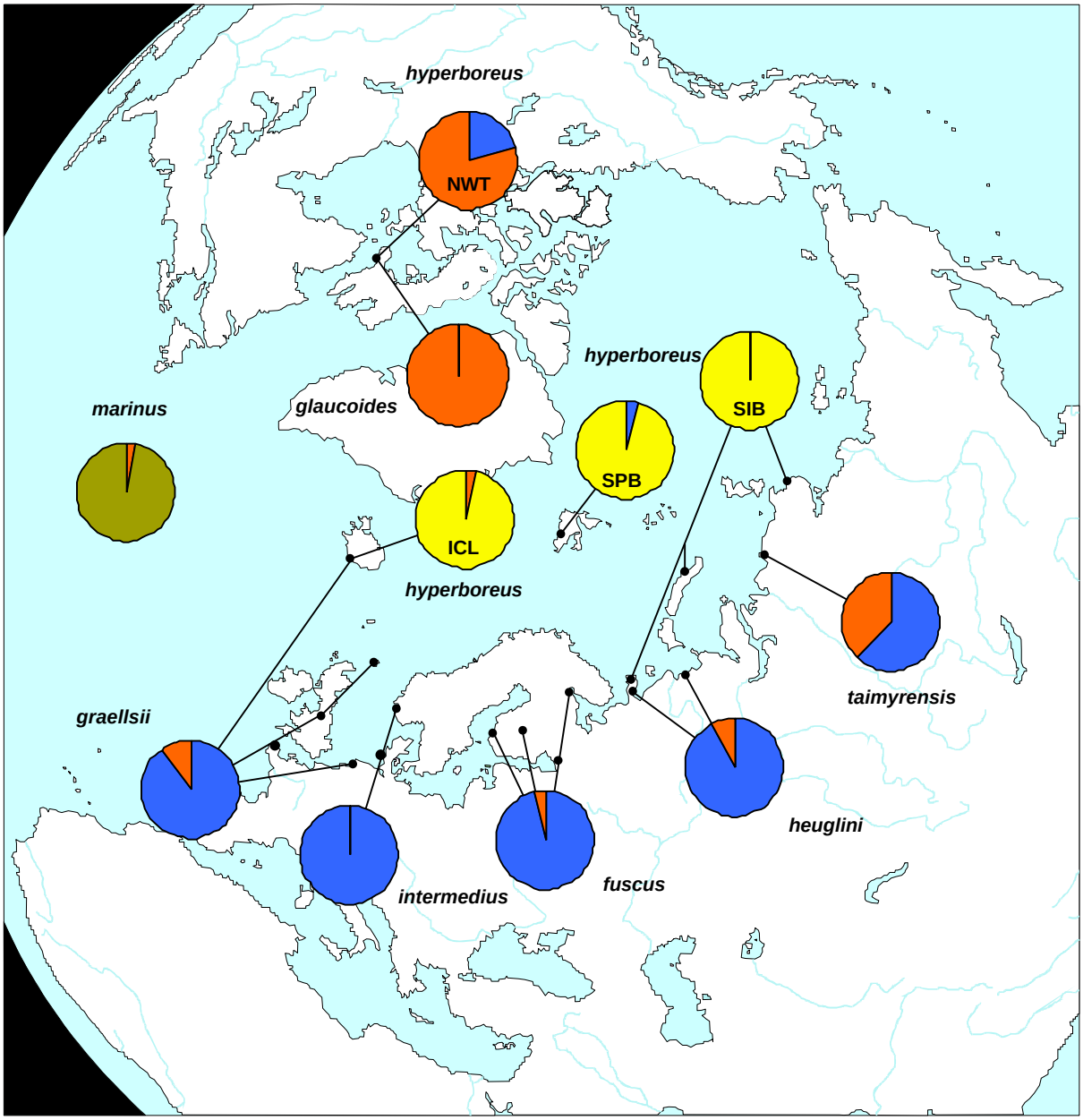


Abb. 7.3 B) Taxa der NW-paläarktischen Heringsmöwen-Gruppe (*graellsii, intermedius, fuscus, heuglini* und *taimyrensis*), Polarmöwen (*glaucoides,* nur Baffin Inseln*)* und Eismöwen (*hyperboreus*) aus Nord-Kanada (NWT), Island (ICL), Spitzbergen (SPB) und NW-Sibirien (SIB) sowie Mantelmöwen (*marinus*) aus verschiedenen Brutgebieten der NW-Paläarktis (siehe Tab. 7.1).

7.2.2. Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb phänotypisch ähnlicher Gruppen von Taxa

1. Die holarktische Silbermöwen-Gruppe

Die Silbermöwe *sensu stricto* umfasst die Taxa *smithsonianus*, *argentatus* und *argenteus* (HAFFER 1982) sowie die gelbfüßige, fennoskandische Form „*omissus*“ (STEGMANN 1934, MIERAUSKAS et al. 1991). Unterschiede zwischen diesen Phänotypen bestehen in Mantelfarbe, Handschwingenzeichnung und Beinfarbe. Um die Verwandtschaftsbeziehungen dieser Formen zu untersuchen, habe ich 17 Populationen der *argentatus*-Gruppe einbezogen (Tab. 7.1), aber die Mischkolonien im europäischen Binnenland ausgeklammert. Der Populationsstammbaum (Abb. 7.4) zeigt eine signifikante Aufspaltung in eine „nördliche“ und eine „südliche“ *argentatus*-Gruppe.

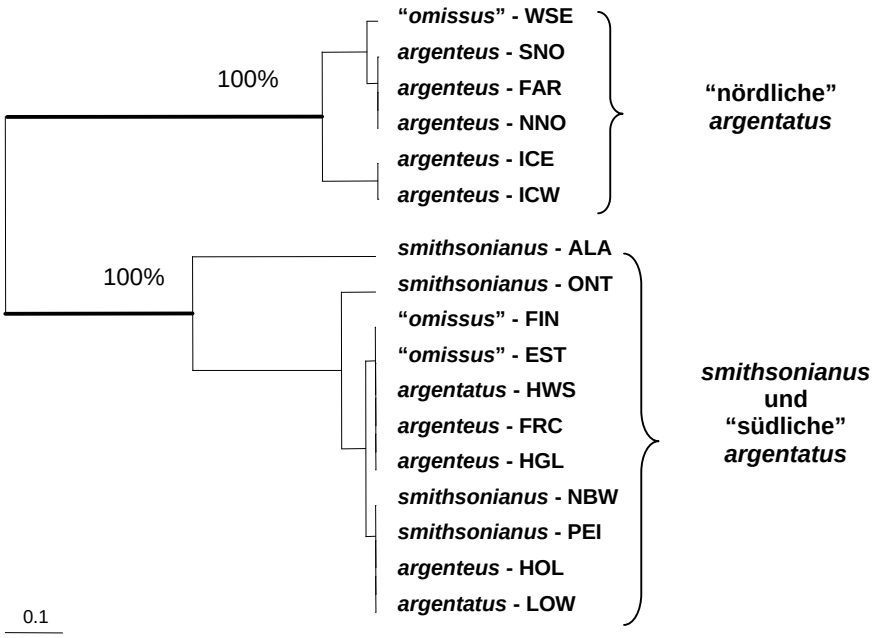


Abb. 7.4: Populationsstammbaum der holarktischen Silbermöwen-Gruppe (UPGMA mit Kimura 2-P-Distanz; SLATKINS's linearisierte Φ_{ST}-Werte; ARLEQUIN, SCHNEIDER et al. 1998) mit den Taxa *smithsonianus, argenteus, argentatus* und “*omissus*” (Herkunft der Proben und Anzahl untersuchter Individuen, siehe Tab. 7.1). Zahlen an den Ästen: Bootstrap-Werte in % (vgl. Abb. 6.7).

Das nördliche Cluster enthält die nordeuropäische *argenteus*- sowie die „*omissus*“-Population vom Weißen Meer. Das südliche Cluster umfaßt nordamerikanische *smithsonianus*- und südliche *argenteus*-Populationen sowie baltische *argentatus*- und „*omissus*“-Populationen aus Südfinnland und Estland. Die Silbermöwen aus Alaska nehmen eine Sonderstellung innerhalb des „südlichen“ Clusters ein, da vier der fünf untersuchten Individuen einen „pazifischen“ Haplotypen trugen (Abb. 7.3).

Die paarweisen Φ_{ST}-Werte (Tab. 7.2) zeigen nur eine geringe Differenzierung zwischen den nördlichen Silbermöwen (Färöer-Inseln, Nord- und Südnorwegen, Weißes Meer) mit Ausnahme der Populationen von Island, die aufgrund ihres großen Anteils „blauer“ Haplotypen eine intermediäre

Tabelle 7.2: Mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen den Populationen der holarktischen Silbermöwen-Gruppe mit den Taxa *smithsonianus* (smi), *argenteus* (age), *argentatus* (arg) und "*omissus*" (omi); AMOVA für alle paarweisen Vergleiche zwischen den Populationen.

Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen ($p<0,05$); -: keine signifikante Differenzierung; +: signifikante Differenzierung zwischen den Taxa. *Unterhalb der Diagonalen*: Φ_{ST} -Werte (Kimura 2-P-Distanz, $\alpha=0,04$, $t_s:t_v=1:18$).

	ageICE	ageICW	ageFAR	ageNNO	ageSNO	omiWSE	ageFRC	ageHOL	ageHGL	argHWS	argLOW	omiEST	omiFIN	smiNBW	smiPEI	smiONT	smiALA
ageICE		-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
ageICW	-0.003		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ageFAR	0.217	0.083		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ageNNO	0.133	0.003	-0.015		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ageSNO	0.188	0.057	-0.029	-0.0418		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
omiWSE	0.339	0.181	0.049	0.026	0.035		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ageFRC	0.077	0.249	0.603	0.482	0.530	0.635		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
ageHOL	0.176	0.378	0.737	0.611	0.639	0.721	0.031		-	-	-	-	-	-	-	+	+
ageHGL	0.082	0.235	0.597	0.467	0.519	0.632	-0.035	-0.012		-	-	-	-	-	-	+	+
argHWS	0.061	0.228	0.586	0.453	0.502	0.625	-0.019	0.000	-0.037		-	-	-	-	-	+	+
argLOW	0.179	0.339	0.658	0.544	0.590	0.684	0.021	-0.010	-0.001	0.010		-	-	-	-	-	+
omiEST	0.007	0.118	0.375	0.287	0.345	0.483	-0.026	0.017	-0.017	-0.026	0.036		-	-	-	+	-
omiFIN	0.014	0.118	0.399	0.298	0.356	0.486	0.000	0.057	0.001	0.007	0.048	-0.024		+	-	+	-
smiNBW	0.193	0.393	0.761	0.627	0.654	0.731	0.055	0.004	0.049	0.058	-0.008	0.037	0.076		-	-	+
smiPEI	0.174	0.363	0.771	0.610	0.645	0.728	0.061	-0.019	0.020	0.030	-0.062	0.016	0.057	-0.020		-	+
smiONT	0.301	0.519	0.837	0.723	0.737	0.786	0.134	0.092	0.153	0.166	0.020	0.115	0.151	0.026	0.073		+
smiALA	0.275	0.396	0.737	0.601	0.653	0.723	0.267	0.404	0.283	0.300	0.177	0.144	0.180	0.440	0.686	0.480	

Stellung einnehmen. Die Silbermöwen der südlichen Nordsee (*argenteus* aus Frankreich, Holland, Helgoland) sind auf der mitochondrien-genetischen Ebene weder von den *argentatus*- und „*omissus*"-Populationen der Ostsee (Vorpommern, Danzig, Südfinnland, Estland), noch von den *smithsonianus*-Populationen aus NE-Kanada (New Brunswick, Prince Edward Insel) differenziert. Silbermöwen aus Ontario und Alaska unterscheiden sich von einigen europäischen *argentatus*-Populationen aufgrund ihres höheren Anteils „oranger" Haplotypen.

Die Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) zwischen allen in Abb. 7.4 enthaltenen Populationen zeigt, dass knapp die Hälfte der Gesamtvarianz (46%) durch die Aufspaltung in eine nördliche und eine südliche *argentatus*-Populationsgruppe zu erklären ist, während 49% der Varianz innerhalb der einzelnen Populationen gefunden wurde. Die restlichen 5% gehen auf Unterschiede zwischen den Populationen innerhalb der zwei Gruppen zurück. Wegen der unterschiedlichen Anteile „blauer" und „gelber" Haplotypen in den europäischen Populationen, zwischen denen es wahrscheinlich rezenten Genfluss gab und gibt, wird die Historie der Haplotyp-Linien im Abschnitt 7.2.3. noch einmal unabhängig von ihrer heutigen geographischen Verteilung untersucht.

2. Heringsmöwen der NW-Paläarktis

Zu den Heringsmöwen zählen im allgemeinen fünf Taxa (HAFFER 1982): die westlichste Form *graellsii*, die auf Island, den Britischen Inseln und an der westlichen Nordsee brütet; *intermedius* in der südwestlichen Nordsee und Süd-Skandinavien; *fuscus* in Nord- und Ost-Skandinavien; *heuglini* an der westlichen Eismeerküste sowie *taimyrensis* auf der Taimyr-Halbinsel.

In den untersuchten Populationen (n=199 Individuen) wurden ausschließlich „blaue" bzw. „orange" Haplotypen der asiatisch-holarktischen Gruppe II gefunden (Abb. 7.3 B). „Gelbe" Haplotypen der atlantisch-mediterranen Gruppe I kamen nicht vor. Obwohl „blaue" Haplotypen dominierten (Abb. 7.3 B), gab es deutlich Unterschiede in den Häufigkeiten. In Abb. 7.2 B wurde daher im „blauen" Cluster nochmals zwischen den Ästen mit den Haplotypen Nr. 001 („blau") und Nr. 011 („grün") unterschieden. In den westlichen Taxa *graellsii*, *intermedius* und *fuscus* dominieren die mit „Nr. 011" verwandten Haplotypen (=grüner Anteil in Abb. 7.5; siehe auch Abb. 6.1), wobei der vorherrschende Haplotyp (Nr. 011) von West nach Ost seltener wird: *graellsii* 66% (n=100), *intermedius* 58% (n=24), *fuscus* 25% (n=28), *heuglini* 8% (n=26), *taimyrensis* 0% (n=21). In den östlichen Taxa dominieren die mit „Nr. 001" verwandten Haplotypen (=blauer Anteil in Abb. 7.5; vgl.

Tabelle 7.3: Mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen den fünf Heringsmöwen-Taxa (AMOVA für alle paarweisen Vergleiche).
Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen ($p<0,05$); **-**: keine signifikanten Unterschiede der Φ_{ST}-Werte; **+**: signifikante Unterschiede zwischen den Taxa.
Unterhalb der Diagonalen: Φ_{ST}-Werte (Kimura 2-P-Distanz, $\alpha=0,04$, $t_s:t_v=1:17$).

	graellsii	***intermedius***	***fuscus***	***heuglini***	***taimyrensis***
graellsii		**+**	**+**	**+**	**+**
intermedius	0,061		**+**	**+**	**+**
fuscus	0,215	0,052		**+**	**+**
heuglini	0,474	0,297	0,090		**+**
taimyrensis	0,504	0,320	0,174	0,089	

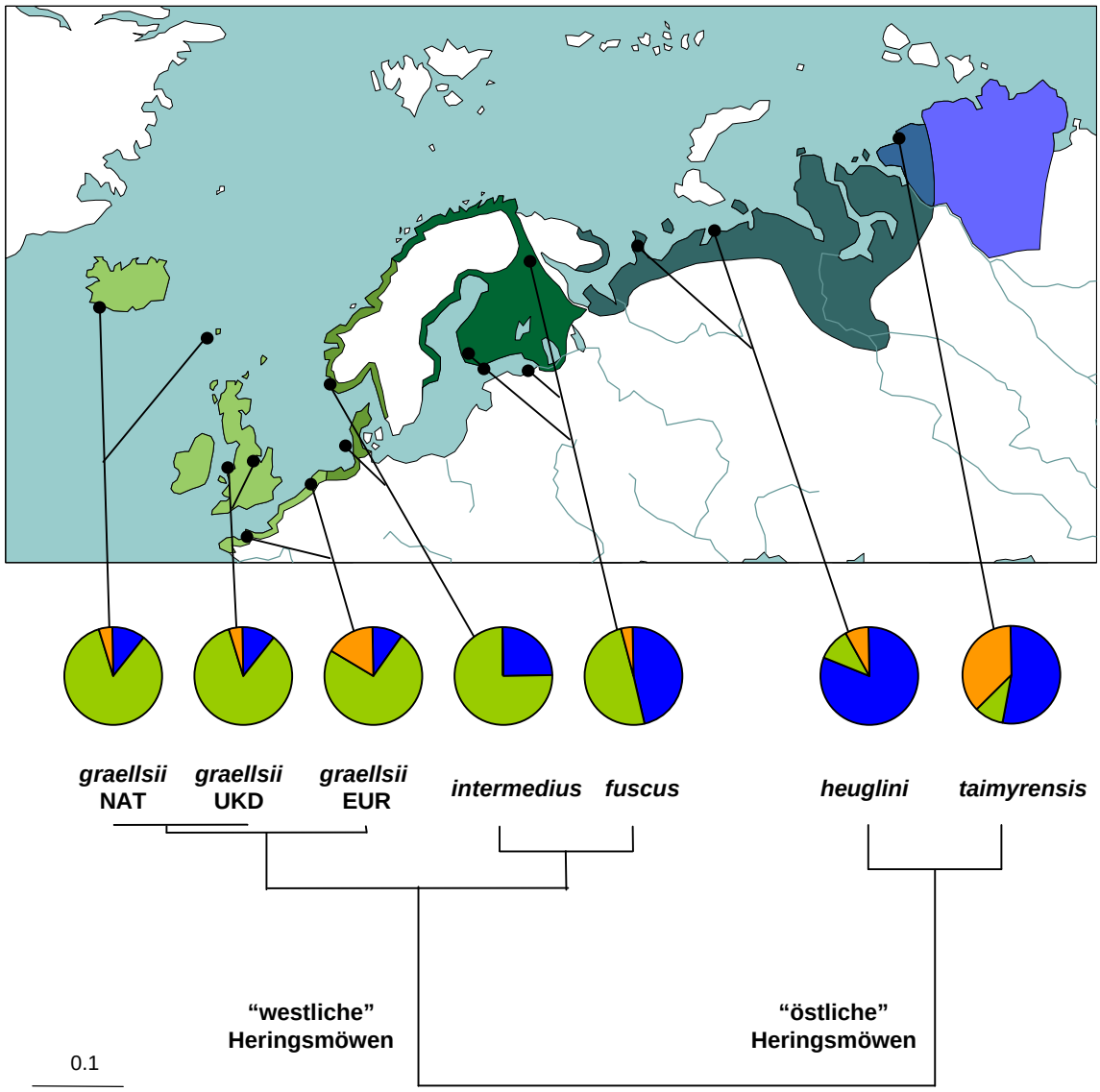


Abb. 7.5: Populationsstammbaum der Heringsmöwen-Gruppe (UPGMA mit Kimura 2-P-Distanz; Slatkins's linearisierte Φ_{ST}-Werte; ARLEQUIN). Die "blauen" Haplotypen (siehe Abb. 7.2 B) wurden hierfür nochmals unterteilt in das Cluster der mit "Nr. 001" verwandten Haplotypen ("blau") und in das Cluster mit "Nr. 011" verwandte Haplotypen ("grün"). Die westeuropäischen Taxa *graellsii* (NAT - Nordatlantik; UKD - Großbritannien; EUR - Europa), *intermedius* und *fuscus* sind von den osteuropäischen *heuglini* und *taimyrensis* differenziert (aber beachte Maßstab!).

Abb. 6.1), wobei Haplotyp Nr. 001 im Osten sehr häufig ist (*heuglini* 62%, *taimyrensis* 38%) und nach Westen seltener wird: *fuscus* 32%, *intermedius* 17%; *graellsii* 8%. Bei *smithsonianus* und den „südlichen" *argentatus*-Populationen war Nr. 001 ebenfalls der häufigste Haplotyp. Der große Anteil „oranger" Haplotypen in *taimyrensis* ist möglicherweise auf Genfluss von der östlich benachbart brütenden Form *birulai* zurückzuführen, von der jedoch keine Proben vorlagen.

Alle fünf Heringsmöwen-Taxa unterscheiden sich mitochondrien-genetisch signifikant voneinander (Tab. 7.3). Der Populationsstammbaum (Abb. 7.5) zeigt, dass die westlichen (*graellsii*, *intermedius, fuscus*) und östlichen (*taimyrensis*, *heuglini*) Formen jeweils untereinander nächstverwandt sind. In der Analyse der molekularen Varianz (AMOVA) erklärte die Gruppierung der

fünf Taxa in eine westliche und eine östliche Gruppe 30,2% der Gesamtvarianz, während mehr als die Hälfte der Varianz (61,1%) innerhalb der Populationen gefunden wurde. Die restlichen 8,7% ließen sich auf Unterschiede zwischen den Taxa innerhalb der zwei Gruppen zurückführen.

7.2.3. Phylogeographische Differenzierung zwischen sympatrisch brütenden Silber- und Heringsmöwen in Nordeuropa

Von besonderem Interesse ist die mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen den sympatrisch brütenden Silber- und Heringsmöwen in NW-Europa. Der deutlichen phänotypischen Differenzierung zwischen den beiden Arten (Abb. 7.6 B) steht das Fehlen einer vollständigen Segregation der Haplotypen mit den Phänotypen (Abb. 7.2) und der Populationsstammbaum (Abb. 7.6 A) gegenüber, in dem beide Arten paraphyletisch erscheinen: Die europäischen Silbermöwen spalten sich hochsignifikant in ein „nördliches“ und ein „südliches“ Cluster, wobei die östlichen Heringsmöwen (*heuglini*, *taimyrensis*) mit den „südlichen“ *argentatus*-Populationen nächstverwandt erscheinen. Die westlichen Heringsmöwen-Taxa (*graellsii*, *intermedius*, *fuscus*) bilden ein separates Cluster.

Für die Beurteilung des Grades der Differenzierung zwischen den Taxa sind die einzelnen Kontakt- bzw. Überlappungszonen zwischen Silber- und Heringsmöwen von besonderem Interesse: Am Weißen Meer kommen nördliche *argentatus*-Populationen mit *heuglini* bzw. *fuscus* in Kontakt. Alle drei Formen unterschieden sich signifikant (Φ_{ST}-Werte, Tab. 7.4). Während *heuglini* und fuscus zu 100% Haplotypen der Gruppe II tragen („blau“ bzw. „orange“, Abb. 7.2), dominieren in der „*omissus*“ Population am Weißen Meer „gelbe“ Haplotypen (Abb. 7.3 A & B). In Südfinnland brüten südliche *argentatus*-Populationen sympatrisch mit *fuscus*, und in der Nordsee überlappen die Brutgebiete der südlichen *argentatus*-Populationen mit *intermedius* bzw. *graellsii*. Im Populationsstammbaum (Abb. 7.6 A) und anhand der Φ_{ST}-Werte (Tab. 7.4) wird deutlich, dass die südlichen Silbermöwen auf mitochondrien-genetischer Ebene von den Heringsmöwen differenziert sind. Im Nordatlantik, auf den Färöer-Inseln und Island, brüten nördliche *argentatus* (Abb. 7.3 A)

Tabelle 7.4: Mitochondrien-genetische Differenzierung (AMOVA) zwischen sympatrisch brütenden Silber- und Heringsmöwen in NW-Europa: südliche *argentatus*-Populationen (FRC, HOL, HGL, HWS, LOW, EST, FIN) und nördliche *argentatus*-Populationen (FAR, NNO, SNO, WSE; **ohne** Island!), die untereinander nicht differenziert sind (Tab. 7.2), sowie die drei westlichen Heringsmöwentaxa *graellsii, intermedius* und *fuscus.*
Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen ($p<0,05$); **-**: keine signifikante Differenzierung; **+**: signifikante Differenzierung. *Unterhalb der Diagonalen:* Φ_{ST} -Werte zwischen den Populationen (Kimura 2-P-Distanz, $\alpha=0,04$, $t_s:t_v=1:17$).

	***argentatus*-nord**	***argentatus*-süd**	***fuscus***	***graellsii***	***intermedius***
***argentatus*-nord**		**+**	**+**	**+**	**+**
***argentatus*-süd**	0,538		**+**	**+**	**+**
fuscus	0,649	0,063		**+**	**+**
graellsii	0,784	0,233	0,215		**+**
intermedius	0,670	0,114	0,052	0,061	

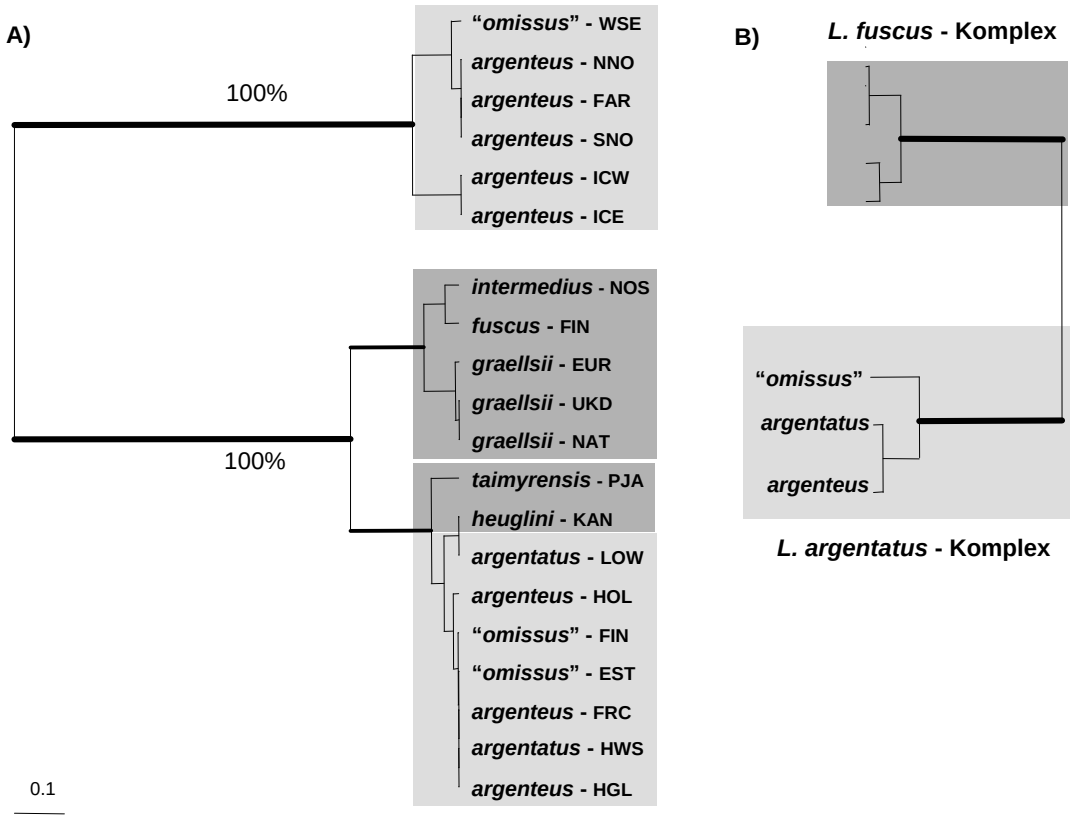


Abb. 7.6: Gegenüberstellung des mitochondrien-genetischen Populationsstammbaums (**A**) mit dem phänotypischen Ähnlichkeitsdendrogramm (**B**) für die in der Paläarktis sympatrisch brütenden Silber- (*L. argentatus* - Komplex) und Heringsmöwen (*L. fuscus* - Komplex). Basierend auf den mtDNA-Sequenzen (UPGMA-Algorithmus, Kimura 2-P-Distanz; SLATKINS's linearisierte Φ_{ST}-Werte) sind beide Formen im Populationsstammbaum nicht monophyletisch. Die Silbermöwen zerfallen in "nördliche" und "südliche" *argentatus*-Populationen, während die östlichen Heringsmöwen (*heuglini* und *taimyrensis*) sehr nah mit den hellmantligen, "südlichen" *argentatus*-Populationen verwandt sind. Zahlen an den Ästen: Bootstrap-Werte in %.

neben *graellsii*, von denen sie insgesamt signifikant differenziert sind (Tab. 7.4). Die bei Silbermöwen auf Island relativ häufigen „blauen" Haplotypen, die die Sonderstellung der Isländer unter den nördlichen Populationen (Abb. 7.6) begründen, stimmen nicht mit *graellsii*-Haplotypen (Cluster „Nr. 011"; Abb. 7.2 B) überein, können also nicht auf Hybridisierung zwischen diesen Formen zurückgehen. Vielmehr stimmen sie mit Haplotypen von *smithsonianus*- und. südlichen *argentatus*-Silbermöwen überein (Cluster „Nr. 001"; Abb. 7.2 B), was auf eine Besiedlung Islands von Nordamerika bzw. von der europäischen Atlantikküste aus hindeutet.

7.2.4. Demographie einzelner mitochondrialer Haplotyp-Linien

Die heutige mitochondrien-genetische Struktur der verschiedenen Großmöwenformen ist nicht nur das Produkt der Differenzierung im Laufe ihrer Stammesgeschichte, sondern wird überlagert von rezenter, teilweise noch anhaltender Introgression. Diese beiden Faktoren zu trennen ist äußerst schwierig. Ein Ansatz besteht darin, bei der phylogenetischen Analyse nicht primär von den Taxa, sondern von distinkten Haplotyp-Linien (Abb. 7.1) auszugehen. Diese können – unabhängig von ihrer heutigen geographischen und taxonomischen Verteilung – wichtige Aufschlüsse über die demographische Entwicklung der Möwenpopulationen geben.

In diesem Abschnitt betrachte ich daher die Phylogenie einzelner Haplotyp-Linien, wobei die taxonomische Zugehörigkeit nur als zweites, zusätzliches Gruppierungskriterium herangezogen wird. Folgende Gruppen von Haplotypen wurden zusammengefasst (vgl. Abb. 7.2 und Abb. 7.3): (1) nördliche *argentatus*-Linien (nur „gelbe“ Haplotypen der nördlichen Silbermöwen-Populationen); (2) südliche *argentatus*-Linien (nur „blaue/hellblaue“ Haplotypen in südlichen Silbermöwen-Populationen); (3) sämtliche Haplotypen („blau“, „orange“) der fünf Heringsmöwentaxa (*graellsii*, *intermedius*, *fuscus*, *heuglini* und *taimyrensis*); (4) die „orangen“ Haplotypen der pazifischen Taxa *vegae*, *schistisagus* und *glaucescens*; (5) die „gelb-gestreiften“ Haplotypen der Mantelmöwen; (6) „gelb-punktierte“ Haplotypen von Eismöwen aus Europa sowie (7) „orange“ und „blaue“ Haplotypen von Eismöwen aus Baffinland, NE-Kanada. Die Diversitätsparameter für die sieben Gruppen zeigt Tab. 7.5. In Abb. 7.7 sind die Verzweigungsmuster dieser Haplotyp-„Teilstammbäume“ und die dazugehörigen Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede dargestellt, die es ermöglichen, Rückschlüsse über die Demographie innerhalb der Haplotyp-Gruppen zu ziehen (VON HAESELER et al. 1996).

Tabelle 7.5: Diversitätsparameter der "nördlichen" (nur "gelbe" Haplotypen) und "südlichen" *argentatus*-Cluster (nur "blaue" Haplotypen), der *"fuscus"*-Gruppe ("blaue" Haplotypen), *hyperboreus* aus Europa ("gelbe" Haplotypen) und *hyperboreus* vom Baffinland (NE-Kanada), *marinus* und der "pazifischen" Taxa *schistisagus, vegae* und *glaucescens:* Anzahl untersuchter Individuen (n); Anzahl Haplotypen (HT) und Zahl der variablen Positionen (S); Haplotyp-Diversität (h) mit Varianz V(h); Nukleotid-Diversität (π) mit Varianz V(π) sowie durchschnittliche Zahl paarweiser Sequenzunterschiede (d) und Quotient aus variablen Positionen zur Anzahl der Sequenzunterschiede (S/d = „Expansionskoeffizient“).

	"nördliche" *argentatus*	**"südliche" *argentatus***	***"fuscus"***	***hyperboreus* Europa**	***hyperboreus* Baffinland**	***marinus***	**"pazifische" Taxa**
n	109	155	199	66	24	28	32
HT	31	19	38	13	12	9	12
S	25	15	29	14	10	8	12
h	0,821	0,773	0,746	0,6	0,9058	0,765	0,8972
V(h)	0,03	0,02	0,03	0,0677	0,038	0,064	0,0313
π ($x10^{-3}$)	**7,95**	**4,75**	**3,29**	**3,14**	**7,22**	**7,08**	**5,75**
V(π)	0,005	0,002	0,002	0,002	0,004	0,004	0,004
d	**3,42**	**2,05**	**1,41**	**1,37**	**3,10**	**3,04**	**2,47**
V(d)	1,76	1,15	0,87	0,86	1,67	1,63	1,37
S/d	**7,31**	**7,32**	**20,57**	**10,23**	**3,22**	**2,63**	**4,86**

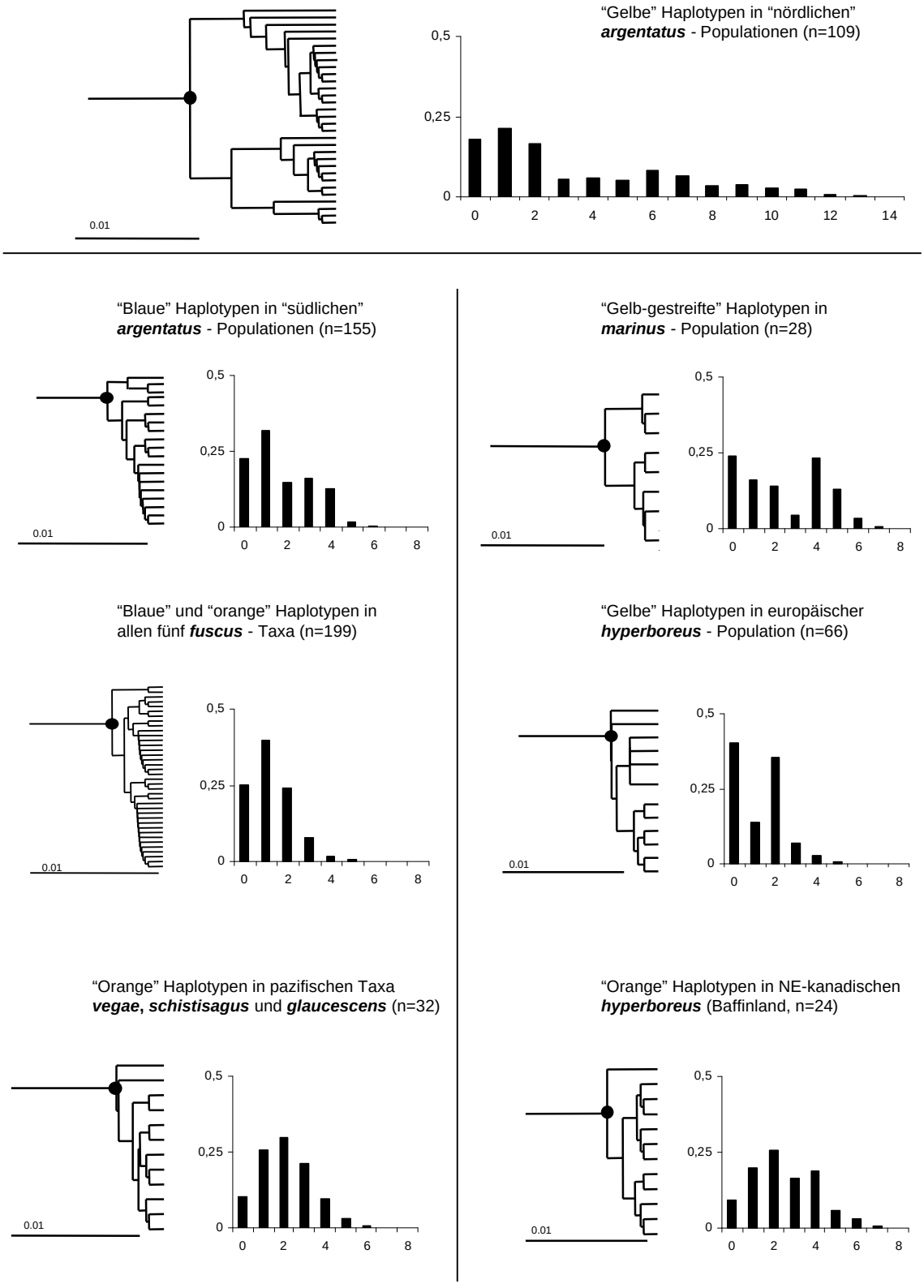


Abb. 7.7: Vergleich der Verzweigungstiefen im Haplotypen-Stammbaum (Kimura 2-P-Distanz, KITSCH-Algorithmus) mit den relativen Häufigkeitsverteilungen der paarweisen Sequenzunterschiede (einfache p-Distanz) von ausgewählten Haplotypen innerhalb der "nördlichen" *argentatus*-Populationen (nur "gelbe" Haplotypen, Abb. 7.3 A), der "südlichen" *argentatus*-Populationen ("blaue" Haplotypen, Abb. 7.3 A), der NW-Europäischen *fuscus*-Möwen (alle Haplotypen in *graellsii*, *intermedius*, *fuscus*, *heuglini* und *taimyrensis*, Abb. 7.3 B), den "pazifischen" Taxa *vegae*, *schistisagus* und *glaucescens* ("orange" Haplotypen, Abb. 7.3 A) sowie innerhalb *marinus* und *hyperboreus* aus Europa bzw. *hyperboreus* aus NE-Kanada (Baffinland, Abb. 7.3 B).

Die tiefste (älteste) Verzweigung aller „Teilstammbäume“ gibt es unter den „gelben“ Haplotypen der nördlichen Silbermöwen; hier ist die Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede sehr breit und mehrgipflig, mit maximal 14 Nukleotidunterschieden zwischen den Sequenzen. Die Nukleotiddiversität π ist in dieser Gruppe wesentlich größer als in den südlichen *argentatus*- oder *fuscus*-Populationen (Tab. 7.5). Im Gegensatz dazu zeigten die Heringsmöwen und die „pazifischen“ Taxa eingipflige Häufigkeitsverteilungen und flachere Verzweigungsmuster. Die Sequenzen innerhalb dieser beiden Haplotyp-Gruppen unterschieden sich an maximal sechs („pazifische“ Taxa) bzw. sieben (*fuscus*) Nukleotid-Positionen. Bei südlichen Silbermöwen ist die Häufigkeitsverteilung paarweiser Sequenzunterschiede schwach zweigipflig, was auf das Vorkommen zweier unterschiedlich alter Haplotyp-Linien hinweist („blaue“ und „hellblaue“ Typen in Abb. 7.1). Der Expansionskoeffizient S/d ist mit 20,6 bei *fuscus* fast dreimal so hoch wie bei nördlichen bzw. südlichen *argentatus*-Populationen, d.h. die Heringsmöwenpopulation muss in jüngster Zeit explosionsartig angewachsen sein. Zwischen den „gelben“ und „blauen“ *argentatus*-Haplotypen unterscheidet sich der Expansionskoeffizient nicht, d.h. beide Linien sind annähernd gleich schnell angewachsen.

Fazit: Obwohl alle hier untersuchten Taxa in der nördlichen Holarktis verbreitet sind, haben die einzelnen Haplotyp-Linien sehr unterschiedliche Diversitätsmuster. Die interglaziale bzw. postglaziale Populationsgeschichte muss daher in den einzelnen mitochondrien-genetischen Linien sehr unterschiedlich verlaufen sein. Entgegen der theoretischen Erwartung (HEWITT 1999) zeigen nicht alle nördlichen Populationen Europas eine geringere genetische Diversität als die südlichen, wie beim Vergleich der Haplotyp-Linien der nördlichen und südlichen *argentatus*-Populationen deutlich wird.

7.3. Diskussion

Zur Aufklärung der Populationsgeschichte der verschiedenen Möwenformen wurden bisher ausschließlich phänotypische Merkmale herangezogen, da keine taxonspezifischen genetischen Marker zur Verfügung standen (JOHNSON 1985, SNELL 1991a, MONZIKOV & PANOV 1996). In der hier vorliegenden Auswertung wurden erstmals mitochondriale Nukleotidsequenzen der hochvariablen Kontrollregion untersucht. Die Häufigkeitsverteilung der mitochondrialen Haplotypen zeigt eine geographische Struktur, die nicht durchgängig die traditionellen, phänotypisch erkennbaren Grenzen zwischen den Taxa widerspiegelt. Das heißt, innerhalb der „nördlichen Möwen“ ist der Artstammbaum nicht mit dem mitochondrialen Genstammbaum kongruent.

7.3.1. Überprüfung des Ringspezies-Modell nach MAYR

In NW-Europa leben Silber- und Heringsmöwen weiträumig sympatrisch (HAFFER 1982), ohne dass es zu nennenswerter Hybridisierung kommt. In der Mitte des 20. Jahrhunderts, während der Besiedlung der südlichen Nordsee durch Heringsmöwen der Unterart *intermedius* (die von Norden her einwanderte), wurden Mischpaare beobachtet, doch war dies offenbar auf einen Mangel an

Paarpartnern zurückzuführen und kommt heute praktisch nicht mehr vor. Es muss also effektive präzygotische Isolationsmechanismen geben. Obwohl die Segregation der Haplotypen („blaues“ Cluster) zwischen Silber- und Heringsmöwen unvollständig ist (Abb. 7.2 B), sind sie doch signifikant voneinander differenziert (Tab. 7.4). „Gelbe“ Haplotypen, die bei „nördlichen“ Silbermöwen vorherrschen, wurden bei Heringsmöwen nicht gefunden.

Die Dominanz „blauer“ Haplotypen sowohl in den „südlichen“ Silbermöwen als auch in den östlichen Heringsmöwen (*heuglini, taimyrensis*; Abb. 7.5) zeigt, dass diese Formen mitochondrien-genetisch sehr ähnlich sind und auf einen relativ jungen gemeinsamen Vorfahren zurückgehen. Beide Gruppen sind heute aber allopatrisch verbreitet.

Wie kann das sympatrische Vorkommen von Silber- und Heringsmöwen in Europa erklärt werden? MAYR (1963) ging davon aus, dass Silber- und Heringsmöwen auf einen gemeinsamen Vorfahren in Nordsibirien zurückgehen. Die eine Form, nämlich *fuscus*, breitete sich nach Westen aus und ist heute durch eine dunkle Mantelfärbung charakterisiert. Die zweite Form, *argentatus*, wanderte ostwärts um den Pol und erreichte zuerst Nordamerika. Von dort aus besiedelten Silbermöwen sekundär die europäischen Küsten. Anhand der mitochondrialen Haplotypen kann für die interglaziale bzw. postglaziale Ausbreitung von Silber- und Heringsmöwen der Holarktis folgendes hypothetische Bild rekonstruiert werden (Abb. 7.8):

A) Vor ca. 400.000 Jahren gab es in Europa zwei geographisch getrennte „Großmöwen-Refugien“, eines im Atlantik (Vorläufer der gelben Haplotypen), ein zweites im aralo-kaspischen Raum (Ausgangspunkt für sämtliche rote, orange und blaue Haplotypen).

B) Das atlantische Refugium wurde in einer frühen glazialen Phase in ein nördliches und ein südliches Refugium gespalten. Aus dem nördlichen Refugium differenzierten sich die europäischen Silbermöwen mit „gelben“ Haplotypen (aber auch die europäischen Eis- und Mantelmöwen).

C) In einer späteren, interglazialen Warmphase wanderte eine Population mit „blauen“ Haplotypen aus dem aralo-kaspischen Refugium an die nordsibirischen Küsten. Hierbei handelt es sich um die Vorläufer der Herings- und „südlichen“ Silbermöwen.

D) Diese Population breitete sich in Eurasien entlang der Eismeerküste sowohl westwärts bis in den skandinavischen Raum als auch ostwärts bis zur Beringstraße aus.

E) Während der letzen Eiszeit wurde das zusammenhängende Areal der „blauen“ Haplotypen in ein westliches („*fuscus*“) und ein östliches Refugium („*heuglini*“) getrennt. In Nordskandinavien waren zu diesem Zeitpunkt bereits Silbermöwen mit „gelben“ Haplotypen etabliert und es kam zum Kontakt mit *fuscus*-Möwen. Beide Formen vermischten sich aber nicht, sondern brüteten sympatrisch. Die westlichen *heuglini* waren in einem kleinen Refugium in NE-Sibirien isoliert, möglicherweise im Ob-Jenessej-Gebiet.

F) Erst im Holozän breitete sich *heuglini* westwärts aus und kam am Weißen Meer mit *fuscus* sekundär in Kontakt. Nach dem relativ späten Rückgang des Eises in Nordamerika wanderten die „blauen“ Haplotypen auch ostwärts nach Alaska und Nordkanada und differenzierten sich dort zur hellmantligen *smithsonianus*. Erst in jüngster Zeit erreichten nordamerikanische Silbermöwen die Küsten der südlichen Nord- und Ostsee und differenzierten sich zur „südlichen“ *argentatus*-Gruppe. Hier kamen sie sekundär wieder mit Heringsmöwen in Kontakt. Die Brutgebiete der „gelben“ und

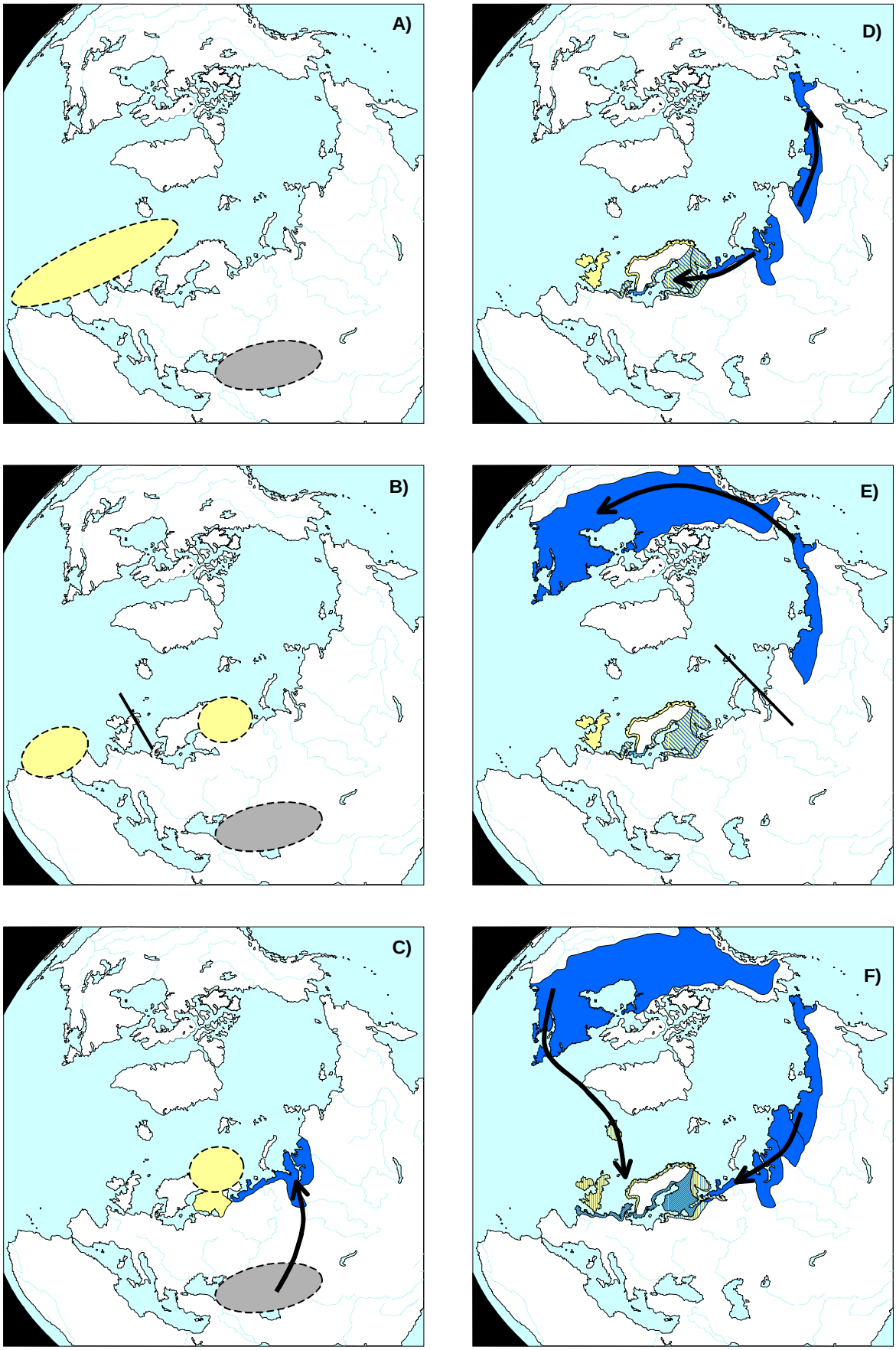


Abb. 7.8: Hypothetisches Bild der Besiedlungsgeschichte der Holarktis. Das atlantische Refugium (**A** - gelb) wurde getrennt (**B**); aus dem dem nördlichen Areal gehen die *argentatus*-Populationen mit „gelben" Haplotypen hervor. Aus dem aralo-kaspischen Refugium (**A** - grau) wandert eine Population mit „blauen" Haplotypen an die nördlichen Eismeerküsten (**C**), aus der sich sowohl *fuscus*-Heringsmöwen (**D** - Immigration nach Westen, hier Kontakt mit „gelber" *argentatus*-Population) als auch Silbermöwen differenzieren (**E** - Einwanderung nach N-Amerika; **F** – spätere transatlantische Invasion nach Europa). Heute brüten in Europa Heringsmöwen mit „blauen" und Silbermöwen mit „gelben" und „blauen" Haplotypen sympatrisch.

„blauen“ *argentatus*-Populationen sind heute noch größtenteils geographisch getrennt („nördliche“ und „südliche“ *argentatus*) und es bleibt offen, ob sich beide Linien vermischen oder ob sich zwei phylogenetisch distinkte Silbermöwen-Linien in Europa etablieren werden.

Für die nördlichen Silber- und Heringsmöwen wird grundsätzlich das Ringspezies-Modell nach MAYR verifiziert. Jedoch gibt es in Europa neben den phänotypisch unterscheidbaren Herings- und Silbermöwen eine weitere Unterteilung in die phylogenetisch differenzierten „gelben“ (=nördlichen) und „blauen“ (=südlichen) *argentatus*-Populationen. Insgesamt müssen somit nicht nur zwei, sondern drei Formen in das Modell aufgenommen werden. Es ist offensichtlich, dass das bisherige Bild der Silbermöwen-Systematik auf mitochondrien-genetischer Ebene nicht widergespiegelt wird. Weiterführende Untersuchungen zur Evolution der phänotypischen und genetischen Merkmale dieses zirkumpolar verbreiteten Formenkreises sind daher unbedingt notwendig.

7.3.2. Rekonstruktion der Besiedlungsgeschichte NW-Europas durch Silbermöwen

Traditionell wurden die europäischen Silbermöwen in zwei Taxa eingeteilt (HAFFER 1982). Die systematische Zuordnung von „*omissus“*, einer dritten fennoskandischen Form mit gelben Beinen, ist umstritten (vgl. HAFFER 1982, dagegen MIERAUSKAS et al. 1991).

Die Form *argenteus* soll auf rezente Einwanderung von Vögeln aus Nordamerika (*smithsonianus*) zurückgehen und brütet hauptsächlich auf den Britischen Inseln, an den Küsten Norwegens und in der Nordsee. Die östliche Form *argentatus* hat möglicherweise erst in den letzten 250 Jahren die Ostsee besiedelt und sich dort von der westlichen Form differenziert, denn 1758 wurden von LINNÉ nur Herings- und Mantelmöwen aus dem batlischen Raum beschrieben. Phänotypisch unterscheidet sich *argenteus* von der östlichen Form durch einen helleren Mantel, mehr Weiß in den Handschwingenspitzen, kürzere Flügel und kleinere Körpergröße. Bereits VOOUS (1959) vertrat die Ansicht, dass die Mantelfärbung nicht als Basis für die Unterscheidung von *argenteus* und *argentatus* verwendet werden sollte, da es nur graduelle Unterschiede zwischen den Taxa gibt. GOETHE (1961) unterscheidet anhand der Mantelfärbung und Flügelzeichnung die südliche Nordseeform (*argenteus*) von der skandinavischen *argentatus*. Besonders das „*thayeri*“-Muster in den Handschwingen (weiße Spitze verbunden mit hellgrauer „Zunge“ auf der Innenfahne) ist in Nordeuropa häufiger zu finden (BARTH 1968). KUSCHERT (1979) zeigte, dass die Silbermöwen der deutschen Nordseeküste im Wesentlichen Merkmale der östlichen Nominatform *argentatus* tragen und das Binnenland Schleswig-Holsteins ausschließlich von der Ostseepopulation besiedelt wurde (KUSCHERT 1980). JONSSON (1998a) fand anhand phänotypischer Merkmale einen Gradienten zwischen südwestlichen und nordöstlichen Populationen. Die Verbreitung dieser zwei Formen entspricht nicht den klassischen Taxongrenzen europäischer Silbermöwen.

Die Vermutung, dass es eine Differenzierung zwischen nördlichen und südlichen *argentatus*-Populationen gibt, wird auf der mitochondrien-genetischen Ebene gestützt (Abb. 7.3). Bei den europäischen Silbermöwen finden wir zwei signifikant differenzierte Haplotyp-Linien, die in ihrer geographischen Verbreitung nicht mit den Arealgrenzen der Phänotypen übereinstimmen: Anstelle einer West-Ost Differenzierung (*argenteus* → *argentatus* → „*omissus*“) gibt es eine signifikante

mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen nördlichen und südlichen *argentatus*-Populationen (bzw. „gelben“ und „blauen“ Haplotyp-Linien; Abb. 7.3. A). Die Silbermöwen der südlichen Nordsee (*argenteus* aus Frankreich, Holland, Helgoland) unterscheiden sich signifikant von den *argenteus*-Populationen der nördlichen Nordsee (Süd- und Nordnorwegen) und des Atlantik (Färöer Inseln, Island), obwohl keine geographische Barriere den Genfluss zwischen den Kolonien hemmt. Andererseits fand ich keine Differenzierung zwischen den *argenteus*-Populationen der südlichen Nordsee und den *argentatus*- bzw. „*omissus*“-Populationen der Ostsee (Deutschland, Polen, Estland, Finnland).

Die Herkunft und aktuelle Verbreitung der „gelben“ Haplotypen in Nordeuropa wirft erneut die Frage nach der systematischen Stellung von „*omissus*“ auf, deren Zugehörigkeit zur *cachinnans*-Gruppe (VOIPIO 1968, HAFFER 1982) oder zur *argentatus*-Gruppe (MIERAUSKAS et al. 1991, YÉSOU et al. 1994) noch immer ungeklärt ist. Diese erst 1928 von PLESKE (siehe Anhang A) als eigenständiges Taxon beschriebene Form ist in der Diskussion über die Besiedlung der europäischen Küsten von zentraler Bedeutung. Daher gebe ich zunächst einen kurzen Rückblick über den Kenntnisstand zu diesem Thema.

“Das Rätsel um *omissus*” – Ein historischer Überblick

Trotz jahrzehntelanger Beschäftigung mit der Problematik stehen sich bis heute zwei Hypothesen gegenüber:

(**1**) „*omissus*“ ist aus der südlichen Steppenform *cachinnans* hervorgegangen.

(**2**) „*omissus*“ ist eine östliche „Unterart“ oder Morphe der Silbermöwe.

Bei der Erstbeschreibung der ponto-aralo-kaspischen Steppenform hat PALLAS (1811) das Verbreitungsareal von *cachinnans* bis zum nördlichen Eismeer und östlichen Fennoskandia gezogen. Später wurden die nördlichen, gelbfüßigen Möwen für *cachinnans* gehalten, während die östliche Form *heuglini* (=*affinis* =*antelius*) abgetrennt wurde (IREDALE 1913). Zu Beginn des Jahrhunderts wurden zunehmend „*cachinnans*“-Bruten an den Küsten Estlands (KOCH 1911) und Schwedens (LÖNNBERG 1921, HORTLING 1930) beobachtet. HARTERT (1923) erweiterte daher das Brutareal von *cachinnans* in nordwestlicher Richtung. BUTURLIN & DEMENTIEV (1934) vereinten nachfolgend alle Formen mit gelben Beinen (*cachinnans*, „*omissus“*, *taimyrensis*, *heuglini, armenicus*) und alle mit fleischfarbenen Beinen (*argentatus*, *argenteus*, *vegae*, *mongolicus*). Die Vorstellung, dass *cachinnans* während einer postglazialen Wärmzeit nach Nordeuropa vorgedrungen und dort teilweise „hängengeblieben“ ist, hielt sich hartnäckig (GEYR 1938; STRESEMANN & TIMOFEEFF-RESSOVSKY 1947; VOIPIO 1954; JOHANSEN 1960; KIST 1961; KUMARI 1978; PANOV & MONZIKOV 1998, 1999). HAFFER (1982) betrachtet „*omissus*“ ebenfalls als Unterart von *cachinnans*. Er verweist jedoch darauf, dass die fennoskandischen Brutvögel in Mantelfärbung, Größe, Proportionen und im Lautrepertoire *michahellis* sehr ähnlich seien.

STEGMANN (1934) hingegen unterschied nur zwischen einer westlichen (*argenteus*) und einer östlichen Form (*argentatus*). Er betrachtete „*omissus*“ als Synonym für *argentatus*, ungeachtet der Tatsache, dass am Weißen Meer ausschließlich gelbfüßige Vögel brüten. Auch VAURIE (1965) und BARTH (1968) rechnen die fennoskandischen Silbermöwen zur Nominatform *L. a. argentatus*. Die am Finnischen Golf brütenden Silbermöwen zeigen keine Merkmale des „*omissus*“-Phänotypen und sind

nach der Flügelzeichnung zu urteilen näher verwandt mit den Populationen der Nord- und Ostsee als mit den nordskandinavischen Brutvögeln (KILPI & HARIO 1986). MIERAUSKAS et al. (1991) verglichen baltische Silbermöwen mit *cachinnans*-Vögeln vom Schwarzen Meer. Keine der untersuchten Merkmale (morphometrische Maße, Flügelzeichnung, Lautäußerungen) ließen auf eine enge Verwandtschaft zwischen den zwei Formen schließen. Diese Ansicht wurde jüngst von FILCHAGOV (1999) untermauert. Die „typische" Beinfärbung bei „*omissus*" beruht laut LÖNNBERG (1933) auf der Einlagerung von Carotinen (Xanthophylle), die über die Nahrung aufgenommen werden und für verschiedene Taxa charakteristisch sind.

JONSSON (1998a) vermutet, dass es sich bei den baltischen Möwen, die bisher kollektiv als „*omissus*" bezeichnet wurden, offensichtlich um zwei verschiedene Formen handelt: eine nördliche Form in der Finnmark (Nordnorwegen) bis zum Weißen Meer und eine zweite im östlichen Baltikum.

Welche neuen Erkenntnisse liefert die mtDNA?

Im Haplotypen-Stammbaum (Abb. 7.1) wird deutlich, dass die „gelben" Haplotypen, die in den nördlichen *argentatus*- und „*omissus*"-Populationen gefunden wurden, der atlantisch-mediterranen Gruppe I angehören und mit dem *michahellis-atlantis*-Cluster verwandt sind. D.h. das „gelbe Element" in der Fußfärbung von „*omissus*" geht nicht auf Einwanderung von südöstlichen *cachinnans* nach NE-Europa zurück, sondern allenfalls auf eine Verwandtschaft mit den südwestlichen *michahellis-atlantis* Vögeln. Die „südlichen" *argentatus*-Populationen mit „blauen" Haplotypen gehören der asiatisch-holarktischen Gruppe II an und sind von den Populationen mit vorwiegend „gelben" Haplotypen hochsignifikant differenziert. Die Trennung zwischen diesen phylogenetischen Gruppen erfolgte vor ca. 400.000 Jahren (HEIDRICH 1998). Die „gelben" Haplotyp-Linien der europäischen Silbermöwen gehen sehr wahrscheinlich auf ein Refugium im Atlantik zurück, während die „blauen" Haplotypen aus dem aralo-kaspischen Refugium abstammen (Abb. 7.8). Auf der mitochondrien-genetischen Ebene gibt es daher zwei distinkte Silbermöwen-Formen.

Die geographische Verbreitung der „gelben" Haplotypen (Abb. 7.3) überlappt heute nur am Weißen Meer und in Nordnorwegen vollständig mit dem Vorkommen der phänotypisch distinkten „*omissus*"-Vögel. Der Anteil „gelber" Haplotypen ist auch in Südnorwegen und der Färöer-Population sehr hoch. Ob die nördlichen Populationen den Namen „*omissus*" oder „*argenteus*" tragen sollten, muss an anderer Stelle diskutiert werden. Die Populationen aus Estland und Finnland ähneln weder phänotypisch (KUMARI 1978, KILPI & HARIO 1986) noch mitochondrien-genetisch den „*omissus*"-Typen. Sie gleichen in allen Merkmalen den Silbermöwen der südlichen Nord- und Ostsee, so dass die taxonomische Bezeichnung „*omissus*" für diese Vögel nicht gerechtfertigt ist. Für *cachinnans* charakteristische Haplotypen wurden nur bei zwei Individuen aus Estland nachgewiesen. Die Hypothese der Besiedlung NE-Europas aus dem aralo-kaspischen Raum kann anhand der mitochondrialen Daten eindeutig abgelehnt werden!

Die Populationsstudien haben damit ein völlig neues Bild über die phylogeographischen Beziehungen innerhalb den europäischen Silbermöwen entworfen. Leider fehlen Proben von Silbermöwen der Britischen Inseln, die ein wesentlicher Puzzlestein für die Aufklärung der Besiedlungsgeschichte Europas sind. Es wäre von großem Interesse, wo in West-Europa

(Schottland?) die Grenze zwischen „blauen“ und „gelben“ Haplotypen verläuft. Außerdem sollte die Kontaktzone zwischen „gelben“ und „blauen“ Haplotypen in der Nord- und Ostsee genauer untersucht werden, um festzustellen, ob und wodurch der Genfluss zwischen „nördlichen“ und „südlichen“ Silbermöwen, die stellenweise geographisch benachbart brüten (z.B. Helgoland vs. Südnorwegen), eingeschränkt ist. Mögliche phänotypische Unterschiede müßten genau analysiert werden. Die Verteilung mitochondrialer Haplotypen (Abb. 7.3) lässt vermuten, dass der Genfluss zwischen diesen Populationen eingeschränkt ist.

7.3.3. Systematische Beziehungen innerhalb der Heringsmöwen

Aufgrund der weitgehenden morphologischen Übereinstimmung der NW-europäischen Formen *graellsii*, *intermedius* und *fuscus* und den sich östlich anschließenden Taxa *heuglini* und *taimyrensis* betrachteten bereits GEYR (1938) und später DEVILLERS (1983) alle fünf als Unterarten der Heringsmöwe. Mehrere Autoren wiesen auf die morphologischen und ökologischen Unterschiede zwischen den drei westlichen Taxa hin (z.B. im Zug- und Mauserverhalten), und stellten *intermedius* näher zu *graellsii* (vgl. BARTH 1966, 1975; STRANN & VADER 1992). Eine eindeutige Trennlinie zwischen *fuscus* und *intermedius*/*graellsii* zu ziehen ist kaum möglich, da *intermedius* „in allen Merkmalen zwischen *britannicus* [=*graellsii*] und *fuscus* steht“ (DWIGHT 1925; vgl. auch STEGMANN 1934). Die Unterteilung in zwei westliche „Arten“ (z.B. GRUBER 1999) ist daher sehr umstritten (JONSSON 1998b). DEL HOYO et al. (1996) erkennen andererseits *taimyrensis* nicht mehr als eigenständiges Taxon an, sondern betrachten sie als konspezfisch mit *heuglini* (sensu FILCHAGOV et al. 1992a, siehe auch SHIRIHAI 1996, SANGSTER et al. 1998).

Mitochondrien-genetisch sind alle fünf Taxa nah verwandt, aber signifikant voneinander differenziert (Tab. 7.3). Der Populationsstammbaum zeigt eine Zweiteilung in „westliche“ und „östliche“ Heringsmöwen (Abb. 7.5). In der Zusammensetzung der Haplotypen gibt es keine Unterschiede zwischen den drei *graellsii*-Populationen. *Intermedius* steht der Nominatform *fuscus* näher als *graellsii*. Dies spricht klar dagegen, *fuscus* unter Ausschluss der beiden anderen Taxa Artrang zuzuweisen (weil die Gruppierung *intermedius/graellsii* paraphyletisch wäre). *Heuglini* und *taimyrensis* sind ebenfalls nah verwandte Schwestertaxa, obwohl *taimyrensis* einen hohen Anteil pazifischer („oranger“) Haplotypen trägt (Abb. 7.3 B). Im Stammbaum (Abb. 7.6) sind die europäischen Silber- und Heringsmöwen paraphyletisch. Erstaunlicherweise bilden die östlichen Heringsmöwen (*taimyrensis* und *heuglini*) mit den „südlichen“ *argentatus*-Populationen ein Cluster, ihre Brutgebiete sind jedoch allopatrisch. Die westlichen Heringsmöwen *graellsii*, *intermedius* und *fuscus* brüten sympatrisch mit den „südlichen“ *argentatus*-Populationen, aber diese Formen gehören aber zwei distinkten Clustern an.

Genetische Differenzierung zwischen westlichen und östlichen Heringsmöwen

Die Besiedlung der holarktischen Küsten durch Silber- und Heringsmöwen wurde in Abschnitt 7.3.1 bereits diskutiert. Es kristallisiert sich die Frage heraus, ob und in welchem Maße die Heringsmöwen untereinander differenziert sind. Nach meiner Hypothese wäre das folgendermaßen zu erklären:

Während einer relativ späten Vereisung wurde die nordwestliche *fuscus*- von der östlichen *heuglini*-Population isoliert (Abb. 7.8 E). Nach dem endgültigen Rückzug des Eises in Europa breiteten sich westliche Heringsmöwen in rascher Geschwindigkeit bis in den atlantischen Raum aus. *Graellsii* ist das westlichste und damit jüngste Heringsmöwen-Taxon (gut belegt durch das ausgesprochen „flache" Verzweigungsmuster im Haplotypen-Stammbaum, Abb. 6.6).

Die Tundraform *heuglini* war bis vor ca. 10.000 Jahren im Ob-Jenessej-Gebiet isoliert. Heute kommen die Brutareale von *fuscus* und *heuglini* an der Kandalaksha-Bucht im Weißen Meer sekundär wieder in Kontakt (FILCHAGOV & SEMASHKO 1987). FILCHAGOV et al. (1992a) haben gezeigt, dass es kleinräumige Unterschiede im Brutverhalten und der Wahl des Nistplatzes gibt: *heuglini* ist eine typische Binnenlandform, während *fuscus* das Meer als Lebensraum bevorzugt. Es wurden keine interspezifischen Hybriden gefunden, obwohl *heuglini* in jüngster Zeit sogar direkt im Verbreitungsgebiet von *fuscus* (Solovetskije Inseln) und *argentatus* (Ondomsk See) brütet (FILCHAGOV & SEMASHKO 1987, RAUSTE 1999). Die Forderung von FILCHAGOV et al. (1992a), *heuglini* Artstatus zuzusprechen und von der Heringsmöwe *sensu stricto* zu trennen, wird auf mitochondrien-genetischer Seite gestützt. Die Populationen beiderseits der *heuglini* - *fuscus* - Kontaktzone sind signifikant differenziert (Tab. 7.3), was nur durch eine intrinsische Genflussbarriere zu erklären ist. Als deutscher Name für *L. heuglini* wurde „Tundramöwe" vorgeschlagen (vgl. RAUSTE 1999).

Die weiter östlich brütende Taimyrmöwe fällt durch einen hohen Anteil von Haplotypen auf, die bei den pazifischen Taxa *vegae, schistisagus* und *glaucescens* vorherrschen („orange", Abb. 7.3). Auch phänotypisch ist die Population am Pjassina-Delta in NW-Taimyr sehr heterogen (viel Variation in Mantel-, Bein- und Irisfärbung; eigene Untersuchungen, Taimyr 1995). Dies könnte durch Hybridisierung zwischen *heuglini* und *taimyrensis* zu erklären sein. Im Osten des Verbreitungsgebiets von *taimyrensis* gibt es ebenfalls eine hohe Variabilität der phänotypischen Merkmale (FILCHAGOV et al. 1992b). Aus den Brutgebieten östlich von Taimyr, vom Lena-Delta (*birulai*) bis zur Beringstraße (*vegae*), liegen jedoch nur wenige Beobachtungen vor (JOHANSEN 1960). Die nächstgelegen, von mir untersuchten Kolonien östlich von Taimyr waren in der Mongolei (*mongolicus*, n=36) und auf Tschukotka (*vegae*, n=10). Sämtliche Haplotypen dieser zwei Taxa gehören dem pazifischen Cluster an. Der in *mongolicus* dominierende Haplotyp Nr. 21 (92%) wurde nicht auf Taimyr gefunden, während *taimyrensis* und *vegae* über drei gemeinsame Haplotypen verfügten (Nr. 03, Nr. 05 und Nr. 46). Wahrscheinlich sind die pazifischen Haplotypen bei *taimyrensis* auf Genfluss mit den östlichen Formen *birulai* bzw. *vegae* zurückzuführen, wie bereits von GEYR (1938) und JOHANSEN (1960) vermutet. Solange keine Proben aus dem Brutgebiet von *birulai* vorliegen (z.B. Lena- oder Kolyma-Delta), kann die östliche Abgrenzung der Tundramöwe nicht endgültig geklärt werden.

7.3.4. Die Situation auf Island

Besondere Beachtung muss der Situation auf Island gewidmet werden. Zwei widersprüchliche Hypothesen werden in der Literatur diskutiert: INGOLFSSON (1970, 1993) vermutet, dass seit der Einwanderung europäischer Silbermöwen an der Ostküste Islands diese mit Eismöwen hybridisieren

und es zur Ausbildung eines „Hybridschwarms“ gekommen ist. SNELL (1991b, 1993) hingegen fand keine phänotypische Differenzierung zwischen isländischen und nordnorwegischen *argentatus*-Populationen. Er geht davon aus, dass Island von Silbermöwen aus Nordskandinavien besiedelt wurde. Die Hypothese der *argentatus* x *hyperboreus* Hybridisierung lehnt SNELL ab.

Hyperboreus und *argentatus* sind phänotypisch differenziert und obwohl beide Taxa in der Holarktis parapatrisch bzw. sympatrisch verbreitet sind, gibt es eine deutliche ökologische Isolation zwischen den Formen (HAFFER 1982). Auf Island sind Eismöwen seit dem 18. Jahrhundert als Brutvögel an den westlichen und nördlichen Küsten bekannt (INGOLFSSON 1993). Seit den 1930er Jahren gibt es Brutnachweise von Silbermöwen an der Ostküste Islands, jedoch ohne Hinweise auf Hybridisierung mit *hyperboreus*. Erst seit der massenhaften Invasion von *argentatus* in den 1960ziger Jahren beobachtete INGOLFSSON (1970) Mischpaare. Besonders auffällig waren die intermediären Flügelmuster der „Hybriden“, deren Weißanteil stark variierte. Andererseits fand INGOLFSSON auch zwischen den „reinen“ Phänotypen Überlappungen in allen morphologischen Merkmalen.

SNELL (1991b, 1993) untersuchte u.a. die Gefiedermerkmale europäischer und nordamerikanischer Silbermöwen. Während die *argentatus*-Populationen von Island und Nordnorwegen durch sehr helle Handschwingen charakterisiert sind, hatten Silbermöwen aus Frankreich und Ostkanada mehr schwarz in den Flügelspitzen. SNELL zeigte, dass es zwischen isländischen und nordnorwegischen Silbermöwen keine phänotypischen Unterschiede gibt und Island möglicherweise von einer kleinen Gründerpopulation aus Nordnorwegen besiedelt wurde. Auch die Flügelmuster von Silbermöwen der Kola-Halbinsel ähneln den isländischen „Hybriden“. Doch obwohl es in Nordskandinavien keine Brutnachweise von *hyperboreus* gibt (DEMENTIEV & GLADKOV 1951), postulierte INGOLFSSON (1970), dass auch diese Vögel aus Hybridisierung mit *hyperboreus* hervorgegangen seien. SNELL (1991b) hingegen argumentiert, dass innerhalb der Silbermöwen die Handschwingenmuster eine hohe intraspezifische Variation zeigen und im Norden Europas ein hellerer Typ fixiert wurde.

Befunde der mitochondrialen DNA-Untersuchung

Das Verteilungsmuster der mitochondrialen Haplotypen (Abb. 7.3) sieht wie folgt aus: 52% der isländischen Silbermöwen (n=38) hatten „gelbe“ Haplotypen, die in nördlichen *argentatus*-Populationen dominierten, während 48% dem „blauen“ Haplotyp-Cluster angehörten, die in südlichen Silbermöwen häufig waren. Mitochondrien-genetisch wurde Island im letzten Jahrhundert sowohl von Nordamerika und SW-Europa („blaue“ Haplotypen) als auch von Nord-Skandinavien („gelbe“ Haplotypen) kolonisiert.

Die Situation auf Island ist einzigartig: hier treffen die zwei phylogenetisch differenzierten Silbermöwen-Linien („blaue und „gelbe“ Haplotypen) aufeinander. In den Kolonien an der Ostküste Islands sollte sich zeigen, ob kleinräumige prä- bzw. postzygotische Isolationsmechansimen den Genfluss zwischen den Linien einschränken. Möglicherweise liegt der Schlüssel für das Verständnis der Historie europäischer Möwensystematik in diesen Kolonien.

8. Ergebnisse und Diskussion

Teil VI: Genetische Differenzierung innerhalb von Eis- Polar- und Mantelmöwen sowie der pazifischen Taxa

8.1. Zielstellung

In diesem Kapitel werden zunächst die drei Arten Eismöwe *L. hyperboreus*, Polarmöwe *L. glaucoides* und Mantelmöwe *L. marinus* analysiert. Die hochnordische Eismöwe brütet zirkumpolar und besitzt durch ihre weiße Gefiederfärbung, die rein weißen Handschwingen und den blaßgrauen Mantel große Ähnlichkeit mit der Polarmöwe, von der sie sich jedoch in Körpergröße, Farbe des Lidrings und Schnabelfärbung im 1. Winter unterscheidet (HAFFER 1982). Die dunkelmantlige, monotypische Mantelmöwe brütet im nördlichen Atlantik, sowohl auf europäischer als auch auf nordamerikanischer Seite. In Nordamerika hat sie sich in relativ junger Vergangenheit bis zu den großen Seen ausgebreitet und in diesem Jahrhundert stark zugenommen (GOOD 1998), in der Paläarktis ist sie streng küstengebunden. Hier erstreckt sich ihr Areal von Grönland, Island und Spitzbergen ostwärts bis zum Weißen Meer (DEL HOYO et al. 1996).

Alle drei Arten lassen sich phänotypisch problemlos von den Arten des Silber-Heringsmöwen-Komplexes abgrenzen und brüten mit ihnen teils weiträumig (*marinus, hyperboreus*), teils marginal (*glaucoides*) sympatrisch. Nach traditioneller (meist impliziter) Auffassung sind die drei Arten also nicht Teil dieses Komplexes, sondern allenfalls nah mit ihm verwandt. Die Analyse der Mitochondrien-DNA (vgl. Kapitel 7) brachte jedoch das überraschende Ergebnis, dass alle drei Arten nicht nur sehr nah mit den Arten des Silber-Heringsmöwen-Komplexes verwandt sind, sondern – zumindest nach der mitochondrialen Haplotyp-Phylogenie – Teile desselben darstellen. Trotz ihrer (zumindest rezent) eindeutigen reproduktiven Isolation gegenüber anderen Arten des Silber-Heringsmöwen-Komplexes ist keine der drei Arten im Haplotypstammbaum (Abb. 7.1) durch eine monophyletische Gruppe von Haplotypen repräsentiert. Vielmehr teilen sowohl *hyperboreus* in Europa als auch *marinus* mit den „nördlichen“ *argentatus*-Populationen ein Reihe gemeinsamer Haplotypen. Eismöwen und Polarmöwen aus NE-Kanada unterschieden sich in ihrer mitochondrien-genetischen Zusammensetzung nicht von den pazifischen Taxa (*vegae, glaucescens, schistisagus*). Obwohl mir von letzteren nur relativ wenige Proben vorlagen, werden sie hier ebenfalls berücksichtigt, da eine phylogenetische Verwandtschaft zu Eis- bzw. Mantelmöwe schon von STEGMANN (1934) nicht ausgeschlossen wurde und sich, wie gesagt, in meiner Untersuchung bestätigt hat. An den nordpazifischen Küsten brüten insgesamt fünf Großmöwenformen (wovon die letzten beiden hier unberücksichtigt bleiben): *schistisagus* (Kamschatkamöwe) und *vegae* (Ostsibirische Möwe) am Asiatischen Festland sowie *glaucescens* (Beringmöwe), *occidentalis* (Westmöwe) und *livens* (Gelbfußmöwe) an der Amerikanischen Westküste. Geographisch benachbarte Formen sind in Asien *mongolicus* (in Nachbarschaft zu *schistisagus*) und an der Eismeerküste *birulai* (im Anschluß an *vegae*). In Alaska kommt *glaucescens* mit *smithsonianus* und *hyperboreus* in Kontakt (HAFFER 1982).

Die Populationsstruktur und phylogeographischen Beziehungen zwischen den phänotypisch differenzierten Taxa sollen anhand mitochondrialer DNA-Sequenzen untersucht werden.

8.2. Ergebnisse

Die Gesamtphylogenie aller Haplotypen des Silber-Heringsmöwen-Komplexes (Abb. 7.1 & 7.2) zeigt, dass 1) Eis-, Polar- und Mantelmöwen Teile dieses Komplexes sind und 2) Eismöwen hinsichtlich der Verwandtschaft ihrer mitochondrialen Linien polyphyletisch sind. Paläarktische (nicht nearktische!) Eismöwen und Mantelmöwen besitzen fast ausschließlich „gelbe" Haplotypen (Abb. 7.1 & 7.2: gelb-gestreift, gelb-punktiert), die zwar gegenüber der jeweils anderen Art nicht monophyletisch sind, aber zwischen beiden Arten vollständig segregiert sind. *L. marinus* und *L. hyperboreus* verfügen also nicht über gemeinsame Haplotypen (Abb. 7.2). Bei europäischen Eismöwen dominiert derselbe Haplotyp wie bei den nordpaläarktischen Silbermöwen, während bei Mantelmöwen nur in zwei Ausnahmefällen Haplotypen auftraten, die auch bei Silbermöwen vorkommen. Die Segregation der Haplotypen zwischen *marinus* und *argentatus* beträgt also ebenfalls fast 100%, während sie zwischen paläarktischen Eismöwen und nördlichen Silbermöwen marginal ist.

8.2.1. Differenzierung innerhalb der Eismöwen

Innerhalb dieser phänotypisch einheitlichen, zirkumpolar brütenden Art gibt es auf der mitochondrien-genetischen Ebene eine überraschend klare Differenzierung (Tab. 8.1, Abb. 7.3 B): Zwischen den paläarktischen Populationen einerseits und den nearktischen andererseits wurden keinerlei gemeinsame Haplotypen gefunden, die Segregation der Haplotypen beträgt 100%. Die europäischen Populationen (Island, Spitzbergen, Sibirien) besitzen zu 97% (n=68) „gelbe" Haplotypen, die sonst für nördliche *argentatus*-Populationen typisch sind, während Eismöwen aus dem östlichen Nordamerika (n=24) zu 100% Haplotypen der asiatisch-holarktischen Gruppe II („blau" bzw. „orange") tragen, die sonst entweder bei *smithsonianus*-Silbermöwen oder den „pazifischen" Taxa (vgl. unten) vorkommen. Bei den wenigen von mir untersuchten Polarmöwen aus Nordamerika (n=8) fand ich ebenfalls nur „orange" Haplotypen, die alle auch bei *hyperboreus* vorkommen (Abb. 7.2 B). Paläarktische Eismöwen

Tabelle 8.1: Mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen nördlichen Silbermöwen (Färöer-Inseln-FAR, Nord-Norwegen-NNO, Weißes Meer-WSE), paläarktischen Eismöwen von Spitzbergen (SPB), Sibirien (SIB) und Island (ICL), nearktischen Eismöwen aus NE-Kanada (NWT), Polarmöwen (ATL) aus dem nördlichen Atlantik, den pazifischen Taxa *schistisagus* (sch), *glaucescens* (glc) und *vegae* (veg) sowie der Mantelmöwe aus dem NE-Atlantik (siehe Tab. 7.1). AMOVA für alle paarweisen Vergleiche zwischen den Populationen.
Oberhalb der Diagonalen: Signifikanzen ($p<0,05$); **-**: nicht signifikant differenziert; **+**: signifikante Differenzierung.
Unterhalb der Diagonalen: Φ_{ST}-Werte (Kimura 2-P-Distanz, $\alpha=0,04$, $t_s:t_v=1:17$).

	nördliche *argentatus*			*hyperboreus*					Pazifische Taxa			*marinus*
	FAR	**NNO**	**WSE**	**SPB**	**SIB**	**ICL**	**NWT**	**ATL**	**sch**	**glc**	**veg**	**NAT**
ageFAR		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ageNNO	-0,015		-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
omiWSE	0,048	0,025		-	-	-	+	+	+	+	+	+
hypSPB	0,087	0,071	0,035		+	+	+	+	+	+	+	+
hypSIB	0,169	0,134	0,055	0,073		-	+	+	+	+	+	+
hypICL	0,182	0,152	0,022	0,068	0,023		+	+	+	+	+	+
hypNWT	0,814	0,735	0,789	0,873	0,903	0,912		-	-	-	+	+
goiATL	0,783	0,661	0,753	0,879	0,926	0,934	0,05		-	-	-	+
schMAG	0,827	0,738	0,797	0,892	0,925	0,934	0,049	0,096		+	+	+
gcsBRC	0,807	0,691	0,77	0,892	0,939	0,944	0,106	0,065	0,121		+	+
vegTSC	0,765	0,645	0,74	0,861	0,908	0,92	0,129	0,007	0,118	0,154		+
marNAT	0,585	0,527	0,587	0,721	0,788	0,794	0,793	0,779	0,811	0,792	0,778	

sind mitochondrien-genetisch nicht von Silbermöwen vom Weißen Meer („*omissus*“) differenziert. Die *hyperboreus*-Population von Spitzbergen ist von den anderen europäischen Eismöwen differenziert, nicht aber von den nördlichen Silbermöwen (Nordnorwegen und Färöer).

Im Populationsstammbaum (Abb. 8.1) wurden Eis-, Polar-, Mantel-, nördliche Silbermöwen und die pazifischen Taxa berücksichtigt. Eismöwen erscheinen im Stammbaum polyphyletisch: Die europäischen *hyperboreus* sind näher mit den „nördlichen“ *argentatus*- und *marinus*-Populationen verwandt als mit ihrer „Schwesterpopulation“ aus Nordamerika. Nearktische *hyperboreus* und *glaucoides* bilden im Populationsstammbaum ein Cluster mit den pazifischen Taxa, von denen sie ebenfalls nicht differenziert sind (Tab. 8.1). Die mitochondrialen Linien paläarktischer und nearktischer Eismöwen bilden also zwei untereinander nicht nächstverwandte Cluster, was im krassen Widerspruch zu ihrer phänotypischen Ähnlichkeit steht, die keine Zweifel an ihrer Zugehörigkeit zur selben Art aufkommen lässt.

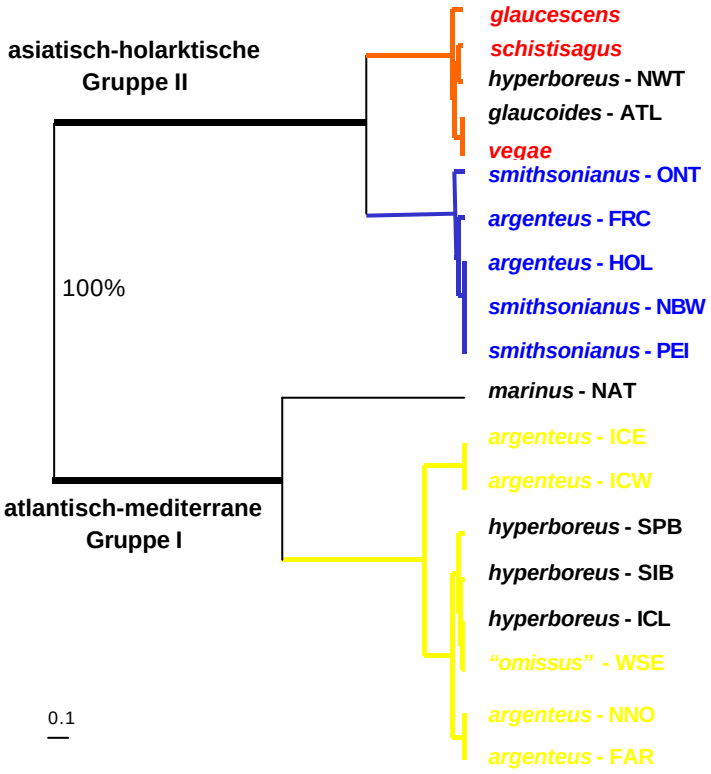


Abb. 8.1: Populationsstammbaum für Eismöwen (*L. hyperboreus*) und Mantelmöwen (*L. marinus*) und die pazifischen Taxa *vegae*, *schistisagus* und *glaucescens*, in Relation zu ausgewählten Populationen der Silbermöwen-Gruppe (*smithsonianus, argenteus*, “*omissus*”); Kimura 2-P-Distanz, SLATKINS's linearisierte Φ_{ST}-Werte (AMOVA), UPGMA-Algorithmus. Eismöwen erscheinen im Populations-stammbaum polyphyletisch. Die paläarktischen Populationen gehören der atlantisch-mediterranen Gruppe I an und sind mit den “nördlichen” Silbermöwen näher verwandt als mit ihrer nearktischen “Schwesterpopulation”. Eis- und Polarmöwen aus NE-Kanada bilden mit den pazifischen Taxa ein Cluster und gehören zusammen mit den “südlichen” und amerikanischen Silbermöwen der asiatisch-holarktischen Gruppe II an.

Tabelle 8.2: Analyse der Molekularen Varianz (AMOVA) innerhalb der Eis- und Polarmöwen, *L. hyperboreus* und *L. glaucoides*. Einteilung der Eismöwen aus Island, Spitzbergen, Sibirien und Nordamerika sowie der Polarmöwen aus dem NW-Atlantik in **A)** eine Gruppe; **B)** zwei phänotypisch differenzierte Gruppen: (1) Eismöwen und (2) Polarmöwen; **C)** drei phänotypisch und geographisch getrennte Gruppen: (1) paläarktische Eismöwen (2) nearktische Eisnmöwen und (3) nordatlantische Polarmöwen.

Molekulare Varianz	**(A)** eine Gruppe	**(B)** *hyperboreus* vs. *glaucoides*	**(C)** paläarktische vs. nearktische *hyperboreus* vs. *glaucoides*
zwischen den Gruppen	--	22,7%	**89,3%**
innerhalb der Gruppen	84,5%	64,6%	0,6%
innerhalb der Populationen	15,5%	12,7%	10,1%

Zur geographisch-taxonomischen Verteilung der molekularen Varianz bei Eis- und Polarmöwen wurden mittels AMOVA drei Hypothesen getestet (Tab. 8.2): **A**) alle Populationen gehören einer in sich nicht differenzierten Gruppe an; **B**) die Hauptdifferenzierung besteht zwischen den zwei phänotypisch diagnostizierbaren Taxa Eismöwe (Paläarktis und Nearktis) und Polarmöwe (NW-Atlantik); **C**) es gibt drei geographisch und genetisch differenzierte Gruppen, nämlich (1) paläarktische Eismöwen, (2) nearktische Eismöwen und (3) Polarmöwen. Die Einteilung der Populationen entlang der taxonomischen Grenzen (Hypothese B) erklärt nur 22,7% der gesamten molekularen Varianz. Dieser Anteil vergrößerte sich sprunghaft auf 89,3%, wenn zusätzlich zwischen paläarktischen und nearktischen Eismöwen unterschieden wurde (Hypothese C).

8.2.2. Verwandtschaft und Populationsstruktur europäischer Mantelmöwen

Phänotypisch gibt es keine Zweifel, dass Mantelmöwen von allen anderen Großmöwen deutlich differenziert sind. Für meine Untersuchung standen mir nur Proben aus Europa, nicht aus Nordamerika zur Verfügung. Mitochondrien-genetisch gehören sie der atlantisch-mediterranen Gruppe I mit „gelben“ Haplotypen an (Abb. 7.1). Mantelmöwen sind von Eis- und Silbermöwen signifikant differenziert (Tab. 8.1). Die Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede ist deutlich zweigipflig, mit einer tiefen Verzweigung im Haplotypen-Stammbaum (Abb. 7.7). Die europäischen Mantelmöwen weisen also typische Merkmale einer alten Population auf, deren mitochondriale Linien sich innerhalb der atlantisch-mediterranen Gruppe I relativ früh aufgespalten haben. Im Populations-stammbaum (Abb. 8.1) zweigen sie basal von den europäischen Eis- und Silbermöwen ab.

8.2.3. Die pazifischen Taxa

Die hier untersuchten pazifischen Taxa *schistisagus, glaucescens* und *vegae* besitzen ausschließlich „orange“ Haplotypen (Abb. 7.3 A), die der asiatisch-holarktischen Gruppe II angehören. Die drei Taxa sind untereinander nah verwandt (Abb. 8.1), aber signifikant differenziert.

Die Häufigkeitsverteilung der paarweisen Sequenzunterschiede innerhalb der pazifischen Haplotypen ist eingipflig (Abb. 7.7). Dies ist ein deutlicher Hinweis auf rezentes Populationswachstum. Vögel mit orangen Haplotypen wanderten wahrscheinlich erst im Zuge einer relativ jungen Expansion in das asiatischen Binnenland ein, wo sie heute die Form *mongolicus* repräsentieren. Das Vorkommen

oranger Haplotypen bei *taimyrensis* dürfte durch Introgression aus Richtung Osten (über *birulai*) zu erklären sein. Im Osten Kanadas (*smithsonianus* aus Ontario und New Brunswick) sind orange Haplotypen möglicherweise sekundär aus dem Nordwesten Nordamerikas eingewandert, denn bei Silbermöwen in Alaska machen sie einen erheblichen Anteil aus. Dies könnte auf (vielleicht früher häufigere) Hybridisierung zwischen *glaucescens* und *smithsonianus* zurückzuführen sind (PATTEN & WEISBROD 1974).

8.3. Diskussion

8.3.1. Die „Eismöwen-Problematik“

Gegenwärtig werden drei Unterarten der Eismöwe *Larus hyperboreus* anerkannt, die sich nach Größe und Mantelfärbung unterscheiden (CRAMP & SIMMONS 1983): 1) *L. h. hyperboreus* in NE-Kanada und der NW-Paläarktis (Grönland, Island, Norwegen, Spitzbergen bis Taimyr); 2) *L. h. pallidissimus* in der NE-Paläarktis (östliches Taimyr bis zur Beringstraße); die größer und heller als die Nominatform ist, sowie 3) *L. h. barrovianus* in Alaska und W-Kanada (vgl. GLUTZ & BAUER 1982). Da der Übergang zwischen *barrovianus* und *hyperboreus* nicht klinal sondern sprunghaft ist (RAND 1942), machte BANKS (1986) den Vorschlag, eine vierte, westatlantische Form, nämlich *L. h. leucretes*, abzuspalten, deren Brutareal sich von den ostkanadadischen Küsten bis nach Grönland und möglicherweise Island erstrecken soll. Die Form der westlichen kanadischen Arktis, *barrovianus*, findet in der Literatur große Aufmerksamkeit (MACPHERSON 1961). JOHANSEN (1958) vermutete, dass es zwischen *glaucescens* und *barrovianus* einen Verbindung gäbe und beide Formen möglicherweise konspezifisch sind. Hybridisierung zwischen *hyperboreus* x *smithsonianus* wurde selten, aber regelmäßig in Süd-Alaska beobachtet (SPEAR 1987), obwohl beide Formen ökologisch getrennt sind: *hyperboreus* brütet hauptsächlich an den Küsten, *smithsonianus* im Binnenland. SPEAR vermutet, dass durch anthropogene Einflüsse (Besiedlung, Fischerei) beide Formen erst in jüngster Zeit in Kontakt kamen und aufgrund eines Mangels an arteigenen Paarpartnern Hybridisierung einsetzte (vergleichbar mit der früheren Situation zwischen Herings- und Silbermöwe in NW-Europa). Auch in Europa kommt es gelegentlich zu Hybridisierung zwischen Eis- und Silbermöwen (vgl. GOETHE 1961, BARTH 1968, INGOLFSSON 1970).

Auf der mitochondrien-genetischen Ebene wurde eine hochsignifikante Trennung zwischen nearktischen und paläarktischen Eismöwen gefunden. Die europäische *hyperboreus*-Population wird von „gelben“ Haplotypen dominiert, während in Ostkanada (sensu BANKS 1986 ist dies die Form „*leucretes*“) der orange Haplotyp vorherrscht. Von den Populationen aus Alaska (*barrovianus*) und Ostsibirien (*pallidissimus*) lagen mir keine Proben vor. Es bleibt also zunächst ungeklärt, ob es innerhalb der Nearktis eine weitere Differenzierung gibt bzw. welcher Populationsgruppe ostsibirische Eismöwen angehören. Von den „südlichen“ *argentatus*-Populationen mit „blauen“ Haplotypen sind Eismöwen sowohl in Amerika als auch in Europa differenziert. Zum Zeitpunkt der Einwanderung „blauer“ Haplotypen in Nordamerika und Europa waren Eismöwen möglicherweise bereits auf die arktischen Gebiete beschränkt, so dass die beiden Formen nicht in engen Kontakt kamen.

Die Frage, warum Eismöwen unterschiedlichen phylogenetischen Haplotypgruppen angehören, bleibt offen. Eine biphyletische Evolution ist kaum vorstellbar. Das nämlich hieße, dass die amerikanischen

Eismöwen mit den pazifischen Möwen („orange“ Haplotypen) und die europäischen Eismöwen mit den „nördlichen“ *argentatus*-Populationen („gelbe“ Haplotypen) nächstverwandt seien. Orange und gelbe Linien sind im Haplotypen-Stammbaum zu 100% getrennt, und eine konvergente phänotypische Entwicklung zwischen Populationen so unterschiedlicher Abstammung in Nordamerika einerseits und Europa andererseits ist extrem unwahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist, dass Eismöwen in jüngster Vergangenheit auf beiden Kontinenten jeweils mit den Taxa hybridisierten, mit denen sie in Kontakt kamen. Infolge solcher Introgression könnten sich heute nearktische von paläarktischen Populationen unterscheiden, wobei aber unklar bleibt, warum die Hybridisation phänotypisch offenbar keine Spuren hinterließ, während sie mitochondrien-genetisch zu einem „Identitätsverlust“ zumindest einer der beiden Eismöwen-Populationsgruppen (Nordamerika oder Europa) geführt hat.

Das Szenario einer Introgression von „orangen“ bzw. „gelben“ Haplotypen in die arktischen Brutgebiete wird durch die Ergebnisse von Baffinland unterstützt: Die acht untersuchten Polarmöwen hatten orange Haplotypen, d.h. sie unterscheiden sich mitochondrien-genetisch nicht von den Eismöwen, mit denen sie sympatrisch brüten. Phänotypisch sind beide Formen deutlich differenziert, doch möglicherweise findet auch hier erhebliche Introgression statt. Die „klassischen“ Untersuchungen von SMITH (1966) über die Isolationsmechanismen zwischen Silber-, Eis- und Polarmöwen auf den Baffin-Inseln wurden von SNELL (1989, 1991c) angezweifelt. Selbst wenn heute die reproduktive Isolation zwischen diesen Taxa weitgehend perfekt ist, läßt sich Hybridisation in der Vergangenheit nicht ausschließen, die möglicherweise deutliche Spuren in der mitochondrialen Phylogenie hinterlassen hat. Größere Stichproben der betreffenden Taxa und vor allem ein Vergleich mit nuklearen Markern könnten diese Problematik einer Lösung näherbringen.

8.3.2. Die europäischen Mantelmöwen

In Nordamerika sind wenige phänotypisch intermediäre Individuen zwischen Mantel- und Silbermöwen (*smithsonianus*) und seltene Fälle von Hybridisierung beobachtet worden (JEHL 1960, ANDRLE 1972, GODFREY 1973, PIEROTTI & GOOD 1994). Auch von den Färöer-Inseln soll es Nachweise für Hybridisierung zwischen *marinus* und *argenteus* geben (J.K. JENSEN, pers. Mitt.).

Nach meinen Ergebnissen erscheint die Mantelmöwe in der Haplotyp-Phylogenie paraphyletisch in Relation zu den „nördlichen“ Silbermöwen, sie hat aber mit diesen und mit der Eismöwe (fast) keine Haplotypen gemeinsam. Dieses Ergebnis läßt sich meines Erachtens nur als ancestraler Polymorphismus erklären, der in den drei Arten bis heute fortbesteht. Das Lineage Sorting scheint zwischen der Mantelmöwe und den beiden anderen Arten schon soweit fortgeschritten zu sein, dass sie (fast) keine Haplotypen mehr gemeinsam haben, aber noch nicht so weit, dass alle drei Arten durch monophyletische Haplotypcluster repräsentiert sind.

Die demographischen Ergebnisse sind mit dieser Vorstellung gut vereinbar. Mitochondrien-genetisch tragen Mantelmöwen deutliche Spuren einer relativ alten, langfristig großen Population. Sie haben sich wahrscheinlich sehr frühzeitig in einem atlantischen Refugium (Abb. 7.8) differenziert und sich stärker als andere Großmöwen auf den marinen Lebensraum spezialisiert. Sekundär sind sie nach dem Rückzug des Eises nach Nordosten (Nordskandinavien, Spitzbergen) vorgedrungen, wo sie jetzt sympatrisch mit Silbermöwen brüten, ohne dass es zu nennenswerter Hybridisierung kommt.

8.3.3. Vorläufige Betrachtungen zur Phylogenie der nordpazifischen Formen

Die Ergebnisse zu den pazifischen Taxa *schistisagus*, *vegae*, und *glaucescens* tragen aufgrund der kleinen Stichproben vorläufigen Charakter und können hier nur unter Vorbehalt diskutiert werden. Von der komplexen Situation innerhalb der pazifischen Möwengruppe liefern sie dennoch einen ersten Eindruck.

Die Vorstellungen über die systematischen Beziehungen zwischen den pazifischen Formen variieren beträchtlich: DWIGHT (1925) stellte *schistisagus* und *glaucescens* zu den Silbermöwen. STEGMANN (1934) sah in *glaucescens* eine Unterart der Eismöwe (*hyperboreus*). Die dunkelmantligen Formen *schistisagus* und *occidentalis* behandelte STEGMANN als Unterarten der Mantelmöwe (*marinus*), während er *vegae*, *birulai* und *mongolicus* dem Silbermöwen-Komplex (*argentatus*) zuordnete. Nach GEYR (1938) bewohnte eine *vegae*-verwandte Form während der Eiszeiten die pazifischen Küsten Asiens, aus der später die nördliche *birulai* und die südliche *mongolicus* hervorgingen. Auch P. Devillers (in HAFFER 1982) „hält eine enge stammesgeschichtliche Beziehung der ostsibirischen Großmöwe (*vegae*) zu den pazifischen Arten *L. occidentalis* und *L. glaucescens* für möglich“. In der Gliederung der Heringsmöwen-Gruppe ordnet HAFFER (1982) aber die pazifischen Formen unterschiedlichen Superspezies zu: *vegae* und *birulai* gehören der „taxonomischen Art“ *L. vegae* an, die mit *argentatus* eine Superspezies bildet. *L. glaucescens* und *L. occidentalis* bilden zusammen mit der Dominikanermöwe (*dominicanus*) eine weitere Superspezies. JUDIN & FIRSOVA (1990) schlagen vor, im pazifischen Raum einen eigenständigen Komplex weißköpfiger Großmöwen abzugrenzen, dem weder Silber- noch Mantelmöwen angehören. DEL HOYO et al. (1996) sehen in *glaucescens*, *occidentalis*, *schistisagus* eigenständige Arten, während sie *vegae* zu *argentatus* und *mongolicus* zu *cachinnans* stellen.

An der amerikanischen Westküste ist die Hybridisierung zwischen den Taxa umfassend studiert worden. So gibt es detaillierte Untersuchungen aus der Kontaktzone zwischen *glaucescens* und *occidentalis* (vgl. VERBEEK 1993, HOFFMAN et al. 1978, BELL 1997). Hybridisierung zwischen *glaucescens* und *smithsonianus* wurde an der Südküste Alaskas (WILLIAMSON & PEYTON 1963, PATTEN & WEISBROD 1974) und in British Columbia (MERILEES 1974) nachgewiesen. An der Westküste Alaskas wird Hybridisierung zwischen *glaucescens* und *hyperboreus* vermutet, denn die Brutvögel zeigen überwiegend intermediäre Merkmale (STRANG 1977). Ein häufiger Gast an den Küsten Alaskas ist auch die ostsibirische Form *vegae*, die möglicherweise mit *glaucescens* hybridisiert (PIEROTTI & GOOD 1994).

An der asiatischen Pazifikküste wurden mehrfach gemischte Paare von *glaucescens* x *schistisagus* beobachtet (JUDIN & FIRSOVA 1990; A. Degen, pers. Mitt.), so dass man von nicht seltener Hybridisierung ausgehen muss. Das Lautrepertoire von *glaucescens* und *schistisagus* ist kaum differenziert, und möglicherweise existieren keine effektiven Isolationsmechanismen zwischen den zwei Taxa (GRABOVSKY et al., unveröff.). Die phänotypischen Merkmale, besonders der Gefiederzeichnung der Jungvögel, veranlaßten JUDIN & FIRSOVA (1990), die Möwen des pazifischen Beckens zu einem eigenen Komplex nah verwandter Taxa zusammenzufassen. Diese Vermutung wird von den Untersuchungen an den amerikanischen Formen gestützt (HOFFMAN et al. 1978, HAND 1981, BELL 1996). Als „Schlüsseltaxon“ des pazifischen Möwenkomplex wird die Beringmöwe *glaucescens* angesehen (PATTEN in BELL 1996). Auf dem Allozymlevel haben reine *glaucescens*-Populationen die größte genetische Diversität, weit über der von reinen *occidentalis*-Populationen oder Hybriden aus

der Kontaktzone (BELL 1996). Da *glaucescens* mit bis zu vier Taxa hybridisiert (*occidentalis*, *schistisagus*, *smithsonianus* und *hyperboreus*), diskutiert BELL die hohe genetische Diversität als Ergebnis von Introgression über verschiedene Hybridzonen. Auf der mitochondrialen Ebene liegen im Augenblick noch nicht genügend Daten vor, um diese Hypothese zu überprüfen.

Gibt es einen pazifischen Möwenkomplex?

Obwohl die bisher vorliegenden Stichproben für die einzelnen Taxa sehr klein sind, ergibt sich folgendes, vorläufiges Bild: Die pazifischen Möwen sind durch eine eigene Gruppe von Haplotypen charakterisiert (orange Farbkodierung), die der asiatisch-holarktischen Gruppe II angehören (Abb. 7.1). Orange Haplotypen wurden nicht nur in den pazifischen Taxa gefunden, sondern auch in *mongolicus* (Abb. 6.1), *smithsonianus* aus Alaska sowie in *hyperboreus* und *glaucoides* aus NE-Kanada (Abb. 7.2 B und Abb. 7.3). Inwieweit dies das Ergebnis von Hybridisierung mit pazifischen Taxa ist, muss vorläufig offen bleiben. Andererseits fällt auf, dass es im Nordpazifik keine „blauen" Haplotypen gibt. Wenn wir davon ausgehen, dass Nordamerika von Nordsibiren aus besiedelt wurde (Abb. 7.8), müssen „blaue" Haplotypen die Beringstraße überquert haben. Die kleinen Stichproben von *vegae* aus Tschukotka (n=10) und *smithsonianus* aus Alaska (n=5) erlauben bisher keine genaueren Rückschlüsse über die Historie der „blauen" Haplotypen im Nordpazifik.

Hinsichtlich der Ausbreitungsgeschichte „organer" Haplotypen deuten die mitochondrien-genetischen Befunde darauf hin, dass Möwen aus dem aralo-kaspischen Refugium relativ früh (vermutlich über die Eismeerküsten) in den Nord-Pazifik einwanderten und dort isoliert wurden (siehe Abb. 6.9). Diese Trennung muss jedoch später als jene zwischen dem atlantischen und dem zentralasiatischen Refugium stattgefunden haben, da die pazifischen Haplotypen näher mit den für „südliche" *argentatus* („blau") und *cachinnans* („rot") typischen mtDNA-Linien verwandt sind als mit den atlantisch-mediterranen Haplotypen („gelb"; Abb. 7.1). Möglicherweise war zusätzlich der Genfluss zwischen der westlichen und östlichen Pazifikküste zeitweise eingeschränkt, wobei sich aus der asiatischen Population die hellmantlige *glaucescens* und aus der amerikanischen Population die dunkelmantlige *occidentalis* differenziert haben. Erst im Holozän könnten diese Formen sekundär an der amerikanischen Westküste wieder in Kontakt gekommen sein und eine „stabile Hybridzone" gebildet haben (HOFFMAN et al. 1978). Aus der asiatischen Form *glaucescens* differenzierten sich später die asiatischen Taxa *vegae*, *schistisagus* und *mongolicus*. Nach dem Rückzug des Eises breiteten sich *vegae* und *mongolicus* westwärts aus, wobei *vegae* (bzw. *birulai*) auf Taimyr mit *heuglini* in Kontakt kam, während *mongolicus* das asiatische Binnenland besiedelte. Neben dem atlantischen und dem aralo-kaspischen Refugium gab es offenbar über lange Zeit ein drittes, eigenständiges Refugium im nördlichen Pazifik, das Ausgangspunkt für die Besiedlung der pazifischen Küsten, des asiatischen Binnenlandes und der östlichen Eismeerküsten war.

9. Abschließende Diskussion

Ziel meiner Arbeit war die Rekonstruktion der phylogeographischen Beziehungen zwischen den Populationen der *Larus-argentatus*-Gruppe, die mitochondrien-genetische Charakterisierung einzelner Großmöwen-Taxa sowie die Aufdeckung von Artgrenzen im Sinne des biologischen Artkonzepts (sensu MAYR). Im abschließenden Kapitel möchte ich die bereits im einzelnen diskutierten Ergebnisse nochmals zusammenfassen.

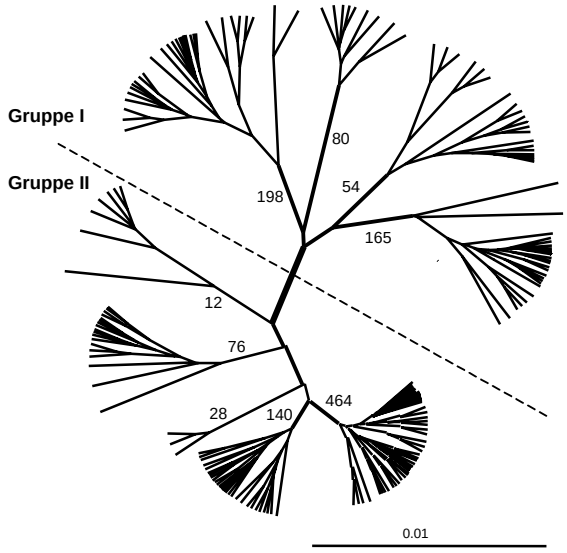


Abb. 9.1: Stammbaum aller 196 Haplotypen (UPGMA, Kimura 2-P-Distanz, α=0,04), die in 21 Großmöwen-Taxa (n=1217 Individuen) anhand von DNA-Sequenzen der mitochondrialen Kontrollregion (430 bp der Domäne I) gefunden wurden. Zahlen an den Ästen: absolute Häufigkeiten der Haplotypen pro Verzweigung.

Von insgesamt 1217 Individuen, die 21 Taxa angehören, wurden 430 bp der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion sequenziert. Der Stammbaum der resultierenden 196 Haplotypen (Abb. 9.1) hat eine deutliche Struktur:

Charakteristisch für die atlantisch-mediterrane **Gruppe I** (n=497 Individuen) sind tiefe Verzweigungsmuster der einzelnen Haplotyp-Cluster, die das relativ hohe Alter dieser Linien widerspiegeln. In der asiatisch-holarktischen **Gruppe II** (n=720) sind die Verzweigungsmuster flacher und in einzelnen Clustern zeigen die Haplotypen eine starke Auffächerung. Diese Linien haben sich erst in jüngster Zeit differenziert und ein schnelles Populationswachstum durchlaufen.

Mitochondrien-genetische Charakterisierung der Taxa

Die einzelnen Taxa sind entweder durch mono-, para- oder polyphyletische Gruppen von Haplotypen charakterisiert. Monophyletische Gruppen von Haplotypen wurden in *armenicus* (Abb. 9.2 A, braune Kodierung, aber Vernachlässigung der rezenten Introgression durch *michahellis*) und bei *atlantis-michahellis* (gelbe Kodierung) insgesamt gefunden (jedoch nicht in jedem Taxon einzeln). Paraphyletische Gruppen von Haplotypen (Abb. 9.2 B) waren innerhalb der Gruppe I für *marinus* (grün) und innerhalb der Gruppe II für *cachinnans* (rot) charakteristisch. Ein polyphyletischer Zustand, bei dem die Haplotypen sowohl der atlantisch-mediterranen Gruppe I als auch der asiatisch-holarktischen Gruppe II angehörten, war in den europäischen Silbermöwen evident (Abb. 9.2 C). In den zirkumpolar brütenden Eismöwen (Abb. 9.2 D) dominierten in den europäischen bzw. amerikanischen Populationen jeweils unterschiedliche phylogenetische Haplotyp-Linien, so dass auch diese Art im Stammbaum polyphyletisch war.

Innerhalb der Großmöwen sind somit Gen- und Artstammbaum nicht in allen Fällen kongruent. Diese Situation ist auch von anderen, sich schnell differenzierenden Vogeltaxa (DEGNAN & MORITZ 1992), Fischen (PARKER & KORNFIELD 1997) und Säugetieren (FERRIS et al. 1983) bekannt.

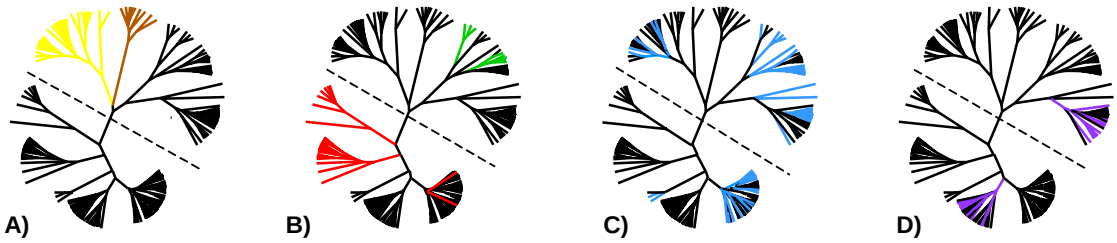


Abb. 9.2: Indentischer Haplotypen-Stammbaum wie in Abb. 9.1. Farbige Markierung der Haplotypen, die in jeweils phänotypisch abgegrezten Taxa gefunden wurden.
A) Monophyletische Gruppe von Haplotypen: *michahellis-atlantis* (gelb) und *armenicus* (braun, Vernachlässigung der rezenten Introgression durch *michahellis*). **B**) Paraphyletische Gruppen von Haplotypen in *marinus* (grün) und *cachinnans* (rot). **C**) Polyphyletische Gruppen von Haplotypen in europäischen Silbermöwen (*argentatus*) und **D**) Eismöwen (*hyperboreus*) aus Europa und NE-Kanada (violett).

Das Vorkommen gemeinsamer Haplotypen in phänotypisch differenzierten Taxa kann sowohl auf ancestrale Polymorphismen und unvollständiges Lineage Sorting zurückgehen, als auch auf Hybridisierung und Introgression (AVISE 1994). Anhand der vorliegenden Daten kann nicht entschieden werden, in welchem Maße einer oder beide der Faktoren für die aktuelle mitochondriengenetische Struktur innerhalb der Großmöwen verantwortlich sind. Die „Artbildung“, d.h. die vollständige genetische Differenzierung zwischen den Taxa, ist wahrscheinlich noch nicht abgeschlossen. Monophyletischen Gruppen von Haplotypen können unabhängig vom verwendeten Marker (noch) nicht nachgewiesen werden. Die Differenzierung auf phänotypischer Ebene verläuft dagegen wesentlich schneller, da sie noch heute einer starken Selektion unterliegt. „Äußere“ Ähnlichkeiten spiegeln aber die phylogenetischen Beziehungen zwischen den Taxa nur bedingt wider (KOCUM 2000, MÜLLER 2000).

Aufdeckung von Artgrenzen

„Arten“ im Sinne des biologischen Spezieskonzept sind diagnostizierbare Gruppen von Populationen, die reproduktiv voneinander isoliert sind (MAYR 1963). Nachteil dieses Konzepts ist seine zeitliche und räumliche Beschränkung: Taxa lassen sich nur dann als biologische Arten erkennen, wenn sie zur gleichen Zeit am gleichen Ort (= sympatrisch) vorkommen (HAFFER 1997, HELBIG 2000).

Die mitochondrialen Sequenzen zeigen ein hohes Auflösungsvermögen für den Nachweis maternaler Genflussbarrieren zwischen den Taxa. Reproduktive Isolation über die weiblichen Linien wurde z.B. zwischen *graellsii* und *atlantis* an der französischen Atlantikküste und zwischen *michahellis* und *cachinnans* am westlichen Schwarzen Meer gefunden. Diese Taxa können als „gute“ Arten eingestuft werden. *Michahellis* und *armenicus* sowie *cachinnans* und *barabensis* waren nicht vollkommen reproduktiv isoliert, d.h. in geringem Maße wurde mitochondrialer Genfluss nachgewiesen. Diesen Formen wird der Status von Semispezies zugesprochen, die einer gemeinsamen Superspezies angehören (vgl. HELBIG 2000). Fehlende monophyletische Repräsentanz im Haplotypen-Stammbaum bedeutet nicht, dass es Genfluss geben muss. Gemeinsame Haplotypen zwischen Taxa, die im poly- oder paraphyletischen Zustand untersucht werden (d.h. phylogenetisch sehr jung sind), können ausschließlich auf ancestrale Polymorphismen zurückgehen. Die in Europa sympatrisch brütenden Herings- und Silbermöwen sind heute reproduktiv isoliert, und ihre

gemeinsamen Haplotypen sind nicht (zwangsläufig) das Ergebnis rezenter Hybridisierung, sondern können auf unvollständiges Lineage Sorting oder starke Hybridisierung in der Vergangenheit zurückgehen.

Für eine taxonomische Revision der *Larus argentatus*-Artengruppe kann anhand der vorliegenden Arbeit erstmals der Grad der Differenzierung zwischen den Taxa quantitativ beurteilt werden. Mitochondriale Sequenzen allein sind aber nicht ausreichend, um den Status eines Taxons zu überprüfen. Die genetischen Befunde sollten daher stets mit morphologischen und verhaltensbiologischen Merkmalen zur Synthese gebracht werden. Nur dann können alle Ergebnisse zu einer sinnvollen, modernen Klassifizierung führen.

Rekonstruktion der phylogeographischen Beziehungen

Wenn Taxa über viele gemeinsame Haplotypen verfügen, können die verwandtschaftlichen Beziehungen nicht zweifelsfrei geklärt werden. Die phylogenetische Historie innerhalb und zwischen den Populationen wurde daher anhand der Häufigkeiten von Haplotypen und deren genetischer Ähnlichkeit rekonstruiert. Demographische Veränderungen, d.h. Schwankungen der Populationsgröße infolge von Bottlenecks und Migration oder das relative Alter von Populationen spiegeln sich in kleinräumigen Veränderungen der Allel-Frequenzen und paarweisen Φ_{ST}-Werte wider.

Eine Erklärung für die rezente Verbreitung der Silber- und Heringsmöwen lieferte bisher die Ringspezies-Theorie von MAYR (1963). Demnach soll die gesamte Holarktis aus **einem Refugium** im aralo-kaspischen Raum besiedelt worden sein. Die mitochondrialen Daten belegen aber die Existenz eines **zweiten Refugiums**, nämlich im nördlichen Atlantik. Die asiatisch-holarktischen Haplotypen der Gruppe II (Abb. 9.1) stammen aus dem aralo-kaspischen Raum, während sich die atlantisch-mediterranen Haplotypen der Gruppe I aus dem atlantischen Refugium differenziert haben. Möglicherweise gab es im Pazifik ein **drittes** Refugium, das vom aralo-kaspischen Raum besiedelt wurde und wesentlich jünger als dieses ist.

Zwei Kernhypothesen, die sich aus der Ringspezies-Theorie ableiten, werden anhand der mitochondrialen Befunde abgelehnt: 1. Zwischen den südpaläarktischen Taxa *michahellis* und *cachinnans* gibt es keine klinale Variation. Im Gegenteil, beide Formen sind signifikant differenziert, was dafür spricht, dass es eine effektive Genflussbarriere gibt. 2. Weder in *mongolicus* noch in „*omissus*“ wurden *cachinnans*-Gene nachgewiesen, d.h. es gibt keine Hinweise auf hybridogene Artbildung. *Mongolicus* ist aus dem pazifischen Raum in das asiatische Binnenland eingewandert, während sich “*omissus*“ aus dem atlantischen Refugium differenziert hat.

Der 3. MAYR’schen Hypothese wird eingeschränkt zugestimmt: Die Besiedlung Nordamerikas fand nicht durch eine *vegae*-, sondern eine *heuglini*-verwandte Form statt, die aber wie *vegae* aus dem aralo-kaspischen Refugium hervorgegangen ist. Die Ausbreitung der Silber- und Heringsmöwen geht möglicherweise auf die zirkumpolare Besiedlung durch diese *heuglini*-verwandte Form zurück. MAYR’s Ringspezies-Theorie wird auf mitochondrien-genetischer Seite nur für die nördlichen Silber- und Heringsmöwen gestützt. Durch das Vorhandensein einer zweiten, phänotypisch nicht diagnostizierbaren *argentatus*-Linie in Nordeuropa ist das Bild aber wesentlich komplizierter als vermutet.

Die Populationsgeschichte innerhalb der europäischen Silbermöwen ist bisher nicht befriedigend zu erklären (Abb. 9.2 C). In den „nördlichen“ *argentatus*-Populationen (Nordskandinavien, Färöer) dominieren atlantische Haplotypen der Gruppe I, während in den „südlichen“ Populationen (südliche Nord- und Ostsee) hauptsächlich holarktische Linien der Gruppe II vertreten sind. Die Populationsstruktur der Eismöwen (Abb. 9.2 D) bleibt ebenfalls rätselhaft: Die signifikante Differenzierung zwischen europäischen und NE-amerikanischen Populationen geht vermutlich auf ancestrale Polymorphismen oder sekundäre Introgression zurück, denn phänotypisch gibt es keine Hinweise auf eine biphyletische Evolution innerhalb dieser Gruppe.

In Hinblick auf die genetische Diversität postulierten u.a. HEWITT (1999), BERNATCHEZ & WILSON (1998) und TABERLET et al. (1998), dass nördliche Populationen genetisch „ärmer“ als südliche sind, einen jüngeren Vorfahren haben und größere Areale besiedeln. Bei den europäischen Silbermöwen ist die Situation umgekehrt: die „nördlichen“ *argentatus*-Populationen, die aus dem atlantischen Refugium hervorgegangen sind, haben eine größere genetische Diversität und eine ältere Populationsgeschichte als die „südlichen“ *argentatus*-Populationen.

Im Unterschied zu Nordamerika gab es im Norden Europas auch während der maximalen Vereisungsphasen eisfreie Gebiete (RUTTER 1995). Als typische Meeresvögel sind Möwen an subarktische und marine Verhältnisse ökologisch angepaßt und so konnten die „nördlichen“ *argentatus*-Populationen wahrscheinlich auch während der Eiszeiten relativ große, stabile Populationen aufrechterhalten. Die „südlichen“ *argentatus*-Möwen sind vermutlich erst im Holozän aus dem aralo-kaspischen Refugium nach Nordamerika eingewandert und haben in jüngster Zeit Europa besiedelt. Sie zeigen die typischen Merkmale einer postglazial expandierten Population, die heute aber südlicher als die ursprünglichen europäischen Silbermöwen brüten.

Diese Situation unterscheidet sich von der glazialen Historie terrestrischer und thermophiler Organismen (HEWITT 1996), die während der Eiszeiten zwangsläufig in wärmere und trockene Gebiete ausweichen mußten. Sie waren über sehr lange Zeiträume in den südlichen Refugien Europas isoliert und konnten erst im Holozän die nördlichen Breiten sekundär besiedeln.

Weiterführende Untersuchungen

Die mitochondrien-genetischen Untersuchungen sind ein wichtiger Meilenstein bei der Auflösung des Möwen-Puzzles. Bei der Interpretation der bisherigen Ergebnisse ist aber zu berücksichtigen, dass hier ein molekularer Marker verwendet wurde (mitochondriale DNA-Sequenzen), der ausschließlich maternal vererbt wird. Aufgrund ancestraler Polymorphismen, die in phylogenetisch jungen Gruppen wie den Großmöwen gehäuft auftreten, kann abhängig vom untersuchten Merkmal ein- und dasselbe Individuum unterschiedliche Positionen im Stammbaum einnehmen (BROWER et al. 1996).

Mitochondriale und autosomale Marker wurden für 112 Individuen verglichen, die 10 paläarktischen Taxa repräsentieren: Im Rahmen dieser Arbeit wurden 430 bp der Kontrollregion sequenziert. DE KNIJFF et al. (2000) kartierten 209 bi-allelische, autosomale Polymorphismen (AFLP, VOS et al. 1995). Die Topologien der resultierenden Populationsstammbäume (Abb. 9.3) stimmen im Wesentlichen überein, mit Ausnahme der Stellung holländischer *argenteus*-Silbermöwen: Mitochondrien-genetisch ist *argenteus* näher mit paläarktischen Heringsmöwen als mit Silbermöwen

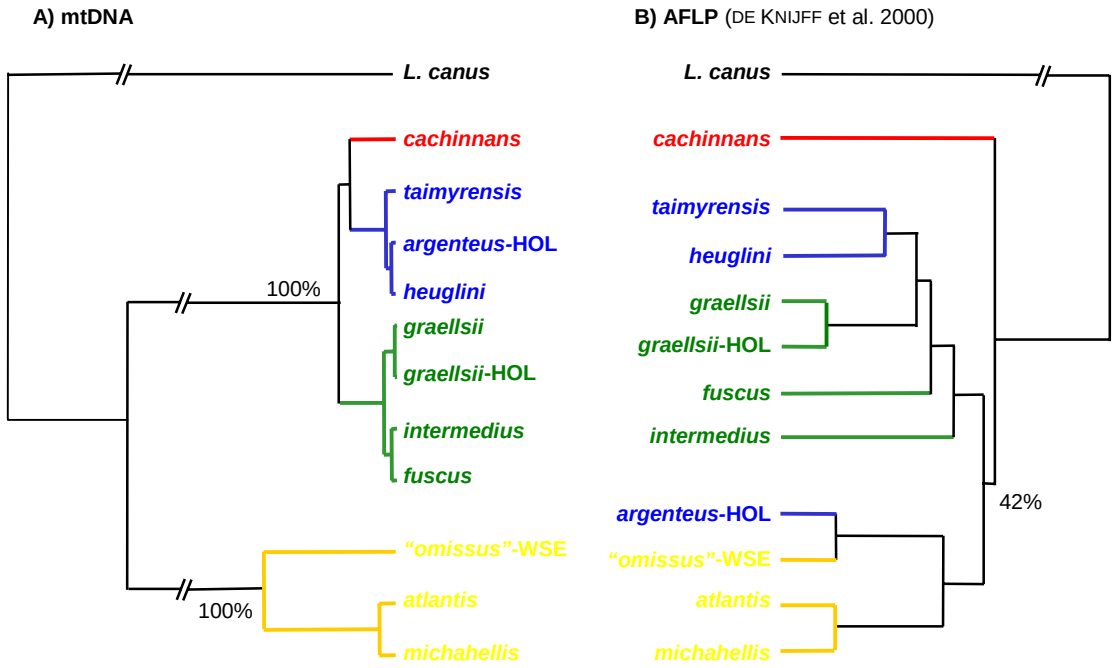


Abb. 9.3: Vergleich zwischen mitochondrialer und autosomaler Populations-Phylogenie (UPGMA). 112 identische Proben, die insgesamt 10 Taxa (und die Außengruppe *Larus canus)* repräsentieren, wurden mit beiden Methoden analysiert.
A) Sequenzierung von 430 bp der mitochondrialen Kontrollregion (SLATKINS's linearisierte Φ_{ST}-Werte, K 2-P-Distanz, α=0,04; ARLEQUIN-Programm); **B**) Kartierung von 209 bi-allelischen AFLP-Loci (linearisierte F_{ST}-Distanzen, DE KNIJFF et al. 2000).

vom Weißen Meer („*omissus*") verwandt. Auf der autosomalen Ebene bilden die Silbermöwen zusammen (*argenteus* und „*omissus*") eine monophyletische Gruppe, die mit *atlantis* und *michahellis* ein eigenständiges Cluster bilden.

Wenn es in Europa zwei Silbermöwenformen gibt („*omissus*" und *argenteus*), die sich phänotypisch nicht unterscheiden, muss es historischen und/ oder aktuellen Genfluss zwischen den Taxa geben. Die phylogenetische Stellung von *argenteus* variiert möglicherweise infolge des geschlechtsspezifischen Zug- und Ansiedlungsverhaltens von Möwen: während die Weibchen in hohem Maße standorttreu sind, wandern die Männchen zwischen den nördlichen und südlichen *argentatus*-Populationen. Infolge der maternalen Vererbung der Mitochondrien wurden in beiden Taxa die mitochondrien-genetisch ursprünglichen Linien konserviert (→ *argenteus* monophyletisch mit den Taxa der asiatisch-holarktischen Gruppe II), während auf autosomaler Ebene die amerikanischen Neuankömmlinge in hohem Maße von europäischen „*omissus*"-Genen „überschwemmt" wurden (→ *argenteus* monophyletisch mit den Taxa der atlantisch-mediterranen Gruppe I).

Der Vergleich zwischen mitochondrialem und autosomalem Stammbaum zeigt (Abb. 9.3), dass es keine „universale" molekulare Methode zur Klärung aller Fragestellungen gibt. Erst wenn verschiedene Untersuchungen zu kongruenten Ergebnissen führen, kann man mit (hinreichender) Sicherheit davon ausgehen, dass sie die „wahre" Entwicklungsgeschichte widerspiegeln.

10. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Hilfe von DNA-Sequenzen der hypervariablen Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion die phylogeographischen Beziehungen innerhalb und zwischen 21 Großmöwen-Taxa der *Larus argentatus*-Artengruppe (n=1217 Individuen) untersucht.

Zunächst werden die Grundlagen der molekularen Populationsgenetik und die Grundprinzipien der DNA-Sequenzierung sowie deren Analyse vorgestellt (**Kapitel 2**). Im Mittelpunkt stand die Rekonstruktion mitochondrialer Populationsstrukturen, wobei zwischen intraspezifischer Differenzierung (Analyse der molekularen Varianz = AMOVA) und interspezifischen Phylogenie der Haplotypen bzw. Populationen unterschieden wurde. Anhand der demographischen Parameter einer Population lassen sich unabhängig vom Phänotypen Rückschlüsse über historische Prozesse innerhalb und phylogenetische Beziehungen zwischen den Taxa ziehen.

Die Sequenzvariation innerhalb der Domäne I der Kontrollregion lässt sich wie folgt charakterisieren (**Kapitel 3**): Die Zusammensetzung der Nukleotide war asymmetrisch mit einem Überschuss an Cytosin (31%) und einem Mangel an Guanin (15%). Von den 430 sequenzierten Nukleotiden zeigten 86% der Positionen keine Variation zwischen den 1217 Individuen, während 14% (n=60 Positionen) variabel waren und teilweise sehr häufig mutierten („mutational hot spots“). Insgesamt wurden 196 unterschiedliche Haplotypen gefunden. Transitionen waren 17mal häufiger als Transversionen und die Häufigkeitsverteilung der Substitutionen entsprach einer negativen Binominalfunktion. Der α-Parameter der Gamma-Verteilung hatte einen Wert von α=0,04. In den konservativen Sequenzabschnitten wurden „funktionale Elemente“ lokalisiert, z.B. TAS-Sequenzen und konservative Sequenzboxen, die bei der Replikation der Mitochondrien eine wesentliche Rolle spielen.

Die Annahme gleicher Evolutionsraten zwischen den untersuchten Linien („molekularen Uhr“) wurde bestätigt. Zur Verifizierung des mitochondrialen Ursprungs der Sequenzen wurden zum einen unterschiedliche DNA-Isolate eingesetzt (Gesamt-DNA und im Cäsium-Chlorid-Gradienten angereicherte mtDNA), zum anderen verschiedene PCR-Strategien angewendet. Zwischen den mit unterschiedlichen Methoden gewonnenen Sequenzen desselben Individuums gab es keine Unterschiede. Es gibt daher keine Anhaltspunkte, dass es zur Co-Amplifizierung mitochondrialer Kernkopien gekommen war.

Abweichungen vom beschriebenen Muster der Sequenzvariation wurden bei 11 Individuen unterschiedlicher geographischer und taxonomischer Herkunft gefunden (**Kapitel 4**). Sie zeigten ein Substitutionsmuster, dass in neun Taxa offenbar unabhängig voneinander erworben wurde: Innerhalb eines 13 bp-langen konservativen Sequenzabschnittes (TAS-II) traten fünf konzertierte Substitutionen auf („ATCCC-Motiv“), die möglicherweise auf mitochondriale Rekombination zurückzuführen sind. Die restlichen 425 Nukleotidpositionen repräsentierten acht Haplotypen, die unterschiedlichen phylogenetischen Linien angehören. Eine enge Verwandtschaft zwischen den 11 Individuen ist daher ausgeschlossen. Ein fundamentaler Grundsatz der Populationsgenetik, nämlich die klonale Vererbung mitochondrialer DNA (d.h. ohne Rekombination), wird aufgrund des vorliegenden Datensatzes in Frage gestellt.

Ziel der folgenden vier Kapitel war die mitochondrien-genetische Charakterisierung der einzelnen Taxa, die Aufdeckung von Genflussbarrieren und die Rekonstruktion der phylogeographischen Beziehungen zwischen den Populationen.

Die phänotypische Charakterisierung und systematische Stellung der Armenienmöwen *Larus armenicus* ist Gegenstand des **Kapitel 5**. Armenienmöwen lassen sich durch eine Kombination von Schnabelfärbung (deutliche schwarze Markierung) und Zeichnung der Handschwingen klar von *michahellis* abgrenzen. Phylogenetisch ist *armenicus* eindeutig am nächsten mit *michahellis* verwandt. Die reproduktive Isolation zwischen beiden Taxa ist aber unvollständig: Mindestens einseitiger Genfluss (Introgression) von *michahellis* in das Brutgebiet von *armenicus* wurde nachgewiesen. In der SW-Türkei (Beysehir Gölü) existiert eine Mischkolonie mit teils intermediären Brutvögeln. Beide Taxa erfüllen die Kriterien des biologischen Artstatus nur partiell, jedoch sprechen das hohe Maß an Diagnostizierbarkeit in den Kernbrutgebieten, der deutlich eingeschränkte Genfluss und die erhebliche genetische Divergenz zwischen beiden Taxa für den Status von Semispezies.

Im **Kapitel 6** wurden die genetische Differenzierung und molekulare Populationsstruktur der südpaläarktischen „Weißkopfmöwen“ untersucht. In die Analyse sind die sechs „südlichen“ Taxa mit heller Mantelfarbe (*atlantis, michahellis, armenicus, cachinnans*, *barabensis* und *mongolicus*) sowie drei nördliche Taxa mit dunklem Mantel (*graellsii, heuglini* und *taimyrensis*) einbezogen worden. Bei einer Einteilung der Taxa in sechs Gruppen, nämlich (1) *atlantis-michahellis*, (2) *armenicus*, (3) *cachinnans*, (4) *barabensis-heuglini-taimyrensis*, (6) *mongolicus*, ließen sich 81,9% der gesamten molekularen Varianz auf Unterschiede zwischen den Gruppen zurückführen. Die taxonomischen Grenzen, basierend auf phänotypischen Merkmalen, spiegeln sich in der molekularen Differenzierung zwischen den Taxa deutlich wider (mit Ausnahme von *barabensis* vs. *heuglini*).

Der Grad der Differenzierung war in den einzelnen Kontaktzonen sehr unterschiedlich: Kein mitochondrialer Genfluss wurde zwischen *cachinnans* und *michahellis* am westlichen Schwarzen Meer und zwischen *graellsii* und *atlantis-michahellis* an der nordöstlichen Atlantikküste nachgewiesen (bis auf zwei *graellsii*-Haplotypen im Brutgebiet von *atlantis*). *Atlantis* und *michahellis* haben viele Haplotypen gemeinsam, aber in signifikant unterschiedlicher Häufigkeit. Die Segregation mitochondrialer Haplotypen zwischen den östlichen Taxa *cachinnans, armenicus, barabensis* und *mongolicus* betrug nahezu 100%. Erstaunlicherweise waren *barabensis* und *heuglini* mitochondrien-genetisch nicht differenziert, obwohl sich beide Taxa phänotypisch deutlich unterschieden und ihre Brutareale - soweit bekannt - nicht in Kontakt kommen.

Die mitochondriale Populationsstruktur war zwischen den Taxa sehr unterschiedlich: Unter den südlichen Formen wiesen *cachinnans* und *atlantis* die tiefsten Verzweigungen im Haplotypen-Stammbaum und eine hohe Nukleotid-Diversität auf, im Gegensatz zu *armenicus, barabensis* und *mongolicus*. Die interglaziale bzw. postglaziale Populationsgeschichte muss daher in den einzelnen mitochondrien-genetischen Linien sehr unterschiedlich verlaufen sein.

In der Phylogenie der Haplotypen wurde eine deutliche Aufspaltung in zwei Gruppen gefunden, die im Likelihood-Mapping zu 100% gestützt wurde. Die atlantisch-mediterrane Gruppe umfaßt die Taxa *atlantis, michahellis* und *armenicus*, während die zentralasiatisch/nordwest-paläarktische Gruppe sowohl südliche, hellmantlige (*cachinnans, barabensis, mongolicus*) als auch

nördliche, dunkelmantlige (*heuglini, taimyrensis, graellsii*) Formen enthält. D.h. die dunkle Mantelfarbe wurde erst relativ spät erworben (wahrscheinlich als Anpassung an den nördlichen Lebensraum) und spiegelt die phylogenetischen Beziehungen zwischen den Taxa nur unzureichend wider.

Die Ringspezies-Theorie von MAYR erklärt die rezente Verbreitung der südlichen Taxa nicht: Anstelle klinaler Variation wurden deutliche Genflussbarrieren zwischen einzelnen Taxa gefunden. Dieses Muster lässt sich nur mit einer Besiedlung aus zwei getrennten Refugien zur Deckung bringen, wovon sich eines im atlantischen und ein zweites im aralo-kaspischen Raum befand. Sekundär kamen einige Taxa wieder in Kontakt und abhängig vom Grad der Differenzierung sind sie heute entweder vollständig oder eingeschränkt reproduktiv isoliert.

Die Besiedlungsgeschichte der Holarktis durch Silbermöwen (*argentatus, argenteus*, „*omissus*“, *smithsonianus*) und Heringsmöwen (*graellsii*, *intermedius, fuscus, heuglini*, *taimyrensis*) ist der Schwerpunkt von **Kapitel 7**. In Europa brüten beide Arten z.T. großräumig sympatrisch, z.B. *argenteus* und *graellsii-intermedius* in NW-Europa sowie *argentatus* und *fuscus* in Fennoskandia. Die Haplotypen der paläarktischen Silbermöwen gehören zwei phylogenetischen Clustern an: In Nordeuropa (Weißes Meer, Nordnorwegen, Färöer-Inseln) dominieren Haplotypen der atlantisch-mediterranen Gruppe I, während in der südlichen Nord- und Ostsee asiatisch-holarktische Haplotypen der Gruppe II vorherrschen. Die signifikante, mitochondrien-genetische Differenzierung zwischen „nördlichen“ und „südlichen“ *argentatus*-Populationen steht im offensichtlichen Gegensatz zur phänotypischen Einheitlichkeit der europäischen Silbermöwen.

Bei Heringsmöwen wurden ausschließlich asiatisch-holarktische Haplotypen gefunden, die sich aber in ihren Häufigkeiten zwischen den „westlichen“ und „östlichen“ Taxa unterschieden. Bei den westlichen Taxa sind *fuscus* und *intermedius* nächstverwandt, *graellsii* ist ihr Schwestertaxon. Unter den östlichen Taxa lässt sich *taimyrensis* nicht von *heuglini* abgrenzen. Möglicherweise kommen auf Taimyr *heuglini* und die weiter östlich brütende Form *birulai* (von der bisher keine Proben vorliegen) sekundär in Kontakt. Im Populationsstammbaum wird deutlich, dass die östlichen Heringsmöwen (*heuglini*, *taimyrensis*) näher mit den Silbermöwen der südlichen Nord- und Ostsee verwandt sind als mit den westlichen Heringsmöwen (*fusucs, intermedius, graellsii*). Die Heringsmöwe in ihrer traditionellen Abgrenzung ist auf mitochondrien-genetischer Ebene paraphyletisch.

Folgendes Szenario der Besiedlungsgeschichte wird vorgeschlagen: Während einer relativ späten interglazialen Warmphase (vor ca. 50.-100.000 Jahren) wanderten Großmöwen aus dem aralo-kaspischen Refugium nach Norden und breiteten sich westwärts bis in den fennoskandischen Raum aus. Während der letzen Eiszeit wurde diese Population in eine westliche und eine östliche Teilpopulation getrennt. Aus der westlichen Form differenzierte sich die dunkelmantlige *fuscus*, aus der östlichen Form, die möglicherweise im eisfreien Ob-Jenessej-Gebiet isoliert war, *heuglini*. Im Holozän wanderten *heuglini*-verwandte Vögel zum einen westwärts, wo sie am Weißen Meer sekundär mit *fuscus* in Kontakt kamen. Zum anderen besiedelten sie Nordamerika, wo sich die hellmantlige *smithsonianus* differenzierte. In jüngster Zeit überquerten Vertreter von *smithsonianus* den Atlantik und trafen in NW-Europa auf die Heringsmöwe, womit der zirkumpolare Ring aus Silber- und Heringsmöwen in Europa geschlossen wurde. In den Kontaktzonen zwischen *fuscus* und *heuglini* am Weißen Meer bzw. zwischen *graellsii* und *argenteus* in Westeuropa ist die phänotypische Differenzierung so weit fortgeschritten, dass es nur anfänglich (infolge von Partnermangel?) zu

gelegentlicher Hybridisierung kam. Heute sind alle Silbermöwen, die para- oder sympatrisch mit Heringsmöwen brüten, phänotypisch und genotypisch von diesen differenziert, und es findet kein mitochondrialer Genfluss mehr statt.

Das Bild verkompliziert sich aber durch die Existenz zweier Silbermöwen-Haplotyplinien in Europa, von denen die eine wahrscheinlich aus einem nordatlantischen Refugium hervorgegangen ist, die andere aus Nordamerika einwanderte. Möglicherweise lebte die „ursprüngliche“ europäische *argentatus* während der Eiszeiten in den nördlichen eisfreien Refugien oder am Rande des Eisschildes bereits sympatrisch mit Heringsmöwen. Nach dem Rückzug des Eises besiedelten sie die nördlichen Breiten Europas, während die wesentlich später immigrierten Silbermöwen aus Nordamerika heute hauptsächlich in der südlichen Nord- und Ostsee brüten. D.h. MAYR's Ringspezies-Modell wird für die Silber- und Heringsmöwen der asiatisch-holarktischen Gruppe (ohne die pazifischen Taxa und „Weißkopfmöwen“) bestätigt.

Im letzten **Kapitel 8** werden Eis-, Polar- und Mantelmöwen (*L. hyperboerus*, *L. glaucoides*, *L. marinus*) sowie die pazifischen Taxa *glaucescens*, *vegae* und *schistisagus* untersucht. Mantel- und Eismöwen aus Europa gehören der atlantisch-mediterranen Gruppe I an, während Eismöwen aus Nordamerika und die pazifischen Taxa ausschließlich Haplotypen der asiatisch-holarktischen Gruppe II tragen. Neben einer deutlichen Segregation zwischen den Taxa gehören erstaunlicherweise paläarktische und nearktische Eismöwen verschiedenen Haplotyplinien an, so dass die Art polyphyletisch erscheint. Die Eismöwen-Population Europas ist von den nordpaläarktischen Silbermöwen nicht differenziert, während *hperboreus* aus Nordamerika mit den pazifischen Taxa ein Cluster bildet. Möglicherweise erklärt rezente Hybridisierung von Eismöwen mit den jeweils benachbart brütenden Taxa dieses ungewöhnliche Ergebnis.

Zwischen europäischen Mantelmöwen und allen anderen Taxa gibt es eine vollständige Segregation der Haplotypen (mit zwei Ausnahmen gegenüber Silbermöwen). Allerdings ist die Mantelmöwe im Haplotypbaum nicht durch ein monophyletisches Cluster repräsentiert, was offenbar auf ancestrale Polymorphismen zurückzuführen ist, die “nördliche” Silbermöwen und Mantelmöwen noch heute teilen.

Der Existenz eines “pazifischen Formenkreises” wird unter Vorbehalt der noch fehlenden Taxa zugestimmt. *Glaucescens, vegae* und *schistisagus* sind untereinander zumindest nah verwandt. Wahrscheinlich wanderte bereits relativ früh eine Population aus dem aralo-kaspischen Refugium in den Pazifik und wurde dort isoliert. Erst in jüngster Zeit differenzierten sich die pazifischen Formen. Die asiatische Binnenlandform *mongolicus* gehört ebenfalls dieser Gruppe an und scheint sekundär vom Pazifik in das innerasiatische Festland eingewandert zu sein.

In der abschließenden Diskussion in **Kapitel 9** werden die in dieser Arbeit anhand mitochondrialer Sequenzen erzielten Ergebnisse mit denen einer unveröffentlichten Studie von autosomalen Markern (AFLP) verglichen. Die Populationsstammbäume beider Studien stimmen gut überein mit Ausnahme der Silbermöwe, die nach mitochondrialen Daten polyphyletisch, nach autosomalen Daten monophyletisch ist. Dies unterstreicht die Notwendigkeit, verschiedene genetische Informationsquellen vergleichend zu nutzen, um ein möglichst vollständiges Bild von der Phylogenie der Großmöwen (und anderer Gruppen) zu erarbeiten.

11. Literatur

ADACHI, J. & HASEGAWA, M. 1996. Tempo and mode of synonymous substitutions in mitochondrial DNA of primates. Mol. Biol. Evol. **13**: 200-208.

ALPHEY, L. 1998. DNA-Sequenzierung. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin.

AMADON, D. 1966. The superspecies concept. Syst. Zool. **15**: 245-249.

ANDRLE, R.F. 1972. Another probable hybrid of *Larus marinus* and *L. argentatus*. Auk **89**: 669-671.

ANKEL-SIMONS, F. & CUMMINS, J.M. 1996. Misconceptions about mitochondria and mammalian fertilization: Implications for theories and human evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **93**: 13859-13863.

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.

ARCTANDER, P. 1995. Comparison of a mitochondrial gene and a corresponding nuclear pseudogene. Proc. R. Soc. Lond. B **262**: 13-19.

ARCTANDER, P., JOHANSEN, C. & COUTELLEC-VRETO, M.-A. 1999. Phylogeography of three closely related African Bovids (tribe Alcelaphini). Mol. Bio. Evol. **16**: 1724-1739.

AVISE, J.C. 1983. Commentary. In: Brush, A.H. & Clark, G.A. Jr. (eds) Perspectives in ornithology. Pp. 262-270. Cambridge University Press, New York.

AVISE, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall. New York.

AVISE, J.C. & AQUADRO, C.F. 1982. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates. Evol. Biol. **15**: 151-158.

AVISE, J.C. & NELSON, W.S. 1989. Molecular genetic relationships of the extinct Dusky Seaside Sparrow. Science **243**: 646-648.

AVISE, J.C., SHAPIRA, J.F., DANIEL, S.W., AQUADRO, C.F. & LANSMAN, R.A. 1983. Mitochondrial DNA differentiation during the speciation process in *Peromyscus*. Mol. Biol. Evol. **1**: 38-56.

AVISE, J.C., WALKER, D. & JOHNS, G.C. 1998. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate phylogeography. Proc. R. Soc. Lond. B **265**: 1-6.

AWADALLA, P., EYRE-WALKER, A. & MAYNARD-SMITH, J. 1999. Linkage disequilibrium and recombination in hominid mitochondrial DNA. Science **286**: 2524-2525.

BAKER, A.J. & MARSHALL, H.D. 1997. Mitochondrial control region sequences as tools for understanding evolution. In: MINDELL, D.P. (ed) Avian molecular evolution and systematics. Pp. 51-82. Academic Press San Diego, California.

BAKER, C.S., MEDRANO-GONZALES, L., CALAMBOKIDIS, J., PERRY, A., PICHLER, F., ROSENBAUM, H., STRALEY, J.M., URBAN-RAMIREZ, J., YAMAGUCHI, M. & ZIEGESAR, O. VON 1998. Population structure of the nuclear and mitochondrial DNA variation among Humpback Whales in the North Pacific. Mol. Ecol. **7**: 695-707.

BALL, M.R. Jr. & AVISE, J.C. 1992. Mitochondrial DNA phylogeographic differentiation among avian populations and the evolutionary significance of subspecies. Auk **109**: 626-636.

BANDELT, H.-J., FORSTER, P., SYKES, B.C. & RICHARDS, M.B. 1995. Mitochondrial portraits of human populations using median networks. Genetics **141**: 743-753.

BANDELT, H.-J., FORSTER, P. & RÖHL, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol. Biol. Evol. **16**: 37-48.

BANKS, R.C. 1986. Subspecies of the Glaucous Gull, *Larus hyperboreus* (Aves: Charadriiformes). Proc. Bio. Soc. Wash. **99**: 149-159.

BARNES, W.M. 1994. PCR amplification of up to 35-kb DNA with high fidelity and high yield from λ bacteriophage templates. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **91**: 2216-2220.

BARROWCLOUGH, G. F., GUTIÉRREZ, R.J. & GROTH, J.G. 1999. Phylogeography of Spotted Owl (*Strix occidentalis*) populations based on mitochondrial DNA sequences: gene flow, genetic structure and a novel biogeographic pattern. Evolution **53**: 919-931.

BARTH, E.K. 1966. Mantle colour as a taxonomic feature in *Larus argentatus* and *Larus fuscus*. Nyttatki Mag. **13**: 56-82.

BARTH, E.K. 1968. The circumpolar systematics of *Larus argentatus and Larus* fuscus with special reference to the Norwegian populations. Nyttatki Magazin zoology **86**: 1-50.

BARTH, E.K. 1975. Taxonomy of *Larus argentatus* and *Larus fuscus* in north-western Europe. Ornis Scan. **6**: 49-63.

BEAUBRUN, P.-C. 1993. Status of Yellow-legged Gull (*Larus cachinnans*) in Morocco and in the western Mediterranean. In: AGUILAR, J.S., MONBAILLIU, X & PATERSON, A.M. (eds) Status and conservation of seabirds. Medmaravis: 47-55. SEO, Madrid.

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.

BELL, D.A. 1996. Genetic differentiation, geographic variation and hybridization in the gulls of the *Larus glaucescens - occidentalis* complex. Condor **98**: 527-546.

BELL, D.A. 1997. Hybridization and reproductive performance in gulls of the *Larus glaucescens-occidentalis* complex. Condor **99**: 585-594.

BERMEJO, A., CARRERA, E., JUANA, E.A. DE & TEIXEIRA, A.M. 1986. Primer censo general de gaviotas y charranes (Laridae) invernantes en la Peninsula Iberica. Ardéola **33**: 47-86.

BERNATCHEZ, L. & WILSON, C.C. 1998: Comparative phylogeography of Nearctic and Palearctic fishes. Mol. Ecol. **7**: 431-452.

BERTORELLE, G., & SLATKIN, M. 1995. The number of segregating sites in expanding human populations, with implications for estimates of demographic parameters. Mol. Biol. Evol. **12**: 887-892.

BÉRUBÉ, M., AGUILAR, A., DENDANTO, D., LARSEN, F., NOTARBARTOLO DI SCIRA, SEARS, R., SIGURJÓNSSON, J., URBAN-RAMIREZ, J.& PALSBØLL, P.J. 1998. Population genetic structure of North Atlantic, Mediterranean Sea and Sea of Cortez Fin Whale, *Balaenoptera physalus* (LINNEAEUS 1758): analysis of the mitochondrial and nuclear loci. Mol. Ecol. **7**: 585-599.

BEZZEL, E. & PRINZINGER, R. 1990. Ornithologie. 2. Aufl. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

BLANCHARD, J.L. & SCHMIDT, G.W. 1996. Mitochondrial DNA migration events in yeast and humans: integration by a common end-joining mechanism and alternative perspectives on nucleotide substitution patterns. Mol. Biol. Evol. **13**: 537-548.

BOORE, J.L. 1999. Animal mitochondrial genomes. Nucleic Acids Research **27**: 1767-1780.

BOURNE, W.R.P. 1993. The relationship between the Armenian and Heuglin's Gulls. In: AGUILAR, J.S., MONBAILLIU, X. & PATERSON, A.M. (eds) Status and conservation of seabirds. Medmaravis: 57. SEO, Madrid.

BOURNE, W.R.P. 1996. The large White-headed Gulls wintering around the southern coasts of Asia. Sea Swallow **45**: 86-91.

BOYCE, W.M., RAMEY, R.R., RODWELL, T.C., RUBIN, E.S. & SINGER, R.S. 1999. Population subdivision among Desert Bighorn Sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. Mol. Ecol. **8**: 99-106.

BROWER, A.V.Z., DESALLE, R. & VOGLER, A. 1996. Gene trees, species trees, and systentics: a cladistic perspective. Annu. Rev. Ecol. Syst. **27**: 423-450.

BROWN, W.M. 1983. Evolution of mitochondrial DNA. In: NEI, M. & KOEHM, R.K. (eds) Evolution of genes and proteins. Pp. 62-88. Sinauer Ass., Sunderland.

BUTURLIN, S.A. 1934. *Larus taimyrensis armenicus*, subsp. nov. Ibis ser. **13**: 171-172.

BUTURLIN, S.A. & DEMENTIEV, G.P. 1934. Polnyij opredelitelj ptiz SSSR, Volume I. Moskva 1934-1941.

BUZUN, V.A. 1993. Armenian Gull *Larus armenicus* Buturlin, 1934: morpho-biometrical and behavioural distinction with indication of taxonomical status. (in russ.). Russ. J. Ornithol. **2**: 471-490.

CABOT, E.L. & BECKENBACH, T. 1989. Simultaneous editing of multiple nucleic acid and protein sequences with ESEE. Comput. Appl. Biosci. **5**: 223-234.

CANN, R.L., STONEKING, M. & WILSON, A.C. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. Nature **325**: 31-36.

CARRERA, E., MONBAILLIU, X. & TORRE, A. 1993. Ringing recoveries of Yellow-legged Gulls in Northern Europe. In: AGUILAR, J.S., MONBAILLIU, X. & PATERSON, A.M. (eds) Status and conservation of sSeabirds. Medmaravis: 181-194. SEO, Madrid.

CHU, P.C. 1998. A phylogeny of the gulls (Aves: Larinae) inferred from osteological and integumentary characters. Cladistics **14**: 1-43.

CICERO, C. & JOHNSON, N.K. 1998. Molecular phylogeny and ecological diversification in a clade of New World songbirds (genus *Vireo*). Mol. Ecol. **7**: 1359-1370.

CLAYTON, D.A. 1982. Replication of animal mitochondrial DNA. Cell **28**: 693-705.

CLEGG, S.M., HALE, P. & MORITZ, C. 1998. Molecular population genetics of the Red Kangaroo (*Macropus rufus*): mtDNA variation. Mol. Ecol. **7**: 679-686.

COCKBURN, A. 1995. Evolutionsökologie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.

COLLURA, R.V. & STEWARD, C.-B. 1995. Insertion and duplications of mtDNA in the nuclear genomes of Old World monkeys and hominoids. Nature **378**: 485-489.

COTTAAR, F. 1996. Broedende geelpootmeeuwen *Larus cachinnans michahellis* te IJmuiden. Sula **10**: 151-152.

CRACRAFT, J. 1983. Species concepts and speciation analysis. Curr. Ornith. **1**: 159-187.

CRAMP, S. & SIMMONS, K.E.L. (eds) 1983. The birds of the Western Palearctic. Vol III. Oxford University Press.

CROCHET, P.A., BONHOMME, F. & LEBRETON, J.-D. 2000. Molecular phylogeny and plumage evolution in gulls (Larini). J. Evol. Biol. **13**: 47-57.

DAWSON, A.G. 1992. Ice age earth. Routledge Press, London.

DESALLE, R., BARCIA, M. & WRAY, C. 1993. PCR jumping in clones of 30-million-year-old DNA fragments from amber preserved termites (*Mastotermes electrodominicus*). Experientia **49**: 906-909.

DEGNAN, S.M. & MORITZ, C. 1992. Phylogeography of mitochondrial DNA in two species of the White-Eyes in Australia. Auk **109**: 800-811.

DEMENTIEV, G.P. & GLADKOV, N.A. 1951. Ptizi Sovjetskovo Sojuza, Volume III. (in russ.) Nauka, Moscow (1951-54).

DESJARDINS, P. & MORAIS, R. 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates. Jour. of Molecular Biology **212**: 599-634.

DESSAUER, H.C., COLE, C.J. & HAFNER, M.S. 1996. Collection and storage of tissue. In: HILLIS, D.M. & MORITZ, C. & MABLE, B.K. (eds) Molecular Systematics. 2nd edn. Pp. 29-47. Sinauer, Sunderland, MA.

DEVILLERS, P. 1983. Family Laridae gulls. In: CRAMP, S. & SIMMONS, K.E.L. (eds) The birds of the Western Palearctic. Vol III. Pp. 697-882. Oxford University Press.

DIECKMANN, U. & DOEBERLI, M. 1999. On the origin of species by sympatric speciation. Nature **400**: 354-357.

DOBZHANSKY, T. 1970. Genetics of the evolutionary process. Columbia University Press, New York.

DOWLING, T.E., MORITZ, C., PALMER, J.D. & RIESBERG, L.H. 1996. Nucleic Acids III: Analysis of fragments and restriction sites. In: HILLIS, D.M., MORITZ, C. & MABLE, B.K. (eds) Molecular Systematics. 2nd edn. Pp. 249-321. Sinauer, Sunderland, MA.

DUBOIS, P.J. 1986. Notes on the "Cantabrican" Herring Gull. In: International Bird Identification. Proc. 4th Int. Identification Meeting Eilat, Pp. 41-42.

DWIGHT, J.M.D. 1922. Description of a new race of the Lesser black-backed Gull from the Azores. American Museum Novitates **44**: 1-2.

DWIGHT, J.M.D. 1925. The gulls (Laridae) of the world. Their plumages, moults, variations, relationships and distribution. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. **52**: 63-401.

EDWARDS, S.V. 1993. Mitochondrial gene genealogy and gene flow among island and mainland populations of a sedentary songbird, the Grey-crowned Babbler *(Pomatostomus temporalis*). Evolution **47**: 1118-1137.

ESKELIN, T., PURSIAINEN, J. 1998. The status of 'Lesser Black-backed Gulls' of *heuglini, graellsii* and *intermedius* type in Finland. Alula **4**: 42-56.

EXCOFFIER, L., YANG, Z. 1999. Substitution rate variation among sites in mitochondrial hypervariable region I of humans and chimpanzees. Mol. Biol. Evol. **16**: 1357-1368.

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. & QUATTRO, J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics **131**: 479-491.

EYRE-WALKER, A., SMITH, N.H. & MAYNARD SMITH, J. 1999a. How clonal are human mitochondria? Proc. R. Soc. Lond. B **266**: 477-483.

EYRE-WALKER, A., SMITH, N.H. & MAYNARD SMITH, J. 1999b. Reply to Macaulay et al. (1999): mitochondrial DNA recombination - reasons to panic. Proc. R. Soc. Lond. B **266**: 2041-2042.

FELSENSTEIN, J. 1973. Maximum likelihood and minimum-steps methods for estimating evolutionary tress from data on discrete characters. Syst. Zool. **22**: 240-249.

FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using bootstrap. Evolution **39**: 783-791.

FELSENSTEIN, J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.

FERRIS, S., SAGE, R.D., HUANG, C.-M., NIELSEN, J.T., RITTE, U. & WILSON, A.C. 1983. Flow of mitochondrial DNA across a species boundary. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**: 2290-2294.

FILCHAGOV, A.V. 1993. The Armenian Gull in Armenia. Brit. Birds **86**: 550 – 560.

FILCHAGOV, A.V. 1996. Colonization of the central part of the East-European Plain by *Larus argentatus-cachinnans-fuscus* gull: geography, parentage of colonists and perspectives. Ibis **138**: 148-149.

FILCHAGOV, A.V. 1999. New data on vocalization in Yellow-legged Herring Gulls from East Europe. (in russ.) Zool. Zh. **3**: 349-357.

FILCHAGOV, A.V. & SEMASHKO, V.Y. 1987. Distribution and ecology of the West-sibirian Herring Gull (*Larus argentatus heuglini* BREE 1876) in the Kola peninsula. (in russ.) Biol. Mosk.**92**: 37-42.

FILCHAGOV, A.V., BIANKI, V.V., CHERENKOV, A.E: & SEMASHKO, V.Y. 1992a. Relations between Lesser Black-backed Gull, *Larus fuscus* and West-siberian Gull, *L. heuglini*, in the contact zone. (in russ.) Zool. Zh. **71**: 148-152.

FILCHAGOV, A.V., YÉSOU, P. & GRABOVSKY, V.J. 1992b. Le Góeland du Taimyr *Larus heuglini taimyrensis* repartition et biologie estivales. L' Oiseau et R.F.O. **62**: 128-148.

FREELAND, J.R & BOAG, P.T. 1999. The mitochondrial and nuclear genetic homogeneity of the phenotypically diverse Darwin's ground finshes. Evolution **53**: 1553-1563.

FUKUDA, M., WAKASUGI, S., TSUZUKI, T., NOMIYAMA, H. & SHIMADA, K. 1985. Mitochondrial DNA-like sequence in the human nuclear genome. J. Mol. Biol. **186**: 257-266.

FUTUYMA, D.J. 1986. Evolutionary biology. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts.

GARCIA-RODRIGUEZ, A.I., BOWEN, B.W., DOMNING, D., MIGNUCCI-GIANNONI, A.A., MARMONTEL, M., MONTOYA-OSPINA, R.A., MORALES-VELA, B., RUDIN, M. BONCE, R.K. & MCGUIRE, P.M. 1998. Phylogeography of the West Indian Manatee (*Trichechus manatus*): how many populations and how many taxa? Mol. Ecol. **7**: 1137-1149.

GARNER, M. 1997. Identification of Yellow-legged Gulls in Britain. Brit. Birds **90**: 25-62.

GARNER, M., QUINN, D. & GLOVER, B. 1997. Identification of Yellow-legged Gulls in Britain. Brit. Birds **90**: 369-383.

GÉROUDET, P. 1968. L'expansion du Goéland argenté *Larus argentatus michahellis* dans le bassin du Rhône et en Suisse. Nos Oiseaux **29**: 313-335.

GEYR VON SCHWEPPENBURG, H. 1938. Zur Systematik der *fuscus-argentatus*-Möwen. J. Orn. **86**: 345-365.

GIRIBET, G. & WHEELER, W.C. 1999. On gaps. Mol. Phyl. Evol. **13**: 132-143.

GLEESON, D.M., HOWITT, R.L.J. & LING, N. 1999: Genetic variation, population structure and cryptic species within the black mudfish, *Neochanna diversus*, an endemic galaxiid from New Zealand. Mol. Evol. **8**: 47-57.

GLUTZ VON BLOTZHEIM, U.N. & BAUER, K.M. 1982. Handbuch der Vögel Mitteleuropas. Band 8/I. Akad. Verlagsges. Wiesbaden.

GODFREY, W.E. 1973. More presumed hybrid gulls: *Larus argentatus* x *L. marinus*. Can. Field Nat. **87**: 171-172.

GOETHE, F. 1937: Beobachtungen und Untersuchungen zur Biologie der Silbermöwe auf der Vogelinsel Memmertsand. J. Orn. **85**: 1-119.

GOETHE, F. 1961. Zur Taxonomie der Silbermöwe (*Larus argentatus*) im südlichen deutschen Nordseegebiet. Die Vogelwarte **21**: 1-24.

GOETHE, F. 1991. Heringsmöwe *Larus fuscus* L., 1758. In: ZANG, H., GROßKOPF, G. & HECKENROTH, H. (eds) Die Vögel Niedersachsens und des Landes Bremen. Natsch. & Landschaftspfl. Niedersachsen, Sonderr. B 2.6: 92-98.

GOOD, T. P. 1998: Great Black-backed Gull *Larus marinus*. In: The birds of North America, No. **330**. (A. POOLE & F. GILL, eds.). Philadelphia.

GRABOVSKY, V., DEGEN, A. & RUPPRECHT, B. Possible hybridization of Slaty-backed Gull (*Larus schistisagus*) and Glaucous-winged Gull (*L. glaucescens*) in the Commander Islands, backgrounds and effects. unveröff. Manuskript.

GRANT, P.J. 1987. Notes on the Armenian Gull. In: International Bird Identification. Proc. 4th Int. Identification Meeting Eilat: P. 43.

GRANT, P.R. & GRANT, B.R. 1997. Genetics and the origin of bird species. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94**: 7768-7775.

GRAY, M.W. 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA. A. Rev. Cell. Biol. **5**: 25-50.

GRAY, M.W., BURGER, G & LANG, B.F. 1999. Mitochondrial Evolution. Science **283**: 1476-1481.

GREENWOOD, A.D. & PÄÄBO, S. 1999. Nuclear insertion sequences of mitochondrial DNA predominate in hair but not in blood of elephants. Mol. Ecol. **8**: 133-137.

GRICHUK, V.P. 1984. Late Pleistocene vegetation history. In: Velichko, A.A. (ed) Late Quaternary enviroments of the Soviet Union. Univ. of Minnesota Press, Minneapolis.

GRIFFITH, R.C. & TAVARÉ, S. 1995. Unrooted genealogical tree probabilities in the infinitely-many-site-model. Math. Biosci. **127**: 77-98.

GRUBER, D. 1995. Die Kennzeichen und das Vorkommen der Weißkopfmöwe *Larus cachinnans* in Europa. Limicola **9**: 121-165.

GRUBER, D. 1999. Identification of juvenile and immature Baltic gulls. Dutch Birding **21**: 129-147.

HADLER, H.I., DIMITRIJEVIC, B. & MAHALINGAM, R. 1983. Mitochondrial DNA and nuclear DNA from normal rat liver have a common sequence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**: 6495-6499.

HAESELER, A. VON, SAJANTILA, A. & PÄÄBO, S. 1996. The genetical archaeology of the human genome. Nature Genetics **14**: 135-140.

HAFFER, J. 1982. Systematik und Taxonomie der *Larus argentatus*-Artengruppe. In: GLUTZ VON BLOTZHEIM, U.N. & BAUER, K.M. (eds) Handbuch der Vögel Mitteleuropas. Band **8**/I. S. 502-515, Akad. Verlagsges. Wiesbaden.

HAFFER, J. 1997. Species concepts and species limits in ornithology. In HOYO, J. DEL, A. ELLIOT & J. SARGATAL (eds) Handbook of the Birds of the World. Vol. IV. Pp. 11-24. Lynx Edition, Barcelona.

HAGELBERG, E., GOLDMAN, N., LIÓ, P., WHELAN, S., SCHIEFENHÖVEL, W., CLEGG, J.B. & BOWDEN, D.K. 1999. Evidence for mitochondrial DNA recombination in a human population of island Melanesia. Proc. R. Soc. Lond. B **266**: 485-492.

HAND, J.L. 1981. A comparison of vocalizations of Western Gulls (*Larus occidentalis occidentalis* and *L. o. livens*). Condor **83**: 289-301.

HARPENDING, H.C., SHERRY, S.T., ROGERS, A.R. & STONEKING, M. 1993. The genetic structure of ancient human populations. Curr. Anthr. **34**: 483-496.

HARTERT, E. 1921-1923. Lari. In: Die Vögel der paläarktischen Fauna. Bd. II. Berlin.

HASEGAWA, M., DI RIENZO, A., KOCHER, T.D. & WILSON, A.C. 1993. Toward a more accurate time scale for the human mitochondrial DNA tree. J. Mol. Evol. **37**: 347-354.

HAVERSCHMIDT, M.F. 1942. Faunistisch Overzicht van de Nederlandsche Broedvogels. E.J. Brill, Leiden.

HEIDRICH, P. 1998. Untersuchungen zur molekularen Phylogenie ausgewählter Vogelgruppen anhand von DNA-Sequenzen des mitochondriellen Cytochrom *b*-Gens. Dissertation der Ruprecht-Karl-Universität Heidelberg.

HEIDRICH, P., RISTOW, D. & WINK, M. 1996. Differenzierung von Gelb- und Schwarzschnabel-sturmtauchern (*Calonectis diomedea, Puffinus puffinus, P. yelkouan*) und Großmöwen des Silbermöwenkomplexes (*Larus argentatus, L. fuscus, L. cachinnans*). J. Orn. **137**: 281-294.

HELBIG, A.J. 1994. Genetische Differenzierung von Möwen und Sturmtauchern: Ein Kommentar. J. Orn. **135**: 609-615.

HELBIG, A.J. 1997. Species concepts. Birding World **10**: 198-200.

HELBIG, A.J. 1999. Einsatz molekularer Methoden zur Erforschung der Phylogenie der Vögel. In: SCHMITT, M. Phylogenetik und Moleküle. EDITION ARCHAEA 1999. S. 145-166.

HELBIG, A.J. 2000. Was ist eine Vogel-"Art"? – Ein Beitrag zur aktuellen Diskussion um Artkonzepte in der Ornithologie. Limicola **14**, im Druck

HELBIG, A.J. & SEIBOLD, I. 1999. Molecular phylogeny of Palearctic-African *Acrocephalus* and *Hippolais* warblers (Aves: Sylvidae). Mol. Phyl. Evol. **11**: 246-260.

HELBIG, A.J., SALMON, M., WINK, M. & BRIED, J. 1993. Absence de flux genique mitochondrial entre le Pouillots 'véloces' médio-européen et ibérique (Aves: *Phylloscopus collybita collybita, P. (c.) brehmii*), implications taxinomiques. Comptes Rend. Acad. Sci. Paris **316**/III: 205 – 210.

HELBIG, A.J., SEIBOLD, I., BEDNAREK, W., GAUCHER, P., RISTOW, D., SCHARLAN, W., SCHMIDL, D. & WINK, M. 1994: Phylogenetic relationship among Falcon species (genus *Falco*) according to DNA sequence variation of the cytocrome *b*-gene. In: MEYBURG, B.-U. & CHANCELLOR, R.D. (eds) Raptor Conservation Today. Pp.593-599. Proc. 4th World Conf. Birds of Prey.

HELBIG, A.J., SEIBOLD, I., MARTENS, J. & WINK, M. 1995. Genetic differentiation and phylogenetic relationships of Bonelli's Wabler *Phylloscopus bonelli* and Green Wabler *P. nitidus.* J. Avian Biol. **26**: 139-153.

HEWITT, G.M. 1996. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biol. J. Linn. Soc. **58**: 247-276.

HEWITT, G.M. 1999. Post-glacial re-colonization of European biota. Biol. J. Linn. Soc. **68**: 87-112.

HIGASHI, M., TAKIMOTO, G. & YAMAMURA, N. 1999. Sympatric speciation by sexual selection. Nature **402**: 523-526.

HILL, W.R. & ROBERTSON, A. 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. Theor. Appl. Genet. **38**: 226-231.

HILLIS, D.M. & MORITZ, C. & MABLE, B.K. (eds) 1996. Molecular Systematics. 2nd edn. Sinauer, Sunderland, MA.

HOELZEL, A.R. & GREEN, A. 1998. PCR protocols and population analysis by direct DNA sequencing and PCR-based DNA fingerprinting. In: HOELZEL, A.R. (ed) Molecular genetic analysis of populations. 2nd edn. Pp. 65-101. Oxford University Press, New York.

HOFFMAN, W., WIENS, J.A. & SCOTT, J.M. 1978. Hybridization between gulls (*Larus glaucescens* and *L. occidentalis*) in the Pacific Northwest. Auk **95**: 441-458.

HORTLING, I. 1930. En gulfotad gråtrut *Larus argentatus omissus* Sushkin? häckande i S. Finland. Ornis Fenn. **7**: 61-67.

HOWELL, N. 1997. mtDNA recombination: what do in vitro data mean? Am. J. Human Genet. **61**:18-22.

HOWELL, N., KUBACKA, I. & MACKEY, D.A. 1996. How rapidly does the human mitochondrial genome evolve? Am. J. Hum. Genet. **59**: 501-509.

HOYO, J. DEL, A. ELLIOT & J. SARGATAL (eds) 1996. Handbook of the Birds of the World. Vol. III. Lynx Edition, Barcelona.

HUELSENBECK, J.P. & NIELSEN, R. 1999. Variation in the pattern of nucleotide substitution across sites. J. Mol. Evol. **48**: 86-93.

HUME, R.A. 1983. Herring Gulls in Israel. Brit. Birds **76**: 189–191.

HUXLEY, J.S. 1939. Clines: An auxiliary method in taxonomy. Bijdr. Dierk. **27**: 491-520.

IL'ICEV, V.D. & ZUBAKIN, V.A. 1990. Handbuch der Vögel der Sowjetunion. Bd. **6**, Teil 1: *Charidriiformes*/ Lari. A. Ziemsen Verlag Wittenberg-Lutherstadt.

INGOLFSSON, A. 1970. Hybridization of Glaucous Gulls *Larus hyperboreus* and Herring Gulls *L. argentatus* in Iceland. Ibis **112**: 340-362.

INGOLFSSON, A. 1993. The variably plumaged gulls of Iceland. Auk **110**: 409-410.

JAZIN, E., SOODYALL, H., JALONEN, P., LINDHOLM, E., STONEKING, M. & GYLLENSTEN, U. 1998. Mitochondrial mutation rate revisited: hot spots and polymorphism. Nature Genetics **18**: 109-110.

JEHL, J.R. 1960. A probable hybrid of *Larus argentatus* and *L. marinus*. Auk **77**: 343-345.

JOHANSEN, H. 1958. Revision und Entstehung der arktischen Vogelfauna. Teil II. Acta Arctica **9**: 131p.

JOHANSEN, H. 1960. Die Vogelfauna Westsibiriens. III. Teil: Non Passeriformes, Alcidae, Laridae. J. Orn. **101**: 316.

JOHNSON, C. 1985. Biochemical genetic variation in populations of *Larus argentatus* and *Larus fuscus* in northwestern Europe. Biol. J. Linn. Soc. **24**: 349-363.

JOIRIS, C. 1978. Le Goéland argenté portugais (*Larus argentatus lusitanicus*), nouvelle forme de Goéland argenté à pattes jaunes. Aves **15**:17-18.

JONSSON, L. 1998a. Yellow-legged Gulls and Yellow-legged Herring Gulls in the Baltic. Alula **3**: 74-102.

JONSSON, L. 1998b. Baltic Lesser Black-backed Gull (*L. fuscus fuscus*) - moult, ageing and identification. Birding World **11**: 295-317

JUDIN, K.A. & FRISOVA, L.V. 1990. *Larus schistisagus*. In: IL'ICEV, V.D. & ZUBAKIN, V.A. (eds) Handbuch der Vögel der Sowjetunion. Bd. **6**, Teil 1: *Charidriiformes/* Lari. S. 131-134. A. Ziemsen Verlag Wittenberg-Lutherstadt.

KANEDA, H., HAYASHI, J.-I., TAKAHAMA, S., TAYA, C., FISCHER LINDAHL, K. & YONEKAWA, H. 1995. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **92**: 4542-4546.

KIDD, M.G. & FRIESEN, V.L. 1998. Sequence variation in the guillemot (Alcidae: *Cepphus*) mitochondrial control region and its nuclear homolog. Mol. Biol. Evol. **15**: 61-70.

KILPI, M. & HARIO, M. 1986. Wing-tip pattern and possible affinities of coastal Finnish Herring Gulls *Larus argentatus*. Ornis Fenn. **63**: 52-54.

KIMBALL, R.T., BRAUN, E.L., ZWARTJES, P.W., CROWE, T.M. & LIGNON, J.D. 1999. A molecular phylogeny of the Pheasants and Partridges suggests that these lineages are not monophyletic. Mol. Phyl. Evol. **11**: 38-54.

KIMURA, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. J. Mol. Evol. **16**: 111-120.

KIMURA, M. 1991. Neutral evolution. In: OSAWA, S. & HONJO, T. (eds) Evolution of life. Fossils, molecules, and culture. Pp.67-78.Springer Verlag, Tokyo.

KIST, J. 1961. “Systematische” beschouwingen naar aanleiding van de waarneming van Heuglinis Geelpootzilvermeew, *Larus cachinnans heuglini* BREE, in Nederland. Ardea **49**:1-51.

KLEIN, R. 1994. Silbermöwen *Larus argentatus* und Weißkopfmöwen *Larus cachinnans* auf Müll-deponien in Mecklenburg - erste Ergebnisse einer Ringfundanalyse. Vogelwelt **115**: 267-286.

KLEIN, R. & BUCHHEIM, A. 1997. Die westliche Schwarzmeerküste als Kontaktgebiet zweier Großmöwenformen der *Larus cachinnans*-Gruppe. Vogelwelt **118**: 61-70.

KLEIN, R. & GRUBER, D. 1997. Die Bestimmung und taxonomische Stellung der in Mitteleuropa auftretenden Weißkopfmöwe *Larus cachinnans*. Limicola **11**: 49-75.

KLICKA, J. & ZINK, R.M. 1997. The importance of recent ice ages in speciation: a failed paradigm. Science **277**: 1666-1669.

KNIJFF, P. DE, DENKERS, F., SWELM, N.D. VAN & KUIPER, M. 2000. Genetic affinities within the *Larus argentatus* species-complex revealed by AFLP genotyping. Mol. Biol. Evol. nn (eingereicht)

KNIPPERS, R. 1997. Molekulare Genetik. 7. Aufl. Georg Thieme Verlag Stuttgart.

KOCH, O. 1911. Übersicht über die Vögel Estlands. Reval, Leipzig.

KOCHER, T.W. & WILSON, A.C. 1991. Sequence evolution of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees: Control region and a protein-coding region. In: OSAWA, S. & HONJO, T. (eds) Evolution of life. Fossils, molecules, and culture. Pp. 391-413.Springer Verlag, Tokyo.

KOCUM, A. 2000. Geographische Differenzierung der Lautäußerungen in der *Larus argentatus*-Artengruppe. Dipl. Arbeit, Universität Jena.

KRETZ, K., CALLEN, W. & HEDDEN, V. 1995. Cycle Sequencing. In: DIEFFENBACH, C.W. & DVEKSLER, G.S. (eds) PCR primer: a laboratory manual. Pp. 527-536. Cold Spring Habor.

KUMAR, S., TAMURA, K. & NEI, M. 1993. MEGA. Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 1.0. Pennsylvania State University, University Park, PA 16802.

KUMARI, E. 1978. On the Distribution dynamics of the Herring Gull in the East Baltic area within the past 125 Years. Kajakad **9**: 11-41.

KUSCHERT, H. 1979. Die Silbermöwe (*Larus argentatus*) in Schleswig-Holstein. Ein Beitrag zur Diskussion über ihre taxonomische Stellung. Beitr. z. Vogelf. **6**: 87-112.

KUSCHERT, H. 1980. Morphologisch-biometrische Untersuchung an Silbermöwen (*Larus argentatus*) einer Binnenlandkolonie Schleswig-Holsteins. Angew. Ornith. **5**: 190-194.

LANG, R. 1998. GS-view. version 2.5 (distributed by the author)

LI, W.-H. 1997. Molecular Evolution. Sinauer, Sunderland, MA.

LIEBERS, D. & HELBIG, A.J. 1999. Phänotypische Charakterisierung und systematische Stellung der Armenienmöwe *Larus armenenicus*. Limicola **13**: 281-321.

LÖNNBERG, E. 1921. Den gulfotade gråtruten, *Larus argentatus cachinnans* Pallas, en för Sverige ny fågel. Fauna o. Flora **16**: 126-130.

LÖNNBERG, E. 1933. Some remarks on the systematics of the Yellow-legged Herring Gulls. Ibis **13**: 47-50.

LONSDALE, D.M., BREARS, T., HODGE, T.P., MELVILLE, S.E. & ROTTMANN, W.H. 1988. The plant mitochondrial genome: homologous recombination as a mechanism for generating heterogeneity. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B **319**: 149-163.

LOPEZ, J.V., YUHKI, N., MASUDA, R., MODI, W. & O'BRIEN, S.J. 1994. *Numt*, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. J. Mol. Evol. **39**: 174-190.

LUNT, D.H & HYMAN, B.C. 1997. Animal mitochondrial DNA recombination. Nature **387**: 247.

LUNT, D.H., WHIPPLE, L.E. & HYMAN, B.C. 1998. Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. Mol. Ecol. **7**: 1441-1455.

LYRHOLM, T., LEIMAR, O. & GYLLLENSTEN, U. 1996. Low diversity and biased substitution patterns in the mitochindrial DNA control region of Sperm Whales: Implications for estimates of the time since the common ancestry. Mol. Biol. Evol. **13**: 1318-1326.

MACAULAY, V., RICHARDS, M. & SYKES, B. 1999. Mitochondrial DNA recombination – no need to panic. Proc. R. Soc. Lond. B **266**: 2037-2039.

MACPHERSON, A.H. 1961. Observations on Canadian arctic *Larus* gulls, and on the taxonomy of the *L. thayeri* BROOKS. Arctic Inst. of North Am., Techn. Papers **7**:1-40.

MAJORAM, P. & DONNELLY, P. 1994. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in subdivided populations and implications for early human evolution. Genetics **136**: 673-683.

MARION, L., YÉSOU, P., DUBOIS, P.J. & NICOLAU-GUILLAUMET, P. 1985. Coexistence progressive de la reproduction de *Larus argentatus* et de *Larus cachinnans* sur le côtes Atlantiques Françaises. Alauda **53**: 81-89.

MARSHALL, H.D. & BAKER, A.J. 1997. Structural conservation and variation in the mitochondrial control region of Fringilline finches (*Fringilla* spp.) and the greenfinch (*Carduelis chloris*). Mol. Biol. Evol. **14**: 173-184.

MARSHALL, H.D. & BAKER, A.J. 1999. Colonization history of Atlantic Island Common Chaffinches (*Fringilla coelebs*) revealed by mitochondrial DNA. Mol. Phyl. Evol. **12**: 201-212.

MATTHEE, C.A. & ROBINSON, T.J. 1999. Mitochondrial DNA population structure of roan and sable antilope: implications for the translocation and conversation of species. Mol. Ecol. **8**: 227-238.

MAXAM, A.M. & GILBERT, W.A. 1977. A new method for sequencing DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **74**: 560-564.

MAYNARD-SMITH, J. & SMITH, N.H. 1998. Detecting recombination from gene trees. Mol. Biol. Evol. **15**: 590-599.

MAYR, E. 1963. Animal species and evolution. Cambridge, Harvard University Press.

MEINERTZHAGEN, R. 1935. The races of *Larus arg*entatus and *Larus fuscus*. Ibis **13**: 762-773.

MEISE, W. 1928. Die Verbreitung der Aaskrähe (Formenkreis *Corvus corone* L.). J. Orn. **76**: 1-203.

MERILEES, W.J. 1974. A Glaucous-winged Gull mated to a Herring Gull on Okanagan Lake, British Columbia. Can. Field-Nat. **88**: 485-486.

MEYER, S., WEISS, G. & HAESELER, A. VON 1999. Pattern of nucleotide substitution and rate heterogeneity in the hypervariable regions I and II of human mtDNA. Genetics **152**: 1103-1110.

MIERAUSKAS, P., GREIMAS, E. & BUZUN, V. 1991. A comparison of morphometrics, wing-tip pattern and vocalizations between Yellow-legged Herring-gulls (*Larus argentatus*) from eastern Baltic and *Larus cachinnans*. Acta Ornithol. Lituanica **4**: 3-26.

MILLER, S.A., DYKES, D.O. & POLESKY, H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic. Acid Research **16**:1215.

MINDELL, D. P., KNIGHT, A., BAER, C. & HUDDLESTON, C.J. 1996. Slow rates of molecular evolution in birds and the metabolic rate and body temperature hypotheses. Mol. Biol. Evol. **13**: 422-426.

MONZIKOV, D.G. & PANOV, E.N. 1996. Allopatric hybridization in the Herring Gull-complex - structure in a mixed colony from Nischegorodskaja area. (in russ.) Uspechi Sowr. Biol. **3**: 369-383.

MORITZ, C., DOWLING, T.E. & BROWN, W.M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. Annu. Rev. Ecol. Syst. **18**: 269-292.

MOYNIHAN, M. 1959. A revision of the family Laridae (Aves). Am. Mus. Novit. **1928**: 1-42.

MÜLLER, S. 2000. Populationsdifferenzierung von Großmöwen der *Larus argentatus*-Artengruppe anhand verschiedener phänotypischer Merkmale. Dipl. Arbeit, Universität Jena.

MULLIS, K.B. & FALOONA, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. Methods Enzymol. **155**: 335-350.

NAGATA, J., MSUDA, R., KAJI, K., KANEKO, M. & YOSHIDA, C. 1998. Genetic variation and population structure of the Japanese Sika Deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido Island, based on mitochondrial D-Loop sequences. Mol. Ecol. **7**: 871-877.

NEI, M. 1987. Moleculer evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.

NEIGEL, J.E. & AVISE, J.C. 1986. Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. Academic Press, New York.

NELSON, W.S., PRODÖHL, P.A. & AVISE, J.C. 1996. Development and application of long-PCR for the assay of full-lenght animal mitochondrial DNA. Mol. Ecol. **5**: 807-810.

NEWTON, C.R. & GRAHAM, A. 1994. PCR. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford.

NORMAN, J.A., MORITZ, C. & LIMPUS, C.J. 1994. Mitochondrial DNA control region polymorphisms: genetic markers for ecological studies of marine turtles. Mol. Ecol. **3**: 363-373.

OLIVO, P.D., WALLE, M.J. VAN DE, LAIPIS, P.J. & HAUSWIRTH, W.W. 1983. Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-Loop. Nature **306**: 400-502.

PÄÄBO, S. 1996. Mutational hot spots in the mitochondrial microsom. Am. J. Hum. Genet. **59**: 493-496.

PAGE, R.D.M. 1998. TreeView (Win32) v 1.5.2 (distributed by the author)

PANOV, E.N. & MONZIKOV, D.G. 1998. Interrelationships between *Larus argentatus* und *L. cachinnans* in Eastern Europe. Ostrich **69**: 409.

PARKER, A. & KORNFIELD, I. 1997. Evolution of the mitochondrial DNA control region in the *Mbuna* (Cichlidae) species flock of Lake Malawi. J. Biol. Evol. **45**: 70-83.

PANOV, E.N. & MONZIKOV, D.G. 1999. Intergradation between the Herring Gull *Larus argentatus* and the southern Herring Gull *Larus cachinnans* in European Russia. (in russ.) Zool. Zh. **3**: 334-348.

PANOV, E.N. & MONZIKOV, D.G. 2000. Status of the form *barabensis* within the '*Larus argentatus-cachinnans-fuscus* complex'. British Birds **93**: 227-241.

PARSONS, T.J., MUNIEC, D.S., SULLIVAN, K., WOODYATT, N., ALLISTON-GREINER, R., WILSON, M.R., BERRY, D.L., HOLLAND, K.A., WEEDN, V.W., GILL, P. & HOLLAND, M.H. 1997. A high observed substitution rate in the human mitochondrial DNA control region. Nature Genetics **15**: 363-368.

PATERSON, A.M. 1997. Las aves marinas de España y Portugal. Lynx Edicions, Barcelona.

PATTEN, S. JR. & WEISBROD, A.R. 1974. Sympatry and interbreeding of Herring Gull and Glaucous-winged Gulls in southeast Alaska. Condor **76**: 343-344.

PETIT, E., EXCOFFIER, L. & MAYER, F. 1999: No evidence of bottleneck in the postglacial recolonization of Europe by the Noctule Bat (*Nyctalus noctula*). Evolution **53**: 1247-1258.

PETREN, K., GRANT, B.R. & GRANT, P.R. 1999. A phylogeny of Darwin's finches based on microsatellite DNA length variation. Proc. R. Soc. Lond. B **266**: 321-329.

PIELOU, E.C. 1991. After the ice age. The return of life to glaciated North America. Univ. of Chicago Press, Chicago.

PIEROTTI, R.J. & GOOD, T.P. 1994. Herring Gull *Larus argentatus*. In: The birds of North America, No. **124**. (A. POOLE & F. GILL, eds.). Philadelphia.

PRAGER, E.M., BRUSH, A.P., NOLAN, R.A., NAKANISHI, M. & WILSON, A.C. 1974. Slow evolution of transferrin and albumin in birds according to micro-complement fixation analysis. J. Mol. Evol. **3**: 243-262.

PURROY, F.J. 1997. Atlas de las aves de España. Lynx Edicion, Barcelona.

QUINN, T.W. 1992. The genetic legacy of mother goose-phylogeographic patterns of Lesser Snow Goose *Chen caerulescens caerulescens* maternal lineages. Mol. Ecol. **1**: 105 –117.

QUINN, T.W. 1997. Molecular evolution of the mitochondrial genome. In: MINDELL, D.P. (ed) Avian molecular evolution and systematics. Pp. 3-28. Academic Press San Diego, California.

QUINN, T.W. & WHITE, B.N. 1987. Analysis of DNA sequence variation. In: COOKE, F. & BUCKLEY, P.A. (eds) Avian genetics. Pp. 163-198. Academic Press, London.

QUINN, T. W. & A. C. WILSON 1993: Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. J. Mol. Evol. **37**: 417-425.

RAND, A.L. 1942. *Larus kumlieni* and its allies. Can. Field Nat. **61**:123-126.

RAO, V.B. 1995. Direct sequencing of PCR-amplified DNA. In: DIEFFENBACH, C.W. & DVEKSLER, G.S. (eds) PCR primer: a laboratory manual. Pp. 509-525. Cold Spring Habor Laboratory Press.

RAUSTE, V. 1999. Kennzeichen und Mauser von "Baltischen Heringsmöwen" *Larus [fuscus] fuscus* und "Tundramöwen" *L.* [*fuscus*] *heuglini*. Limicola **13**: 105-128,153-188.

REDD, A.J. & STONEKING, M. 1999. Peopling of Sahul: mtDNA variation in Aboriginal Australian and Papua New Guinean populations. Am. J. Hum. Genet. **65**: 808-828.

REED, K.M., DORSCHNER, M.O., TODD, T.T. & PHILLIPS, R.B. 1998. Sequence analysis of the mitochondrial DNA control region of ciscoes (genus *Coregonus*): taxonomic implications for the Great Lakes flock. Mol. Ecol. **7**: 1091-1096.

REMANE, H. 1984. Ökologie. 3. Aufl. Springer Verlag, Berlin.

RIDLEY, M. 1996. Evolution. 2nd edn. Blackwell Science, Cambridge, MA.

ROGERS, A.R. 1995. Genetic evidence for a Pleistocene population explosion. Evolution **49**: 608-615.

ROGERS, A.R. & HARPENDING, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. Mol. Biol. Evol. **9**: 552-568.

RÖHL, A. 1998. Network version 2b: A program package for calculating phylogenetic networks. Mathematisches Seminar, University of Hamburg.

ROZAS, J. & ROZAS, R. 1999. DnaSP version 3: Integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. Bioinformatics **15**: 174-175.

RUTTER, N. 1995. Problematic ice sheets. Quaternaty International **28**: 19-37.

SAITOU, N. & NEI, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. **4**: 406-425.

SANGER, F., NICKLEN, S. & COULSON, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **74**: 5462-5467.

SANGSTER, G. 1999. Relationships among gulls: new approaches. Dutch Birding **21**: 207-218.

SANGSTER, G., HAZEVOET, C.J., BERG, A. VAN DEN & ROSELAAR, C.S. 1998. Dutch avifaunal list: species concepts, taxonomic instability, and taxonomic changes in 1998. Dutch Birding **20**: 22-32.

SATAT, N. & LAIRD, B. 1992. The Armenian Gull. Birding World **5**: 32-36.

SATO, A., O'HUIGIN, C., FIGUEROA, F., GRANT, P.R., GRANT, B.R., TICHY, H. & KLEIN, J. 1999. Phylogeny of Darwin's finches as revealed by mtDNA sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **96**: 5101-5106.

SAVILLE, B.J., KOHLI, Y. & ANDERSON, J.B. 1998. MtDNA recombination in a natural population. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **95**: 1331-1335.

SCHNEIDER, S., KUEFFER, J.M., ROESSLI, D. & EXCOFFIER, L. 1998. ARLEQUIN: A software for population genetic data analysis. version 1.1. University of Geneva, Switzerland.

SCHNELL, G.D. 1970a. A phenetic study of the suborder Lari (Aves). I. Methods and results of principle components analysis. Syst. Zool. **19**: 35-57.

SCHNELL, G.D. 1970b. A phenetic study of the suborder Lari (Aves). II. Phenograms, discussion, and conclusions. Syst. Zool. **19**: 264-302.

SCHRAG, D.P. 2000. Of ice and elephants. Nature **404**: 23-24.

SEGER, J. 1985. Intraspecific resource competition as a cause of sympatric speciation. In: GREENWOOD, P.J., HARVEY, P.H. & SLATKIN, M. (eds) Evolution. Pp. 43-53. Cambridge University Press, Cambridge, UK

SEUTIN, G., RATCLIFFE, L.M. & BOAG, P.T. 1995. Mitochondrial DNA homogenity in the phenotypically diverse redpoll finch complex (Aves: Carduelinae: *Carduelis flammea - hornemanni*). Evolution **49**: 962-973.

SHIELDS, G.F. & WILSON, A.C. 1987. Subspecies of the Canada Goose (*Branta canadensis*) have distinct mitochondrial DNA's. Evolution **41**: 662-666.

SHIRIHAI, H. 1996. The birds of Israel. Academic Press, London.

SHIRIHAI, H. & CHRISTIE, D. 1996. The MacMillan Birder's Guide to European and Middle Eastern Birds. London.

SHITARA, H., HAYASHI, J.-L., TAKAHAMA, S., KANEDA, H. & YONEKAWA, H. 1998. Maternal inheritance of mouse mtDNA in interspecific hybrids: segregation of the leaked paternal mtDNA followed by the prevention of subsequent paternal leakage. Genetics **148**: 851-857.

SIMONSEN, B.T., SIEGISMUND, H.R. & ARCTANDER, P. 1998. Population structure of African Buffalo inferred from mtDNA sequences and microsatellite loci: high variation but low differentiation. Mol. Ecol. **7**: 225-237.

SIMPSON, G.G. 1961. Principles of animal taxonomy. New York: Columbia University Press.

SLATKIN, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. Genetics **139**: 457-462.

SLATKIN, M. & HUDSON, R.R. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. Genetics **129**: 555-562.

SMITH, L.C. & ALCIVAR, A.A.1993. Cytoplasmic inheritance and its effects on development and performance. J. Reprod. Fertil. Suppl. **48**: 31-43.

SMITH, N.G. 1966. Evolution of some arctic gulls (*Larus*): an experimental study of isolating mechanisms. Ornith. Monographs **4**: 1-99.

SNELL, R.R. 1989. Status of *Larus* gulls at Home Bay, Baffin Island. Col. Waterbird **12**:12-23.

SNELL, R.R. 1991a. Interspecific allozyme differentiation among north Atlantic white-headed larid gulls. Auk **108**: 319-328.

SNELL, R.R. 1991b. Variably plumaged Icelandic Herring Gulls reflect founders not hybrids. Auk **108**: 329-341.
SNELL, R.R. 1991c. Conflation of the observed and the hypothesized: SMITH's 1961 research in Home Bay, Baffin Island. Col. Waterbird **14**:196-202.
SNELL, R.R. 1993. Variably plumaged Icelandic Herring Gulls: High intraspecific variation in a founder population. Auk **110**: 410-413.
SORENSON, M.D. & QUINN, T.W. 1998. Numts: A challenge for avian systematics and population biology. Auk **115**: 214-221.
SPEAR, L.R. 1987 Hybridization of Glaucous and Herring Gull at the Mackenzie Delta, Canada. Auk **104**:123-125.
STANLEY, S.E. & HARRISON, R.G. 1999. Cytochrome *b* evolution in birds and mammals: an evolution of the avian constraint hypothesis. Mol. Biol. Evol. **16**: 1575-1585.
STEGMANN, B. 1934. Ueber die Formen der großen Möwen (Subgenus *Larus*) und ihre gegenseitigen Beziehungen. J. Orn. **82**: 340-380.
STRANG, C.A. 1977. Variation and distribution of Glaucous Gulls in western Alaska. Condor **79**: 170-175.
STRANN, K.-B. & VADER, W. 1992. The nominate Lesser Black-backed Gull *Larus fuscus fuscus*, a gull with a tern-like feeding biology, and its recent decrease in northern Norway. Ardea **80**:133-142.
STRESEMANN, E. & TIMOFEEFF-RESSOVSKY, N.W. 1947. Artentstehung in geographischen Formenkreisen. I. Der Formenkreis *Larus argentatus-cachinnans-fuscus*. Biol. Zbl. **66**: 57-76.
STRIMMER, K. & HAESELER, A. VON 1996. Quartet puzzling: A quartet puzzling maximum-likelihood method for reconstructing tree topologies. Mol. Biol. Evol. **13**: 964-969.
STRIMMER, K. & HAESELER, A. VON 1997. Likelihood mapping: a simple method to visualize phylogenetic content of a sequence alignment. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94**: 6815-6819.
SUDHAUS, W. & REHFELD, K. 1992. Einführung in die Phylogenetik und Systematik. Gustav Fischer Verlag Stuttgart.
SULLIVAN, J., SWOFFORD, D.L. & NAYLOR, J.P. 1999. The effect of taxon sampling on estimating rate heterogeneity parameters of Maximum-Likelihood models. Mol. Biol. Evol. **16**: 1347-1356.
SWELM, N.D. VAN 1998. Status of the Yellow-legged Gulls *Larus michahellis* as a breeding bird in the Netherlands. Sula **12**: 199-202.
TABERLET, P., FUMAGALLI, L., WUST-SAUCY, A.-G. & COSSON, J.-F. 1998. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. Mol. Ecol. **7**: 453-464.
TAJIMA, F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations: consistency probability between gene and populations trees. Genetics **105**: 437-460.
TEYSSÉDRE, A. 1984. Comparison acoustique de *Larus argentatus argenteus*, *L. fuscus graellsii, L. cachinnans* (?) *michahellis* et du Goéland argenté à pattes jaunes Cantabrique. Behaviour **88**:13-33.
THYAGARAJAN, B., PADUA, R.A. & CAMPBELL, C. 1996. Mammalian mitochondria possess homologous DNA recombination activity. J. Biol. Chem. **271**: 27536-27543.
TINBERGEN, N. 1958. Die Welt der Silbermöwe. Eine Untersuchung des Sozialverhaltens von Vögeln. Musterschmidt Verlag, Göttingen.
UZZEL, T. & CORBIN, K.W. 1971. Fitting discrete probability distributions to evolutionary events. Science **172**: 1089-1096.
VAURIE, C. 1964. A survey of the birds of Mongolia. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. **127**: 104-143.
VAURIE, C. 1965. The birds of the palaearctic fauna. A systematic reference. Non-Passeriformes. H.F. & G. Witherby Ltd., London.
VELICHKO, A.A. (ed) 1984. Late Quaternary enviroments of the Soviet Union. Univ. of Minnesota Press, Minneapolis.
VERBEEK, N.A. 1993. Glaucous-winged Gull *Larus glaucescens*. In: The birds of North America, No. **59.** (A. POOLE & F. GILL, eds.). Philadelphia.
VIGILANT, L., STONEKING, M., HARPENDING, H., HAWES, K. & WILSON, A.C. 1991. African populations and the evolution of human mitochondrial DNA. Science **253**: 1503-1507.
VOIPIO, P. 1954. Beobachtungen über die Silbermöwe am Groß-Saimaa und ihre Beziehungen zu den anderen Möwenvögeln. Orn. fenn. **31**: 57-80.
VOIPIO, P. 1968. Zur Verbreitung der *argentatus*- und *cachinnans*-Möwen. Ornis Fenn. **45**: 73-83.
VOLSØE, H. 1951. The breeding birds of the Canary Islands. Videnskabelige Meddelelser **113**: 1-153.
VOOUS, K.H.1959. Geographical variation of the Herring-Gull, *Larus argentatus*, in Europe and North America. Ardea **3/4**:176-187.
VOS, P., HOGERS, R., BLEEKER, M., REIJANS, M., LEE, T. VAN DE, HORNES, M. FRIJTERS, A., POT, J., PELEMAN, J., KUIPER, M. & ZABEAU, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Res. **23**: 4407-4414.
WAKELEY, J. 1993. Substitution rate variation among sites in hypervariable region 1 of human mitochondrial DNA. J. Mol. Evol. **37**: 613-623.

WALLIS, G.P. 1999. Do animal mitochondrial genomes recombine? Trends Ecol. Evol. **14**: 209-210.

WATSON, E., BAUER, K., AMAN, R., WEISS, G., HAESELER, A. VON & PÄÄBO, S. 1996. mtDNA sequence diversity in Africa. Am. J. Hum. Genet. **59**: 437-444.

WEIR, B.S. & COCKERHAM, C.C. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. Evolution **38**: 1358-1370.

WENINK, P.W., BAKER, A.J. & TILANUS, M.G.J. 1994. Mitochondrial control-region sequences in two shorebirds species, the Turnstone and the Dunlin, and their utility in population genetic studies. Mol. Biol. Evol. **11**: 22-31.

WENINK, P.W., BAKER, A.J., RÖSNER, H.-U. & TILANIUS, M.G.J. 1996. Global mitochondrial DNA phylogeography of holarctic breeding Dunlins (*Calidris alpina*). Evolution **50**: 318-330.

WHITE, P.S., TATUM, O.L., TEGELSTRÖM, H. & DENSMORE, D. 1998. Mitochondrial DNA isolation, separation, and detection of fragments. In: HOELZEL, A.R. (ed) Molecular genetic analysis of populations. 2nd edn. Pp. 65-101. Oxford University Press, New York.

WILLIAMSON, S.L. & PEYTON, L.J. 1963. Interbreeding of Glaucous-winged and Herring Gulls in the Cook Inlet region, Alaska. Condor **65**: 24-28.

WINK, M., KAHL, U. & HEIDRICH, P. 1994. Lassen sich Silber-, Weißkopf- und Heringsmöwe (*Larus argentus, L. cachinnans, L. fuscus*) molekularbiologisch unterscheiden? J. Orn. **135**: 73-80.

WOODING, S. & WARD, R. 1997. Phylogeography and Pleistocene evolution in the North American Black Bear. Mol. Biol. Evol. **14**: 1096-1105.

YANG, Z. 1996. Among-site rate variation and its impact on phylogenetic analyses. Trends Ecol. Evol. **11**: 367-372.

YÉSOU, P. 1991. The sympatric breeding of *Larus fuscus, L. cachinnans* and *L. argentatus* in western France. Ibis **133**: 256-263.

YÉSOU, P., FILCHAGOV, A.V. & DUBOIS, P.J. 1994. An answer to CHYLARECKI'S comment on the new Herring Gull taxonomy. Brit. Birds **86**: 73-78.

ZHANG, D.-X. & HEWITT, G.M. 1996a. Highly conserved nuclear copies of the mitochondrial control region in the desert locust *Schistocera gregaria*: some implications for population studies. Mol. Ecol. **5**: 295-300.

ZHANG, D.-X. & HEWITT, G.M. 1996b. Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. Trends Ecol. Evol. **11**: 247-251.

ZHANG, D.-X., SZYMURA, J.M. & HEWITT, G.M. 1995. Evolution and structural conservation of the control region of insect mitochondrial DNA. J. Mol. Evol. **40**: 382-391.

ZHANG, Y. & RYDER, O.A. 1995. Different rates of mitochondrial DNA sequence evolution in Kirk's Dik-dik (*Madoqua kirkii*) populations. Mol. Phyl. Evol. **4**: 291-297.

ZINK, R.M. & AVISE, J.C. 1990. Patterns of mitochondrial DNA and allozyme evolution in the avian genus *Ammodramus*. Syst. Zool. **39**: 148-161.

ZISCHLER, H., GEISERT, H., HAESELER, A. VON & PÄÄBO, S. 1995. A nuclear 'fossil' of the mitochondrial D-loop and the origin of modern humans. Nature **378**: 489-492.

ZOUROS, E., FREEMAN, K.R., BALL, A.O. & POGSON, G.H. 1992. Direct evidence for extensive mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus*. Nature **359**: 412-414.

ZUCKERKANDL, E. & PAULING, L. 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins. In: BRYSON, V. & VOGEL, H.J. (eds) Evolving genes and proteins. Pp. 97-166. Academic Press, New York.

12. Anhang

Anhang A: Liste der gültigen Namen und Synonyme für die Taxa der *Larus argentatus* - Artengruppe.

gültiger Name des Taxons	Synonyme	
fuscus LINNAEUS **(1758)**		
graellsii BREHM (1857)	= *britannicus* LOWE (1912)	= *affinis*
intermedius SCHIØLER (1922)		
taimyrensis BUTURLIN (1911)	= *affinis taimyrensis* BUTURLIN (1911)	= *fuscus antelius* IREDALE (1913)
heuglini BREE (1876)	= *antelius* IREDALE (1913)	
argentatus PONTOPPIDAN (1763)		
argenteus BOIE (1822)	= *argentatoides* BREHM (1822)	
omissus PLESKE (1928)		
smithsonianus COUES (1862)		
thayeri BROOKS (1915)		
vegae PALMÉN (1887)	= *argentatus* BRÜNN	= var. *vegae* PALMÉN (1887)
birulai PLESKE (1928)	.	
cachinnans PALLAS (1826)		
ponticus STEGMANN (1934)	= *leucophaeus* BRUCH (1853)	
barabensis JOHANSEN (1960)		
mongolicus SUSCHKIN (1925)		
michahellis NAUMANN (1840)	= *michahellis* BRUCH (1853)	= *michahellesi*
atlantis DWIGHT (1922)		
armenicus BUTURLIN (1924)		
hyperboreus GUNNERUS (1767)		
pallidissimus PORTENKO (1939)		
barrovianus RIDGWAY (1886)		
leucretes SCHLEEP 1829		
glaucoides MEYER (1822)	= *leucopterus* VIEILLOT (1820)	
occidentalis AUDUBON (1839)		
glaucescens NAUMANN (1840)		
livens DWIGHT (1919)		
marinus LINNAEUS (1958)		
schistisagus STEJNEGER (1884)		

Anhang B: PCR-Strategien zur Verifizierung der mitochondrialen Sequenzen: **I**) Individuen mit Gesamt-DNA und Cäsium-Chlorid-angereicherter mtDNA. **II**) Primerkombinationen für Gesamt-DNA-Isolate. **III**) PCR-Strategien für Individuen, die „ATCCC-Motiv“ enthalten.

I	Probe	DNA-Isolat	Primer UUL-DDL	Primer H-DDL	Primer D-DDL
1	**smiNBW-2005**	Gesamt-DNA	PCR 44 (HLB 49)		
	CS RRS-2005	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 82)		
2	**ageNNO-2117**	Gesamt-DNA	PCR 40 (HLB 41)		
	CS RRS-2117	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 43)		
3	**ageNNO-2121**	Gesamt-DNA	PCR 40 (HLB 41)		
	CS RRS-2121	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 43)		
4	**goiNWT-2152**	Gesamt-DNA	PCR 47 (HLB 51)		
	CS RRS-2152	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 82)		
5	**micFRC-1717**	Gesamt-DNA	PCR 58 (HLB 69)		
	CS RRS-1717	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 69)		
6	**micFRC-1723**	Gesamt-DNA	PCR 58 (HLB 69)		
	CS RRS-1723	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 69)		
7	**graFAR-1698**	Gesamt-DNA	PCR 35 (HLB 42)		
	CS RRS-1698	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 43)		
8	**ageICE-2115**	Gesamt-DNA	PCR 42 (HLB 49)		
	CS RRS-2115	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 68)		
9	**smiALA-2142**	Gesamt-DNA			PCR 98 (HLB 99)
	CS RRS-2142	Cs-Cl mtDNA			PCR 98 (HLB 99)
10	**ageNNO-2119**	Gesamt-DNA	PCR 40 (HLB 41)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
	CS RRS-2119	Cs-Cl mtDNA	PCR 37 (HLB 43)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
11	**hypSPB-1895**	Gesamt-DNA	PCR 50 (HLB 63)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
	CS RRS-1895	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 68)		
12	**hypSPB-1896**	Gesamt-DNA	PCR 50 (HLB 63)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
	CS RRS-1896	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 68)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
13	**hypNWT-1843**	Gesamt-DNA	PCR 49 (HLB 52)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
	CS RRS-1843	Cs-Cl mtDNA	PCR 38 (HLB 82)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
14	**ageNNO-2124**	Gesamt-DNA	PCR 40 (HLB 41)		PCR 98 (HLB 99)
	CS RRS-2124	Cs-Cl mtDNA	PCR 37 (HLB 43)		PCR 98 (HLB 99)

II	Probe	Gewebetyp	Primer UUL-DDL	Primer H-DDL	Primer D-DDL
1	**ageICE-2100**	Gewebe	PCR 60 alt (HLB 56)	PCR 60 neu (HLB 83)	
2	**ageICE-2101**	Gewebe	PCR 60 alt (HLB 56)	PCR 60 neu (HLB 83)	
3	**intAMR-1239**	Gewebe	PCR 63 alt (HLB 61)	PCR 63 neu (HLB 84)	
4	**intAMR-1240**	Gewebe	PCR 63 alt (HLB 61)	PCR 63 neu (HLB 84)	
5	**monCNT-0231**	Blutprobe	PCR 29 (HLB 40)	PCR 74 (HLB 71)	
6	**monEAS-0889**	Blutprobe	PCR 28 (HLB 37)	PCR 74 (HLB 71)	
7	**domCHI-0682**	Blutprobe	PCR 96 (H348- 97)	PCR 96 (H348- 97)	PCR 95 (H348- 97)

II	Probe	Gewebetyp	Primer UUL-DDL	Primer H-DDL	Primer D-DDL
8	**domCHI-0687**	Blutprobe	PCR 96 (H348- 97)	PCR 96 (H348- 97)	PCR 95 (H348- 97)
9	**domCHI-0678**	Blutprobe	PCR 96 (H348- 97)	PCR 96 (H348- 97)	PCR 95 (H348- 97)
10	**barKAZ-1060**	Blutprobe	PCR 59(HLB 53)		PCR XXL (HLB 95)
11	**omiFIN-1334**	Blutprobe		PCR 67 (HLB 77)	PCR 94 (H438-96) PCR 94 (HLB 97)
12	**hypNWT-1844**	Gewebe	PCR 49 (HLB 52)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
13	**hypNWT-1854**	Gewebe	PCR 49 (HLB 64)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
14	**ageNNO-2120**	Gewebe	PCR 40 (HLB 41)	PCR 97 (HLB 98)	PCR 98 (HLB 98)
15	**ageSNO-1450**	Blutprobe		PCR 76 (HLB 80); PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
16	**ageSNO-1446**	Blutprobe		PCR 76 (HLB 80); PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
17	**ageSNO-1442**	Blutprobe		PCR 76 (HLB 79); PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
18	**marFAR-0944**	Gewebe	PCR 34 (HLB 43)	PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
19	**marFAR-0999**	Gewebe	PCR 53 (HLB 57)	PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
20	**marFAR-1002**	Gewebe	PCR 53 (HLB 57)	PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
21	**smiONT-0247**	Blutprobe	PCR 25 (HLB 35)	PCR 97 (HLB 99)	
22	**smiONT-0248**	Blutprobe		PCR 97 (HLB 99)	PCR 98 (HLB 99)
23	**smiALA-2143**	Gewebe	PCR 42 (HLB 46)	PCR 97 (HLB 99)	

III	Probe	Gewebetyp	Primer UUL-DDL	Primer H-DDL	Primer D-DDL
1	**micGAL-1370**	Blutprobe		PCR 66 neu (HLB 75)	PCR XXL (HLB 95)
2	**graUKD-1306**	Gewebe		PCR 68 (HLB 70)	PCR XXL (HLB 95)
3	**vegTSC-2290**	Gewebe		PCR 83 (HLB 88)	PCR 94 (H438-96)
4	**hypNWT-1848**	Gewebe	PCR 49 (HLB 52)		PCR 94 (H438-96)
5	**omiFIN-1347**	Blutprobe		PCR 67 (HLB 78)	PCR 94 (H438-96) PCR 94 (HLB 97)
6	**omiEST-1208**	Blutprobe		PCR 64 neu (HLB 76)	PCR 94 (H438-96) PCR 94 (HLB 97)
7	**ageSNO-1437**	Blutprobe		PCR 76 (HLB 79)	PCR 94 (H438-96)
8	**smiNBW-2016**	Gewebe	PCR 44 (HLB 49)		
9	**intAMR-1247**	Gewebe		PCR 63 (HLB 84)	
10	**intNOR-2230**	Gewebe	PCR G (PdK - IV)		
11	**marFRC-2159**	Gewebe	PCR 47 (HLB 51)		

Anhang C: Alignement von 430 bp der Domäne I der mitochondrialen Kontrollregion in *Larus* Möwen. Zeilen1-8: „Stamm-Haplotypen“ ohne rekombinierten Sequenzabschnitt; Zeilen 9-14: rekombinierte Sequenzen mit „ATCCC-Motiv“. krt 771 = Haplotyp von zwei *Larus michahellis* Individuen von Kreta mit einer 20 bp langen Insertion zwischen den Positionen 21 und 22.

```
Pos.      1                 21                22                TAS       TAS
hht 001   CCCCCCCCCCTTACCCCCCCA-----------------CATCATCATGTGGAAGTTTACATTAATCTATATTCCCCATTACACATAC 70
pac 003   ....................-----------------..................................................
mic 034   ....................-----------------..................................................
cac 062   ....................-----------------.............G....................................
arm 081   ....................-----------------..................................................
hht 114   ....................-----------------.............GA...................................
mar 149   ....................-----------------..................................................
omi 172   ....................-----------------..A...............................................
rek 001   ....................-----------------..................................................
rek 011   ....................-----------------..................................................
rek 071   ....................-----------------.............GA...................................
het 108   ....................-----------------..................................................
rek 149   ....................-----------------..................................................
rek 172   ....................-----------------..A...............................................
krt 771   ....................AGTTTGACATTACGCACACAATCTCC.....ACTTC...G....C...C....A........T......

hht 001   CAGTTAATGTTTAATAGTCATTAATATCTAAACGGGTATTCTCCCTCCCCGACCCCATCCCCTCTTCCAGAGGGTATCTCGCCCAATGGA 160
pac 003   ..................................................................................
mic 034   ..A........C.............C.................T......-.....................................
cac 062   ............C.....................................................................
arm 081   ..A........C.............TC............T....T......-.....................................
hht 114   ..................................................................................
mar 149   ..A.....................C..G.................A...-.....................................
omi 172   T.A........C.............C..G.............T......-.....................................
rek 001   ..................................................................................
rek 011   ..........................................................T.......................
rek 071   ..A........C.............C.....................-.....................................
het 108   ..................................................................................
rek 149   ..A.....................C..G.................A...-.....................................
rek 172   T.A........C.............C..G.............T......-.....................................
krt 771   ..AC.......C.............C.................T......-.....................................

                                  190-------202          TAS
hht 001   TACCGAAATCCATTACAATATCAGTACTAGAACCATTCTATTGTTAGGTTATACATAGCAATCTCCCTGCATACGGCAGTGCTTGCCTGC 250
pac 003   ..................................................................................
mic 034   ..................................................................................T....
cac 062   ....................C.............................................-......C.......
arm 081   ..................................................................................
hht 114   ..........................................................A.......................
mar 149   ..............................................................T...................
omi 172   ..................................................................................
rek 001   ............................A.......TCC.C..........................................
rek 011   ............................A.......TCC.C..........................................
rek 071   ............................A.......TCC.C.....................................T....
het 108   ............................R.......YYM.Y.....................................T....
rek 149   ............................A.......TCC.C.....................T....................
rek 172   ............................A.......TCC.C..........................................
krt 771   ............................A.......TCC.C.....................................T....

hht 001   CCCTTTGAATGAAATGCTGAGACATGGCCATCCAAAATCTCTCGGAGTACACAAAGCTTCGTACCAGGTGGATTTATTAATCGAGCTCCT 340
pac 003   ..........................................A.......................................
mic 034   ..........................................AT......................................
cac 062   ..................................................................................
arm 081   ........................................T..T.....................................
hht 114   ..................................................................................
mar 149   ..................................................................................
omi 172   ......................................T..G.....................................
rek 001   ..................................................................................
rek 011   ..................................................................................
rek 071   ..........................................AT......................................
het 108   ..................................................................................
rek 149   ..................................................................................
rek 172   ......................................T..G.....................................
krt 771   ..........................................AT......................................

          F-Box                                                                 D-Box
hht 001   CACGTGAAATCAGCAACCCGGTGTTGGAAAGATCCTGCGTTACTAGCTTCAAGACCATACTTTCCCCCTACACCCCTAGCCCATCTTGCT 430
pac 003   ..................................................................................
mic 034   ..................................................................................
cac 062   ..................................................................................
arm 081   ................................A.............G.....................................
hht 114   ..................................................................................
mar 149   ................................A.....................................................
omi 172   ..................................................................................
rek 001   ..................................................................................
rek 011   ..................................................................................
rek 071   ..................................................................................
het 108   ..................................................................................
rek 149   ................................A.....................................................
rek 172   ..................................................................................
krt 771   ..................................................................................
```

Anhang D: Liste aller 196 mitochondrialen Haplotypen (HT) von insgesamt 1217 sequenzierten Möwen. Gezeigt sind nur die variable Positionen im Vergleich zum Haplotypen Nr. 001 (Nummerierung entlang der 430 bp der Kontrollregion).

	1111111111111111111111222222222222222222333
	2223367777888889990000011111222333445688112234444577899996 79
	3476740134023586890126723468125135491713892563456127735676 72
HT	ATTAGCCCGTTTATTACTAAAGTTCCTCGACCTTGTGATAGCTCGTTGCCAGACGAGGGA
001	.....
002	.....G....
003	.....A.....
004	.....A...A.
005	.....A...AG
006	.....A.....
007	.....C.....
008	.....A.....
009	.....A.....
010	.....C.....
011	.....T.....
012	.....T.....G....
013	.....T.....A.....
014	.....T.....A.....A.....
016	.....T..A.....
017	.....T.....T.....
018	.....C.....
019	.....C.....T.....
020	.....A.....
021	.....G.....A...AG
022	.....G.....T.....
023	.....C.....G....
024	.....T.....T.....
025	.....T.....
026	.....C.....
027	.....C.....C....-C.....
028	.....C..C.....C....-C.....
029	.....C.....C.....C..T.....
030	.....C.....C....-C.....
031	.....C.....C....-C.....A.....
032	.....C.....T.....C....-C.....
033	.....CC.....C....-C.....
034	.....A..C.....C.....T..-.....T.....AT....
035	.....A..C.....C.....T..-.....T.....ATA...
036	.....A..C.....C.....T..-.....T....T.T....
037	.....A..C.....C.....T.T..-.....AT....
038	.....A..C.....C.....T.T..-.....T.....AT....
039	.....A..C.....C.....T.T..-.....T.....AT..A.
040	.....A..C.....C.....T.T..-.....T.....ATA...
041	.....A..C.....C.....T.T..-.....T.G...ATA...
042	.....A..C.....C.....T.T..-.....TA....AT....
043	.....A..C.....C.....C...T..-.....T.....T....
044	.....A..C.....C.....C...T..-.....T.....T.....T....
045	.....A..C.....C....CC...T..-.....T.....T....
046	.....T.....A.....
047	.....TAC.....A.
048	.....TAC.....T....A.
049	.....TAC.....T....AG
050	.....TAC.....T....T....A.
051	.....TAC.....C....A.....A.....T....T....AG
052	.....TAC....C.....T....A.
053	....A...A..C.....C.....-.....T.....AT....
054	....A...A..C.....C.....T..-.....T.....AT....

```
                                                
```

```
                                                
```

```
                                                  1111111111111111111111222222222222222222333
          22233677778888899900000111111222333445688112234445778999967 9
          34767401340235868901267234681251354917138925634561277356767 2
HT        ATTAGCCCGTTTATTACTAAAGTTCCTCGACCTTGTGATAGCTCGTTGCCAGACGAGGGA

171       ....A..TA..C.....C..G......T..-.....................T.G....
172       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....................T.G....
173       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....................T.G.A..
174       .A.....TA..C.....C..G......T..-............A........T.G....
175       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....................CT.G....
176       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....A.....C.........TT.G....
177       .A.....TA..C.....C..G......T..A.....................T.G....
178       .A.....TA..C.....C..G......T..A............T.........T.G....
179       .A.....TA..C.....C..G......T.............................G....
180       .A.....TA..C.....C..G......T..A...A..................T.G....
181       .A.....TA..C.....C..G......TA.-.....................T.G....
182       .A.....TA..C.....C..G.....CT..A.....................T.G....
183       .A.....TA..C.....C..G..C...T..-.....................T.G....
184       .A.....TA..C..C..C..G......T..-.....................T.G....
185       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....................T.G....
186       .A.....TA..C..C..C..G.C....T..-.....A...............T......
187       .A.G...TA..C.....C..G......T..-.....................T.G....
188       .A.....TA..C.....C..G......T..-.....................TAG....
189       .A.....TA..C.....C..G..C...T..-.....................TAG....
190       .A.GA..TA..C.....C..G......T..-.....................TAG..A.
191       .A.....T...C.....C..G......T..-.....................T.G....
192       .A.....T...C.....C..G......T..-..................G..T.G....
193       .A.....T...C.....C..G......T..-..................GA.T.G....
194       .A.....T..CC.....C..G......T..-.....................T.G....
195       .A.....TA..C........G......T..-.....................T.G....
196       .A.....TA..C.....C..G......T.............................G....
197       .A.....TA..C.....C..G......T..-.......C......C.......T.G....
198       .A.....TA..C.....C..G......T..-...A..................G....
199       .A.....TA..C.....C..G......TA.-.....................G....
200       .A.....TA..C.....C..G....T.T..-...........C.........T.G....
201       .A.....TA..C.....C.GG......T..-.....................G....
```

Anhang E: Häufigkeiten der Haplotypen innerhalb der untersuchten Kolonien (Abkürzungen siehe Tab. 6.1; NWP=Nordwest-Paläarktische Formen). Phänotypisch gemischte Kolonien sind gekennzeichnet (*). Linke Spalte: Nummerierung der phylogenetischen Cluster (siehe Abb. 6.7). Cluster I & II: NW-Paläarktische (NWP) - Taxa; Cluster III: *mongolicus*; Cluster IV & V: *cachinnans*; Cluster VIa-VIc: *atlantis-michahellis*; Cluster VII: *armenicus*.

Haplotyp	Anzahl pro Kolonie																									
	atlantisch-mediterrane Formen											zentralasiatische Formen								NWP-Formen					
	atlMDR	atlAZO	atlGAL	atlMAR	atlBER	micWeM	micEaM	armTUZ	armVAN	armBEY*		cacBLS	cacUKR	cacCSS	barKAZ	barUBK*	monEAS	monCNT	monWES		taiPJA	heuKAN	graNAT	graUKD	graEUR	
01												2	2	9	29	4					8	16	4	1	3	
02																					2	4				
06															1							1				
09																1						1				
10															2											
07																								1		
08																							1			
03																					3					**I**
46																					2					
18															1											
20																						1				
23																					1					
25																					1					
26															1											
11				1	1							1			1				2			2	30	17	18	
13																						1	2	3	3	
22																					1		4	3		
14																									2	
80																									2	
12																									1	**II**
15																								1		
16																							1			
17																							1			
19																							1			
24																									1	
04																					1					
05																					1					
21																	11	12	10							**III**
77																					1					
90																			1							
27												2		1		2										
28													1													
29														1												
30												1	3	2												
31												1		1												
32												1														
33												1														
61													3	6		3										
62												3	7	10	1											**IV**
63														1												
64														1												
65														1												
67												1		1												
68													4	1												
69														1												
70													2													
79														2												

Haplotyp	Anzahl pro Kolonie																							
	atlantisch-mediterrane Formen											zentralasiatische Formen								NWP-Formen					
	atlMDR	atlAZO	atlGAL	atlMAR	atlBER	micWeM	micEaM	armTUZ	armVAN	armBEY*		cacBLS	cacUKR	cacCSS	barKAZ	barUBK*	monEAS	monCNT	monWES		taiPJA	heuKAN	graNAT	graUKD	graEUR	
47												1														**V**
48												1		3												
49														1												
50														1												
51													1													
52												1														
36							2																			**VI a**
43	7	1		3																						
44	1																									
45	4			1																						
60	2																									
34			7		1	11	2																			**VI b**
35						4																				
37							1			2																
38						12	13	5		5																
39							1																			
40						1																				
41						1																				
42							1																			
78							1																			
53					8																					**VI c**
54		17	18	2	4	12	3																			
55			1																							
56					1	2																				
57							1																			
58							4	2		3																
59					1																					
66	3																									
71			1																							
72	1	2	3			2	1																			
73						2																				
74						1																				
75					1																					
76	2																									
81								16	19	2																**VII**
82								25	7	2																
84										2																
83								1																		
88								1																		
89								1																		
85									2																	
86									1																	
87									1																	

13. Glossar

Alignement: Zwei zu vergleichende DNA-Sequenzen werden so gegenübergestellt, dass nur homologe Basen untereinander stehen. Insertionen und Deletionen müssen durch Einfügen von → Gaps („Lücken“) ausgeglichen werden.

allopatrisch: Die Verbreitungsgebiete zweier (oder mehrerer) Taxa sind geographisch getrennt.

Allospezies: Mitglied einer Superspezies, von Schwesterspezies geographisch getrennt.

AMOVA: *Analysis of Molecular Variance*; Partitionierung der gesamten molekularen Varianz innerhalb einer Stichprobe in ihre Teilvarianzen a) innerhalb von Populationen, b) zwischen Populationen und c) zwischen Gruppen von Populationen (z.B. Taxa).

Amplifizierung: Enzymetische Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes mittels PCR.

Ancestraler Polymorphismus: Ursprüngliche (plesiomorphe) Sequenzvariation einer Stammpopulation, die noch heute bei deren Tochterpopulationen oder –taxa nachweisbar ist.

Bootstrap-Test: Iteratives Verfahren zur Bestimmung der Wiederfindungswahrscheinlichkeit einer Gruppierung in einem Stammbaum durch *‚Resampling with replacement‘* (s. FELSENSTEIN 1985). Bootstrapwerte sind Schätzwerte der Wahrscheinlichkeit, mit der die Monophylie eine bestimmten Gruppierung innerhalb des Stammbaums durch die zugrundeliegenden Daten gestützt wird.

Bottleneck: Vorübergehende, drastische Verkleinerung der Populationsgröße (z.B. infolge von Katastrophen). Nach einem Bottleneck wächst die Population in der Regel exponentiell an.

CSB-1: *Conserved Sequence Block No. I*; Konservativer Sequenzabschnitt in der Domäne II der mitochondrialen Kontrollregion. Initiiert wahrscheinlich die Replikation der Mitochondrien-DNA.

Formenkreis: Gruppe nah verwandter Taxa, die wie Unterarten einer polytypischen Art verbreitet sind, aber zum Teil bereits durch Genflussbarrieren reproduktiv isoliert sind.

Gap: “Lücke” innerhalb einer DNA Sequenz, die durch Einfügen (Insertion) oder Herausschneiden (Deletion) ein bis mehrerer Nukleotide beim alignieren von Sequenzen entsteht.

Genetische Drift: Zufällige Fluktuation von Allel-Häufigkeiten in Populationen.

Haplotyp: Mitochondriale (=haploide) DNA-Sequenz, die sich an mindestens einem Nukleotid von anderen solchen Sequenzen unterscheidet.

Homoplasie: Nicht auf gemeinsamer Abstammung beruhende Ähnlichkeiten (hier bezogen auf DNA-Sequenzen) zwischen Individuen oder Taxa infolge von Konvergenz oder Parallelmutationen.

hypervariable Position: Nukleotidposition, die extreme intraspezifische Variation zeigt.

Introgression: Einschluss von Genen eines Taxons in den Genpool eines anderen Taxons.

Kernkopie: Funktionslose Kopie eines mitochondrialen DNA-Abschnitts, der sekundär in den Zellkern „gewandert“ ist und in ein Chromosom inkorporiert wurde.

Kontrollregion: Nicht-kodierender Abschnitt des Mitochondrien-Genoms, der teilweise für die Replikation der Mitochondrien-DNA verantwortlich ist.

Konvergenz: Ähnliche, aber unabhängig voneinander entstandene Merkmalsausprägung im Phäno- oder Genotyp von Individuen oder Taxa als Folge natürlicher Selektion (also in Anpassung an eine bestimmte Funktion).

Maximum Parsimony: Methode zur Erstellung eines Stammbaums nach dem Sparsamkeitsprinzip. Der Stammbaum, der sich mit der geringsten Zahl an Mutationsschritten (Merkmalsänderungen) erklären läßt, wird als der wahrscheinlichste angenommen.

Maximum Likelihood: Statistische Wahrscheinlichkeit für die Evolution einer bestimmten Stammbaumtopologie unter Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeiten aller Basenaustausche an jeder Nukleotidpositon.

Molekulare Uhr: Hypothetische Annahme, dass sich DNA-Sequenzen im Laufe der Evolution in allen zu vergleichenden Linien annähernd mit konstanter Rate ändern und somit der Grad der molekularen Distanz zwischen zwei Taxa proportional zur Zeit seit ihrer Trennung ist.

monophyletisch: Eine Gruppe von OUTs, die alle rezenten Nachfahren ihres letzten gemeinsamen Vorfahren (→ MRCA) einschließt.

MRCA: *Most Recent Common Ancestor*; jüngster gemeinsamer Vorfahre einer Gruppe von Haplotypen, Individuen oder Taxa.

Neighbor-Joining: Methode zur Erstellung eines Stammbaums anhand einer Distanz-Matrix, bei der ein Baum minimaler Länge konstruiert wird.

OTU: *Operational Taxonomic Unit*; Taxonomische Einheit (z.B. Arten, Taxa oder Populationen).

parapatrisch: Die Verbreitungsgebiete zweier (oder mehrerer) genetisch differenzierter Populationen grenzen aneinander, überlappen sich aber nicht oder nur geringfügig.

paraphyletisch: Eine Gruppe von OTUs, die nicht alle rezenten Nachfahren ihres letzten gemeinsamen Vorfahren einschließt.

polyphyletisch: Eine (künstliche) Gruppe von OTUs, die Nachfahren zweier unterschiedlicher phylogenetischer Linien einschließt.

Ratenheterogenität: Maß für die Unterschiede in den Substitutionsraten einzelner Nukeotidpositonen einer DNA-Sequenz.

Rekombination: Austausch von DNA-Abschnitten. Bei homologer R. werden DNA-Abschnitte gleicher Lage und Funktion ausgetauscht.

Schwestertaxa: Zwei Taxa, die innerhalb der untersuchten Gruppe am nächsten miteinander verwandt sind und gemeinsame abgeleitete (synapomorphe) Merkmale aufweisen.

Semispezies: Unvollständig reproduktiv isolierte Taxa, zwischen denen eingeschränkter Genaustausch stattfindet (bilden Hybridzonen).

Superspezies: Monophyletische Gruppe von Allo- und/oder Semispezies, die diagnostizierbar verschieden sind, aber (potentiell) in eingeschränktem Genaustausch stehen.

sympatrisch: Gemeinsames Vorkommen zweier (oder mehrerer) Taxa im selben (Brut-) Gebiet.

TAS-Box: *Termination Associated Sequence*; kurze DNA-Sequenzen, die für die Termination der Replikation der Mirochondrien-DNA verantwortlich sind.

Templat: Ausgangs-DNA (= DNA-Matrize), von der eine komplementäre „Kopie“ synthetisiert werden kann.

Transition: Basenaustausch zwischen Purinen (Adenin *vs.* Guanin) oder zwischen Pyrimidinen (Thymin *vs.* Cytosin).

Transversion: Austausch zwischen einer Purin- und einer Pyrimidinbase.

Topologie: Verzweigungsmuster eines Stammbaums.

UPGMA: *Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean*; Einfachste Methode der Erstellung eines Stammbaums anhand einer Distanzmatrix unter der Annahme einheitlicher Evolutionsraten.

“Evolution des Möwenprojekts“ – Rückblick und Danksagung

Als mich Andreas Helbig im Sommer 1994 in Jena fragte, ob ich über die Systematik der Großmöwen promovieren wolle, hatte ich nicht die leiseste Ahnung, was auf mich zukommen würde, noch was überhaupt das Spannende an diesem Thema sei. Ich hatte bis zu diesem Zeitpunkt erst wenige „Großmöwen“ gesehen, und noch nie etwas von der Baraba-Steppe, geschweige denn von einer Baraba-Möwe, gehört. Nach eingehendem Studium der Literatur wurde aber selbst mir klar, dass es wahrlich eine „systematische Uferlosigkeit im Möwenknäuel“ gab, der dringend eine „molekulare Behandlung“ verordnet werden musste. Im November 1994 stellten wir zusammen mit Hans-Ulrich Peter aus Jena einen Antrag auf Sachmittelzuschuss bei der Forschungskommission der Deutschen Ornithologischen-Gesellschaft (DO-G). Gleichzeitig bewarb ich mich bei der Hans-Böckler-Stiftung um ein Promotionsstipendium und im April 1995 wurde das „Großmöwen-Projekt“ gestartet.

Herzstück der vorliegenden Arbeit sind die Blut- und Gewebeproben von nahezu allen Großmöwen-Taxa der Holarktis. Dank der großzügigen Finanzierung durch die DO-G, die Hans-Böckler-Stiftung und den DAAD war es mir möglich, viele der Proben selber zu sammeln. Die damit verbundenen Erfahrungen und Eindrücke aus fernen Ländern und Regionen waren für mich persönlich von großer Bedeutung.

Meine erste Silbermöwe habe ich Tierpark Gotha “gefangen“. Dies sollte der Vorbereitung auf den „Ernstfall“ dienen, und sowohl der kräftige Schnabel als auch das „grimmige Aussehen“ flößten mir gehörigen Respekt ein. Im Frühjahr 1995 besuchte ich zusammen mit Ronald Klein und Andreas Helbig erstmals eine Möwenkolonie in Ost-Brandenburg. Hier waren die Küken schon groß und wurden vom Boot aus „eingesammelt“. Die Probenentnahme fand unter einem Regenschirm statt, denn „man muss ja nicht Russland spielen, wo nicht Russland ist...“

Im Sommer des selben Jahres nahm ich an der niederländischen Taimyr-Expedition ins Pjassina-Delta teil. Unter der Leitung von Bart Ebbinge wurden dort seit mehreren Jahren Ringelgänse untersucht und nach ausdauerndem Bitten durfte ich in die „Ringelgans-Familie“ eindringen. Zusammen mit Christoph Unger wurden wir auf einer kleinen Insel („остров Дорита“) ausgesetzt und unserem Schicksal überlassen. Die Möwen waren durch unsere dauerhafte Anwesenheit sichtlich gestört und ließen sich nur sehr ungern von uns fangen. Nachdem ich die erste Möwen aus Unachtsamkeit (oder vielleicht doch eher aus Angst vor deren Schnabel) wegfliegen ließ, war Christoph mehr als entsetzt und gab mir den gutgemeinten Ratschlag, mich lieber mit *Phylloscopus* zu beschäftigen (kleine „ungefährliche“ Singvögel), als Großmöwen in Sibirien zu fangen.... Ich bekam Bärenfänger-Handschuhe geborgt und trotz der insgesamt ungünstigen Brutbedingungen brachten wir 21 Proben nach Hause.

Im Anschluss besuchten Christoph und ich zusammen mit Ronald Klein mehrere Mülldeponien entlang der deutschen Ostseeküste. Besonders die Müllkippe auf Rügen, auf der Fischreste deponiert wurden, war bei den hochsommerlichen Temperaturen ein bleibendes Erlebnis und zwang uns zum baldigen Abbruch des Unternehmens. Anstelle eines weiteren Deponiebesuchs flüchteten wir nach Hiddensee, um uns vom „Kippenflair“ zu erholen.... Dennoch, ich bewundere den Eifer und den Enthusiasmus von Ronald und seine bisherigen Ergebnisse ließen sich sehr gut mit meinen Daten in Verbindung bringen.

1996 war ich als Gastwissenschaftlerin am Royal Ontario Museum in Toronto tätig. Ich arbeitete im Labor von Allan Baker und war in dieser Zeit mit vielen methodischen Problemen konfrontiert, die mich am Gelingen des Projekts zweifeln ließen. Die Freilandarbeit in Ontario organisierte ich mit Hilfe des Kanadischen Wildlife Service und gemeinsam mit Chip Weseloh und Dave Bostock fingen wir Möwen an vier der Großen Seen Kanadas. Im Juni 1996 flog ich zusammen mit Martin Schnittler an die Westküste Kanadas, wo wir nach Überwindung sämtlicher bürokratischer Hürden Beringmöwen auf der Insel Mandarte, die der Vancouver-Insel vorgelagert ist, fingen.

In Deutschland siedelte ich auf die Vogelwarte Hiddensee um, in der Hoffnung, den methodischen „Durchbruch“ zu erlangen. Und tatsächlich, mit der hier etablierten Methode sequenzierte ich erstmals die Kontrollregion von Möwen – die eigentliche Laborarbeit konnte beginnen. Trotz der Sammelaktivitäten der Vorjahre und den Kontakten zu Museen und Möwenforschern in Europa und Nordamerika stellte sich heraus, dass wir kaum Proben der südlichen bzw. östlichen Taxa besaßen. Im April 1997 fuhr ich daher zusammen mit Volker Dierschke in die Ukraine, um die am Asow’schen Meer brütenden Steppenmöwen zu fangen. Diese Exkursion war meine erste große Herausforderung, da die gesamte Organisation in meinen Händen lag und die ökonomische Situation in der Ukraine (und daher der Transport zu den Möwenkolonien etc.) sehr schwierig war.

Im selben Jahr knüpfte ich Kontakte zur Niederländischen Möwengruppe. In Haarlem und Rotterdam besuchte ich mit Norman van Swelm und Fred Cottaar die gemischten Möwenkolonien von Silber- und Heringsmöwen. Zu Peter de Knijff entwickelte sich eine seitdem andauernde Kooperation, die wesentlich zum Erfolg des Projekts beigetragen hat. Peter verhalf mir nicht nur zum Einstieg in die Populationsgenetik und betreute mich während Auswertung und Analyse der Sequenz-Daten, sondern begleitete mich fortan auf allen Etappen der Promotion. Neben Andreas ist Peter wohl der einzige, der sämtliche Höhen und Tiefen des Möwenprojekts kennt.

Im Herbst 1997 stellte ich meine ersten Ergebnisse auf dem Europäischen Ornithologischen Kongress in Bologna und dem 2. Großmöwen-Treffen in Dänemark vor. In Neubrandenburg hielt ich meinen ersten Vortrag auf der Jahrestagung der DO-G, und die Resonanz und das Interesse an der Möwenproblematik waren beeindruckend.

Was noch immer fehlten, waren Proben aus den östlichen Brutgebieten. In Zusammenarbeit mit dem Arbeitsgruppe von Prof. Succow, Universität Greifswald, organisierte ich für das kommende Jahr zwei Exkursionen nach Kasachstan und Russland. Im Mai 1998 fuhren Andreas Helbig und ich in die besagte Baraba-Steppe, um die dort brütenden Möwen zu fangen. Nur durch das unermüdliche Engagement von Alexej Koschkin, dem Fischereibiologen des Nationalparks, konnten wir zum einen Möwen auf der lokalen Müllkippe von Karaschar fangen, zum anderen deren Brutplätze am Tengiz-See aufsuchen.

Im Anschluss nahm ich an einer NABU-EURONATUR-Bereisung des Wolga-Deltas teil, der eine einwöchige Schiffsexpedition ins nördliche Kaspische Meer folgte. Auf der Kleinen Perlmutt-Insel brüteten sowohl Steppen- als auch Fischmöwen, die bereits große Küken hatten. Gemeinsam mit Thomas Tennhardt beringten wir 130 Küken der Steppenmöwen, von denen bereits im darauffolgenden Winter 11 in Israel beobachtet wurden.

Zum Abschluss dieser Saison besuchte ich mit Annett Kocum die Nordseeinsel Amrum, auf der es eine große Kolonie von Herings- und Silbermöwen gibt. Schwerpunkt dieser Exkursion waren verhaltensbiologische Untersuchungen und die Anfertigung von Tonaufnahmen für die Diplomarbeit von Annett.

Zu jenem Zeitpunkt bekamen wir bereits sehr viele Proben von anderen Möwenforschern zugeschickt und unser Aufruf beim 3. Möwentreffen in Holland blieb nicht ungehört. Im Januar 1999 vergab ich an eine Mantelmöwe aus Dänemark, gesammelt von Kjeld T. Pedersen, die Probennummer „2.000“. Zu diesem Zeitpunkt nahm ich an, über genügend Material für meine Arbeit zu verfügen. Bis auf eine Form, von der wir keine Proben hatten: die Armenien-Möwe. Im Mai 1999 fuhren Andreas Helbig und ich auf unsere vorerst letzte Möwenexkursion in die Türkei. An drei Seen in SW-, Zentral- und Ostanatolien sammelten wir insgesamt 100 Proben und konnten das Rätsel um diese Binnenland-Form endlich lösen.

Im Sommer 1999 hielt ich in Barcelona einen Vortrag auf dem Kongress der Europäischen Gesellschaft für Evolutionsbiologie. Danach wurde es Zeit, endlich einen Schlussstrich unter die Arbeit zu ziehen und die Promotion an der Universität Greifswald einzureichen. Das hat letztlich noch bis Juni 2000 gedauert, aber nun ist es geschafft und ich bin mehr als froh über das vorliegende Ergebnis!

Für die unermüdlichen Diskussionen und Anregungen, für das ungebrochene Interesse an der Klärung der Großmöwen-Systematik, aber auch für die Hilfe und Unterstützung während aller Phasen des Projekts bedanke ich mich vor allem bei Andreas Helbig und Peter de Knijff.

Die Teilnehmer des 2. und 3. Europäischen Möwentreffens in Dänemark (1997) und Holland (1998) gaben mir viel Optimismus auf den Weg, und die Gespräche mit Ronald Klein, Lars Jonsson, Norman van Swelm u.v.a. halfen mir, den „Bezug zum Objekt“ (der Großmöwe) nicht zu verlieren.

Arndt von Haeseler und der Arbeitsgruppe „Theoretische Genetik“ am Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie in Leipzig danke ich für ihr Verständnis, dass erst diese Arbeit fertig werden musste, bevor ich mich in die Tiefen von pPUZZLE, Linux und C++ graben kann.

Für die umfangreiche Hilfe und Unterstützung bei der Organisation und Durchführung der Freilandarbeiten möchte ich vor allem bedanken bei Bart Ebbinge, Bernhardt Spaans, Fred Cottar, Ko de Korte und Christoph Unger (Taimyr, 1995); Chip Weseloh, Dan Kozlovik, J. Ryder, Dave Bostock, Hans Blockpoel, Lee Harper und Martin Schnittler (Kanada, Ontario, 1996); T. Sullivan, Peter Arcese, Jocelyn Hudon, Annette Muttray und Geza Vamos (Kanada, British Columbia & Alberta, 1996); Josef Chernitchko, Valeri Siochin, Michael Nickel und Volker Dierschke, (Ukraine, 1997); Alexej Koschkin, Murat Aischanow, Tatjana Sidorova, den Ornithologen Murat und Till Dietrich (Kasachstan, 1998); Gert Koerkamp, German Russanow, Nikolai Moschonkin, Yuri Chuikov, Nikolai Gavrilov, Besatzung des Forschungsschiffes 'Gosnadsor', Nöbert Hölzel, Thomas Tennhardt, Wolfgang Frehmut, Annette Otte

und Stefan Schleuning (Wolga-Delta, Kaspisches Meer, 1998); Çan Bilgin, Sürhendan Karauz und Ferrat Salman (Türkei, 1999) sowie Ronald Klein, Stefan Garthe und Reinhardt Boksch (Deutschland).

Für das Sammeln von Blut- und Gewebeproben gilt mein besonderer Dank Sascha Andreev, Nicola Baccetti, Andrés Bermejo, Doug Bell, Martin Boschert, Axel Bräunlich, Andreas Buchheim, Monika & Dariusz Bucacinsky, Olga Butorina, V. Buzun, Irina Charitonova, A. Cherenkov, Przemek Chylarecki, Fred Cottaar, A. Filatov, Andrej Filchagov, Eddie Fritze, Bob Furness, Cales Gauci, Tor Odavr Hansen, W. Jakimenko, K. Jansen, Jens Kjeld Jensen, Risto Juvaste, V. Kalyakin, Michael Kilpi, Ronald Klein, Peter de Knijff, Y. Lanovenko, Mark van Leeuwen, Luis Moreis, Luis Monteiro, Preinas Mierauskas, A. Munhtogtoh, Kjeld T. Pedersen, Hans-Ulrich Peter, Sergej Pyzhiyanov, Antonina Rudenko, Nannett Robert, A. Sigfusson, J. Sirois, Peter Stuart, Richard Snell, Joe Sultana, David Sowter, Larid Shutt, Norman van Swelm, K. Verbeek, Andrej Wolkov, Marek Zielinski.

Bei der **Forschungskommission der Deutschen Ornithologen-Gesellschaft** bedanke ich mich für die Finanzierung des Projekts “Systematik und Taxonomie von Großmöwen der *Larus argentatus* Gruppe: Untersuchungen anhand morphologischer, verhaltensbiologischer und molekulargenetischer Merkmale“. Neben der vorliegenden Arbeit wurden an der Vogelwarte Hiddensee zwei Diplomarbeiten betreut, zum einen über die Morphologie (Sandra Müller), zum anderen über Lautäußerungen von Großmöwen (Annett Kocum). Wie hoffen, durch die Synthese aller Teilprojekte eine umfassende und fundierte Bearbeitung der Gruppe vorlegen zu können.

Der **Hans-Böckler-Stiftung** bin ich zu besonderen Dank verpflichtet. Im Rahmen meines Promotions-Stipendiums wurde ich nicht nur finanziell, sondern auch ideell gefördert. Hervorheben möchte ich die Betreuung durch das Referat “Promotion“, namentlich Herrn Werner Fiedler. Nur durch diese Unterstützung war es mir möglich, einen Großteil der Freilandforschung (Ukraine 1997, Kasachstan 1998) zu finanzieren sowie an Fachtagungen im Ausland (Bologna 1997, Barcelona 1999) teilzunehmen. In der Zusammenarbeit mit der „AG-Frauen“ besuchte ich mehrere fachübergreifende Seminare und organisierte selbst zwei Seminare in Hamburg und Stralsund. Den lebhaften Kontakt zu den Stipendiatinnen und zur Referatsleiterin Birgit Grafe schätze ich sehr. Sie waren und sind Orientierungshilfe für die eigene Karriere und erweiterten den “Netzwerk-Gedanken“ hin zur Verflechtung fachlicher und gesellschaftlicher Komponenten.

Ein Stipendium des **International Council of Canadian Studies**, Government of Canada Awards, ermöglichte es mir, ein Jahr im Labor von Allan Baker am Royal Ontario Museum (ROM) Toronto zu arbeiten. In diesem Zusammenhang möchte ich mich nicht nur bei Allan Baker, sondern besonders bei Oliver Haddrath bedanken – für seinen endlosen Optimismus, dass auch aus Möwen-DNA klare PCR-Banden hervorzulocken sind. Weiterhin gilt mein Dankeschön Dawn Marshall, Dilara Alley, Carol Ritland, Mark Peck und Allesandro Grapputto. Die Zusammenarbeit im Baker-Labor und die internationale Atmosphäre und Weltoffenheit sind mir in sehr angenehmer Erinnerung. Der Aufenthalt in Kanada war nicht zuletzt Dank der vielen alten und neuen Freundschaften u.a. zu Wolfgang Vogel, Vanita Jassal, Susan Theiss und Martin Schnittler ein unvergessliches Erlebnis.

Zum Schluss möchte ich nicht unerwähnt lassen, dass ich die mehr als drei Jahre auf der Vogelwarte Hiddensee als großes Geschenk ansehe! Nicht nur die einsame Insel in der Ostsee, die mir etwas mehr Ruhe und Gelassenheit „für das wahre Leben“ gegeben hat, sondern auch die vielfältigen, sozialen Beziehungen waren eine sehr lehrreiche Schule. Für die intensive Zusammenarbeit im Labor möchte ich mich besonders bei Götz Wagenknecht bedanken, der viele der vorliegenden Proben sequenziert hat. Ingrid Seibold trägt maßgeblichen Anteil an der Etablierung der verwendeten Methoden. Jan Kube und Annett Kocum erstellten die Kartenvorlagen, die in dieser Arbeit verwendet wurden. Sandra Müller hielt als Computerfachfrau jedem „Windoofs-SOS“ stand und bei Dörte Kaufmann bedanke ich mich für das mehrfache Korrekturlesen der Arbeit. Die angenehme Atmosphäre in der WG wurde besonders durch Olaf Milski (unseren “Hausi“) geprägt, aber auch die ausländischen Gäste bereiteten uns viel Freude, z.B. Olga Butonina aus Magadan, Hadoram Shirihai aus Israel und Gabriel Gargallo aus Barcelona. Sandra Probst leitete unsere „Hops-Gruppe“ und mit unermüdlichem Zählen bis acht hat sie uns „fit durch den Winter“ gebracht.

In Zeiten fachlicher Höhenflüge und privater Turbulenzen halfen mir liebe Freundinnen, nicht den Boden unter den Füßen zu verlieren. Für stundenlange Telefon-Seelsorge, mitternächtliche e-mails und aufmunternde Post bedanke ich mich besonders bei Sabine, Karin, Heike und Dagmar sowie meinen Schwestern Christin und Katrin. Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern, die für all meine Pläne und Projekte immer viel Verständnis hatten und großes Interesse am Fortgang des Geschehens zeigten. Für die Reisen in den „wilden“ Osten wurden Überlebenspakete geschnürt und bei widererwartet gesunder Heimkehr Sektflaschen geöffnet.

Wenngleich ich nicht in der Regelzeit von drei Jahren meine Promotion geschafft habe, so bin ich über jeden Tag froh, den ich in diesem Projekt arbeiten durfte und der meine Begeisterung für die Biologie, die Großmöwen und das Reisen in ferne Länder am Leben erhalten hat! Allen, die in irgendeiner Form am Gelingen dieser Arbeit beteiligt waren, und besonders denjenigen, die mich in der letzten Phase des Zusammenschreibens unterstützt haben und ertragen mussten, ein großes Dankeschön!!!

CURRICULUM VITAE

Persönliche Angaben

Name:	Dorit Liebers
Geburtsdatum:	22. 06. 1969
Geburtsort:	Potsdam
Nationalität:	deutsch
Familienstand:	ledig

Bildungsweg

09/75 – 09/85	Allgemeinbildende Oberschule Potsdam
09/85 – 08/87	Erweiterte Oberschule „Alexander von Humboldt“ Potsdam, Hochschulreife
09/87 – 08/88	Assistentin im Institut für Mikrobiologie, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Potsdam
09/88 – 09/94	Biologiestudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Abschluß: Diplombiologin
09/91 – 08/92	ERASMUS-Studentin am Department of Zoology, Trinity College Dublin, Irland
10/94 – 03/95	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Ökologie Jena
04/95 – 12/95	Doktorandin am Institut für Ökologie Jena
01/96 – 12/96	Forschungsaufenthalt am Department of Ornithology, Royal Ontario Museum Toronto, Kanada
01/97 – 04/00	Doktorandin am Zoologischen Institut der Universität Greifswald, Vogelwarte Hiddensee, Stipendiatin der Hans-Böckler-Stiftung
5/00 –	„Postdoc“-Mitarbeiterin am Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie Leipzig, AG „Evolutionäre Genetik“

Stipendien und Forschungsprojekte

- Fellow of the European Commission, ERASMUS-Student at the Trinity College Dublin

- Award Holder of the Council for Canadian Studies, Royal Ontario Museum Toronto

- Promotionsstipendium der Hans-Böckler-Stiftung

- Forschungsprojekt der Deutschen Ornithologen-Gesellschaft (DO-G): “Systematik von Großmöwen der *Larus argentatus*-Gruppe in Eurasien: Untersuchungen anhand morphologischer, verhaltensbiologischer und molekulargenetischer Merkmale” (H.-U. Peter, D. Liebers & A.J. Helbig)

Leipzig, im Juni 2000

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass diese Arbeit bisher weder der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald noch einer anderen wissenschaftlichen Einrichtung zum Zwecke der Promotion eingereicht wurde.
Ferner erkläre ich, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst habe und keine anderen als die darin angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.