

## **Untersuchungen von Verwandtschaftsbeziehungen in Vogelpopulationen mittels DNA-Fingerprint**

**Michael Wink, Ingrid Swatschek & Falko Feldmann,**  
*Universität Heidelberg,*  
*Institut für Pharmazeutische Biologie,*  
*Im Neuenheimer Feld 364, 6900 Heidelberg,*  
**Winfried Scharlau, Zur Wiese 14, 4400 Münster,**  
**Dietrich Ristow, Pappelstr. 35, 8014 Neubiberg**

Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb und zwischen Vogelpopulationen können inzwischen molekularbiologisch bearbeitet werden. Aus Vogelblut isolierte DNA wird durch Restriktionsenzyme spezifisch zerschnitten, elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend mit DNA-Sonden hybridisiert, wobei Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb einer Population mit repetitiver DNA bearbeitet werden können. Es sollen die Verwandtschaftsverhältnisse in Inselpopulationen des Eleonorenfalkens und des Gelbschnabelsturmtauchers geprüft werden, da Vorversuche zeigen, daß die Angehörigen einer Inselpopulation offensichtlich sehr eng miteinander verwandt sind und daß kaum ein Genfluß zwischen benachbarten Populationen auftritt. In einem weiteren Beispiel wird gezeigt, daß der DNA-Fingerprint geeignet ist, den Nachweis zu führen, ob Wanderfalken aus Gefangenschaftszuchten stammten oder der Natur entnommen wurden.

### **Summary**

Wink, M., I. Swatschek, F. Feldmann, W. Scharlau & D. Ristow (1980): Analysis of relatedness in bird populations by DNA-fingerprint. - Vogelwelt 111, 86-95.

DNA-fingerprint analysis is a powerful method to determine relatedness and gene flow in populations. The methods of blood preservation, DNA-extraction, DNA digestion with restriction enzymes, agarose gel electrophoresis and DNA-hybridization are described. DNA-fingerprints of Cory's Shearwater (*Calonectris diomedea*) and Eleonora's Falcon (*Falco eleonora*) illustrate the relatedness within families and within the population. As a third example, we tested blood of the Peregrine (*Falco peregrinus*) to test whether the birds were bred in captivity or were taken illegally from the wild.

Keywords: DNA-Fingerprint, gene flow, *Falco eleonora*, *Calonectris diomedea*, *F. peregrinus*.

### **Einleitung**

Die Frage nach dem Verwandtschaftsgrad von Individuen innerhalb einer Population und der verwandtschaftliche Vergleich von Populationen, Subspecies, Arten und höheren Ordnungskategorien untereinander ist für viele Bereiche der Biologie, insbesondere der Populationsbiologie, der Soziobiologie, Ökologie, Systematik und Evolutionsforschung von zentraler Bedeutung (Greenwood 1980). Zur Lösung dieser Fragen werden molekularbiologische Methoden neben den traditionellen Verfahren (vergleichende Morphologie und Anatomie, Verhaltensanalyse, Aku-

stik, Proteinvergleich) zunehmend herangezogen (s. Übersicht in Helbig 1990).

Will man den Verwandtschaftsgrad von Arten und höheren Organisationsstufen (Familie, Gattung oder Ordnung) bestimmen, so bieten sich die folgenden Verfahren an:

1. DNA-DNA-Hybridisierungen stellen ein grobes Maß zur Messung der genetischen Distanz dar und wurden vor allem in Arbeiten der Arbeitsgruppe Sibley & Ahlquist (1986) angewendet. Methodisch bedingt läßt die Analyse der Schmelzpunktdifferenzen, um die es bei der DNA-DNA-Hybridisierung im wesentlichen geht, kaum Aussagen zu, wenn nahverwandte Arten untersucht werden (Cracraft 1987).
2. Mehr Informationen erhält man, wenn bei der DNA-Hybridisierung mit spezifischen Sonden gearbeitet wird. Diese Sonden können Gene (Einzelgene [„single-locus genes“] und Vertreter von Multigenfamilien) oder auch Organell-DNA, wie z. B. mitochondriale DNA (= mtDNA) sein (Helbig 1990; Kessler et al. 1984, 1985, Avise et al. 1985, Shields & Wilson 1987). Zusätzlich wird die zu untersuchende genomische DNA einer Tierart vor der Hybridisierung mittels Restriktionsenzyme spezifisch zerschnitten und die entstandenen DNA-Fragmente durch Agaroseelektrophorese größenmäßig aufgetrennt. Das Ergebnis einer Hybridisierung ist ein für jede Art typisches Bandenmuster (sog. „restriction fragment length polymorphism“, RFLP); je ähnlicher dieses Muster, desto höher liegt die Verwandtschaft zwischen zwei Organismen. Die Wahl der DNA-Sonde entscheidet, ob Unterschiede zwischen Populationen, Subspecies, Arten oder höheren Taxa erkannt werden. Die Kombination mehrerer Sonden und die Verwendung unterschiedlicher Restriktionsenzyme erhöht die Genauigkeit dieses Verfahrens.
3. Letztendlich läßt sich eine wirklich zuverlässige Aussage über die Verwandtschaft und Taxonomie erst machen, wenn die exakte Basensequenz von mehreren Genen (DNA, ribosomale RNA) miteinander verglichen wird. Für diesen Vergleich müssen die entsprechenden Gene für jede zu untersuchende Art kloniert oder enzymatisch amplifiziert (PCR-Methode) werden. Basenaustausch und andere Mutationen lassen sich so erkennen, und es ist möglich, über eine „molekulare Uhr“ zu errechnen, wann sich Arten in der Evolution getrennt haben. Dieses Verfahren ist immer noch extrem zeitaufwendig und kostenintensiv, so daß erst ganz wenige Gene über die Hauptorganisationsebene hinweg untersucht wurden (Alberts et al. 1989).

Zur Untersuchung von Unterschieden zwischen Populationen und Unterarten eignet sich die Sequenzierung vermutlich nicht, da auf dieser Ebene zu wenige Basenmutationen zu erwarten sind. Die Methode der Wahl ist hier die DNA-Analyse mittels spezifischer Sonden (s. o., 2.). In der Ornithologie hat diese Methode für die Zugvogelforschung grundsätzliche Bedeutung. Wenn man die Bandenmuster der verschiedenen Brutpopulationen kennt, dann sollte es möglich sein, jeden Durchzügler eindeutig

seiner Ursprungspopulation zuzuordnen. Diese Möglichkeit wird die traditionelle Beringungsmethodik wirkungsvoll ergänzen und vermutlich teilweise ablösen.

Eine Variante des beschriebenen Hybridisierungsverfahrens, der sog. „DNA-Fingerprint“, kann eingesetzt werden, wenn man Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb einer Population untersuchen will. Im Genom der meisten Organismen existieren sehr variable DNA-Abschnitte, deren Funktion bislang unbekannt ist, z. B. die Mini-Satelliten DNA und andere hochrepetitive Sequenzen. Die Lage dieser DNA-Abschnitte ist individualspezifisch und wird nach den Mendelschen Gesetzen vererbt. Setzt man DNA-Sonden ein, die solche repetitive DNA oder Satelliten-DNA erkennen, so erhält man ein individualspezifisches Bandenmuster (Jeffreys et al. 1985 a, b; Ryskow et al. 1987). Weisen zwei Tiere ein Muster auf, das teilweise identische Banden zeigt, so kann man davon ausgehen, daß diese Tiere nah verwandt sind. Bislang ist unklar, welche Verwandtschaftsgrade mit diesem Verfahren noch sicher erkannt werden können. Außerdem kann die Variabilität von Art zu Art schwanken, so daß für jede Art die Frage der optimalen DNA-Sonde zu prüfen ist.

Mit Hilfe des DNA-Fingerprints wird man eine Reihe von Fragen beantworten können, die für den Populationsgenetiker, Soziobiologen und Ökologen wichtig sind: Wie sind „Helfer“ am Nest mit den Vögeln, denen sie helfen, verwandt? Sind Paare immer partnertreu oder kommt es zu „Seitensprüngen“? Findet Genfluß (Dispersion, Immigration) zwischen Populationen statt? Welche Rolle spielt Inzucht bei isolierten Populationen? (Vergl. Burke & Bruford 1987, Quinnet al. 1987; Burke et al. 1989, Gyllensten et al. 1990, Wetton et al. 1987).

Voraussetzung für alle der bisher genannten molekularbiologischen Verfahren ist die Isolierung der genomischen DNA und in speziellen Fällen die molekulare Klonierung von Genen. Da Vogelerythrozyten Zellkerne enthalten, stellt Vogelblut eine gute und leicht erhältliche DNA-Quelle dar (zur Blutgewinnung, Aufbewahrung und zur DNA-Isolierung s. Actander 1988).

Um das Potential des DNA-Fingerprints zu demonstrieren, haben wir als Beispiel den Genfluß bei Inselpopulationen des Gelbschnabelsturmtauchers (*Calonectris diomedea*) und des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*) gewählt:

Seit 1975 bearbeiten wir die Brutbiologie und Physiologie des Gelbschnabelsturmtauchers in einer 1000 Paare umfassenden Kolonie in der südlichen Ägäis (Ristow & Wink 1980; Ristow et al. 1981, 1990 a, b; Wink & Ristow 1979, Wink et al. 1982, 1987 a, b). Die Brutkolonie liegt auf einer vom Menschen unbewohnten Insel (in einem kleinen Archipel von 4 Inseln) und beherbergt als weitere Brutvogelart den Eleonorenfalken (s. u.). Durch Beringung und Wiederfang der Altvögel und deren Nestlingen konnten wir zeigen, daß junge Sturmtaucher im Alter von 4 Jahren zum ersten Male in ihrer Geburtskolonie auftauchen und dort im Alter von

typischerweise 7 Jahren mit dem Brüten beginnen. Überraschenderweise wählen dann viele der Sturmtaucher ihr Geburtsnest oder ein wenig entferntes Nachbarnest als Nistplatz aus. Bedingt durch eine relativ geringe Mortalität müssen wir annehmen, daß die Neuansiedler sich mit einem nahverwandten Populationsmitglied paaren, evtl. sogar mit einem inzwischen verwitweten Elternteil oder einem Geschwister aus früheren oder späteren Jahren (Einzelheiten Wink et al. 1987, Ristow et al. 1990). Um herauszufinden, wie eng die Verwandtschaft ist, benötigen wir molekularbiologische Marker, z. B. den DNA-Fingerprint.

Neben den Sturmtauchern brüten auf den Inseln des Archipels ca. 600 Paare des seltenen Eleonorenfalken (Weltbestand ca. 2-3000 BP) (Wink et al. 1978; 1979; 1980 a, b; 1982 a, b; 1985; 1987; Ristow et al. 1979; 1980; 1982; 1983 a, b; 1985; 1986; 1988, 1990). Seit 1980 haben wir die meisten Jungfalken in der größten Kolonie („Falkeninsel“) jahrgangswise mit Farbringen versehen. Dies erlaubte uns die Bestimmung der Jugend- und Adultmortalität (13%). Ferner konnten wir zeigen, daß die auf den Falkeninseln erbrüteten Jungvögel sich nicht auf den nur 1-5 km entfernt liegenden anderen Inseln ansiedeln, obwohl dort ebenfalls Brutkolonien des Eleonorenfalken liegen (Wink et al. 1987, Ristow et al. 1990). Daraus schließen wir, daß der Genfluß zwischen den nah beieinander liegenden Falkenpopulationen sehr gering sein muß. Wir haben vor, mit den molekularbiologischen Methoden zu prüfen, wie nah die Falken auf der Falkeninsel miteinander verwandt sind und in wieweit sie sich von den Falken der Nachbarinseln unterscheiden.

Außerdem wurde geprüft, ob Wanderfalken (*Falco peregrinus*), die, wie der Halter angab, aus Gefangenschaftszuchten stammten, nicht wiederrechtlich in der Natur entnommen wurden. Diese Auswertung wird hier mit angeführt, um auf ein weiteres wichtiges Einsatzgebiet der DNA-Fingerprint-Methode im Artenschutz aufmerksam zu machen.

In dieser Arbeit beschreiben wir die Methode der DNA-Isolierung und die Grundlagen des DNA-Fingerprints mittels einer (CAC)<sub>6</sub> Sonde nach Schäfer et al. (1988). Die Auswertung aller Blutproben erfolgt an anderer Stelle.

### **Material und Methoden**

1988 wurden Blutproben von ca. 150 jungen Falken der Falkeninsel und einer Nachbarinsel genommen und nach Deutschland ins Labor gebracht. 1989 haben wir Blutproben von 100 Paaren des Gelbschnabelsturmtauchers und den jeweiligen Jungvögeln nehmen können. 6 Wanderfalken-Blutproben stammten von einem deutschen Falkner (vermittelt durch H. Brücher).

#### *DNA-Isolierung*

Ca. 2-3 dicke Tropfen Blut, aus der Flügelvene entnommen, wurden in 1 ml Isolierungspulver A (10% EDTA, 1% Tris, pH 7,5, 0,2% SDS, 0,5% Thymol) gesammelt und gut durchmischt. Die Blutproben wurden bis zur Überführung ins Labor bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt. Im Labor erfolgte die Lagerung bei 4°C.

Zu 10 ml Puffer B (25 mM EDTA, 75 mM NaCl, 10 mM Tris pH 7,5, 2 mg Proteinase K) wurde 1 ml der Blut/Puffer (A)-Mischung gegeben und geschüttelt. Dann wurde 1 ml einer 10%igen SDS-Lösung hinzugefügt und vorsichtig gemischt und über Nacht bei 37°C inkubiert. Danach wurden 5 ml einer gesättigten NaCl-Lösung hinzupipettiert und 15 sec. lang kräftig geschüttelt. Nach einer 10-minütigen Zentrifugation bei 3500 rpm wurde der Überstand abgenommen, mit 2 Volumenteilen 100% Ethanol versetzt. Die jetzt ausfallende DNA wurde entweder durch Zentrifugation oder durch Aufwickeln auf einen Glasstab gewonnen und anschließend mit 70% Ethanol gewaschen. Nach Abdampfen des Ethanols wurde die DNA in 1 ml TE-Puffer (10mM Tris, pH 7; 10 mM EDTA) gelöst.

#### *Restriktionsverdau und Gelelektrophorese*

10 µg DNA wurden mit 25 U des Restriktionsenzym Hinf I über Nacht bei 37°C in 200 µl Restriktionspuffer verdaut. Danach wurde die DNA durch Fällung isoliert (Maniatis et al. 1982) und gelelektrophoretisch aufgetrennt (0,7% Agarose in 1 × TAE-Puffer; Gellänge 30 cm; 60 V und 30 h). Lambda-Phagen-DNA, die mit Pst I geschnitten wurde, diente als Größenstandard.

#### *Verarbeitung des Agarosegels*

Die aufgetrennte DNA wurde mittels Kapillarblot auf eine Nylonmembran übertragen (sog. Southernblot) (Maniatis et al. 1982). Alternativ wurde ein Verfahren genutzt, das von J. Epplen entwickelt wurde (Schäfer et al. 1988a, b): Nach der Elektrophorese wurde das Gel mit Ethidiumbromid gefärbt, im UV-Licht betrachtet und der Lambda-Größenmarker auf eine Klarsichtfolie abgezeichnet. Anschließend wurde das Gel in 0,5 M NaOH und 0,15 M NaCl 30 min lang inkubiert, um die DNA-Stränge zu trennen. Anschließend wurde mit 0,5 M Tris, pH 8 und 0,15 M NaCl 30 min lang neutralisiert, das Gel mittels Geltrockner im Vakuum zuerst 1 h bei Raumtemperatur, dann 1 h bei 60°C getrocknet. Durch das Trocknen entsteht eine Agarosefolie, die direkt zur DNA-Hybridisierung eingesetzt werden kann.

#### *Markierung der DNA-Sonde*

Die DNA-Sonde wurde mit einem DNA-Synthesegerät hergestellt (Gene Assembler, Pharmacia) und mittels Gelchromatographie (PD 10-Säulen) gereinigt. Zur radioaktiven Markierung wurden 10 pmol DNA-Sonde (CAC)<sub>6</sub> in 10 µl Kinasepuffer gelöst und mit 2 U T4-Polynucleotidkinase und 50 µCi <sup>32</sup>P-γ-ATP (Amersham 5000 Ci/mM) versetzt. Nach Inkubation bei 37°C für 1 h wurde die Reaktion mit 1 µl 0,5 M EDTA gestoppt.

#### *Hybridisierung*

Die Agarosefolie wurde mit 6 × SSC befeuchtet und dann aufgerollt, bis sie in einen 250 ml Standzylinder paßte und mit 20 ml 43°C warmer Hybridisierungslösung versetzt [5 × SSPE (1 × SSPE = 180 mM NaCl, 10 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, pH 8), 5 × Denhardt-Lösung (100 × Denhardt-Lösung besteht aus: 2% Ficoll, 2% Polyvinylpyrrolidon, 2% BSA), 0,1% SDS, 1% Milchpulver, 1 mg/ml t-RNA]. Nach Hinzufügen der markierten DNA-Sonde wurde der Standzylinder verschlossen und in einem Hybridisierungsinubator (Typ 400 HY, Firma Bachhofer) 4 h lang bei 43°C mit 6 rpm gedreht. Anschließend wurde die Hybridisierungslösung entfernt und das Gel 3 mal je 30 min lang bei 33°C mit 6 × SSC gewaschen. Zuletzt wurde das feuchte Gel mit einer Küchenfolie bedeckt und im Dunkeln mit einem Röntgenfilm exponiert (Kodak X-Omat S 100).

Wir danken Herrn PD Dr. J. Epplen (Martinsried) für hilfreiche Tips und die Überlassung des Protokolls seiner Hybridisierungsmethode. Wertvolle Hilfe wurde uns auch von Frau J. Mathé und Herrn R. Wolfes und R. Perrey zuteil. Unseren deutschen und griechischen Freunden danken wir für Unterstützung bei der Feldarbeit und dem Landwirtschaftsministerium Athen für die Genehmigung der Freilandstudien.

## Ergebnisse und Diskussion

Im angegebenen Puffer A läßt sich Blut gut konservieren, ohne daß die DNA zerstört wird. Dies ist wichtig, da die Blutproben meist weit entfernt von einem Labor in der Natur gewonnen werden müssen und es häufig längere Zeit dauern kann, bis die Proben bei 4 °C gelagert werden können. Lagerung über mehrere Jahre ist unter diesen Bedingungen möglich.

Die DNA kann aus dem Blut mit verschiedenen Verfahren isoliert werden, z. B. der Phenolextraktion (Maniatis et al. 1982). Liegt genug Blut vor, so ist das in dieser Arbeit angeführte Verfahren günstig, da die DNA direkt aus dem Inkubationsgefäß „herausgeangelt“ und leicht weiterverarbeitet werden kann.

Beim anschließenden Restriktionsverdau ist es wichtig, daß die Reaktion so lange durchgeführt wird, bis die DNA vollständig geschnitten vorliegt. Bei der nun folgenden Agarosegelelektrophorese sollte ein mindestens 30 cm langes Gel benutzt werden, um eine möglichst gute Trennung der DNA-Fragmente zu gewährleisten. Mittels DNA-Größenmarker muß geprüft werden, daß bei einer ca. 30 h dauernden Elektrophorese die DNA-Fragmente von 500 Basen den unteren Gelrand erreicht haben.

Das von Epplen entwickelte Verfahren, das Agarosegel nach Trocknung direkt zur Hybridisierung einzusetzen (Smiley et al. 1983; Schäfer et al. 1988b), hat große Vorteile, da es den aufwendigen Schritt des Kapillarblots ersetzt. Auch ist es möglich, das Gel nach Hybridisierung zu denaturieren und zur Hybridisierung mit einer anderen DNA-Sonde einzusetzen (was natürlich auch gilt, wenn Nylonmembranen benutzt werden). Jedoch können nur DNA-Sonden mit einer Länge < 300 Basen benutzt werden, da größere Fragmente nicht in die Agarose hineindiffundieren können.

In Abb. 1 ist die DNA-Fingerprint-Analyse der Wanderfalkenblutproben dargestellt. Nach Angaben der Züchter sollten die Proben 1 (♂) und 2 (♀) die Elterntiere und die Proben 3-6 Nachkommen davon repräsentieren. Tiere 3 und 4 lassen sich eindeutig von den Eltern 1 und 2 ableiten, denn wenn man die DNA-Banden von Eltern und Nachkommen vergleicht, so kann man jeder Bande der Kinder eine Bande der Eltern zuordnen. Auch Tiere 5 und 6 scheinen mit dem Weibchen (Probe 2), nicht aber mit dem Männchen nah verwandt zu sein. Unsere DNA-Fingerprint-Analyse zeigt klar, daß die Wanderfalken tatsächlich verwandt sind, und stützt die Aussage der Züchter. Wären die Jungtiere der Natur entnommen worden, so hätten die DNA-Banden mit sehr großer Wahrscheinlichkeit keine Ähnlichkeit mit denen der Alttiere aufgewiesen.

In Abb. 2 ist die DNA-Fingerprint-Analyse für zwei Paare des Gelbschnabelsturmtauchers mit ihren Jungtieren dargestellt. Wie zu erwarten, zeigen die Jungvögel zu etwa 50% Banden des Vaters und zu 50% Banden der Mutter. Demnach kann die (CAC)<sub>n</sub>-Sonde (Schäfer et al. 1988a) auch für die Verwandtschaftsuntersuchungen bei *C. diomedea* eingesetzt werden.

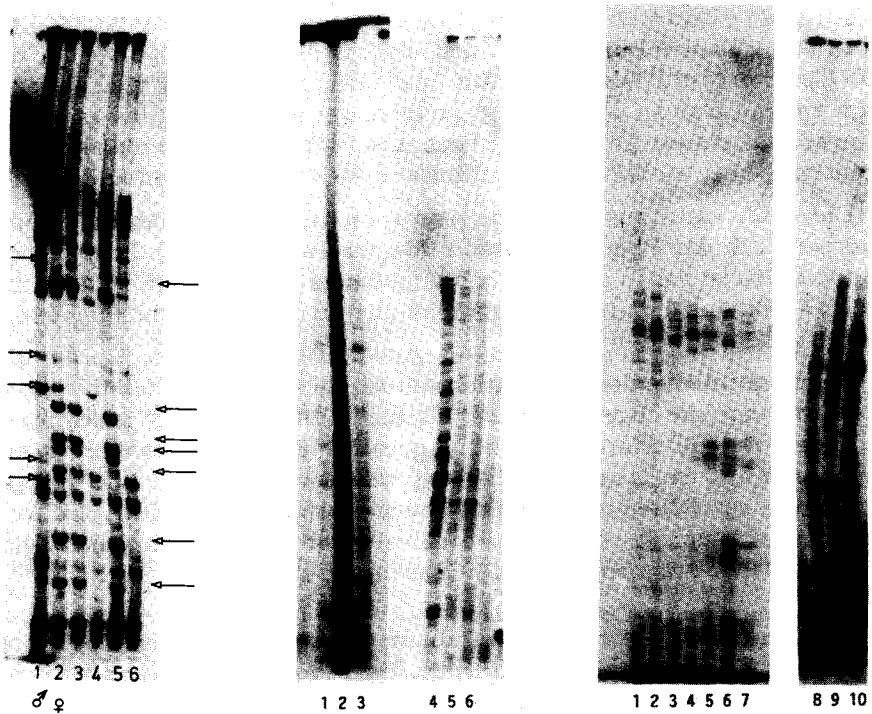


Abb. 1 (links): DNA-Fingerprint des Wanderfalcons (*Falco peregrinus*). Zuordnung der Bahnen: Elterntiere: 1 = Männchen, 2 = Weibchen; Mutmaßliche Nachkommen: 3-6. Die jeweils väterlichen Banden, die nur bei den Kindern auftreten, sind am linken Rand mit einem Pfeil markiert, diejenigen der Mutter am rechten Rand. Banden, die ubiquitär sind, bleiben unmarkiert. Auf den 40 cm langen Originalbahnen lassen sich gegenüber dieser verkleinerten Abbildung wesentlich mehr Banden, und diese kontrastreicher, erkennen. – DNA-fingerprint of the Peregrine (*Falco peregrinus*). DNA was isolated from blood, digested with the restriction enzyme HinfI and subjected to electrophoresis on an agarose gel. Hybridization was directly carried out in the dried gel using the synthetic probe (CAC)<sub>6</sub>. Lane 1 and 2 represent parents; those of 3-6 prospective offspring. Paternal bands, which can be identified in the offspring are marked with an arrow on the left side, those of the mother on the right side of the figure. Ubiquitous bands were left unmarked.

Abb. 2 (mitte): DNA-Fingerprint von 2 Familien des Gelbschnabelsturmtauchers (*Calonectris diomedea*). – Zuordnung der Bahnen: Jeweils 3 Bahnen stammen von einer Familie, die in der Reihenfolge, z. B. Nr. 1 (W), 3 (M) = Eltern, Nr. 2 = Jungtier, 4 (M), 6 (W) und 5 juv., angeordnet sind. – DNA-Fingerprint of 2 families of Cory's Shearwater (*Calonectris d. diomedea*) from an Aegean colony. Experimental procedure as in Fig. 1. Lane 1, 3, 4 and 6 present DNA-fingerprints of the parents (1, 6 females; 3 and 4 males), lanes 2 and 5 those of the respective offspring (which is one/pair in Cory's Shearwater).

Abb. 3 (rechts): DNA-Fingerprint von Jungvögeln des Eleonorenfalcons (*Falco eleonorae*). Reihenfolge: Tier Nr. 4 und 5 sind Geschwister, 1-3 und 6-10 stammen aus unterschiedlichen Nestern. – DNA-Fingerprint of nestlings of Eleonora's Falcon (*Falco eleonorae*). Experimental procedures as in Fig. 1. Lanes 1-10 represent DNA-fingerprints of nestlings from different eyries (with the exception of lane 4 and 5; which are siblings), but from the same island population.

In Abb. 3 haben wir Blutanalysen von Jungfalken des Eleonorenfalken dargestellt, wobei wir aus meist nicht benachbarten Horsten jeweils einen Vogel ausgewählt haben. Zu unserer Überraschung weisen selbst diese Tiere eine Reihe gemeinsamer Banden auf, die auf eine gemeinsame Verwandtschaft hindeuten; jedoch ist der Zeitpunkt verfrüht, über die biologische und populationsgenetische Bedeutung der Befunde zu spekulieren.

Diese ersten Analysen zeigen, daß sich die DNA-Fingerprint Methode zur Analyse von Verwandtschaftsbeziehungen innerhalb unser Sturmtaucher- und Falkenpopulation eignet. Die weitere Auswertung dieser Untersuchung wird an anderer Stelle publiziert werden.

### Literatur

- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts & J. D. Watson (1989): Molecular biology of the cell. – 2. Ed. Garland Publ. New York, London.
- 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.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, N. C. Saunders (1987): Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. – *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 489-522.
- Burke, T. & M. W. Bruford (1987): DNA fingerprinting in birds. – *Nature* 327: 149-152.
- Burke, T., N. B. Davies, M. W. Bruford & B. J. Hatchwell (1989): Parental care and mating behaviour of polyandrous dunnocks *Prunella modularis* related to paternity by DNA fingerprinting. – *Nature* 338: 249-251.
- Cracraft, J. (1987): DNA hybridization and avian phylogenetics. – *Evol. Biol.* 21: 47-96.
- Greenwood, P. J. (1980): Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. – *Anim. Behav.* 28: 1140-1162.
- Gyllenstein, U. B., S. Jakobsson & H. Temrin (1990): No evidence for illegitimate and polygynous warblers. – *Nature* 343, 168-169.
- Helbig, A. (1990): DNA-Analyse mittels Restriktionsenzymen: Bedeutung und mögliche Anwendung in der Ornithologie. – *J. Orn.* 131: 63-71.
- Jeffreys, A. J., V. Wilson & Swee Lay Thein (1985): Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA. – *Nature* 314: 67-73.
- Jeffreys, A. J., J. F. Y. Brookfield & R. Memeonoff (1985b): Positive case of an immigration test-case using DNA fingerprints. – *Nature* 317, 818-819.
- Kessler, L. G. & J. C. Avise (1984): Systematic relationships among waterfowl (Anatidae) inferred from restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA. – *Syst. Zool.* 33: 370-380.
- Kessler, L. G. & J. C. Avise (1985): A comparative description of mtDNA differentiation in selected avian and other vertebrate genera. – *Mol. Biol. Evol.* 2: 109-125.
- Maniatis, T. E., F. Fritsch & J. Sambrook (1982): Molecular cloning. A laboratory manual. – Cold Spring Harbour Laboratory.
- Quinn, T. W., J. S. Quinn, F. Cooke & B. N. White (1987): DNA marker analysis detects multiple maternity and paternity in single broods of the lesser snow goose. – *Nature* 326: 392-394.
- Ristow, D. & M. Wink (1980): Sexual dimorphism of Cory's Shearwater. – *II-Merill* 21: 9-12.



- Ristow, D. & M. Wink (1990): Distribution of non-breeding Eleonora's Falcon. – (in press).
- Ristow, D. & M. Wink (1985): Breeding success of the Eleonora's Falcon and conservation management. In: (Newton, I., Chancellor, R. D., eds.) Conservation studies on raptors. – ICBP Techn. Publ. 5: 147-152.
- Ristow, D., F. Feldmann, W. Scharlau & M. Wink: Population structure and mortality of Cory's Shearwater, *Calonectris d. diomedea*. – J. Orn. (submitted).
- Ristow, D., F. Feldmann, W. Scharlau, C. Wink & M. Wink (1990): Gene flow of island bird populations in the eastern Aegean. – (in press).
- Ristow, D., B. Conrad, C. Wink & M. Wink (1980): Pesticide residues of failed eggs of Eleonora's Falcon from an Aegean colony. – Ibis 122: 74-76.
- Ristow, D., W. Scharlau & M. Wink (1989): Population structure and mortality of Eleonora's Falcon, *Falco eleonorae*. In: Raptors in the modern world (eds. Meyburg, B. U., Chancellor, R. D.) – WWGBP, Berlin, London, Paris: 321-326.
- Ristow, D., C. Wink & M. Wink (1979): Site tenacity and pair bond of Eleonora's Falcon. – Il-Merill 20: 16-18.
- Ristow, D., C. Wink & M. Wink (1981): Telemetrie der Körpertemperatur des Gelbschnabelsturmtauchers (*Calonectris diomedea*). – Vogelwelt 102: 57-60.
- Ristow, D., C. Wink & M. Wink (1982): Biology of Eleonora's Falcon. 1. Individual and social defense behaviour. – Raptor Res. 16: 65-70.
- Ristow, D., C. Wink & M. Wink (1983): Biologie des Eleonorenfalcken (*Falco eleonorae*). 12. Die Anpassung des Jagdverhaltens an die vom Wind abhängigen Zugvogelhäufigkeiten. – Vogelwarte 32: 7-13.
- Ristow, D., C. Wink & M. Wink (1986): Assessment of Mediterranean autumn migration by prey analysis of Eleonora's Falcon. In: (A. Farina, ed.) – First Conf. on birds wintering in the Mediterranean region: 285-295.
- Ristow, D., C. Wink, M. Wink & H. Friemann (1983) Biologie des Eleonorenfalcken (*Falco eleonorae*). 14. Das Brutreifealter der Weibchen. – J. Orn. 124: 291-293.
- Ryskov, A. P., A. G. Jincharadze, M. I. Prosyak, P. L. Ivanov & S. A. Limborska (1988): M 13 phage DNA as a universal marker for DNA fingerprinting of animals, plants and microorganisms. – FEBS lett. 233: 388-392.
- Schäfer, R., H. Zischler & J. T. Epplen (1988a): (CAC)<sub>5</sub>, a very informative oligonucleotide probe for DNA fingerprinting. – Nucleic Acid Res. 16: 5196.
- Schäfer, R., H. Zischler, U. Birsner, A. Becker & J. Epplen (1988b): Optimized oligonucleotide probes for DNA fingerprinting. – Electrophoresis 9, 369-374.
- Shields, G. F. & A. C. Wilson (1987): Subspecies of the Canada Goose (*Branta canadensis*) have distinct mitochondrial DNA's. – Evolution 41: 662-666.
- Shields, G. F. & K. M. Helmychowski (1988): Mitochondrial DNA of birds. – Current Orn. 5: 273-295.
- Sibley, C. G. & J. E. Ahlquist (1986): Reconstructing bird phylogeny by comparing DNA's. – Sci. Am. 2/1986: 68-78.
- Smiley, G. S., C. F. Brunk & R. E. Pearlman (1983): Hybridization of nucleic acids directly in agarose gels. – Anal. Biochem. 131: 365-372.
- Wetton, J. H., R. E. Carter, D. T. Parkin & D. Walters (1987): Demographic study of a wild house sparrow population by DNA fingerprinting. – Nature 327: 147-149.
- Wink, M. & D. Ristow (1979): Zur Biometrie des Sexualdimorphismus des Gelbschnabelsturmtauchers (*Calonectris diomedea*). – Vogelwarte 30: 135-138.
- Wink, M., D. Ristow & C. Wink (1979): Biologie des Eleonorenfalcken (*Falco eleonorae*). 3. Parasitenbefall während der Brutzeit und Jugendentwicklung. – J. Orn. 120: 64-68.
- Wink, M., D. Ristow & C. Wink (1985): Biology of Eleonora's Falcon. 7. Variability of clutch size, egg dimensions and egg colouring. – Raptor Res. 19: 8-14.
- Wink, M., D. Ristow & W. Scharlau (1987). Niedrige Ei- und Körpertemperatur (Hypothermie) bei brütenden Gelbschnabelsturmtauchern (*Calonectris diomedea*). – J. Orn. 128: 334-338.

- Wink, M., W. Scharlau & D. Ristow (1987). Population structure in a colony of Eleonora's Falcon (*Falco eleonora*). – Suppl. Ric. Biol. Selvaggina 12, 301-306.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1979): Parasitenbefall juveniler und adulter Gelbschnabelsturmtaucher (*Calonectris diomedea*). – Bonn. Zool. Beitr. 30: 217-219.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1982). Brutbiologie mediterraner Gelbschnabelsturmtaucher *Calonectris d. diomedea*. – Seevögel, Sonderband: 127-135.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1978): Biologie des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). 2. Zur Vererbung der Gefiederphasen (hell-dunkel). – J. Orn. 119: 421-428.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1980): Biologie des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). 8. Die Gelegegröße in Relation zum Nahrungsangebot, Jagderfolg und Gewicht der Altfalken. – J. Orn. 121: 387-390.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1980): Biologie des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). 9. Eitemperaturen und Körpertemperaturen juveniler und adulter Falken. – Vogelwarte 30: 320-325.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1982): Biologie des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). 10. Einfluß der Horstlage auf den Bruterfolg. – J. Orn. 123: 401-408.
- Wink, M., C. Wink & D. Ristow (1982): Biologie des Eleonorenfalken (*Falco eleonora*). 11. Biometrie des Sexualdimorphismus adulter und flügger Falken. – Vogelwelt 103: 225-229.
- Wink, M., C. Wink, W. Scharlau & D. Ristow (1987): Ortstreue und Genfluß bei Inselvogelarten: Eleonorenfalken (*Falco eleonora*) und Gelbschnabelsturmtaucher (*Calonectris diomedea*). – J. Orn. 128: 485-488.