

**DNA-Analysen zum genetischen Status der Wildkatze
(*Felis silvestris*) in Deutschland**



Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität
zu Kiel

vorgelegt von
Iris Eckert

Kiel
2003

Referent/in: Prof. Dr. G. B. Hartl

Korreferent/in: Prof. Dr. D. Kruska

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Mai 2003

Zum Druck genehmigt: Kiel, den 7. Mai 2003

gez. Prof. Dr. W. Depmeier
Der Dekan

die Katze aber
will nichts als Katze sein,
und jede Katze ist Katze
vom Schnurrbart bis zum Schweif,
vom Vorgesmack auf lebendige Maus,
von der Nacht bis zu ihren goldenen
Augen.

Pablo Neruda

Inhalt

1. Einleitung	7
1.1 Thema der Arbeit	7
1.2 Systematik und Verbreitung der Art <i>Felis silvestris</i>	7
1.3 Status der Wildkatze (<i>F. s. silvestris</i>) in Europa	8
1.4 Zielsetzung	11
2. Material und Methoden	13
2.1 Auswahl der Untersuchungsgebiete	13
2.2 Probennahme	13
2.3 Labormethoden	16
2.3.1 DNA-Isolation	16
2.3.1.1 DNA-Isolation mit dem „Super Quick Gene“-Kit	16
2.3.1.2 DNA-Isolation aus Haarproben mit Phenol/Chloroform	16
2.3.1.3 DNA-Isolation mit dem „DNeasy Tissue Kit“	17
2.3.2 DNA-Sequenzanalyse der mitochondrialen Kontrollregion	18
2.3.2.1 Allgemeines	18
2.3.2.2 Polymerase Kettenreaktion (PCR)	19
2.3.2.3 Kontrolle der PCR-Amplifikation	20
2.3.2.4 Aufreinigung der PCR-Produkte	21
2.3.2.5 Sequenzierung	21
2.3.2.5.1 Cycle Sequencing	22
2.3.2.5.2 Ethanol-fällung	22
2.3.2.5.3 Automatische Sequenzierung	23
2.3.3 Mikrosatelliten-Analyse	23
2.3.3.1 Allgemeines	23
2.3.3.2 PCR	25
2.3.3.3 Fragmentlängenanalyse	26
2.4 Methoden der statistischen Auswertung	27
2.4.1 Mitochondriale Kontrollregion	27
2.4.1.1 Alignment	27
2.4.1.2 Maße für die genetische Diversität innerhalb der Populationen	28
2.4.1.3 Maße für die Divergenz zwischen Populationen	29
2.4.1.4 Analyse der molekularen Varianz (AMOVA)	29
2.4.1.5 Ähnlichkeitsbäume der Haplotypen	30
2.4.2 Mikrosatelliten	31
2.4.2.1 Kopplungsungleichgewicht	31
2.4.2.2 Maße für die genetische Diversität innerhalb der Populationen	31
2.4.2.3 Maße für die Divergenz zwischen Populationen	32
2.4.2.4 Erstellung von Ähnlichkeitsbäumen	33
2.4.2.5 Genetische Hauptkomponenten-Analyse	34
3. Ergebnisse	35
3.1 Analyse der mitochondrialen DNA	35
3.1.1 Variabilität innerhalb der Populationen	38

3.1.2 Differenzierung zwischen den Populationen	39
3.1.3 Verwandtschaft der Haplotypen	41
3.2 Mikrosatelliten-Analyse	45
3.2.1 Charakterisierung der Mikrosatellitenloci	45
3.2.2 Variabilität innerhalb der Populationen	46
3.2.3 Differenzierung zwischen den Populationen	47
3.2.4 Hauptkomponenten-Analyse	55
4. Diskussion	58
4.1 Größe der Stichproben	58
4.2 DNA-Isolation	59
4.3 Analyse der mitochondrialen DNA	59
4.3.1 Variabilität innerhalb der Populationen	59
4.3.2 Differenzierung zwischen den Populationen	62
4.3.3 Verwandtschaft der Haplotypen	63
4.4 Analyse der Kern-DNA	65
4.4.1 Charakterisierung der Mikrosatellitenloci	65
4.4.2 Variabilität innerhalb der Populationen	67
4.4.3 Differenzierung zwischen den Populationen	68
4.4.4 Hauptkomponenten-Analyse	71
4.5 Ergebnis	72
4.5.1 Genetische Variabilität und Differenzierung der Wildkatzenpopulationen	72
4.5.2 Genetische Variabilität und Differenzierung der Hauskatzen	73
4.5.3 Introgression von Hauskatzenallelen in den Wildkatzenpool und umgekehrt	74
5. Zusammenfassung	76
6. Summary	78
7. Literatur	80
8. Anhang	92
8.1 Abkürzungen und Symbole	92
8.2 Geräte	93
8.3 Chemikalien	93
8.4 Lösungen und Kits	94
8.5 Sequenzen	95
9. Danksagung	98
10. Lebenslauf	99
11. Erklärung	101



Abb. 1. Europäische Wildkatze (*Felis s. silvestris*) (Foto: Reinhard).

1. Einleitung

1.1 Thema der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit werden mittels molekularer Marker die rezenten Genpools der drei größten und einiger kleinerer Wildkatzenvorkommen Deutschlands sowie zweier Populationen aus Bulgarien analysiert. Die Untersuchung hat zwei Ziele: Zum einen soll festgestellt werden, ob und inwieweit die wenigen, zudem voneinander isolierten, rezenten Wildkatzenbestände in Deutschland noch als genetisch rein angesehen werden können. Deren Überprüfung auf eine Introgression von Hauskatzenallelen sowie auf den Grad der genetischen Verarmung erlaubt Schlußfolgerungen auf ihre Erhaltungswürdigkeit sowie auf ihre Eignung als Ausgangspopulationen für Wiedereinbürgerungen. Zum anderen soll geprüft werden, ob in den Genpool der Hauskatze, die mit den Römern vor etwa 2000 Jahren erstmals nach Europa gelangt ist, eine Introgression von Wildkatzenallelen der heimischen Unterart erfolgt ist.

1.2 Systematik und Verbreitung der Art *Felis silvestris*

Die Europäische Wildkatze (*Felis silvestris silvestris* Schreber 1777) und die Hauskatze (*Felis silvestris* f. *catus*) gehören der gleichen Art, *Felis silvestris*, an. Diese in weiten Teilen Europas, Afrikas und Asiens verbreitete Art wird gewöhnlich in drei Gruppen unterteilt: die Europäische Wildkatze oder Waldkatze (*silvestris*-Gruppe), die in Afrika beheimatete Falbkatze (*libyca*-Gruppe) und die Asiatische Wildkatze bzw. Steppenkatze (*ornata*-Gruppe). Während diese Formen früher als eigene Arten betrachtet wurden, gelten sie heute als Untergruppen derselben Spezies (HALTENORTH, 1953; NOWELL und JACKSON, 1996). In Vorderasien besteht eine Kontakt- und Mischzone mit unklaren Verbreitungsgrenzen der drei Formen (BENECKE, 2001).

Die meisten Autoren leiten die domestizierte Form von der im Nahen Osten und Afrika verbreiteten Falbkatze ab (CLUTTON-BROCK, 1981; HERRE und RÖHRS, 1990; BENECKE, 2001). Kulturhistorische Erkenntnisse sprechen ebenso dafür wie morphologische Befunde (Fellmerkmale, Schädelbau). Demnach ist die Katze vor 6.000 bis 4.000 Jahren in Ägypten domestiziert worden und erstmals vor 2.000 Jahren mit den Römern nach Europa gelangt. POCOCK (1907) vertritt jedoch unter Berücksichtigung von Schädelform und Fellfärbung die Auffassung, daß auch die europäische Unterart aufgrund früher Hybridisierung im Genpool der Hauskatze vertreten ist. Gelegentlich wurde auch die Beteiligung anderer Kat-

zenarten vermutet, beispielsweise des Manuls (*Felis manul*) oder der Rohrkatze (*Felis chaus*). Die letzteren Einschätzungen beruhten aber auf Einzelmerkmalen und wurden eindeutig widerlegt (BENECKE, 2001). Mittels Allozymelektrophorese gewonnene Daten von Hauskatzen und Wildkatzen der Unterarten *Felis s. silvestris* und *Felis s. lybica* aus Italien (RANDI und RAGNI, 1991) stützen die Hypothese einer Abstammung der Hauskatze von *Felis s. lybica*. Seit der Mitte des 1. nachchristlichen Jahrtausends gehört die Hauskatze zum festen Bestandteil der europäischen Haustierfauna (BENECKE, 2001).

Das Verbreitungsgebiet der Europäischen Wildkatze im weiteren Sinne erstreckte sich ursprünglich über ganz Europa mit Ausnahme Skandinaviens sowie über Teile Vorderasiens (Türkei, Kaukasus) (STAHL und ARTOIS, 1991). Drei Unterarten werden beschrieben (NOWELL und JACKSON, 1996): *F. s. grampia* in Schottland, *F. s. caucasica* im Kaukasus und in der Türkei sowie *F. s. silvestris*, die Europäische Wildkatze im engeren Sinne. Die Europäische Wildkatze ähnelt einer getigerten Hauskatze. Im Vergleich zur Hauskatze zeichnet sie sich jedoch durch einen mächtigeren Körper, kürzere Beine, einen breiteren Kopf und einen kurzen, buschigen Schwanz aus. Die Fellzeichnung ist verwaschen (Abb. 1).

1.3 Status der Wildkatze (*F. s. silvestris*) in Europa

Als Folge der starken Bejagung und des Verlustes an Lebensräumen durch Zerschneidung und Zersiedelung von Landschaften sank die Zahl der Wildkatzen in Westeuropa bis in die erste Hälfte des 20. Jahrhunderts drastisch. Da die Europäische Wildkatze ausschließlich in Wäldern lebt, ist sie von Abholzungen besonders stark betroffen. In einigen Ländern (Österreich, Niederlande) ist sie vollständig ausgerottet (PIECHOCKI, 1990). Die Wildkatze kommt heute in Westeuropa nur noch in begrenzten, voneinander isolierten Gebieten vor (Abb. 2), während es im Osten Europas noch ein größeres zusammenhängendes Verbreitungsgebiet gibt (STAHL und ARTOIS, 1991). Innerhalb dieser Zonen sind die verbleibenden Habitate oftmals fragmentiert (RÖBEN, 1974; PIECHOCKI, 1990). Die Verkleinerung und Verinselung von Beständen in der Kulturlandschaft führt durch genetische Drift in der Regel zu einem Verlust an genetischer Vielfalt (HARTL und CSAIKL, 1987; HARTL, 1989; VRIJENHOEK, 1994; POPE, 1996). Eine solche genetische Verarmung kann schlimmstenfalls zu Inzuchtschäden führen, zumindest aber zu einer geringeren Anpassungsfähigkeit (ALLENDORF und LEARY, 1986; AVISE, 1994). Einige der Wildkatzenpopulationen bestehen aus nicht mehr als 30 Individuen und sind daher massiv von den Auswirkungen genetischer Drift bedroht.

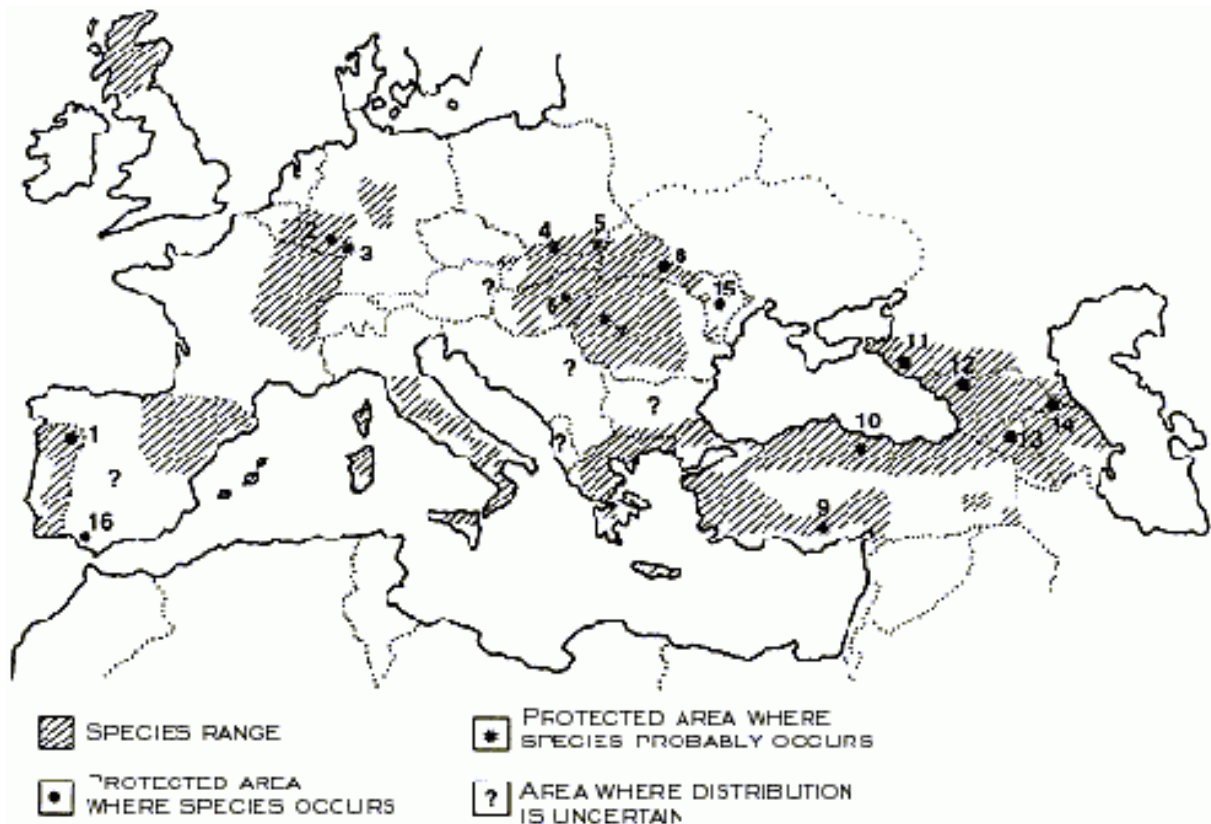


Abb. 2. Heutige Verbreitung der Europäischen Wildkatze (*Felis silvestris*, *silvestris*-Gruppe) nach STAHL und ARTOIS (1991)

Eine weitere Gefahr besteht in der möglichen Hybridisierung mit verwilderten oder freilaufenden Hauskatzen. Der früheste Bericht über eine Bastardierung der beiden Formen stammt von BEWICK (1807), und ihr Auftreten wurde mittlerweile in allen Teilen Europas beobachtet (STAHL und ARTOIS, 1991). Erhebliche Uneinigkeit besteht jedoch hinsichtlich des Ausmaßes der Introgression von Hauskatzen in Wildkatzenpools. Während SUMINSKI (1962; 1977) das Vorkommen reiner Wildkatzenbestände generell in Frage stellt und FRENCH et al. (1988), HUBBARD et al. (1992) sowie BEAUMONT et al. (2001) über eine häufige Hybridisierung von schottischen Wild- und Hauskatzen berichten, können nach PARENT (1974) nur etwa zwei Prozent der belgischen Wildkatzen als Hybriden bezeichnet werden. Nach PIECHOCKI (1990) waren nur ein Prozent der von ihm in der ehemaligen DDR erfassten Tiere Blendlinge. Auch bei Untersuchungen in Italien wurde der Genfluss zwischen sympatrischen Populationen von Wildkatzen und verwilderten Hauskatzen als gering und örtlich begrenzt eingeschätzt (RAGNI und RANDI, 1986; RANDI et al., 2001).

Derartig voneinander abweichende Beurteilungen haben neben tatsächlichen regionalen Unterschieden im Grad der Bastardierung auch mit den jeweils ins Auge gefaßten Merkmalen von Wildkatzen, Hauskatzen und Hybriden zu tun. Eine äußerliche Unterscheidung der jeweils angenommenen reinen Formen aufgrund der Fellfärbung und -zeichnung ist nicht immer stichhaltig. Morphologische Unterschiede in Skelettmerkmalen sind verlässlicher, aber aufgrund der hohen Variabilität auch nicht immer sicher zu diagnostizieren (KRATOCHVIL, 1973; 1976; 1977; KITCHENER et al., 1992). Beides gilt insbesondere in Bezug auf die Identifikation von Mischlingen unterschiedlichen Grades (RAGNI und RANDI, 1986; PIECHOCKI, 1990; RAGNI, 1993; HEMMER, 1993; DANIELS et al., 1998). Als relativ sichere Merkmale für reine Vertreter der beiden Gruppen gelten die Schädelkapazität und die Darmlänge (SCHAUENBERG, 1969; 1977; PIECHOCKI, 1990; KITCHENER et al., 1992), wobei diese Merkmale nicht immer zur Verfügung stehen.

In den letzten Jahren wurden verstärkt molekulargenetische Arbeiten zur Frage der Hybridisierung von Haus- und Wildkatzen durchgeführt (HUBBARD et al., 1992, RANDI et al., 2001, HILLE et al., 2000). DNA-Analysen haben gegenüber morphologischen Untersuchungen den Vorteil, dass bereits kleine Gewebemengen ausreichen. Sie ermöglichen dadurch außerdem eine weniger invasive Probennahme. WISEMAN et al. (2000) kommen aufgrund von molekulargenetischen Studien an Hauskatzen und Falbkatzen in Südafrika zu dem Schluss, dass der Genfluss zwischen diesen beiden Formen gering ist. Der genetische Status der Wildkatzen in Deutschland wurde bisher noch nicht eingehend untersucht. Für die Population in der Eifel liegt mittlerweile eine Pilotstudie zur Identifizierung von Haus- und Wildkatzen anhand von Mikrosatellitenallelen vor, die sich allerdings auf eine Stichprobe von nur 24 Tieren stützt (HILLE et al., 2000).

In der letzten Zeit ist die Europäische Wildkatze als bedrohte Unterart zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses gerückt. Neben genetischen Untersuchungen zur Frage der Hybridisierung wurden Bestandsaufnahmen (RAIMER, 1989; 1994; STAHL und ARTOIS, 1991), telemetriegestützte Verhaltensstudien (STAHL et al., 1988; SZEMETHY, 1993; WITTMER, 2001; HUPE, MÖLICH, *beide unveröffentlicht*) sowie Untersuchungen zur Morphologie und zu Mageninhalten (KOCK und ALTMANN, 1999; MEINIG, 2002) durchgeführt. In Deutschland sind mehrere Wiederansiedlungsprojekte im Gange (zur Wiedereinbürgerung der Wildkatze in Bayern siehe z.B. WOREL, 1991). Daneben gibt es Bemühungen, Verbindungen zwischen isolierten Populationen herzustellen.

1.4 Zielsetzung

Mittels molekularer Marker soll die genetische Variabilität von Wild- und Hauskatzenbeständen analysiert werden. Zwei in der Regel hochpolymorphe Markersysteme, eine Sequenz aus der Kontrollregion mitochondrialer DNA (VILLABLANCA, 1994; O'BRIEN et al., 1995) und Mikrosatelliten (MENOTTI-RAYMOND und O'BRIEN, 1995) werden verwendet. Durch die Gegenüberstellung der Variation in einem rein maternal vererbten Markersystem und einem der Rekombination unterliegenden Kern-DNA-Markensystem wird einerseits einer möglichen geschlechtsspezifischen Gerichtetheit der Introgression (SZEMETHY, 1993), andererseits einer unterschiedlichen Anfälligkeit der Marker für genetische Engpässe (AVISE, 1994) Rechnung getragen.

Die Ziele der Untersuchung sind im Einzelnen:

- 1) *Erhebung des Grades an genetischer Verarmung der Wildkatze in der Kulturlandschaft:* Dabei werden sowohl die drei deutschen Kernvorkommen im Harz, der Eifel und in der Pfalz (PIECHOCKI, 1990) als auch einige kleinere Populationen berücksichtigt. Um festzustellen, inwieweit sich die genetische Variabilität der hiesigen Wildkatzen von jener unter naturnäheren Bedingungen mit deutlich größeren Bestandszahlen unterscheidet, werden Wildkatzen aus dem osteuropäischen Raum (Bulgarien) in die Untersuchung miteinbezogen. Bei größeren effektiven Populationsgrößen und ungehinderter Migration sollte die genetische Variabilität höher sein als in kleinen, isolierten Beständen.
- 2) *Abschätzung der genetischen Differenzierung zwischen Wildkatzenbeständen in der Kulturlandschaft:* Die Verkleinerung und Verinselung von Beständen führt durch genetische Drift und fehlenden genetischen Austausch in der Regel auch zu einem Anstieg an Differenzierung zwischen denselben. Kleinere Populationen sollten untereinander stärker differenziert sein als größere Populationen.
- 3) *Ermittlung der Introgression von Hauskatzenallelen in Wildkatzenpopulationen:* Es ist zu klären, inwieweit genetisch reine Genpools der Wildkatze in Deutschland existieren und welches Ausmaß eine etwaige Introgression von Hauskatzenallelen erreicht hat. Parallel zu den Untersuchungen an Wildkatzen und unter Verwendung derselben genetischen Marker werden mehrere Stichproben deutscher Hauskatzen aus unterschiedlichen Gegenden analysiert. Die auftretenden Allele bzw.

Haplotypen werden mit denen der Wildkatzen verglichen. Nach STAHL und ARTOIS (1991) wäre bei den Randpopulationen ein höherer Hybridisierungsgrad zu erwarten.

- 4) *Ermittlung der Introgression von Wildkatzenallelen in Hauskatzenpopulationen:* Abgesehen von der Durchsetzung rezenter Wildkatzenbestände mit Hauskatzenallelen kann auch ein Genfluß von der Wildkatze zur Hauskatze stattgefunden haben bzw. noch im Gange sein, dessen Ausmaß abgeschätzt werden soll.

2. Material und Methoden

2.1 Auswahl der Untersuchungsgebiete

Die untersuchten Stichproben (Tab. 1) wurden nach den folgenden Kriterien ausgewählt: Eifel, Pfalz und Harz sind Gebiete, in denen noch als „gut“ eingestufte Wildkatzenbestände mit jeweils mehr als 200 Individuen leben (RÖBEN, 1974; PIECHOCKI, 1990). Diese Bestände sollten in Deutschland den geringsten Grad an genetischer Verarmung aufweisen und könnten am ehesten frei von Hauskatzenallelen sein. Im Nationalpark Hainich sowie im Solling und Hochtaunus liegen kleine, mehr oder weniger isolierte Vorkommen mit höchstens 30 Tieren (Abb. 3, PIECHOCKI, 1990), die vermutlich starker genetischer Drift unterliegen und bei denen eine Introgression von Hauskatzenallelen wahrscheinlicher ist (STAHL und ARTOIS, 1991). Zusätzlich lagen einige Proben von Wildkatzen vor allem aus dem Bereich Harz / Solling vor, deren genaue Zugehörigkeit zu einer der Populationen nicht feststellbar war. Die Wildkatzenproben aus Bulgarien (Rila-Gebirge, Balkan) repräsentieren Bestände, die im Vergleich mit der Situation in Deutschland als relativ ursprünglich, d.h. weniger durch anthropogene Einwirkungen beeinflusst, gelten können (ZIMINA, 1962).

Die rezente Hauskatzenstichprobe aus Schleswig-Holstein, einem seit Jahrhunderten wildkatzenfreien Gebiet (HEINRICH, 1999) dient ebenso wie die Stichprobe aus Berlin als Referenzbestand für Hauskatzenallele. Allerdings sind auch hier vergangene lokale Einkreuzungen der Europäischen Wildkatze nicht ganz auszuschließen. Die anderen Stichproben rezenter Hauskatzen stammen jeweils aus der Umgebung der ausgewählten Wildkatzenpopulationen und dienen der Feststellung von Introgression in eine oder beide Richtungen.

Daneben wurden drei Katzen aus den Gebieten Eifel und Pfalz untersucht, bei denen nach morphologischen Kriterien keine Zuordnung zu einer der beiden Gruppen möglich war. Eine davon wurde allein aufgrund ihres Mageninhaltes als Hauskatze klassifiziert (MEINIG, 2002).

2.2 Probennahme

Die Hauskatzenproben aus Schleswig-Holstein und aus dem Harz sowie die meisten der Hauskatzenproben aus der Eifel wurden durch das Abstreifen loser Haare gewonnen. Die Proben aus Schleswig-Holstein stammten überwiegend von Bauernhofkatzen zwischen Flensburg und der Lübecker Bucht. Die Harzer Proben wurden im nördlichen Bereich des Harzes gesammelt. Die Hauskatzenproben aus der Eifel wurden teilweise von einem Tierheim in

Form von Haarproben zur Verfügung gestellt, teilweise stammen sie von Katzen, die von Herrn Dr. Herrmann, OEKO-LOG Freilandforschung in Parlow, morphologisch untersucht worden waren. Aus der Pfalz und aus dem Taunus wurden von verschiedenen Tierärzten Blutproben zur Verfügung gestellt. Die Leberproben aus diesen Gebieten stellte Herr Dr. Herrmann zur Verfügung, ebenso eine Reihe von Hauskatzenproben, deren Zuordnung zu einer der beiden Populationen leider nicht mehr möglich war. Die Blutproben aus Berlin stammen von Frau Dr. Kalz, Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin, die eine Telemetriestudie an verwilderten Katzen durchführte.

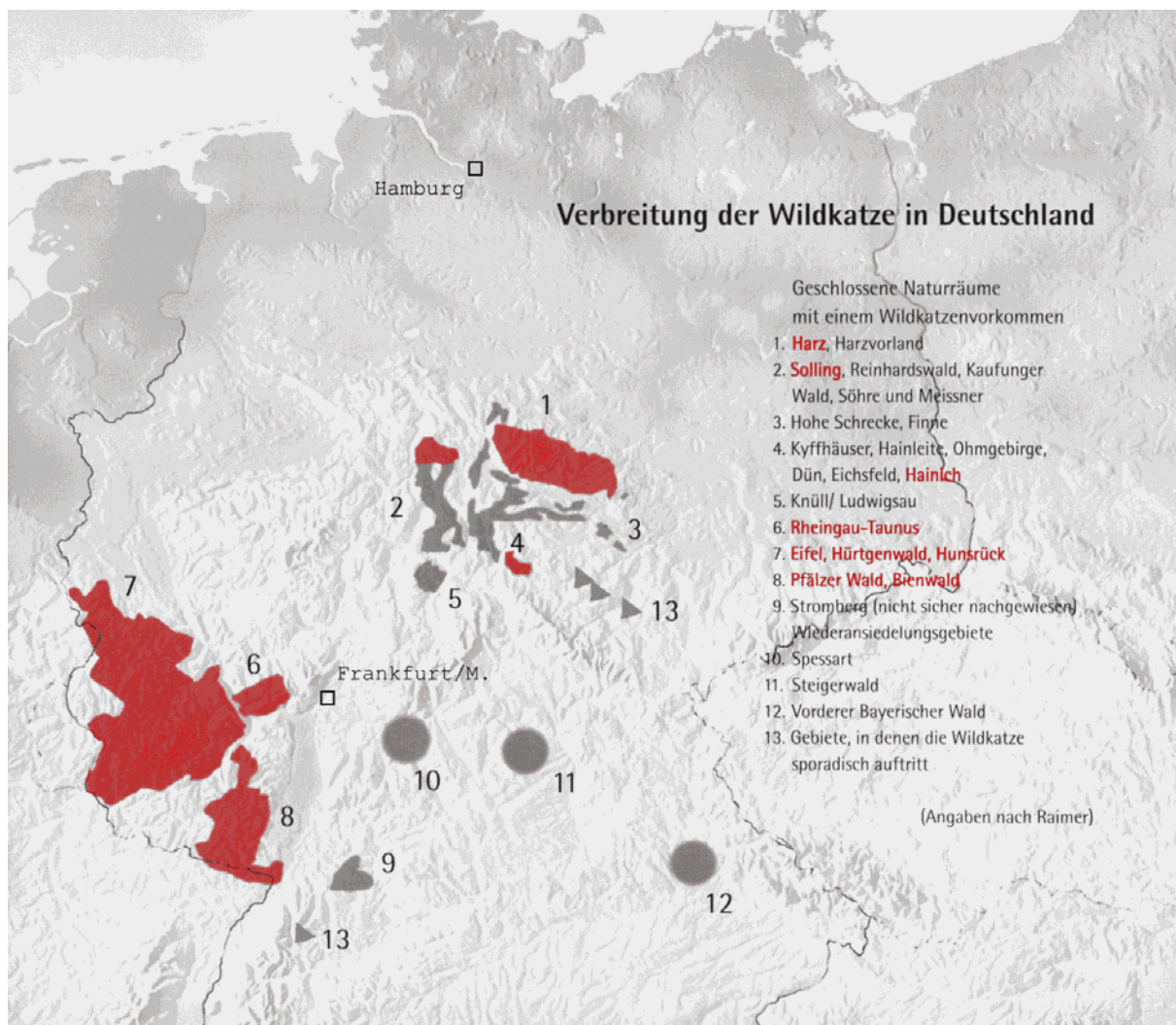


Abb. 3. Vorkommen der Europäischen Wildkatze (*Felis silvestris silvestris*) in Deutschland (nach RAIMER, Abbildung aus GRABE und WOREL, 2001). Bestände, aus denen Stichproben untersucht wurden, sind rot markiert.

Bei den Wildkatzenproben handelte es sich überwiegend um Leber- oder Muskelproben von Totfunden. Die Proben aus der Eifel und der Pfalz wurden von Herrn Dr. Herrmann zur Verfügung gestellt, die aus dem Harz von Herrn Dr. Heidecke, Institut für Zoologie der Martin-Luther-Universität, Halle, und die aus Bulgarien von Herrn Dr. Markov, Institute of Zoology, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia. Weitere Wildkatzenproben (Taunus) stammten von Herrn Dr. Kock, Forschungsinstitut und Naturmuseum Senckenberg, Frankfurt. Hier handelte es sich teilweise um Fellproben. Alle Tiere waren vorher morphologisch untersucht und als Wildkatzen klassifiziert worden. Entscheidende Kriterien waren dabei neben der Fellzeichnung die Schädelkapazität und die Darmlänge. (SCHAUENBERG, 1969; PIECHOCKI, 1990) Die Stichprobe aus dem Hainich setzt sich aus Tieren zusammen, von denen im Rahmen einer noch unveröffentlichten Telemetriestudie von Herrn Dipl.-Biol. Mölich, Craula, Proben entnommen wurden. In der Sollinger Stichprobe sind Individuen vertreten, von denen, ebenfalls im Zuge einer Telemetriestudie (HUPE, *unveröffentlicht*), Blutproben entnommen wurden, und solche, die als Totfunde morphologisch untersucht worden sind. Diese Proben wurden mir in Form von fertigen DNA-Isolaten von Herrn Dr. Randi und Herrn Dr. Pierpaoli, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Ozzano dell'Emilia, überlassen.

Tab. 1. Untersuchungsgebiete (n = Stichprobengröße). HK = Hauskatzen, WK = Wildkatzen.

Populationen	n	Art der Probe
HK Holstein	28	Haare
HK Eifel	24	Haare, Leber
HK Pfalz	21	Blut, Leber
HK Taunus	13	Blut
HK Berlin	25	Blut
HK Harz	26	Haare
HK ohne Zuordnung (Eifel, Pfalz)	11	Leber
HK insgesamt	148	
WK Eifel	12	Leber
WK Pfalz	08	Leber
WK Taunus	08	Leber, Fell
WK Hainich	06	Haut aus dem Ohr
WK Harz	20	Leber, Muskel
WK Solling	12	Isolate (Muskel, Blut)
WK Bulgarien 1	08	Leber
WK Bulgarien 2	07	Leber
WK Bulgarien 3	02	Leber
WK ohne Zuordnung (Harz, Solling u.a.)	13	Isolate (Muskel, Blut)
WK insgesamt	96	

2.3 Labormethoden

2.3.1 DNA-Isolation

Die Isolation aus Leber-, Muskel- und Blutproben erfolgte routinemäßig mit Hilfe des „Super Quick Gene“-Kits der Firma AGTC, Denver, USA. Die Isolation aus Haaren musste dagegen erst noch optimiert werden. Sie erfolgte nach anfänglichen Versuchen mit dem Chelex-Protokoll (WALSH et al., 1991) zunächst mittels einer Proteinase K-Verdauung mit anschließender Phenol-Chloroform-Extraktion, später mit Hilfe des „DNeasy Tissue Kit“ von Qiagen. DNA aus Fellproben wurde ebenfalls mit diesem Kit extrahiert.

2.3.1.1 DNA-Isolation mit dem „Super Quick Gene“-Kit

Ungefähr 100 mg Leber- oder Muskelgewebe wurden mit dem Skalpell zerkleinert und mit 1,3 ml „White Cell Lysis Buffer“ (Lysispuffer) versetzt. Alternativ wurden anstelle des Gewebes abzentrifugierte Blutzellen eingesetzt. Anschließend wurden 18 µl DTT und 100 µl Proteinase K (Konzentration 20 mg/ml) dazugegeben. Nach dem Durchmischen mit dem Vortexer wurde die Lösung bei 55° C über Nacht im Wasserbad inkubiert. Danach wurden 0,45 ml proteinpräzipitierendes Reagens sowie 180 µl 10%-ige SDS-Lösung hinzugefügt. Im Anschluß daran wurde die Probe für eine Stunde abermals bei 55° C im Wasserbad inkubiert. Die darauf folgende Zentrifugation (20 Minuten bei 3500 U/min) bewirkte ein Absetzen der Gewebereste und ausgefällten Proteine. Der klare Überstand enthielt die DNA; er wurde mit 4 ml 96%-igem Ethanol versetzt und über Nacht bei –20° C eingefroren. Nach einer weiteren Zentrifugation (20 Minuten bei 11.000 U/min) wurde das nach dem Verwerfen des Überstandes zurückbleibende Pellet 20 Minuten lang bei 37° C im Wärmeschrank getrocknet. Nachdem die DNA in 100 µl Tris (Konzentration 10 mM, pH-Wert 8,5) resuspendiert worden war, wurde das Isolat bei -20° C bis zur Verwendung gelagert.

2.3.1.2 DNA-Isolation aus Haarproben mit Phenol/Chloroform

Bis zu 30 Haare wurden mit einer Schere zerkleinert. Die Teile mit der Haarwurzel wurden in 450 µl Lysispuffer (100 mM Tris pH 8, 10 mM EDTA, 100 mM NaCl, 0,1 % SDS) gegeben und mit 40 µl DTT und 30 µl Proteinase K (10 mg/ml) versetzt. Anschließend wurden die

Proben mit dem Vortexer gemischt und über Nacht bei 55° C im Wasserbad inkubiert. Hatten sich die Haare noch nicht vollständig aufgelöst, wurde Proteinase nachgegeben und die Inkubationszeit verlängert. Daraufhin wurde die DNA mit einer Phenol-Chloroform-Extraktion (vgl. SAMBROOK et al., 1989) extrahiert und gereinigt. Die Proben wurden mit je 250 µl Phenol und Chloroform versetzt und fünf Minuten bei 8.000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde in ein neues Gefäß überführt, mit 500 µl Chloroform versetzt und wieder fünf Minuten zentrifugiert. Zu dem Überstand wurden 750 µl Ethanol sowie 150 µl Natriumacetat (3M) gegeben, und die DNA wurde bei -20° C über Nacht ausgefällt. Am nächsten Tag wurde die DNA bei 14.000 U/min abzentrifugiert. Zu der Probe wurden noch einmal 500 µl 70%igem Ethanol gegeben. Nach einer letzten Zentrifugation wurde die DNA getrocknet und in 50 µl Tris pH 8,5 gelöst.

2.3.1.3 DNA-Isolation mit dem „DNeasy Tissue Kit“

Die Haarproben wurden wie oben zerkleinert und in demselben Lysispuffer inkubiert. Kleine Fellstückchen aus Museumsbeständen wurden zur Vermeidung von Kontaminationen oberflächlich von Haaren befreit und mit UV-Licht bestrahlt, bevor sie in den Puffer gegeben wurden. Am darauffolgenden Tag wurden die Proben gemäß den Herstellerangaben (Qiagen Handbuch, Sonderprotokoll für Haarproben) weiterbearbeitet. Die Isolation mit dem „DNeasy Tissue Kit“ beruht wie alle Isolationsverfahren auf einer Verdauung des Gewebes und einer anschließenden Reinigung der so freigesetzten DNA. In diesem Fall wird die DNA an einen Filter gebunden und in mehreren Schritten durch Zugabe von Waschpuffern und anschließende Zentrifugation von Stoffen, die sich bei der PCR störend auswirken könnten, befreit. Schließlich wird sie mit 100 µl AE-Puffer wieder von dem Filter gelöst und steht nunmehr in hoch reiner Form für PCR-Amplifikationen zur Verfügung. Abweichend vom Herstellerprotokoll wurde ein anderer Lysispuffer (s.o.) verwendet. Außerdem wurden die Proben aufgrund der größeren Ausgangsmenge an Puffer mit je 400 µl statt 200 µl AL-Puffer und 96%igem Ethanol versetzt.

2.3.2 DNA-Sequenzanalyse der mitochondrialen Kontrollregion

2.3.2.1 Allgemeines

Aufgrund der hohen Evolutionsrate der Kontrollregion eignet sich dieser Abschnitt des mitochondrialen Genoms gut für Untersuchungen von Arten oder Populationen mit geringer Divergenzzeit (BROWN et al., 1979). Als einziger nicht kodierender Bereich der mitochondrialen DNA gilt er als selektiv neutral (EDWARDS, 1993). Mitochondrien liegen im Gewebe in einer hohen Kopienzahl vor, so dass ihre DNA leicht zu isolieren ist. Durch die weitgehend maternale Vererbung (GYLLENSTEN et al., 1991) ohne Rekombination wird das mitochondriale Genom stärker durch genetische Drift beeinflusst, und genetische Engpässe können leichter nachgewiesen werden als bei einer Untersuchung des nuklearen Genoms (WILSON et al., 1985; BROWN et al., 1979; HARRISON, 1989; AVISE, 1994). Die Kontrollregion teilt sich in drei Domänen: ein vergleichsweise konservativer zentraler Bereich wird von zwei hypervariablen Bereichen umschlossen (SACCONI et al., 1991). Sequenzunterschiede zwischen den Mitochondrien eines Individuums (Heteroplasmie) gelten als selten (AVISE et al., 1987). Gelegentlich treten im Kern-Genom Kopien (sog. Pseudogene) mitochondrialer DNA-Abschnitte auf (QUINN, 1992). Bei Katzen ist die Existenz eines solchen Pseudogens nur für den hinteren Abschnitt der Kontrollregion bekannt (LOPEZ et al., 1996).

Zur Untersuchung der maternal vererbten genetischen Variation wurde ein Abschnitt aus dem vorderen hypervariablen Teil (5'-Ende) der mitochondrialen Kontrollregion mittels PCR amplifiziert und das gereinigte Produkt anschließend auf dem ABI 373 sequenziert. Die dazu benötigten Primer wurden auf der Grundlage der von LOPEZ et al. (1996) veröffentlichten Gesamtsequenz der mitochondrialen DNA einer Hauskatze entwickelt. Zunächst wurden die Primer Lf 15926 f, der ein Stück vor der Kontrollregion im Bereich der Thr-tRNA bindet (nach KOCHER et al., 1989, verändert für *Felis silvestris*) und DLH (TIEDEMANN et al., 1996) verwendet, mit deren Hilfe ein ca. 770 Basenpaare (bp) langer Abschnitt amplifiziert werden sollte. Aufgrund des Vorliegens von Wiederholungseinheiten innerhalb der Kontrollregion wurde die DNA schließlich in zwei Teilen amplifiziert und sequenziert, wobei die selbst entwickelten Primer Hf 3 und Lf 4 zum Einsatz kamen. Dabei wurden die Primer LF 15926 f und Hf 3 sowie Lf 4 und DLH kombiniert.

Tab. 2. Sequenzen der verwendeten Primer.

Lf 15926 f	L-Primer	5'-ATA TAA AAT ACT TTG GTC TTG TAA ACC-3'
Hf 3	H-Primer	5'-GGG TGT ATA ATA CCC CCT GGG GTG AGT TG-3'
Lf 4	L-Primer	5'-GAC ATA ATA GTG CTT AAT CGT GC-3'
DLH	H-Primer	5'-CCT GAA GTA AGA ACC AGA TG-3'

2.3.2.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion, kurz PCR (*polymerase chain reaction*), ist ein zyklisches Verfahren zur *in vitro*-Amplifikation von DNA-Abschnitten mit bekannten flankierenden Sequenzen. Aufgrund der exponentiellen Vervielfältigung können auch kleinste DNA-Ausgangsmengen einer Untersuchung zugänglich gemacht werden (MULLIS et al., 1986). Durch die Bereitstellung einer hitzestabilen DNA-Polymerase, die aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wurde und nach ihrem Ursprungsorganismus als *Taq*-Polymerase bezeichnet wird, konnte die PCR wesentlich verbessert werden (SAIKI et al., 1988).

Nach einer vorgeschalteten Denaturierung der DNA bei 96° C, bei der sich die beiden komplementären Stränge trennen, wurde nach Abkühlung auf 88° C die *Taq*-Polymerase hinzugegeben (sog. „Hot-Start-PCR“). Im Anschluss daran begannen die Amplifikations-zyklen: Nach einer erneuten Denaturierung bei 94° C erfolgt das sogenannte Annealing, d. h. die Anbindung der beiden Primer an die DNA bei einer für die jeweiligen Primer spezifischen Temperatur. Nach Erwärmung auf das Temperaturoptimum der *Taq*-Polymerase (72° C) kommt es unter Verwendung der beigefügten Nukleotidtriphosphate (NTPs) zur Bildung der neuen, mit den Primern beginnenden DNA-Stränge (sog. Extending). Die neu gebildeten Stränge werden anschließend wieder getrennt, womit ein neuer Amplifikationszyklus beginnt (Tab. 3). Nach Ablauf von 39 solcher Zyklen und einem letzten Extending-Schritt bei 72°C wurde das PCR-Produkt auf 4°C abgekühlt.

Der Reaktionsansatz einer PCR für eine einzelne Probe ist in Tabelle 4 wiedergegeben. Je nach Qualität der DNA-Isolate wurden 1 bis 2 µl, bei Haarproben bis zu 8 µl DNA-Isolat eingesetzt. Zur Wahrung des Gesamtvolumens (75 µl) wurde die Wassermenge entsprechend verändert. Neben der Hot-Start-PCR, bei der die Polymerase dem Reaktionsansatz erst nach einem anfänglichen Denaturierungsschritt hinzugegeben wird, wurden auch PCRs durchgeführt, bei denen die Polymerase bereits von Anfang an im Reaktionsansatz enthalten war. Das Ergebnis wurde dadurch nicht beeinträchtigt.

Tab.3. PCR-Profil für Hot-Start-PCRs.

Schritt	Zeit (min)	Temperatur (°C)
Denaturierung	5:00	96
Polymerase-Zugabe	0:40	88
Amplifikationszyklus (1.-3.: 39x)		
1. Denaturierung	1:30	94
2. Annealing	1:15	55
3. Extending	1:30	72
	10:00	72
Kühlung	bis ∞	4

Tab.4. Reaktionsansatz für die PCR einer einzelnen Probe (Sequenzen).

Reaktionskomponenten (Konzentration)	Eingesetztes Volumen (µl)
ddH ₂ O	61,2
MgCl ₂ -Puffer	7,50
NTPs (je 2 µM)	2,00
L-Primer (10 µM)	1,50
H-Primer (10 µM)	1,50
<i>Taq</i> -Polymerase (5000 Units/ml)	0,30
DNA-Isolat	1,00

2.3.2.3 Kontrolle der PCR-Amplifikation

Zur Überprüfung der PCR-Amplifikation wurden 10 µl der erhaltenen PCR-Produkte gemeinsam mit jeweils 1 µl Gelladepuffer auf ein 1,5%-iges, mit Ethidiumbromid versetztes Agarose-Gel aufgetragen. Das Ethidiumbromid lagert sich zwischen den Basenpaaren der DNA-Doppelhelix ein und kann mit ultraviolettem Licht sichtbar gemacht werden, so dass auch geringe Mengen an DNA nachweisbar sind. Bei ca. 90 V und ungefähr 200 mA wurden die PCR-Produkte für etwa 20 Minuten elektrophoretisch ihrer Länge nach aufgetrennt. Aufgrund der durch die Phosphatreste bedingten negativen Gesamtladung wandert die DNA im elektri-

schen Feld von der Kathode zur Anode. Als Vergleichsmaßstab diente ein Längenstandard (100 bp Ladder), der parallel zu den zu überprüfenden Proben mitlief. Auf einem UV-Leuchttisch wurde die Existenz der als Banden sichtbaren PCR-Produkte überprüft und gegebenenfalls auch ihre ungefähre Fragmentlänge abgeschätzt. Das Bandenmuster auf dem Gel wurde mit einer Polaroidkamera photographisch dokumentiert.

2.3.2.4 Aufreinigung der PCR-Produkte

Bevor die PCR-Produkte sequenziert werden können, müssen sie von überschüssigen Nukleotiden, Primern und Polymerase gereinigt werden. Die Aufreinigung erfolgte mit dem „QIAquick PCR Purification Kit“ der Firma Qiagen. Hierbei wurde die DNA zunächst an eine Membran gebunden und dann in mehreren Schritten durch Zugabe von Waschpuffern und anschließende Zentrifugation gereinigt (Protokoll QIAquick Handbuch 4/2000). Schließlich wurde sie mit 30 µl 10 mM Tris (pH 8,5) wieder von der Membran gelöst und war einsatzbereit. Die aufgereinigten Produkte wurden abermals im Agarosegel überprüft.

2.3.2.5 Sequenzierung

Die Sequenzierung erfolgte mit der Kettenabbruchmethode nach SANGER et al. (1977). Hierbei werden in einer PCR mit nur einem Primer neben NTPs auch fluoreszenzmarkierte ddNTPs (Didesoxynucleotidtriphosphate) zufällig in die Kopien der vorliegenden DNA eingebaut, was zu einem Abbruch der Verlängerung führt („Cycle Sequencing“). Auf diesem Wege entsteht eine große Zahl unterschiedlich langer DNA-Fragmente mit je einem markierten Nukleotid am 3'-Ende. Wegen der unterschiedlichen Markierung der vier Nukleotide kann die Sequenzierung einer Probe in einem gemeinsamen Reaktionsansatz erfolgen. Die Produkte der Reaktion werden aufgereinigt und in einem automatischen Sequenziergerät elektrophoretisch aufgetrennt. Ein Laser registriert die Farben der vorbeilaufenden markierten Nukleotide, und das Gerät leitet die Informationen an einen angeschlossenen Computer weiter.

2.3.2.5.1 Cycle Sequencing

Für die zyklische Sequenzierung wurde das „Thermosequenase Dye Terminator Kit“ der Firma Amersham Biosciences (DT) verwendet, das eine Mischung aus Polymerase, Puffer, NTPs und farblich markierten ddNTPs enthält. Die Reaktion erfolgte in einem 20 µl -Ansatz wässriger Lösung (Tab. 5). Für das vordere DNA-Fragment wurde zum Sequenzieren der Primer Lf 15926f verwendet und für den hinteren Abschnitt der Primer DLH. Im ersten Fall wurde der L-Strang sequenziert, im zweiten der H-Strang. Je nach dem Ergebnis der PCR wurden 5-10 µl gereinigtes PCR-Produkt eingesetzt und die Wassermenge entsprechend variiert.

Tab. 5. Reaktionsansatz für das Cycle Sequencing einer einzelnen Probe.

Reaktionskomponenten (Konzentration)	Eingesetztes Volumen (µl)
DT	4
Primer (10µM)	1
Probe	5-10
ddH ₂ O	5-10

Tab. 6. PCR-Profil für das Cycle Sequencing.

Schritt	Zeit (min)	Temperatur (°C)
Denaturierung	1:00	96
Amplifikationszyklus (1.-3.: 25x)		
1. Denaturierung	0:30	96
2. Annealing	0:15	56
3. Extending	4:00	60
Kühlung	bis ∞	4

2.3.2.5.2 Ethanolfällung

Vor dem Sequenzierlauf müssen die Produkte des Cycle Sequencing nochmals von überschüssigen NTPs, ddNTPs, Primern und Puffer gereinigt werden. Dies geschieht durch eine Ethanolfällung, durch die die Proben zugleich stärker konzentriert werden. Die Proben wurden mit jeweils 0,8 µl des Farbstoffes Dextran (Blaufärbung der DNA), 250 µl Ethanol (96%), 80 µl ddH₂O sowie 10 µl Natriumacetat versetzt und 15 min bei 14.000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen, und zum Pellet wurden 300 µl 70%iges Ethanol gegeben. Es folgte eine weitere Zentrifugation für 5 Minuten bei 14.000 U/min, wonach der Überstand vorsichtig abpipettiert wurde. Das Pellet wurde getrocknet und in 4 µl Formamid-Dextran (5:1) resuspendiert.

2.3.2.5.3 Automatische Sequenzierung

Die automatische Sequenzierung erfolgte mit einem Sequenzierer der Marke ABI 373 (Perkin Elmer Applied Biosystems). Hierfür wurden die Proben auf ein vertikales 5%iges Polyacrylamidgel aufgetragen und für eine Dauer von 15 Stunden bei 27 Watt und 2500 Volt Spannung elektrophoretisch aufgetrennt. Zur Herstellung des Polyacrylamidgels wurden zunächst 30 g Harnstoff in 22 ml doppeltdestilliertem Wasser gelöst und anschließend 10 ml einer 30%-igen Acrylamidlösung sowie 6 ml eines zehnfach konzentrierten TBE-Puffers hinzugegeben. Nach der Filtration der Lösung wurde durch die Zugabe von 15 µl TEMED und 350 µl 10%-iger APS-Lösung der Polymerisationsvorgang ausgelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe einer Spritze zwischen zwei Glasplatten gefüllt und härtete zwei bis vier Stunden lang aus. Kurz vor dem Auftragen wurden die Proben noch einmal denaturiert (1 Minute bei 94° C). Die durch den Laser detektierten Farben wurden von der mitgelieferten Software („Sequence Data Collection“ und „Sequence Analysis“) analysiert und als Basensequenz ausgegeben.

2.3.3 Mikrosatelliten-Analyse

2.3.3.1 Allgemeines

Zur Abschätzung der genetischen Variation der Kern-DNA wurden Mikrosatelliten analysiert. Dabei handelt es sich um relativ kurze repetitive Sequenzen, deren Wiederholungs-Einheiten eine Länge von 2-6 Basen haben und die sich durch eine hohe Polymorphie auszeichnen (TAUTZ, 1989; JARNE und LAGODA, 1996). Sie werden auch als „short tandem repeats“

(STRs) (WEBER und WONG, 1993) oder „simple sequence length polymorphisms“ (TAUTZ, 1989) bezeichnet und kommen in großer Zahl im Genom aller Eukaryoten und in geringerem Ausmaß auch bei Prokaryoten vor. In den letzten Jahren haben sie im Bereich der Populationsbiologie einen weiten Anwendungsbereich erfahren (z. B. ASHLEY und DOW, 1994; SCHLÖTTERER und PEMBERTON, 1994; PAETKAU et al., 1995; GOLDSTEIN und SCHLÖTTERER, 1999). Mikrosatelliten werden kodominant vererbt. Die einzelnen Allele eines Locus unterscheiden sich in der Anzahl der Wiederholungseinheiten und damit in ihrer Gesamtlänge (ASHLEY und DOW, 1994).

Als molekularer Entstehungsmechanismus für die unterschiedlichen Allele werden sogenannte „slippage events“ während der Replikation angenommen (SCHLÖTTERER und TAUTZ, 1992). Dabei kommt es zu einer Verschiebung der beiden DNA-Stränge, worauf die Polymerase neue Stränge produziert, die entweder länger oder kürzer als das Original sind. Durch entsprechende Lesefehler der Polymerase erhält man bei der PCR häufig sogenannte „Stotterbanden“ (Abb. 4), die meist kürzer sind als das Allel (vgl. SHINDE et al., 2003). Nach dem Modell der schrittweisen Mutation („stepwise mutation model“, SMM, OHTA und KIMURA, 1973; KIMURA und OHTA, 1978) finden Verlängerungen bzw. Verkürzungen nur jeweils um eine Wiederholungseinheit statt (VALDES et al., 1993). Neuere Untersuchungen haben ergeben, dass die Richtung der Mutation von der Länge des Mikrosatelliten abhängt und somit auch von seinem Alter (XU et al., 2000). Während die Mutationsrate für die Verlängerung größenunabhängig ist, steigt die Mutationsrate für die Verkürzung exponentiell mit der Länge des Mikrosatelliten. Entstehen Mikrosatelliten neu, so verlängern sie sich zunächst, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Verlängerung und Verkürzung eingestellt hat.

Den statistischen Auswerteverfahren liegen konkurrierende Modelle zur Entstehung neuer Allele zugrunde. Das Modell der unendlichen Allele („infinite allele model“, IAM, CROW und KIMURA, 1970) betrachtet nur die Anzahl an unterschiedlichen Allelen, das SMM bezieht die Längenunterschiede mit ein. Während nach dem IAM bei jeder Mutation ein neues, einzigartiges Allel entsteht, werden beim SMM konvergent entstandene identische Allellängen (Längenhomoplasien) berücksichtigt. Welches Mutationsmodell bei der Auswertung die besseren Ergebnisse liefert, wird zur Zeit noch kontrovers diskutiert (PAETKAU et al., 1997; ZHU et al., 2000; ESTOUP et al., 2002).

Treten innerhalb der flankierenden Sequenzen Punktmutationen auf, so können sie zu Nullallelen führen (PEMBERTON et al., 1995). Nullallele sind Allele, die aufgrund einer solchen Mutation nicht amplifiziert werden können. Ihr Auftreten kann in der Untersuchung zu einer Überschätzung des Homozygotenanteils in einer Population führen.

Mikrosatelliten werden im Allgemeinen als selektiv neutral angesehen (z.B. ASHLEY und DOW, 1994; JARNE und LAGODA, 1996). Diese Hypothese wird durch die Häufigkeit von Mikrosatelliten, ihre hohe Variabilität sowie die Tatsache, dass sie meist außerhalb kodierender Regionen lokalisiert sind, gestützt. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass neutrale Loci an unter Selektionsdruck stehende Genorte gekoppelt sind (MURRAY, 1996).

2.3.3.2 PCR

Für die Untersuchung wurden acht katzenspezifische Mikrosatelliten-Primerpaare verwendet (MENOTTI-RAYMOND und O'BRIEN, 1995; MENOTTI-RAYMOND et al., 1999). Ihre Wiederholungseinheiten sind Dinukleotide. Mikrosatelliten, die aus Dinukleotiden bestehen, gelten als besonders variabel, und die Variabilität der verwendeten Marker war auch bereits an verschiedenen Katzenarten nachgewiesen worden (MENOTTI-RAYMOND und O'BRIEN, 1995).

Die Mikrosatelliten-DNA wurde unter Verwendung von fluoreszenzmarkierten Primern mittels PCR amplifiziert. Markiert war jeweils nur der L-Primer. Als Farbstoffe kamen HEX (grün), FAM (blau) und „Texas Red“ (rot) zur Anwendung (Tab. 7).

Tab. 7. Verwendete Mikrosatelliten-Primerpaare.

Primer	Farbmarkierung
FCA35	FAM
FCA43	Texas Red
FCA96	FAM
FCA90	FAM
FCA126	HEX
FCA23	HEX
FCA45	FAM
FCA78	HEX

Das PCR-Profil entsprach dem der Sequenzen (2.3.2.2). Die Annealing-Temperatur lag bei allen acht Mikrosatelliten einheitlich bei 55°C. Als Reaktionsansatz reichte die Hälfte der Menge aus, die für Sequenzen verwendet wurde (Tab. 8).

Tab. 8. Reaktionsansatz für die PCR einer einzelnen Probe (Mikrosatelliten).

Reaktionskomponenten (Konzentration)	Eingesetztes Volumen (μl)
ddH ₂ O	30,60
MgCl ₂ -Puffer	3,75
NTPs (je 2 μM)	1,00
Fluoreszenzmarkierter L-Primer (10 μM)	0,75
H-Primer (10 μM)	0,75
<i>Taq</i> -Polymerase (5000 Units/ml)	0,15
DNA-Isolat	1,00

2.3.3.3 Fragmentlängenanalyse

Die Fragmentlängenanalyse der PCR-Produkte, d. h. die Bestimmung der Länge der einzelnen Mikrosatelliten-Allele, wurde mit dem „ABI 373 Sequencer“ durchgeführt. Hierzu wurden Verdünnungen der PCR-Produkte angesetzt, die zusammen mit einem Gelladepuffer, einem Längenstandard und Formamid auf ein Polyacrylamidgel aufgetragen wurden. Eine vorherige Reinigung der Produkte war nicht nötig. Bei den Verdünnungen wurden bis zu drei Mikrosatelliten gemischt, die zusammen in eine Geltasche geladen wurden. Diese mussten sich durch die farbliche Markierung oder deutlich im Längenbereich unterscheiden. Die Menge des in die Verdünnung gegebenen PCR-Produktes war von der Stärke der Banden bei der PCR-Überprüfung und vom verwendeten Farbstoff abhängig. Bei kräftigen Banden wurden von FAM-markierten Mikrosatelliten 3 μl , von HEX-markierten Mikrosatelliten 4 μl und von „Texas Red“-markierten Mikrosatelliten ebenfalls 3 μl des PCR-Produktes mit doppeltdestilliertem Wasser auf 18 μl Gesamtvolumen aufgefüllt. 1 μl der Verdünnung wurde zusammen mit 0,5 μl Gelladepuffer, 0,5 μl internem Längenstandard und 2,5 μl Formamid auf das Polyacrylamidgel aufgetragen und für eine Dauer von 15 Stunden bei 27 Watt und 2500 Volt elektrophoretisch aufgetrennt. Die fluoreszenzmarkierten Primer wurden dabei von einem Laser detektiert und die Daten in Form einer Bilddatei an einen angeschlossenen Computer übermittelt. Die Bestimmung der Fragmentlängen erfolgte mit der Software Genescan 2.1, wobei der mitgelaufene Längenstandard als Ausgangswert für die Berechnung diente.

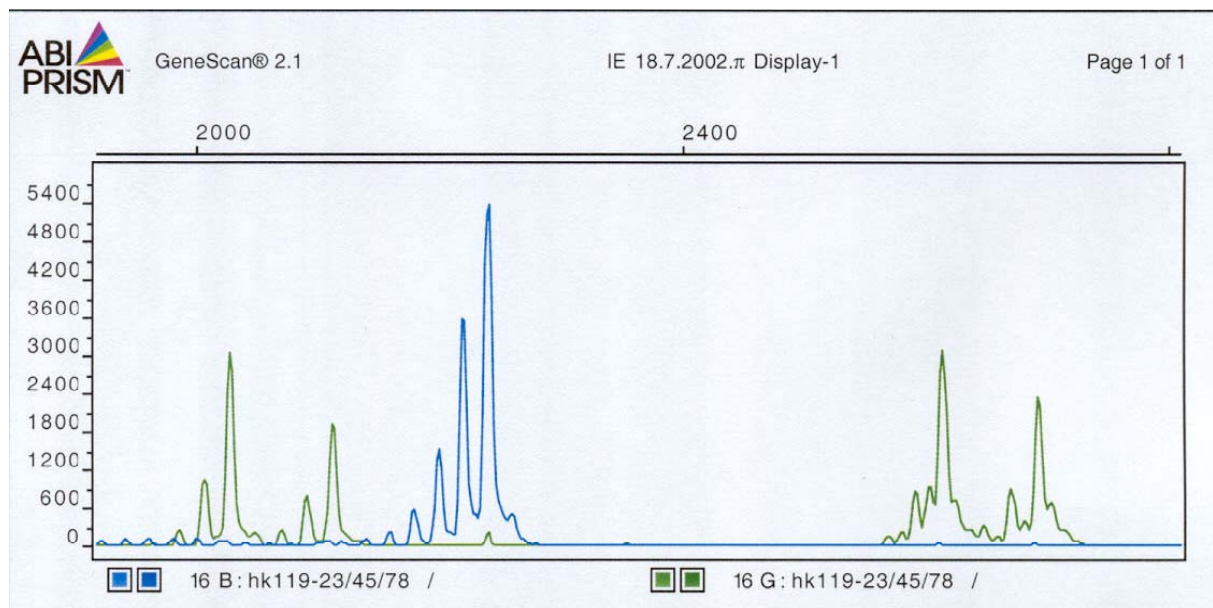


Abb. 4. Elektropherogramm detektierter Mikrosatelliten-Allele, wie es von Genescan geliefert wurde (Beispiel). Gezeigt werden die Allele dreier Loci mit den typischen Stotterbanden. Der Größenstandard ist hier nicht sichtbar.

Das Auftreten von Stotterbanden kann die Auswertung erschweren. Der jeweils höchste Peak einer Reihe wurde als Allel gewertet. Zur endgültigen Bestimmung der Allel-Längen mussten die von Genescan gelieferten Werte gerundet werden. Da es sich um Dinukleotid-Wiederholungseinheiten handelte, wurde jeweils in Zweierschritten gerundet.

2.4 Methoden der statistischen Auswertung

2.4.1 Mitochondriale Kontrollregion

2.4.1.1 Alignment

Das Abstimmen der Sequenzen mit dem Ziel, dass die jeweils homologen Abschnitte untereinander liegen („Alignment“) erfolgte per Hand unter Zuhilfenahme des Programms BIOEDIT und unter Hinzuziehung der durch die „Sequence Analysis“-Software gelieferten Elektropherogramme (siehe Anhang). Die so festgestellten Unterschiede in der Basenfolge dienten der Definition der mitochondrialen Genotypen (Haplotypen).

2.4.1.2 Maße für die genetische Diversität innerhalb der Populationen

Als Maße für die genetische Variabilität innerhalb der Populationen wurden für die mitochondrialen Sequenzen die Haplotypendiversität und die Nukleotiddiversität berechnet. Die Berechnung erfolgte mit dem Programm ARLEQUIN Version 2.000 (SCHNEIDER et al., 2000).

Die Haplotypendiversität δ berechnet sich nach folgender Formel (NEI und TAJIMA, 1981):

$$\delta = \left(\frac{N}{N-1} \right) \left(1 - \sum x_i^2 \right) \quad (\text{Gleichung 1}).$$

N ist dabei die Anzahl der untersuchten Individuen und x_i die Frequenz des i -ten Haplotyps. Bei diesem Maß werden nur die Frequenzen der Haplotypen berücksichtigt, nicht jedoch die genetische Divergenz zwischen ihnen. Die Haplotypendiversität beschreibt die Wahrscheinlichkeit, dass zwei zufällig aus der Stichprobe gewählte Haplotypen unterschiedlich sind.

Bei der Nukleotiddiversität π gehen außer den jeweiligen relativen Häufigkeiten auch die paarweisen Nukleotiddivergenzen zwischen den Haplotypen in die Berechnung ein. In diesem Fall wurde als Divergenzmaß die Kimura-2-Parameter-Distanz zugrunde gelegt, die Transitionen und Transversionen unterschiedlich gewichtet. Darüber hinaus berücksichtigt das Modell von Kimura die Sättigung der Basensubstitutionen mit zunehmender genetischer Distanz. π stellt die durchschnittliche paarweise Sequenzdivergenz zwischen den Individuen einer Population dar und berechnet sich nach QUINN und WHITE (1987) wie folgt:

$$\pi = \left(\frac{N}{N-1} \right) \sum x_i x_j \delta_{ij} \quad (\text{Gleichung 2}).$$

N ist die Anzahl der Individuen, x_i die Frequenz der i -ten Sequenz und x_j die Frequenz der j -ten Sequenz. δ_{ij} ist die Divergenz zwischen der i -ten und der j -ten Sequenz.

2.4.1.3 Maße für die Divergenz zwischen Populationen

Ein Homogenitätstest sollte zeigen, ob sich die Allelfrequenzen der verschiedenen Populationen signifikant unterscheiden. Durchgeführt wurde er mit dem Programm ARLEQUIN Version 2.000.

Zur Berechnung der genetischen Differenzierung zwischen Populationen kann die Nettonukleotiddiversität π_{net} herangezogen werden (NEI, 1987), die die paarweise Sequenzdivergenz zwischen den Individuen zweier Populationen angibt. Die Bruttonukleotiddiversität zwischen zwei Populationen X und Y berechnet sich nach QUINN und WHITE (1987) wie folgt:

$$\pi_{XY} = \sum x_i y_j \delta_{ij} \quad (\text{Gleichung 3}).$$

Dabei ist x_i die Frequenz des i-ten Haplotypen in der Population X und y_j die Frequenz des j-ten Haplotypen in der Population Y. δ_{ij} ist die Divergenz zwischen den Haplotypen von Population X und Population Y. Diese Bruttonukleotiddiversität muss noch um die Variation innerhalb der Populationen korrigiert werden. Daraus ergibt sich die Nettonukleotiddiversität:

$$\pi_{\text{net}} = \pi_{XY} - \frac{\pi_X + \pi_Y}{2} \quad (\text{Gleichung 4}).$$

π_X und π_Y sind die Nukleotiddiversitäten innerhalb der einzelnen Populationen.

2.4.1.4 Analyse der molekularen Varianz (AMOVA)

Ein weiteres Maß für die genetische Differenzierung zwischen Populationen ist der Fixationsindex ϕ_{ST} (EXCOFFIER et al., 1992). Er drückt die Abnahme der Variation in Subpopulationen relativ zu der Variation der unterteilten Gesamtpopulation infolge genetischer Drift aus. Dadurch gibt er den Anteil an Diversität an, der auf die Diversität zwischen den Populationen entfällt. Die ϕ -Statistik ist analog zur F-Statistik von WRIGHT (1951) zu sehen, welche die

genetische Struktur von Populationen auf der Grundlage von Genotypfrequenzen ermittelt (s. Kap. 2.4.2.3). Ist $F_{ST} = 0$, so bilden die Tiere eine einzige, panmiktische Population. Ist der F_{ST} -Wert dagegen signifikant von Null verschieden, so deutet dies auf eine genetische Differenzierung zwischen den Populationen hin. Die ϕ -Statistik bezieht darüber hinaus die molekularen Unterschiede zwischen den Haplotypen in die Berechnung des ϕ_{ST} ein. Die dafür benutzte Distanzmatrix beruhte auf den Kimura-2-Parameter-Distanzen und wurde mit dem Programm ARLEQUIN Version 2.000 erstellt. Beide Werte, der Gesamt- F_{ST} ebenso wie der Gesamt- ϕ_{ST} wurden mit Hilfe der AMOVA („analysis of molecular variance“, EXCOFFIER et al., 1992) berechnet.

Die Analyse der molekularen Varianz ordnet die genetische Gesamtvariabilität anteilig den einzelnen geographischen Einheiten zu. Es können mehrere Hierarchieebenen unterschieden werden. Zu diesem Zweck können Populationen zu einer übergeordneten Gruppe zusammengefasst werden. Im vorliegenden Fall wurden folgende Ebenen unterschieden:

1. Varianz zwischen Hauskatzen und Wildkatzen,
2. Varianz zwischen den Populationen innerhalb der beiden Gruppen,
3. Varianz innerhalb der Populationen.

Die AMOVA wurde mit dem Programm ARLEQUIN Version 2.000 durchgeführt.

2.4.1.5 Ähnlichkeitsbäume der Haplotypen

Um die genealogischen Beziehungen zwischen den gefundenen Haplotypen darzustellen, wurden mit verschiedenen Verfahren Ähnlichkeitsbäume erstellt.

Ausgehend von Kimura-2-Parameter-Distanzen zwischen den Haplotypen wurde ein Neighbour-Joining-Baum (SAITOU und NEI, 1987; AVISE, 1994) erstellt. Insertionen bzw. Deletionen wurden dabei wie Transitionen gewertet. Die Neighbour-Joining-Methode ist eine Methode, die die gesamte Astlänge in jedem Stadium durch ein iteratives Verfahren minimiert. Die Distanzmatrix wurde mit dem Programm DNADIST erstellt. Den nicht gewurzelten Neighbour-Joining-Baum konstruierte das Programm NEIGHBOR. Beide Programme sind in dem Programmpaket PHYLIP 3.5 (FELSENSTEIN, 1993) enthalten.

Zusätzlich wurden Bäume nach dem Parsimony-Verfahren und nach der Maximum-Likelihood-Methode erstellt. Dem Parsimony-Verfahren liegt der Gedanke zugrunde, dass der Baum, der die wenigsten Mutationsschritte erfordert, der wahrscheinlichste sei. Das Verhältnis von Transitionen zu Transversionen wurde hier nicht berücksichtigt. Aus den verschiedenen gleich wahrscheinlichen Bäumen wurde ein Consensus-Baum erstellt. Verwendet wurden die Programme DNAPARS und CONSENSUS von PHYLIP 3.5. Mit Hilfe des Programms DNAML wurde ein Maximum-Likelihood-Baum erstellt.

Alle Bäume wurden mit dem Bootstrap-Verfahren (Parsimony: 1000 Datensätze, Neighbour-Joining und Maximum-Likelihood: 100 Datensätze) auf ihre Stabilität geprüft. Dabei wurden mit SEQBOOT (PHYLIP 3.5) unterschiedliche Datensätze erzeugt, aus denen jeweils Bäume erstellt wurden. Diese wurden zu einem Consensus-Baum zusammengefasst. Die Bootstrap-Werte geben an, von wie vielen der so erzeugten Bäume eine Abzweigung unterstützt wurde.

2.4.2 Mikrosatelliten

2.4.2.1 Kopplungsungleichgewicht

Voraussetzung für eine Multilocus-Analyse mit den acht Mikrosatelliten ist, daß die einzelnen Loci unabhängig voneinander vererbt werden. Ist das nicht der Fall, spricht man von einem Kopplungsungleichgewicht („linkage disequilibrium“) (z.B. FUTUYMA, 1990; HARTL und CLARK, 1997). Sind zwei Loci gekoppelt, dürfen sie nicht beide in die Multilocus-Analyse aufgenommen werden. Mit dem Programm GENEPOP Version 3.2a (RAYMOND und ROUSSET, 1995) wurden die acht Mikrosatelliten paarweise auf ein Kopplungsungleichgewicht getestet.

2.4.2.2 Maße für die genetische Diversität innerhalb der Populationen

Zur Charakterisierung der genetischen Diversität innerhalb der Populationen wurde die durchschnittliche Anzahl an Allelen pro Mikrosatellitenlocus errechnet (Alleldiversität). Darüber hinaus wurden mit dem Programm GENEPOP Version 3.2a für jeden Locus innerhalb einer Population die Werte für die beobachtete Heterozygotie (H_O) sowie für die erwartete Heterozygotie (H_E) berechnet. Die beobachtete Heterozygotie ist der Anteil an heterozygoten

Individuen in der Stichprobe. Die erwartete Heterozygotie entspricht der Wahrscheinlichkeit, dass zwei zufällig aus der Population entnommene Allele unterschiedlich sind, und berechnet sich unter Annahme des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts aus den beobachteten Allelfrequenzen nach folgender Formel (GRAUR und LI, 2000):

$$H_E = 1 - \sum x_i^2 \quad (\text{Gleichung 5}).$$

x_i ist die Frequenz des i -ten Allels. Die Differenz zwischen beobachteter und erwarteter Heterozygotie entspricht der Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. Ihre Signifikanz wurde von GENEPOP mit einer Permutationsmethode getestet. Die Heterozygotiewerte wurden für jeden einzelnen Locus in den verschiedenen Populationen berechnet. Zur Errechnung der durchschnittlichen Gesamtheterozygotie wurden sie für jede Population über die Loci gemittelt. Durch die Berechnung des Inzuchtkoeffizienten F_{IS} (Gleichung 6) kann festgestellt werden, wodurch die Abweichung verursacht wird (z.B. HARTL und CLARK, 1997). Ein positiver F_{IS} -Wert bedeutet ein Heterozygotendefizit. Der Inzuchtkoeffizient zeigt die Reduktion der Heterozygotie eines Individuums aufgrund nichtzufälliger Verpaarung innerhalb einer Population an. H_S beschreibt die erwartete Heterozygotie eines Individuums der Population bei zufälliger Verpaarung. H_I ist die tatsächliche Heterozygotie eines Individuums.

$$F_{IS} = \frac{H_S - H_I}{H_S} \quad (\text{Gleichung 6}).$$

Zur Charakterisierung der Mikrosatellitenloci wurde die jeweilige Anzahl an verschiedenen Allelen ausgezählt und über die Populationen gemittelt. Außerdem wurden die Heterozygotiewerte der einzelnen Loci über die Populationen gemittelt, um die Durchschnittswerte für die Mikrosatelliten zu erhalten.

2.4.2.3 Maße für die Divergenz zwischen Populationen

Ein Homogenitätstest zeigt, ob sich die Allelfrequenzen der verschiedenen Populationen signifikant unterscheiden. Durchgeführt wurde er mit dem Programm FSTAT (GOUDET, 2001).

Eine Substrukturierung der Gesamtpopulation kann auch durch den Fixationsindex F_{ST} (WEIR und COCKERHAM, 1984) überprüft werden. Er basiert auf dem IAM und wird wie folgt berechnet:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} \quad (\text{Gleichung 7}).$$

H_T ist dabei die erwartete Heterozygotie für die Gesamtpopulation. H_S ist die erwartete Heterozygotie der Einzelpopulationen (gemittelt über alle Loci). Ist $F_{ST} = 0$, dann ist $H_T = H_S$, und folglich sind die Populationen nicht voneinander getrennt: Ihre angenommene geographische Unterscheidung ist künstlich. Ist der F_{ST} -Wert dagegen signifikant von Null verschieden, so deutet dies auf eine genetische Differenzierung zwischen den Populationen hin. Der Gesamt- F_{ST} wurde mit dem Programm GENEPOP Version 3.2a berechnet.

Zur Charakterisierung der genetischen Divergenz zwischen den untersuchten Populationen wurden folgende Distanzmaße paarweise berechnet: Neis genetische Standarddistanz D und die Chorddistanz D_C . Beide Maße beruhen auf den Allelfrequenzen. Zu ihrer Berechnung wurde das Programmpaket PHYLIP Version 3.5 (FELSENSTEIN, 1993) verwendet.

Die genetische Standarddistanz D (NEI, 1972) beruht auf dem IAM und ist definiert als

$$D = -\ln I \quad (\text{Gleichung 8}),$$

wobei I die normalisierte genetische Identität der Gene zwischen den beiden zu vergleichenden Populationen ist, ein Wert, der über die durchschnittliche Wahrscheinlichkeit, mit der zwei zufällig aus einer der beiden Populationen ausgewählte Gene identisch sind, definiert ist.

Auch die Chorddistanz D_C (CAVALLI-SFORZA und EDWARDS, 1967), der ebenfalls das Mutationsmodell IAM zugrunde liegt, wird im Zusammenhang mit Mikrosatelliten-daten verwendet (GOODMAN et al., 2001).

2.4.2.4 Erstellung von Ähnlichkeitsbäumen

Die Berechnung der genetischen Distanzen liefert Distanzmatritzen, in denen die Distanzen jeweils paarweise für zwei Populationen angegeben sind. Auf der Basis solcher Distanzmatritzen wurden mit dem Programmpaket PHYLIP Version 3.5 (FELSENSTEIN, 1993) nach der Neighbour-Joining-Methode (SAITOU und NEI, 1987) genetische Ähnlichkeitsbäume erstellt.

2.4.2.5 Genetische Hauptkomponenten-Analyse

Mit dem Programm PCA-GEN (GOUDET, 1999) wurde auf der Grundlage der individuellen Genotypen (Multilocus-Analyse) eine genetische Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Das Programm gibt die Komponenten an, die als Ursachen der vorhandenen Variation festgestellt werden. Jeweils zwei Komponenten können in einem zweidimensionalen Koordinatensystem gegeneinander aufgetragen werden

3. Ergebnisse

3.1 Analyse der mitochondrialen DNA

Die für die Untersuchung der Kontrollregion ursprünglich eingesetzten Primer ergaben ca. 770-930 Basenpaare (bp) lange PCR-Produkte, die drei bis fünf Wiederholungseinheiten von 80 bp Länge enthielten (vgl. LOPEZ et al. 1996, WILKINSON et al. 1997). Auch innerhalb von Individuen traten Längenvarianten auf (Heteroplasmie). Da es durch die Wiederholungseinheiten anscheinend zur Ausbildung von Sekundärstrukturen kam, wurde schließlich je ein Abschnitt vor und hinter den Wiederholungseinheiten amplifiziert. Der vordere Teil ergab ein ca. 350 bp langes PCR-Produkt, der hintere ein ca. 200 bp langes Produkt.

Bei den Haarproben lag die Erfolgsrate am Anfang aufgrund des Vorliegens von PCR-Hemmstoffen (möglicherweise Farbpigmenten) im Isolat bei nur 50 %. Durch die Verbesserung der Isolation gelang die PCR schließlich bei 90 % der Haarproben. Dabei gelangen die kürzeren Stücke öfter als die längeren. Nachdem bei später erhaltenen Proben eine andere Isolationsmethode angewandt wurde („DNeasy Tissue Kit“), traten kaum noch Probleme auf.

Die statistische Auswertung basierte auf einer 322 bp langen Sequenz innerhalb der Kontrollregion, die aus den beiden bearbeiteten Abschnitten zusammengefügt wurde. Unter 244 Tieren, davon 96 als Wildkatzen eingestuft und 148 Hauskatzen, wurden insgesamt 43 Haplotypen mit 31 polymorphen Positionen (9,4 %) ermittelt, die sich voneinander in ein bis 19 Mutationen unterschieden (Abb. 5). Unter den polymorphen Positionen waren 28 Nukleotidsubstitutionen und 6 Insertionen bzw. Deletionen. Bei den Nukleotidsubstitutionen handelte es sich überwiegend um Transitionen (16 x C \leftrightarrow T, 7 x A \leftrightarrow G). In drei Fällen traten Mehrfachmutationen auf (T \leftrightarrow C \leftrightarrow G, A \leftrightarrow G \leftrightarrow T und A \leftrightarrow C \leftrightarrow Deletion). Das Verhältnis von Transitionen zu Transversionen betrug ungefähr 5 zu 1. Insertionen bzw. Deletionen wurden bei der Erstellung des Maximum-Likelihood-Trees sowie im Neighbour-Joining-Verfahren als Transitionen gewertet, da sie sonst nicht berücksichtigt worden wären. Die paarweise Sequenzdivergenz zwischen den Haplotypen, basierend auf dem Kimura-2-Parameter-Modell, betrug zwischen 0,31 % und 5,9 %.

Bei der Berechnung der Maße für Variabilität und Differenzierung wurden nur solche Proben berücksichtigt, die eindeutig einer Population zugeordnet werden konnten. So fanden zwölf Wildkatzenproben aus dem Bereich Solling/westlicher Harz in dieser Hinsicht keine Verwendung, da der genaue Fundort nicht mehr geklärt werden konnte. Ebenso wurden elf Proben von Hauskatzen nicht verwendet, da die genaue Herkunft nicht mehr zu erfahren war. Die zwei Wildkatzen aus der dritten bulgarischen Population wurden ausgelassen, da die

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34			
	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3			
	0	2	6	9	9	0	0	1	1	1	1	4	4	6	6	6	6	7	7	7	8	8	8	8	8	8	8	9	9	0	1	2	4	8	0		
	1	8	7	6	7	8	9	4	5	7	8	7	9	4	6	7	8	0	5	8	2	4	5	7	8	9	0	1	7	1	1	6	6	7			
Lopez	G	T	G	A	--	A	C	--	A	A	C	--	C	C	T	C	A	C	T	T	A	A	G	C	T	T	C	T	T	A	T	T	T	--			
HK 4	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	.	A	C	C	.	.	.	C	.	.	C	.	A
HK 8	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	G	.	A	C	C	.	.	.	C	.	.	C	.	A
HK 26	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	.	A	C	.	.	A	C	C	A	
HK 27	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	C	G	G	A	.	C	C	.	.	C	.	A		
HK 30	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	A	C	G	G	A	.	C	G	.	C	.	A			
HK 43	C	.	C	G	T	C	G	G	A	.	C	.	.	.	G	.	C	.	.	C	.	A		
HK 44	C	.	C	G	T	T	A	C	G	G	.	.	C	.	.	.	G	A		
HK 45	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	A	C	G	G	A	G	.	C	.	.	C	.	A		
HK 46	C	C	C	G	T	.	T	.	.	T	G	.	A	C	C	.	.	.	C	.	.	C	.	A	
HK 47	C	.	C	--	G	T	.	T	.	.	T	G	.	A	C	C	.	.	.	C	.	.	C	.	A	
HK 48	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	C	G	G	A	.	C	.	.	.	G	.	C	.	.	C	.	A		
HK 50	C	.	C	--	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	.	.	.	G	.	C	G	G	A	.	C	C	.	A		
HK 51	C	.	C	G	T	.	T	A	C	.	A	C	C	A		
HK 58	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	C	G	.	A	.	C	C	.	A	
HK 60	C	.	C	G	T	A	
HK 63	C	.	C	G	T	.	T	A	C	G	G	A	G	.	C	.	.	C	.	A		
HK 73	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	G	.	A	C	.	.	.	C	.	.	C	.	.	.	C	.	.	C	.	A	
HK 83	C	.	C	G	T	T	T	A	C	G	G	.	.	C	.	.	G	A		
HK 132	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	A	C	G	G	A	G	.	C	.	.	.	C	.	A	
HK 138	C	.	C	G	T	.	T	.	.	G	.	A	C	G	G	A	G	.	C	A		
HK 151	C	.	C	G	T	A	
HK 165	C	.	C	G	T	T	T	A	C	G	G	.	.	C	.	.	G	A		
HK 166	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	.	.	--	A	C	G	G	A	C	.	A	
HK 167	C	.	C	.	.	A	.	.	.	G	T	A	G	G	A	G	.	C	A		
HK 168	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	G	T	A	C	C	A	
WK 1	C	.	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	G	C	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 3	C	.	C	.	A	C	.	.	.	G	T	.	T	.	.	T	.	G	C	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A	
WK 4	C	.	C	.	A	C	.	.	.	G	T	.	T	.	.	T	.	G	C	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 6	C	.	C	G	T	T	.	A	C	G	G	G	A	
WK 7	C	.	C	.	C	.	C	.	.	G	T	.	T	.	.	T	.	G	C	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 8	C	.	C	G	T	T	.	A	C	G	G	.	T	C	.	.	G	A		
WK 10	C	.	C	G	T	.	T	.	.	C	T	G	.	G	C	G	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A	
WK 12	C	.	C	.	C	G	T	.	T	.	.	C	T	G	.	G	C	G	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A	
WK 27	C	.	C	C	G	T	T	.	A	C	G	G	G	A	
WK 37	C	.	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	G	.	G	G	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 48	C	.	C	G	T	T	.	A	C	G	G	.	.	C	.	.	G	A	
WK 49	C	.	C	.	--	G	T	.	T	.	.	T	.	G	C	.	.	T	C	.	T	C	.	.	C	A		
WK 54	C	.	C	G	T	A	.	.	.	T	.	A	C	G	G	G	A	
WK 58	C	.	C	G	T	T	.	A	C	G	G	.	.	C	T	.	.	G	A	
WK 69	C	.	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	G	.	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 83	C	.	C	.	C	G	T	.	T	.	.	T	.	A	C	G	G	G	A	
WK 85	C	.	C	.	C	G	T	T	.	G	.	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		
WK 158	C	.	C	.	A	C	.	.	.	G	T	.	T	.	.	T	.	G	.	G	.	.	T	C	.	.	C	.	C	.	C	.	C	.	A		

Abb. 5. Sequenzvariation innerhalb des 322 bp langen Abschnittes der Kontrollregion für die 43 detektierten Haplotypen. Gezeigt werden die nur variablen Stellen, deren genaue Position oben angegeben ist. Als Vergleich ist an erster Stelle die von LOPEZ et al. (1996) veröffentlichte Sequenz einer Hauskatze angegeben. Übereinstimmungen mit dieser Sequenz sind als Punkte dargestellt, Striche markieren Deletionen. Vorderer und hinterer Abschnitt sind durch eine Spalte getrennt.

Folgende Seite:

Tab. 9. Absolute Häufigkeit der Haplotypen in den einzelnen Populationen. Hst = Holstein, Eif = Eifel, Pfz = Pfalz, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrz = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien, s. = sonstige. In Klammern die jeweilige Größe der Stichprobe.

Stichprobe zu klein war. Bei den Hauskatzen wurden die Proben aus den nahe beieinander liegenden Gebieten Harz, Hainich und Solling aufgrund der geringen Stichprobengrößen zusammengefasst. Im Gegensatz zu den entsprechenden Wildkatzenbeständen, die vermutlich voneinander isoliert sind, kann hier von nur einer Population ausgegangen werden.

Bei der Erstellung des Haplotypenstammbaumes wurden alle Proben berücksichtigt. Von den 43 Haplotypen waren 25 den Hauskatzen und 18 den Wildkatzen zugeordnet. Es wurde kein Haplotyp gefunden, der bei beiden Gruppen vorkam. Das Vorkommen der Haplotypen in den einzelnen Populationen ist der Tabelle 9 zu entnehmen.

3.1.1 Variabilität innerhalb der Populationen

Die durchschnittliche Haplotypendiversität betrug 0,64, die durchschnittliche Nukleotiddiversität 1,38 %. Der Korrelationskoeffizient zwischen den jeweiligen Werten der Populationen betrug 0,59 ($p < 0,05$). Die Wildkatzenpopulationen waren im Mittel etwas weniger variabel als die Hauskatzenpopulationen (Tab. 10). Auch war die durchschnittliche Anzahl an Haplotypen pro Population nur halb so hoch. Wurden nur die Bestände in Deutschland betrachtet,

Tab. 10. Genetische Variabilität innerhalb der Populationen. nI = Stichprobengröße, nH = Anzahl der Haplotypen, HD = Haplotypendiversität, π = Nukleotiddiversität in %, s = Standardabweichung. Bei der Anzahl der Haplotypen ist unten die absolute Zahl und der Durchschnitt über die Populationen angegeben.

Population	nI	nH	HD	s (HD)	π	s (π)
HK Holstein	28	6	0,57	0,10	1,03	0,61
HK Eifel	24	9	0,62	0,11	1,30	0,75
HK Pfalz	21	8	0,87	0,04	1,84	0,02
HK Taunus	13	3	0,41	0,15	1,32	0,79
HK Berlin	25	9	0,75	0,07	1,97	0,08
HK Harz	26	9	0,79	0,07	1,81	1,00
WK Eifel	12	8	0,89	0,08	1,60	0,94
WK Pfalz	8	3	0,46	0,20	0,21	0,20
WK Taunus	8	4	0,75	0,14	0,46	0,35
WK Hainich	6	3	0,80	0,12	2,22	1,40
WK Harz	20	5	0,60	0,10	1,86	1,04
WK Solling	12	4	0,68	0,10	2,09	1,19
WK Bulgarien 1	8	2	0,49	0,17	1,52	0,94
WK Bulgarien 2	7	2	0,29	0,20	0,18	0,18

Hauskatzen gesamt	137	22; $\bar{} 7,3$	$\bar{} 0,67$		$\bar{} 1,55$	
Wildkatzen gesamt	93	17; $\bar{} 3,9$	$\bar{} 0,62$		$\bar{} 1,25$	
Wildkatzen BRD	78	14; $\bar{} 4,5$	$\bar{} 0,70$		$\bar{} 1,41$	
Gesamt	230	39; $\bar{} 5,4$	$\bar{} 0,64$		$\bar{} 1,38$	

so lag die Haplotypendiversität der Wildkatzen im Mittel im selben Bereich wie die der Hauskatzen. Die Nukleotiddiversität war nur geringfügig kleiner, die Anzahl der Haplotypen nach wie vor geringer.

3.1.2 Differenzierung zwischen den Populationen

Der mit dem Programm ARLEQUIN durchgeführte Homogenitätstest ergab insgesamt eine signifikante Differenzierung zwischen den Populationen ($p < 0,001$). Auch die paarweise durchgeführten Tests fielen in den meisten Fällen sehr deutlich aus ($p < 0,001$), wobei innerhalb der Hauskatzen allerdings ungefähr die Hälfte der paarweisen Vergleiche keine signifikante Differenzierung ergab (Tab. 11). Die Wildkatzen im Taunus und die im Solling unterschieden sich nur knapp nicht signifikant voneinander ($p = 0,07$).

Tab. 11. Ergebnisse der paarweisen Heterogenitätstests auf der Grundlage der Frequenzen mitochondrialer Haplotypen. Mit * gekennzeichnete Populationspaare unterschieden sich signifikant ($p > 0,05$). n.s. = nicht signifikant. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrz = Harz, Hast = Holstein, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien.

	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Eif	Tns	Ber	Hrz	Hst	Eif	Pfz	Tns	Hrz	Hai	Slg	Bg1	Bg2
HK Pfz	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Eif		n.s.	*	*	n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Tns			n.s.	n.s.	n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Ber				n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Hrz					n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Hst						*	*	*	*	*	*	*	*
WK Eif							n.s.	n.s.	*	n.s.	*	*	*
WK Pfz								n.s.	*	*	*	*	*
WK Tns									*	n.s.	n.s.	*	*
WK Hrz										n.s.	*	*	*
WK Hai											n.s.	*	*
WK Slg												*	*
WK Bg1													*

Der Gesamt- F_{ST} -Wert, der auf der Grundlage der Haplotypendiversitäten berechnet wurde, betrug 25,67 % ($p < 0,001$). Das bedeutet, daß 25,67 % der Gesamtdiversität der Katzen auf die Diversität zwischen den Populationen entfielen. Innerhalb der Wildkatzen betrug dieser Wert 30,05 %. Bei den Hauskatzen entfiel fast die gesamte Diversität auf die Diversität in-

nerhalb der Populationen ($F_{ST} = 7,17 \%$). Die Analyse der molekularen Varianz (AMOVA), die auf der Grundlage der Kimura-2-Distanzen durchgeführt wurde, ergab insgesamt einen Φ_{ST} -Wert von 42,26 % ($p < 0,001$). Die entsprechenden Werte für Haus- und Wildkatzen sind der Tabelle 12 zu entnehmen.

Tab. 12. Fixationsindices F_{ST} (WEIR und COCKERHAM, 1984) und Φ_{ST} (EXCOFFIER et al., 1992) (in %) als Gesamtwert für alle untersuchten Katzenpopulationen sowie für Untergruppen. HK = Hauskatzen, WK = Wildkatzen. (p jeweils $< 0,001$)

	gesamt	HK	WK	WK ohne Bulgarien
F_{ST}	25,67	7,17	30,05	19,62
Φ_{ST}	42,26	14,14	35,23	22,31

Die hierarchische AMOVA, bei der die Populationen der Haus- und der Wildkatzen zu je einer übergeordneten Gruppe zusammengefasst wurden, führte zu dem Ergebnis, dass der größte Teil der Diversität auf die Variation innerhalb der Populationen zurückzuführen war. Am zweithöchsten war der Anteil, der auf der Diversität zwischen den beiden Gruppen beruhte (Tab. 13).

Tab. 13. Hierarchische Analyse der molekularen Varianz (AMOVA), bei der die Haus- und Wildkatzenpopulationen jeweils zu einer Gruppe zusammengefasst wurden. (p jeweils $< 0,001$)

Ursprung der Variation	Variation in % (F)	Variation in % (Φ)
zwischen Hauskatzen und Wildkatzen	18,80	39,42
zwischen den Populationen innerhalb der beiden Gruppen	13,68	13,94
innerhalb der Populationen	67,52	46,65

Die mittlere Nettonukleotiddiversität zwischen den Populationen betrug 2,73 % (Tab. 14). Innerhalb der Wildkatzen lag der Wert bei durchschnittlich 2,20 %, innerhalb der Hauskatzen bei 1,81 %. Zwischen Haus- und Wildkatzenpopulationen war die Nettonukleotiddiversität mit durchschnittlich 3,34 % höher als innerhalb der beiden Gruppen. Während die Hauskatzenpopulationen zu den meisten Wildkatzenpopulationen deutliche Unterschiede aufwiesen, waren die Nettonukleotiddiversitäten zu den Wildkatzen im Harz und vor allem denen in Bulgarien relativ gering.

Tab. 14. Nettonukleotiddiversität zwischen den Populationen (in %). Hst = Holstein, Eif = Eifel, Pfz = Pfalz, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien.

	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Eif	Tns	Ber	Hrz	Hst	Eif	Pfz	Tns	Hrz	Hai	Slg	Bgl	Bg2
HK Pfalz	2,28	2,39	1,97	2,24	2,34	3,96	4,60	4,55	2,97	3,82	3,60	2,58	2,10
HK Eifel		1,25	1,88	1,58	1,17	3,52	4,01	3,96	2,73	3,34	3,26	2,57	2,38
HK Taunus			1,96	1,62	1,17	3,58	4,04	3,97	2,85	3,39	3,32	2,70	2,56
HK Berlin				1,97	1,88	3,84	4,43	4,38	2,92	3,68	3,52	2,69	2,32
HK Harz					1,46	3,50	3,98	3,95	2,76	3,37	3,26	2,58	2,37
HK Holstein						3,37	3,78	3,76	2,73	3,25	3,19	2,61	2,52
WK Eifel							1,06	1,20	2,25	1,84	1,91	2,76	2,97
WK Pfalz								0,46	2,53	1,63	1,84	3,33	3,82
WK Taunus									2,52	1,52	1,69	3,28	3,74
WK Harz										2,16	2,12	1,96	1,67
WK Hainich											1,96	2,7	2,79
WK Solling												2,48	2,46
WK Bulgarien1													0,95

3.1.3 Verwandtschaft der Haplotypen

Um die Verwandtschaft der Haplotypen untereinander darzustellen, wurde auf der Basis der Kimura-2-Parameter Distanzen zwischen den Haplotypen ein Neighbour-Joining-Baum erstellt. Dabei entstand ein Baum, bei dem fünf Gruppen von Haplotypen zu unterscheiden sind (Abb. 6 und 7). Von diesen bestehen drei ausschließlich aus Hauskatzenhaplotypen, eine nur aus Wildkatzenhaplotypen und eine überwiegend aus Wildkatzenhaplotypen. In der zuletzt genannten Gruppe befindet sich ein Cluster von drei nahe beieinander liegenden Hauskatzenhaplotypen. Ein mit Hilfe des Parsimony-Verfahrens erstellter Baume war im Wesentlichen identisch und ist daher nicht abgebildet. Lediglich innerhalb der Gruppen gab es geringfügige Verschiebungen. In beiden Fällen wurden von den großen Gruppen nur die Gruppen 1 und 3 durch hohe Bootstrap-Werte unterstützt (siehe Abb. 7). Bei der Anwendung des Maximum-Likelihood-Verfahrens zeigten sich Veränderungen im Verhältnis der Gruppen 4 und 5 zueinander (Abb. 8). Die Bootstrap-Werte waren kleiner als bei den anderen Verfahren.

Bei den Hauskatzen entsprachen die Gruppen nicht der geographischen Verteilung. In den beiden großen Haplotypengruppen 2 und 4 waren jeweils alle Populationen (Schleswig-Holstein, Eifel, Pfalz, Taunus, Berlin und Harz) vertreten, in Gruppe 1 alle außer den Pfälzer Hauskatzen (vgl. Tab. 9). Etwas anders sah es bei den Wildkatzen aus: Während ein Teil der Haplotypen der Gruppe 5 in Bulgarien und ein Teil in Deutschland vorkamen, waren Haplotypen der Gruppe 3 mit Ausnahme des weiter außen stehenden WK49 nur in Deutschland vertreten.

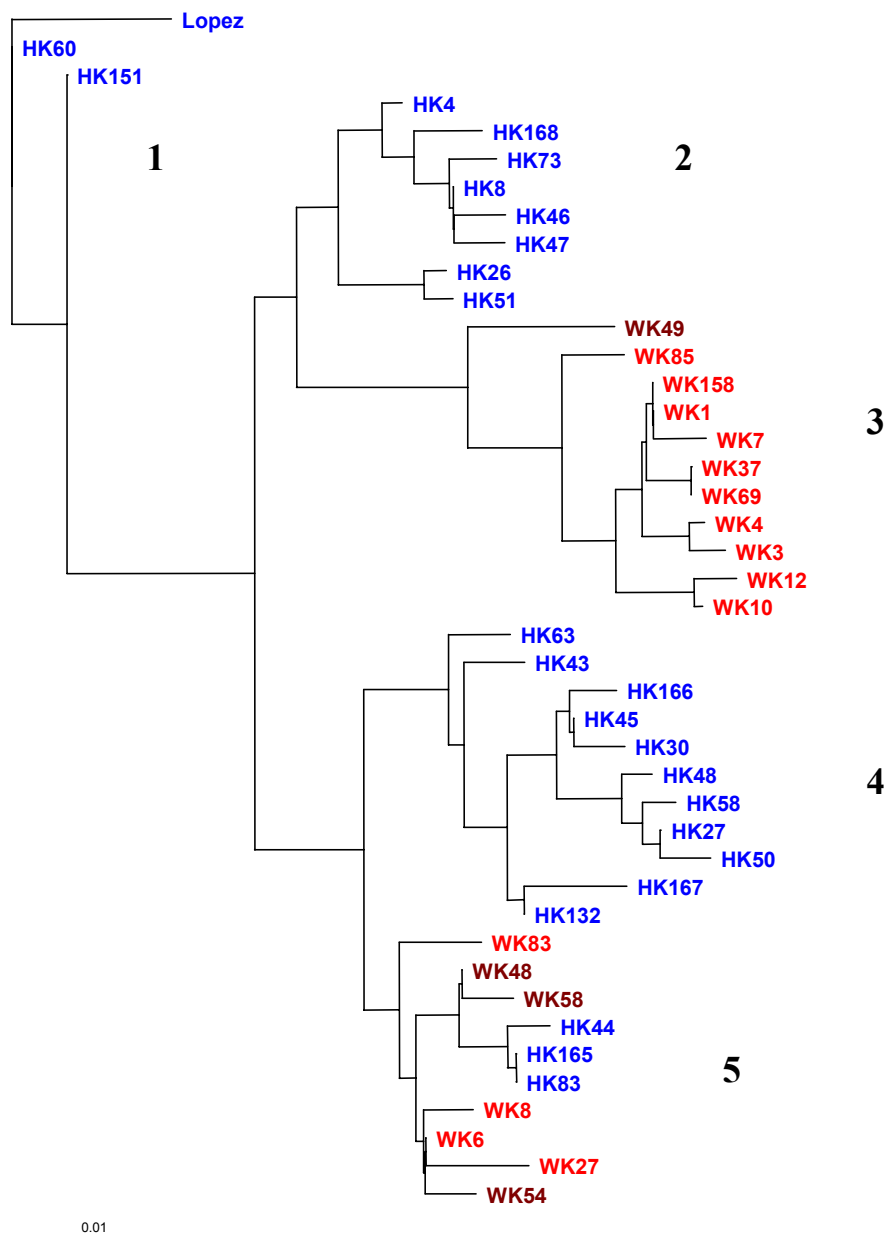
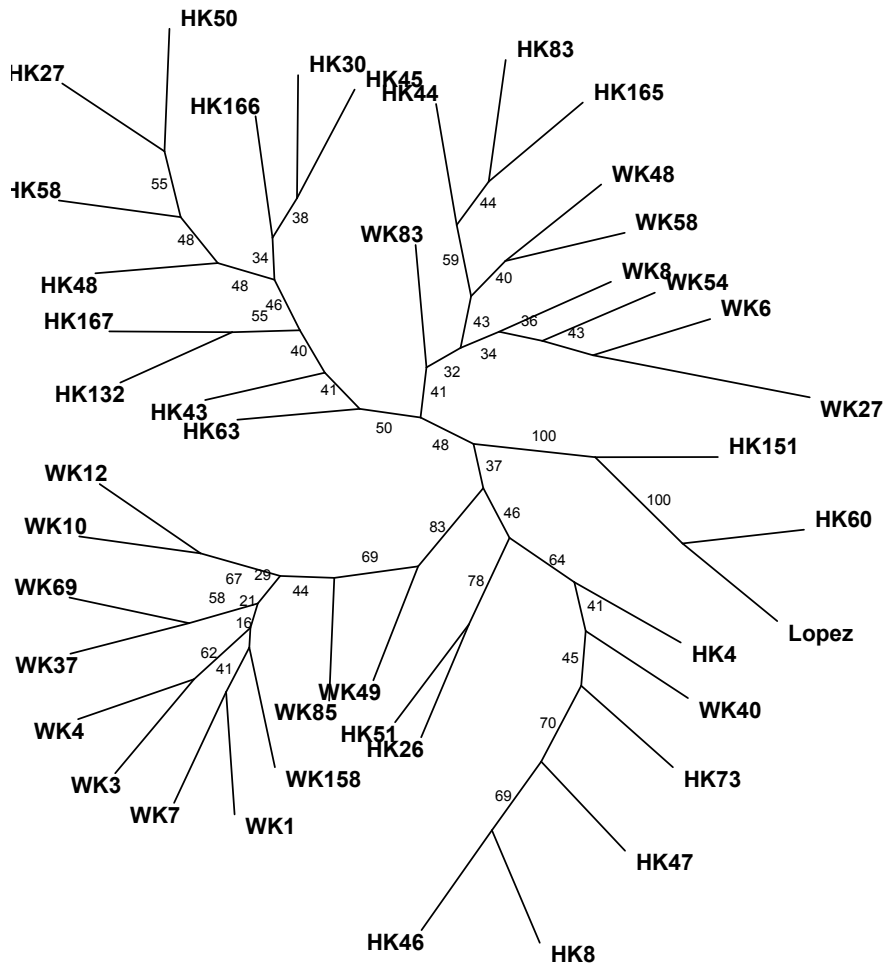
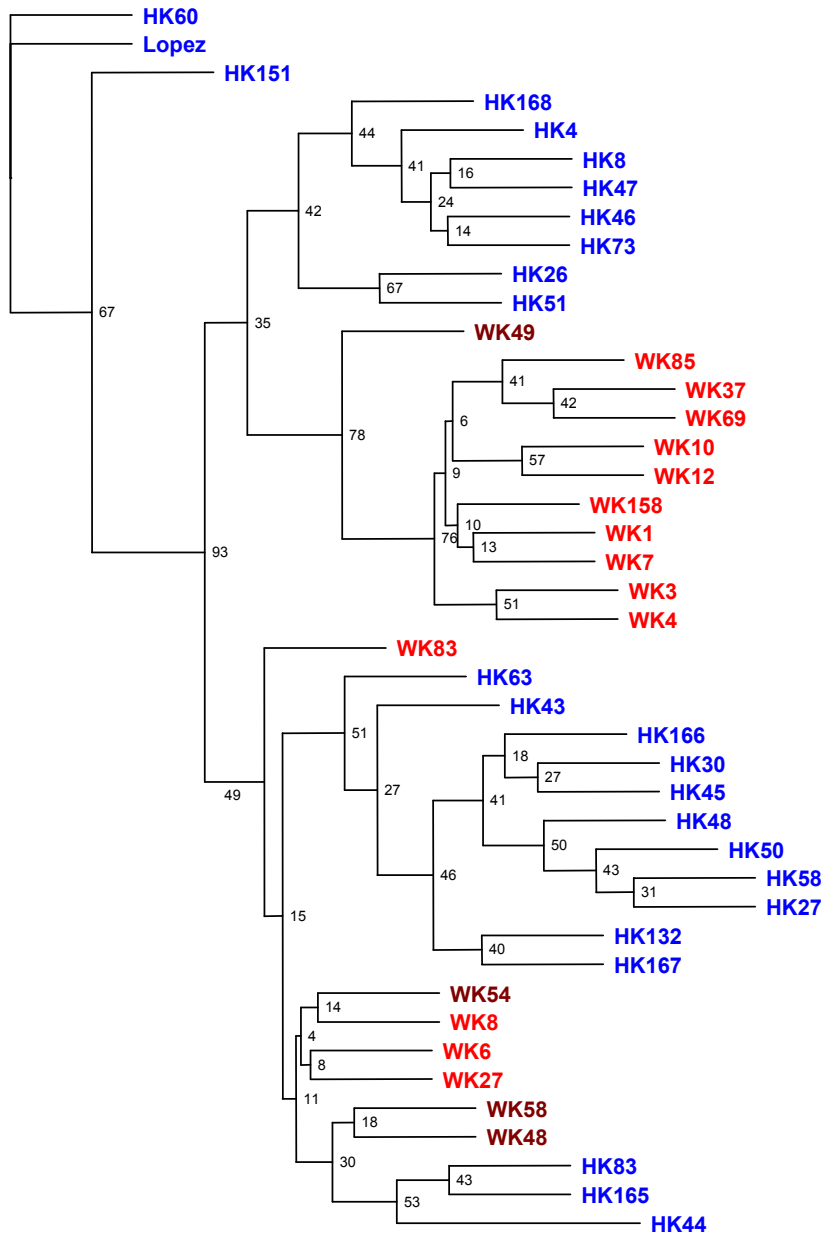


Abb. 6. Auf der Basis von Kimura-2-Parameter-Distanzen erstellter Ähnlichkeitsbaum (Neighbour-Joining-Verfahren). Dieser Baum ist nicht gewurzelt. Hauskatzen sind blau, Wildkatzen aus Deutschland rot und Wildkatzen aus Bulgarien braun markiert. Die Gruppen sind durch die Ziffern 1 bis 5 gekennzeichnet. Unten ist der Distanzmaßstab angegeben.



_10

Abb. 7. Auf der Basis von Kimura-2-Parameter-Distanzen erstellter Ähnlichkeitsbaum (Neighbour-Joining-Verfahren) mit Bootstrap-Werten (radiäre Darstellung). Dieser Baum ist nicht gewurzelt. Die Länge der Äste zwischen den Gabelungen entspricht den Bootstrap-Werten. Der Maßstab ist unten angegeben.



_10

Abb. 8. Nach dem Maximum-Likelihood-Verfahren erstellter Ähnlichkeitsbaum mit Bootstrap-Werten (nicht gewurzelt). Hauskatzen sind blau, Wildkatzen rot markiert (bulgarische Wildkatzen braun). Die Länge der Äste zwischen den Gabelungen entspricht den Bootstrap-Werten. Der Maßstab ist unten angegeben.

3.2 Mikrosatelliten-Analyse

3.2.1 Charakterisierung der Mikrosatellitenloci

Während bei der PCR mit den Isolaten aus Leber- und Blutproben kaum Probleme auftraten, waren mit Isolaten aus Haarproben nicht immer erkennbare PCR-Produkte zu erzielen. Insbesondere bei der mit der anfänglichen Methode isolierten DNA gelang die Amplifikation der Mikrosatelliten nur selten. Aus diesem Grund liegen kaum Ergebnisse für Hauskatzen aus Schleswig-Holstein sowie aus dem Harz vor. Von insgesamt 244 Proben gingen 217 Proben (102 Wildkatzen, 112 Hauskatzen und drei unbestimmte Katzen) in die genetische Hauptkomponentenanalyse ein. Für die Berechnung der Diversitätsmaße wurden nur Proben verwendet, die klar einer Population zugeordnet werden konnten und bei denen die Amplifikation von Allelen an mindestens fünf Loci erfolgreich war (78 Wildkatzen und 94 Hauskatzen). Dabei wurden bei den Hauskatzen auch hier die Tiere aus den Gegenden Harz, Hainich und Solling zu einer Population ("Harz") zusammengefasst. Schleswig-Holstein fiel als Stichprobe völlig weg, da hier nur bei einem Individuum die Analyse von mehr als vier Loci erfolgreich war. Die einzelnen Stichprobengrößen sind der Tabelle 17 zu entnehmen.

Alle acht Mikrosatelliten-Loci erwiesen sich als ausgesprochen variabel. Bei insgesamt 217 Katzen wurden je Locus 10-19 Allele gefunden (Tab. 15). Der durchschnittliche beobachtete Heterozygotiegrad H_o (über 13 Populationen) betrug 0,56 bis 0,73 (Tab. 16).

Tab. 15. Gesamtzahl der Allele pro Mikrosatellitenlocus und jeweiliger Längenbereich (bei 217 Individuen).

Locus	Fca35	Fca43	Fca96	Fca90	Fca126	Fca23	Fca45	Fca78
Anzahl Allele	15	13	19	19	14	13	12	10
Länge in bp	133-165	111-139	181-231	71-139	113-149	130-156	141-163	187-205

Für die Loci Fca35 und Fca 78 wurde ein Kopplungsungleichgewicht festgestellt ($p < 0,001$). Daher musste einer der beiden Loci aus der Auswertung heraus gelassen werden. Obwohl beim Locus Fca78 die PCR-Amplifikation nicht immer gelang, fiel die Wahl auf den Locus Fca35, da hier Probleme bei der eindeutigen Bestimmung der Allele aufgetreten waren.

Die Loci Fca78, Fca90, Fca96 und Fca 126 wichen in mehreren Populationen signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ab. In den meisten Fällen lag ein Mangel an Heterozygoten vor.

Tab. 16. Charakterisierung der Mikrosatellitenloci. n Individ. = Anzahl der für diesen Locus untersuchten Individuen, \bar{n} Allele = durchschnittliche Anzahl der Allele pro Population, \bar{H}_O = mittlerer beobachteter Heterozygotiegrad und \bar{H}_E = mittlerer erwarteter Heterozygotiegrad über 13 Populationen.

Locus	\bar{n} Individ.	\bar{n} Allele	\bar{H}_O	\bar{H}_E
Fca43	163	4,54	0,57	0,57
Fca96	168	6,62	0,60	0,75
Fca90	170	5,85	0,63	0,71
Fca126	170	4,79	0,56	0,63
Fca23	169	5,38	0,66	0,68
Fca45	169	5,85	0,73	0,79
Fca78	149	5,38	0,67	0,74

3.2.2 Variabilität innerhalb der Populationen

Der erwartete Heterozygotiegrad H_E betrug im Durchschnitt über alle 13 Populationen 0,69, wobei der Wert für die Hauskatzenpopulationen im Mittel etwas über dem der Wildkatzenpopulationen lag (0,73 bzw. 0,65, Tab. 17). Die durchschnittliche Anzahl der Allele pro Population war bei den Hauskatzen deutlich höher als bei den Wildkatzen. Der beobachtete Heterozygotiegrad H_O war bei den Wildkatzen noch etwas niedriger. Innerhalb der Hauskatzen war die Variabilität überall ungefähr gleich ausgeprägt, außer dass die Hauskatzenpopulation im Taunus eine etwas höhere Diversität aufwies. Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht kamen durch einzelne Loci zustande. Bei den Wildkatzen wurde die höchste Variabilität in den Populationen Eifel und Bulgarien 2 gefunden. Eine relativ geringe Diversität wurde im Nationalpark Hainich, im Solling und in der Population Bulgarien1 gefunden. Pfalz und Taunus waren Populationen, bei denen der tatsächlich beobachtete Heterozygotiegrad niedrig war und deutlich unter dem erwarteten Heterozygotiegrad lag. Eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ergab sich nur bei der Population in der Pfalz und der Population Bulgarien1, wobei die Abweichung bei der letzteren Population auf einzelne Loci zurückzuführen war.

Tab. 17. Variabilität innerhalb der Populationen. n Ind. = Anzahl der Individuen, \bar{n} Allele = durchschnittliche Anzahl unterschiedlicher Allele pro Locus, \bar{H}_O = durchschnittlicher beobachteter Heterozygotiegrad über 7 Loci, \bar{H}_E = durchschnittlicher erwarteter Heterozygotiegrad über 7 Loci, p HW = Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

Population	n Ind.	\bar{n} Allele	\bar{H}_O	\bar{H}_E	p HW
HK Pfalz	21	7,57	0,72	0,73	0,0518
HK Eifel	22	8,29	0,72	0,71	0,0001
HK Taunus	13	6,14	0,78	0,71	0,6969
HK Berlin	27	7,43	0,68	0,76	0,0000
HK Harz	11	6,14	0,69	0,74	0,0452
WK Eifel	11	5,86	0,77	0,76	0,9098
WK Pfalz	8	5,00	0,54	0,69	0,0146
WK Taunus	6	3,57	0,55	0,65	0,1422
WK Harz	20	5,00	0,62	0,65	0,1586
WK Hainich	6	3,00	0,50	0,52	0,5665
WK Solling	12	4,29	0,49	0,56	0,2121
WK Bulgarien1	8	3,43	0,58	0,58	0,0007
WK Bulgarien2	7	5,57	0,67	0,79	0,0646

\bar{n} HK gesamt	94	7,11	0,72	0,73	
\bar{n} WK gesamt	78	4,47	0,59	0,65	
\bar{n} WK BRD	63	4,45	0,58	0,66	
\bar{n} Gesamt	172	5,48	0,64	0,69	

3.2.3 Differenzierung zwischen den Populationen

Fixierte Unterschiede in den Allelfrequenzen wurden nicht festgestellt. Vielmehr gab es gemeinsame Allele bei Haus- und Wildkatzen, die jedoch teilweise in recht unterschiedlichen Häufigkeiten auftraten. Daneben wurden Allele ermittelt, die nur bei Haus- bzw. nur bei Wildkatzen vorkamen (Tab. 19-25).

Der Homogenitätstest ergab insgesamt eine signifikante Differenzierung zwischen den Populationen ($p < 0,0001$). Die Ergebnisse der paarweisen Homogenitätstests sind der Tabelle 18 zu entnehmen. Während bei den Hauskatzen vier von zehn paarweisen Vergleichen keine signifikante Unterscheidung ergaben, waren es bei den Wildkatzen nur drei von 28 (Eifel-Pfalz, Pfalz-Taunus, Hainich-Solling). Haus- und Wildkatzenpopulationen waren immer signifikant voneinander unterschieden.

Der Gesamt- F_{ST} betrug 13,20 %, d.h. 13,20 % der gesamten Diversität entfiel auf die Diversität zwischen den Populationen ($F_{IS} = 0,0812$). Innerhalb der Wildkatzen betrug dieser Wert 9,55 % (ohne Bulgarien 9,37 %), innerhalb der Hauskatzen nur 3,00 %.

Tab. 18. Ergebnisse der paarweisen Homogenitätstests über 7 Loci. Mit * gekennzeichnete Populationspaare unterschieden sich signifikant ($p > 0,05$). n.s. = nicht signifikant. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrz = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien.

	Hauskatzen				Wildkatzen							
	Eif	Tns	Ber	Hrz	Eif	Pfz	Tns	Hrz	Hai	Slg	Bg1	Bg2
HK Pfz	n.s.	*	*	n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Eif		*	*	n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Tns			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Ber				n.s.	*	*	*	*	*	*	*	*
HK Hrz					*	*	*	*	*	*	*	*
WK Eif						n.s.	*	*	*	*	*	*
WK Pfz							n.s.	*	*	*	*	*
WK Tns								*	*	*	*	*
WK Hrz									*	*	*	*
WK Hai										n.s.	*	*
WK Slg											*	*
WK Bg1												*

Tab. 19. Frequenzen der Allele (Länge in bp) des Mikrosatelliten-Locus 43 in den einzelnen Populationen. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrz = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien (n = Anzahl der untersuchten Individuen).

Fca43	Hauskatzen					Wildkatzen							
Allel	Pfz	Eif	Tns	Ber	Hrz	Eif	Pfz	Tns	Hrz	Hai	Slg	Bg1	Bg2
	(21)	(16)	(13)	(27)	(10)	(11)	(7)	(5)	(20)	(6)	(12)	(8)	(7)
111	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000
119	0.000	0.031	0.038	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
121	0.048	0.031	0.000	0.093	0.050	0.273	0.214	0.400	0.200	0.000	0.167	0.000	0.071
123	0.405	0.375	0.423	0.407	0.450	0.545	0.571	0.300	0.775	0.917	0.708	0.938	0.286
125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000
127	0.024	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000
129	0.405	0.375	0.385	0.426	0.450	0.045	0.071	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.143
131	0.048	0.062	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
133	0.000	0.125	0.038	0.037	0.050	0.091	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143
135	0.071	0.000	0.077	0.000	0.000	0.000	0.000	0.200	0.000	0.000	0.000	0.000	0.214
137	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143
139	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.045	0.000	0.100	0.000	0.000	0.042	0.062	0.000

Tab. 20. Frequenzen der Allele (Länge in bp) des Mikrosatelliten-Locus 96 in den einzelnen Populationen. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien (n = Anzahl der untersuchten Individuen).

Fca96 Allel	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Pfz (21)	Eif (22)	Tns (13)	Ber (27)	Hrз (11)	Eif (10)	Pfz (7)	Tns (5)	Hrз (20)	Hai (6)	Slg (11)	Bg1 (8)	Bg2 (7)
181	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
183	0.048	0.114	0.000	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071
185	0.024	0.000	0.077	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
203	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
205	0.024	0.023	0.000	0.148	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
207	0.071	0.364	0.038	0.130	0.227	0.050	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
209	0.690	0.341	0.692	0.481	0.364	0.050	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.071
211	0.000	0.023	0.000	0.056	0.045	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
213	0.024	0.000	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
215	0.000	0.000	0.038	0.000	0.045	0.050	0.000	0.000	0.050	0.000	0.091	0.000	0.000
217	0.095	0.045	0.038	0.185	0.091	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.143
219	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.300	0.286	0.200	0.075	0.000	0.182	0.000	0.000
221	0.024	0.023	0.000	0.000	0.000	0.100	0.357	0.100	0.175	0.167	0.273	0.125	0.071
223	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.150	0.143	0.400	0.400	0.167	0.136	0.250	0.000
225	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.050	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.214
227	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.167	0.000	0.000	0.143
229	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.150	0.000	0.300	0.175	0.500	0.273	0.438	0.143
231	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.045	0.062	0.143

Tab. 21. Frequenzen der Allele (Länge in bp) des Mikrosatelliten-Locus 90 in den einzelnen Populationen. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien (n = Anzahl der untersuchten Individuen).

Fca90 Allel	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Pfz (20)	Eif (22)	Tns (13)	Ber (27)	Hrз (11)	Eif (11)	Pfz (7)	Tns (6)	Hrз (20)	Hai (6)	Slg (12)	Bg1 (8)	Bg2 (7)
85	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
89	0.350	0.386	0.462	0.407	0.318	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.214
91	0.000	0.023	0.000	0.056	0.091	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
95	0.000	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
99	0.000	0.023	0.077	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
101	0.000	0.023	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
103	0.025	0.023	0.115	0.111	0.091	0.000	0.000	0.083	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
105	0.125	0.000	0.115	0.167	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
107	0.000	0.045	0.000	0.000	0.000	0.091	0.071	0.000	0.150	0.083	0.250	0.500	0.214
109	0.100	0.068	0.000	0.000	0.045	0.091	0.214	0.333	0.025	0.000	0.000	0.000	0.143
111	0.300	0.295	0.115	0.185	0.364	0.227	0.143	0.583	0.550	0.750	0.667	0.500	0.214
113	0.100	0.023	0.038	0.019	0.091	0.182	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.214
115	0.000	0.045	0.038	0.000	0.000	0.273	0.214	0.000	0.250	0.167	0.042	0.000	0.000
117	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
119	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.136	0.071	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
121	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000
139	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000

Tab. 24. Frequenzen der Allele (Länge in bp) des Mikrosatelliten-Locus 45 in den einzelnen Populationen. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien (n = Anzahl der untersuchten Individuen).

Fca45	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Pfz	Eif	Tns	Ber	Hrз	Eif	Pfz	Tns	Hrз	Hai	Slg	Bg1	Bg2
Allel	(20)	(22)	(13)	(27)	(9)	(11)	(8)	(6)	(20)	(6)	(12)	(8)	(7)
141	0.000	0.000	0.000	0.093	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
143	0.125	0.227	0.115	0.056	0.111	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000
145	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000
147	0.200	0.205	0.231	0.130	0.333	0.182	0.188	0.083	0.100	0.167	0.250	0.125	0.071
149	0.000	0.045	0.000	0.185	0.111	0.182	0.062	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.071
151	0.050	0.023	0.000	0.000	0.056	0.000	0.000	0.000	0.100	0.000	0.000	0.000	0.071
153	0.200	0.273	0.538	0.204	0.167	0.136	0.250	0.250	0.375	0.500	0.250	0.438	0.500
155	0.175	0.136	0.038	0.130	0.000	0.227	0.250	0.000	0.075	0.000	0.208	0.188	0.071
157	0.175	0.068	0.038	0.148	0.056	0.273	0.125	0.417	0.325	0.333	0.292	0.000	0.143
159	0.075	0.000	0.038	0.056	0.167	0.000	0.000	0.250	0.000	0.000	0.000	0.125	0.071
161	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
163	0.000	0.023	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Tab. 25. Frequenzen der Allele (Länge in bp) des Mikrosatelliten-Locus 78 in den einzelnen Populationen. Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien (n = Anzahl der untersuchten Individuen).

Fca78	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Pfz	Eif	Tns	Ber	Hrз	Eif	Pfz	Tns	Hrз	Hai	Slg	Bg1	Bg2
Allel	(21)	(14)	(11)	(26)	(5)	(9)	(7)	(6)	(18)	(5)	(12)	(8)	(7)
187	0.048	0.036	0.000	0.058	0.100	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
189	0.143	0.036	0.273	0.019	0.100	0.056	0.000	0.083	0.167	0.000	0.042	0.062	0.000
191	0.071	0.000	0.000	0.019	0.000	0.167	0.143	0.167	0.250	0.300	0.292	0.188	0.000
193	0.048	0.000	0.000	0.000	0.000	0.222	0.214	0.167	0.111	0.200	0.042	0.000	0.214
195	0.286	0.500	0.318	0.308	0.700	0.444	0.429	0.083	0.194	0.100	0.042	0.438	0.357
197	0.024	0.000	0.000	0.173	0.000	0.056	0.071	0.500	0.278	0.400	0.583	0.250	0.429
199	0.190	0.107	0.000	0.038	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
201	0.143	0.214	0.273	0.250	0.100	0.056	0.143	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
203	0.048	0.107	0.136	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
205	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.062	0.000

Aus den Frequenzen der Allele wurden Nei- und Chord-Distanzen zwischen den Populationen errechnet. Bei dem auf Basis der Nei-Distanzen erstellten Neighbour-Joining-Baum wurde eine deutliche Differenzierung in Haus- und Wildkatzen erkennbar (Abb. 9). Zudem wird deutlich, dass die genetischen Distanzen zwischen den Hauskatzenpopulationen im Mittel kleiner sind als zwischen den Wildkatzenpopulationen. Die Werte für die Chord-Distanzen waren generell geringer. Der auf Chord-Distanzen basierende Neighbour-Joining-Baum unterschied sich jedoch kaum von dem auf Nei-Distanzen basierenden und wurde daher nicht abgebildet.

Tab. 26. Genetische Distanzen zwischen Populationen. Oberhalb der Diagonale: Chord-Distanzen, unterhalb: Nei-Distanzen (NEI, 1972). Pfz = Pfalz, Eif = Eifel, Tns = Taunus, Ber = Berlin, Hrз = Harz, Hai = Hainich, Slg = Solling, Bg = Bulgarien.

	Hauskatzen					Wildkatzen							
	Pfz	Eif	Tns	Ber	Hrz	Eif	Pfz	Tns	Hrz	Hai	Slg	Bg1	Bg2
HKPfz	0.0000	0.0456	0.0457	0.0494	0.0530	0.1323	0.1449	0.1584	0.1401	0.1551	0.1377	0.1395	0.1138
HKEif	0.1631	0.0000	0.0499	0.0580	0.0487	0.1314	0.1422	0.1905	0.1607	0.1848	0.1714	0.1651	0.1331
HKTns	0.1513	0.1799	0.0000	0.0594	0.0558	0.1737	0.1863	0.2136	0.1828	0.1912	0.1811	0.1695	0.1545
HKBer	0.1727	0.2142	0.1847	0.0000	0.0542	0.1364	0.1471	0.1716	0.1576	0.1762	0.1543	0.1508	0.1303
HKHrz	0.1866	0.1134	0.2124	0.1693	0.0000	0.1449	0.1639	0.1816	0.1618	0.1809	0.1679	0.1552	0.1346
WKEif	0.8078	0.7198	1.0415	0.7353	0.7125	0.0000	0.0275	0.0727	0.0532	0.0875	0.0795	0.0994	0.0939
WKPfz	0.8755	0.7353	1.0339	0.7957	0.7942	0.0752	0.0000	0.0849	0.0678	0.1035	0.0933	0.1110	0.0934
WKTns	1.0015	1.1476	1.4668	1.0107	1.1241	0.3089	0.3622	0.0000	0.0567	0.0843	0.0834	0.0985	0.1080
WKHrz	0.7762	0.8229	0.9727	0.7652	0.8126	0.2202	0.2808	0.2188	0.0000	0.0473	0.0383	0.0535	0.0995
WKHai	0.6338	0.7982	0.8973	0.8571	0.7889	0.4384	0.5234	0.4077	0.2114	0.0000	0.0367	0.0561	0.1093
WKSlg	0.6171	0.8408	0.9825	0.8102	0.8147	0.5410	0.5799	0.4532	0.2436	0.1018	0.0000	0.0487	0.1080
WKBg1	0.5797	0.6436	0.7513	0.6963	0.6067	0.4185	0.4444	0.4825	0.1691	0.1750	0.1670	0.0000	0.1023
WKBg2	0.6673	0.6621	0.7496	0.6766	0.7009	0.5045	0.4187	0.4701	0.4725	0.4924	0.4377	0.3693	0.0000

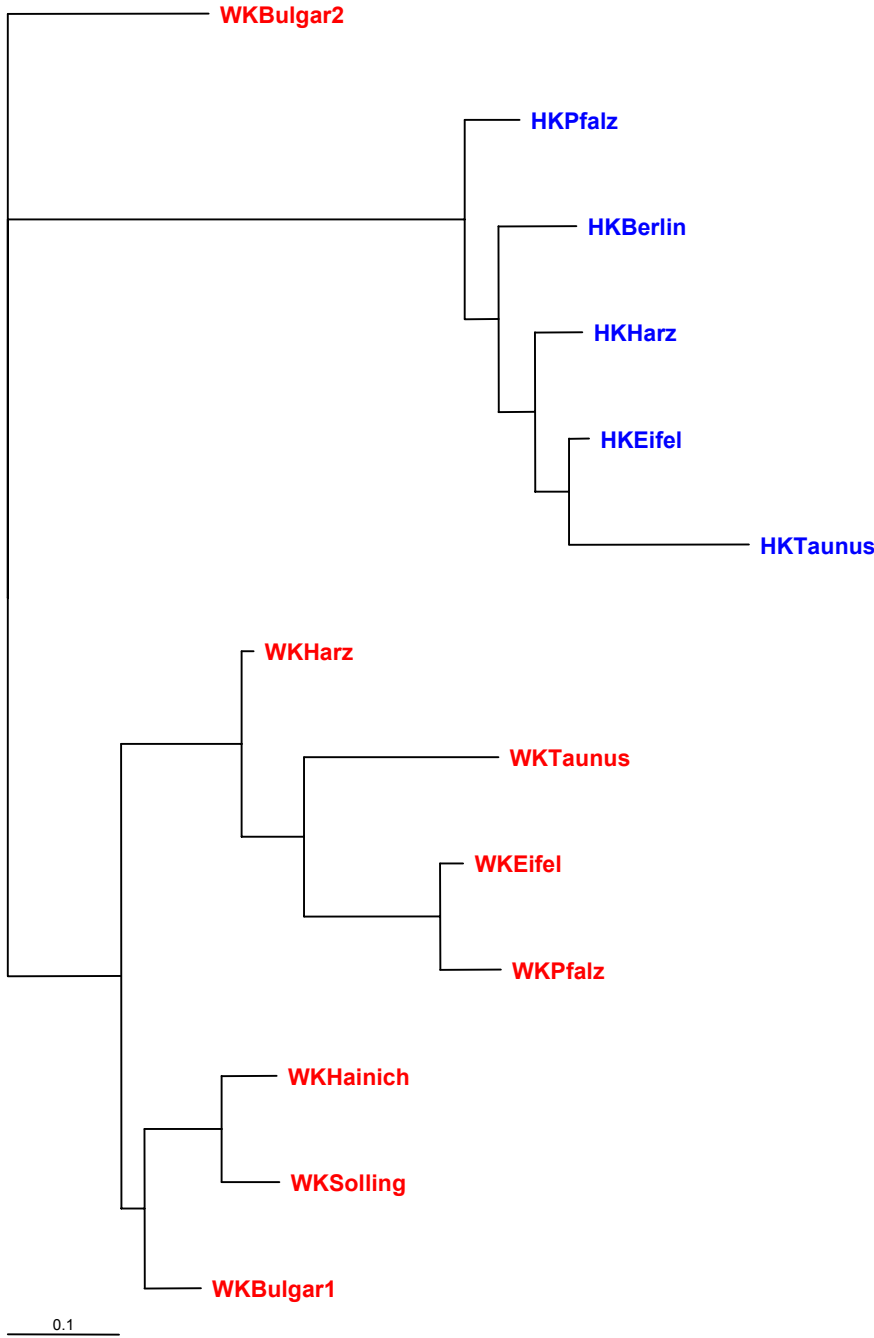
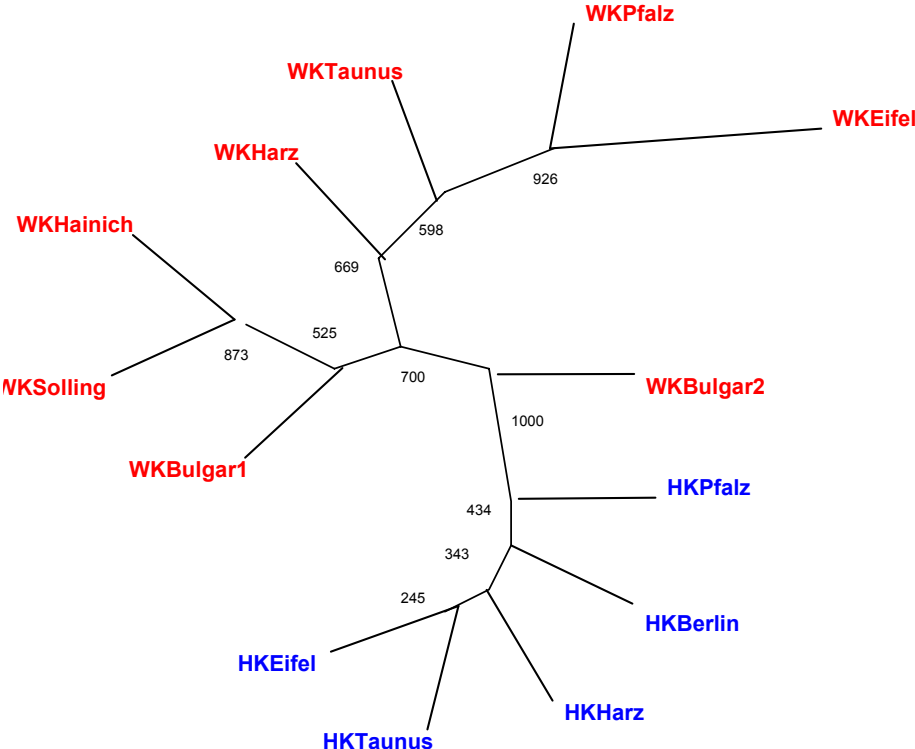


Abb. 9. Neighbour-Joining-Baum auf der Basis der Nei-Distanzen (NEI 1972). Ungewurzelter Baum. Hauskatzen sind blau markiert, Wildkatzen rot. Unten ist der Längenmaßstab angegeben.



_100

Abb. 10. Neighbour-Joining-Baum auf der Basis der Nei-Distanzen (NEI 1972). Radiäre Darstellung mit Bootstrap-Werten. Die Abstände entsprechen den Bootstrap-Werten.

3.2.4 Hauptkomponenten-Analyse

Die auf der Basis der individuellen Genotypen durchgeführte genetische Hauptkomponenten-Analyse (PCA-GEN) ergab eine deutliche Differenzierung von Haus- und Wildkatzen. Es wurden 15 Komponenten aufgedeckt. Die größte Komponente zur Erklärung der genetischen Differenzierung zwischen den Individuen, die von PCA-GEN gefunden wurde, war jene, welche Haus- und Wildkatzen unterscheidet (Abb. 11). Sie ist auf der graphischen Darstellung des Ergebnisses auf der Abszisse aufgetragen und erklärt 13,96 % der genetischen Diversität. Die Ordinate bezeichnet die zweitgrößte Komponente (7,45 %).

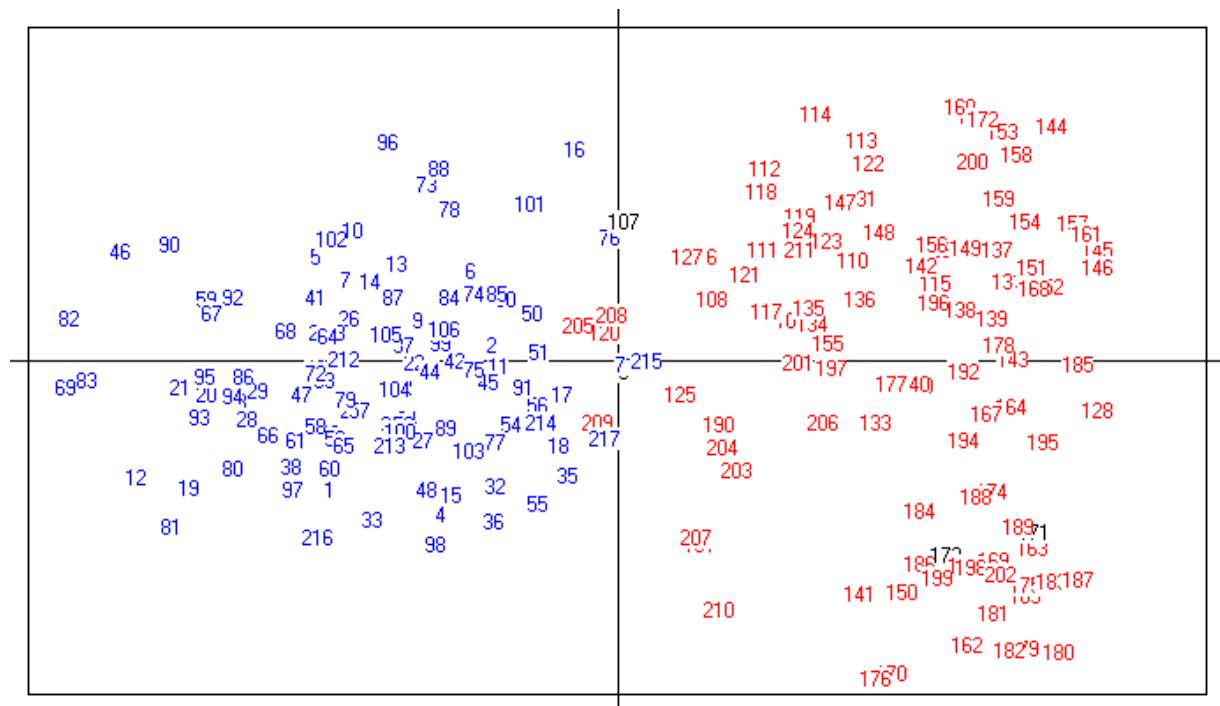


Abb. 11. Ergebnis der Hauptkomponenten-Analyse mit 217 Individuen und 7 Loci. Wildkatzen sind rot dargestellt, Hauskatzen blau. Abszisse: 1. Hauptkomponente, Ordinate: 2. Hauptkomponente. Der Nullpunkt liegt in der Mitte.

Fast alle Katzen waren eindeutig der einen oder der anderen Seite zugeordnet, auch solche, bei denen lediglich für drei Loci Ergebnisse vorlagen (Nr. 134, 135, 155). Zwei der drei Katzen, bei denen eine Zuordnung nach morphologischen Kriterien nicht möglich war, wurden den Wildkatzen zugeordnet (Nr. 171 und 173). Die dritte, dem Mageninhalt nach als Hauskatze klassifiziert (Nr. 107), lag direkt auf der Mitte. Alle drei Katzen wiesen mitochondriale Haplotypen auf, die typisch für Wildkatzen waren.

Abbildung 12 zeigt die zweit- und drittgrößte Komponente gegeneinander aufgetragen. Diese Komponenten ermöglichten keine Unterscheidung in zwei Gruppen. Während bei Verwendung von sieben Loci schon die Analyse von wenigen Proben eine Differenzierung in zwei Gruppen zeigte (Abb. 13), wurde die Auflösungskraft geringer, wenn weniger Loci be-

rücksichtigt wurden. Abbildung 14 stellt das Ergebnis der Analyse mit nur drei Loci, Fca23, Fca90 und Fca126, dar.

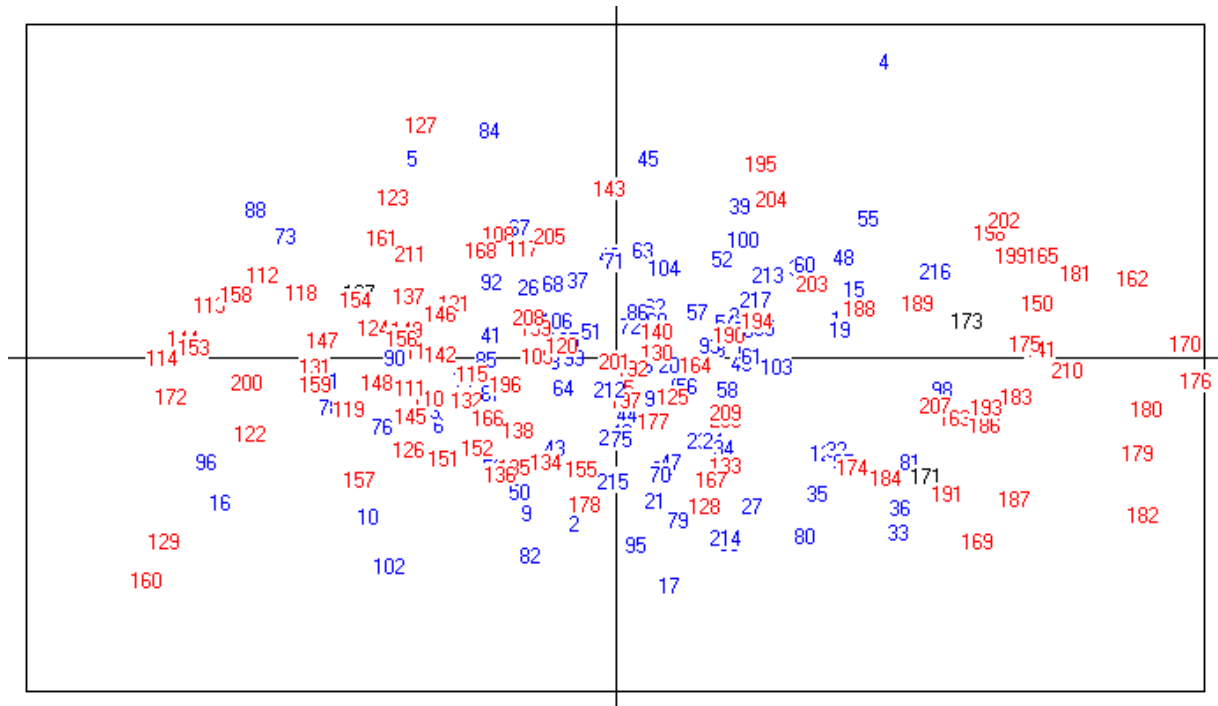


Abb. 12. Ergebnis der Hauptkomponenten-Analyse mit 217 Individuen und 7 Loci. Wildkatzen sind rot dargestellt, Hauskatzen blau. Abszisse: 2. Hauptkomponente, Ordinate: 3. Hauptkomponente. Der Nullpunkt liegt in der Mitte.

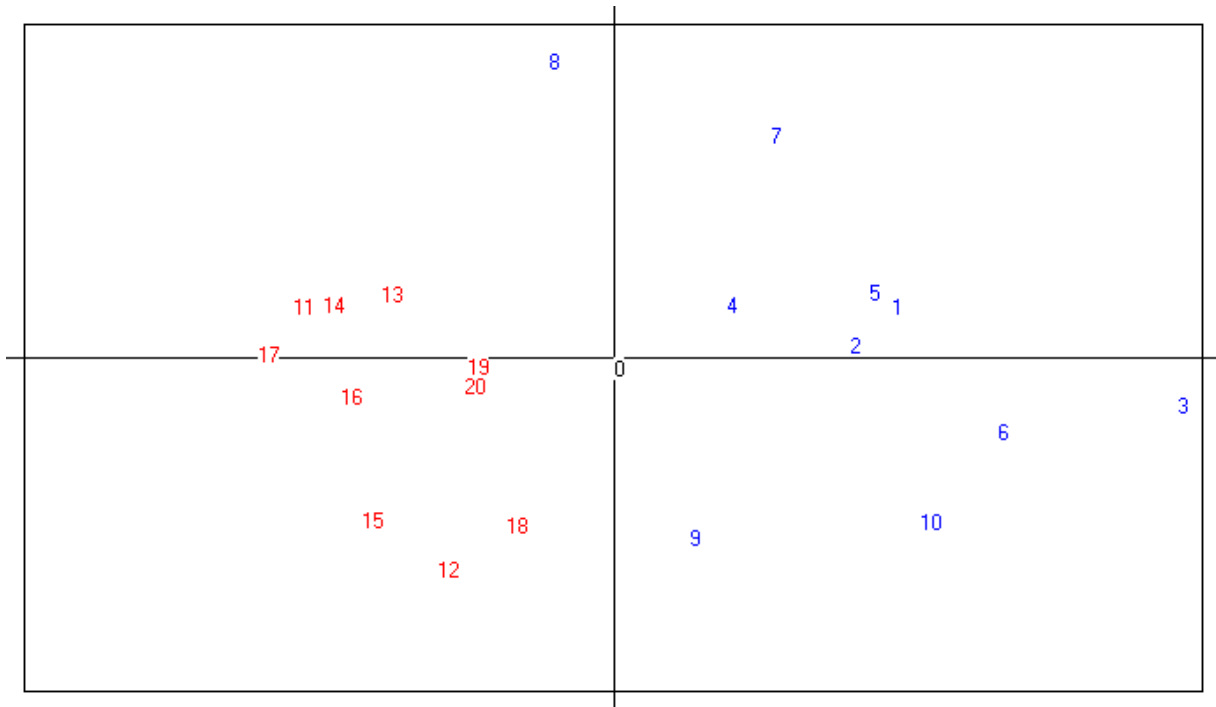


Abb. 13. Ergebnis der Hauptkomponenten-Analyse mit 20 Individuen und 7 Loci. Wildkatzen sind rot dargestellt, Hauskatzen blau. Abszisse: 1. Hauptkomponente, Ordinate: 2. Hauptkomponente.

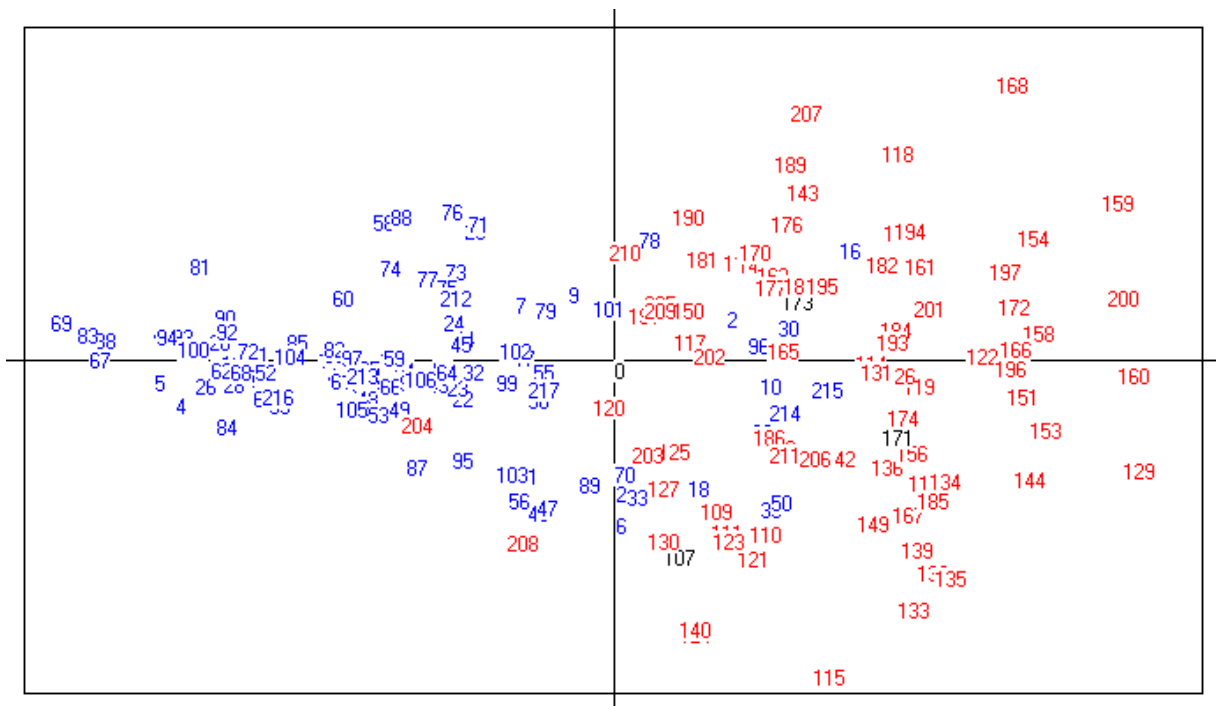


Abb. 14. Ergebnis der Hauptkomponenten-Analyse mit 217 Individuen und 3 Loci. Wildkatzen sind rot dargestellt, Hauskatzen blau. Abszisse: 1. Hauptkomponente, Ordinate: 2. Hauptkomponente.

4. Diskussion

4.1 Größe der Stichproben

Allgemein wurde pro Stichprobe ein Umfang von 30 Individuen angestrebt, da ein solcher Stichprobenumfang eine gute Abschätzung der genetischen Variabilität und Differenzierung ermöglicht (z. B. NEI, 1978; SLATKIN, 1985; ROFF und BENTZEN, 1989). Die Hauskatzen waren mit durchschnittlich 23 Individuen pro Population vergleichsweise gut vertreten, wobei für die Population "Harz" Tiere aus den nahe beieinander liegenden Gegenden Harz, Hainich und Solling zusammengefasst wurden. Anders als bei den Wildkatzen aus diesen Gebieten besteht kein Anlass zu der Annahme, dass es sich hier um getrennte Populationen handelt. Eine vor längerer Zeit erfolgte Introgression sollte sich daher im gesamten Umland bemerkbar machen. Um allerdings eine erst kürzlich stattgefundenen Einkreuzung von Wildkatzenallelen etwa im Bereich Solling sicher feststellen zu können, bedürfte es einer größeren Stichprobe speziell aus diesem Gebiet.

Von den Wildkatzenpopulationen ist einzig der Harz mit 20 Tieren zufriedenstellend vertreten. Wegen der geringen Zahl von Wildkatzen, die zudem nicht bejagt werden, erwies es sich als schwierig, ausreichend Proben zu bekommen. Eine parallel stattfindende genetische Untersuchung der Wildkatzen in der Eifel (HILLE et al., 2000) führte zudem, dieses Gebiet betreffend, zu einer Konkurrenzsituation. Trotz der geringen Größe der Stichproben schien es aber nicht zulässig, die Proben mehrerer Gebiete zusammenzufassen, da sie unterschiedliche, möglicherweise sogar voneinander isolierte Populationen repräsentieren (HERRMANN, 1989; PIECHOCKI, 1990; KOCK und ALTMANN, 1999). Nur die Proben aus dem Taunus wurden trotz des fortschreitenden Isolationsprozesses zwischen Hochtaunus und westlichem Taunus (KOCK und ALTMANN, 1999) zu einer Stichprobe zusammengefasst. Der Bestand im Rheingau-Taunus umfasst noch ungefähr 100 Individuen, im Hochtaunus leben dagegen nur etwa dreißig Tiere. Bei den Randpopulationen mit maximal 30 Individuen (Hainich, Solling, Hochtaunus) erschienen größere Stichproben als 10 Individuen pro Gebiet von vornherein unrealistisch. Da diese jedoch einen großen Anteil des Bestandes repräsentieren, sind sie trotz der geringen Anzahl an Individuen aussagekräftig.

4.2 DNA-Isolation

Im Rahmen der Untersuchung wurde DNA aus unterschiedlichen Ausgangsmaterialien (Blut, Muskel, Leber, Haare, Haut) isoliert. Bei der routinemäßigen Behandlung von Blut-, Muskel- und Leberproben traten kaum Probleme auf, nachdem der zu amplifizierende Abschnitt aus der Kontrollregion in zwei Teilen bearbeitet worden war. Auch die Amplifikation der Mikrosatellitenloci verlief bei diesen Proben erfolgreich. Die aus Haaren bzw. Fell isolierten Proben, insbesondere die mit der Phenol-Chloroform-Methode behandelten, bereiteten dagegen Schwierigkeiten. Nach Überwindung der wahrscheinlich durch Hemmstoffe ausgelösten PCR-Probleme (vgl. SENSABAUGH, 1994) gelangen immerhin ca. 90% der Sequenzierungen, wobei die kurzen Stücke (200 bp) häufiger gelangen als die längeren (350 bp). Zu erklären wäre dieser Befund dadurch, dass die DNA möglicherweise bei einigen Haarproben nur noch in Bruchstücken vorlag. Dies wäre für sogenannte „Ancient DNA“-Proben, zu denen nach HERRMANN und HUMMEL (1994) auch Proben mit geringen DNA-Mengen wie ausgefallene Haare oder eingetrocknete Spermareste gezählt werden, nicht ungewöhnlich (z.B. PÄÄBO, 1989; COOPER, 1994). Bei einer ohnehin kleinen DNA-Menge macht sich eine Beschädigung der DNA stärker bemerkbar. Entsprechend der im Vergleich zu mitochondrialer DNA weit geringeren Menge an Kern-DNA verlief die Amplifikation der Mikrosatellitenloci bei diesen Proben weitgehend erfolglos, obwohl es sich hier um relativ kurze Abschnitte (80-230 bp) handelte. Nach dem Wechsel zu einer anderen Isolationsmethode („DNeasy Tissue Kit“) traten kaum noch Probleme auf. Neben der größeren Reinheit der Isolate dürfte vor allem ein höherer Ertrag an DNA der Grund hierfür sein.

4.3 Analyse der mitochondrialen DNA

4.3.1 Variabilität innerhalb der Populationen

Die Variabilität lag insgesamt mit einer durchschnittlichen Haplotypendiversität von 0,64 und einer durchschnittlichen Nukleotiddiversität von 1,38 % recht hoch. Der Korrelationskoeffizient zwischen den beiden Werten betrug nur 0,59. Abweichungen kamen dadurch zustande, dass in einigen Populationen (WK Harz, WK Solling, WK Bulgarien1) nur wenige, dafür aber besonders weit voneinander entfernte Haplotypen vorkamen. Umgekehrt gab es bei den Wildkatzen im Taunus zwar vier verschiedene Haplotypen ($\delta = 0,75$), diese waren einander aber sehr ähnlich, so dass die Nukleotiddiversität nur 0,46 % betrug.

Die Wildkatzenpopulationen waren im Mittel etwas weniger variabel als die Hauskatzenpopulationen (siehe Abschnitt 3.1.2, Tab. 10). Die durchschnittliche Anzahl der Haplotypen pro Population war nur etwa halb so hoch. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass die Stichproben bei den Wildkatzen generell viel kleiner waren und die Zahl der gefundenen Haplotypen auch von der Größe der Stichprobe abhängt. Betrachtete man nur die Wildkatzenbestände in Deutschland, so lag deren durchschnittliche Haplotypendiversität etwa im gleichen Bereich wie die der Hauskatzen.

Innerhalb der Wildkatzen wiesen die Populationen Eifel, Hainich und Taunus die größte Haplotypendiversität auf (Tab. 10). Dabei handelt es sich bei der Eifel-Population um den größten deutschen Wildkatzenbestand, der noch dazu mit den angrenzenden Beständen in Belgien, Luxemburg und Frankreich verbunden ist. Die Stichproben aus dem Hainich und dem Taunus repräsentieren dagegen kleine, vermutlich isolierte Populationen mit jeweils nur ungefähr 30 Tieren. Die Populationen Harz und Solling lagen im mittleren Bereich; dabei war die Variabilität im Solling etwas höher als im Harz. Die vergleichsweise geringe genetische Vielfalt der Harzer Wildkatzen, die sich auch in der relativ kleinen Zahl von Haplotypen zeigte, ist um so auffälliger, als hier die Stichprobe recht groß war. In den Populationen Pfalz und Taunus war aufgrund der geringen Sequenzdivergenz der jeweils vorkommenden Haplotypen die Nukleotiddiversität sehr niedrig. Im Gegensatz dazu wiesen die anderen Populationen zum Teil sehr weit voneinander entfernte Haplotypen auf.

Insgesamt scheint es nicht zuzutreffen, dass die Variation in den kleineren Populationen niedriger ist. Die geringste genetische Vielfalt innerhalb Deutschlands war in der Pfalz zu finden, in einer Population, die als eine der drei großen Bestände in der Bundesrepublik gilt und zudem mit den Wildkatzen in den Vogesen (Frankreich) eine gemeinsame Population bilden soll (HERRMANN, *pers. Mitt.*). Die naheliegende Vermutung, dass es doch keinen genetischen Austausch mit den Katzen in den Vogesen gebe, scheint aber dadurch widerlegt zu werden, dass zwei der acht untersuchten „pfälzer“ Tiere tatsächlich aus dem angrenzenden Gebiet in Frankreich stammen. Diese beiden Individuen besaßen denselben Haplotyp, der auch im Pfälzer Wald am häufigsten zu finden war.

Die beiden bulgarischen Populationen wiesen eine ausgesprochen niedrige Variabilität auf. Lediglich die Nukleotiddiversität in der Population Bulgarien1 lag, bedingt durch die zwei sehr unterschiedlichen dort vorkommenden maternalen Linien, im mittleren Bereich. Dies ist insofern erstaunlich, als die bulgarischen Wildkatzen nach ZIMINA (1962) einen Bestand repräsentieren, der im Vergleich zu denen in Deutschland als relativ naturnah gelten kann.

Insgesamt ist die genetische Variabilität in den untersuchten Wildkatzenpopulationen recht hoch. Ähnlich hohe Werte fanden RANDI et al. (2001) bei einer Untersuchung italienischer Falb-, Wild und Hauskatzen. Selbst für die Falbkatzen auf Sardinien lagen sie in einem vergleichbaren Bereich ($\delta = 0,77$, $\pi = 0,9$ %). Nach seinen Ergebnissen war die Variabilität bei der Europäischen Wildkatze und der Hauskatze gleich hoch ($\delta = 0,92$, $\pi = 0,8$ %). Die Anzahl der Haplotypen war trotz etwa gleich großer Stichproben bei den Wildkatzen etwas kleiner als bei den Hauskatzen.

Innerhalb der Hauskatzen war die größte genetische Vielfalt in den Populationen Pfalz, Harz und Berlin zu finden. Unterdurchschnittlich variabel war die Stichprobe aus dem Taunus. Mit einer mittleren Haplotypendiversität von 0,67 war die genetische Vielfalt bei Hauskatzen sogar noch höher als bei den Wildkatzen. Aussagen über Genpoolveränderungen im Laufe der Domestikation sind insofern nicht möglich, als weder von der mutmaßlichen Ausgangsunterart, der afrikanischen Falbkatze (*Felis s. libyca*), noch von frühen Hauskatzenbeständen Daten vorliegen. Es bleibt jedoch festzuhalten, dass die genetische Variabilität ausgesprochen hoch ist.

Ähnlich hohe Werte in der Anzahl der Haplotypen wurden unter Haustieren bei Hunden (VILÀ et al., 1997; SAVOLAINEN et al., 1997; TSUDA et al., 1997; THALMANN, 2001) und Pferden (LISTER et al., 1998) gefunden. Innerhalb von Zuchtlinien kann die Variabilität jedoch gering sein. Insbesondere bei Labortieren wie Mäusen (FERRIS et al., 1982), Gerbilen (SCHULDT, 1998), Lemmings (ENGSTROM et al., 1993) und Meerschweinchen (LINDNER, 2002) wurde aufgrund von genetischen Engpässen und Inzucht nur eine geringe Diversität gefunden.

Während eine hohe Haplotypendiversität und eine große Anzahl von Haplotypen pro Population durch ungehinderten Genfluss zu erklären ist (vgl. Abschnitt 4.3.2) muss die insgesamt ausgesprochen hohe Anzahl an Haplotypen einen anderen Grund haben. So wäre es denkbar, dass die Katze mehrfach an verschiedenen Orten domestiziert wurde bzw. zu einem späteren Zeitpunkt Einkreuzungen stattfanden; zu einem ähnlichen Schluss kamen aufgrund vergleichbarer Daten TSUDA et al. (1997) für Hunde und LISTER et al. (1998) für Pferde. Auf jeden Fall muss eine große Gründerpopulation vorausgesetzt werden, da eine so hohe Zahl an Mutationen nicht innerhalb der kurzen Zeit der Domestikation stattgefunden haben kann. Eine Beteiligung der Europäischen Wildkatze ist für die große Zahl an Haplotypen eher nicht verantwortlich, da keiner der Hauskatzen-Haplotypen bei ihr vorkommt. Allenfalls die drei Haplotypen in der Wildkatzengruppe könnten von ihr stammen (siehe Abschnitt 4.3.3).

4.3.2 Differenzierung zwischen den Populationen

Innerhalb der Wildkatzen ergab der paarweise durchgeführte Homogenitätstest in den meisten Fällen eine signifikante Differenzierung (Abschnitt, 3.2.3, Tab. 11). Die nahe beieinander liegenden Populationen Eifel, Pfalz und Taunus waren untereinander nicht signifikant differenziert, obwohl sie als getrennte Populationen gelten (siehe Abschnitt 4.1). Der Vergleich der benachbarten Populationen Hainich-Harz und Hainich-Solling ergab keine signifikante Differenzierung, wohl aber der Vergleich Harz-Solling. Eine Ähnlichkeit dieser Populationen untereinander offenbart schon ein Blick auf die Verteilung der Haplotypen (Abschnitt 3.1.1, Tab. 9). Anhand der Haplotypen WK1 und WK4 sowie WK6 und WK12 ist eine Einteilung in eine "West"- und eine "Ost"-Gruppe möglich. Es fällt auf, dass der Haplotyp WK69, der in beiden Gruppen regelmäßig vorkommt, im Harz trotz der relativ großen Stichprobe völlig fehlt. Auch der Vergleich der Bestände Eifel und Hainich sowie Taunus und Hainich ergab keine signifikante Differenzierung. Die bulgarischen Populationen unterschieden sich deutlich von allen deutschen Populationen; sie haben mit ihnen keinen Haplotyp gemeinsam. Allerdings ist der in Bulgarien häufigste Haplotyp, WK48, nur eine Mutation von dem im Harz sehr verbreiteten Haplotyp WK6 entfernt.

Bei den Wildkatzen entfielen knapp 30 % der genetischen Diversität auf die Diversität zwischen den Populationen. Auf Deutschland beschränkt, ergab sich immer noch ein Fixationsindex von 19,41 %. Die entsprechenden Φ_{ST} -Werte, die die Sequenzunterschiede miteinbeziehen, lagen etwas höher (Abschnitt 3.1.3, Tab. 12). Für ein Gebiet dieser Größe ist das eine recht hohe Differenzierung. Diese ist, den Homogenitätstests nach zu urteilen, offenbar im Wesentlichen auf die Differenzierung zwischen der "West"- und der "Ost"-Gruppe zurückzuführen. Die Nettonukleotiddiversität zwischen den Populationen lag im Mittel bei 2,20 %. Auch hier fällt auf, dass die Populationen Eifel, Pfalz und Taunus einander recht ähnlich sind. Dagegen sind die Bestände Solling und Hainich den Nettonukleotiddiversitäten (Abschnitt 3.1.3, Tab 14) zufolge stärker von der angrenzenden Harz-Population unterschieden als von den westlichen Populationen.

Innerhalb der Hauskatzen ergaben die paarweisen Homogenitätstests nur in der Hälfte der Fälle eine signifikante Differenzierung. Hauptsächlich unterscheidet sich die Stichprobe aus der Pfalz von allen anderen Stichproben, während diese untereinander nur in wenigen Fällen differenziert sind. Es fällt auf, dass der Haplotyp HK8 in allen Hauskatzenpopulationen stark verbreitet ist mit Ausnahme der Population Pfalz, wo er seltener vorkommt. Daneben gibt es auffallend viele Haplotypen, die nur vereinzelt, oftmals nur bei einem Individuum, auftauchen. Ähnlichkeiten aufgrund geographischer Nähe fallen nicht ins Auge. Der Fixation-

index F_{ST} betrug innerhalb der Hauskatzen nur rund sieben Prozent (Φ_{ST} : 14 %). Die mittlere Nettonukleotiddiversität lag bei 1,81 %.

Von den 43 Haplotypen kamen 25 nur bei Hauskatzen und 18 ausschließlich bei Wildkatzen vor. Somit waren die beiden Gruppen klar voneinander getrennt. Die mittlere Nettonukleotiddiversität lag bei den paarweisen Vergleichen zwischen Haus- und Wildkatzenpopulationen mit 3,34 % höher als jeweils innerhalb der beiden Gruppen. Die hierarchische AMOVA (Abschnitt 3.1.3, Tab. 13), bei der die Populationen der Haus- und Wildkatzen zu je einer übergeordneten Gruppe zusammengefasst wurden, führte zu dem Ergebnis, dass der Anteil, der auf die Diversität zwischen den beiden Gruppen entfiel (18,80 %), deutlich höher war als derjenige, der auf die Diversität zwischen den Populationen innerhalb der beiden Gruppen entfiel (13,68 %). Bei der zweiten AMOVA, bei der neben den Haplotypenfrequenzen auch die Sequenzunterschiede berücksichtigt wurden, war der Anteil zwischen den beiden Gruppen mit 39,45 % sogar fast so hoch wie der Anteil, der auf die Variation innerhalb der Populationen entfiel (46,68 %). Fast denselben Wert erhielten RANDI et al. (2001) für die Diversität zwischen Falbkatze, Hauskatze und Europäischer Wildkatze in Italien.

4.3.3 Verwandtschaft der Haplotypen

Es wurden 43 Haplotypen mit 31 polymorphen Positionen ermittelt, die sich in ein bis neunzehn Mutationen voneinander unterschieden. Die paarweise Sequenzdivergenz betrug zwischen 0,31 % und 5,9 %. Basierend auf diesen Distanzen wurden Ähnlichkeitsbäume erstellt, bei denen fünf Gruppen (oder Linien) von Haplotypen unterscheidbar waren: drei reine Hauskatzengruppen (1, 2 und 4, Abschnitt 3.1.4, Abb. 6) eine reine Wildkatzengruppe (3) und eine Wildkatzengruppe (5), in die eine kleine Gruppe von drei Hauskatzenhaplotypen eingemischt war. Die Gruppen spiegelten nicht die geographische Verteilung wider. Bei den Hauskatzen waren in den Gruppen 2 und 4 alle Populationen vertreten. Der größte Teil der Wildkatzenhaplotypen der Gruppe 3 wurde nur in Deutschland gefunden, wobei jede der deutschen Populationen vertreten war. Daneben war aber auch ein bulgarischer Haplotyp enthalten, der in Deutschland gar nicht vorkam. Die Gruppe 5 repräsentierte sowohl deutsche als auch bulgarische Wildkatzenpopulationen. Von den Populationen aus Deutschland waren hier nur die östlichen Populationen und die der Eifel vertreten, nicht die der Pfalz und des Taunus. Eine Aufteilung des Baumes in zwei Äste, einen mit Hauskatzen- und einen mit Wildkatzenhaplotypen, war angesichts der nahen Verwandtschaft dieser beiden Katzensgruppen gar nicht zu erwarten. Es gibt Hinweise, dass sich die Falbkatze, von der die Hauskatze ab-

stammt, erst vor 20.000 Jahren entwickelt hat (RANDI und RAGNI, 1991). Erste paläontologische Funde von Falbkatzen stammen aus dem Holozän (SAVAGE, 1978; KLEIN, 1986). Die Europäische Wildkatze, *Felis s. silvestris*, ist in Europa dagegen schon seit 300.000 Jahren nachgewiesen, ihr Vorläufer, *Felis lunensis*, sogar seit 1,6 Millionen Jahren (KURTÉN, 1965b). *Felis s. silvestris* war auch im Nahen Osten und in Afrika verbreitet, bevor sie dort von der Falbkatze abgelöst wurde. In Palästina wurde sie während des Würms, der letzten paläarktischen Eiszeit, vor 35.000-15.000 Jahren, und in Südafrika vor 40.000-30.000 Jahren (KLEIN, 1986) nachgewiesen. Erst vor ca. 5.000 Jahren wurde sie in Palästina (KURTÉN, 1965a) und Südafrika (KLEIN, 1986) relativ schnell von Katzen des Falbkatzenphänotyps ersetzt.

Obwohl Berechnungen von Divergenzzeiten auf der Basis genetischer Daten gelegentlich zu zweifelhaften Ergebnissen führen, vor allem wenn sie auf Allelfrequenzen beruhen, ist doch eine grobe Abschätzung des Alters der Haplotypen möglich. Anders als bei Allelfrequenzen ist die Berechnung der Zeit, die seit der Trennung zweier Haplotypen vergangen ist, nicht von unterschiedlich starker genetischer Drift beeinflusst. Diese führt bei kleinen, isolierten Populationen häufig zu einer Überschätzung der Divergenzzeit (z.B. PETERKA und HARTL, 1992; MELNICK et al., 1993). Während für die Kontrollregion insgesamt eine Sequenzdivergenz von zwei bis vier Prozent pro einer Million Jahre angenommen wird (BROWN et al., 1979), variieren die Angaben für die schneller evoluiierende Kontrollregion allerdings beträchtlich. Für Säugetiere werden Werte von 3,88 bis 15 Prozent genannt (z.B. VIGILANT et al., 1989; STONEKING et al., 1992; TABERLET und BOUVET, 1994; BRADLEY et al., 1996; VILÀ et al., 1997; KIJAS und ANDERSSON, 2001). Legt man für Katzen die Substitutionsrate zugrunde, die VILÀ et al. (1997) für Wölfe ermittelt haben und die einer Sequenzdivergenz von 7,5 % pro 1 Million Jahre entspricht, so bedeutet das, dass sich die am weitesten voneinander entfernten Haplotypen bereits seit rund 800.000 Jahren auseinander entwickelt haben. Auch wenn man diesen Wert nur als sehr groben Anhaltspunkt betrachtet, wird doch deutlich, dass dieser Zeitrahmen den Zeitpunkt der Entstehung der Falbkatze und erst recht den der Domestikation der Katze weit übersteigt. Diese Ereignisse liegen erst viel zu kurz zurück, als dass die vorhandene Variation in dieser Zeit hätte entstehen können.

Die Verteilung der Haplotypen wäre dadurch zu erklären, dass vor sehr langer Zeit alle fünf Hauptlinien im Genpool der Europäischen Wildkatze vorhanden waren. Dieser hätte sich dann lange vor der Entstehung der Falbkatze aufgetrennt. In der Folge wären in Europa die Linien 3 und 5 und in Afrika die Linien 1, 2 und 4 erhalten geblieben (sog. „Lineage Sorting“, vgl. LEONARD et al., 2000) und hätten sich weiterentwickelt. Wenn das zutrifft, dann

sollten die bei den Hauskatzen vertretenen Linien auch bei den Falbkatzen zu finden sein. RANDI et al. (2001) fanden keine gemeinsamen Haplotypen bei den von ihnen untersuchten Falb- und Hauskatzen. Neben einer fast reinen Hauskatzengruppe stellten sie aber eine aus Falbkatzen- und Hauskatzenhaplotypen gemischte Gruppe fest. Inwieweit die auf Sardinien lebenden Falbkatzen repräsentativ für *Felis s. libyca* insgesamt sind, ist allerdings unklar.

Die Tatsache, dass bei den Hauskatzen drei äußerst divergente maternale Linien vorkommen, könnte auch auf eine frühe Beteiligung anderer Katzenarten bei der Domestikation der Katze hindeuten. Eine Beteiligung der Europäischen Wildkatze ist hierfür eher nicht verantwortlich, da keiner der Hauskatzenhaplotypen bei den Wildkatzen zu finden ist. Sie müssten demnach alle innerhalb der letzten 2.000 Jahre verlorengegangen sein, was unwahrscheinlich erscheint. Die drei Hauskatzenhaplotypen, die sich innerhalb der Gruppe 5 zwischen den Wildkatzenhaplotypen befinden, könnten allerdings ein Hinweis auf Introgression von den Wildkatzen in Richtung der Hauskatzen sein (vgl. AVISE, 1994). Die drei Haplotypen sind jeweils durch eine Mutation voneinander getrennt und wurden bei drei Individuen in unterschiedlichen Populationen (Eifel und Harz) gefunden. Die eventuelle Introgression könnte also auf ein einmaliges, schon etwas länger zurückliegendes Ereignis zurückgehen. Denkbar wäre allerdings auch, dass die Linie 5 von Anfang an in beiden Katzensgruppen erhalten geblieben ist oder dass aufgrund einer Sättigung an Substitutionen die Gruppen 4 und 5 nicht klar zu trennen sind. Hierfür sprechen die schlechten Bootstrap-Werte und die etwas unterschiedliche Gruppierung bei Anwendung des Maximum-Likelihood-Verfahrens (Abb. 8). Andererseits spricht die Verteilung der Haplotypen der Linie 5, die bei Wildkatzen sehr häufig, bei Hauskatzen extrem selten sind, doch eher für eine Introgression.

RANDI et al. (2001) stellen in ihrer Arbeit eine geringe phylogenetische Auflösung der Sequenzen fest. Neben einer reinen *Felis s. silvestris*- und einer fast reinen Hauskatzenlinie fanden sie gemischte Gruppen von Haplotypen. Das mag einerseits an der Einbeziehung von *Felis s. libyca* in die Analyse liegen, andererseits an einem in Italien möglicherweise größeren Hybridisierungsgrad. Die durchschnittliche Sequenzdivergenz beträgt bei ihnen allerdings auch nur 1 %, wodurch eine geringere Auflösung bedingt sein kann.

4.4 Analyse der Kern-DNA

4.4.1 Charakterisierung der Mikrosatellitenloci

Die Längenbereiche der gefundenen Mikrosatelliten-Allele entsprachen im Wesentlichen den bereits von verschiedenen Autoren für Katzen angegebenen Werten (MENOTTI-RAYMOND und O'BRIEN, 1995; WISEMAN et al. 2000; HILLE et al. 2000; RANDI et al. 2001) (Tab. 27). Eine Ausnahme bildete der Locus Fca90, für den in zwei Fällen das deutlich abweichende Allel 139 festgestellt wurde, wengleich sich der Großteil der Allele für diesen Locus im Bereich von 71 bis 121 Basenpaaren befand.

Aufgrund von Stotterbanden war die Bestimmung der einzelnen Allele nicht immer einfach. Die Entscheidung fiel jeweils für den höchsten Peak, wobei die Höhenunterschiede manchmal verschwindend gering waren. Bei nahe beieinander liegenden Allelen, insbesondere solchen, bei denen die Allellängen sich nur um eine Wiederholungseinheit unterschieden, war die Entscheidung, ob es sich um Homozygote oder Heterozygote handelte, schwierig. Hier mussten die Anzahl und das Muster der Peaks mit in die Entscheidung einbezogen werden, um eine Überschätzung des Homozygotenanteils zu vermeiden.

Tab. 27. Längenbereich der Mikrosatelliten-Allele in Basenpaaren. # = Locus wurde von den Autoren nicht untersucht. Für MENOTTI-RAYMOND und O'BRIEN sind nur Durchschnittswerte angegeben.

Loci	Länge der Allele (bp)				
	Menotti-Raymond und O'Brien (1995)	Hille et al. (2000)	Randi et al. (2001)	Wiseman et al. (2000)	vorliegende Arbeit
Fca 35	148	111 - 163	#	136 - 162	133 - 165
Fca 43	130	#	118 - 138	118 - 136	111 - 139
Fca 96	213	182 - 229	179 - 231	183 - 225	181 - 231
Fca 90	113	#	#	91 - 123	71 - 139
Fca 126	143	129 - 145	113 - 151	#	113 - 149
Fca 23	148	#	130 - 154	#	130 - 156
Fca 45	143	#	144 - 163	130 - 156	141 - 163
Fca 78	199	#	#	187 - 205	187 - 205

Einige der Loci wichen in mehreren Populationen signifikant vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ab (vor allem Fca78, Fca90, Fca96 und Fca126). In diesen Fällen war überwiegend ein Mangel an Heterozygoten zu beobachten. Neben möglicherweise tatsächlich vorliegender Inzucht in den Populationen, die sich aber über alle Loci hinweg bemerkbar machen sollte, könnte ein Grund hierfür auch die Kopplung eines Mikrosatelliten-Locus an ein selektiv nicht neutrales Gen sein. Weitere Erklärungen wären Fehler in der Interpretation der Daten oder das Vorliegen von Nullallelen (siehe Abschnitt 2.3.3.1). Nullallele führen zu einer Überschätzung des Anteils an Homozygoten, da Heterozygote, deren eines Allel ein Nullallel ist, als homozygot erscheinen. Liegen Nullallele homozygot vor, kommt es zu einem Ausfall bei

der PCR, da keines der beiden Allele amplifiziert werden kann. Bei dem Locus Fca78, bei dem die Amplifikation häufiger nicht gelang, könnte dies der Fall sein. HILLE et al. (2000) berichten ebenfalls über einen Heterozygotenmangel am Locus FCA96.

4.4.2 Variabilität innerhalb der Populationen

Der erwartete Heterozygotiegrad lag für die Wildkatzenpopulationen im Mittel etwas unter dem der Hauskatzenpopulationen ($H_E = 0,65$ bzw. $0,73$, Abschnitt 3.2.2, Tab. 17). Der tatsächlich beobachtete Heterozygotiegrad war bei den Wildkatzen noch etwas niedriger ($H_O = 0,59$), drei der untersuchten Populationen einen Überschuss an Homozygoten aufwiesen (Pfalz, Taunus und Bulgarien²). Die Anzahl der Allele lag bei den Hauskatzen im Mittel bei 7,11 Allelen, bei den Wildkatzen dagegen nur bei 4,47 Allelen. Hierbei ist wie bei der Anzahl der mtDNA-Haplotypen zu beachten, dass die Anzahl der gefundenen Allele abhängig von der Größe der Stichprobe ist. Die Stichproben waren aber bei den Wildkatzen mit Ausnahme der Stichprobe aus dem Harz durchgängig kleiner. Allerdings spricht die Tatsache, dass in unterschiedlichen Wildkatzenpopulationen immer wieder dieselben Allele bzw. Allele aus demselben Größenbereich gefunden wurden, dafür, dass die Anzahl der Allele nicht nur aufgrund der geringen Stichprobengröße so klein ist. Die Hauskatzenallele scheinen über einen weiteren Längenbereich gestreut zu sein (Abschnitt 3.2.3, Tab. 19 - 25). Entsprechend ist die geringere Anzahl an Allelen bei der Europäischen Wildkatze möglicherweise nicht nur auf den Verlust von selteneren Allelen durch genetische Drift zurückzuführen. Die hohe genetische Variabilität der Hauskatze könnte auch darin begründet liegen, dass in ihren Genpools mehrere Unterarten der Wildkatze eingeflossen sind, möglicherweise auch *Felis s. silvestris* (siehe Abschnitt 4.4.4). Zu beurteilen wäre dies letztlich nur durch einen Vergleich mit *Felis s. libyca*.

Bei den von RANDI et al. (2001) unter Verwendung von zwölf Mikrosatellitenloci analysierten Katzen wurde eine ähnlich hohe Variabilität gefunden. Der erwartete Heterozygotiegrad lag bei der Europäischen Wildkatze bei $0,71$, bei der Hauskatze bei $0,76$ und bei der Falbkatze bei $0,70$. In den ersten beiden Fällen war ein Mangel an Heterozygoten zu beobachten. WISEMAN et al. (2000) berichten von einem erwarteten Heterozygotiegrad von $0,79$ bei südafrikanischen Falbkatzen. Sie fanden bei einer Untersuchung von acht Loci im Mittel sieben bis acht Allele pro Population, und zwar sowohl bei Falb- als auch bei Hauskatzen. Demnach weisen zumindest südafrikanische Falbkatzen von Natur aus eine hohe Anzahl an Allelen auf.

Innerhalb der Hauskatzen war die Variabilität überall ungefähr gleich ausgeprägt. Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht kamen durch einzelne Loci zustande. Innerhalb der Wildkatzen wurde die höchste Variabilität in den Populationen Eifel, der größten deutschen Population, und in der Population Bulgarien2 gefunden. Im Harz waren trotz der großen Stichprobe nur durchschnittlich fünf Allele pro Locus zu finden, dafür lag aber der Heterozygotiegrad im mittleren Bereich. Eine relativ geringe genetische Vielfalt ergab nur die Untersuchung der Bestände Hainich, Solling und Bulgarien1. Pfalz, Taunus und Bulgarien2 waren Populationen, bei denen der beobachtete Heterozygotiegrad im Mittel deutlich unter dem erwarteten lag. Sie schienen demnach von Inzucht betroffen zu sein, wiesen aber im Verhältnis zur Stichprobengröße viele Allele auf. Möglicherweise tritt auch in einer oder mehreren dieser Stichproben der Wahlund-Effekt auf, d.h. ein Überschuss an Homozygoten, der dadurch zustande kommt, dass Individuen aus unterschiedlichen (Sub-)Populationen fälschlich zu einer homogenen Population gerechnet werden (HARTL und CLARK, 1997). Eine signifikante Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (über alle Loci) ergab sich nur bei den Wildkatzen der Pfalz und bei der Population Bulgarien1. Für Bulgarien2 fiel der Test nur knapp negativ aus ($p = 0,06$). Während in der Pfalz generell ein Mangel an Heterozygoten festzustellen war, hing das Ergebnis für Bulgarien1 nur an einzelnen Loci.

Insgesamt zeigt sich für die Wildkatzen in der Eifel und im Harz eine Übereinstimmung mit den mtDNA-Ergebnissen. In der Pfalz ist zwar die genetische Vielfalt in Bezug auf die Anzahl der Allele im Gegensatz zu den mtDNA-Ergebnissen recht hoch, aber es gibt dennoch Hinweise auf Inzucht. Für die Populationen Hainich und Solling bestätigt sich im Bereich der Kern-DNA die Hypothese, dass kleinere Populationen eine geringere Variabilität aufweisen sollten. Für den Taunus trifft dies jedoch nicht zu. Bei den Populationen Pfalz und Taunus ist ein Wahlund-Effekt denkbar: in die Stichprobe für den Pfälzer Wald wurden aufgrund der postulierten gemeinsamen Population „Pfalz-Vogesen“ zwei Katzen aus Frankreich miteinbezogen. Die Stichprobe für den Taunus umfasst Tiere aus zwei möglicherweise voneinander getrennten Gebieten, dem Taunus und dem Hochtaunus (KOCK und ALTMANN, 1999). Die hohe Diversität der Population Bulgarien2 ist möglicherweise auf die Einkreuzung von Hauskatzen zurückzuführen (siehe nächster Abschnitt).

4.4.3 Differenzierung zwischen den Populationen

Der paarweise Homogenitätstest ergab bei den Hauskatzen in vier von zehn Fällen keine signifikante Differenzierung (Abschnitt 3.2.3, Tab. 18). Bei den Wildkatzen war das nur bei drei

von 28 paarweisen Vergleichen der Fall. Während bei den Hauskatzen keine räumliche Beziehung zwischen den betroffenen Populationen bestand, handelte es sich bei den Wildkatzen um jeweils nahe beieinander liegende Populationen (Eifel/Pfalz, Pfalz/Taunus, Hainich/Solling). Haus- und Wildkatzenpopulationen waren immer signifikant voneinander unterschieden. Der Gesamt- F_{ST} betrug 13,20 %. Innerhalb der Hauskatzen lag der Fixationsindex bei 3,02 %, innerhalb der Wildkatzen bei 9,55 %.

WISEMAN et al. (2000) fanden einen F_{ST} von nur 1,7 Prozent zwischen zwei weit voneinander entfernten Hauskatzenpopulationen in Südafrika. Zwischen Haus- und Falbkatzen betrug der Wert 5,4 bzw. 3,9 Prozent. Die von RANDI et al. (2001) durchgeführte AMOVA ergab eine hoch signifikante Differenzierung zwischen den drei untersuchten Gruppen ($F_{ST} = 0,13$). Der von ihnen ebenfalls ermittelte R_{ST} -Wert, der neben der Frequenz der Allele auch Unterschiede in der Allellänge mit einbezieht, lag bei 0,30. Die paarweisen Vergleiche ergaben einen nur geringfügig kleineren F_{ST} -Wert zwischen Haus- und Falbkatzen als zwischen Haus- und Wildkatzen, wogegen der entsprechende R_{ST} -Wert deutlich geringer war.

Fixierte Unterschiede in den Allelfrequenzen wurden nicht festgestellt und waren auch wegen der noch nicht lange zurückliegenden Trennung zwischen Europäischer Wildkatze und Falbkatze nicht zu erwarten. Tatsächlich wäre es eher erstaunlich, wenn keine gemeinsamen Allele vorkämen. Gemeinsame Allele können also, müssen aber nicht auf einem genetischen Austausch zwischen Haus- und Wildkatzen beruhen. Wie hoch der Anteil von eventuell eingekreuzten Allelen ist, ließe sich letztendlich nur durch einen Vergleich mit einer mit Sicherheit reinen Wildkatzenpopulation herausfinden. Die Beurteilung, ob ein gemeinsames Allel eingekreuzt ist, kann allenfalls aufgrund der Verteilung der Allele in den einzelnen Populationen erfolgen. Vereinzelt ist auch mit Längenhomoplasien zu rechnen.

Neben den gemeinsamen Allelen, die bei den Haus- und Wildkatzen teilweise in recht unterschiedlichen Häufigkeiten auftraten, wurden Allele ermittelt, die nur bei Haus- bzw. nur bei Wildkatzen vorkamen (Abschnitt 3.2.3, Tab. 19 - 25). Zwischen den beiden Gruppen war eine eindeutige Differenzierung festzustellen, die schon bei einem Blick auf die Allelfrequenzen erkennbar wurde, mehr aber noch bei dem auf der Basis dieser Frequenzen erstellten Ähnlichkeitsbaum (Abschnitt 3.2.3, Abb. 9). Haus- und Wildkatzenpopulationen bildeten jeweils Gruppen. Die Gruppe der Hauskatzen wurde durch einen extrem hohen Bootstrap-Wert (100 %) gestützt. Innerhalb dieser Gruppe waren die Bootstrap-Werte klein, und auch die genetischen Distanzen zwischen den Populationen waren gering. Nur die Population Taunus stach etwas heraus. Bei den Wildkatzen waren die Bootstrap-Werte für alle Gruppierungen hoch. Die Ähnlichkeiten entsprachen bei den deutschen Wildkatzen ungefähr der geographischen Lage. So bildeten die Populationen Eifel, Pfalz und Taunus eine Einheit, und ebenso

waren Hainich und Solling zusammengruppiert. Die Harzer Population wurde jedoch nicht der Hainich/Solling-Gruppe zugeordnet, wie eigentlich zu erwarten gewesen wäre, sondern der zuvor genannten. Zudem war die genetische Distanz des Harzer Bestandes zur Population Bulgarien1 geringer als zu irgendeiner deutschen Population. Die beiden bulgarischen Populationen waren nicht zusammengruppiert. Vielmehr wies Bulgarien1 Ähnlichkeiten mit den Populationen Harz, Hainich und Solling auf, während Bulgarien2 trotz einer großen genetischen Distanz zu den Hauskatzen eine Stellung zwischen den Haus- und den Wildkatzen einnahm.

Ein Vergleich mit den Allelfrequenzen zeigt, dass Bulgarien2 in der Tat an mehreren Loci (Tab. 20 - 23) Allele aufweist, die sonst nur bei Hauskatzen gefunden wurden und die sich von den Wildkatzenallelen so stark unterscheiden, dass sie nicht mit einer konvergenten Entwicklung zu erklären sind. Diese „fremden“ Allele könnten unter Umständen aber auch auf eine Introgression der Unterart *Felis s. caucasica* hindeuten, deren Verbreitungsgebiet an Bulgarien angrenzt. Letzteres wäre nur mit entsprechenden Vergleichsproben zu klären. Auch in den Populationen in Deutschland, vor allem in der Eifel und in der Pfalz, kommen vereinzelt Allele vor, die als Indiz für eine Introgression von Hauskatzenallelen betrachtet werden könnten (z.B. die Allele 129 und 133, Locus Fca43, Tab. 19, oder die Allele 207 und 209, Locus Fca96, Tab. 20). Teilweise könnten sie aber auch durch Neumutationen entstanden sein (z.B. das Allel 142, Locus Fca23, Tab. 23 oder das Allel 201, Locus Fca78, Tab. 25). Umgekehrt finden sich bei den Hauskatzen keine konkreten Hinweise auf eine örtlich begrenzte Introgression von Wildkatzenallelen. Es wäre allerdings denkbar, dass eine Introgression schon vor so langer Zeit und so massiv stattgefunden hat, dass die Allele in allen Hauskatzenpopulationen weit verbreitet sind. Der sehr viel kleinere Anteil auf eine Gruppe beschränkter Allele auf Seiten der Wildkatze kann als Ergebnis einseitiger Introgression von der Wildkatze zur Hauskatze interpretiert werden (vgl. WISEMAN et al., 2000). Letztlich wäre dies jedoch nur durch einen Vergleich mit *Felis s. libyca* zu klären.

Im Vergleich mit Allozymdaten (RANDI und RAGNI, 1991; SUCHENTRUNK, *unveröffentlicht*) ergab sich eine weitaus höhere Differenzierung zwischen Haus- und Wildkatzen. SUCHENTRUNK untersuchte mittels Allozymelektrophorese an 45 Loci einen Teil der hier verwendeten Wildkatzenproben (Harz, Eifel, Pfalz und Bulgarien) und verglich sie mit Hauskatzen verschiedener Herkunft. Sowohl die Haus- als auch die Wildkatzen zeigten eine vergleichsweise hohe Variabilität. Fixierte Unterschiede zwischen den beiden Formen traten nicht auf. Eine Analyse der genetischen Differenzierung zwischen den Beständen ergab keinen ausgeprägten Unterschied zwischen Haus- und Wildkatzen. Die auf unterschiedlichen Frequenzen derselben Allele beruhenden genetischen Abstände zwischen Populationen der

Haus- und der Wildkatze waren teilweise geringer als jene, die zwischen lokalen Beständen der jeweiligen Formen auftraten. Offenbar verfügt die Allozymelektrophorese zur Aufdeckung formspezifischer Allele über ein zu geringes Auflösungsvermögen. Daneben war jedoch einer der untersuchten bulgarischen Wildkatzenbestände vermutlich tatsächlich mit Hauskatzen vermischt. RANDI und RAGNI (1991) konnten aufgrund der kleinen Stichproben und der geringen Auflösungskraft der Allozymdaten keine Aussagen zum Genfluss zwischen Haus- und Wildkatzen machen.

4.4.4 Hauptkomponenten-Analyse

Die auf der Grundlage von sieben Mikrosatelliten-Loci durchgeführte genetische Hauptkomponenten-Analyse ergab eine deutliche Differenzierung von Haus- und Wildkatzen (Abschnitt 3.2.4, Abb. 11). Die Zugehörigkeit zu einer der beiden Gruppen war für den größten Teil der zwischen den Individuen gefundenen Diversität verantwortlich. Jedoch waren die beiden Wertebereiche nicht vollständig getrennt. In dem sich überlappenden Bereich fanden sich vor allem Proben, bei denen nicht für alle Loci Ergebnisse vorlagen, und Wildkatzenproben aus der Population Bulgarien². Bei diesen könnte es sich um Mischlinge handeln (siehe Abschnitt 4.4.4). Tests mit nur wenigen Loci offenbarten ein geringeres Auflösungsvermögen (Abb. 14). Es ist daher anzunehmen, dass mit einer steigenden Anzahl von Loci eine noch schärfere Abgrenzung möglich ist. Blindproben von reinen Haus- oder Wildkatzen sollten mit einer recht hohen Wahrscheinlichkeit durch den Vergleich mit den bereits untersuchten Tieren einer der beiden Gruppen zuzuordnen sein.

Die beiden Proben, bei denen laut Herrn Dr. Herrmann nach morphologischen Kriterien keine Zuordnung zu einer der beiden Gruppen möglich war, befanden sich innerhalb der Wildkatzengruppe. Da beide Katzen über mitochondriale Haplotypen verfügten, die für Wildkatzen typisch waren, ist anzunehmen, dass es sich um Wildkatzen handelte. Dagegen war die Katze, die allein aufgrund ihres Mageninhaltes als Hauskatze eingeordnet wurde (MEINIG, 2002), direkt auf der Nulllinie zu finden. Bei dieser Katze, deren mitochondrialer Haplotyp ebenfalls dem einer Wildkatze entsprach, könnte es sich um einen Mischling gehandelt haben.

Nach RANDI et al. (2001) ist es allerdings nicht möglich, mit dieser Methode Mischlinge zu erkennen. In seiner auf 12 Loci basierenden Untersuchung an 128 Individuen gelang dies nicht. Von den sieben Katzen, bei denen es sich nachweislich um Hybriden handelte, befanden sich in der graphischen Darstellung fünf innerhalb der Wildkatzen und eine innerhalb der Hauskatzen. Nur eine war zwischen den Clustern lokalisiert. Insgesamt waren in dieser

Untersuchung alle drei Gruppen, Haus-, Wild- und Falbkatten, deutlich voneinander differenziert, wobei Haus- und Falbkatten auf derselben Seite der PC1-Achse angeordnet waren. Die südafrikanischen Wildkatten, die gleichfalls analysiert wurden, überlappten mit den Hauskatten und *Felis s. silvestris*. HILLE et al. (2000) benutzten ebenfalls eine Hauptkomponentenanalyse (hier unter SPSS) zur Differenzierung von Haus- und Wildkatten. Trotz der Verwendung von acht Mikrosatellitenloci war die Auftrennung der beiden Gruppen weniger deutlich. Dieser Befund ist möglicherweise auf den geringen Stichprobenumfang (24 Tiere) zurückzuführen.

4.5 Ergebnis

4.5.1 Genetische Variabilität und Differenzierung der Wildkattenpopulationen

Insgesamt ist die genetische Variabilität in den untersuchten Wildkattenbeständen relativ hoch. In den größeren deutschen Populationen Eifel und Harz scheint keine stärkere genetische Verarmung stattgefunden zu haben. In der Region Eifel ist die Diversität sowohl der mitochondrialen als auch der Kern-DNA jedoch höher als im Harz. Dies ist wahrscheinlich auf die Anbindung der Eifel-Population an die angrenzenden Bestände in Belgien, Luxemburg und Frankreich zurückzuführen, während die Population im Harz heute isoliert ist. Dagegen weisen die Pfälzer Wildkatten als dritter relativ großer Bestand im Bereich der mitochondrialen DNA nur eine geringe genetische Vielfalt auf, obwohl sie mutmaßlich mit den Wildkatten in den Vogesen (Frankreich) eine gemeinsame Population bilden (HERRMANN, *pers. Mitt.*). Die Ergebnisse der Mikrosatelliten-Analyse legen nahe, dass Pfalz und Vogesen getrennte Populationen beherbergen.

In kleineren, isolierten Populationen sollte die genetische Variabilität stärker abgenommen haben als in größeren. Dies trifft im Vergleich der Populationen Harz und Eifel zu, bei den Populationen Hainich, Solling und Taunus jedoch nur teilweise. Die genetische Variabilität der nur etwa dreißig Tiere umfassenden Population im Nationalpark Hainich liegt im Bereich der Kern-DNA deutlich niedriger als in anderen Populationen des Untersuchungsgebietes. Dasselbe gilt für den kleinen Wildkattenbestand im niedersächsischen Solling. Die Variation der mitochondrialen DNA ist in beiden Gegenden jedoch unerwartet hoch. Ein möglicher Grund besteht darin, dass zumindest der Solling noch nicht völlig isoliert, sondern nach Süden hin mit weiteren kleinen Populationen verbunden ist (siehe Abschnitt 2.1, Abb. 3). Beim Hainich ist ein genetischer Austausch mit den benachbarten Thüringer Beständen im

Norden denkbar. Die auffallende Diskrepanz zwischen mitochondrialer und nuklearer Diversität könnte eine Folge des Paarungssystems sein. Da das Geschlechterverhältnis bei der Fortpflanzung ungefähr 1 Kater : 3 Katzen beträgt und abwandernde junge Kater häufig Opfer des Straßenverkehrs werden (PIECHOCKI, 1990), machen sich die Folgen genetischer Drift bei der Kern-DNA möglicherweise schneller bemerkbar. Die Stichprobe aus dem Taunus wies ebenfalls eine hohe Diversität im Bereich der mitochondrialen DNA auf; der beobachtete Heterozygotiegrad bei den Mikrosatelliten war allerdings gering. Eine Verringerung der genetischen Diversität ist bei den Randpopulationen also zumindest im Bereich der Kern-DNA nachzuweisen.

Die bulgarischen Wildkatzen repräsentieren nach ZIMINA (1962) einen Bestand, der im Vergleich zu denen in Deutschland aufgrund geringerer anthropogener Einflussnahme als relativ ursprünglich gelten kann. Sie sollten daher eine höhere genetische Vielfalt aufweisen, als es nach den vorliegenden Daten der Fall ist. Das kann auf die sehr kleinen Stichproben zurückzuführen sein, könnte aber auch bedeuten, dass sich die Zahl der Wildkatzen in Bulgarien in den letzten Jahrzehnten stark reduziert hat. Derzeit finden in Bulgarien verstärkte Bemühungen zum Schutz der Wildkatze, die bislang noch regulär bejagt wurde, statt (MARKOV, *pers. Mitt.*). Die Population Bulgarien² weist trotz der geringen Variabilität im mitochondrialen Bereich eine ausgesprochen hohe Vielfalt an Mikrosatelliten-Allelen auf. Diese sind aber möglicherweise auf Einkreuzungen der Hauskatze zurückzuführen.

Aufgrund genetischer Drift und fehlenden genetischen Austausches sollte die Differenzierung zwischen den kleineren Populationen stärker sein als zwischen den vergleichsweise großen Wildkatzenbeständen. Dies ist bei den untersuchten Beständen nicht der Fall. Vielmehr sind die jeweils geographisch nahegelegenen Populationen unabhängig von ihrer Größe untereinander kaum differenziert. Das Fehlen einer signifikanten Differenzierung kann bedeuten, dass diese Populationen einen ungehinderten genetischen Austausch haben bzw. vor einiger Zeit noch hatten. Möglicherweise fiel der Test in einigen Fällen auch nur aufgrund der kleinen Stichproben nicht signifikant aus. Insgesamt scheint jedoch die relativ hohe Differenzierung zwischen den Populationen innerhalb Deutschlands ($F_{ST} = 19,41\%$, mtDNA, bzw. $9,37\%$, Kern-DNA) eher auf der genetischen Diversität zwischen den östlich und den westlich gelegenen Wildkatzenbeständen zu beruhen als auf der zwischen den kleinen Populationen. Neben einer Anbindung der Randpopulationen an die größeren Bestände ist daher auch eine Verbindung zwischen diesen beiden Gruppen anzustreben.

4.5.2 Genetische Variabilität und Differenzierung der Hauskatzen

In den einzelnen Populationen ist die genetische Variabilität der Hauskatzen im Mittel größer als die der Wildkatzen. Katzen unterschiedlicher geographischer Herkunft sind untereinander kaum differenziert. Der auf der mitochondrialen DNA basierende Gesamt- F_{ST} -Wert für die Hauskatzenpopulationen betrug nur rund sieben Prozent; auf der Ebene der Kern-DNA lag der F_{ST} sogar bei nur drei Prozent. Demnach bilden die Hauskatzen nahezu eine gemeinsame panmiktische Population. Auch die geringen genetischen Distanzen zwischen den Hauskatzenpopulationen, die die Analyse der Kern-DNA ergeben hat, sprechen für einen nahezu ungehinderten Genfluss. Das ist nicht überraschend, da zwischen Hauskatzen immer ein starker, durch den Menschen vermittelter Austausch stattgefunden hat bzw. noch stattfindet (TODD 1977; JOHANSSON und HÜSTER 1987). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Studien aus Japan, Italien und Südafrika (NOZAWA et al. 1985; RANDI und RAGNI, 1991; WISEMAN et al., 2000). Die hohe Diversität der Hauskatzen ist einerseits auf ungehinderten genetischen Austausch zurückzuführen, setzt andererseits aber auch eine große Gründerpopulation voraus. Insofern scheint es unwahrscheinlich, dass die Domestikation ein einmaliges Ereignis war. Möglicherweise wurde die Katze mehrfach an verschiedenen Orten domestiziert, oder es fanden zu einem späteren Zeitpunkt Einkreuzungen statt.

4.5.3 Introgression von Hauskatzenallelen in den Wildkatzenpool und umgekehrt

Ergebnisse von Telemetriestudien (z.B. NAIDENKO und HUPE, 2002) sprechen gegen eine häufige Hybridisierung, da sich die Aktionsräume von Haus- und Wildkatzen kaum überschneiden. SZEMETHY (1993) berichtet aber davon, dass von ihm beobachtete verwilderte Katzen in der Lage waren, unabhängig von menschlichen Siedlungen zu leben. Hinsichtlich der mitochondrialen DNA ist nach meinen Ergebnissen bei den Wildkatzen keine Überschneidung der Haplotypen und damit kein Hinweis auf Introgression über verwilderte Hauskatzen festzustellen. Sofern weibliche Hauskatzen überhaupt in den Lebensraum der Wildkatzen eindringen, paaren sie sich entweder nicht mit männlichen Wildkatzen, oder ihre Nachkommen überleben nicht.

Nach SZEMETHY (1993) wäre eine Introgression am ehesten über die Kater zu erwarten. Seiner Telemetriestudie zufolge deckten die Reviere von Wildkatern während der Fortpflanzungszeit die Reviere von Bauernhofkatzen ab. Ein solcher geschlechtsspezifischer Genfluss sollte sich in der Kern-DNA bemerkbar machen. Auch bei den Mikrosatelliten war jedoch eine eindeutige Differenzierung zwischen Haus- und Wildkatzen festzustellen, was auf

einen geringen Hybridisierungsgrad hinweist. Es gab zwar keine fixierten Unterschiede, aber unterschiedlich hohe Häufigkeiten der gemeinsamen Allele sowie Allele, die nur bei Hauskatzen oder nur bei Wildkatzen vorkamen. Die Tatsache, daß gemeinsame Allele vorkamen, kann außer auf einen durch Kater vermittelten Genfluss auch darauf zurückzuführen sein, dass Haus- und Wildkatzen noch nicht lange getrennt sind. Anzeichen auf Hybridisierung gab es vereinzelt in den Populationen Eifel und Pfalz. Wider Erwarten scheint außerdem eine der beiden als besonders naturnah geltenden bulgarischen Populationen von Einkreuzungen betroffen zu sein. Es ist aber nicht auszuschließen, dass die für die deutschen Wildkatzen untypischen Allele von Vertretern der Unterart *Felis s. caucasica* stammen.

In umgekehrter Richtung ist es möglicherweise zu einer begrenzten Introgression gekommen. Die Tatsache, dass sich der Haplotypenbaum nicht eindeutig in zwei Äste aufteilt, kann dadurch erklärt werden, dass ursprünglich alle fünf Hauptlinien im Genpool der Europäischen Wildkatze vorhanden waren und sie sich im Verlauf der Entwicklung der Falbkatze auf die beiden Gruppen aufgeteilt haben. Allerdings könnte das Vorkommen dreier Hauskatzenhaplotypen, die eine große Ähnlichkeit mit Haplotypen von Wildkatzen aufweisen, als Anzeichen einer Introgression von Wildkatzenhaplotypen in den Hauskatzenpool, die schon vor längerer Zeit stattgefunden haben müsste, gewertet werden. Insgesamt scheint die Europäische Wildkatze bei der Domestikation der Katze aber keine größere Rolle gespielt zu haben.

5. Zusammenfassung

Die Europäische Wildkatze (*Felis silvestris silvestris* Schreber 1777) und die Hauskatze (*Felis silvestris* f. *catus*) gehören der gleichen Art, *Felis silvestris*, an. Die Wildkatze kommt heute in Westeuropa nur noch in begrenzten, voneinander isolierten Gebieten vor.

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels molekularer Marker die Genpools der drei größten und einiger kleinerer Wildkatzenvorkommen Deutschlands sowie zweier Populationen aus Bulgarien analysiert. Darüber hinaus wurden Hauskatzen aus benachbarten Gebieten analysiert. Die Untersuchung hatte zwei Ziele: Zum einen sollte festgestellt werden, ob und inwieweit die wenigen, zudem voneinander isolierten Wildkatzenbestände in Deutschland noch als genetisch rein angesehen werden können. Ihre Überprüfung auf eine Introgression von Hauskatzenallelen sowie auf den Grad der genetischen Verarmung erlaubt Schlussfolgerungen auf ihre Erhaltungswürdigkeit sowie auf ihre Eignung als Ausgangspopulationen für Wiedereinbürgerungen. Zum anderen sollte geprüft werden, ob in den Genpool der Hauskatze eine Introgression von Wildkatzenallelen der heimischen Unterart erfolgt ist.

Für die Untersuchung wurden zwei hochpolymorphe Markersysteme, eine 322 Basenpaare lange Sequenz aus der Kontrollregion mitochondrialer DNA und ein Set von acht Mikrosatelliten, verwendet. Insgesamt wurden 96 Wildkatzen und 148 Hauskatzen analysiert. Die genetische Variabilität war in beiden Gruppen relativ hoch. Es wurden 43 mitochondriale Haplotypen gefunden, von denen 25 nur bei Hauskatzen und 18 nur bei Wildkatzen vorkamen. Die Mikrosatellitenloci wiesen 10 bis 19 Allele auf.

In den größeren deutschen Populationen Eifel und Harz scheint keine stärkere genetische Verarmung stattgefunden zu haben. Dagegen weisen die Pfälzer Wildkatzen als dritter relativ großer Bestand im Bereich der mitochondrialen DNA nur eine geringe genetische Vielfalt auf. In den kleineren Populationen ist eine Verringerung der genetischen Diversität nur im Bereich der Kern-DNA nachzuweisen: Die genetische Variabilität der nur etwa dreißig Tiere umfassenden Population im Nationalpark Hainich liegt im Bereich der Kern-DNA deutlich niedriger als in anderen Populationen des Untersuchungsgebietes. Dasselbe gilt für den kleinen Wildkatzenbestand im niedersächsischen Solling. Die Variation der mitochondrialen DNA ist in beiden Gegenden jedoch unerwartet hoch. Die Stichprobe aus dem Taunus wies insgesamt eine hohe Diversität auf. Zwischen den Wildkatzenpopulationen ist eine hohe Differenzierung festzustellen, die im Wesentlichen auf den mangelnden genetischen Austausch zwischen den östlich und den westlich gelegenen Populationen zurückzuführen ist.

Die genetische Variabilität der Hauskatzen ist in den einzelnen Untersuchungsgebieten größer als die der Wildkatzen. Aufgrund ungehinderten genetischen Austausches sind

Hauskatzen unterschiedlicher geographischer Herkunft untereinander kaum differenziert. Ihre auffallend hohe genetische Variabilität kann als Hinweis auf eine mehrfache Domestikation der Hauskatze interpretiert werden.

Die Analyse der mitochondrialen DNA ergab keine Überschneidung der Haplotypen von Haus- und Wildkatzen und damit keinen Hinweis auf eine Introgression von verwilderten Hauskatzen in Wildkatzenbestände. In umgekehrter Richtung ist es möglicherweise zu einer begrenzten Introgression gekommen. Hierauf deutet die Ähnlichkeit einiger seltener Hauskatzen-Haplotypen mit bei Wildkatzen weit verbreiteten Haplotypen hin. Insgesamt scheint die Europäische Wildkatze jedoch bei der Domestikation der Katze keine größere Rolle gespielt zu haben. Auch bei den Mikrosatelliten war eine eindeutige Differenzierung zwischen Haus- und Wildkatzen festzustellen, was auf einen geringen Hybridisierungsgrad hinweist. Lediglich in einem der beiden bulgarischen Bestände scheint es zu einer größeren Einkreuzung von Hauskatzen gekommen zu sein.

Die bulgarischen Populationen sollten eine höhere genetische Vielfalt aufweisen, als es nach den vorliegenden Daten der Fall ist. Sie repräsentieren einen Bestand, der im Vergleich zu denen in Deutschland als relativ naturnah gilt. Ihre genetische Variabilität liegt insgesamt im unteren Bereich. Die ausgesprochen hohe Vielfalt an Mikrosatelliten-Allelen in einer der beiden Populationen ist möglicherweise auf Hybridisierung mit Hauskatzen zurückzuführen.

6. Summary

The European wildcat (*Felis silvestris silvestris* Schreber 1777) and the domestic cat (*Felis silvestris* f. *catus*) both belong to the same species *Felis silvestris*. In Western Europe, the wildcat is at present confined to local isolated areas.

In the present study, the gene pools of the three largest and several smaller wildcat stocks in Germany as well as two populations from Bulgaria have been analysed by means of molecular markers. In addition, domestic cats from adjacent areas in Germany have been studied. The study aims were (1) to check if and to what extent the few isolated wildcat stocks in Germany can still be considered genetically pure (knowledge of possible introgression of domestic cat alleles and of the extent of genetic depletion permit of conclusions regarding conservation biological aspects such as worthiness of protection or suitability as founder populations in the course of reintroduction programmes); and (2) to examine if there has been any introgression of wildcat alleles into the gene pool of the domestic cat.

Two highly polymorphic marker systems, a 322-bp-long sequence of the mitochondrial control region and a set of eight microsatellite loci, have been analysed in altogether 96 wildcats and 148 domestic cats. Genetic variability was comparatively high in both groups. 43 mitochondrial haplotypes have been found, 25 of which were confined to domestic cats. The remaining 18 haplotypes were exclusively found in wildcats. The microsatellite loci exhibited between 10 and 19 alleles each.

Within the bigger German wildcat populations Eifel and Harz, there seems to have been no considerable genetic depletion. In contrast, wildcats from the Pfalz region, the third relatively large stock, displayed only limited genetic diversity as far as the control region is concerned. Within the smaller populations, a reduction of genetic diversity is detectable only with regard to the nuclear DNA as exemplified by the Hainich national park population, which comprises only about thirty animals and whose genetic variability based on microsatellites is markedly lower than in other populations studied. This holds true also for the small Solling population in Lower Saxony. The variation of the mitochondrial DNA, however, is unexpectedly high in both regions. The Taunus sample exhibited a high diversity for both marker systems. Among the different wildcat populations, a high differentiation has been detected, due largely to the lack of genetic exchange between the Eastern and Western populations.

The genetic variability of the domestic cats in the different study areas is higher than those of the wildcats. As a consequence of free genetic exchange, domestic cats of different

geographical origin are hardly differentiated from one another. Their strikingly high genetic variability might be interpreted as evidence of multiple domestication events.

The analysis of mitochondrial DNA yielded no overlap in the haplotypes of domestic cats and wildcats and therefore no indication of the introgression of feral domestic cats into wildcat stocks. Yet, a limited introgression in the other direction cannot totally be ruled out since some of the haplotypes only rarely found in domestic cats are very similar to haplotypes widely spread throughout wildcats. Nonetheless, altogether the European wildcat was probably not significantly involved in the domestication of the cat. On the basis of the microsatellite loci, domestic cats and wild cats also showed distinct differentiation, again suggesting a low extent of hybridization; only one of the two Bulgarian stocks seems to have undergone extensive introgression of domestic cats.

The Bulgarian populations should have displayed a higher genetic diversity than that yielded by the results of the present study. They represent a stock which is regarded as less anthropogenically influenced than those in Germany. Their genetic variability falls within the lower part of the range exhibited by the populations under study. The extraordinarily high variety of microsatellite alleles in one of the two populations might be a consequence of hybridization with domestic cats.

7. Literatur

- ALLENDORF, F. W.; LEARY, R. F. (1986): Heterozygosity and Fitness in Natural Populations of Animals. In: SOULÉ, M. E. (ed.): Conservation Biology. The Science of Scarcity and Diversity. Sinauer, Sunderland, MA: 57-76.
- ASHLEY, M V.; DOW, B. D. (1994): The use of microsatellite analysis in population biology: Background, methods and potential applications. In: SCHIERWATER, B.; STREIT, B.; WAGNER, G. P.; DE SALLE, R. (eds.): Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications. Experientia Supplementum 69. Birkhäuser Verlag, Basel: 185-201.
- AVISE, J. C. (1994): Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.
- AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BIRMINHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. (1987): Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18**: 489-522.
- BEAUMONT, M.; BARRAT, E. M.; GOTTELLI, D.; KITCHENER, A. C.; DANIELS, M. J.; PRITCHARDS, J. K.; BRUFORD, M. W. (2001): Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat. *Molecular Ecology* **10**: 319-336.
- BENECKE, N. (2001): Der Mensch und seine Haustiere. Theiss, Stuttgart.
- BEWICK, T. (1807): A general history of the quadrupeds. Bewick and Hodgson, Newcastle-upon-Tyne.
- BRADLEY, D. G.; MacHUGH, D. E.; CUNNINGHAM, P.; LOFTUS, R. T. (1996): Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 5131-5153.
- BROWN, W. M.; GEORGE, M. Jr.; WILSON, A. C. (1979): Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 1967-1971.
- CAVALLI-SFORZA, L. L.; EDWARDS, A. W. F. (1967): Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* **19**: 233-257.
- CLUTTON-BROCK, J. (1981): Domesticated animals from early times. British Museum (Natural History).

- COOPER, A. (1994): DNA from museum specimens. In: HERRMANN, B.; HUMMEL, S. (eds.): Ancient DNA - Recovery and Analysis of Genetic Material from Paleontological, Archaeological, Museum, Medical, and Forensic Specimens. Springer Verlag, New York: 149-165.
- CROW, J.; KIMURA, M. (1970): An Introduction to Population Genetics Theory. Harper and Row, New York, Evanston, London.
- DANIELS, J.; BALHARRY, D.; HIRST, D.; KITCHENER, A. C.; ASPINALL, R. J. (1998): Morphological and pelage characteristics of wild living cats in Scotland: implications for defining the 'wildcat'. *Zool. Lond.* **244**: 231-247.
- EDWARDS, S. V. (1993): Mitochondrial gene genealogy and gene flow among island and mainland populations of a sedentary songbird, the grey-crowned babbler. *Evolution* **47**: 1118-1137.
- ENGSTROM, M. D.; BAKER, A. J.; EGER, J. L.; BOONSTRA, R.; BROOKS, R. J. (1993): Chromosomal and mitochondrial DNA variation in four laboratory populations of collared lemmings (*Dicrostonyx*). *Can. J. Zool.* **71**: 42-48.
- ESTOUP, A.; JARNE, P.; CORNUET, J.-M. (2002): Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. *Molecular Ecology* **11**: 1591-1604.
- EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. (1992): Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**: 479-491.
- FELSENSTEIN, J. (1993): PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seattle.
- FERRIS, S. D.; SAGE, R. D.; WILSON, A. C. (1982): Evidence from mtDNA sequences that common laboratory strains of inbred mice are descendent from a single female. *Nature* **295**: 163-165.
- FRENCH, D.; CORBET, L.; EASTERBEE, N. (1988): Morphological discriminants of Scottish wildcats (*Felis silvestris*), domestic cats (*F. catus*) and their hybrids. *Journal of Zoology, London* **214**: 235-259.
- FUTUYMA, D. J. (1990): Evolutionsbiologie. Übersetzt und bearbeitet von B. KÖNIG. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.
- GOLDSTEIN, D. B.; SCHLÖTTERER, C. (eds.) (1999): Microsatellites. Evolution and Applications. Oxford University Press, Oxford, New York u. a.

- GOODMAN, S. J.; TAMATE, H. B.; WILSON, R.; NAGATA, J.; TATSUZAWA, S.; SWANSON, G. M.; PEMBERTON, J. M.; MCCULLOUGH, D. R. (2001): Bottlenecks, drift and differentiation: the population structure and demographic history of sika deer (*Cervus nippon*) in the Japanese archipelago. *Molecular Ecology* **10**: 1357-1370.
- GOUDET, J. (2001): FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>
- GOUDET, J. (1999): PCA-GEN. <http://www.unil.ch/izea/software/pcagen.html>
- GRABE, H.; WOREL, G. (Hrsg.) (2001): Die Wildkatze. Zurück auf leisen Pfoten. Amberg, Buch und Kunstverlag Oberpfalz.
- GRAUR, D.; LI, W.-H. (2000): Fundamentals of Molecular Evolution. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. 2. Auflage.
- GYLLENSTEN, U.; WHARTON, D.; JOSEFSSON, A.; WILSON, A. C. (1991): Paternal inheritance of mitochondrial DNA in mice. *Nature* **352**: 255-257.
- HALTENORTH, T. (1953): Die Wildkatzen der Alten Welt. Eine Übersicht über die Untergattung *Felis*. Leipzig.
- HARRISON, R. G. (1989): Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution* **4**: 6-11.
- HARTL, D. L.; CLARK, A. G. (1997): Principles of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. 3. Auflage.
- HARTL, G. B. (1989): Die genetische Variabilität von Wildsäugern und die Folgen der Isolation. In: SCHNEIDER, E.; OELKE, H.; GROSS, H. (Hrsg.): Die Illusion der Arche Noah – Gefahren für die Arterhaltung durch Gefangenschaftszucht. Echo-Verlag, Göttingen: 127-138.
- HARTL, G. B.; CSAIKL, F. (1987): Genetic variability and differentiation in wild boars (*Sus scrofa ferus* L.): comparison of isolated populations. *J. Mammalogy* **68**: 119-125.
- HEMMER, H. (1993): *Felis silvestris* Schreber, 1777 - Wildkatze. In: STUBBE, M.; KRAPP, F. (eds.): Handbuch der Säugetiere Europas. Band 5/II. Raubsäuger - Carnivora (Fissipedia). Aula Verlag, Wiesbaden: 1077-1118.
- HEINRICH, D. (1999): Die Faunenreste von Schleswig und von anderen Siedlungsplätzen Schleswig-Holsteins. Eine vergleichende Betrachtung. *Offa* **53**(1996): 327-370.
- HERRE, W.; RÖHRS, M. (1990): Haustiere - zoologisch gesehen. Gustav Fischer, Stuttgart und New York.

- HUBBARD, A. L.; McORIST, S.; JONES, T. W.; BOID, R.; SCOTT, R.; EASTERBEE, N. (1992): Is survival of European wildcats *Felis silvestris* in Britain threatened by interbreeding with domestic cats. *Biological Conservation* **61**: 203-208.
- HERRMANN, M. (1989): Verbreitung und Bestandssituation der Wildkatze, *Felis silvestris* (Schreber 1777) im Saarland. *Gesellschaft für Ökologie. Verhandlungen* **19(1)**: 229.
- HERRMANN, B.; HUMMEL, S. (1994): Introduction. In: HERRMANN, B.; HUMMEL, S. (eds.): Ancient DNA - Recovery and Analysis of Genetic Material from Paleontological, Archaeological, Museum, Medical, and Forensic Specimens. Springer Verlag, New York: 1994.
- HILLE, A.; PELZ, O.; TRINZEN, M.; SCHLEGEL, M.; PETERS, G. (2000): Using microsatellite markers for genetic individualization of European wildcats (*Felis silvestris*) and domestic cats. *Bonn. zool. Beitr.* **49**: 165-176.
- JARNE, P.; LAGODA, P. J. L. (1996): Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology and Evolution* **11 (10)**: 424-429.
- JOHANNSON, F.; HÜSTER, H. (1987): Untersuchungen an Skelettresten von Katzen aus Haithabu (Ausgrabung 1966-1969). *Berichte über die Ausgrabungen in Haithabu*. Bericht 24. Neumünster, Wachholtz.
- KIJAS, J. M. H.; ANDERSSON, L. (2001): A Phylogenetic Study of the Origin of the Domestic Pig Estimated from the Near-Complete mtDNA Genome. *J. Mol. Evol.* **52**: 302-308.
- KIMURA, M.; OHTA, T. (1978): Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**: 2868-2872.
- KITCHENER, A. C.; LYNCH, J. M.; McORIST, S. (1992): Morphological and genetic discriminants of European wildcats *Felis silvestris* in Great Britain. In: Seminar on the biology and conservation of the wildcat (*Felis silvestris*), Nancy, France 23-25. Sept. 1992, Council of Europe Press, Environmental Encounters, No 16: 72-74.
- KLEIN, R. G. (1986): Carnivore size and Quarternary climatic change in southern Africa. *Quaternary Research* **26**: 153-170.
- KOCHER, T. D.; THOMAS, W. K.; MEYER, A.; EDWARDS, S. V.; PÄÄBO, S.; VILLABLANCA, F. X.; WILSON, A. C. (1989): Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 6196-6200.
- KOCK, D.; ALTMANN, J. (1999): Die Wildkatze (*Felis silvestris* Schreber 1777) im Taunus. *Jb. Nass. Ver. Naturkde.* **120**: 5-21.

- KRATOCHVIL, Z. (1973): Schädelkriterien der Wild- und Hauskatze (*Felis silvestris silvestris* Schreb. 1777 und *F. s. f. catus* L. 1758). *Acta Sc. Nat. Brno* **7(10)**: 1-50.
- KRATOCHVIL, Z. (1976): Das Postkranialskelett der Wild- und Hauskatze (*Felis silvestris* und *F. lybica* f. *catus*). *Acta Sc. Nat. Brno* **10(6)**: 1-43.
- KRATOCHVIL, Z. (1977): Die Unterscheidung postkranialer Merkmalspaare bei *Felis s. silvestris* und *F. lybica* f. *catus* (Mammalia). *Folia Zoologica* **26**: 115-128.
- KURTÉN, B. (1965a): The Carnivora of the Palestine caves. *Acta Zoologica Fennica* **107**: 1-74.
- KURTÉN, B. (1965b): On the evolution of the European wild cat, *Felis silvestris* Schreber. *Acta Zoologica Fennica* **111**: 1-111.
- LEONARD, J.; WAYNE, R. K.; COOPER, A. (2000): Population genetics of Ice Age brown bears. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97**: 1651-1654.
- LINDNER, I. (2002): Untersuchungen von Haus- und Wildmeerschweinchen mittels Sequenzierung mitochondrialer DNA. Unveröffentlichte Diplomarbeit, Christian-Albrechts-Universität, Kiel.
- LISTER, A. M.; KADWELL, M.; KAAGAN, L.; JORDAN W. C.; RICHARDS, M. B.; STANLEY, H. F. (1998): Ancient and Modern DNA in a Study of Horse Domestication. *Ancient Biomolecules* **2**: 267-280.
- LOPEZ, J. V.; CEVARIO, S.; O'BRIEN, S. J. (1996): Complete nucleotide sequences of the domestic cat (*Felis catus*) mitochondrial genome and a transposed mtDNA tandem repeat (Numt) in the nuclear genome. *Genomics* **33**: 229-246.
- MEINIG, H. (2002): Erste Ergebnisse von Mageninhaltsanalysen bei Wildkatzen (*Felis silvestris*) aus West-Deutschland mit Hinweisen zur Artbestimmung. *Säugetierkundliche Informationen* **5**: 211-217.
- MELNICK, D. J.; HOELZER, G. A.; ABSHER, R.; ASHLEY, M. V. (1993): mtDNA Diversity in Rhesus Monkeys Reveals Overestimates of Divergence Time and Paraphyly with Neighbouring Species. *Mol. Biol. Evol.* **10(2)**: 282-295.
- MENOTTI-RAYMOND, M. A.; O'BRIEN, S. J. (1995): Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae. *Journal of Heredity* **86**: 319-321.
- MENOTTI-RAYMOND, M. A.; DAVID, V. A.; LYONS, L. A.; SCHAFFER, A. A.; TOMLIN, J. F.; HUTTON, M. K.; O'BRIEN, S. J. (1999): A genetic linkage map of microsatellites in the domestic cat (*Felis catus*). *Genomics* **57(1)**: 9-23.

- MULLIS, K.; FALOONA, F.; SCHARF, S.; SAIKI, R.; HORN, G.; ERLICH, H. (1986): Specific Enzymatic Amplification of DNA In Vitro: The Polymerase Chain Reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* **LI**, Molecular Biology of *Homo sapiens*: 263-273.
- MURRAY, B. W. (1996): The Estimation of Genetic Distance and Population Substructure from Microsatellite allele frequency data. <http://helix.mcmaster.ca/brent/brent.html>
- NAIDENKO, S. V.; HUPE, K. (2002): Seasonal changes in home range use in feral tomcats in Solling, central Germany. *Zoologicheskyy Zhurnal* **81**: 1371-1381 (auf Russisch).
- NEI, M. (1972): Genetic distance between populations. *American Naturalist* **106**: 283-292.
- NEI, M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* **89**: 583-590.
- NEI, M. (1987): Molecular evolutionary genetics. New York, Columbia University Press.
- NOWELL, K.; JACKSON, P. (eds.) (1996): Wild Cats. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Cat Specialist Group. IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources), Gland, Schweiz.
- NOZAWA, K.; FUKUI, M.; FURUKAWA, T. (1985): Blood-protein polymorphism in the Japanese cats. *Japanese Journal of Genetics* **60**: 425-439.
- O'BRIEN, S. J.; MARTENSON, J. S.; MITHTHAPALA, S.; JANCZEWSKI, D.; PECON-SLATTERY, J.; JOHNSON, W.; GILBERT, D. A.; ROELKE, M.; PACKER, C.; BUSH, M.; WILDT, D. E. (1995): Conservation genetics of the Felidae. In: AVISE, J. C.; HAMRICK, J. L. (eds.): Conservation Genetics - Case Histories from Nature. Chapman and Hall, New York: 50-74.
- OHTA, T.; KIMURA, M. (1973): The model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a genetic population. *Genetic Research* **22**: 201-204.
- PÄÄBO, S. (1989): Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 1939-1943.
- PAETKAU, D.; CALVERT, W.; STIRLING, I.; STROBECK, C. (1995): Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* **4**: 347-354.
- PAETKAU, D.; WAITS, L. P.; CLARKSON, P. L.; CRAIGHEAD, L.; STROBECK, C. (1997): An Empirical Evaluation of Genetic Distance Statistics Using Microsatellite Data From Bear (Ursidae) Populations. *Genetics* **147**: 1943-1957.

- PARENT, G. H. (1974): Plaidoyer pour le chat sylvestre ou dix excellentes raisons pour protéger cet animal méconnu en Belgique... et ailleurs. *L'Homme et la Nature* **10**: 1-15.
- PEMBERTON, J. M.; SLATE, J.; BANCROFT, D. R.; BARRETT, J. A. (1995): Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology* **4**: 249-252.
- PETERKA, M.; HARTL, G. B. (1992): Biochemical-genetic variation and differentiation in wild and domestic rabbits: on the significance of genetic distances, dendrograms and the estimation of divergence times in domestication studies. *Zeitschrift für zoologische Systematik und Evolutionsforschung* **30**: 129-141.
- PIECHOCKI, R. (1990): Die Wildkatze - *Felis silvestris*. Neue Brehm Bücherei. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt.
- POCOCK, R. I. (1907): On English domestic cats. *Proc. Zool. Soc. London* 1907: 143-168.
- POLZIEHN, R. O.; STROBECK, C.; SHERATON, J.; BEECH, R. (1995): Bovine mtDNA discovered in North American bison populations. *Conservation Biology* **9**: 1638-1643.
- POPE, T. R. (1996): Socioecology, Population Fragmentation, and Patterns of Genetic Loss in Endangered Primates. In: AVISE, J. C.; HAMRICK, J. L. (eds.): Conservation Genetics. Case histories from nature. Chapman and Hall, New York: 119-159.
- QUINN, T. W. (1992): The genetic legacy of Mother Goose – phylogeographic patterns of lesser snow goose *Chen caerulescens caerulescens* maternal lineages. *Molecular Ecology* **1**: 105-117.
- QUINN, T. W.; WHITE, B. N. (1987): Analysis of DNA sequence variation. In: COOKE, F.; BUCKLEY, P. A. (eds.): Avian Genetics. Academic Press, London: 163-198.
- RAGNI, B. (1993): Status and conservation of the wildcat in Italy. Seminar on the biology and conservation of the wildcat (*Felis silvestris*), Nancy, France, 23.-25. Sept. 1992. Council of Europe Press, Environmental Encounters, No 16: 40-45.
- RAGNI, B.; RANDI, E. (1986): Multivariate analysis of craniometric characters in European wild cat, Domestic cat, and African wild cat (genus *Felis*). *Z. Säugetierkunde* **51**: 243-251.
- RAIMER, F. (1989): Die Wildkatze in Hessen und Niedersachsen – Fortführung der Projektarbeit 1988 – Historischer Überblick, Biologie, Meinungsbild. Witzenhausen, Gesamthochschule Kassel, Aufbaustudium Ökologische Umweltsicherung, Dipl.-Arb.

- RAIMER, F. (1994): Die aktuelle Situation der Wildkatze in Deutschland. In: Bund Naturschutz in Bayern e. V. (Hrsg.): Die Wildkatze in Deutschland. Vorkommen, Schutz und Lebensraum. *Wiesenfeldener Reihe* **13**: 15-34.
- RANDI, E.; RAGNI, B. (1991): Genetic variability and biochemical systematics of domestic and wild cat populations (*Felis silvestris*: Felidae). *J. Mammalogy* **72**: 79-88.
- RANDI, E.; PIERPAOLI, M.; BEAUMONT, M.; RAGNI, B.; SFORZI, A. (2001): Genetic Identification of Wild and Domestic Cats (*Felis silvestris*) and Their Hybrids Using Bayesian Clustering Methods. *Molecular Biology and Evolution* **18(9)**: 1679-1693.
- RAYMOND, M.; ROUSSET, F. (1995): GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Heredity* **86**: 248-249.
- RÖBEN, P. (1974): Die Verbreitung der Wildkatze, *Felis silvestris* Schreber 1777, in der Bundesrepublik Deutschland. *Säugetierkundliche Mitteilungen* **22**: 244-250.
- ROFF, D. A.; BENTZEN, P. (1989): The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small sample sizes. *Molecular Biology and Evolution* **6**: 539-545.
- SACCONE, C.; PESOLE, G.; SBISÀ, E. (1991): The main regulatory region of mammalian mitochondrial DNA: structure-function model and evolutionary pattern. *Journal of Molecular Evolution* **33**: 83-91.
- SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. (1988): Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science* **239**: 487-491.
- SAITOU, N.; NEI, M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**: 406-425.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. (1989): Molecular cloning. A laboratory manual. Bde. 1-3, 2. Aufl. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Press.
- SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**: 5463-5467.
- SAVAGE, R. J. G. (1978): Carnivora. In: MAGLIO, V. J.; COOKE, H. B. S. (eds.): Evolution of African mammals. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts: 249-267.
- SAVOLAINEN, P.; ROSÉN, B.; HOLMBERG, A.; LEITNER, T.; UHLÉN, M.; LUNDEBERG, J. (1997): Sequence Analysis of Domestic Dog Mitochondrial DNA for Forensic Use. *Journal of Forensic Sciences* **42(4)**: 593-600.

- SCHAUENBERG, P. (1969): L'identification du Chat forestier d'Europe, *Felis s. silvestris* Schreber 1777, par une méthode ostéométrique. *Rev. Suisse Zool.* **76**: 433-441.
- SCHAUENBERG, P. (1977): Longueur de l'intestin du chat forestier, *Felis silvestris* Schreber 1777. *Rev. Suisse Zool.* **86**: 527-534.
- SCHLÖTTERER, C.; PEMBERTON, J. (1994): The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations. In: SCHIERWATER, B.; STREIT, B.; WAGNER, G. P.; DE SALLE, R. (eds.): *Molecular Ecology and Evolution: Approaches and Applications*. Experientia Supplementum 69. Birkhäuser Verlag, Basel: 203-214.
- SCHLÖTTERER, C.; TAUTZ, D. (1992): Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acid Research* **20**: 211-215.
- SCHNEIDER, S.; ROESSLI, D.; EXCOFFIER, L. (2000): Arlequin ver 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland.
- SCHULDT, O. (1998): Genetische Variabilität in einer natürlichen Population und die Auswirkungen der genetischen Drift in Laborzuchtstämmen des mongolischen Gerbils (*Meriones unguiculatus*). Unveröffentlichte Diplomarbeit, Christian-Albrechts-Universität, Kiel.
- SENSABAUGH, G. F. (1994): DNA Typing of Biological Evidence Material. In: HERRMANN, B.; HUMMEL, S. (eds.): *Ancient DNA - Recovery and Analysis of Genetic Material from Paleontological, Archaeological, Museum, Medical, and Forensic Specimens*. Springer Verlag, New York: 141-148.
- SHINDE, D.; LAI, Y.; SUN, F.; ARNHEIM, N. (2003): *Taq* DNA polymerase slippage mutation rates measured by PCR and quasi-likelihood analysis: $(CA/GT)_n$ and $(A/T)_n$ microsatellites. *Nucleic Acids Research* **31**: 974-980.
- SLATKIN, M. (1985): Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* **39**: 53-65.
- STAHL, P.; ARTOIS, M. (1991): Status and conservation of the wildcat in Europe and around the Mediterranean rim. Council of Europe, Strasbourg.
- STAHL, P.; ARTOIS, M.; AUBERT, M. F. A. (1988): Organisation spatiale et déplacements des chats forestiers adultes (*Felis silvestris*, Schreber, 1777) en Lorraine. *Rev. Ecol.* **43**: 113-132.
- STONEKING, M.; SHERRY, S. T.; REDD, A. J.; VIGILANT, L. (1992): New approaches to dating suggest a recent age for the human mtDNA ancestor. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. ser. B* **337**: 167-175.

- SUMINSKI, P. (1962): Research in the native form of wild cat (*Felis silvestris* Schreber) on the background of its geographical distribution. *Folia Forestalia Polonica Ser. A* **8**: 5-81.
- SUMINSKI, P. (1977): Zur Problematik der Unterscheidung zwischen der Wildkatze, *Felis silvestris* Schreber 1777, und der Hauskatze, *Felis catus* Linné 1758. *Säugetierkundliche Mitteilungen* **25**: 236-238.
- SZEMETHY, L. (1993): The actual status of the wildcat (*Felis silvestris*) in Hungary. Seminar on the biology and conservation of the wildcat (*Felis silvestris*), Nancy, France, 23.-25. Sept. 1992. Council of Europe, Environmental Encounters, No 16: 52.
- TABERLET, P.; BOUVET, J. (1994): Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe. *Proc. R. Soc. Lond.* **B 255**, 195-200.
- TAUTZ, D. (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA. *Nucleic Acids Research* **17**: 6463-6471.
- THALMANN, O. (2001): Genetische Diversität innerhalb und zwischen Zuchtlinien und Rassen beim Hund. Unveröffentlichte Diplomarbeit, Christian-Albrechts-Universität, Kiel.
- TIEDEMANN, R.; HARDER, J.; GMEINER, C.; HAASE, E. (1996): Mitochondrial DNA sequence patterns of Harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) from the North and the Baltic Sea. *Z. Säugetierkunde* **61**: 104-111.
- TODD, N. B. (1977): Cats and commerce. *Scientific American* **237**: 100-107.
- TSUDA, K.; KIKKAWA, Y.; YONEKAWA, H.; TANABE, Y. (1997): Extensive interbreeding occurred among multiple matriarchal ancestors during the domestication of dogs: Evidence from inter- and intraspecies polymorphisms in the D-loop region of mitochondrial DNA between dogs and wolves. *Genes Genet. Syst.* **72**: 229-238.
- VALDES, A. M.; SLATKIN, M.; FREIMER, N. B. (1993): Allele Frequencies at Microsatellite Loci: The Stepwise Mutation Model Revisited. *Genetics* **133**: 737-749.
- VIGILANT, L.; PENNINGTON, R.; HARPENDING, H.; KOCHER, T. D.; WILSON, A. C. (1989): Mitochondrial DNA sequences in single hairs from a southern African population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 9350-9354.
- VILÀ, C.; SAVOLAINEN, P.; MALDONADO, J. E.; AMORIM, I. R.; RICE, J. E.; HONEYCUTT, R. L.; CRANDALL, K.A.; LUNDEBERG, J.; WAYNE, R. K. (1997): Multiple and Ancient Origins of the Domestic Dog. *Science* **276**: 1687-1689.

- VILLABLANCA, F. X. (1994): Spatial and temporal aspects of populations revealed by mitochondrial DNA. In: HERRMANN, B.; HUMMEL, S. (eds.): *Ancient DNA - Recovery and Analysis of Genetic Material from Paleontological, Archaeological, Museum, Medical, and Forensic Specimens*. Springer Verlag, New York: 31-58.
- VRIJENHOEK, R. C. (1994): Genetic diversity and fitness in small populations. In: LOESCHCKE, V.; TOMIUK, J.; JAIN, S. K. (eds.): *Conservation Genetics*. Birkhäuser, Basel: 37-53.
- WALSH, P. S.; METZGER, D. A.; HIGUCHI, R. (1991): Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing forensic material. *BioTechniques* **10**: 506-513.
- WEBER, J. L.; WONG, C. (1993): Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics* **2**: 1123-1128.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**: 1358-1370.
- WILKINSON, G. S.; MAYER, F.; KERTH, G.; PETRI, B. (1997): Evolution of repeated sequence arrays in the D-Loop region of bat mitochondrial DNA. *Genetics* **146**: 1035-1048.
- WILSON, A. C.; CANN, R. L.; CARR, S. M.; GEORGE, M.; GYLLENSTEN, U. B.; HELM-BYCHOWSKI, K. M.; HIGUCHI, R. G.; PALUMBI, S. R.; PRAGER, E. M.; SAGE, R. D.; STONEKING, M. (1985): Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* **26**: 375-400.
- WISEMAN, R.; O'RYAN, C.; HARLEY, E. H. (2000): Microsatellite analysis reveals that domestic cat (*Felis catus*) and southern African wild cat (*F. Lybica*) are genetically distinct. *Animal Conservation* **3**: 221-228.
- WITTMER, H. U. (2001): Home range size, movements, and habitat utilization of three male European wildcats (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Saarland and Rheinland-Pfalz (Germany). *Mammalian Biology* **66**: 365-370.
- WOREL, G. (1991): Die Wiedereinbürgerung der Europäischen Wildkatze in Bayern durch den Bund Naturschutz. In: Bund Naturschutz in Bayern e. V. (Hrsg.): *Die Wildkatze und ihre Wiedereinbürgerung in Bayern. Eine Zwischenbilanz. Wiesenfeldener Reihe* **8**: 60-69.
- WRIGHT, S. (1951): The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15**: 323-354.
- XU, X.; PENG, M.; FANG, Z; XU, X. (2000): The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length. *Nature Genetics* **24**: 396-399.

ZHU, Y.; QUELLER, D. C.; STRASSMANN, J. E. (2000): A Phylogenetic Perspective on Sequence Evolution in Microsatellite Loci. *Journal of Molecular Evolution* **50**: 324-338.

ZIMINA, R. P. (1962): The mammals of Bulgaria, their faunal composition and peculiarities of their distribution. *Zoological Zhurnal Moscow* **41**: 1226-1237.

Bildnachweis:

Seite 6: Foto von H. Reinhard, aus Rosemarie Schär, „Die Hauskatze“, Ulmer 1994

8. Anhang

8.1 Abkürzungen und Symbole

Zu Abkürzungen von verwendeten Chemikalien und Lösungen siehe 8.3 und 8.4.

µl	Mikroliter
Σ	Summe
AMOVA	Analysis of Molecular Variance
bp	base pairs
bp	Basenpaare
ddH ₂ O	Doppelt destilliertes Wasser
ddNTP	Didesoxy-Nukleotidtriphosphat
DNA	deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
FAM	5-Carboxyfluorescein
HEX	6-Carboxy-1,4-dichloro-2', 4', 5', 7' - Tetrachlorofluorescein
IAM	Infinite Allele Model
ln	natürlicher Logarithmus
mA	Milliampère
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mM	Millimol
NTP	Nukleotidtriphosphat
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
ROX	6-Carboxy-X-rhodamin
SMM	Stepwise Mutation Model
Taq	Thermus aquaticus
Thr-tRNA (Abschn. 2.3.2.1)	Threonin-Transport-RNA
U/min	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
V	Volt

8.2 Geräte

Automatischer Sequenzierer	PE Applied Biosystems ABI 373
Elektrophoresekammern	Biometra Transilluminator TI 1
	Easy-Cast # B 2
	Pharmacia GNA-100
	Pharmacia GNA-200
Magnetischer Heizrührer	IKA Labortechnik
Mikrowellengerät	Phillips M 611
Pipetten	Gilson Pipetman
Schüttler	Janke + Kunkel, RCT basic, IKA
	Labortechnik
Sofortbildkamera	Polaroid DS 34
Sofortbildkamera-Filme	SIGMA F 4638
Spannungsregler	Pharmacia GPS 200 / 400
Sterilbank	Heraeus Hera <i>safe</i>
Thermocycler	Perkin Elmer GeneAmp PCR-System 2400
	Biometra T-Gradient
	Ericomp PowerBlock System
UV-Leuchttisch	Pharmacia 2011 Macrovue
Vortexer	Janke + Kunkel IKA Labortechnik
Waagen	Sartorius BP 2100 S
	Sartorius 2462
Wärmeschrank	Heraeus
Wasserbad	Köttermann
Zentrifugen	Eppendorf Centrifuge 5417
	Eppendorf Centrifuge 5417 C
	Heraeus Sepatech Biofuge 28 RS

8.3 Chemikalien

Acrylamid	30%-ige Lösung, Roth A124.1
Agarose	Biozym 870071
Alconox	Applied Biosystems 400667

APS	10%-ige Ammoniumpersulfatlösung, Sigma L 6876
Borsäure	SIGMA B 7901
Chlorform	Merck 02445
Dextranblau	Roth 5958.1
dNTP-Lösung	MBI-Fermentas # R0242
DTT	Dithiothreitol (1 M), Sigma D 9779
EDTA	Ethylendiamintetraacetat, Sigma ED2SS
Ethanol	Walter GmbH & Co. KG
Ethidiumbromid	Sigma E 8751
Formamid	Amresco 0606
Harnstoff	Amresco 0568
Längenstandard (Agarosegel)	MBI-Fermentas L100+ # SM0321
Längenstandard (Fragmentanalyse)	Genescan-500 Tamra, Perkin Elmer
Natriumacetat	Merck 06268
Phenol	Merck 00206
Proteinase K	Merck 24568
SDS	Sodiumdodecylsulfat, Sigma L 4509
<i>Taq</i> -Polymerase	Appligene Oncor 120181, Illkrich, Frankreich
TEMED	N-Tetramethylethylendiamin, Sigma T 9281
Tris	Trishydroxymethylaminoethan, Merck 108382

8.4 Lösungen und Kits

Lösungen:

E-Puffer (50x)	2 M Tris, 250 mM Natriumacetat, 100 mM EDTA, pH 7,9
Ethidiumbromidlösung	50 µl Ethidiumbromid (c = 10 mg/ml) <i>ad</i> 1 l E-Puffer (1x)
Gelladepuffer (Agarosegel)	50% Saccharose, 0,1 M EDTA pH 8, 1% Bromphenolblau, 0,1% Xylencyanol
Gelpuffer (Agarosegel)	E-Puffer (1x)
Lysispuffer	100 mM Tris pH 8, 10 mM EDTA, 100 mM NaCl, 0,1 % SDS

Polyacrylamidgel (5%)	30 g Harnstoff, 22 ml doppeldestilliertes H ₂ O, 6 ml TBE-Puffer (10x), 10 ml 30%-ige Acrylamidlösung, 15 µl TEMED, 350 µl 10%-iges APS
Polyacrylamidgelpuffer TBE-Puffer (10x)	200 ml TBE-Puffer <i>ad</i> 2 l doppeldestilliertes H ₂ O 108 g Tris, 55 g Borsäure, 7,4 g EDTA <i>ad</i> 1 l doppeldestilliertes H ₂ O

Kits:

DT	Thermosequenase Dye Terminator Kit, Amersham Biosciences
DNeasy Tissue Kit	Qiagen
QIAquick PCR Purification Kit	Qiagen
Super Quick Gene	AGTC, Denver, USA

8.6 Sequenzen

Folgende Seiten: Beispielsequenzen

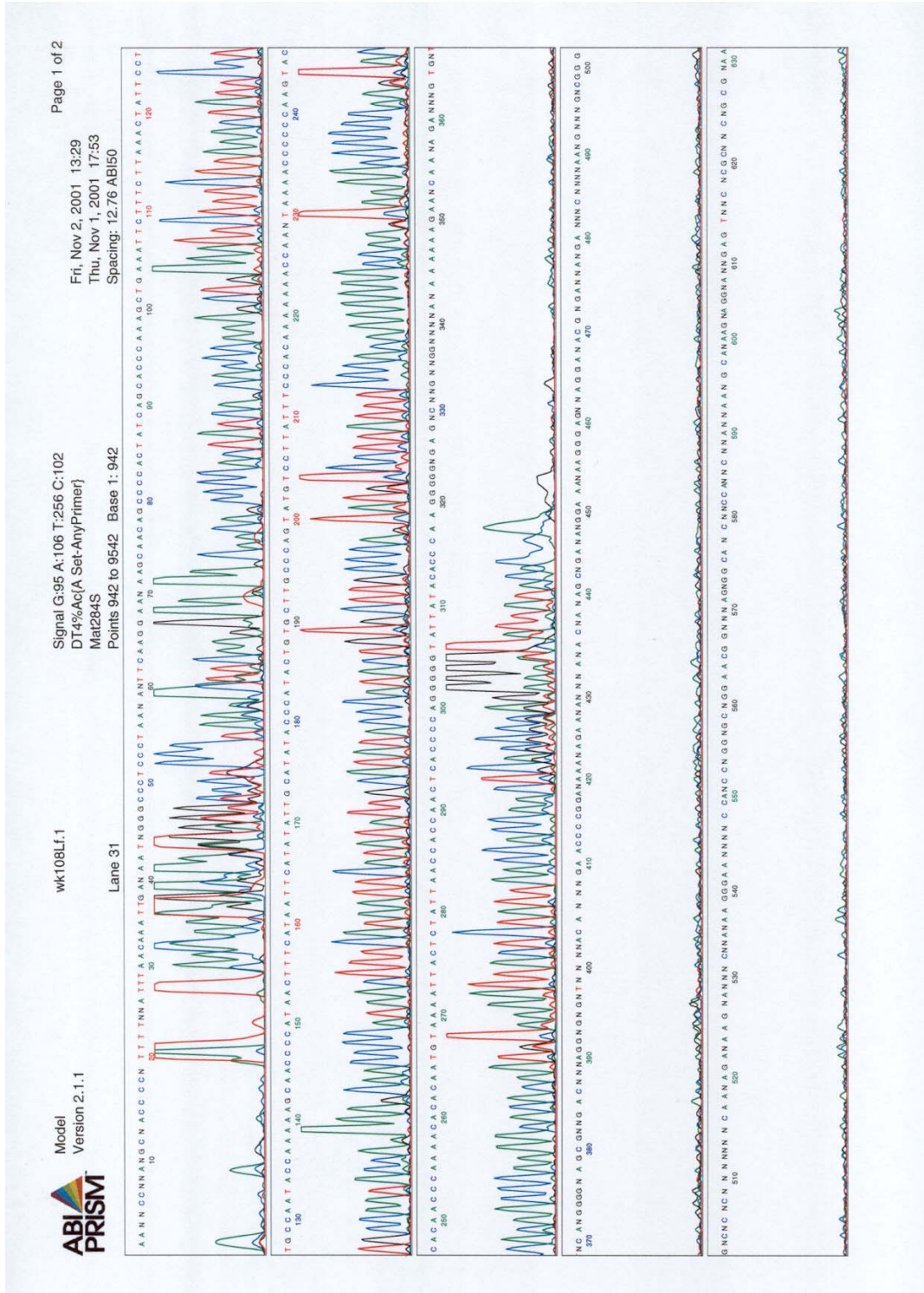


Abb. 25. Beispielsequenz des vorderen Abschnitts der Kontrollregion (1. Teil)

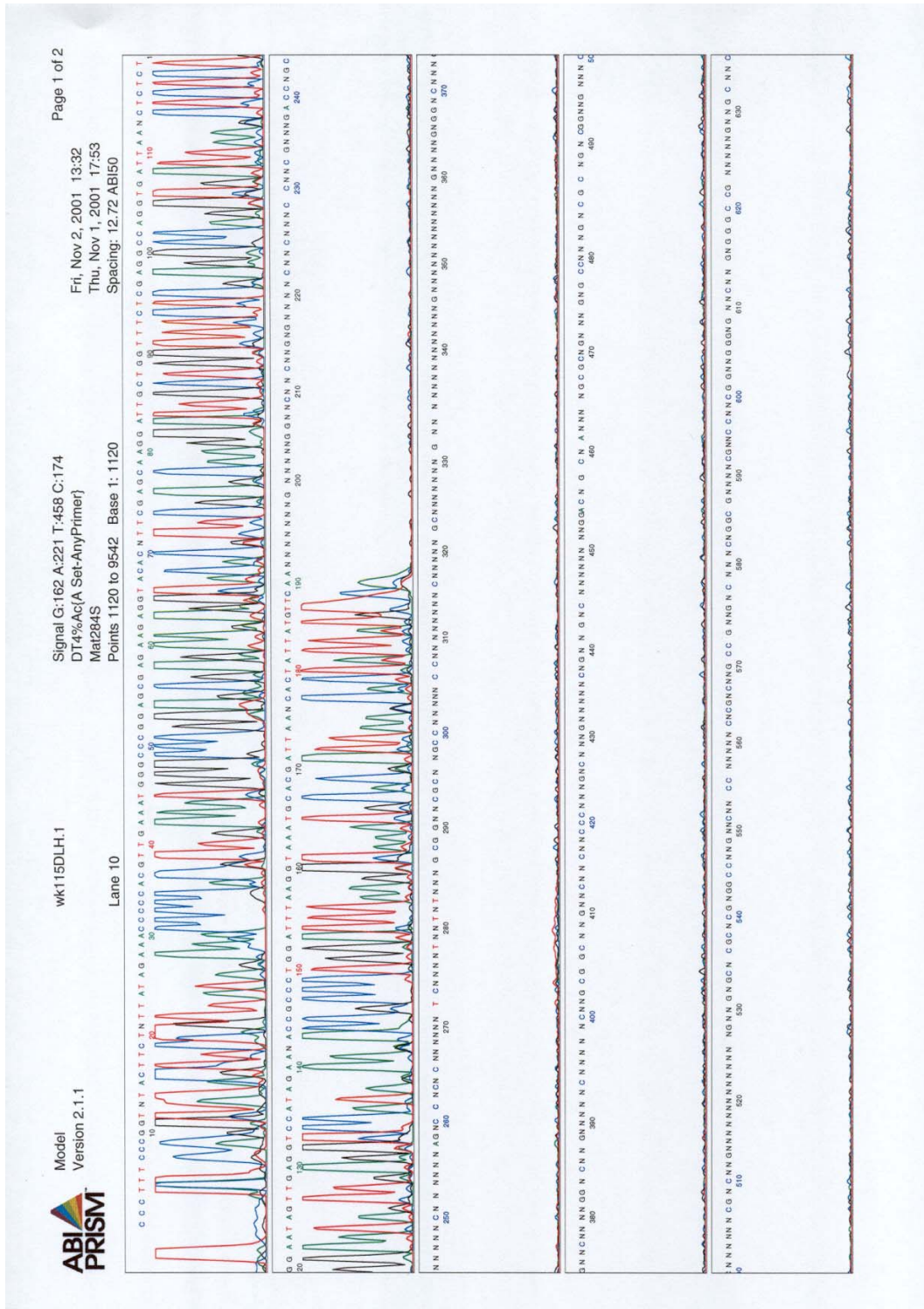


Abb. 26. Beispielsequenz des vorderen Abschnitts der Kontrollregion (2. Teil)

9. Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. Hartl für die Möglichkeit, diese Arbeit am Institut für Haustierkunde anfertigen zu können und für die freundliche Unterstützung während dieser Zeit.

Des Weiteren danke ich meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben, und besonders meiner Mutter, die immer für mich da war, wenn ich sie brauchte.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Freund Till für die tatkräftige Unterstützung und die seelische Aufbauarbeit in den letzten Wochen. Auch meinen Freunden Frank und Simone, die mit mir Freude und Leid teilten und mir halfen, bin ich zu besonderem Dank verpflichtet. Die Zeichnung auf der Titelseite verdanke ich Simone.

Herzlichen Dank allen Mitarbeitern des Institutes für die angenehme Arbeitsatmosphäre. Vor allem Renate, Heiner und Achim möchte ich für ihre Hilfe danken. Vielen Dank auch an Kirsten, die mit mir einen großen Teil der Doktorandenzeit teilte.

Ich danke allen Menschen, von denen ich Proben erhalten habe. Franz Suchentrunk danke ich für sein Interesse an der Arbeit und seine kritischen Anregungen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft DFG danke ich für die finanzielle Unterstützung des Projektes (HA2615/2).



10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Iris Eckert
Anschrift:	Hamburger Chaussee 7, 24114 Kiel
Geburtsdatum:	4. 4. 1969
Geburtsort:	Neustadt in Holstein
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	ledig

Schulausbildung und Studium

1979 - 1988	Kreisgymnasium Neustadt in Holstein, mit Abschluss Abitur
April 1989 - September 1991	Studium der Fächer Philosophie und Kunstgeschichte an der Universität Hamburg
Oktober 1992 - Februar 1999	Studium der Biologie an der Christian-Albrechts-Universität Kiel mit dem Hauptfach Zoologie und den Nebenfächern Paläontologie und Organische Chemie
November 1997	Diplomhauptprüfung (Zoologie und Paläontologie „sehr gut“, Chemie „befriedigend“)
Januar 1999	Abschluss der Diplomarbeit zum Thema "Beziehungen zwischen Allozymmarkern und Geweihmerkmalen beim Rothirsch (<i>Cervus elaphus</i>)" mit der Note 1,0.

Promotion

seit Juni 1999	Thema der Dissertation: "DNA-Analysen zum genetischen Status der Wildkatze (<i>Felis silvestris</i>) in Deutschland", Betreuer: Prof. Dr. G. B. Hartl.
----------------	--

Berufliche Tätigkeiten

- April 1996 - Februar 1999 Studentische Hilfskraft in der Arbeitsgruppe für Populationsgenetik und molekulare Systematik am Institut für Haustierkunde in Kiel: Durchführung von Laborarbeiten und Mitbetreuung des Kurses "Grundübungen Zoologie - Stämme des Tierreichs".
- April - Mai 1999 Untersuchung zur genetischen Variabilität verschiedener Hunderassen anhand von Haarproben im Auftrag des Instituts für Haustierkunde.
- Juni 1999 - Juni 2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Haustierkunde im Rahmen eines DGF-Projektes zur Populationsgenetik von Haus- und Wildkatzen; Mitbetreuung von zoologischen Lehrveranstaltungen.
- August 2002 - März 2003 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Haustierkunde; Betreuung von zoologischen Lehrveranstaltungen.

Teilnahme an internationalen Tagungen (Vorträge)

30. Juni - 4. Juli 1998 „4th International Deer Biology Congress“ in Kaposvár, Ungarn
19. - 24. Juli 1998 „Euro-American Mammal Congress“ in Santiago de Compostela, Spanien
4. - 6. April 2000 „International Symposium on Wildcats“, Nienover, Deutschland
17. - 19. August 2001 „Conservation of Carnivores in Europe - Genetic Aspects“, Workshop, Rønne, Dänemark

11. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die Arbeit hat noch keiner anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen und wurde weder veröffentlicht noch zur Veröffentlichung eingereicht.

Kiel, den