Beiträge zur
JAGD
&WILD
forschung · 46

Gerald Reiner und Hermann Willems, Gießen

Genetische Isolation, Inzuchtgrade und Inzuchtdepressionen in den hessischen Rotwildgebieten

Schlagwörter: Rotwild, *Cervus elaphus*, menschlicher Einfluss, Landschaft, Genetik, genetische Differenzierung, Wildtiermanagement, Rotwildgebiete

Einleitung

Rotwildpopulationen (*Cervus elaphus*) in zusammenhängenden Landschaften stehen in regem genetischem Austausch miteinander, solange die jüngeren Hirsche wandern können. In Hessen werden die Wandermöglichkeiten indirekt gesetzlich eingeschränkt (Bundesjagdgesetz in der Fassung des Jahres 2015 und das Hessische Jagdgesetz in der Fassung des Jahres 2016). Zwanzig hessische Rotwildgebiete wurden in den 1950er Jahren ausgewiesen, um den damals hohen Vegetationsschäden zu begegnen. Für diese Gebiete wurden Abschusspläne erlassen, die sich insbesondere an den Schälschäden von Buche und Fichte orientierten. Die Rotwildgebiete liegen in Waldgebieten, in denen traditionell Rotwildpopulationen vorkamen. Sie stellen im Wesentlichen die Reste der historischen Sommerlebensräume des Rotwildes dar, während die ehemaligen Winterlebensräume in den Auen heute aufgelöst oder nicht mehr zugänglich sind. In den rotwildfreien Gebieten soll die Etablierung von Rotwildpopulationen verhindert werden, um Schälschäden zu vermeiden. Doch die Bejagung in diesen Gebieten scheint die Wanderung des Rotwildes zwischen Rotwildgebieten und damit den genetischen Austausch zwischen den Teilpopulationen zu behindern (Herzog et al., 2020). Darüber hinaus leidet Hessen unter einer erheblichen Landschaftsfragmentierung durch Zersiedlung und hohe Verkehrsflächendichte, die ebenfalls zu einer Reduktion des genetischen Austauschs zwischen den Teilpopulationen beitragen dürften (Hartl et al., 2003; Frantz et al., 2012).
Isolierte Populationen leiden unter genetischer Drift (Slatkin 1987). Besonders in kleinen isolierten Populationen (Whitlock 2000) können seltene Genvarianten verloren gehen, oft schon mit dem Verlust einzelner Tiere (Sperlich 1988; Balloux und Lugon-Moulin 2002). Allelverluste und genetische Verarmung reduzieren den Grad der Heterozygotie (Frankham 2008; Stopher et al., 2012; Mukesh et al., 2013) und können zu Inzuchtdepression führen (Slate et al., 2002; Walling et al., 2011). Kürzlich konnten wir den Rückgang der genetischen Vielfalt für den Krofdorfer Forst, einem kleinen isolierten Rotwildgebiet bei Gießen von den 1980er bis in die 2010er Jahre nachweisen (Willems et al., 2016). Dieses Ergebnis und eine der höchsten Dichten an Verkehrs- und Siedlungsflächen in Deutschland führten zu der Hypothese eines unterbrochenen Genflusses zwischen den hessischen Rotwildgebieten. Diese Hypothese sollte

anhand wissenschaftlich anerkannter Methoden, für die 19 hessischen Rotwildgebiete auf Basis ihrer genetischen Populationsstruktur, überprüft werden. Eine Bestätigung der Hypothese sollte die Informationen liefern, die es den zuständigen Behörden ermöglichten, die entsprechenden Gegenmaßnahmen einzuleiten.

Material und Methoden

Rotwildbestand und Probenahme

Das Untersuchungsgebiet umfasst die gesamte Region des Bundeslandes Hessen (Abb. 1) mit einer Nord-Süd-Ausdehnung von 260 km, einer West-Ost-Ausdehnung von 170 km und einer Gesamtfläche von etwa 21.000 km². Die Bevölkerungsdichte lag im Jahr 2018 bei ca. 297 Einwohnern pro km² (Statistisches Bundesamt) im Vergleich zum deutschen Durchschnitt mit 237 Einwohnern/km². Das Bundesland Hessen besteht aus einem Mosaik verschiedener Landnutzungsarten, überwiegend Wald (42,5 %), Grünland und Landwirtschaft. Hessen ist das Bundesland in Deutschland mit der größten Waldfläche. Zwanzig Rotwildgebiete sind über das Bundesland verteilt, variieren aber erheblich in ihrer Größe von 105 bis 940 km² (Tabelle 1). Neunzehn der Gebiete wurden untersucht. Ein kleines Gebiet im Norden, das Upland, ein Anhängsel der größeren Rotwildgebiete des Nachbarlandes Nordrhein-Westfalen, wurde nicht mehr bejagt und daher auch nicht beprobt. Die Entfernungen zwischen den Gebieten reichen von 12,5 bis 240 km (Zentrum zu Zentrum). Zwischen ihnen liegen Siedlungsgebiete, eingezäunte Autobahnen, Landstraßen und zum Teil größere zusammenhängende landwirtschaftliche Flächen, die Barrieren für die Wanderung des Rotwildes darstellen könnten (Pérez-Espona et al., 2008; Frantz et al., 2012). Die geschätzten Populationsgrößen der Rotwildgebiete im Frühjahr reichen nach Angaben der lokalen Behörden und der Rotwildhegegemeinschaften von 70 Tieren in Wattenberg-Weidelsburg bis zu ca. 2400 Tieren im Spessart (Tabelle 1). Diese Zahlen beruhen jedoch auf Schätzungen. Exakte Zahlen sind nicht verfügbar. Die Schätzungen beruhen auf der Schälschadensaufnahme, Schneezählungen und dem

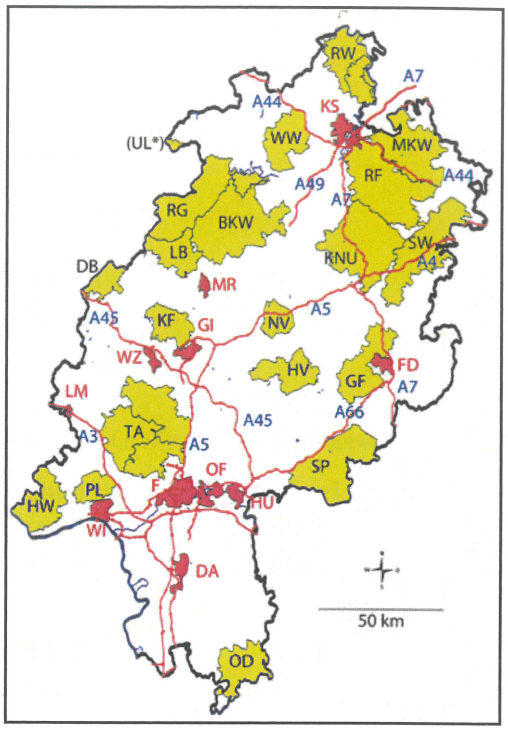

*Abb. 1 Rotwildgebiete (gelbe Flächen, schwarze Schrift) in Hessen: Burgwald-Kellerwald (BKW), Dill-Bergland (DB), Gieseler Forst (GF), Hinterlandswald (HW), Hoher Vogelsberg (HV), Knuell (KNU), Krofdorfer Forst (KF), Lahn-Bergland (LB), Meissner-Kaufunger Wald (MKW), Noerdlicher Vogelsberg (NV), Odenwald (OD), Platte (PL), Reinhardswald (RW), Riedforst (RF), Rothaargebirge (RG), Seulingswald (SW), Spessart (SP), Taunus (TA), *Upland (UL, nicht untersucht), Wattenberg-Weidelsburg (WW); Städte (rote Flächen, rote Schrift: Darmstadt (DA), Frankfurt (F), Fulda (FD), Giessen (GI), Hanau (HU), Kassel (KS), Limburg (LM), Marburg (MR), Offenbach (OF), Wetzlar (WZ), Wiesbaden (WI); Autobahnen: rote Linien, blaue Schrift.*

Wissen der örtlichen Jäger über die Tiere in ihren Revieren.

Von den örtlichen Revierförstern wurden nach der Jagd Gewebeproben von Rotwild entnommen. Sie wurden beschriftet, mit Informationen über das Tier (Geschlecht und Altersklasse) und das Jagdgebiet versehen und bis zur Verarbeitung im Labor eingefroren. Insgesamt wurden in der Jagdsaison 2018/2019 1291 Proben gesammelt. Alle Proben stammten von legalen Abschüssen und wurden von den Jagdausführungsberechtigten zur Verfügung gestellt. Es

wurden keine Tiere speziell für die Studie erlegt. Es wurden keine lebenden Tiere beprobt und es wurden keine Abwurfstangen für die Studie gesucht oder gesammelt. Aufgrund der Auswirkungen der Probengröße auf die Genauigkeit der populationsgenetischen Ergebnisse (REINER und WILLEMS, 2019), wurde ein Probenumfang von 60 Proben je Gebiet anvisiert. Am Ende wurden durchschnittlich 67,9 Proben pro Gebiet gesammelt. Ein Gebiet (Reinhardswald) wurde mit 204 Proben besonders intensiv beprobt, die in einer Parallelstudie zu einem anderen Zweck analysiert wurden (REINER et al., 2020). Der geringste Probenumfang war mit 47 Proben im Hohen Vogelsberg zu verzeichnen (Details siehe Tabelle 1).

DNA-Extraktion und Genotypisierung

Die DNA-Extraktion erfolgte mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Kits (Analytik Jena, Deutschland). Dazu wurden 30 bis 50 mg Gewebe nach den Anweisungen des Herstellers aufbereitet. Die DNA-Konzentration wurde photometrisch bestimmt und mit RNAse-freiem Wasser auf 5 ng/µl eingestellt. Das Vorhandensein von hochmolekularer DNA wurde durch Agarosegel-Elektrophorese bestätigt. Sechzehn Mikrosatelliten wurden zur Genotypisierung von Rotwild verwendet, wie ausführlich von WILLEMS et al. (2016) beschrieben. Die Primer wurden in vier Multiplex-PCRs kombiniert (s. REINER et al., 2021). Die PCR wurde in einem Volumen von 10 µl durchgeführt, bestehend aus 5 µl 2× Multiplex Mastermix (Qiagen, Deutschland), 4 µl Primermix und 1 µl (5 ng) extrahierter DNA. Die DNA wurde nach einem initialen Denaturierungsschritt von 15 min in 26 Zyklen mit Denaturierung bei 94 °C für 30 s, Annealing bei 56 °C (Multiplex PCR 4 bei 50 °C) für 90 s und Extension bei 72 °C für 30 s amplifiziert. Nach einem finalen Schritt bei 60 °C für 30 min wurden die PCR-Reaktionen auf 4 °C abgekühlt.

Kapillarelektrophorese

Ein Mikroliter des fluoreszenzmarkierten PCR-Produkts und 0,375 µl DNA Size Standard 500 Orange (Nimagen, Niederlande) wurden in 12 µl Hi-Di-formamide (Thermofisher Scientific, Deutschland) gegeben und auf einem ABI PRISM 310 Sequenzierautomaten elektrophoretisch aufgetrennt. Die Allelgrößen wurden mit der Software Peakscanner 2.0 (Thermofisher Scientific, Deutschland) bestimmt.

Tabelle 1: Lokalisation und Ausdehnung der untersuchten Rotwildgebiete.

Rotwildgebiet	Fläche (km^2)	Ausdehnung N-S (km)	Ausdehnung W-O /km)	Breite*	Länge*	Geschätzte Tierzahl	Rotwild-dichte/km^2
Burgwald Kellerwald (BKW)	552,7	35,6	34,7	51,007657	8,913301	850	1,5
Dill-Bergland (DB)	105,1	15,6	15,6	50,829117	8,256126	800	7,6
Gieseler Forst (GF)	296,2	31,7	26,5	50,563792	9,583004	800	2,7
Hoher Vogelsberg (HV)	228,6	18,3	25,7	50,524421	9,198113	450	2,0
Hinterlandswald (HW)	254,1	25,1	21,2	50,077964	7,933737	2300	9,1
Krofdorfer Forst (KF)	191,9	18,9	18,9	50,678952	8,587121	200	1,0
Knuell (KNU)	547,2	34,1	32,5	50,943474	9,582596	1700	3,1
Lahn-Bergalnd (LB)	176,0	18,4	21,7	50,915032	8,611752	450	2,6
Meissner-Kaufunger Wald (MKW)	438,0	31,2	28,5	51,251951	9,836945	1200	2,7
Noerdlicher Vogelsberg (NV)	145,9	14,3	12,5	50,698799	9,138650	200	1,4
Odenwald (OD)	240,0	23,18	19,92	49,470198	8,579823	2100	8,8
Platte (PL)	134,1	12,8	16,6	50,142072	8,194991	400	3,0
Riedforst (RF)	572,8	37,5	36,2	51,133521	9,702542	2100	3,7
Rothhaargebirge (RG)	393,6	35,2	29,8	51,079332	8,715476	1250	3,2
Reinhardswald (RW)	174,5	29,4	22,6	51,532526	9,514667	1280	7,3
Spessart (SP)	480,0	30,9	33,6	50,218618	9,421072	2400	5,0
Seulingswald (SW)	439,9	46,4	112,3	50,918941	9,873388	1500	3,4
Taunus (TA)	940,0	39,8	33,9	50,326979	8,464005	2200	2,3
Wattenberg-Weidelsburg (WW)	228,4	23,7	17,2	51,281014	9,166751	70	0,3

* Koordinaten für die Zentren der Rotwildgebiete. Daten zu den Gebieten stammen von den örtlichen Behörden und den Rotwildhegegemeinschaften. Die geschätzten Tierzahlen wurden von den lokalen Behörden und den Rotwildhegegemeinschaften zur Verfügung gestellt.

Analyse der populationsgenetischen Parameter

Die meisten populationsgenetischen Analysen wurden mit der Statistiksoftware R (R Core Team, 2017) durchgeführt. Häufigkeiten von Null-Allelen wurden mit der Funktion null.all berechnet, die im R-Paket PopGenReport v3.0.4 implementiert ist (Adamack und Gruber, 2014). Da die Häufigkeit der fehlenden Daten unter 5 % lag, wurden die Null-Allel-Häufigkeiten mit der von Brookfield (1996) beschriebenen Methode geschätzt. Das 95 %-Konfidenzintervall (CI) wurde mit 1000 Bootstraps berechnet. Wenn das 95 % CI Null einschließt, unterscheiden sich die Null-Allel-Häufigkeiten nicht signifikant von Null.

Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) wurden mit der im R-Paket pegas v0.12 (Paradis 2010) implementierten Funktion hw.test getestet. Der Test wurde als exakter Test basierend auf Monte-Carlo-Permutationen (n=1000) der Allele durchgeführt (Guo und Thompson, 1992).

Private Allele und Gleichmäßigkeit der Allelverteilung wurden mit Funktionen bestimmt, die im R-Paket poppr v2.8.3 (Kamvar et al., 2014) implementiert sind.

Populationsgenetische Parameter (mittlere Anzahl der Allele, Seltenheit des Allelreichtums, beobachtete Heterozygosität, erwartete Heterozygosität, Inzuchtkoeffizient Fis) wurden mit der Funktion divBasic berechnet, die im R-Paket diveRsity v.1.9.90 (Keenan et al., 2013) implementiert ist. Fis-Werte wurden mit ihrem 95 %-KI angegeben, das nach 1000 Bootstrap-Iterationen erhalten wurde.

Dasselbe R-Paket wurde zur Bestimmung der paarweisen Populationsdifferenzierung unter Verwendung von Fst (Weir und Cockerham, 1984) und Jost's D (Jost 2008) als Metriken verwendet. Die Signifikanz der Unterschiede in paarweisen Vergleichen wurde durch 1000 Bootstrapping-Iterationen bewertet. Während Fst demografische Prozesse und Fixierung widerspiegelt, ist Jost's D ein Maß für allelische Differenzierung (Jost et al., 2018).

Die effektive Populationsgröße (Ne) wurde mit NeEstimator V2.1 (Do et al., 2014) geschätzt. Die Schätzungen von Ne wurden mit der Methode des Kopplungsungleichgewichts mit zufälliger Paarung als Paarungssystem berechnet. Um Single-Copy-Allele auszuschließen, wurde der kritische Wert für die Allelhäufigkeit (Pcrit) auf 0,02 für Populationen mit weniger als 50 und auf 0,01 für 50 und mehr beprobte Individuen gesetzt. Um den Effekt verschiedener Allelfrequenz-Schwellenwerte abzuschätzen, berechneten wir Ne für Pcrit-Werte von 0,05, 0,02, 0,01 und durch Weglassen aller Allel-Singletons. Zusätzlich wurde Ne zum Vergleich aus demographischen Daten ermittelt, die von den lokalen Behörden und den lokalen Rotwildschutzvereinen zur Verfügung gestellt wurden. Unter der Annahme eines konstanten Geschlechterverhältnisses der reproduzierenden Tiere und keiner Schwankungen in der Populationsgröße wurde Ne nach Wang et al. (2016) unter der Annahme von Harems-Polygamie als Fortpflanzungsmodus aus der Anzahl der reproduzierenden Männchen (Nm) und Weibchen (Nf) als Ne=(4*Nm*Nf)/(2*Nm+Nf) berechnet. Um mögliche Fehlerquoten in den Schätzungen zu berücksichtigen, wurden die Ne-Werte für Nm/Nf-Verhältnisse neu berechnet, die zwischen dem 0,7- und 1,3-fachen des geschätzten Nm/Nf-Verhältnisses lagen. Der Prozentsatz der jährlichen Zunahme der Inzucht (dF) wurde als 1/(2*Ne) berechnet.

Um die genetische Struktur der Population zu bewerten, verwendeten wir STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) und DAPC (Jombart et al., 2010). STRUCTURE verwendet eine Bayes'sche modellbasierte Clustering-Methode mit einem heuristischen Ansatz zur Schätzung der Anzahl der Cluster (K). Die STRUCTURE-Analyse wurde mit K=1 bis 15 Clustern unter der Annahme von Vermischung und korrelierten Allelfrequenzen durchgeführt. Für jedes K wurden 10 unabhängige Läufe mit 100.000 Burn-in und 200.000 MCMC-Iterationen durchgeführt. Die optimale Anzahl von K wurde nach der Methode von Evanno et al. (2005) unter Verwendung der Software STRUCTURE harvester (Earl und van Holdt, 2012) bestimmt. Die Likelihoods der Clustermitgliedschaften wurden mit dem Online-Programm Clumpak (Kopelman et al., 2015) über die zehn Läufe gemittelt. Der von STRUCTURE harvester ermittelte wahrscheinlichste K-Wert wurde nur als grobes Maß zur Beschreibung des Niveaus der genetischen Strukturmuster anerkannt. Um zugrunde

liegende verschachtelte Cluster zu identifizieren, wurde eine hierarchische STRUCTURE-Analyse durchgeführt (Pritchard und Wen, 2003; Edelhoff et al., 2020), indem die Cluster der vorangegangenen Läufe als Eingabe verwendet und der ‚Locprior' als Stichprobenort festgelegt wurde. Nachfolgende Analysen wurden nur auf den Clustern durchgeführt, die im vorherigen Lauf identifiziert wurden. Dieser Ansatz wurde so lange wiederholt, bis es keine weitere Differenzierung mehr gab.

Die Populationsstruktur wurde zusätzlich mit dem Clustering-Verfahren der Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) bewertet, das im R-Paket adegenet v2.0.1 implementiert ist (Jombart 2008; für ein Tutorial siehe http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-dapc.pdf). In einem ersten Schritt wurde eine Partitionierungsanalyse mit K = 2 bis 20 durchgeführt, um die optimale Anzahl von Clustern zu ermitteln. Unter der Annahme eines Inselmodells wurde die Verbesserung der Anpassung durch den BIC-Wert (Bayesian Information Criterion) überwacht, der bis zum Erreichen des optimalen K abnimmt. Die Ergebnisse der K-means-Prozedur wurden als Eingabedaten für DAPC verwendet. Die Anzahl der erhaltenen Hauptkomponenten wurde mit der Kreuzvalidierungsfunktion xvalDapc validiert. Die Häufigkeiten der Individuen, die zu den verschiedenen Clustern gehören, wurden für jede AMU ermittelt und als Tortendiagramm dargestellt. Der Übersichtlichkeit halber wurden die DAPC-Cluster in drei Karten dargestellt, wobei Cluster mit regionaler Verbreitung, räumlich begrenztem Vorkommen und überregionaler Verbreitung hervorgehoben wurden.

Um einen umfassenden Überblick über die genetische Ähnlichkeit zwischen benachbarten Rotwildgebieten zu geben, wurden die Ergebnisse der DAPC in Prozentwerte umgewandelt, die die Wahrscheinlichkeit ausdrücken, dass Individuen aus zwei Rotwildgebieten zum selben DAPC-Cluster gehören. Die genetischen Ähnlichkeiten wurden standardisiert, indem die beiden Rotwildgebiete mit der höchsten genetischen Ähnlichkeit auf 100 % gesetzt wurden. Diese Metrik wurde als relative genetische Ähnlichkeit bezeichnet und wurde für alle Paare von Rotwildgebieten berechnet.

Unterkieferverkürzung

Unterkieferverkürzungen wurden nicht systematisch gesucht. Die vier Fälle wurden von Jagdausübungsberechtigten gemeldet und fotografiert. Einschnitte im Gaumen zeigten sich jeweils deutlich hinter der physiologischen Position. Auch Knochenpräprate wurden angefertigt.

Ergebnisse

Details zu den einzelnen Markern, Nullallele, private Allele etc. finden sich bei Reiner et al. (2021). Die populationsgenetischen Parameter der Rotwildgebiete sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die mittlere Anzahl der Allele (7,25±0,73) variierte zwischen 5,7 (Platte [PL]) und 8,9 (Reinhardswald [RW]). Der Allelreichtum (Ar) war am höchsten für den Spessart (SP) (Ar=7,5) und am niedrigsten für die Platte (Ar=5,3). Die beobachtete Heterozygosität (Ho) variierte zwischen 0,61 und 0,7. Fis-Werte reichten von -0,007 (Hinterlandswald [HW]) bis 0,076 (Gieseler Forst [GF]). Fis-Werte, die sich signifikant von Null unterscheiden, wurden für die Gebiete Gieseler Forst, Taunus, Knüll, Rothaargebirge, Reinhardswald und Spessart festgestellt.

Sechs der Rotwildgebiete (GF, HV, KF, NV, PL und WW) hatten eine effektive Populationsgröße (Ne) unter 50 und einen jährlichen Anstieg der Inzucht von mehr als 1 % (Tab. 3). Der jährliche Anstieg der Inzucht war bei WW, NV, KF und GF mit einem mittleren jährlichen Inzuchtzuwachs von 1,61 %, 1,35 %, 1,14 % bzw. 1,10 % am stärksten ausgeprägt. Die mit dem Ne-Schätzer berechnete effektive Populationsgröße und die jährliche Zunahme der Inzucht stimmen gut mit den aus den demografischen Daten geschätzten Werten überein (Tabelle 4). Selbst bei einer angenommenen Fehlerquote von 10 bis 20 % des geschätzten Nm/Nf-Verhältnisses liegen die meisten demografisch abgeleiteten effektiven Populationsgrößen innerhalb des 95 %-Konfidenz-Intervalls der genetisch abgeleiteten effektiven Populationsgrößen. Für den Spessart wurde die höchste Ne und damit die geringste jährliche Zunahme der Inzucht festgestellt. Eine jährliche Inzuchtzunahme von mehr als 1 % wurde für WW (1,91 %), NV (1,30 %), PL (1,28 %), HV (1,26 %) und KF (1,14 %) festge-

Tabelle 2 Populationsgenetische Parameter für die Rotwildgebiete.

Rotwildgebiet	Abkürzung	N	A	Ar	Ho	He	Fis	Fis_Min	Fis_Max
Burgwald-Kellerwald	BKW	56	7,8	7,3	0,70	0,70	0,007	-0,027	0,041
Dill-Bergland	DB	57	6,8	6,4	0,68	0,70	0,029	-0,007	0,061
Gieseler Forst	GF	53	6,6	6,4	0,61	0,66	0,076	0,032	0,122
Hoher Vogelsberg	HV	47	7,3	6,8	0,67	0,69	0,016	-0,033	0,069
Hinterlandswald	HW	68	7,0	6,3	0,65	0,64	-0,007	-0,035	0,021
Krofdorfer Forst	KF	59	6,6	6,2	0,64	0,67	0,048	-0,003	0,098
Knuell	KNU	56	7,6	7,0	0,66	0,68	0,044	0,001	0,089
Lahn-Bergland	LB	60	6,8	6,3	0,69	0,70	0,018	-0,025	0,061
Meissner-Kaufunger-Wald	MKW	78	6,9	6,3	0,65	0,68	0,032	-0,001	0,066
Noerdlicher Vogelsberg	NV	55	7,2	6,6	0,66	0,68	0,030	-0,008	0,077
Odenwald	OD	60	6,6	6,1	0,62	0,64	0,035	-0,007	0,078
Platte	PL	48	5,7	5,3	0,61	0,62	0,022	-0,032	0,080
Riedforst	RF	60	7,0	6,5	0,69	0,69	0,007	-0,026	0,041
Rothaargebirge	RG	54	8,0	7,4	0,67	0,70	0,036	0,001	0,070
Reinhardswald	RW	204	8,9	7,4	0,65	0,69	0,057	0,036	0,080
Spessart	SP	73	8,3	7,5	0,66	0,68	0,036	0,003	0,071
Seulingswald	SW	75	7,9	7,1	0,68	0,67	-0,002	-0,032	0,028
Taunus	TA	69	7,2	6,6	0,63	0,68	0,061	0,028	0,094
Wattenberg-Weidelsburg	WW	59	7,6	6,9	0,68	0,70	0,031	-0,006	0,070
	Mittelwert	67,9	7,3	6,7	0,66	0,68	0,030	-0,007	0,069
	SD	34,0	0,7	0,5	0,03	0,02	0,021	0,022	0,024
	Min	47	5,7	5,3	0,61	0,62	-0,007	-0,035	0,021
	Max	204	8,9	7,5	0,70	0,70	0,076	0,036	0,122

N: Probenzahl; A: Durchschnittliche Allelzahl; Ar: Allelic richness; Ho: beobachtete Heterozygotie; He: erwartete heterozygotie; Fis: Fixationsindex; Fis_Min:
Unteres (2.5 %) Konfidenzintervall für den Fixationsindex; Fis-Max: Oberes (97.5 %) Konfidenzintervall für den Fixationsindex.

Tabelle 3 Effektive Populationsgröße Ne (mit 95 % Konfidenzintervall in Klammern). Die wurden mit Ne estimator berechnet unter der Annahme verschiedener Allelfrequenzgrenzen. Ne mit den berechneten Perit-Werten (s. Material und Methoden) sind unterstrichen.

	N	Ne (9 5% KI) bei verschiedenen Allelfrequenzgrenzen				
		0.05	0.02	0.01	no S	dF
BKW	56	104 (74, 167)	170 (115, 305)	166 (116, 277)	166 (116, 277)	0.30
DB	57	76 (57, 107)	82 (64, 110)	88 (68, 120)	88 (68, 120)	0.57
GF	53	37 (31, 45)	42 (35, 51)	46 (38, 55)	46 (38, 55)	1.10
HV	47	73 (53, 107)	59 (48, 76)	39 (34, 47)	59 (48, 76)	0.84
HW	68	271 (149, 1034)	258 (157, 642)	198 (132, 367)	198 (132, 367)	0.25
KF	59	38 (32, 46)	40 (34, 47)	44 (37, 52)	44 (37, 52)	1.14
KNU	56	79 (60, 111)	80 (63, 107)	80 (64, 105)	80 (64, 105)	0.62
LB	60	73 (56, 100)	75 (60, 99)	85 (67, 114)	85 (67, 114)	0.59
MKW	78	146 (104, 232)	173 (123, 278)	162 (119, 244)	162 (119, 244)	0.31
NV	55	28 (24, 34)	29 (25, 34)	37 (32, 44)	37 (32, 44)	1.35
OD	60	66 (51, 90)	83 (64, 114)	96 (73, 134)	96 (73, 134)	0.52
PL	48	48 (36, 68)	57 (43, 80)	39 (31, 48)	57 (43, 80)	0.88
RF	60	344 (161, Inf)	153 (104, 270)	104 (79, 147)	104 (79, 147)	0.48
RG	54	80 (59, 116)	110 (82, 162)	131 (96, 199)	131 (96, 199)	0.38
RW	204	136 (116, 162)	155 (135, 179)	156 (138, 179)	177 (157, 202)	0.28
SP	73	202 (130, 409)	201 (144, 319)	182 (136, 266)	182 (136, 266)	0.28
SW	75	324 (172, 1644)	174 (128, 262)	220 (155, 363)	220 (155, 363)	0.23
TAU	69	235 (131, 793)	279 (164, 793)	219 (146, 409)	219 (146, 409)	0.23
WW	59	24 (21, 27)	29 (26, 33)	31 (28, 35)	31 (28, 35)	1.61

N: Anzahl Proben; no S: Anzahl tolerierter allele singletons: 0: alle Allele berücksichtigt; dF: jährlicher Inzuchtzuwachs berechnet aus der effektiven Populationsgröße (no S).

stellt. Keines der Rotwildgebiete hatte ein optimales Nm/Nf-Verhältnis von 0,5, bei dem Ne maximal ist. Die Verhältnisse reichten von 0,02 (HW) bis 0,29 (BKW).

Die hierarchische STRUCTURE-Analyse klassifizierte die 1291 Individuen auf einer ersten Ebene in vier Cluster (Abb. 2). Der Dirichlet-Parameter (α = 0,0531) deutet darauf hin, dass

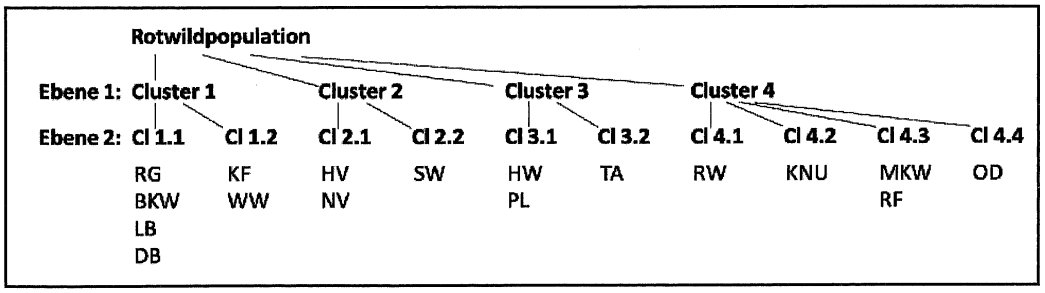

Abb. 2 Substrukturierung der hessischen Rotwildpopulationen mit STRUCTURE.

Tabelle 4 Effektive Populationsgröße Ne abgeleitet von den demographischen Daten. Ne Werte für jedes Rotwildgebiet geschätzt auf Basis des Verhältnisses aus der Anzahl männlicher und weiblicher Tiere, geschätzt durch zuständige Behörden und Rotwildhegegemeinschaften. Zusätzlich wurden Fehlerraten von bis zu ± 30 % einkalkuliert, um die Auswirkungen auf Ne darzustellen.

AMU	Nc	Nf	Nm	Nm/ Nf	Ne	dF	Ne for x * Nm/Nf (x = 0.7 to 1.3 in steps of 0.1)					
							0.7	0.8	0.9	1.1	1.2	1.3
BKW	850	240	70	0.29	177	0.28	139	153	165	188	198	207
DB	800	350	31	0.09	105	0.47	77	87	96	114	123	131
GF	800	300	15	0.05	55	0.92	39	44	50	59	64	69
HV	450	200	11	0.06	40	1.26	29	32	36	43	47	50
HW	2300	825	20	0.02	76	0.66	54	62	69	84	91	98
KF	200	100	14	0.14	44	1.14	33	37	40	47	50	53
KNU	1700	650	19	0.03	72	0.70	51	58	65	79	85	92
LB	450	227	28	0.12	90	0.56	67	75	82	97	104	110
MKW	1200	450	66	0.15	204	0.24	153	171	188	220	234	248
NV	200	95	12	0.13	38	1.30	29	32	35	41	44	47
OD	2100	788	34	0.04	125	0.40	90	102	114	137	148	159
PL	400	179	11	0.06	39	1.28	28	32	36	43	46	49
RF	2100	850	34	0.04	126	0.40	90	102	114	138	149	160
RG	1280	550	30	0.05	108	0.46	78	88	98	118	127	137
RW	1280	480	58	0.12	187	0.27	139	156	171	202	216	229
SP	2400	900	165	0.18	483	0.10	368	408	447	517	550	581
SW	1500	480	55	0.11	179	0.28	133	149	164	193	207	220
TAU	2200	825	66	0.08	228	0.22	166	187	208	247	266	284
WW	70	38	10	0.26	26	1.91	20	23	24	28	29	31

Nc: Geschätzte Populationsgröße; Nf: geschätzte Anzahl reproduktiver weiblicher Tiere; Nm: geschätzter Anteil reproduzierender männlicher Tiere; dF: prozentualer jährlicher Inzuchtzuwachs.

es eine nur eine begrenzte Vermischung gab. Auf einer zweiten Ebene wurden die vier vorherigen Cluster in 2, 2, 2 bzw. 4 weitere Cluster aufgeteilt. Die Informativität r des LOCPRIOR lag immer unter 1, was bedeutet, dass die Information des Probenahmeortes für die Zuordnung von Individuen zu Clustern nützlich war.

Beim DAPC-Clustering (K = 2-20) wurden die minimalen BIC-Werte bei K = 15 beobachtet. Daher wurde die DAPC-Analyse mit 15 Clustern und 80 erhaltenen Hauptkomponenten durchgeführt, die 91,6 % der genetischen Varianz erklären. Die DAPC-Cluster stimmten sehr gut mit den mit STRUCTURE ermittelten Clustern überein. Die zusätzlichen fünf Cluster enthüllten jedoch noch mehr Details der zugrundeliegenden Populationsstruktur. Abbildung 3 zeigt die Verteilung der Gencluster, die die hessischen Rotwildgebiete in vier Regionen unterteilen.

Die Mehrheit der Individuen des südöstlichen Teils des Bundeslandes, der die benachbarten Gebiete Taunus, Platte und Hinterlandswald umfasst, wurde dem Cluster 1 zugeordnet. Hoher Vogelsberg (Cluster 11), Nördlicher Vogelsberg (Cluster 4 und 11), Spessart (Cluster 4 und 11), Seulingswald (Cluster 4) und Gieseler Forst (Cluster 4 und 11) im Südosten umfassten Individuen mit ähnlichen genetischen Eigenschaften. In den nordwestlichen Gebieten waren

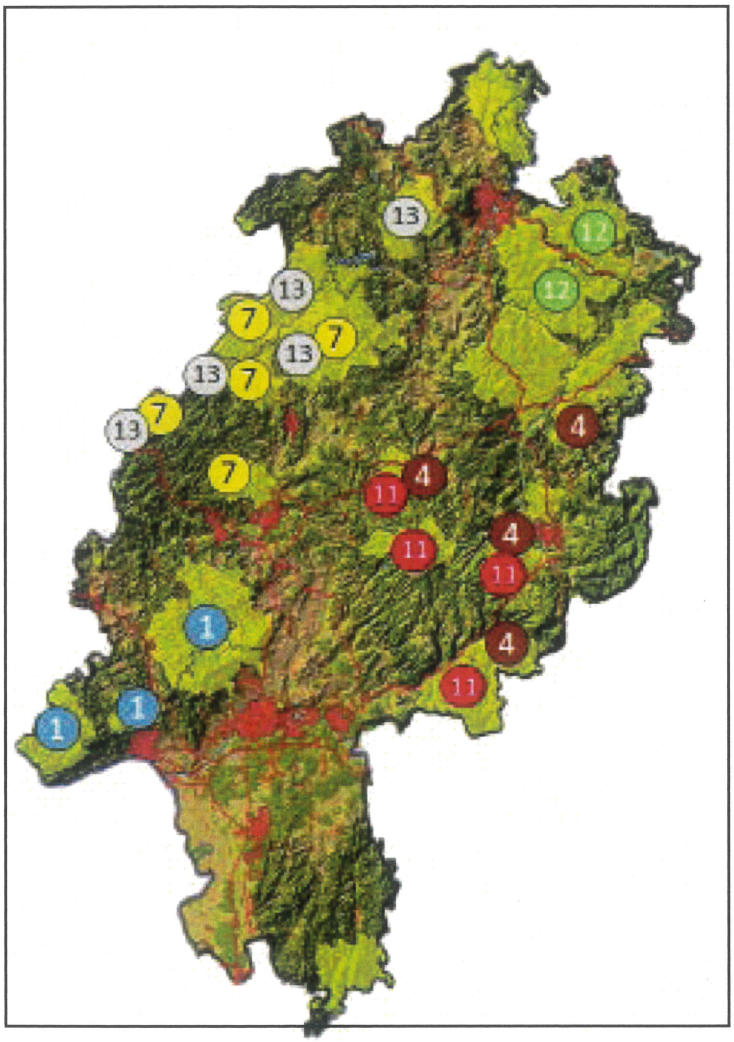

Abb. 3 Die Massengenotypen, denen die meisten Tiere angehören zeigen eine enge räumliche Verteilungsbegrenzung.

die Cluster 7 (Rothaargebirge, Dill-Bergland und Lahn-Bergland) und 13 (Rothaargebirge, Dill-Bergland, Lahn-Bergland, Burgwald-Kellerwald und Wattenberg-Weidelsburg) vorherrschend. Ein kleiner Teil der Tiere aus dem benachbarten Krofdorfer Forst war auch Cluster 7 zugeordnet. Cluster 12 kam nur im Nordosten vor, mit den eng benachbarten Gebieten Riedforst und Meißner-Kaufunger-Wald.

Die Cluster 3 und 5 zeigen eine besonders auffällige überregionale Verteilung (Abb. 4). Sie waren in allen Rotwildgebieten entweder einzeln oder in Kombination vorhanden. Cluster 3 war im Seulingswald vorherrschend, ebenso wie Cluster 5 im Spessart.

Das geographisch begrenzte Vorkommen der Cluster ist in Abb. 5 dargestellt. Die Gencluster 2, 6, 8–10, 14 und 15 traten im Wesentlichen nur in einem oder zwei Rotwildgebieten auf. Cluster 2 enthielt überwiegend Individuen aus dem Knüll, während Tiere aus dem Odenwald fast ausschließlich in Cluster 9 eingeordnet wurden. Die Cluster 8 und 14 wurden bevorzugt im Reinhardswald und Cluster 10 im Lahn-Bergland gefunden.

Als einfache und verständliche Möglichkeit, Rotwildgebiete untereinander zu vergleichen, wird in Abb. 6 die relative genetische Ähnlichkeit zwischen benachbarten Gebieten dargestellt, basierend auf der Wahrscheinlichkeit,

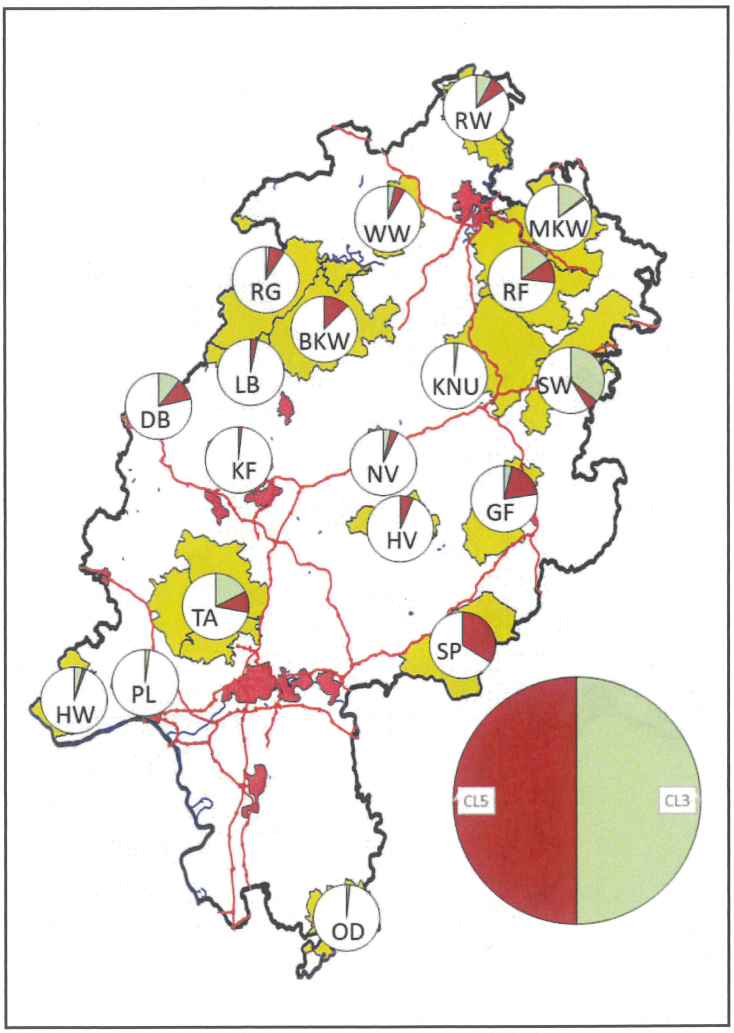

Abb. 4 Seltene Genotypen (Cluster 3 und 5) zeigen sich über ganz Hessen verteilt. Dies ist ein Ausdruck historischer Vernetzung.

dass Individuen aus zwei Regionen zu den gleichen DAPC-Clustern gehören, d.h. dieselbe genetische Charakteristik aufweisen. Die maximale Ähnlichkeit wurde beim Vergleich von Hinterlandswald und Platte erreicht. Daher wurde dieser Vergleich auf 100 % gesetzt. Eine vergleichbar hohe Übereinstimmung wurde für die benachbarten Gebiete Hoher Vogelsberg/ Nördlicher Vogelsberg, Hoher Vogelsberg/ Gieseler Forst und Meißner-Kaufunger-Wald/ Riedforst gefunden (dunkel- und hellblaue Kreise mit Ähnlichkeiten über 60 %). Die massivsten Barrieren für das Rotwild im Land sind durch die roten Kreise dargestellt. Hier lag der Grad der Übereinstimmung zwischen benachbarten Gebieten bei bis zu 15% des Maximalwertes. Sie verlaufen wie rote Linien von Nordosten nach Südwesten und von Südosten nach Nordwesten und trennen Regionen mit mehreren Rotwildgebieten. Odenwald, Reinhardswald und Knuell waren deutlich von allen übrigen Rotwildgebieten getrennt.

BKW: Burgwald Kellerwald; DB: Dill-Bergland; GF: Gieseler Forst; HV: Hoher Vogelsberg; HW: Hinterlandswald; KF: Krofdorfer Forst; KNU: Knüll; LB: Lahn-Bergland; MKW: Meissner-Kaufunger Wald; NV: Nördlicher Vogelsberg; OD: Odenwald; PL: Platte;

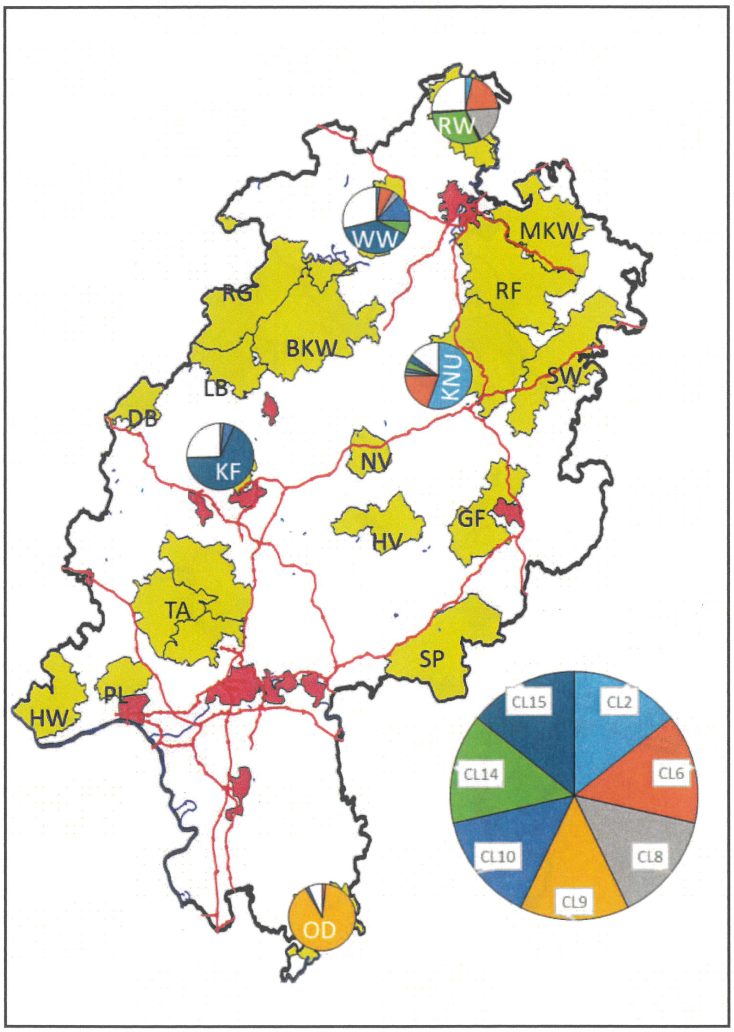

Abb. 5 Verteilung der isolierten Genotypen. So sind der Odenwald durch Cluster 9, der Reinhardswald durch Cluster 14, der Knüll durch Cluster 2 sowie KF und WW durch Cluster 15 gekennzeichnet, die in den übrigen Rotwildgebieten nur vereinzelt angetroffen werden.

RF: Riedforst; RG: Rothhaargebirge; RW: Reinhardswald; SP: Spessart; SW: Seulingswald; TA: Taunus; WW: Wattenberg-Weidelsburg
Grau unterlegt: Fst<0.05; Werte über 0.05 kennzeichnen significant substrukturierte Populationen (Hartl and Clark, 1999);
BKW: Burgwald-Kellerwald; DB: Dill-Bergland; GF: Gieseler Forst; HV: Hoher Vogelsberg; HW: Hinterlandswald; KF: Krofdorfer Forst; KNU: Knüll; LB: Lahn-Bergland; MKW: Meissner-Kaufunger-Wald; NV: Nördlicher Vogelsberg; OD: Odenwald; PL: Platte; RF: Riedforst; RG: Rothaargebirge; RW: Reinhardswald; SP: Spessart; SW: Seulingswald; TA: Taunus; WW: Wattenberg-Weidelsburg.

Der Odenwald wies den mit Abstand höchsten Isolationsgrad auf. Selbst zwischen den Gebieten mit höheren Ähnlichkeitsgraden gab es noch deutliche Unterschiede, wie die orangefarbenen (Ähnlichkeit zwischen 15 und 30 %) und hellgrünen Kreise (Ähnlichkeit zwischen 30 und 45 %) zeigen. Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Ergebnissen der hierarchischen STRUCTURE-Analyse überein, helfen aber gleichzeitig, die qualitative Einordnung der Gebiete zu quantifizieren. Tabelle 5 zeigt die entsprechende relative genetische Ähnlichkeit zwischen allen hessischen Rotwildgebieten. Die Korrelation zwischen Fst und relativer genetischer Ähnlichkeit (Pearson's r) betrug 0,691.

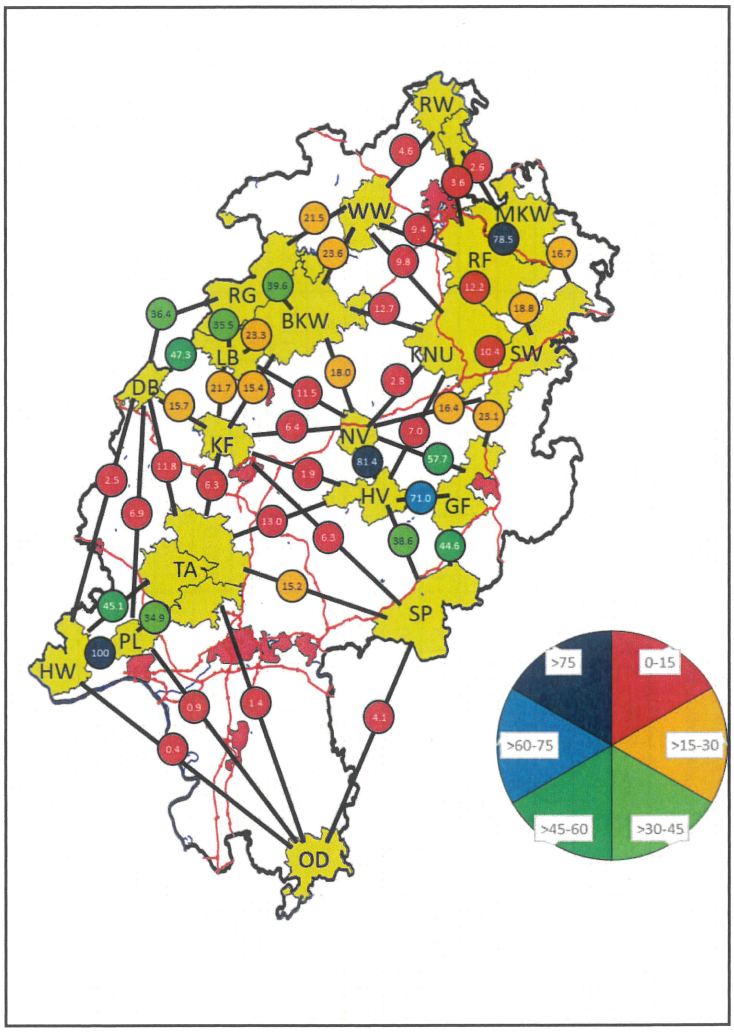

Abb. 6 Die genetische Übereinstimmung zwischen benachbarten Rotwildgebieten zur Quantifizierung der Barrierewirkungen. Die größten Barrieren liegen in den Bereichen der roten Kreise, gefolgt von den orangenen. Für die grünen und blauen Bereiche konnten noch bestehende genetische Konnektivität festgestellt werden.

Tabelle 5 Relative genetische Ähnlichkeit zwischen Rotwildgebieten. Die höchste Ähnlichkeit (zwischen HW und PL) wurde auf 100 % gesetzt. Alle Zahlen sind relative Ähnlichkeiten und beziehen sich auf diese 100 %.

	BKW	DB	GF	HV	HW	KF	KNU	LB	MKW	NV	OD	PL	RF	RG	RW	SP	SW	TA
DB	29.9																	
GF	11.4	10.5																
HV	9.4	7.0	71.0															
HW	8.2	2.5	7.7	1.4														
KF	15.4	15.7	4.5	1.9	6.4													
KNU	12.7	5.7	2.8	7.0	13.3	6.4												
LB	23.3	47.3	7.1	11.5	2.0	21.7	3.1											
MKW	4.1	5.7	4.5	1.4	8.7	1.1	11.7	2.5										
NV	18.0	12.2	57.7	81.4	1.4	6.4	2.8	11.5	3.8									
OD	2.2	1.4	1.3	0.6	0.4	0.5	1.2	1.6	3.5	1.4								
PL	18.0	6.9	12.0	8.9	100.0	12.0	21.0	3.8	3.8	9.9	0.9							
RF	6.0	7.6	11.8	8.4	11.5	6.6	12.2	4.1	78.5	8.0	2.8	7.2						
RG	39.6	36.4	11.6	10.6	1.5	18.3	8.7	35.5	3.8	16.8	5.6	10.5	5.1					
RW	4.3	3.3	1.9	1.3	2.1	1.0	5.8	1.5	2.6	2.3	0.8	2.5	3.6	4.2				
SP	14.6	12.4	44.6	38.6	2.7	6.3	12.8	8.0	5.7	32.0	4.1	6.5	15.2	11.6	4.6			
SW	8.1	14.6	23.1	9.5	16.9	10.7	10.4	7.7	16.7	16.4	2.6	14.6	18.8	8.4	4.1	17.5		
TA	10.4	11.8	16.3	13.0	45.1	6.3	16.7	7.4	12.5	11.8	1.4	34.9	16.1	9.2	5.9	15.2	23.7	
WW	23.6	15.6	3.2	4.6	2.4	63.6	9.8	19.9	6.0	8.6	1.5	8.5	9.4	21.5	4.6	8.0	10.6	8.6

BKW: Burgwald Kellerwald; DB: Dill-Bergland; GF: Gieseler Forst; HV: Hoher Vogelsberg; HW: Hinterlandswald; KF: Krofdorfer Forst; KNU: Knüll; LB: Lahn-Bergland; MKW: Meissner-Kaufunger Wald; NV: Nördlicher Vogelsberg; OD: Odenwald; PL: Platte; RF: Riedforst; RG: Rothhaargebirge; RW: Reinhardswald; SP: Spessart; SW: Seulingswald; TA: Taunus; WW: Wattenberg-Weidelsburg

Tab. 6 Paarweise Fst-Statistiken (unter der Diagonalen) und Jost's D (über der Diagonalen) für alle Rotwildgebiete

	BKW	DB	GF	TA	HV	HW	KF	KNU	LB	MKW
BKW		0.072	0.123	0.102	0.125	0.139	0.125	0.107	0.064	0.170
DB	0.039		0.063	0.055	0.070	0.075	0.047	0.072	0.026	0.079
GF	0.066	0.064		0.058	0.036	0.067	0.062	0.078	0.071	0.092
TA	0.057	0.056	0.059		0.061	0.039	0.084	0.073	0.059	0.068
HV	0.058	0.070	0.036	0.062		0.086	0.085	0.082	0.068	0.096
HW	0.067	0.075	0.068	0.039	0.086		0.077	0.062	0.072	0.079
KF	0.065	0.047	0.063	0.085	0.085	0.077		0.076	0.058	0.089
KNU	0.049	0.074	0.081	0.077	0.084	0.065	0.078		0.074	0.095
LB	0.032	0.026	0.071	0.060	0.068	0.072	0.058	0.076		0.078
MKW	0.078	0.079	0.093	0.068	0.097	0.079	0.089	0.098	0.079	
NV	0.061	0.065	0.040	0.062	0.021	0.073	0.075	0.079	0.053	0.083
OD	0.092	0.101	0.113	0.089	0.107	0.104	0.122	0.108	0.105	0.097
PL	0.081	0.082	0.081	0.052	0.100	0.038	0.087	0.085	0.084	0.095
RF	0.065	0.066	0.063	0.053	0.068	0.055	0.067	0.067	0.066	0.027
RG	0.016	0.026	0.053	0.046	0.057	0.052	0.052	0.053	0.026	0.076
RW	0.047	0.069	0.060	0.045	0.059	0.055	0.080	0.052	0.069	0.063
SP	0.059	0.061	0.047	0.050	0.046	0.072	0.065	0.072	0.066	0.075
SW	0.069	0.062	0.059	0.050	0.072	0.055	0.072	0.072	0.072	0.063
WW	0.039	0.049	0.083	0.067	0.072	0.075	0.049	0.056	0.045	0.085

	NV	OD	PL	RF	RG	RW	SP	SW
BKW	0.115	0.211	0.152	0.128	0.027	0.100	0.123	0.153
DB	0.065	0.101	0.081	0.065	0.026	0.068	0.061	0.062
GF	0.040	0.112	0.081	0.062	0.053	0.060	0.047	0.059
TA	0.061	0.088	0.052	0.051	0.045	0.045	0.050	0.049
HV	0.021	0.107	0.100	0.067	0.057	0.058	0.045	0.072
HW	0.073	0.103	0.038	0.055	0.052	0.055	0.071	0.054
KF	0.075	0.122	0.088	0.066	0.051	0.080	0.065	0.072
KNU	0.077	0.106	0.083	0.063	0.050	0.050	0.069	0.070
LB	0.053	0.105	0.084	0.065	0.024	0.068	0.066	0.071
MKW	0.083	0.097	0.095	0.026	0.075	0.063	0.074	0.063
NV		0.097	0.087	0.065	0.052	0.059	0.052	0.070
OD	0.097		0.129	0.091	0.091	0.075	0.073	0.109
PL	0.088	0.129		0.083	0.064	0.078	0.095	0.071
RF	0.066	0.093	0.084		0.057	0.052	0.053	0.053
RG	0.053	0.089	0.065	0.059		0.048	0.055	0.059
RW	0.059	0.075	0.078	0.053	0.048		0.044	0.055
SP	0.052	0.073	0.095	0.054	0.055	0.044		0.058
SW	0.071	0.109	0.071	0.054	0.060	0.056	0.058	
WW	0.063	0.094	0.089	0.073	0.031	0.055	0.066	0.059

Es gab auch eine gute Übereinstimmung zwischen den paarweisen Fst- und Jost's D-Werten (r = 0,930; Tabelle 6). Fst- und Jost's D-Werte waren normal verteilt mit einem Mittelwert von 0,067 ± 0,020 (Standardfehler) bzw. 0,130 ± 0,040. Der paarweise Vergleich BKW/RG hatte die niedrigsten Werte (Fst: 0,015; Jost's D: 0,027) und damit die höchste Übereinstimmung. Maximale Werte, also stärkste Differenzierung wurden für die paarweisen Vergleiche OD/KF (Fst: 0,122; Jost's D: 0,241) und OD/PL (Fst: 0,129; Jost's D: 0,238) gefunden. Allerdings zeigten sich die genetischen Ähnlichkeiten zwischen den nordwestlichen Gebieten Burgwald-Kellerwald, Rothaargebirge, Lahn- und Dill-Bergland niedriger und die zwischen den westlichen Gebieten Hinterlandswald und Platte etwas deutlicher mit DAPC als auf Basis der Fst-/Jost's D-Werte.

Eine Zusammenfassende Betrachtung der Interaktion zwischen den hessischen Rotwildgebieten, basierend auf der genetischen Konnektivität ergibt sich aus Abb. 7.

Seit Dezember 2018 wurden in den hessischen Rotwildgebieten insgesamt 4 Tiere mit Unterkieferverkürzung gemeldet (Abb. 8). Die Betroffenen wiesen relativ zur Gesamtpopulation ausgesprochen hohe Homozygotiegrade auf (Abb. 9). Tiere mit ähnlich hohen Homozygotiegraden traten in allen Rotwildgebieten auf, abgesehen vom Hinterlandswald (Abb. 10). Davon waren mit über 10 % der jeweiligen Populationen insbesondere die kleineren Gebiete Knüll, Gieseler Forst, Krofdorfer Forst und Platte betroffen. Allerdings traten in allen Populationen auch hohe Anteile an Tieren mit geringem Homozygotiegrad auf. Mögliche Konsequenzen für die Vitalität des hessischen Rotwildes ergeben sich aus Abb. 11.

Diskussion

Begrenzter Genfluss erhöht die genetische Drift und damit das Risiko, genetische Vielfalt zu verlieren (Wang und Schreiber 2001; Hartl et al., 2003; 2004; Pérez-Espona et al., 2008; Frantz et al., 2012; Kropil et al., 2015; Edelhoff et al., 2020). Langfristig könnte dies zu steigenden Inzuchtgraden (Frankham 2008; Stopher et al., 2012; Mukesh et al., 2013) und Inzuchtdepressionen (Slate et al., 2002; Walling et al., 2011) führen. Unter den isolierten hessischen Rotwildgebieten sind diejenigen mit kleineren Populationsgrößen besonders anfällig (Whitlock 2000; Frankham et al., 2014).

Dies konnte in der aktuellen Studie für die kleineren hessischen Rotwildgebiete Wattenberg-Weidelsburg, Nördlicher Vogelsberg, Krofdorfer Forst und Gieseler Forst mit einer jährlichen Zunahme der Inzucht von 1,14 bis 1,61 % nachgewiesen werden. Dagegen wurde für die größeren Gebiete Spessart, Taunus, Reinhardswald, Meißner-Kaufunger Wald, Seulingswald, Hinterlandswald und Burgwald-Kellerwald nur ein moderater jährlicher Inzuchtzuwachs von 0,23 bis 0,31 % berechnet. Zehn der neunzehn Gebiete hatten eine Ne unter 100 und weitere zwei Gebiete lagen nur knapp über dieser Schwelle, unter der ein Rückgang der Fitness kurzfristig nicht aufgehalten werden kann (Frankham et al., 2014). Allerdings sind Ne von 500 bis 1000 erforderlich, um das evolutionäre Potenzial und ein langfristiges Anpassungspotenzial zu erhalten (Frankham 1995, Franklin und Frankham, 1998). Diese Werte wurden von keinem der untersuchten Gebiete erreicht, selbst wenn Teilpopulationen mit einem noch vorhandenen genetischen Austausch zusammengefasst wurden. Rotwild ist polygyn und zeigt in der Regel ein Harems-Paarungssystem. Allerdings wurden die Ne-Werte mit dem Ne-Schätzer unter der Annahme eines zufälligen Paarungssystems berechnet, was für Rotwild nicht zutrifft. Infolgedessen werden Ne-Werte, die unter der Schätzung eines zufälligen Paarungssystems berechnet wurden, tendenziell überschätzt (Wang, 2016). Dies macht das oben beschriebene Szenario in Bezug auf die jährlich erwartete Zunahme der Inzucht noch bedenklicher.

Wir verwendeten zwei Ansätze, einen Bayes-basierten Ansatz, der im Softwarepaket STRUCTURE implementiert ist, und die Diskriminanzanalyse von Hauptkomponenten (DAPC), um auf die Populationsstruktur der hessischen Rotwildpopulation zu schließen. Im Gegensatz zu STRUCTURE hängt DAPC nicht von Annahmen über das zugrundeliegende populationsgenetische Modell ab. Nach DAPC wurden die Individuen der 19 hessischen Rotwildgebiete in 15 genetische Cluster eingeteilt. Einige Cluster traten hauptsächlich oder fast

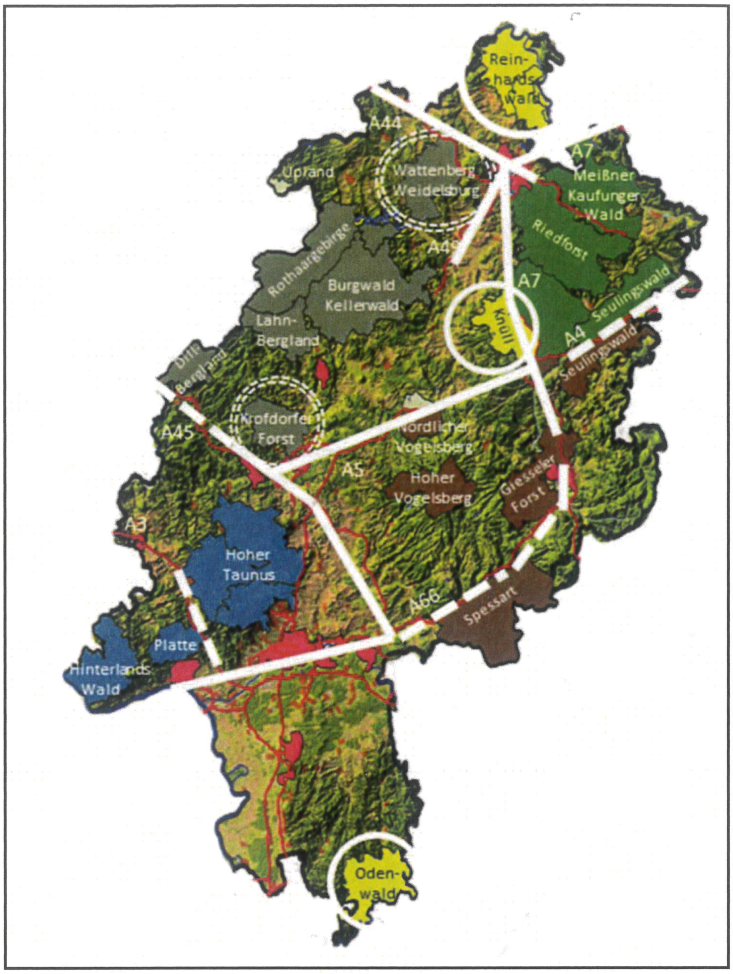

Abb. 7 Gesamtergebnis für Hessen. Es ergeben sich vier größere Gebiete mit noch zusammenhängenden Rotwildgebieten im Südwesten (blau), im Nordwesten (graugrün), im Nordosten (dunkelgrün) und im Südosten (braun). Diese Gebiete sind strikt voneinander isoliert. Die weißen Linien zeigen absolute Barrieren, meist im Bereich eingezäunter Autobahnen. Die gestrichelten weißen Linien zeigen Autobahnen mit Wildbrücken und einer bestehenden Konnektivität. Durchgezogene Kreise verweisen auf die absolut isolierten Gebiete Odenwald, Knüll und Reinhardswald. Die gestrichelten Kreise zeigen eine starke Isolation mit Restkonnektivität der Gebiete Krofdorfer Forst und Wattenberg-Wiedelsburg.

Abb. 8 Die erste Unterkieferverkürzung trat im Dezember 2018 im Rotwildgebiet Wattenberg-Weidelsburg auf (Foto: Arnold Weiß).

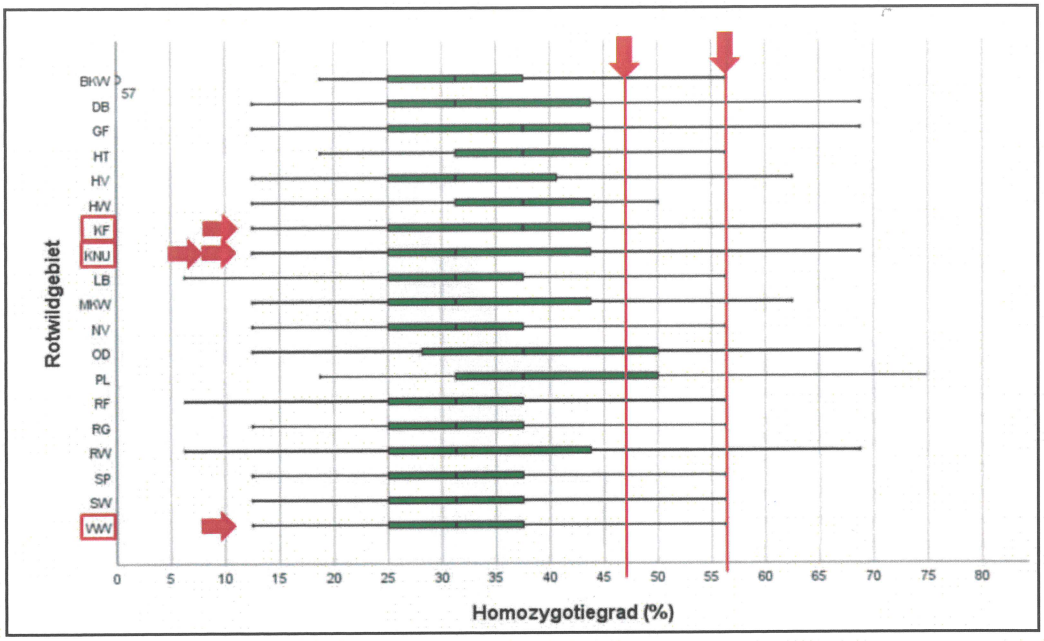

Abb. 9 Tiere mit Unterkieferverkürzung traten inzwischen in Wattenberg-Weidelsburg, zweimal im Knüll und einmal im Krofdorfer Forst auf. Die Abbildung zeigt die Verteilung der Homozygotiegrade in den Rotwildgebieten (grüne Balken = 50 % der Tiere, feine schwarzen Linien: 95 % der Tiere) und die Werte der betroffenen Tiere (47 % und 56 %, senkrechte rote Linien).

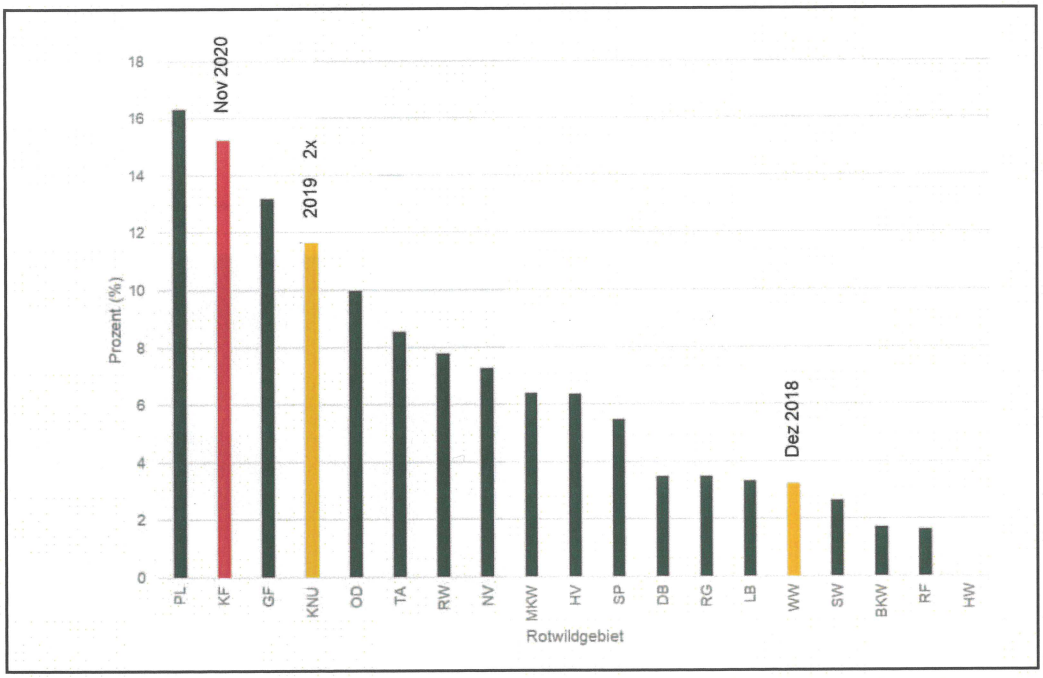

Abb. 10 Anteil Tiere mit besonders hohen Homozygotiegraden (mindestens 56 %) in den Rotwildgebieten und Auftreten von Inzuchtdepressionen (Unterkieferverkürzungen; Jahr).

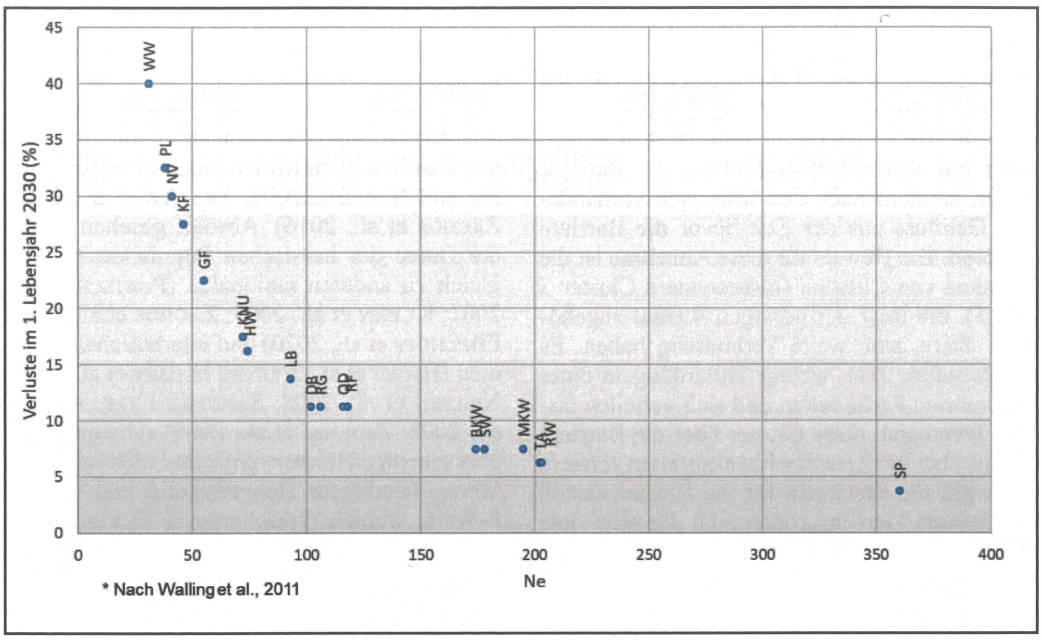

Abb. 11 Hochrechnung der erwarteten zusätzlichen Kälberverluste im Jahr 2030 (nach WALLING *et al., 2011). Die Ergebnisse basieren auf den aktuellen Inzuchtzuwächsen unter der Annahme, dass sich die genetische Konnektivität zwischen den Gebieten nicht verbessert.*

ausschließlich in einzelnen Gebieten auf. Das Paradebeispiel hierfür ist Cluster 9, dem 90 % der Individuen des Odenwaldes, aber nur wenige Tiere aus anderen Gebieten angehören. Neben dem Odenwald wurden isolierte Cluster auch im Reinhardswald (Cluster 6 und 14), Knüll (Cluster 2), Krofdorfer Forst (Cluster 15) und Wattenberg-Weidelsburg (Cluster 10 und 15) gefunden. Andere Gencluster traten räumlich begrenzt in zwei oder mehr benachbarten Gebieten auf, schlossen aber nur wenige Tiere aus weiter entfernten Gebieten ein, insbesondere, wenn beide durch eine eingezäunte Autobahn oder besiedelte Flächen getrennt waren. Während die STRUCTURE-Analyse nur vier Cluster auf einer ersten Ebene ermittelte, wurden bei der hierarchischen STRUCTURE-Analyse 10 Cluster auf einer zweiten Ebene entdeckt, die die Ergebnisse der DAPC bestätigen. Da der Dirichlet-Parameter α viel kleiner als 1 war ($\alpha = 0{,}0531$), verschiebt sich das angenommene Modell «Vermischung» zu dem einfacheren Modell «keine Vermischung». Damit bestätigt sich, dass die hessischen Rotwildgebiete bis auf wenige Ausnahmen verschiedenen Subpopulationen angehören. Anhand anderer Studien kann angenommen werden, dass ein Teil der Barriereeffekte auf die weitgehend eingezäunten Autobahnen zurückzuführen ist (z. B. WANG und SCHREIBER 2001; HARTL et al., 2003; FRANTZ et al., 2012; KROPIL et al., 2015). Aufgrund der Stichprobendichte der vorliegenden Studie war es jedoch nicht möglich, die Effekte der Autobahnen von den Effekten anderer Landschaftselemente, wie z. B. weite intensive landwirtschaftliche oder urbane Flächen, die vom Rotwild nicht überwunden werden können, zu trennen. Die Autobahnen des Untersuchungsgebietes sind seit vielen Jahren zur Vermeidung von Wildunfällen eingezäunt. Dadurch werden alte Fernwanderwege des Rotwildes unterbrochen (HERZOG et al., 2020). Trennende Effekte wurden auch in Regionen ohne Autobahnen festgestellt, z. B. in einem Halbkreis, der den KF von den Gebieten im Norden trennt (DB, LB, BKW). In dieser Region gibt es weder eingezäunte Straßen, noch große Siedlungen oder große Ackerflächen, die als Landschaftsbarrieren fungieren könnten. Vielmehr dürfte hier die Bejagung des Rotwildes in den rotwildfreien

Gebieten die Hauptbarriere für den genetischen Austausch darstellen.

Gemeinsame Allele zwischen Gebieten, die durch eine eingezäunte Autobahn oder andere wirksame Barrieren getrennt sind, spiegeln nicht nur den aktuellen Einfluss der Barriere wider, sondern auch den historisch vorhandenen Genfluss aus der Zeit bevor die Barriere entstand. Ein Beweis für diese Annahme ist die Existenz von Clustern (insbesondere Cluster 3 und 5), die trotz der geringen Anzahl zugehöriger Tiere, eine weite Verbreitung haben. Es ist als würde man wenige Billardkugeln einer bestimmten Farbe fallen und sich verteilen lassen. Wenn sich diese Cluster über die Barriere hinaus über ganz Hessen hin ausbreiten können, dann gilt das erst recht für die Cluster, denen die meisten Tiere angehören, d.h. für sehr viele Billardkugeln einer anderen Farbe. Doch gerade die Cluster, denen die meisten Tiere angehören, zeigen eine deutliche räumliche Einschränkung. Logischer Weise kann damit die Ausbreitung der Cluster 3 und 5 nicht mit einer guten Beweglichkeit ihrer Träger erklärt werden, sondern sie ist als historisches Hintergrundrauschen aufzufassen. Leider lassen sich aktuelle und historische Effekte der Genverteilung nicht scharf voneinander trennen. Es wird jedoch klar, dass die wahren Ähnlichkeiten zwischen zwei Gebieten aufgrund dieses historischen Effekts sicher überschätzt wurden und damit der tatsächlich bestehende genetische Austausch geringer ist, als anhand der vorliegenden Ergebnisse ausweisbar.

Alle Methoden, die zur Aufdeckung der Populationsstruktur angewandt wurden (STRUCTURE, DAPC, Fst/Jost›s D), fassten die hessischen Rotwildgebiete in vier Regionen zusammen, die noch im genetischen Austausch stehen, sowie in eine Reihe von mehr oder weniger isolierten Gebieten. Bei dem Versuch, diese qualitativ einzuordnen, ergeben sich geringe Unterschiede. Eine absolute Aussage zu Barriereeffekten ist nicht möglich, da im Einzelfall nie ganz ausgeschlossen werden kann, dass eine Barriere überwunden werden kann. Selbst die Möglichkeit der Verbringung von Tieren ist gegeben und wurde anekdotisch berichtet (Frantz et al., 2006). Aber auch ohne die Möglichkeit absoluter qualitativer Aussagen erlauben die quantitativen Ergebnisse die Lokalisierung der Regionen mit dem geringsten Genfluss zwischen den hessischen Rotwildgebieten.

Die Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Studien, die Autobahnen als Hindernisse für den Genfluss beim Rotwild identifizierten (Kinser und Herzog, 2008; Frantz et al., 2012; Zachos et al., 2016). Absolut gesehen zeigen die Daten der hessischen Population im Vergleich zu anderen nationalen (Poetsch et al., 2001; Kuehn et al., 2003; Zachos et al., 2007; Edelhoff et al., 2020) und internationalen Studien (Hmwe et al., 2006ab; Nussey et al., 2007; Nielsen et al., 2008; Sanchez-Fernandez et al., 2008; Zsolnai et al., 2009) scheinbar eine eher günstige Heterozygotie und niedrigere Fis-Werte. Niedrigste Heterozygotie und höchste F-Werte werden typischerweise in kleinen Inselpopulationen und Populationen mit längerer Isolationsgeschichte und geringen Populationsgrößen gefunden (Hmwe et al., 2006ab, Haji et al., 2008, Zachos und Hartl, 2011; Zachos et al., 2016; Edelhoff et al., 2020). Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass beide Maße entscheidend von den verwendeten Markern, deren Anzahl und der Stichprobengröße beeinflusst werden (Reiner und Willems 2019). In der vorliegenden Studie wurden mehr Individuen (Median: 59 pro Gebiet; 16 Mikrosatelliten) beprobt als in ähnlichen Studien (Median von 25 Individuen und 11 Mikrosatellitenmarkern; Reiner und Willems, 2019). Infolgedessen werden mehr seltene Allele entdeckt, was die Heterozygotie erhöht und den Fis-Wert senkt. Umgekehrt beschreibt die Studie von Kinser und Herzog (2008) einer Population im Harz eine deutlich höhere genetische Variabilität bei einer Stichprobengröße von etwa 100 Tieren. Vergleichbare Ergebnisse in Bezug auf Fis-Werte und Allelzahlen wurden von Kuehn et al. (2004) mit Proben aus Graubünden, Schweiz, erzielt. Der Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Studie mit denen von Kuehn et al. (2004) weist jedoch auch auf Hindernisse zwischen den hessischen Rotwildgebieten hin, da den ähnlichen genetischen Distanzen in der hessischen und der Schweizer Studie deutlich geringere geographische Distanzen in Hessen zugrundeliegen. Damit wird ein höherer Isolationsgrad der hessischen Regionen bestätigt.

Fst-Werte wurden außerdem ursprünglich für biallelische Marker entwickelt und für Mikrosatellitenmarker mit multiplen Allelen mit hoher Heterozygosität liegt das Maximum von Fst oft bei 0,1–0,2 (statt 1), ein Bereich, der in Vergleichen einschließlich des Odenwalds realisiert wurde. Um dieses Problem zu überwinden, führte Jost (2008) «D» als neues Maß für die Differenzierung ein. Es ist 1 bei vollständiger Differenzierung und 0 bei nicht vorhandener Differenzierung. Allerdings erreicht auch Josts D ein Maximum von 0,24 für einen Gebietsvergleich (KF:OD), der aufgrund der dazwischen liegenden Verkehrs- und Siedlungsflächen (Rhein-Main-Metropole, mehrere eingezäunte Autobahnen) realistischer weise keinen genetischen Austausch mehr zulässt. Ein Vergleich mit den D-Werten von Jost aus Schleswig-Holstein (Edelhoff et al., 2020) ergab für die hessischen Gebiete 87 % höhere Werte. Trotz fehlender absoluter Vergleichbarkeit deutet dies zumindest auf eine noch stärkere Differenzierung in Hessen hin als in den deutlich isolierten, von Inzuchtdepressionen geprägten Gebieten Schleswig-Holsteins (Zachos et al., 2007). Letztlich stehen also auch mit Josts D derzeit keine Methoden zur Verfügung, die die Probleme mit multiplen und hochvariablen Mikrosatellitenmarkern lösen können (Whitlock 2011). Hieraus ergibt sich also ein zweiter Ansatz der belegt, dass die für Hessen vorgestellte Konnektivität tatsächlich überschätzt ist und der genetische Austausch in Wahrheit noch niedriger ist als die Ergebnisse erwarten lassen. Trotz der Schwierigkeiten bei der Interpretation wurden die Fst-Werte vorsichtig mit verfügbaren Werten aus anderen Studien verglichen. Der Grad der Differenzierung entspricht dem von Studien aus der Schweiz (Kühn et al., 2004; Fst: 0,0015-0,099), Dänemark (Nielsen et al., 2008; Fst: 0,009–0,184) und Spanien (Queiros et al., 2014; Fst: 0,02–0,2). In Anbetracht der Insellage der dänischen Populationen, der Isolation der Schweizer Populationen durch Gebirgsmassive und der Verteilung der spanischen Populationen über eine viel größere Fläche kann der Differenzierungsgrad der hessischen Gebiete durchaus als Hinweis auf die postulierte Isolation durch rotwildfreie Gebiete und Landschaftsfragmentierung gesehen werden. Diese Vermutung wird auch dadurch bestätigt, dass polnische Populationen (Niedzialkowska et al., 2012) und schottische Populationen (Perez-Esposa et al., 2008) auf wesentlich größeren Flächen einen deutlich geringeren Differenzierungsgrad aufweisen (Fst: 0,001–0,087 [PL]; 0,015–0,022 [SC]). Eine deutlich höhere Differenzierung findet sich bei Rotwild aus Südskandinavien (Höglund et al., 2013; Fst: 0,151–0,29), deren Populationen jedoch über ein viel größeres Gebiet verteilt sind und sich in zwei Unterarten zwischen Norwegen und Schweden aufteilen. Den höchsten Differenzierungsgrad erreicht eine Studie von Zachos et al. (2003) (Fst: 0,07–0,89), die große Teile Südeuropas umfasst. Auch wenn die Vergleichbarkeit zwischen den verschiedenen Studien und Gebieten nicht vollständig gegeben ist, so deuten die Werte der hessischen Rotwildgebiete doch auf eine deutliche Differenzierung zwischen den Gebieten im Sinne unserer Ausgangshypothese hin.

Da die im Vergleich zu anderen Rotwildpopulationen relativ hohen Differenzierungsgrade zumindest teilweise durch die Autobahnen, deren flankierende Gebiet und die Abschüsse wandernden männlichen Rotwildes in den rotwildfreien Gebieten erklärt werden könnten, empfehlen wir dringend, die Rotwildgebiete zu größeren Gebieten zusammenzufassen und ihren genetischen Austausch zu ermöglichen, um ihre langfristige Überlebensfähigkeit zu sichern. In diesem Sinne reicht es nicht aus, Grünbrücken über Autobahnen zu bauen. Vielmehr müssen die Wege zu und von den Grünbrücken durch Biotopvernetzung sichergestellt werden. Seit Jahrzehnten sind die Jäger gesetzlich verpflichtet, das Rotwild auf der Wanderung in den rotwildfreien Gebieten zu erlegen, um die Schäle zu bekämpfen. Dafür, dass diese Vorgabe effizient erfüllt wird, spricht die starke genetische Differenzierung der Rotwildgebiete in Regionen ohne Autobahnen und mit nur geringer Landschaftsfragmentierung (z. B. nördlich des Krofdorfer Forstes). Von dieser Bejagungsstrategie waren auch männliches Rotwild bis zu einem Alter von 4 Jahren betroffen. Mit Beginn des Jahres 2019 wurde die Altersgrenze auf 5 Jahre angehoben. Damit wird der Möglichkeit des Genflusses und der Etablierung verbundener Genpools zwischen den Gebieten, jede noch verbliebene Restgrundlage entzogen.

Die Lebensräume müssen verbessert, miteinander verbunden und der Genfluss durch die Erhaltung der von männlichem Rotwild genutzten Wanderrouten gefördert werden. Gegenwärtig führen unangemessene Jagdzeiten und erheblicher Jagddruck zu erheblichen Störungen und Abdrängung das Rotwild aus den offenen Bereichen in den Wald, wo das Problem der Schäle zunimmt. Die Bejagung anderer Wildarten (Reh- und Schwarzwild) und zur Nachtzeit fördert ebenfalls die Intensivierung der Schälschäden. Die Lebensräume für Rotwild sollten durch die Anlage und Optimierung von für Rotwild gut zugänglichen Flächen verbessert werden (HERZOG, 2019). Geeignete und beruhigte Äsungsflächen können ebenso wie die Einrichtung von Winterfütterungen die Schäden im Wald wirksam reduzieren.

Der genetische Austausch zwischen den Rotwildgebieten könnte auch dadurch verbessert werden, dass durch weitere Studien Migrationskorridore und mögliche Standorte für Querungsstrukturen (z. B. Grünbrücken) identifizieren würden, um die Auswirkungen von Barrieren und Landschaftswiderständen auf die Wanderbewegungen des Rotwildes zu reduzieren (EDELHOFF et al., 2020).

Die Annahme einer negativen Beeinflussung der Populationen aufgrund der ungünstigen genetischen Variabilität in den meisten Gebieten und dem geringen genetischen Austausch zwischen den Gebieten wurde inzwischen mit dem Nachweis von Missbildungen des Unterkiefers bei vier Tieren in drei hessischen Rotwildgebieten bestätigt. Die betroffenen Tiere zeigen ausgeprägt geringe genetische Variation und damit einen hohen Inzuchtgrad. Dieser Befund spricht dafür, dass es sich bei den beobachteten Missbildungen tatsächlich um eine Inzuchtdepression handelt. Dass ähnlich hohe Homozygotiegrade in praktisch allen anderen Rotwildgebieten bei bis zu 16 % der Tiere vorkommen, ist von besonderer Bedeutung, denn damit könnten ähnliche Inzuchtdepressionen grundsätzlich auch in allen anderen Gebieten unvermittelt auftreten, wenn die verantwortliche, bislang molekular nicht näher bekannte Mutation dort vorhanden wäre. Doch während das konkrete Auftreten einer Unterkieferverkürzung von der Existenz eines oder weniger, Einzelgene abhängt, sind Vitalität, Fitness und Fruchtbarkeit der Tiere als polygene Faktoren durch eine Vielzahl potentiell vorhandener Gendefekte bedroht. Während der Embryonalentwicklung werden tausende von Genen nach einem exakten Muster an- und abgeschaltet. Wann immer dabei ein homozygotes Defektgen auftritt, kommt es zur Fehlentwicklung, meist zum Absterben des Embryos. Die Chance dafür steigt parallel zum Inzuchtgrad bzw. zur Homozygotie des betroffenen Embryos. Nach WALLING et al., (2011) lässt sich aus den Inzuchtzuwächsen der aktuellen hessischen Rotwildpopulationen für 2030 hochrechnen, um wieviel Prozent die derzeitigen Kälberverluste in dieser Zeit ansteigen könnten, wenn der genetischen Verarmung des hessischen Rotwildes nicht schnellstmöglich entgegengewirkt wirkt (s. Abb. 11).

Schlussfolgerung

Verschiedene Auswertungsstrategien zeigen erhebliche Unterschiede in der genetischen Vielfalt der hessischen Rotwildgebiete und ein erhebliches Maß an Isolation. Gebiete, die aufgrund ihrer starken Differenzierung als weitgehend isoliert betrachtet werden müssen, zeigen effektive Populationsgrößen (Ne) von unter 500, in vielen Fällen sogar von unter 100. Dies bedeutet, dass langfristig mit weiteren Verlusten an genetischer Vielfalt zu rechnen ist, was die Überlebensfähigkeit der lokalen Teilpopulationen gefährden kann. Als traurige Bestätigung dieser Befunde müssen die Nachweise von Inzuchtepressionen in Form von Unterkieferverkürzung bei inzwischen 4 Tieren seit Dezember 2018 angesehen werden. Zur Erhaltung gesunder Rotwildpopulationen, auch als Beitrag zur Biodiversität in Hessen, müssen daher die derzeitigen Managementstrategien dringend und nachhaltig überdacht werden.

Zusammenfassung

Der Lebensraum für das hessische Rotwild wird in 20 feste Rotwildgebiete aufgeteilt, die zum großen Teil durch Besiedlungs- und Verkehrsflächen sowie durch rotwildfreie Gebiete mit strikten Abschussvorgaben voneinander getrennt sind. Ziel der vorliegenden Studie

war die Charakterisierung und Quantifizierung der genetischen Vielfalt in den Gebieten und des genetischen Austauschs zwischen den Gebieten. Hierzu wurden in der Jagdsaison 2018/2019 insgesamt 1291 Rotwildproben der wichtigen 19 Gebiete (im Durchschnitt 68 pro Gebiet) gesammelt und mit 16 Mikrosatellitenmarkern genotypisiert. Die Ergebnisse zeigen eine klare genetische Differenzierung zwischen den meisten Rotwildgebieten. Vierzehn Gebiete lassen sich zu vier Regionen mit einem erhaltenen, internen genetischen Austausch zusammenfassen. Fünf Gebiete sind weitgehend isoliert oder zeigen nur noch einen begrenzten genetischen Austausch mit benachbarten Gebieten. Zehn der 19 Rotwildgebiete hatten eine effektive Populationsgröße von unter 100 und entsprechen damit nicht mehr den internationalen, wissenschaftlichen Anforderungen zur Kompensation kurzfristiger Inzuchtdepression. Tatsächlich konnten in drei der Gebiete Tiere mit Inzuchtdepression in Form von Unterkieferverkürzung nachgewiesen werden. Betroffen waren jeweils Stücke mit ausgeprägt hohem Inzuchtgrad. Effektive Populationsgrößen von mehr als 500–1000, die zur Aufrechterhaltung des evolutionären Potenzials und eines langfristigen Anpassungsvermögens von Populationen erforderlich sind, wurden in keinem der untersuchten Rotwildgebiete erreicht, selbst wenn Gebiete mit noch bestehendem genetischem Austausch zusammengefasst wurden. Eine beträchtliche genetische Differenzierung zwischen den Gebieten kann mit dem Vorhandensein von Landschaftsbarrieren, die den Genfluss behindern, aber auch mit der Aufrechterhaltung von rotwildfreien Gebieten in Verbindung gebracht werden. Die Bemühungen um einen nachhaltigen Erhalt der genetischen Vielfalt der gesamten Region sollten sich daher auf Maßnahmen konzentrieren, die die genetische Konnektivität sicherstellen. Chancen dafür ergeben sich insbesondere aus dem Schutz von Junghirschen (2 bis 5 Jahre) während der Wanderschaft durch die rotwildfreien Gebiete.

Summary

The habitat for red deer in Hesse is divided into 20 fixed red deer areas, which are largely separated by settlement and traffic areas and by red deer-free areas with strict shooting requirements. The objective of the present study was to characterize and quantify the genetic diversity in the areas and the genetic exchange between the areas. For this purpose, a total of 1291 red deer samples from the important 19 areas (on average 68 per area) were collected and genotyped with 16 microsatellite markers during the 2018/2019 hunting season. The results show a clear genetic differentiation between most of the red deer areas. Fourteen areas can be grouped into four regions with preserved internal genetic exchange. Five areas are largely isolated or show limited genetic exchange with neighbouring areas. Ten of the 19 red deer areas had effective population sizes below 100 and thus no longer meet international scientific requirements for compensating short-term inbreeding depression. In fact, animals with inbreeding depression in the form of mandibular shortening were detected in three of the areas. In each case, animals with a pronounced high degree of inbreeding were affected. Effective population sizes of more than 500–1000, required to maintain evolutionary potential and long-term adaptive capacity of populations, were not achieved in any of the red deer areas studied, even when areas with remaining genetic exchange were grouped together. Considerable genetic differentiation among areas may be associated with the presence of landscape barriers that impede gene flow, but also with the maintenance of red deer-free areas. Efforts to sustain genetic diversity across the region should therefore focus on measures that ensure genetic connectivity. Opportunities for this arise particularly from the protection of young male red deer (2 to 5 years old) during their migration through red deer-free areas.

Literatur

Adamack, A.T.; Gruber, B. (2014): PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R. Meth Ecol Evol **5**: 384–387.

Alcala, N.; Streit, D.; Goudet, J.; Vuilleumier, S. (2013): Peak and persistent excess of genetic diversity

following an abrupt migration increase. – Genetics **193**: 953–971.

Balloux, F.; Lugon-Moulin, N. (2002): The estimation of population differentiation with microsatellite markers. – Mol. Ecol. **11**: 155–165.

Brookfield, J.F.Y. (1996): A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. – Mol. Ecol. **5**: 453–455.

Chapuis, M.P.; Estoup, A. (2007): Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. – Mol. Biol. Evol. **24**: 621–631.

Do, C.; Waples, R.S.; Peel, D.; Macbeth, G.M.; Tillett, B.J.; Ovenden, J.R. (2014): NeEstimator V2: reimplementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. – Mol Ecol. Res. **14**: 209–214.

Earl, D.A.; von Holdt, B.M. (2012): A website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. – Conserv. Genet. Resour. **4**: 359–361.

Edelhoff, H.; Zachos, F.E.; Fickel, J.; Epps, C.W.; Balkenhol, N. (2020): Genetic analysis of red deer (*Cervus elaphus*) administrative management units in a human-dominated landscape. – Conserv. Genet. **21**: 261–276.

Frankham, R. (1995): Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review. – Genet. Res. **66**: 95-107.

Frankham, R. (2008): Inbreeding and Extinction: Island Populations. – Conserv. Biol. **12**: 665–675.

Frankham, R.; Bradshaw, C.J.A.; Brook, B.W. (2014): Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. – Biol. Conserv. **170**: 56–63.

Franklin, I.R.; Frankham, R. (1998): How large must populations be to retain evolutionary potential? – Anim. Conserv. **1**: 69–70.

Frantz, A.C.; Pourtois, J.T.; Heuertz, M.; Schley, L.; Flamand, M.C.; Krier, A.; Bertouille, S.; Chaumant, F.; Burke, T. (2006): Genetic structure and assignment tests demonstrate illegal translocation of red deer (*Cervus elaphus*) into a continuous population. – Mol. Ecol. **15**: 3191–3203.

Frantz, A.C.; Bertouille, S.; Eloy, M.C.; Licoppe, A.; Chaumont, F.; Flamand, M.C. (2012): Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elaphus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). – Mol. Ecol. **21**: 3445–3457.

Guo, S.W.; Thompson, E.A. (1992): Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. – *Biometrics* **48**: 361–372.

Hajji, G.M.; Charfi-Cheikrouha, F.; Lorenzini, R.; Vigne, J.D.; Hartl, G.B.; Zachos, F.E. (2008): Phylogeography and founder effect of the endangered Corsican red deer (*Cervus elaphus corsicanus*). – Biodivers. Conserv. **17**: 659–673.

Hartl, G.B.; Zachos, F.; Nadlinger, K. (2003): Genetic diversity in European red deer (*Cervus elaphus* L.): anthropogenic influences on natural populations. – C.R. Biol. **326**: 37–42.

Herzog, S. (2019): Wildtiermanagement. – Quelle und Meyer, Wiebelsheim, Germany.

Herzog, S.; Schwarz, U.K.; Leicht, H.J.; Krauhausen, V.; Voll, H. (2020): Lebensraumgutachten und Bewirtschaftungskonzept der Rotwildhegegemeinschaft „Krofdorfer Forst". – Rotwildhegegemeinschaft „Krofdorfer Forst", ISBN: 978-3-00-065692-7

Hmwe, S.S.; Zachos, E.; Eckert, I.; Lorenzini, R.; Fico, R.; Hartl, G.B. (2006a): Conservation genetics of the endangered red deer from Sardinia and Mesola with further remarks on the phylogeography of *Cervus elaphus corsicanus*. – Biol. J. Linn. Soc. **88**: 691–700.

Hmwe, S.S.; Zachos, F.E.; Sale, J.B.; Rose, H.R.; Hartl, G.B. (2006b): Genetic variability and differentiation in red deer (*Cervus elaphus*) from Scotland and England. – J. Zool. **270**: 479–487.

Höglund, J.; Cortazar-Chinarro, M.; Jarnemo, A.; Thulin, C.-G. (2013): Genetic variation and structure in Scandinavian red deer (*Cervus elaphus*): influence of ancestry, past hunting, and restoration management. – Biol. J. Linn. Soc. **109**: 43–53.

Jombart, T. (2008): adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. Bioinformatics **24**: 1403–1405.

Jombart, T.; Devillard, S.; Balloux, F. (2010): Discriminant analysis of principal compo-nents: a new method for the analysis of genetically structured populations. – B.M.C. Genet. **11**: 94.

Jost, L. (2008): GST and its relatives do not measure differentiation. – Mol. Ecol. **17**: 4015–4026.

Jost, L.; Archer, F.; Flanagan, S.; Gag-Giotti, O.; Hoban, S.; Latch, E. (2018): Differentiation measures for conservation genetics. – Evol. Appl. **11**: 1139–1148.

Kamvar, Z.N.; Tabima, J.F.; Grünwald, N.J. (2014): Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. – PeerJ. **2**: e281.

Keenan, K.; McGinnity, P.; Cross, T.F.; Crozier W.W.; Prodöhl, P.A. (2013): diveRsity: An R package for the estimation of population genetics parameters and their associated errors. – Meth. Ecol. Evol. **4**: 782–788.

Kinser, A.; Herzog, S. (2008) Genetisches Monitoring von Rotwild in Niedersachsen – Ergebnisse einer Langzeitstudie. – Deutsche Wildtierstiftung, pp 1–27.

Kopelman, N.M.; Mayzel, J.; Jakobsson, M. et al. (2015): Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. – Mol. Ecol. Resour. **15**: 1179–1191.

Kropil, R.M.; Smolko, P.; Garaj, P. (2015): Home range and migration patterns of male red deer *Cervus elaphus* in Western Carpathians. – Eur. J. Wildl. Res. **61**: 63–72.

Kuehn, R.; Schroeder, W.; Pirchner, F.; Rottmann, O. (2003): Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). – Conserv. Genet. **4**: 157–166.

Kuehn, R. (2004): Genetic Roots of the Red Deer (*Cervus elaphus*) Population in Eastern Switzerland. – J. Hered. **95**: 136–143.

Mukesh Sharma, L.K.; Kumar, V.P.; Charoo, S.A.; Mohan, N.; Goyal, S.P.; Sathy-akumar, S. (2013); Loss of genetic diversity and inbreeding in Kashmir red deer (*Cervus elaphus hanglu*) of Dachigam National Park,

Jammu, Kashmir, India. – B.M.C. Res. Notes **6**: 326–331.

NIEDZIAŁKOWSKA, M.; JĘDRZEJEWSKA, B.; WÓJCIK, J.M.; GOODMAN, S.J. (2012): Genetic structure of red deer population in Northeastern Poland in relation to the history of human interventions. – J. Wildl. Managem. **76**: 1264–1276.

NIELSEN, E.K.; OLESEN, C.R.; PERTOLDI, C.; GRAVLUND, P.; BARKER, J.S.F.; MUCCI, N.; RANDI, E.; LOESCHCKE, V. (2008): Genetic structure of the Danish red deer (*Cervus elaphus*). – Biol. J. Linn. Soc. **95**: 688–701.

NUSSEY, D.H.; KRUUK, L.E.B.; MORRIS, A.; CLUTTON-BROCK, T.H. (2007): Environmental conditions in early life influence ageing rates in a wild population of red deer. – Curr- Biol. **17**: R1000–R1001.

PARADIS, E. (2010): pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. Bioinformatics **26**: 419–420.

PEREZ-ESPONA, S.; PEREZ-BARBERIA, F.J.; MCLEODI, J.E.; JIGGINS, C.D.; GORDON, I.J.; PEMBERTON, J.M. (2008): Landscape features affect gene flow of Scottish Highland red deer (*Cervus elaphus*). – Mol. Ecol. **17**: 981–996.

POETSCH, M.; SEEFELDT, S.; MASCHKE, M.; LIGNITZ, E. (2001): Analysis of microsatellite polymorphism in red deer, roe deer, and fallow deer – possible employment in forensic applications. – Forensic Sci. Int. **116**: 1–8.

PRITCHARD, J.K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. - Genetics **155**: 945–959.

QUEIROS, J.; VICENTE, J.; BOADELLA, M.; GORTAZAR, C.; ALVES, P.C. (2014): The impact of management practices and past demographic history on the genetic diversity of red deer (*Cervus elaphus*): an assessment of population and individual fitness. – Biol. J. Linn. Soc. **111**: 209–233.

R CORE TEAM (2017): Changes in R from version 3.4.2 to version 3.4.3. R J 9: 568–570

REINER, G.; LANG, M.; WILLEMS, H. (2019): Impact of different panels of microsatellite loci, different numbers of loci, sample sizes, and gender ratios on population genetic results in red deer. – Eur. J. Wildl. Res. **65**: 25.

REINER, G.; TRAMBEREND, K.; NIETFELD, F.; VOLMER, K.; WURMSER, C.; FRIES, R.; WILLEMS, H. (2020): A genome-wide scan study identifies a single nucleotide substitution in the tyrosinase gene associated with white coat colour in a red deer (*Cervus elaphus*) population. – B.M.C. Genet. **21**: 14.

REINER, G.; KLEIN, C.; LANG, M.; WILLEMS, H. (2021) Human-driven genetic differentiation in a managed red deer population. – Eur. J.Wildl. Res. **67**: 29.

ROSENBERG, N.A.; LI, L.M.; WARD, R.; PRITCHARD, J.K. (2003): Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. – Am. J. Hum. Genet. **73**: 1402–1422.

SANCHEZ-FERNANDEZ, B.; SORIGUER, R.; RICO, C. (2008): Cross-species tests of 45 microsatellite loci isolated from different species of ungulates in the Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) to generate a multiplex panel. – Mol. Ecol. Res. **8**: 1378–1381.

SLATE, J.; VAN STIJN, T.C.; ANDERSON, R.M.; MCEWAN, K.M.; MAQBOOL, N.J.; MATHIAS, H.C.; BIXLEY, M.J.; STEVENS, D.R.; MOLENAAR, A.J.; BEEVER, J.E.; GALLOWAY, S.M.; TATE, M.L. (2002): A deer (subfamily Cervinae) genetic linkage map and the evolution of ruminant genomes. – Genetics **160**: 1587–1597.

SLATKIN, M. (1987): Gene flow and the geographic structure of natural populations. – Science **236**: 787–792.

SPERLICH, D. (1988): Populationsgenetik: Grundlagen und experimentelle Ergebnisse. – (Stuttgart: Metzler-Poeschel).

STOPHER, K.V.; NUSSEY, D.H.; CLUTTON-BROCK, T.H.; GUINNESS, F.; MORRIS, A.; PEMBERTON, J.M. (2012): Re-mating across years and intralineage polygyny are associated with greater than expected levels of inbreeding in wild red deer. – J. Evol. Biol. **25**: 2457–2469.

WALLING, C.A.; NUSSEY, D.H.; MORRIS, A.; CLUTTON-BROCK, T.H.; KRUUK, L.E.B.; PEMBER-TON, J.M. (2011): Inbreeding depression in red deer calves. – B.M.C. Evol. Biol. **11**: 318–330.

WANG, J.; SANTIAGO, E.; CABALLERO, A. (2016) Prediction and estimation of effective population size. – Heredity **117**: 193–206.

WANG, M.; SCHREIBER, A. (2001) The impact of habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in Central Europe. – Heredity **86**: 703–715.

WEIR, B.S.; COCKERHAM, C.C. (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution **38**: 1358–1370.

WHITLOCK, M.C. (2011): G'st and D do not replace Fst. – Mol. Ecol. **20**: 1083–1091.

WILLEMS, H.; WELTE, J.; HECHT, W.; REINER, G. (2016): Temporal variation of the genetic diversity of a German red deer population between 1960 and 2012. – Eur. J. Wildl. Res. **62**: 277–284.

WRIGHT, S. (1978): Evolution and the genetics of populations. – Vol. 4. Chicago, University of Chicago Press.

ZACHOS, F.; HARTL, G.B.; APOLLONIO, M.; REUTERSHAN, T. (2003): On the phylogeographic origin of the Corsian red deer (*Cervus elaphus corsicanus*): evidence from microsatellites and mitochondrial DNA. – Mamm. Biol. **68**: 284–298.

ZACHOS, F.E.; ALTHOFF, C.; STEYNITZ, Y.; ECKERT, I.; HARTL, G.B. (2007): Genetic analysis of an isolated red deer (*Cervus elaphus*) population showing signs of inbreeding depression. – Eur. J. Wildl. Res. **53**: 61–67.

ZACHOS, F.E.; HARTL, G.B. (2011): Phylogeography, population genetics and conservation of the European red deer *Cervus elaphus*. –Mamm. Rev. **41**: 138–150.

ZACHOS, F.E.; FRANTZ, A.C.; KUEHN, R.; BERTOUILLE, S.; COLYN, M.; NIEDZIAKOWSKA, M.; PEREZ-GONZALEZ, J.; SKOG, A.; SPREM, N.; FLAMAND, M.C. (2016): Genetic Structure and Effective Population Sizes in European Red Deer (*Cervus elaphus*) at a Continental Scale: Insights from Microsatellite DNA. – J. Hered. **107**: 318–326.

ZSOLNAI, A.; LEHOCZKY, I.; GYURMÁN, A.; NAGY. J.; SUGÁR, L.; ANTON, I.; HORN, P.; MAGYARY, I. (2009): Development of eight-plex microsatellite PCR for parentage control in deer. – Arch. Anim. Breed. **52**: 143–149.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Dr. habil. GERALD REINER
Arbeitskreis Wildbiologie der Justus-Liebig-Universität
Frankfurter Straße 112
D-35392 Gießen
E-Mail: gerald.reiner@vetmed.uni-giessen.de