

Die «molekulare Revolution» und ihre Folgen für die ornithologisch-taxonomische Forschung

Dorit Liebers-Helbig



LIEBERS-HELBIG, D. (2013): The molecular revolution and its consequences for ornithological research. *Ornithol. Beob.* 110: 257–269.

For the understanding and interpretation of molecular phylogenies it is important to understand and critically question the underlying gene trees, because a gene tree merely depicts the history of a gene or DNA segment, but not necessarily the history of the respective species tree. An approximation to the species tree can be reached only by a combined reconstruction of several independent gene trees. Based on three examples the use and pitfalls of molecular methods for ornithological taxonomy will be illustrated.

Within the birds of prey (Accipitriformes) the analysis of seven independent genes and intron sequences yielded surprising results: The genus *Aquila* is not monophyletic in its traditional delimitation but instead demands the inclusion of Bonelli's Eagle, Hawk-Eagle and eight further genera. The genus *Accipiter* also is not monophyletic but divides into four distinct species groups. However, a revision of the genus appears difficult, because the Harriers are closely related to one of the *Accipiter* sub-groups.

The currently accepted phylogeny of gulls (Laridae), rearranged on the basis of premature molecular data, seems not plausible anymore. After increasing the amount of sequenced data the genus *Larus* appears monophyletic again, hence the splitting into several genera should be withdrawn. The oldest, basal groups of gulls, still separated from the genus *Larus*, includes such diverse species as Little Gull and Ross's Gull, Kittiwake as well as Ivory Gull and Sabine's Gull.

Within the reed warblers (Acrocephalidae) the analysis of four sequenced genes showed that the four traditional genera are not monophyletic. The *Acrocephalus* Warblers form three distinct groups of the same ancestry, while the Thick-billed Warbler is excluded from the genus. The *Hippolais* and *Chloropeta* Warblers also present no reciprocal monophyletic groups, leading to a revision of the respective genera *Hippolais*, *Iduna* and *Calamonastides*.

The examples given illustrate how difficult it is to interpret the wide array of recently published molecular studies. This is especially challenging for all ornithologists who are indeed interested in phylogeny, but are not familiar with the vast variety of molecular methods. The common reader of a publication cannot assess the plausibility of the presented phylogeny. Therefore it is always advisable to question whether the trees are in concordance with morphological, acoustical and biogeographical features of the respective group.

Dorit Liebers-Helbig, Deutsches Meeresmuseum, Katharinenberg 14–20, D–18439 Stralsund, E-Mail dorit.liebers@meeresmuseum.de

Wie kaum ein anderer Wissenschaftszweig in der Biologie revolutionierte die molekulare Systematik seit den 1980er-Jahren den Blick auf das System der Organismen und die Evolution der Arten. Bis dahin galt die Taxonomie als überkommenes, wenig attraktives Forschungsgebiet, da man annahm, das meiste über die verwandtschaftlichen Verhältnisse der Arten und Gattungen zu wissen. Diese Meinung herrschte lange Zeit auch für die Gruppe der Vögel mit ihren etwa 10000 Arten vor.

Mit der rasch anwachsenden Zahl molekular-genetischer Methoden änderte sich die Situation. Viele Universitäten und Forschungsinstitute bauten neue Labore auf. Die relativ einfache und kostengünstige Isolation von DNA aus Blut- und Gewebeproben sowie die zahlreichen Möglichkeiten, Unterschiede in den DNA-Sequenzen aufzudecken, mündeten in einer Fülle an Publikationen. Neben den theoretischen Grundlagen der molekularen Evolution (z.B. Page & Holmes 1998, Nei & Kumar 2000, Graur & Li 2000) entwickelten sich insbesondere die Abstammungsgeschichte des Menschen (z.B. Klein & Takahata 2002, Cooper & Kehrer-Sawatzki 2008), aber auch die Stammesgeschichte (Phylogeographie) und Entstehung von Arten (Speziation) und Artkomplexen (Avice 2000, Price 2008, Glaubrecht 2010) zu eigenständigen Forschungszweigen. In jüngster Zeit zeigte sich jedoch, dass unser Wissen über die Mechanismen der Sequenzevolution noch unzureichend ist und die Rechenverfahren (Algorithmen) zur Rekonstruktion von Stammbäumen fehlerhaft sein können (vgl. von Haeseler & Liebers 2003, Wägele et al. 2009, Wägele 2011).

Auch in der Ornithologie wurde deutlich, dass die bisher veröffentlichten und teilweise widersprüchlichen molekularen Stammbäume (Phylogenien) kritisch und möglichst unter Berücksichtigung morphologischer, bioakustischer und biogeografischer Merkmale interpretiert werden sollten (z.B. Alström et al. 2008, Olsson et al. 2010).

Die «wahre» Phylogenie hingegen können wir nie mit Sicherheit kennen – dies ist ein Grundsatzproblem von historischen Wissenschaften wie der Phylogenetik. Jegliche Rekonstruktion von Verwandtschaftsbeziehungen ist

daher als eine Hypothese zu betrachten. Dies ist eigentlich seit Langem klar, auch wenn gewisse Autoren zu Beginn der «molekularen Revolution» suggeriert haben, dass ihre molekularen Stammbäume die tatsächliche Phylogenie widerspiegeln.

Einen umfassenden und sehr kritischen Überblick über die aktuellen Erkenntnisse zu den verwandtschaftlichen Verhältnissen im System der Vögel liefern Martens & Bahr in fortlaufender Reihe (2007–2012). Dabei konzentrieren sich die beiden Autoren auf die Paläarktis und benachbarte Gebiete. Neben den theoretischen Hintergründen zur Evolution der Vögel und den zugrundeliegenden Artkonzepten (vgl. Helbig 2000) werden die molekularen Ergebnisse auf diesem Wege einem breiten Leserkreis zugänglich gemacht.

Anlässlich des 80. Geburtstags von Prof. Dr. Urs N. Glutz von Blotzheim werden im Rahmen dieser Arbeit drei Aspekte der molekularen Evolution bei Vögeln herausgriffen: (1) Wie entwickeln sich Gen-Bäume in Spezies-Bäumen? (2) Warum ist nicht jeder publizierte Gen-Baum zwangsläufig dem Spezies-Baum gleichzusetzen – drei Beispiele. (3) Welche Forschungsschwerpunkte ergeben sich für die Zukunft?

1. Gen-Bäume in Spezies-Bäumen

In einem biologischen Stammbaum soll die Aufspaltung von Arten (lateinisch species) nachgezeichnet werden. Ein Spezies-Baum zeigt somit die zeitliche Abfolge der Aufspaltungsereignisse zwischen verschiedenen Populationen oder Arten (Abb. 1). Im Gegensatz dazu zeichnet ein Gen-Baum nur die Historie eines Gens oder DNA-Abschnitts nach (grün, Abb. 1). Dabei wird in der Fortpflanzungsgemeinschaft die Weitergabe des Sequenzabschnitts von einem Individuum auf das nächste rekonstruiert. Der Gen-Baum entwickelt sich gewissermaßen in den Grenzen des Spezies-Baumes und gibt im Idealfall die Abfolge der Aufspaltungsereignisse für verschiedene Arten wieder.

Die phylogenetische Analyse von verschiedenen Genen führt mitunter zu sehr überraschenden, nicht kongruenten Ergebnissen.

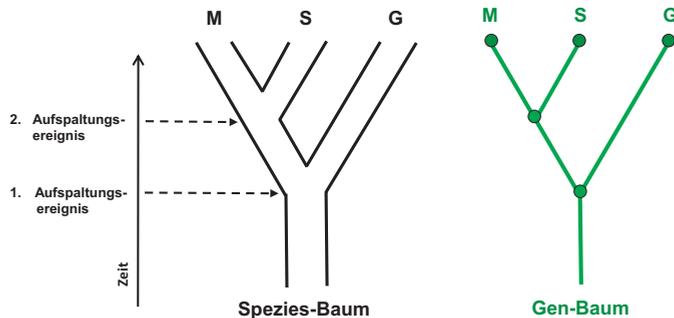


Abb. 1. Ein Spezies-Baum (schwarz) zeigt die zeitliche Abfolge von Aufspaltungsereignissen zwischen verschiedenen Populationen oder Arten. Im Gegensatz dazu zeichnet ein Gen-Baum (grün) nur die Historie eines bestimmten Gens oder DNA-Abschnitts nach. – *The species tree (black) illustrates the succession of speciation events between different populations or taxa while the gene tree (green) depicts the history of a certain gene or DNA segment.*

Ein sehr gut untersuchtes Beispiel sind die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen Mensch (M), Schimpanse (S) und Gorilla (G) (vgl. von Haeseler & Liebers 2003). Für den 3-Spezies-Baum gibt es drei mögliche Gen-Bäume (Abb. 2). In einer Analyse von 45 unab-

hängigen Genen wurden alle Gen-Bäume gefunden, allerdings mit unterschiedlicher Häufigkeit. Während 27 Genanalysen (60 %) zweifelsfrei Mensch und Schimpanse als Schwestergruppen definieren, unterstützen jeweils neun Gene die alternativen Gruppierungen.

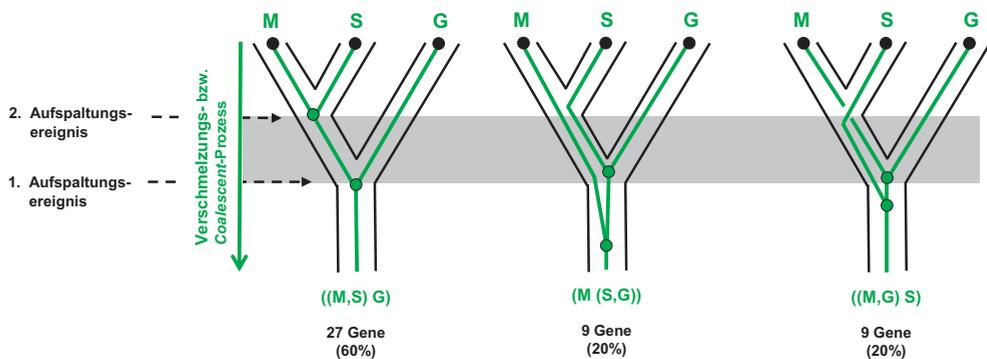


Abb. 2. Der Spezies-Baum (schwarz) für Mensch (M), Schimpanse (S) und Gorilla (G) mit den drei möglichen Gen-Bäumen (grün). Die Analyse von 45 unabhängigen Genen ergab drei Gen-Bäume mit unterschiedlichen Häufigkeiten. Je kürzer die Zeit zwischen zwei Aufspaltungsereignissen ist (grau unterlegt), desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Sequenzen (grüne Linien) nicht zeitgleich mit den Aufspaltungsereignissen verschmelzen. Dann kann es zur Diskrepanz zwischen Gen-Baum und Spezies-Baum kommen (verändert nach von Haeseler & Liebers 2003). – *The species tree for human, chimp and gorilla (black) in relation to the three possible gene trees (green). The analysis of 45 independent genes resulted in all three gene trees but with different frequencies. If the time between two speciation events is rather short (grey shading) then the sequences (green lines) may not merge at the same time, resulting in discrepancies between the species tree and the gene tree (modified from Haeseler & Liebers 2003).*

Wie lassen sich diese Ergebnisse erklären? Dazu müssen wir, ausgehend von den heutigen Sequenzen, den Blick zurück in die Vergangenheit richten. Im sogenannten Verschmelzungs- bzw. Coalescent-Prozess wird der Zeitpunkt identifiziert, an dem zwei Sequenzen (= Linien) bei dieser rückwärtigen Betrachtung miteinander verschmelzen (grüne Kreise). Im ersten Szenario (Abb. 2, linker Baum) verschmelzen die Sequenzen von Mensch und Schimpanse zeitgleich mit dem zweiten Aufspaltungsereignis. Die gemeinsame Abstammungslinie von Mensch und Schimpanse existierte so lange, bis sie mit der Gorilla-Sequenz zum Zeitpunkt des ersten Aufspaltungsereignisses verschmilzt. In diesem Szenario ist also zu jedem Zeitpunkt die Anzahl der Arten im Spezies-Baum identisch mit der Anzahl der Sequenzen oder Linien im Gen-Baum.

Ist die Zeit zwischen zwei Aufspaltungsereignissen jedoch sehr kurz (Abb. 2, grau unterlegt), kann es vorkommen, dass die Sequenzen zweier Arten nicht zeitgleich mit dem Aufspaltungsereignis verschmelzen (mittlerer und rechter Baum). Formal existieren in dem «grauen» Zeitfenster im Spezies-Baum nur zwei Arten, nämlich die Stammart von Mensch und Schimpanse und der Gorilla. Im Gen-Baum sind aber noch alle drei Sequenzen vorhanden. In einer solchen Situation entscheidet allein der Zufall, welches Sequenzpaar zuerst verschmilzt. Der Zeitpunkt der Verschmelzung von Sequenzen ist jedoch für jedes Gen unterschiedlich und kann weit in der Vergangenheit liegen. Dieses kleine Beispiel soll veranschaulichen, warum es zu einem Spezies-Baum mehr als nur einen Gen-Baum gibt.

Für den 3-Spezies-Baum aus Abb. 2 lassen sich die zugehörigen drei Verzweigungsmuster (Topologien) noch einzeln testen. Da die Anzahl möglicher Gen-Bäume aber exponentiell mit der Anzahl der untersuchten Arten wächst und es für 10 Sequenzen bereits mehr als 2 Millionen verschiedene Verzweigungsmuster gibt, braucht es leistungsstarke Algorithmen, welche die Wahrscheinlichkeit der jeweiligen Verzweigungsmuster berechnen. In der Praxis muss davon ausgegangen werden, dass aus der Vielzahl möglicher Verzweigungsmuster rein rechnerisch widersprüchliche Phylogenien re-

konstruiert werden. Dies trifft insbesondere dann zu, wenn die Aufspaltungsereignisse zwischen zwei oder mehreren Arten in relativ kurzer Zeit abliefen.

Anders ausgedrückt bedeutet dies, dass es in der Molekularen Evolution keine «Ein-Spezies-Baum – Ein-Gen-Baum»-Beziehung gibt. Prinzipiell gilt, dass bei der Rekonstruktion von Gen-Bäumen mehrere unabhängige Gene oder DNA-Sequenzen analysiert werden sollten. Dies ist dann besonders wichtig, wenn es Unstimmigkeiten zwischen der klassischen Phylogenie und den molekularen Befunden gibt.

Bei den publizierten Gen-Bäumen in der Fachliteratur stellt sich nun die Frage, wie gut die rekonstruierten Bäume die Verwandtschaftsverhältnisse wiedergeben. Grundsätzlich gilt, dass die Länge der Sequenzen wesentlich für die verlässliche Rekonstruktion eines Gen-Baums ist. Ein Maß für die Zuverlässigkeit der resultierenden Verzweigungsmuster sind die statistisch ermittelten «Stütz-Werte» (englisch support values) für einzelne Gruppierungen. Mittlerweile gibt es viele verschiedene statistische Methoden zur Bestimmung der Stütz-Werte, z.B. das Bootstrap-Verfahren bei Parsimonie oder Maximum-Likelihood Baumrekonstruktionen oder die Bayesian Posterior Probabilities (s. dazu Nei & Kumar 2000, Huelsenbeck et al. 2001). Im Allgemeinen kann davon ausgegangen werden, dass bei Stütz-Werten von 100 % der Stichprobenfehler so klein ist, dass die rekonstruierte Gruppierung den tatsächlichen Gen-Baum mit großer Wahrscheinlichkeit wiedergibt, nicht aber zwangsläufig die «wahre» Phylogenie der entsprechenden Arten. Nur wenn sehr viele Gene kombiniert analysiert werden, können sehr gut unterstützte Verzweigungsmuster als eine Annäherung an den Spezies-Baum aufgefasst werden.

Für die Interpretation von Gen-Bäumen lassen sich daher folgende Grundsätze ableiten:

- (1) Ein Gen-Baum entwickelt sich immer innerhalb eines Spezies-Baums.
- (2) In einem Spezies-Baum kann es mehrere verschiedene Gen-Bäume geben.
- (3) Molekulare Phylogenien sollten nur anhand mehrerer, unabhängiger Gene oder DNA-Sequenzen rekonstruiert werden.

2. Beispiele für aktuelle phylogenetische Studien

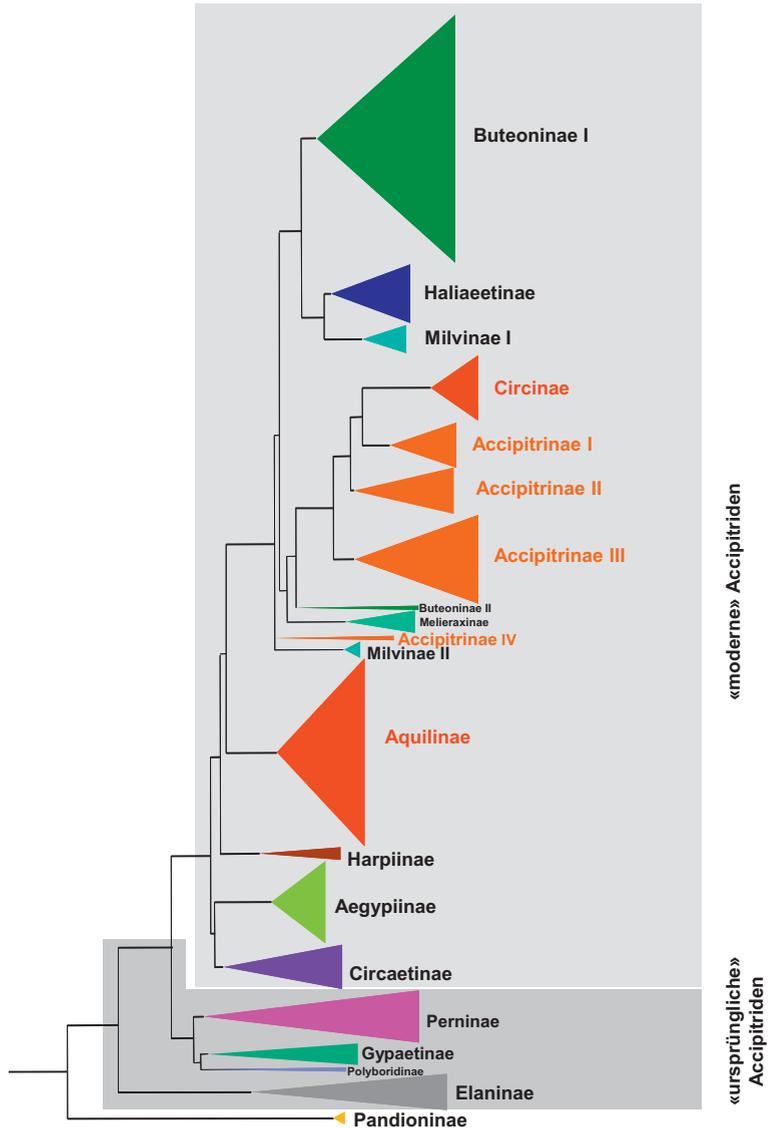
An der Vogelwarte Hiddensee (Universität Greifswald) wurden unter der Leitung von Andreas Helbig (†) mehrere phylogenetische Großprojekte initiiert, die unter anderem ihren Abschluss in drei Doktorarbeiten fanden (Kocum 2007, Sternkopf 2011, Fregin 2012).

Einen Überblick über die aktuellen Ergebnisse liefern die folgenden Beispiele.

2.1. Großphylogenie der Greifvögel (Accipitriformes)

Die weltweit verbreiteten Greifvögel zählen mit über 240 Arten zu den artenreichsten

Abb. 3. Vereinfachtes Phylogramm der Greifvögel (Accipitriformes), basierend auf 7587 sequenzierten Basen (verändert nach Kocum 2007). Jedes Dreieck fasst die Arten zusammen, die auf ein gemeinsames Aufspaltungsereignis zurückgehen. Fette Äste symbolisieren Stütz-Werte > 95 % in mindestens zwei von drei Testverfahren. – Simplified phylogram of birds of prey (Accipitriformes), based on 7587 sequenced bases (modified from Kocum 2007). Each triangle integrates the species which originated from the same ancestry. Bold lines indicate support-values > 95 %, in minimum two of three tests.



Vogelordnungen (Ferguson-Lees & Christie 2001). Über ihre stammesgeschichtliche Entwicklung bestehen sehr unterschiedliche Auffassungen (vgl. Glutz von Blotzheim 1971, del Hoyo et al. 1994, Helbig 2005). Dies lässt sich hauptsächlich auf die konvergente Entwicklung der «typischen Greifvogelmerkmale» wie Hakenschnabel, kräftige Krallen und räuberische Lebensweise zurückführen.

Basierend auf dem mitochondrialen Cytochrom-b-Gen (1143 Basen) und sechs nuklearen Genen bzw. Intronsequenzen (6444 Basen) rekonstruierten Kocum et al. (in Vorb.) eine Gesamtphylogenie der Accipitriiformes. Das vereinfachte Dreiecks-Phylogramm (Abb. 3) illustriert die Beziehungen der Familien zueinander (nach Kocum 2007). Jedes Dreieck fasst dabei die Arten zusammen, die eine Abstammungsgemeinschaft bilden.

Der nur eine einzige Art umfassenden (monotypischen) Familie der Fischadler (Pandionidae) steht die sehr formenreiche Familie der Habichtverwandten (Accipitridae) gegenüber. Innerhalb der Accipitridae repräsentieren die Gleitaare (Elaninae), Bartgeier (Gypaetinae) und Wespenbussarde (Perninae) relativ ursprüngliche Evolutionslinien. Zu den «modernen» Accipitriden zählen unter anderem Schlangennadler (Circaetinae), «Moderne» Altweltgeier (Aegypiinae), Echte Adler (Aquilinae), Habichtartige Greifvögel (Accipitrinae), Milane (Milvinae), Seeadler (Haliaeetinae) und Bussarde (Buteoninae).

Die Gattung *Aquila* ist in der bisherigen Abgrenzung nicht monophyletisch, sie geht also nicht auf eine gemeinsame Stammform zurück. Helbig et al. (2005) schlugen vor, die Abgrenzung für die Echten Adler zu erweitern und acht zusätzliche (Unter-)Gattungen einzubeziehen. Dazu zählen Habichtsadler (*Hieraetus*) und Haubenadler (*Spizaetus*) sowie sechs monotypische Gattungen.

Die mit mindestens 47 Arten größte Gattung *Accipiter* ist ebenfalls nicht monophyletisch. Sie besteht aus vier sehr diversen Artengruppen. Eine Neugruppierung der Habichtartigen erscheint anhand der bisherigen Datenlage jedoch vorerst sehr schwierig, da die Weihen (Gattung *Circus*) nächstverwandt mit einer ihrer Teilgruppe sind.

Die Milane (Milvinae) trennen sich in zwei Gruppen. Die Gattung *Harpagus* steht basal, während die *Milvus*- und *Haliaeetus*-Arten zusammen die Schwestergruppe der Seeadler (Haliaeetinae) bilden. Die Bussardartigen Greifvögel (Buteoninae) bilden die am stärksten abgeleitete Gruppe der Accipitriiformes und ihr Ursprung liegt in der neuen Welt.

Eine Revision der Accipitriiformes ist trotz des umfangreichen molekularen Datensatzes von über 7500 sequenzierten Basen (noch) nicht möglich. Eine abschließende Beurteilung der Gattungsgrenzen und Abspaltung von Unterfamilien erfordert die Einbeziehung weiterer Arten, die Sequenzierung längerer DNA-Abschnitte und zusätzlicher DNA-Marker sowie eine erneute Auswertung des Gesamtdatensatzes.

2.2. Phylogenie der Möwen (*Laridae*)

Zur weltweit verbreiteten Familie der Möwen zählen etwa 50 Arten, die in nahezu allen Regionen vorkommen (Glutz von Blotzheim & Bauer 1982, Burger & Gochfeld 1996). Ihre verwandtschaftlichen Beziehungen werden nach wie vor kontrovers diskutiert (vgl. Helbig 2005).

Bereits vor der Verfügbarkeit molekularer Methoden gab es eine Reihe morphologischer Untersuchungen, z.B. anhand der Färbung des Gefieders oder verschiedener Skelettmerkmale, die jedoch widersprüchliche Ergebnisse über die Evolution dieser Gruppe lieferten (u.a. Dwight 1925, Moynihan 1959, Schnell 1970, Chu 1998).

Erste molekulare Studien (Crochet et al. 2000, Pons et al. 2005), basierend auf kurzen Fragmenten der mitochondrialen DNA, konnten die Phylogenie ebenfalls nicht auflösen. Der in Pons et al. (2005) veröffentlichte Stammbaum zeigt für die basalen Äste keine oder nur sehr geringe Stütz-Werte. Dennoch wurde eine taxonomische Neugruppierung vorgeschlagen, die teilweise große Akzeptanz erfahren hat (z.B. Sangster et al. 2009).

In einer phylogenetischen Studie von Sternkopf et al. (in Vorb.) wurden von 44 Möwenarten das mitochondriale Cytochrom-b-Gen und die hypervariable Region I der Kontrollregion

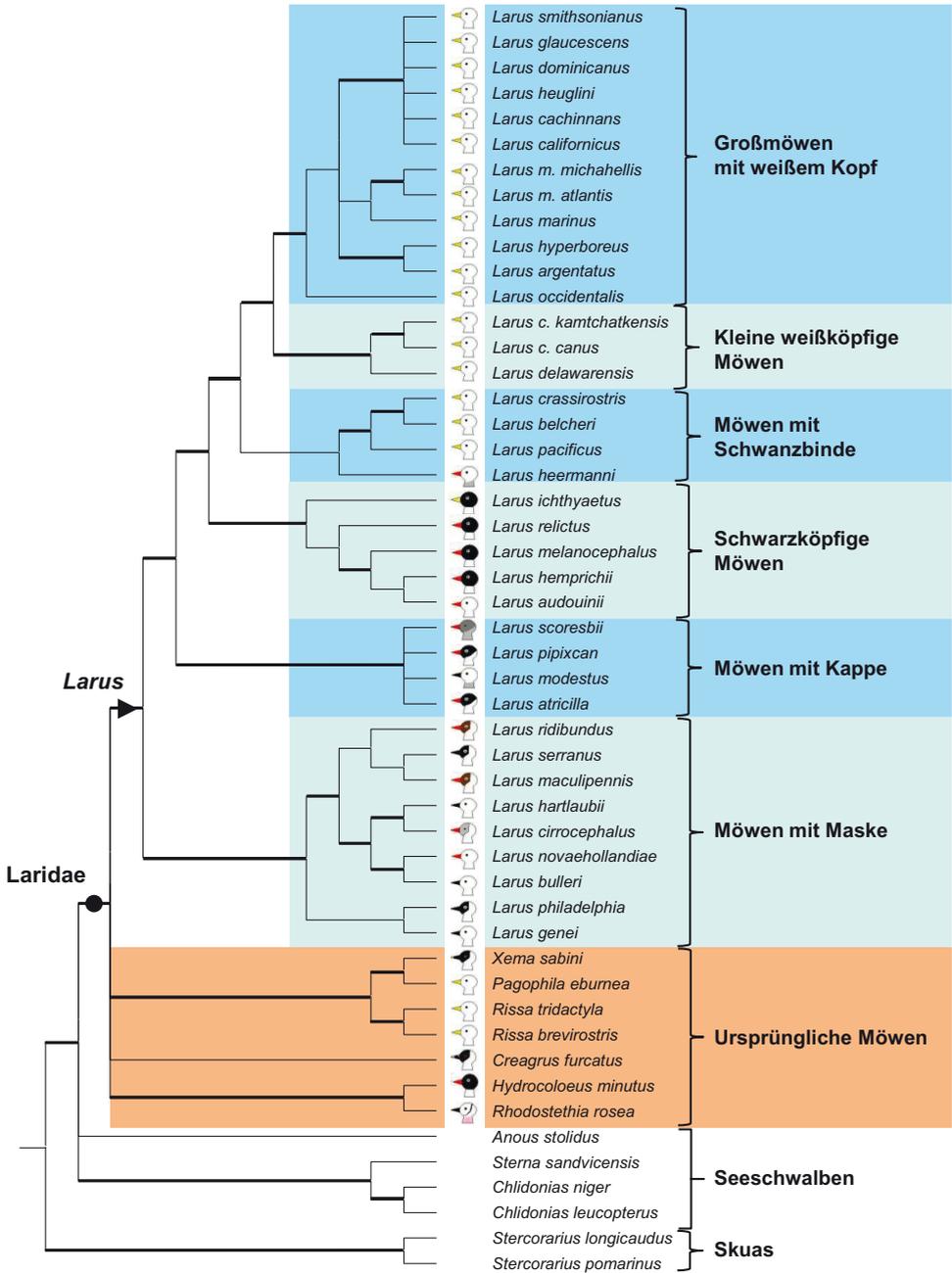


Abb. 4. Phylogenie der Möwen (Laridae), basierend auf 3120 sequenzierten Basen (verändert nach Sternkopf 2011). Fette Äste symbolisieren Stütz-Werte >95 % in mindestens zwei von drei Testverfahren. – *Phylogeny of gulls (Laridae), based on 3120 sequenced bases (modified from Sternkopf 2011). Bold lines indicate support values >95 %, in minimum two of three tests.*

(1619 Basen) sowie 1501 Basen von vier Kerngenen bzw. Intronsequenzen untersucht. Aus dem resultierenden Stammbaum (Abb. 4) lassen sich folgende Ergebnisse ableiten:

- (1) Die Familie der Laridae ist monophyletisch.
- (2) Innerhalb der rezenten, d.h. in unserer Zeit lebenden Möwen gibt es mindestens drei ursprüngliche Evolutionslinien (orange unterlegt):
 - Rosenmöwe *Rhodostethia rosea* und Zwergmöwe *Hydrocoleus minutus*
 - Gabelschwanzmöwe *Creagrus furcatus*
 - Dreizehenmöwen *Rissa brevirostris* und *R. tridactyla*, zusammen mit Elfenbeinmöwe *Pagophila eburnea* mit deren Schwesterart Schwalbenmöwe *Xema sabini*.
- (3) Die Gattung *Larus* ist monophyletisch. Innerhalb der Gattung *Larus* lassen sich sechs Untergruppen abtrennen:
 - Möwen mit Maske
 - Möwen mit Kappe
 - Schwarzköpfige Möwen
 - Möwen mit Schwanzbinde
 - Kleine weißköpfige Möwen
 - Großmöwen mit weißem Kopf.
 In den einzelnen Untergruppen gibt es eine große (aber nicht vollständige) Übereinstimmung mit den äußeren Merkmalen wie Gefieder-, Kopf- und Schwanzfärbung.
- (4) Der dunkel befiederte Kopf ist wahrscheinlich ein ursprüngliches Merkmal der Möwen, welches später jedoch mehrfach unabhängig voneinander wieder verlorengegangen ist. Eine graue Kopfmaske (*L. cirrocephalus*) und ein schwarzer Halsring (*R. rosea*) sind als Zwischenstufen eines solchen Reduktionsprozesses zu interpretieren. Die dunkelköpfigen Möwen sind untereinander also nicht nächstverwandt.

Innerhalb der ursprünglichen Möwen ist die Schwesterbeziehung zwischen Zwergmöwe und Rosenmöwe anhand des äußeren Erscheinungsbildes (phänotypischer Befunde) wie Gefiederfärbung und Skelett-Eigenschaften seit Langem belegt (Chu 1998). Die taxonomische Konsequenz, beide Arten in dieselbe Gattung zu stellen, hat sich jedoch bis heute noch nicht durchgesetzt. Da Zwerg- und Rosenmöwe ge-

netisch von *Larus* ebenso verschieden sind wie z.B. die Dreizehenmöwe oder die Schwalbenmöwe, unterstreicht dies die Plausibilität einer Abtrennung auf Gattungsniveau. Für eine neue, nur aus Zwerg- und Rosenmöwe bestehende Gattung hätte der Name *Hydrocoleus* (Kaup 1829) Priorität (vgl. Helbig 2005).

Der erweiterte Datensatz, basierend auf mitochondrialen und nuklearen DNA-Sequenzen, untermauert die Monophylie der Gattung *Larus* unter Ausschluss der ursprünglichen Möwen. Die sechs rekonstruierten Untergruppen innerhalb der *Larus*-Möwen stimmen mit den von Pons et al. (2005) diagnostizierten Teilgruppen *Chroicocephalus*, *Leucophaeus*, *Ichthyaethus*, und *Larus* überein. Allerdings macht die von Pons et al. vorgeschlagene und teilweise bereits etablierte taxonomische Neugruppierung (z.B. Sangster et al. 2009) wenig Sinn. Die Einführung vieler neuer Namen für altbekannte Arten verwirrt mehr als dass sie hilft, evolutionäre Prozesse zu verstehen und ein breites Verständnis für die Möglichkeiten der molekularen Methoden zu wecken.

Der Vorschlag, die *Larus*-Arten (wieder) in einer Gattung zu vereinen, muss allerdings erst in einem einschlägigen phylogenetischen Journal publiziert werden, um damit eine breite ornithologische Öffentlichkeit zu erreichen (Sternkopf et al. in Vorb).

2.3. Phylogenie der Rohrsängerverwandten (*Acrocephalidae*)

In der Unterfamilie der Rohrsängerverwandten wurden traditionell drei Gattungen vereinigt: die Rohrsänger im engeren Sinn (*Acrocephalus*), die Spötter (*Hippolais*) und die Afrikanischen *Chloropeta*-Rohrsänger (Helbig 2005). Die gesamte Gruppe umfasst etwa 43 Arten mit altweltlich-pazifischer Verbreitung. Auf den ersten, oberflächlichen Blick unterscheiden sich Rohrsänger äußerlich kaum und ihre Ansprüche an den Lebensraum sind nahezu identisch. Daher gab es von jeher Kontroversen über ihre verwandtschaftlichen Beziehungen. Morphologische Studien (u.a. Haffer 1991) sowie Untersuchungen der mitochondrialen DNA (Leisler et al. 1997, Helbig & Seibold 1999) lieferten ebenfalls widersprüchliche Phyloge-

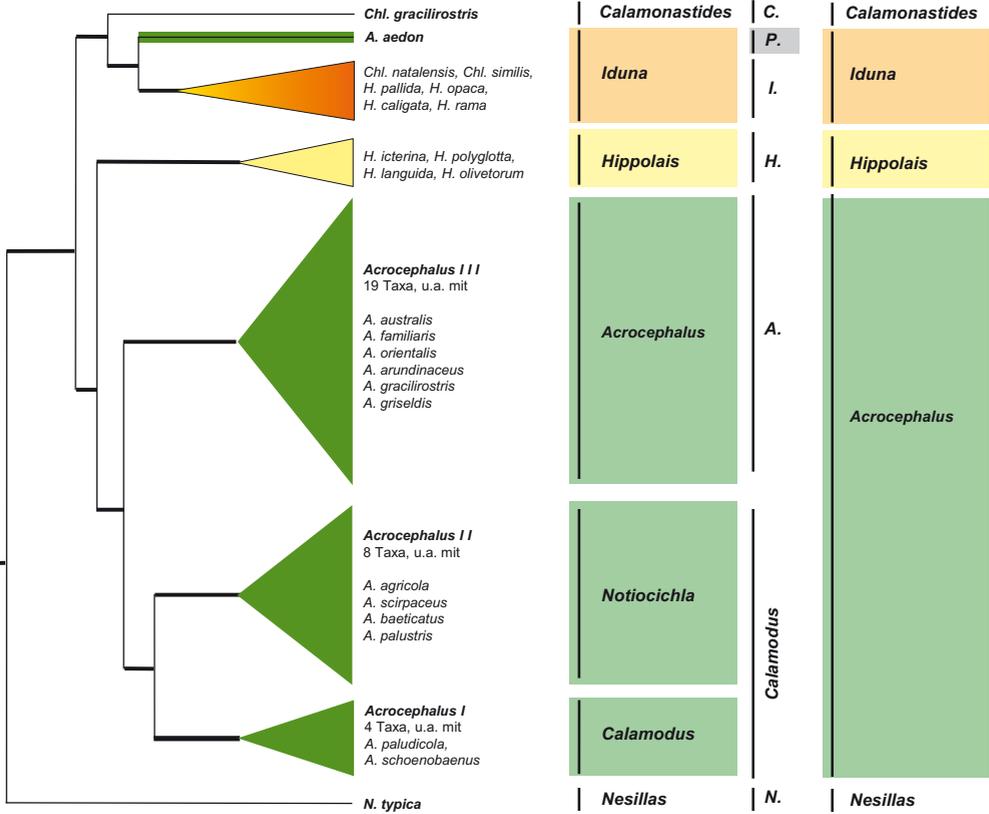


Abb. 5. Phylogenie der Rohrsänger (Acrocephalidae) basierend auf 2919 sequenzierten Basen (verändert nach Fregin et al. 2009). Jedes Dreieck fasst die Arten zusammen, die auf ein gemeinsames Aufspaltungsereignis zurückgehen. Fette Äste symbolisieren Stütz-Werte >90 % in mindestens einem von drei Testverfahren. Verschiedene Möglichkeiten der Gattungsrevision zeigen die Gruppierungen auf der rechten Seite (Chl. = *Chloropeta*, P. = *Phragmaticola*). – *Phylogeny of reed warblers (Acrocephalidae), based on 2919 sequenced bases (modified from Fregin et al. 2009).* Each triangle integrates all species which derived from the same ancestry. Bold lines indicate support values >90 %, in minimum one of three tests. Different rearrangement of the genus are shown to the right.

nien. Die Monophylie der Acrocephalidae gilt als gut gesichert (Fregin et al. 2012); dies gilt jedoch nicht für die einzelnen Gattungen, da die ursprünglichen Verwandtschaftslinien im Stammbaum anhand mitochondrialer Sequenzen nicht zweifelsfrei aufgelöst werden konnten.

Eine Weiterführung der Studien von Helbig & Seibold (1999) berücksichtigte sowohl zusätzliche Arten als auch nukleare Sequenzen (Fregin et al. 2009). Der resultierende Gen-Baum basiert auf dem kompletten Cytochrom-

b-Gen (1143 Basen) und 1776 nuklearen Basen von drei Genen bzw. Intronsequenzen. Ein vereinfachtes Dreiecks-Phylogramm (Abb. 5) veranschaulicht die wichtigsten Ergebnisse.

- (1) Die Familie der Rohrsängerverwandten (Acrocephalidae) ist monophyletisch.
- (2) Die Buschsänger (*Nesillas*) nehmen innerhalb der Familie eine basale Stellung ein.
- (3) Die Rohrsänger i.e.S. (*Acrocephalus*) bilden unter Ausschluss des Dickschnabelrohrsängers *A. aedon* eine Abstammungsgemeinschaft.

(4) Die Spötter (*Hippolais*) und Afrikanischen *Chloropeta*-Rohrsänger sind nicht monophyletisch.

Da die basalen Äste innerhalb der Familie oft nur geringe Stütz-Werte erhalten, ist die Abgrenzung der Gattungen nicht gesichert. Fregin et al. (2009) diskutieren ihre Ergebnisse aufgrund der Unsicherheiten mit Blick auf die frühen Aufspaltungsereignisse als «better resolved hypothesis». Sie erörtern mehrere mögliche Neugruppierungen, von denen sie vorerst die konservativste (Abb. 5, rechts außen) bevorzugen:

- (1) Gattung *Calamonastides* – monotypisch mit nur einer Art: Gelbbauch-Rohrsänger *Chloropeta gracilirostris*;
- (2) Gattung *Iduna* – polytypisch, unter Einschluss des Dickschnabelrohrsängers *A. aedon*, den zwei *Chloropeta*-Vertretern Schnäpperrohrsänger *C. natalensis* und Bambusrohrsänger *C. similis* sowie den vier Spötterarten Buschspötter *H. caligata*, Steppenspötter *H. rama*, Blassspötter *H. pallida* und Isabellspötter *H. opaca*;
- (3) Gattung *Hippolais* (Spötter i.e.S.) – polytypisch, mit nur noch vier Arten: Orpheusspötter *H. polyglotta*, Gelbspötter *H. icetrina*, Dornspötter *H. languida* und Olivenspötter *H. olivetorum*;
- (4) Gattung *Acrocephalus* (Rohrsänger) – polytypisch, unter Ausschluss des Dickschnabelrohrsängers *A. aedon*;
- (5) Gattung *Nesillas* (Buschsänger) – polytypisch mit fünf Arten.

Innerhalb der Gattung *Iduna* wäre eine Abspaltung des Dickschnabelrohrsängers in eine eigene Gattung denkbar, nämlich in die monotypische Gattung *Phragmaticola*. Innerhalb der Rohrsänger (*Acrocephalus*) wäre anhand der deutlichen Dreiteilung ebenfalls eine Unterteilung in drei Untergattungen denkbar, nämlich in *Acrocephalus*, *Notiocichla* und *Calamodus*. Eine weitere Möglichkeit wäre, alle untersuchten Arten nur einer einzigen Gattung zuzuordnen, nämlich *Acrocephalus*. Da die zwei Arten *Chloropeta gracilirostris* und *Acrocephalus gracilirostris* dann aber identische Namen tragen würden, würde dies mindestens eine Neubeschreibung nach sich ziehen, so dass diese Variante verworfen wurde.

Abschließend vermerken die Autoren, dass auch die von ihnen vorgeschlagene Klassifizierung nur eine Annäherung an den Spezies-Baum darstellt und dass weitere Arten und mehr nukleare Gene untersucht werden müssen, um die Evolution dieser Gruppe und insbesondere die frühen Aufspaltungsprozesse zwischen den Gattungen detailliert zu rekonstruieren. Da auch unter Einschluss von mehr als 1500 nuklearen Basen die Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der *Acrocephalus*-Rohrsänger, insbesondere die Position des Dickschnabelrohrsängers, nicht zuverlässig aufgelöst werden konnten, ist eine verlässliche Gattungsrevision innerhalb der Rohrsänger vorerst nicht möglich.

Die Neugruppierung von *Hippolais*, *Iduna* und *Calamonastides* hat demgegenüber aber bereits Einzug in die einschlägige Literatur gefunden, z.B. bei Kennerley & Pearson (2010) sowie Leisler & Schulze-Hagen (2011).

2.4. Konsequenzen für taxonomische Neugruppierungen

Aus den hier dargestellten Beispielen wird deutlich, wie schwierig die Entscheidung ist, welchem der oft widersprüchlichen Gen-Bäume mehr Glauben geschenkt werden darf. Die Leser einer Publikation können in der Regel nicht feststellen, welche Qualität ein Datensatz hat und ob die verwendeten Evolutionsmodelle auf die historischen Ereignisse passen (vgl. Wägele 2011).

Es zeigt sich, dass insbesondere frühe, weit in der Vergangenheit liegende Aufspaltungsprozesse oft nicht zuverlässig rekonstruiert werden können. Dafür können zum einen tatsächliche Evolutionsereignisse verantwortlich sein, wie z.B. die sehr schnelle Aufspaltung einer Stammart in mehrere unabhängige Evolutionslinien während einer adaptiven Radiation. Dazu zählen in der Ornithologie die sehr gut untersuchten Darwinfinken von den Galápagos-Inseln (Petren et al. 2005) und die Kleidervögel von Hawaii (Lerner et al. 2011).

Offenbar treten bei der Analyse großer Datensätze aber auch systematische Fehler auf, die allein mit längeren Sequenzen und zusätzlich untersuchten Arten nicht beseitigt werden

können. Weitere genetische Merkmale wie Einschübe oder Lücken in der Sequenzabfolge, die Anordnung von Genen auf den Chromosomen oder die Anzahl und Lage von Genkopien liefern möglicherweise neue Werkzeuge, um sehr frühe oder sehr schnell aufeinanderfolgende Evolutionsprozesse zu rekonstruieren.

Nach wie vor empfiehlt es sich aber für den «molekularen Laien», bei jedem auf Sequenzdaten basierten Stammbaum zu hinterfragen, ob die Ergebnisse plausibel sind und in Einklang mit morphologischen, bioakustischen und biogeografischen Befunden stehen.

3. Ausblick

Mit der Ansammlung molekulargenetischer Daten erlebt die Rekonstruktion der Stammesgeschichte einen Aufschwung. Die moderne Systematik geht heute aber weit über die klassische Phylogenie als Wissenschaft von der Klassifikation des Lebenden hinaus. Sequenzdaten werden auch in Zukunft eine bedeutende Rolle bei der Aufklärung der verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen Organismen spielen und dabei die Daten aus der Morphologie, Ontologie, Ethologie und geografischen Verbreitung der Arten ergänzen.

Der anfängliche Optimismus, mit DNA-Sequenzen über ein universelles Werkzeug zur phylogenetischen Rekonstruktion zu verfügen, wurde im Laufe der Jahre jedoch erschüttert. Verschiedene Gene führen nicht notwendigerweise zu den gleichen Bäumen. Selbst wenn zufällige Effekte bei der Erhebung der Daten vernachlässigt werden, ist die Idee von einer unabhängigen Methode, welche die Evolution der Arten in Raum und Zeit «wahrheitsgetreu» widerspiegelt, in dieser einfachen Form nicht haltbar.

Die Evolution einzelner Gene lässt sich in den meisten Fällen mit einem phylogenetischen Baum beschreiben, im Extremfall hat aber jedes Gen seinen eigenen Baum. Zusätzliche Effekte wie Genduplikationen, unvollständiges Aussortieren der Sequenzen («lineage sorting») und horizontaler Gentransfer führen dazu, dass es zu einem Spezies-Baum oft viele Gen-Bäume gibt. Eine spannende Frage bleibt, wie sich aus der Kollektion verschiedener Gen-Bäume

ein allgemeingültiger «Speziationsbaum» rekonstruieren lässt.

Auch mit der Sequenzierung ganzer Genome werden heute neue Herausforderungen an die molekulare Evolutionstheorie gestellt. Bislang wurde hauptsächlich die Evolution einzelner Gene untersucht. Ganze Genome erfordern die Analyse einer heterogenen Sammlung von DNA-Sequenzen, die aus kodierenden und nicht-kodierenden Genen, repetitiven und regulatorischen Sequenzen usw. besteht. Unser mikroskopischer Blick auf einzelne Gene wird mit der Betrachtung ganzer Genome enorm erweitert. Neue Fragen sind dabei beispielsweise, ob die Evolution in verschiedenen Teilen des Genoms verschieden abläuft und wenn ja, warum? Die molekulare Systematik wird auch in den kommenden Jahren ein sehr dynamischer und spannender Wissenschaftszweig bleiben. Sie bedarf jedoch der intensiven Weiterentwicklung effizienter Algorithmen sowie einer erweiterten Theorie der molekularen Evolution, an der derzeit intensiv gearbeitet wird.

Dank. Ganz herzlich danke ich der Ala, Schweizerische Gesellschaft für Vogelkunde und Vogelschutz für die Einladung zum Symposium «Ornithologie im 21. Jahrhundert». Annett Kocum, Viviane Sternkopf und Silke Fregin lieferten wichtige Zusatzen für den Vortrag und die Abbildungen. Götz-B. Reinicke, Horst Schröder und Manuel Schweizer gaben wertvolle Kommentare zum Manuskript. Ihnen allen sei hiermit herzlich gedankt.

Zusammenfassung

Für das Verständnis und die Interpretation molekularer Phylogenien ist es unerlässlich, dass die zugrundeliegenden Gen-Bäume kritisch analysiert werden. Grundsätzlich ist zu bedenken, dass Gen-Bäume lediglich die Geschichte eines DNA-Abschnitts oder Gens widerspiegeln, nicht aber zwangsläufig den Spezies-Baum abbilden. Eine Annäherung an den Spezies-Baum kann nur durch die kombinierte Analyse mehrerer unabhängiger Gen-Bäume erfolgen. Anhand von drei Beispielen wird der Einsatz molekularer Methoden in der ornithologischen Systematik und Taxonomie erörtert.

Bei den Greifvögeln (Accipitriformes) lieferte die Analyse von sieben unabhängigen Genen überraschende Ergebnisse: Die Gattung *Aquila* ist in der bisherigen Abgrenzung nicht monophyletisch. Zur Beibehaltung einer Abstammungsgemeinschaft müssen die Echten Adler um die Habichtsadler, Hauben-

adler und acht weitere Gattungen erweitert werden. Die Gattung *Accipiter* ist ebenfalls nicht monophyletisch, sondern zerfällt in vier Artengruppen. Eine Neugruppierung erscheint jedoch vorerst schwierig, da die Weihen anscheinend mit einer Teilgruppe der Habichtartigen nächstverwandt sind. Die Milane zerfallen ebenfalls in zwei Teilgruppen, während die Bussarde als die am stärksten abgeleitete Gruppe erkennbar werden.

Die vor einiger Zeit veröffentlichte Phylogenie der Möwen (Laridae), in deren Ergebnis die Gattung *Larus* aufgespalten wurde, konnte anhand eines umfangreichen molekularen Datensatzes von sechs sequenzierten Genen widerlegt werden. Die Gattung *Larus* bleibt unter Ausschluss der ursprünglichen Möwen monophyletisch. Die Aufspaltung in verschiedene Gattungen ist demzufolge zu revidieren. Zu den ursprünglichen Möwen außerhalb der Gattung *Larus* zählen u.a. Zwerg- und Rosenmöwe, Dreizehenmöwe sowie Elfenbein- und Schwalbenmöwe.

Innerhalb der Rohrsänger (Acrocephalidae) zeigte die Analyse von vier sequenzierten Genen, dass die traditionell zu den Rohrsängerverwandten zählenden Gattungen nicht monophyletisch sind. Die Rohrsänger im engeren Sinn (*Acrocephalus*) bilden nur unter Ausschluss des Dickschnabelrohrsängers *A. aedon* eine Abstammungsgemeinschaft, wobei es innerhalb der Gattung drei distinkte Gruppen gibt.

Die Spötter (*Hippolais*) und Afrikanischen *Chloropeta*-Rohrsänger sind ebenfalls nicht monophyletisch. Dies führte zur Revision der Gattungen *Hippolais*, *Iduna* und *Calamonastides*.

Die Beispiele verdeutlichen, welche große Herausforderung es für den interessierten, jedoch mit den komplizierten molekularen Methoden nicht vertrauten Ornithologen darstellt, die Flut an aktuellen Publikationen kritisch zu erfassen. In der Regel kann der Leser nicht ohne Weiteres die Glaubwürdigkeit eines veröffentlichten Stammbaums ermesen. Daher empfiehlt es sich, bei jeder auf Sequenzdaten basierten Veröffentlichung zu hinterfragen, ob die Ergebnisse plausibel und in Übereinstimmung mit den dazugehörigen morphologischen, bioakustischen und biogeografischen Befunden stehen.

Literatur

- ALSTRÖM, P., U. OLSSON, F. LEI, H. T. WANG, W. GAO & P. SUNDBERG (2008): Phylogeny and classification of the Old World Emberizini (Aves, Passeriformes). *Mol. Phylogen. Evol.* 47: 960–973.
- AVISE, J. (2000): *Phylogeography. The history and formation of species.* Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- BURGER, A. & M. GOCHFELD (1996): Family Laridae (Gulls). S. 572–623 in: J. DEL HOYO, A. ELLIOTT & J. SARGATAL (eds): *Handbook of the birds of the world.* Vol 3, Hoatzins to Auks. Lynx, Barcelona.
- CHU, P. C. (1998): A phylogeny of the gulls (Aves: Larinae) inferred from osteological and integumentary characters. *Cladistics* 14: 1–43.
- COOPER, D. N. & H. KEHRER-SAWATZKI (eds) (2008): *Handbook of human molecular evolution.* John Wiley & Sons, Hoboken.
- CROCHET, P.-A., F. BONHOMME & J.-D. LEBRETON (2000): Molecular phylogeny and plumage evolution in gulls (Larini). *J. Evol. Biol.* 13: 47–57.
- DEL HOYO, J., A. ELLIOTT & J. SARGATAL (eds) (1994): *Handbook of the birds of the world.* Vol. 2, New World vultures to guineafowl. Lynx, Barcelona.
- DWIGHT, J. (1925): The gulls (Laridae) of the world: their plumages, moults, variations, relationships and distribution. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 52: 63–408.
- FERGUSON-LEES, J. & D. A. CHRISTIE (2001): *Raptors of the world.* Helm, London.
- FREGIN, S. (2012): *Molecular systematics of the avian superfamily Sylvioidea with special regard to the families Acrocephalidae and Locustellidae (Aves: Passeriformes).* Diss. Univ. Greifswald, Vogelwarte Hiddensee. (http://ub-ed.ub.uni-greifswald.de/opus/volltexte/2013/1386/pdf/Diss_Fregin_Silke.pdf)
- FREGIN, S., M. HAASE, U. OLSSON & P. ALSTRÖM (2009): Multi-locus phylogeny of the family Acrocephalidae (Aves: Passeriformes) – the traditional taxonomy overturned. *Mol. Phylogen. Evol.* 52: 866–878.
- FREGIN, S., M. HAASE, U. OLSSON & P. ALSTRÖM (2012): New insights into family relationships within the avian superfamily Sylvioidea (Passeriformes) based on seven molecular markers. *BMC Evol. Biol.* 12: 157.
- GLAUBRECHT, M. (ed.) (2010): *Evolution in action. Case studies in adaptive radiation, speciation and the origin of biodiversity.* Special volume from the SPP 1127 «Radiations – genesis of biological diversity» of the DFG. Springer, Heidelberg.
- GLUTZ VON BLOTZHEIM, U. N. & K. M. BAUER (1982): *Handbuch der Vögel Mitteleuropas.* Bd. 8, Charadriiformes. Akad. Verl.-Ges., Wiesbaden.
- GLUTZ VON BLOTZHEIM, U. N., K. M. BAUER & E. BEZZEL (1971): *Handbuch der Vögel Mitteleuropas.* Bd. 4, Falconiformes. Akad. Verl.-Ges., Frankfurt a.M.
- GRAUR, D. & W.-H. LI (2000): *Fundamentals of molecular evolution.* 2nd ed. Sinauer, Sunderland, MA.
- HAESLER, A. VON & D. LIEBERS (2003): *Molekulare Evolution.* Fischer Taschenbuch Verl., Frankfurt.
- HAFFER, J. (1991): Familie Sylviidae – Zweigsänger (Grasmücken und Verwandte). S. 11–17 in: U. N. GLUTZ VON BLOTZHEIM & K. M. BAUER (Hrsg.): *Handbuch der Vögel Mitteleuropas.* Bd. 12, Sylviidae. Aula, Wiesbaden.
- HELBIG, A. J. (2000): Was ist eine Vogel-«Art»? Ein Beitrag zur aktuellen Diskussion um Artkonzepte in der Ornithologie. Teil I; Teil II: Was können DNA-Untersuchungen zur Arttaxonomie beitragen? Teil III: Stammesgeschichtliche Aspekte. *Limicola* 14: 57–79, 172–184, 200–246.

- HELBIG, A. J. (2005): Systematik und Taxonomie der Vögel Mitteleuropas. In: H.-G. BAUER, E. BEZZEL & W. FIEDLER (Hrsg.): Das Kompendium der Vögel Mitteleuropas. Aula, Wiebelsheim.
- HELBIG, A. J., A. KOCUM, I. SEIBOLD & M. J. BRAUN (2005): A multi-gene phylogeny of Aquiline eagles (Aves: Accipitriformes) reveals extensive paraphyly at the genus level. *Mol. Phylogen. Evol.* 35: 147–164.
- HELBIG, A. J. & I. SEIBOLD (1999): Molecular phylogeny of Palearctic-African *Acrocephalus* and *Hippolais* warblers (Aves: Sylviidae). *Mol. Phylogen. Evol.* 11: 246–260.
- HUELSENBECK, J. P., F. RONQUIST, R. NIELSEN & J. P. BOLLBACK (2001): Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science* 294: 2310–2314.
- KENNERLEY, P. & D. PEARSON (2010): Reed and bush warblers. Helm, London.
- KLEIN, J. & N. TAKAHATA (2002): Where do we come from? The molecular evidence for human descent. Springer, Berlin.
- KOCUM, A. (2007): Phylogenie der Accipitriformes (Greifvögel) anhand verschiedener nuklearer und mitochondrialer DNA-Sequenzen. Diss. Univ. Greifswald, Vogelwarte Hiddensee. (http://www.mnf.uni-greifswald.de/fileadmin/Vogelwarte/Dissertation_von_Annett_Kocum.pdf)
- LEISLER, B., P. HEIDRICH, K. SCHULZE-HAGEN & M. WINK (1997): Taxonomy and phylogeny of reed warblers (genus *Acrocephalus*) based on mtDNA sequences and morphology. *J. Ornithol.* 138: 469–496.
- LEISLER, B. & K. SCHULZE-HAGEN (2011): The reed warblers: Diversity in a uniform bird family. KNNV Publishing, Zeist.
- LERNER, H. R. L., M. MEYER, H. F. JAMES, M. HOFREITER & R. C. FLEISCHER (2011): Multilocus resolution of phylogeny and timescale in the extant adaptive radiation of Hawaiian honeycreepers. *Current Biol.* 21: 1838–1844.
- MARTENS, J. & N. BAHR (2007–2012): Dokumentation neuer Vogel-Taxa. *Vogelwarte* 45: 119–134, 46: 95–120, 47: 97–117, 48: 97–117, 48: 161–179, 49: 85–104, 50: 177–196.
- MOYNIHAN, M. (1959): A revision of the family Laridae (Aves). *Amer. Mus. Novit.* 1928: 1–42.
- NEI, M. & S. KUMAR (2000): Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York.
- OLSSON U., P. ALSTRÖM, L. SVENSSON, M. ALIABADIAN & P. SUNDBERG (2010): The *Lanius excubitor* (Aves, Passeriformes) conundrum – taxonomic dilemma when molecular and non-molecular data tell different stories. *Mol. Phylogen. Evol.* 55: 347–357.
- PAGE, R. D. M. & E. C. HOLMES (1998): Molecular evolution: A phylogenetic approach. Blackwell Science, Oxford.
- PETREN, K., P. R. GRANT, B. R. GRANT & L. F. KELLER (2005): Comparative landscape genetics and the adaptive radiation of Darwin's finches: the role of peripheral isolation. *Mol. Ecol.* 14: 2943–2957.
- PONS, J.-M., A. HASSANIN & P.-A. CROCHET (2005): Phylogenetic relationships within the Laridae (Charadriiformes: Aves) inferred from mitochondrial markers. *Mol. Phylogen. Evol.* 37: 686–699.
- PRICE, T. (2008): Speciation in birds. Roberts and Company, Greenwood Village.
- SANGSTER, G., A. B. VAN DEN BERG, A. J. VAN LOON & C. S. ROSELAAR (2009): Dutch avifaunal list: Taxonomic changes in 2004–2008. *Ardea* 97: 373–381.
- SCHNELL, G. D. (1970): A phenetic study of the sub-order Lari (Aves) II. Phenograms, discussion, and conclusions. *Syst. Zool.* 19: 35–57.
- STERNKOPF, V. (2011): Molekulargenetische Untersuchung in der Gruppe der Möwen (Laridae) zur Erforschung der Verwandtschaftsbeziehungen und phylogeographischen Differenzierung. Diss. Univ. Greifswald. (http://ub-ed.ub.uni-greifswald.de/opus/volltexte/2011/980/pdf/Dissertation_Viviane_Sternkopf_Uni_Bib.pdf)
- WÄGELE, J. W. (2011): Deep Metazoan phylogeny. Erfolge eines DFG-Schwerpunktprogramms. S. 34–41 in: R. A. STEINBRECHT (Hrsg.): *Zoologie 2011 – Mitt. Deutsch. Zool. Ges.*
- WÄGELE, J. W., H. LETSCH, A. KLUSMANN-KOLB, C. MAYER, B. MISOF & H. WÄGELE (2009): Phylogenetic support values are not necessarily informative: the case of the Serialia hypothesis (a mollusk phylogeny). *Front. Zool.* 6: 12.

