

**UTA VIVIANE SIMON**

---

**Genetische Konnektivität von Wildschweinen  
in von der Afrikanischen Schweinepest  
betroffenen Gebieten**



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines  
**Dr. med. vet.**  
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFFERSWEILER VERLAG**

**Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.**

**Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei der Autorin dieses Werkes.**

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autorin oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2025

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publisher.

1<sup>st</sup> Edition 2025

© 2025 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, 35396 GIESSEN, GERMANY  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus der Klinik für Schweine - Bestandsmedizin und molekulare Diagnostik und dem  
Arbeitskreis Wildbiologie

Betreuer: Prof. Dr. Dr. habil. Gerald Reiner

# **Genetische Konnektivität von Wildschweinen in von der Afrikanischen Schweinepest betroffenen Gebieten**

## **INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Uta Viviane Simon**

Tierärztin aus Mannheim

Gießen 2024

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

Gutachter: Prof. Dr. Dr. habil. Reiner  
Prof. Dr. Lierz

Tag der Disputation: 12.11.2024

### **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

Lonsee, 13.05.2024

Uta Viviane Simon

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Wildschweine (<i>Sus scrofa</i>).....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Taxonomie .....	3
2.1.2. Lebensräume und Verbreitung.....	3
2.1.3. Wildschweine in Europa und Deutschland.....	3
2.1.4. Sozialstrukturen und Fortpflanzung.....	6
2.1.5. Ernährung .....	7
2.1.6. Bewegungen und Kontakte zwischen den Individuen .....	7
2.1.7. Barrieren für Wildschweinbewegungen .....	8
<b>2.2. Afrikanische Schweinepest (ASP).....</b>	<b>11</b>
2.2.1. Das Virus der Afrikanischen Schweinepest (ASFV).....	11
2.2.2. Pathogenese und Klinik .....	12
2.2.3. Bekämpfung .....	13
2.2.4. Afrikanische Schweinepest in Europa .....	15
2.2.5. ASP-Virus in Deutschland.....	17
<b>2.3. Populationsgenetik .....</b>	<b>20</b>
2.3.1. Genetische Diversität.....	20
2.3.2. Mikrosatelliten .....	20
2.3.3. Allelfrequenz.....	21
2.3.4. Allelreichtum ( $A_r$ ; Richness).....	21
2.3.5. Evenness .....	21
2.3.6. Informativness .....	22
2.3.7. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.....	22
2.3.8. Chi-Quadrat-Test.....	23
2.3.9. Genetische Drift und Wahlund-Effekt .....	24
2.3.10. Genfluss und Migration.....	24
2.3.11. Private Allele .....	24
2.3.12. Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium, LD).....	25
2.3.13. Nullallele und Stotterbanden .....	25
<b>2.4. Populationsgenetische Kennzahlen.....</b>	<b>26</b>
2.4.1. Effektive Populationsgröße und Populationsflaschenhals (bottleneck).....	26
2.4.2. Beobachtete und erwartete Heterozygotie.....	26
2.4.3. F-Statistik .....	27

2.4.4.	Paarweise Populationsdifferenzierung .....	28
2.4.5.	Isolation by Distance und Manteltest.....	29
<b>2.5.</b>	<b>Analyse der Populationsstruktur – Bayes’sches Clustering.....</b>	<b>29</b>
<b>2.6.</b>	<b>Populationsgenetische Kenngrößen bei Wildschweinen in Europa.....</b>	<b>29</b>
<b>3.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>35</b>
<b>3.1.</b>	<b>Materialien .....</b>	<b>35</b>
3.1.1.	Geräte.....	35
3.1.2.	Chemikalien und Puffer.....	35
<b>3.2.</b>	<b>Untersuchungsgebiet.....</b>	<b>36</b>
<b>3.3.</b>	<b>Probenmaterial und Herkunft .....</b>	<b>39</b>
<b>3.4.</b>	<b>Methoden.....</b>	<b>42</b>
3.4.1.	DNA-Isolation .....	42
3.4.2.	Messung der DNA-Konzentration.....	42
3.4.3.	Mikrosatelliten-Primer .....	43
3.4.4.	Polymerasekettenreaktion (PCR).....	45
3.4.5.	Kapillarsequenzierung .....	46
<b>3.5.</b>	<b>Auswertung .....</b>	<b>47</b>
3.5.1.	Peak Scanner Software .....	47
3.5.2.	Populationsgenetische Auswertung mit der R-Software .....	47
3.5.3.	Untersuchung der genetischen Populationsstruktur (Bayes’sches Clustering) .....	48
3.5.4.	Genetische Distanzen.....	49
3.5.5.	Zusammenführung der Ergebnisse aus dem Bayes’schen Clustering.....	50
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>51</b>
<b>4.1.</b>	<b>Monomorphe Loci .....</b>	<b>51</b>
<b>4.2.</b>	<b>Individuen mit identischen Multilokusgenotypen (MLG).....</b>	<b>51</b>
<b>4.3.</b>	<b>Private Allele .....</b>	<b>51</b>
<b>4.4.</b>	<b>Nullallele.....</b>	<b>52</b>
<b>4.5.</b>	<b>Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) .....</b>	<b>54</b>
<b>4.6.</b>	<b>Mikrosatelliten Kennwerte .....</b>	<b>55</b>

<b>4.7. Populationsgenetische Kenngrößen</b>	<b>55</b>
<b>4.8. Paarweise Populationsdifferenzierung</b>	<b>57</b>
<b>4.9. Manteltest</b>	<b>58</b>
<b>4.10. Clustering und genetische Distanzen</b>	<b>60</b>
4.10.1. STRUCTURE	60
4.10.2. TESS	64
4.10.3. BAPS	67
4.10.4. Gemeinsame Betrachtung	70
<b>5. DISKUSSION</b>	<b>74</b>
<b>6. SCHLUSSFOLGERUNG UND HANDLUNGSEMPFEHLUNGEN</b>	<b>83</b>
<b>7. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>84</b>
<b>8. SUMMARY</b>	<b>85</b>
<b>9. EIGENE PUBLIKATIONEN</b>	<b>86</b>
<b>10. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>87</b>
<b>DANKSAGUNG</b>	<b>99</b>
<b>ANHANG</b>	<b>100</b>
Anhang 1: weitere Tabellen zu den Populationsgenetischen Untersuchungen	100
Anhang 2: Tabellen zu der paarweisen Populationsdifferenzierung	105

## **Abbildungsverzeichnis:**

<b>Abbildung 1:</b> Maximale Ausdehnung der Eisschilde .....	4
<b>Abbildung 2:</b> Wildschweindichte in Deutschland.....	6
<b>Abbildung 3:</b> ASP in Europa.....	15
<b>Abbildung 4:</b> ASP in Deutschland und Westpolen seit September 2020 .....	17
<b>Abbildung 5:</b> Verbreitung der ASP-Varianten in Ostdeutschland .....	19
<b>Abbildung 6:</b> Untersuchungsgebiet.....	37
<b>Abbildung 7:</b> Karte der untersuchten Populationen .....	40
<b>Abbildung 8:</b> Ergebnisse des Kapillarsequenzers.....	46
<b>Abbildung 9:</b> Auswertung der Peaks im Peak scanner .....	47
<b>Abbildung 10:</b> Mantel-Korrelogramm.....	58
<b>Abbildung 11:</b> Variation der genetischen Distanz .....	59
<b>Abbildung 12:</b> Zuordnung zu den Clustern 1 und 2 nach der STRUCTURE-Analyse .....	60
<b>Abbildung 13:</b> Hierarchische STRUCTURE-Analyse.....	61
<b>Abbildung 14:</b> Zuordnung zu den Clustern 1.1.1 – 2.2 nach der STRUCTURE-Analyse ....	62
<b>Abbildung 15:</b> genetische Distanzen anhand der STRUCTURE-Analyse .....	63
<b>Abbildung 16:</b> Zuordnung der Individuen zu den Clustern anhand der TESS-Analyse .....	65
<b>Abbildung 17:</b> genetische Distanzen anhand der TESS-Analyse .....	66
<b>Abbildung 18:</b> Zuordnung zu den Clustern anhand der BAPS-Analyse .....	68
<b>Abbildung 19:</b> Genetische Distanzen anhand der BAPS-Analyse.....	69
<b>Abbildung 20:</b> Clusterzuordnung nach der Zusammenführung der Ergebnisse .....	72
<b>Abbildung 21:</b> Genetische Distanzen nach der Zusammenführung der Ergebnisse .....	73

## **Tabellenverzeichnis:**

<b>Tabelle 1:</b> Vergleich der Kenndaten von Mikrosatelliten anderer Studien .....	31
<b>Tabelle 2:</b> Vergleich der Kennwerte von Mikrosatelliten .....	32
<b>Tabelle 3:</b> Populationsgenetische Kenngrößen bisheriger Studien .....	34
<b>Tabelle 4:</b> Probenherkunft .....	39
<b>Tabelle 5:</b> Populationen.....	41
<b>Tabelle 6:</b> Liste der verwendeten Mikrosatelliten-Primer .....	44
<b>Tabelle 7:</b> Private Allele pro Population und Mikrosatellit .....	51
<b>Tabelle 8:</b> Nullallelfrequenzen der Mikrosatelliten.....	52
<b>Tabelle 9:</b> Nullallelfrequenzen der Populationen (nur signifikante Werte angegeben) .....	53
<b>Tabelle 10:</b> Abweichungen der Gesamtpopulation vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht .....	54
<b>Tabelle 11:</b> Mikrosatelliten Kennwerte .....	55
<b>Tabelle 12:</b> Populationsgenetische Kenngrößen .....	56
<b>Tabelle 13:</b> Wert der Paarweisen Populationsdifferenzierung.....	57
<b>Tabelle 14:</b> Fst-Werte um die A11 .....	57

## Abkürzungsverzeichnis:

ABB	Abbildung
ARBO	arthropod-borne virus
Ar	Allelreichtum
ASP	Afrikanische Schweinepest
ASFV	African swine fever virus
BB	Brandenburg
FLI	Friedrich-Löffler-Institut
DJV	Deutscher Jagdverband
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EFSA	European Food Safety Authority (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
Ho	beobachtete Heterozygotie
He	erwartete Heterozygotie
HWG	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht
IBD	Isolation by distance
ISAG	International Society for Animal Genetics
LD	Linkage Disequilibrium
MGL	Multilocusgenotypen
MVP	Mecklenburg-Vorpommern
NI	Niedersachsen
PCR	Polymerase chain reaction
PDNS	Porcine Dermatitis Nephropathie Syndrome
RLP	Rheinland-Pfalz
PRRS	Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome
SMM	Schrittweises Mutationsmodell
SN	Sachsen
ST	Sachsen-Anhalt
STR	Short tandem repeat
WOAH	World Organisation for Animal Health



# 1. Einleitung

Von der Bevölkerung weitgehend unbemerkt tritt eine Erkrankung in unseren Wildschweinpopulationen auf und bedroht die Haltung von Hausschweinen. Seit ihrem Eintrag im Jahr 2020 gab es bislang 5566 Fälle (Stand 3.11.23) bei Wildschweinen und 8 Nachweise bei Hausschweinebeständen in Deutschland (FLI).

Die Afrikanische Schweinepest (ASP) ist eine verlustreiche Tierseuche, die sich in ihrem aktuellen Seuchenzug seit 2007 wieder in Europa ausbreitet. Für den Menschen und andere Tiere ungefährlich, ist sie für Suide mit einer Mortalitätsrate von bis zu 100 % umso bedrohlicher (Blome et al. 2020).

Ein Ausbruch, der in Afrika endemisch vorkommenden Erkrankung, wurde seit 2005 in 74 Ländern gemeldet. Allein im Jahr 2022 kamen 3 neue Länder dazu. Seit 2014 sind auch einige Länder der EU betroffen, unter anderem Ungarn, Italien, Polen, Belgien und Tschechien. Wobei es Belgien 2020 und Tschechien 2018 gelungen ist die ASP in ihren Ländern wieder auszurotten (WOAH - World Organisation for Animal Health 2022).

Über die Grenze zu Polen kam das Afrikanische Schweinepestvirus im Juli 2020 nach Ostdeutschland und wurde das erste Mal in Brandenburg 6 km von der polnischen Grenze entfernt nachgewiesen (Sauter-Louis et al. 2020). Innerhalb der nächsten Monate gab es mehrere Einträge entlang der polnischen Grenze und eine weitere Ausbreitung des Virus beim Schwarzwild (Sauter-Louis et al. 2022).

Das Afrikanische Schweinepestvirus stellt aber nicht nur aufgrund der epidemiologischen Faktoren für die Haus- und Wildschweinbestände eine große Gefahr dar. Denn auch die aus seuchenrechtlichen Gründen zu ergreifenden Maßnahmen, wie das Keulen betroffener Bestände und die vermehrte Jagd, führen zum Tod tausender Tiere. Zusätzlich wird bei einem amtlich nachgewiesenen Ausbruch der Export von Schweinen und deren Produkten in viele Drittländer verboten. In der Folge leidet die gesamte Schweineproduktion der betroffenen Länder. Die Erforschung der Afrikanischen Schweinepest spielt deshalb eine wichtige Rolle im Kampf gegen ihre Verbreitung. Das Wissen über das Virus soll genutzt werden, um die Bekämpfungsmaßnahmen zu optimieren.

Da andere Erkrankungen gezeigt haben, dass über Verwandtschaftsverhältnisse benachbarter Populationen Aussagen zur Erregerverbreitung gemacht werden können (Benton et al. 2016; Grear et al. 2010; Podgórski et al. 2021), bietet sich dieser Ansatz auch für Forschungen zur Afrikanischen Schweinepest an.

Ziel der Arbeit war es, mit Hilfe von populationsgenetischen Untersuchungen von Wildschweinen in Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen und Sachsen-Anhalt die dortigen Verwandtschaftsverhältnisse von Wildschweinpopulationen zu untersuchen, um die

Konnektivität zwischen den Wildschweinpopulationen zu quantifizieren und mögliche Ausbreitungsszenarien sowie Hinweise auf mögliche Barrieren zu generieren. Hierzu wurden in Zusammenarbeit mit dem Friedrich-Löffler-Institut (FLI) die populationsgenetischen Daten mit epidemiologischen und genomischen Daten zum ASP-Virus verknüpft und gemeinsam ausgewertet.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Wildschweine (*Sus scrofa*)

#### 2.1.1. Taxonomie

Das eurasische Wildschwein (*Sus scrofa*), gehört zu den am weitest verbreiteten Landsäugetieren. Taxonomisch wird es in die Ordnung der Paarhufer (*Artiodactyla*) und in die Unterordnung der Schweineähnlichen (*Suioidea*) eingeordnet (Gongora et al. 2017). In der Familie der echten Schweine (*Suidae*) gehört es zu der Gattung *Sus* (Linnaeus, 1758). Diese kann wiederum anhand von Craniometrischen Charakteristika in 2 Gruppen aufgeteilt werden (Groves and Grubb 2011). Die *Verrucosa*-Gruppe bestehend aus den Bart- und Pustelschweinen, die nur in Südostasien vorkommen und der *Scrofa*-Gruppe zu der auch, neben 10 weiteren Arten, das eurasische Wildschwein gehört.

#### 2.1.2. Lebensräume und Verbreitung

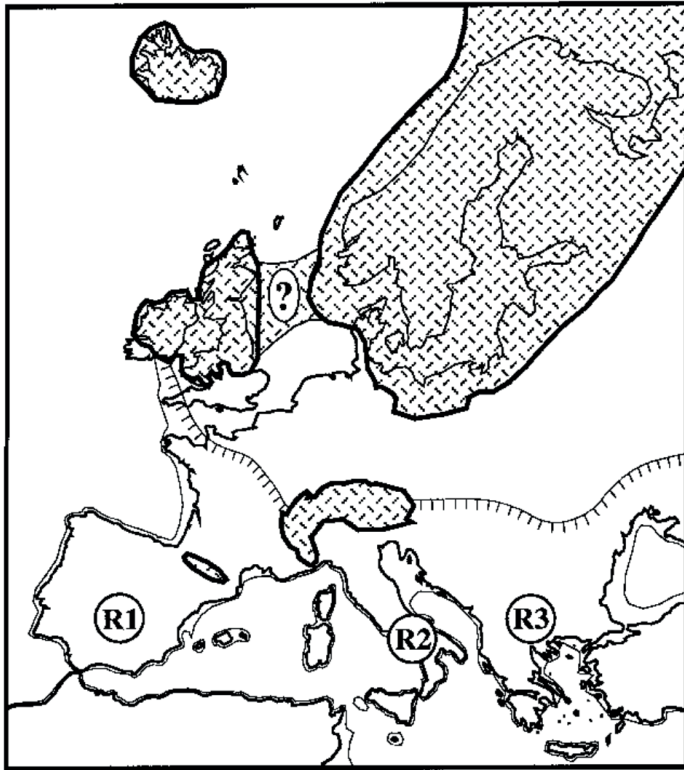
Ursprünglich in Eurasien verbreitet, von Westeuropa bis ans Mittelmeer, nach Ostrusland sowie Japan und Südostasien, kommt das Wildschwein heute auf allen Kontinenten, außer der Antarktis, vor (Keuling and Leus 2019; Sjarmidi and Gerard 1988).

Wildschweine sind bezüglich ihres Lebensraums sehr flexibel und anpassungsfähig. Sie bevölkern viele verschiedene Lebensräume, von tropischem Regenwald, über gemäßigte Wälder bis hin zu Halbwüsten (Briedermann 2009; Sjarmidi and Gerard 1988). Wildschweine leben vorzugsweise in dichten Wäldern, aber auch landwirtschaftlich genutzten Flächen bieten in der Vegetationsperiode genügend Futter und Schutz (Keuling et al. 2017).

In den letzten Jahren werden auch urbane Räume immer mehr zu ihrem Lebensraum. Waren es 1995 noch knapp 900 Tiere die in Berlin erlegt wurden, stieg die Zahl in letzten Jahren schon über 2000 Tiere jährlich (Senatsverwaltung für Umwelt, Mobilität, Verbraucher- und Klimaschutz Berlin 2022).

#### 2.1.3. Wildschweine in Europa und Deutschland

Die letzte Eiszeit und die darauf folgende schnelle Ausbreitung der Wildschweine sind bis heute noch die wichtigsten Einflüsse auf die genetische Diversität der Wildschweine in Europa (Scandura et al. 2008). Durch Schnee und Kälte wurden sie aus ihren Lebensräumen in Zentraleuropa vertrieben und konnten nur in den wärmeren eiszeitlichen Refugien überleben. Die Refugien auf den Europäischen Halbinseln (dem Balkan, Italien und der Iberische Halbinsel) und die Kaukasus Region bildeten die wichtigsten Rückzugsgebiete für verschiedene Tierarten während schwieriger klimatischer Bedingungen (Hewitt 1999; Sommer and Nadachowski 2006).



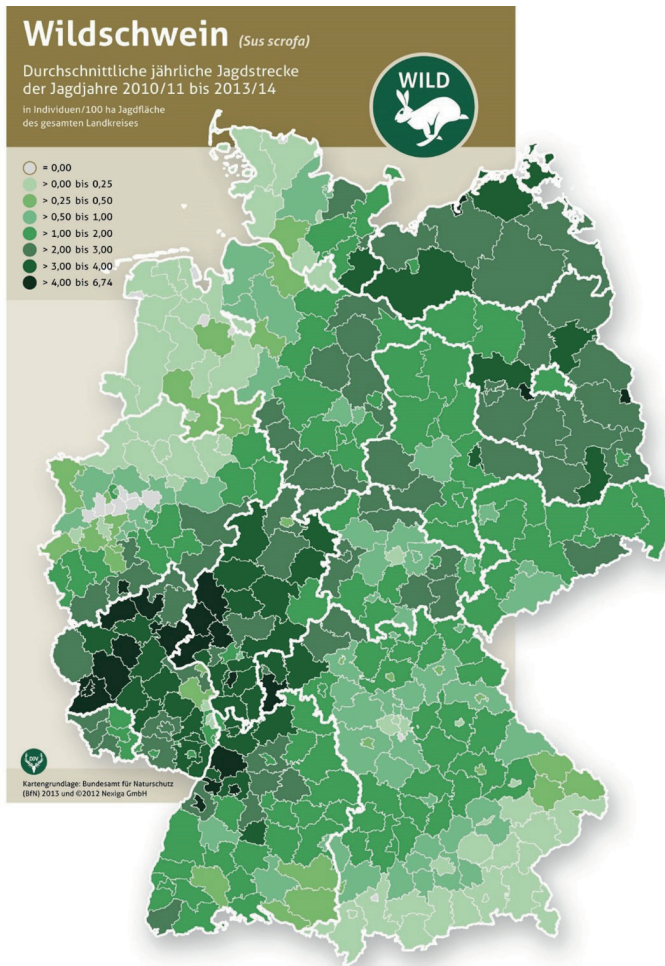
**Abbildung 1:** Maximale Ausdehnung der Eisschilde (schraffierte Bereiche) und des Permafrostgebiets (skalierte Linie) während der letzten Eiszeit mit den Refugien in Portugal-Spanien (R1), in Italien (R2) und auf dem Balkan (R3) (aus Taberlet et al. 1998)

Veličković et al. (2016) konnten zeigen, dass Wildschweine aus Europa genetisch in drei Genpools eingeteilt werden können, die geographisch mit den europäischen Halbinseln korrelieren und sich in Zentraleuropa vermischen. Damit wird die These von Veličković et al. (2015) untermauert, nach der die Wiederbesiedlung Europas von der Iberischen Halbinsel, dem Balkan und aus Italien erfolgte und die Alpen nicht wie bisher vermutet die Wiederbesiedlung aus Italien verhindert haben (Scandura et al. 2008; Taberlet et al. 1998). Unabhängig davon wird der Balkan, aufgrund fehlender Barrieren, als das wichtigste Refugium für die Ausbreitung der Wildschweine nach dem letzteiszeitlichen Maximum angesehen (Alexandri et al. 2012; Veličković et al. 2015). Anhand des Leading-Edge-Modells von Hewitt (1999) lässt sich die Ausbreitung der Wildschweine aus dem Balkan nach Zentraleuropa und der damit einhergehende Verlust an genetischer Diversität in den neuen Populationen erklären (Alexandri et al. 2012; Veličković et al. 2015). Es besagt, dass Tiere, die in bisher nicht

besiedelte Gebiete abwandern und Kolonien weit weg von der Hauptpopulation bilden, sich sehr schnell vermehren bevor weitere Tiere aus der Hauptpopulation hinzukommen. Dies führt zum sogenannten Flaschenhals, zu genetischer Drift und zu vermehrter Homozygotie in der neuen Kolonie.

Zu einem abermals großen Einschnitt in die Wildschweinausbreitung kam es in Europa im 19. und 20. Jahrhundert. Die steigenden Wildschäden in den landwirtschaftlich genutzten Flächen, Kriegs- und Krisenzeiten und die erleichterte Bejagung sorgten bis zur Mitte des 20. Jahrhundert dafür, dass sich die Wildschweinzahl in Europa drastisch reduzierte (Briedermann 2009). In den Niederlanden, Dänemark, Schweden und England war das Wildschwein zeitweise sogar ausgerottet. Auch in vielen deutschen Gebieten, wie zum Beispiel Baden-Württemberg, waren kaum noch Tiere zu finden. Das änderte sich nach dem zweiten Weltkrieg. Durch neue Jagdgesetze und den inzwischen reduzierten Jagddruck konnte sich die Population erholen (Briedermann 2009). Für den großen Anstieg der Wildschweinzahlen ab der Mitte des 20. Jahrhunderts werden ein üppiges Futterangebot auf den landwirtschaftlich genutzten Flächen, aber auch Wiederaufforstungen, mildere Winter und das Fehlen von natürlichen Fressfeinden verantwortlich gemacht (Massei et al. 2015; Sáez-Royuela and Tellería 1986). Wurden beispielsweise in Brandenburg zwischen 1972-1982 durchschnittlich noch 23.607 Tiere pro Jahr erlegt, betrug die durchschnittliche Jagdstrecke im Zeitraum 2011 bis 2021 schon 76.571 Tiere. Im bisherigen Rekordjahr 2019/2020 wurden 102.456 Tiere erlegt (Deutscher Jagdverband 2023; Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Klimaschutz 2023).

Wildschweine findet man heute wieder in ganz Deutschland. Die Wilddichte wird anhand von Abschlusszahlen geschätzt und ist im Saarland, Rheinland-Pfalz und Hessen besonders hoch. Aber auch im Osten Deutschlands in Mecklenburg-Vorpommern und Brandenburg finden sich stark besiedelte Landkreise.



**Abbildung 2:** Wildschweindichte in Deutschland; WILD-Jahresbericht 2014 (Arnold et al. 2015)

#### 2.1.4. Sozialstrukturen und Fortpflanzung

Das Wildschwein lebt in einer matriarchalen Familiengruppe, der Rotte. Sie besteht aus einer oder mehreren adulten Weibchen (Bachen) und deren Nachwuchs des letzten und vorletzten Jahres (Keuling et al. 2017). Die männlichen Nachkommen verlassen die Gruppe in einem Alter von ungefähr einem Jahr und bilden, bis zur nächsten Rauschzeit, sogenannte Überläuferrotten. Zu diesem Zeitpunkt sind sie zwar geschlechtsreif, nehmen meist aber noch nicht aktiv am Reproduktionsgeschehen teil (Briedermann 2009). Ab einem Alter von drei

Jahren leben die Keiler als Einzelgänger und schließen sich nur während der Paarungszeit wieder den Rotten an (Dardaillon 1988).

Weiblichen Nachkommen bleiben meist in der Gruppe. Die Trennung erfolgt, wenn überhaupt, erst nach der Geburt der ersten eigenen Nachkommen und selbst dann siedeln sie sich meist in der Nähe ihres Geburtsortes an (Podgórski et al. 2014). Ab einem Gewicht von ungefähr 30 kg kann es bei den jungen Weibchen während der Brunst zur ersten Gestation kommen. Dieses Gewicht wird in Europa oft schon im ersten Lebensjahr erreicht (Gethöffer et al. 2007). Wildschweine vermehren sich grundsätzlich saisonal. Die Paarung findet zwischen Oktober und Mai statt, mit einem Höhepunkt in den Wintermonaten. In den letzten Jahren gibt es jedoch immer wieder Berichte über eine asaisonale Fortpflanzung (Gethöffer et al. 2007).

Nach einer Tragzeit von 112 bis 120 Tagen kommen die Frischlinge hauptsächlich im März oder April zur Welt. Die Wurfgröße liegt in Deutschland im Durchschnitt bei 6 bis 7 Frischlingen (Keuling et al. 2017). In einem Jahr mit mildem Klima, guter Futterverfügbarkeit sowie bei hohem Jagddruck kann sich auf Grund der hohen Reproduktionsrate die Population verdoppeln (Keuling et al. 2013).

### 2.1.5. Ernährung

Wildschweine sind Omnivoren und ernähren sich hauptsächlich pflanzlich, von Samen, Früchten Blättern, Stängeln, Zwiebeln und Wurzeln. Gerade auch landwirtschaftliche Kulturpflanzen stehen auf ihrem Speiseplan. Zur tierischen Nahrung zählen Regenwürmer, Insekten, Schnecken, aber auch kleine Säugetiere, Amphibien, Fische und Vögel sowie deren Eier und Jungtiere (Briedermann 2009; Keuling et al. 2017). Im Rahmen der Übertragung von Erkrankungen ist hier zu erwähnen, dass auch Essensabfälle, so weit verfügbar, gerne gefressen werden. Hier spielen im Moment vor allem Schweinefleisch und andere Schweineprodukte eine Rolle bei der Übertragung der Afrikanischen Schweinepest (Chenais et al. 2018).

### 2.1.6. Bewegungen und Kontakte zwischen den Individuen

Hauptgründe für Wildschweinbewegungen sind die Suche nach Futter und die Fortpflanzung (Morelle et al. 2015). Dabei legen sie täglich ca. 10 km in einem Territorium (home range) von durchschnittlich 800 ha zurück (Keuling et al. 2017; Podgórski et al. 2013). Abgesehen davon gibt es auch Berichte über Rotten die 500 km innerhalb weniger Monate zurücklegten und sich dabei bis zu 100 km von ihrem Hauptaufenthaltsgebiet entfernten (Jerina et al. 2014).

Weitere Tagesstrecken (bis 30 km) werden seltener zurückgelegt und dann eher von Keilern. Am deutlichsten ist das in ihrem zweiten Lebensjahr zu beobachten, im dem bis zu 50 % der männlichen Tiere ihr Geburtsgebiet verlassen (Podgórski et al. 2014).

Während der Paarungszeit kommt es bei den Keilern zu einer gesteigerten Aktivität. Sie suchen paarungswillige Weibchen und verlassen dafür zeitweise ihre Streifgebiete und schließen sich den Rotten kurzfristig an (Keuling et al. 2017).

Intensität und Länge der Aktivitäten hängen von vielen Faktoren ab. Angepasst an lokale Bedingungen können Wildschweine ihr Verhalten ändern. So ist ihre Aktivität in von Menschen unberührten Regionen gleichmäßig über den Tag verteilt, während sie in urbanen und Menschen-dominierten Räumen nachtaktiv sind (Johann et al. 2020; Podgórski et al. 2013). Auch die zurückgelegten Strecken sind in urbanen Gebieten größer, obwohl die home ranges kleiner sind als bei ihren Verwandten aus den Wäldern (Podgórski et al. 2013).

Außerdem werden durch intensive Bejagung und Drückjagden die Aktionsradien größer und die Tiere verlassen zumindest kurzzeitig, ihre angestammten Territorien (Sodeikat and Pohlmeier 2002).

Der Kontakt zwischen einzelnen Wildschweingruppen ist eingeschränkt und abhängig von der Entfernung. Die meisten Begegnungen kommen in einer Distanz von 2-3 km vor. Danach sind nur noch sporadische Kontakte zu verzeichnen (Podgórski et al. 2018; Yang et al. 2021). Besonders zu erwähnen ist hier die Rolle der Jährlinge und Überläufer, bei denen vermehrte Kontakte innerhalb der Rotte und auch zwischen Rotten nachgewiesen werden konnten, aber auch die Tendenz zu größeren home ranges als bei Erwachsenen über 2 Jahren (Podgórski et al. 2018).

### 2.1.7. Barrieren für Wildschweinbewegungen

Die Bedeutung von natürlichen Hindernissen als Barriere für den Kontakt von Wildschweinen ist für die Bekämpfung und Vermeidung der ASP von großer Bedeutung. Dabei wird eine Barriere als Hindernis für die Ausbreitung von Arten angesehen, das die Einwanderung von Arten in ein Gebiet einschränken und den Genfluss behindern kann (Andrews 1990). Eine solche Barriere muss aber nicht undurchlässig sein. Neben den natürlichen Barrieren wie Flüssen oder Gebirgen, können auch anthropogene Strukturen als Hindernis in Frage kommen, wie Siedlungen, Straßen, oder die Eisenbahn. In Polen wurden Proben von Wildschweinen aus 3 Regionen untersucht. Dabei fielen geringere genetische Distanzen zwischen den Regionen Ermland-Masuren und Lubin auf, während für beide Populationen größere Unterschiede zu der Population aus Großpolen nachzuweisen waren. Als Gründe nennen Tajchman et al. (2018) die höhere Dichte an Barrieren zwischen Großpolen und Ermland-Masuren bzw. Lubin durch Siedlungen, Straßen und den vermehrten Verkehr in Richtung Hauptstadt. Auch für Sardinien wurden die Auswirkungen von Landschaftsmerkmalen auf die Wildschweingenetik beschrieben (Lecis et al. 2022). Straßen, Siedlungen und intensiv landwirtschaftlich genutzte Flächen scheinen den Genfluss dort zu

verringern und damit den größten Einfluss auf die genetische Differenzierung zu haben. Eine Barriere zwischen den östlichen und westlichen Regionen entlang der Autobahn SS131 konnte identifiziert werden. Inwieweit die Autobahn aber der alleinige Grund für die genetische Differenzierung ist konnte nicht abschließend geklärt werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Tadano et al. (2016) beschrieben. Sie konnten einen Einfluss von Schnellstraßen in Japan auf die genetische Struktur von Wildschweinen nachweisen. Im Gegensatz dazu konnten Frantz et al. (2012) zwar eine Barrierewirkung für Rotwild entlang der Autobahn E411 in Belgien feststellen, jedoch nicht für Wildschweine.

Flüsse stellen im Allgemeinen kaum ein Hindernis für Rehe, Wölfe oder Wildschweine dar und können durchschwommen werden (Pérez-Espona et al. 2020; Tajchman et al. 2018). Beim Rotwild konnten Inlandsflüsse in Schottland sogar als begünstigender Faktor für den Genfluss angesehen werden (Pérez-Espona et al. 2020). In der Studie von Reiner et al. (2021) mit 1186 Wildschweinen aus Rheinland-Pfalz wurde die Barrierewirkung des Rheins und der Mosel anhand von genetischen Daten analysiert. Für die Mosel mit einer Abflussgeschwindigkeit von 312 m<sup>3</sup>/s konnte kein differenzierender Effekt nachgewiesen werden. Anders waren die Ergebnisse für den Rhein mit Strömungsgeschwindigkeiten von ca. 1400 m<sup>3</sup>/s (BMU-Projekt "Verbesserung der Datengrundlage zur Bewertung hydrologischer Extreme" 2024). Dieser Fluss zeigte die größte Barrierewirkung im gesamten Untersuchungsgebiet. Eine Aussage über die absolute Dichte von Barrieren war allerdings nicht möglich.

Wie auch schon von Renner et al. (2016) beschrieben zeigen die unterschiedlichen Ergebnisse verschiedener Arbeiten, dass keine allgemeinen Schlussfolgerungen über die Durchlässigkeit von Lebensräumen gemacht werden können, sodass hier eine individuelle Betrachtung der lokalen Gegebenheiten erforderlich ist.

Neben den unbeabsichtigten Barrieren für Wildschweine werden Zäune errichtet, um aktiv die Bewegungsradien der Wildschweine einzuschränken. Sie sollen zum einen mithilfe Mensch-Wildtier-Konflikte zu reduziert (z.B. Ernteschäden oder Wildunfälle) und zum anderen die Übertragung von Krankheiten, wie der Afrikanischen Schweinepest zu verhindern. Aufgrund der gravierenden Folgen von Wildschweinzäunen insbesondere für andere Wildtiere wird ihr Einsatz aber auch kritisch gesehen (Kauertz 2022). Jedoch spielen sie laut der EFSA eine wichtige Rolle in der Verhinderung der Virusverbreitung und der spontanen Wiederbesiedlung nach Vernichtungsmaßnahmen (European Food Safety Authority et al. 2020). Zu bedenken ist aber auch, dass die meisten Zäune nicht zu 100 % wildschweinsicher sind. Demzufolge ist es wichtig, dass großwildsichere Zäune gut gewartet werden, um ihren Nutzen aufrechtzuerhalten (Laguna et al. 2022). Da die Errichtung und der Unterhalt von Zäunen erheblichen Aufwand und Kosten verursachen, zusätzlich zu den Kollateralschäden, die mit ihnen verbunden sind, ist es von großer Bedeutung, Zäune auf ein Minimum zu beschränken

und bei ihrer Errichtung bereits bestehende Barrierewirkungen zu integrieren. Hierfür ist es wichtig, die Konnektivität der Ziellandschaften und -regionen für Wildschweine zu kennen.

## 2.2. Afrikanische Schweinepest (ASP)

### 2.2.1. Das Virus der Afrikanischen Schweinepest (ASFV)

Die Erkrankung wurde zum ersten Mal 1921 vom Montgomery in Kenia beschrieben, wo viele Hausschweine an einer, der europäischen Schweinepest ähnelnden Krankheit verstarben. Die Afrikanische Schweinepest ist eine verlustreiche Erkrankung ausgelöst durch das African Swine Fever Virus (ASFV). Es handelt sich hierbei um ein großes, behülltes doppelsträngiges DNA-Virus und den einzigen Vertreter der Familie der Asfarviridae (Alonso et al. 2018). Bisher sind 24 Genotypen bekannt (Boshoff et al. 2007; Quembo et al. 2018), von denen bislang nur die Genotypen I und II auch außerhalb Afrikas nachgewiesen wurden. Genotyp I ist derzeit auf Sardinien nachzuweisen und Genotyp II breitet sich aktuell in Europa aus (European Food Safety Authority et al. 2023).

Das Virus ist hoch wirtsspezifisch und betrifft ausschließlich Individuen aus der Familie der *Suidae*. Das akkurate Reparatursystem des Virus sorgt für eine niedrige Mutationsrate. Zusammen mit dem Fehlen verwandter Viren ist auch ein Überspringen auf andere Spezies unwahrscheinlich (Dixon et al. 2020).

Die in Afrika heimischen Warzenschweine (*Phacochoerus aethiopicus*) und Buschschweine (*Potamochoerus porcus*) sind das natürliche Reservoir und zeigen meist nur persistierende inapparente Infektionen (Sánchez-Vizcaino et al. 2009). Die Übertragung erfolgt über den direkten oder indirekten Kontakt. In Afrika geschieht das oft über die Lederzecken der Gattung *Ornithodoros*. Damit gehört das ASF-Virus als einziges bekanntes DNA-Virus zu den Arboviren (arthropodborne virus; Blome et al. 2020). Im aktuellen Seuchenzug in Europa spielt die Übertragung über Zecken keine Rolle (Blome et al. 2020; EFSA Panel on Animal Health and Welfare 2010). Auch die spill-over Infektionen von Haus- auf Wildschweine, die als essenziell für die Aufrechterhaltung des Infektionszyklus für die Wildschweine in Osteuropa angesehen wurden, sind kaum von Bedeutung (Chenais et al. 2019). Der Infektionszyklus fokussiert sich hier insbesondere auf die Wildschweine und ihr Habitat (Wildboar-habitat cycle; Chenais et al. 2018). Die Schweine sind daher durch die Übertragung infolge des direkten Kontaktes zu (persistent) infizierten Tieren, sowie durch den Kontakt zu anderen Vektoren in ihrem Lebensraum gefährdet. Vor allem der Kontakt zu Blut infizierter Tiere und deren Kadavern wird als kritisch eingestuft. Denn wenn infiziertes Blut gekühlt oder gefroren ist, kann es auch nach Monaten und Jahren noch infektiös sein (Wen et al. 2019). Auch Speiseabfälle aus Schweineprodukten können eine Quelle für Infektionen darstellen. So kann das ASF-Virus in Rohschinken, wie zum Beispiel Serrano-Schinken, bis zu 140 Tage lang zu einer Infektion führen (Mebus et al. 1993). Ebenso sind kontaminiertes Wasser, Erde, Futter oder auch Arbeitsutensilien als Infektionsquellen nicht zu vernachlässigen (Chenais et al. 2019). Denn

durch seine hohe Tenazität bleibt das Virus lange in der Umwelt infektiös. Fördernd wirkt dabei eine kühle, feuchte, basische und proteinreiche Umgebung.

Von besonderer Bedeutung für die Übertragung sind Frischlinge und Überläufer, die bevorzugt betroffen sind und durch den vermehrten Kontakt zu andern Populationen die Verbreitung vorantreiben können (Nurmoja et al. 2017; Podgórski et al. 2018). Über die Rolle der persistent infizierten Tiere wird noch kontrovers diskutiert. Die einst sogar von der WOAAH beschriebene wichtigen Rolle der persistent infizierten Tiere konnte von Ståhl et al. (2019) so nicht nachvollzogen werden. Sie beschreiben zwei Gruppen von Überlebenden: 1) die chronisch infizierten Schweine, die der Erkrankung doch irgendwann erliegen und 2) die Schweine, die die Infektion auskurieren und das Virus nicht länger als 40 Tage ausscheiden. Und auch wenn das Virusgenom bei Überlebenden, noch bis zu 100 Tage nach der Infektion nachgewiesen werden konnte, konnten Blome et al. (2020) diesen Tieren keine große Rolle bei der Langzeitübertragung zusprechen.

Der Nachweis des ASP-Virus erfolgt über einen Virus- oder Antikörpernachweis. Der Virusnachweis erfolgt meist über eine real-time PCR. Für den Antikörpernachweis stehen indirekte ELISA-Tests, Immunoblotting (IB) oder ein Immunoperoxidase-Test zur Verfügung. Die aktuellen Vorgaben der EU zu den Methoden für den Nachweis werden auf der Webseite des European Union Reference Laboratory for African swine fever (ASF) veröffentlicht (<https://asf-referencelab.info/asf/en/procedures-diagnosis/sops>). Auf internationaler Ebene hat die WOAAH das Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Terrestrial Manual) herausgegeben in dem die möglichen diagnostischen Labormethoden aufgelistet sind.

### 2.2.2. Pathogenese und Klinik

Nach Kontakt mit dem Virus gelangt dieses über die Tonsillen oder die pharyngale Schleimhaut in die Mandibular- oder Retropharyngeallymphknoten und von dort aus, über eine Virämie in den ganzen Körper (Sánchez-Vizcaíno et al. 2009).

Mit Hilfe von Macropinozytose, einer Form der Endocytose, werden Zellen des Mononukleären-phagozytotischen Systems befallen, in deren Zytoplasma sich das Virus dann repliziert (Blome et al. 2020; Sánchez et al. 2012).

Je nach Virulenz des Erregers ist der Verlauf der Erkrankung sehr verschieden. So konnten Pan and Hess (1984) hoch, moderat und wenig virulente Viren identifizieren. Die klinischen und pathologischen Symptome der verschieden virulenten Stämme wurden von Sánchez-Vizcaíno et al. (2015) zusammengetragen und werden im Folgenden wiedergeben.

Die hoch virulenten Virusstämme verursachen perakute und akute Verläufe der ASP. Perakute Verläufe gehen mit hohem Fieber (40-42°C), Anorexie, Tachypnoe und kutaner Hyperämie

einher. Die Tiere versterben plötzlich innerhalb von 1- 4 Tagen nach Auftreten der klinischen Symptome. Läsionen an den Organen sind keine zu finden.

Für die akuten Verläufe können sowohl hoch virulente als auch mäßig virulente Stämme verantwortlich sein. Diese Form zeichnet sich durch Fieber, Anorexie, Apathie und der Suche nach engem Kontakt untereinander aus. Die Tiere zeigen außerdem Erytheme, Nasenausfluss, Epistaxis, abdominale Schmerzen und Erbrechen. Bei tragenden Sauen kommt es zum Abort. Oft ist das auch das erste Anzeichen des Ausbruchs. Die Letalität liegt bei nahezu 100 % innerhalb von 7 Tagen. Pathologisch findet man eine Splenomegalie, ein schweres Lungenödem, hämorrhagische Gastrointestinallymphknoten und petechiale Blutungen in verschiedenen Organen.

Die subakute Form der Afrikanischen Schweinepest verläuft ähnlich wie die akute Form, jedoch mit weniger starken Symptomen. Die Mortalität liegt zwischen 30 und 70 % und befallene Tiere sterben innerhalb von 7-20 Tagen.

Die schwach virulenten Stämme verursachen meist chronische Fälle mit Nekrosen der Haut, Arthritis, schlechter Gewichtszunahmen und Aborten. Die Mortalität ist gering.

Differentialdiagnostisch müssen aufgrund der hämorrhagischen Läsionen die Klassische Schweinepest, das Porcine Reproductive und Respiratorische Syndrom (PRRS), Rotlauf, die septikämische Form der Salmonellose und das Porcine Dermatitis und Nephropathie Syndrom bedacht werden (Sánchez-Vizcaíno et al. 2015).

### 2.2.3. Bekämpfung

Laut der Verordnung (EU) 2016/429 und der Durchführungsverordnung (EU) 2018/1882 ist die Afrikanische Schweinepest eine gelistete Tierseuche, die normalerweise nicht in der Europäischen Union auftritt und von den Mitgliedsstaaten unmittelbar bekämpft werden muss. In der Durchführungsverordnung (EU) 2023/594 vom 16. März 2023 werden von der EU-Vorgaben für besondere Seuchenbekämpfungsmaßnahmen in Bezug auf die Afrikanische Schweinepest gemacht. Die nationalen und EU-weiten Bekämpfungsmaßnahmen werden regelmäßig von der European Food Safety Authority (EFSA) validiert und die Empfehlungen angepasst (European Food Safety Authority et al. 2018; European Food Safety Authority et al. 2020). In Deutschland wird das Vorgehen auf nationaler Ebene in der Verordnung zum Schutz gegen die Schweinepest und die Afrikanische Schweinepest (Schweinepest-Verordnung) festgelegt. Diese bestimmt, dass ein Ausbruch durch eine virologische oder serologische Untersuchung festgestellt wird. Ein Verdacht ergibt sich aus der klinischen oder pathologischen Untersuchung (§1). Auch ein Verbot von Heilversuchen und Impfen ist darin

geregelt, sowie das Verbot des Verfütterns von Küchen- und Speiseabfällen (§2 und §2a). Außerdem wird das Vorgehen bei Verdacht und Ausbruch konkret vorgeschrieben.

Bei der Strategie der Bekämpfung gibt es große Unterschiede zwischen der Bekämpfung in Hausschweinebeständen und der Bekämpfung des Ausbruchs in einer Wildschweinpopulation.

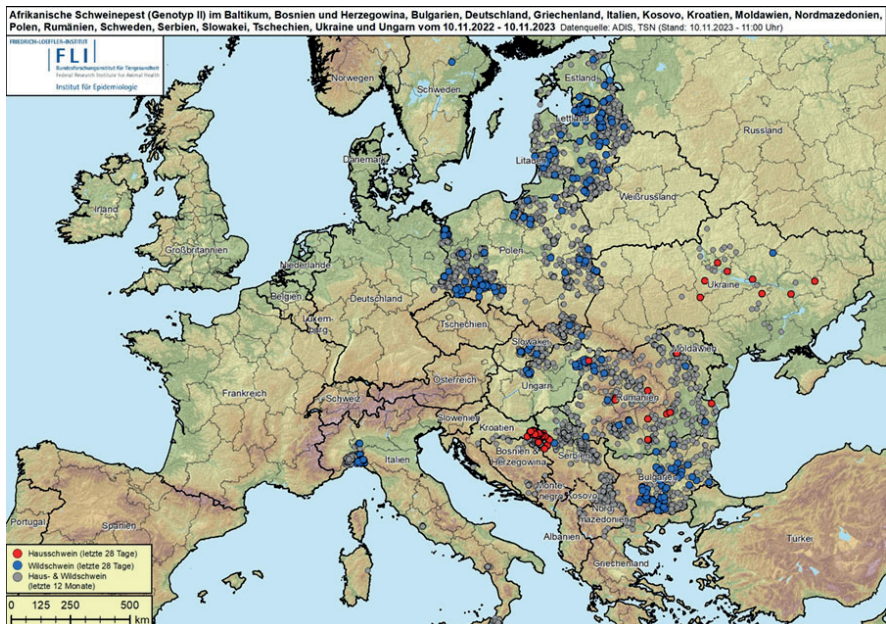
Zu den Maßnahmen bei einem Ausbruch in einem Hausschweinebestand gehören die Keulung und unschädliche Beseitigung der Tierkadaver und sonstiger Ausscheidungen, die intensive Reinigung und Desinfektion der betroffenen Gebäude und Gelände, sowie die Festlegung von restriktiven Zonen u.a. mit Verbringungsverboten von Schweinen und deren Produkten. Auch die Suche nach Zecken der Gattung *Ornithodoros erraticus* kann, wenn erforderlich, angeordnet werden. Es wird ein Sperrbezirk von mindestens 3 km eingerichtet, in dem alle Betriebe untersucht werden und viele weitere Einschränkungen, wie Verbringungsverbote, für Hausschweine gelten. Das sich daran anschließende Beobachtungsgebiet muss mindestens 10 km um den Ausbruchsbestand herum eingerichtet werden. Auch hier gibt es Einschränkungen bei der Verbringung und eine Untersuchungspflicht für verendete oder erkrankte Tiere.

Bei einem Nachweis in einer Wildschweinpopulation wird um das betroffene Gebiet ein Gefährdeter Bezirk festgelegt und eine Pufferzone eingerichtet. Darüber hinaus kann die zuständige Behörde ein Kerngebiet innerhalb des gefährdeten Gebietes festlegen, sofern dies für die Bekämpfung erforderlich ist. In dem Kerngebiet gelten dann die besonderen Maßnahmen, die von der zuständigen Behörde als erforderlich erachtet werden.

Die bei einem Ausbruch in einer Wildschweinpopulation zu ergreifenden Maßnahmen müssen individuell an die lokalen Gegebenheiten angepasst werden. Generell gilt jedoch, dass man im direkten Umkreis um den Ausbruch so wenig wie möglich eingreifen möchte, um die Wildschweine nicht aufzuschrecken und ihre Bewegungen zu minimieren. Deswegen sind Fütterung und Jagen verboten. Laut European Food Safety Authority et al. (2018) sollte in diesem Bereich die Beseitigung der Kadaver von den an ASP erkrankten Wildschweinen im Vordergrund der Maßnahmen stehen, da dies die höchste Wirksamkeit verspricht. Als ergänzende Maßnahme werden auch Zäune eingesetzt, um die Bewegungen der Wildschweine einzugrenzen, vor allem in Gebieten, in denen die Kadaverbeseitigung oder die intensive Bejagung schwer durchführbar sind. Angrenzend daran liegen Zonen, in denen die Wildschweinpopulation durch Jagd aktiv reduziert werden soll, um die Zahl der empfänglichen Tiere und damit die Ausbreitung zu verringern. Außerdem sind das Aufstellen von Hinweisschildern, sowie die Beschränkung des Fahrzeug- und/oder Personenverkehrs Teil des Maßnahmenplans.

## 2.2.4. Afrikanische Schweinepest in Europa

Seit dem letzten Ausbruchsgeschehen der Afrikanischen Schweinepest in Europa von 1960 bis in die 1990er Jahre, war nur Sardinien durchgehend von dem Virus betroffen. Mit dem Eintrag der Erkrankung nach Georgien im Jahr 2007 breitete sich die Tierseuche erneut in Europa aus. Schnell wurde das Virus auch in Russland und den anderen umliegenden Ländern nachgewiesen. Mit dem Ausbruch in Polen und den baltischen Staaten in 2014 war dann auch die Europäische Union betroffen (European Food Safety Authority et al. 2023). Seit 2018 ist die Afrikanische Schweinepest in China angekommen und verbreitet sich auch in Asien (WOAH - World Organisation for Animal Health 2022). In Westpolen an der Grenze zu Deutschland wurde das Virus seit 2019 nachgewiesen. Stand Dezember 2023 wurden Fälle in 15 EU-Ländern festgestellt (Belgien, Bulgarien, Deutschland, Estland, Griechenland, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Polen, Rumänien, Schweden, Slowakei, Tschechien, Ungarn).



**Abbildung 3:** ASP in Europa, Stand 10.11.2023 (Friedrich-Löffler-Institut 2023)

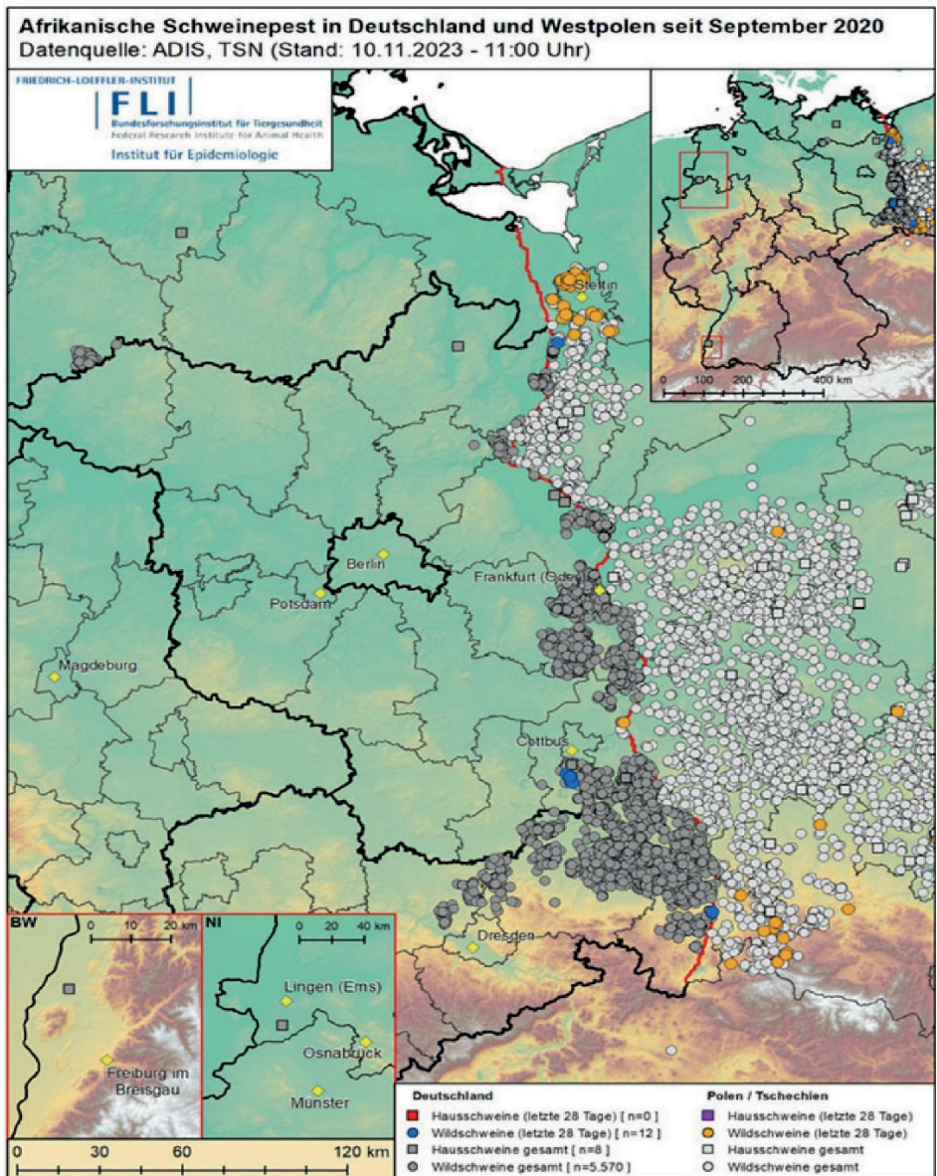
Davon ist es zwei Ländern gelungen die ASP zumindest zeitweise zu eliminieren. Die Tschechische Republik und Belgien schafften es 2018 bzw. 2020 wieder ASP-frei zu werden. Erkenntnisse von den bisherigen europaweiten Bekämpfungsmaßnahmen wurden in Belgien und Tschechien genutzt, um die richtigen Maßnahmen zu implementieren. Die Besonderheit in beiden Ländern war der einmalige und punktuelle Eintrag der Erkrankung, durch einen

Sprung des Virus über mehrere hundert Kilometer, der mit hoher Wahrscheinlichkeit durch den Menschen erfolgte. Der einmalige Eintrag zusammen mit der Beschränkung des Zugangs zu den betroffenen Regionen, der intensiven und systematischen Kadaversuche und -beseitigung, die vermehrte Jagd in den angrenzenden Zonen sowie die Errichtung von Zäunen führte innerhalb von ein bis zwei Jahren zur Eradikation des Virus in Belgien und Tschechien. Im Gegensatz dazu sind die Ausbrüche in anderen europäischen Ländern bei den Wildschweinen bisher schwer zu kontrollieren. Das hat unter anderem dazu geführt, dass Ende 2022 erneut Fälle von ASP in Tschechien an der Grenze zu Polen nachgewiesen wurden.

Die Afrikanische Schweinepest breitet sich langsam mit einer Geschwindigkeit von 1,5 km/Monat in Europa aus (Podgórski and Śmietanka 2018). Der Genotyp II ist dabei hoch virulent und für Haus und Wildschweine bis zu 100 % letal (Blome et al. 2020). Die Wildschweine zeigen akute Verläufe der ASP mit hohem Fieber, hämorrhagischen und neurologischen Symptomen, die meist 7-14 Tage nach der Infektion tödlich enden (Sauter-Louis et al. 2021).

Dank der geringen Kontagiosität ist trotz hoher Letalität die Mortalität gering (Śmietanka et al. 2016). Das bedeutet auch, dass die wenigen infizierten Tiere schnell versterben, ohne das Virus weit zu verbreiten, sodass viele empfängliche Tiere zurückbleiben. Diese können sich dann auf Grund der hohen Tenazität des Virus über längere Zeit aus Kadavern und der Umwelt infizieren. Aufgrund dieser Eigenschaften hat sich ein selbsterhaltender Infektionszyklus in der Wildschweinpopulation gebildet der dafür sorgt, dass Kontrollmaßnahmen in den betroffenen Ländern über einen langen Zeitraum aufrechterhalten werden müssen (Sauter-Louis et al. 2021).

## 2.2.5. ASP-Virus in Deutschland



**Abbildung 4:** ASP in Deutschland und Westpolen seit September 2020, Stand 10.11.2023 (Friedrich-Löffler-Institut 2023)

Am 10.09.2020 wurde erstmals ein ASP-Fall in Deutschland nah an der polnischen Grenze nachgewiesen. Zwei Wochen später waren bereits 32 weitere Fälle diagnostiziert (Sauter-Louis et al. 2020). Sofort wurden die nach den nationalen und europäischen Bestimmungen zu ergreifenden Maßnahmen eingeleitet, die sich zuvor auch in Belgien und Tschechien bewährt hatten. Anders als in Belgien und Tschechien gibt es in Deutschland jedoch einen anhaltend hohen Infektionsdruck aus Polen, der wahrscheinlich zu mehreren, getrennten Einträgen nach Deutschland geführt hat (Sauter-Louis et al. 2022). Dass die Maßnahmen das Potential haben auch in Deutschland zu wirken und die Ausbreitung der ASP zu reduzieren, konnten Richter et al. (2023) nachweisen. Im Vergleich zu Lettland hatte Deutschland 18 Monate nach dem Ersteintrag eine geringe Virusprävalenz zu verzeichnen. Trotz höherer Fallzahlen breitete sich die Erkrankung innerhalb dieser 18 Monaten weniger stark aus.

In Europa (außer in Sardinien) verbreitet sich der ASP-Genotyp II, der bisher kaum genetische Variation zeigte (Dixon et al. 2020; Forth et al. 2019). Das änderte sich jedoch in Deutschland. Hier wurden 5 neue Virus-Linien mit mindestens 10 Varianten durch Whole Genome Sequencing (WGS) des Virus nachgewiesen (Forth et al. 2023). Alle diese Varianten zeigen eine Frameshift-Mutation am 3'-Ende des Gens einer DNA-Reparatur-Polymerase X. Diese Mutation in den neuen Virusvarianten geht mit einer erhöhten Mutationsrate und damit mit einer erhöhten Evolutionsrate des Virus einher und könnte damit drastische Auswirkungen auf den Verlauf der ASP-Pandemie haben (Forth et al. 2023).

Die Untersuchungen von Sauter-Louis et al. (2022) fand 4 distinkte Cluster bei den ersten ASP-Fällen in Deutschland. Das Cluster 1 in der Region der Ersteintragung im Landkreis Spree-Neiße. Hier konnten Forth et al. (2023) 2 Varianten nachweisen (I.1. und II.1). Cluster 2 kam Ende September dazu mit einem Ausbruch 60 km nördlich des Cluster 1 im Landkreis Märkisch-Oderland, mit einer neuen Virusvariante (III.1). Die infizierten Tiere 20 km westlich der ersten Ausbruchsstelle konnten dem Cluster 3 zugeordnet werden. Hier wurden wieder die Varianten I.1 und II.1 nachgewiesen. 60 km südlich des ersten Nachweises in Sachsen wurde im Oktober 2020 wieder ein neuer Fall entdeckt auch hier mit einem eigenen Cluster (Cluster 4) und neuer Virusvariante (IV 1).

Mit der weiteren Ausbreitung des Virus kamen weitere Varianten hinzu. So wurden von Forth et al. (2023) in der Region um Frankfurt/Oder die Variante III.2 und etwas süd-östlich daran anschließend die Variante V gefunden. An der Grenze der Landkreise Spree-Neiße (Brandenburg) und Görlitz (Sachsen) wurde die Variante IV.1 nachgewiesen. Die Tiere weiter südlich in Görlitz waren mit den Varianten IV.2 und IV.3 infiziert. Proben aus Ludwigslust-Parchim konnten nicht mehr in die Untersuchung von Forth et al. (2023) aufgenommen werden, wurden aber trotzdem sequenziert. Hier war eine weitere bisher unbekannte Variante (III.3) aufgetreten.

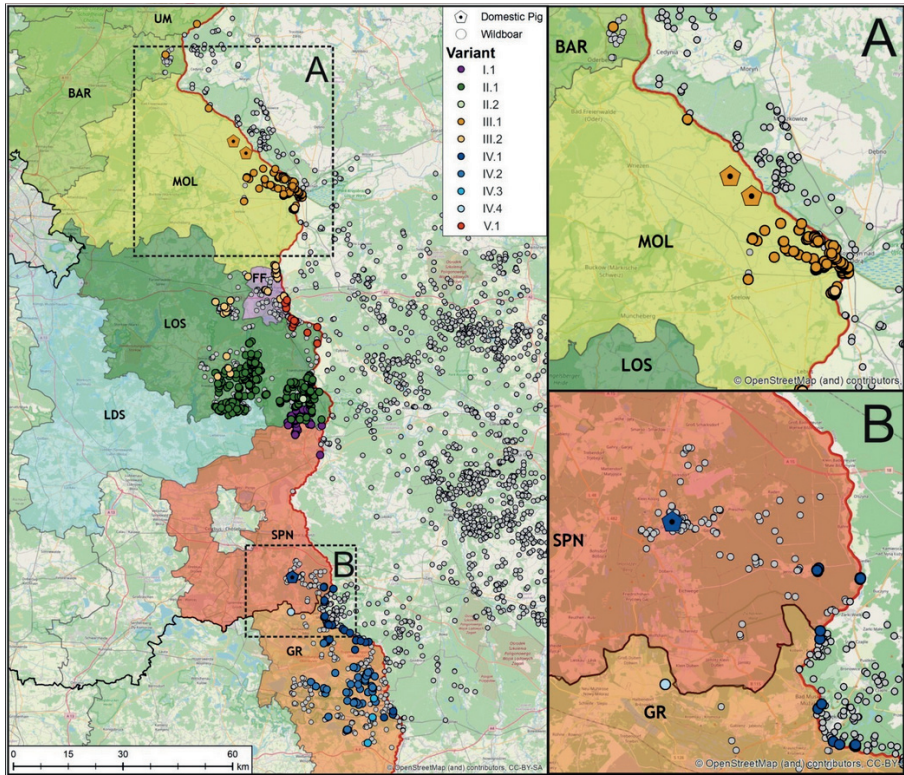


Abbildung 5: Verbreitung der ASP-Varianten in Ostdeutschland aus Forth et al. 2023

## 2.3. Populationsgenetik

### 2.3.1. Genetische Diversität

Die Populationsgenetik beschäftigt sich mit der Herkunft, der Menge und der Verteilung von genetischer Diversität von Individuen innerhalb und zwischen Populationen und mit deren Veränderungen über Zeit und Abstand (Templeton 2021). Populationen sind dabei definierte Gruppen von Organismen, die sich untereinander fortpflanzen können.

Die genetische Diversität setzt sich zusammen aus der Anzahl der Genotypen in einer Population (Richness) und der Verteilung dieser Genotypen innerhalb einer Population (Evenness) (Grünwald et al. 2003). Diese Werte werden anhand von molekularen Methoden untersucht. Dazu werden Allele und die daraus resultierenden Genotypen der Individuen bestimmt und mit den Genotypen anderer Individuen verglichen. Deren Vorkommen und Vererbung unterliegt bestimmten Regeln und wird von einer Menge an Faktoren beeinflusst. Einflussfaktoren auf die genetische Vielfalt sind die Selektion, Mutation, Rekombination und genetische Drift.

### 2.3.2. Mikrosatelliten

Mikrosatelliten, auch short tandem repeats (STR) genannt, sind kurze repetitive Elemente der DNA. Die Wiederholungsmotive bestehen aus zwei bis zehn Basenpaar langen Sequenzen, die zwar über das gesamte Genom verteilt sind, jedoch fast ausschließlich in nicht-codierten Bereichen vorkommen (Ellegren 2004). Mikrosatelliten sind hoch polymorph und haben eine hohe allelische Vielfalt. Als genetische Marker sind sie aufgrund ihrer hohen Variabilität und ihres ubiquitären Vorkommens von Bedeutung, um Individuen genetisch zu charakterisieren (Tomiuk and Loeschcke 2016).

Die hohe Mutationsrate von Mikrosatelliten begründet ihren Allelreichtum. Dieser variiert je nach Loci und Allel. Der größte Einflussfaktor auf die Mutationsrate ist die Länge des Mikrosatelliten. Je länger, desto häufiger werden Mutationen beobachtet (Weber 1990).

Der wichtigste Mutationsmechanismus ist das Slipped-Strand Mismatching. Dabei kommt es bei der Replikation der DNA zu einer Trennung der Stränge und einem Wiederanhaften an einer anderen Stelle im repetitiven Bereich. Das führt zum Einbau oder dem Wegfall von Basenpaaren. Oft wird der Fehler jedoch durch das Mismatch-Repair-System behoben. Ein weiterer Mechanismus ist das Unequal-Crossing over. Dabei kommt es während der Meiose zur Verschiebung des Kreuzungspunktes der Chromatiden, wodurch die eine Sequenz länger und die andere kürzer wird.

Die Addition von Sequenzen an einem Locus führt zu einem neuen Allel in der Population, sie wird als Vorwärtsmutation bezeichnet. Der Wegfall von Basenpaaren erzeugt eine Rückwärtsmutation mit Allelen, die bereits vorhanden waren. Mathematisch werden diese zwei

Längenvariationen von Mikrosatelliten von dem Schrittweisen Mutationsmodell (stepwise-mutation model, SMM) beschrieben (Tomiuk and Loeschcke 2016). Dieses Modell kann aber nicht Längenvariationen bei allen Loci beschreiben (Valdes et al. 1993). Um auch die Mutationen bei diesen Loci beschreiben zu können, führten Di Rienzo et al. (1994) das Two-phase mutation model ein. In diesem Modell geht man davon aus, dass der Großteil der Mutationen single-step Mutationen sind, jedoch auch mehrere Wiederholungssequenzen eingefügt bzw. weggelassen werden können.

Über eine PCR und anschließender Elektrophorese können die Längenpolymorphismen der Mikrosatelliten sichtbar gemacht werden. Hierzu binden spezifische Primer benachbart zum Mikrosatelliten und die PCR amplifiziert die Fragmente. Durch die Elektrophorese werden sie anhand ihrer Länge aufgetrennt und die genaue Länge der Fragmente kann bestimmt werden.

### 2.3.3. Allelfrequenz

Die Allelfrequenz beschreibt die Häufigkeit eines Allels an einem Locus in einer Population und bildet damit die Grundlage der Berechnungen in der Populationsgenetik.

$$\text{Frequenz von Allel } x = \frac{2N_{xx} + N_{xy}}{2N} = \frac{N_x}{2N}$$

$$N_{xx} = \text{Anzahl an Homozygoten von Allel } x (xx)$$

$$N_{xy} = \text{Anzahl an Heterozygoten von Allel } x (xy)$$

$$N = \text{Probenanzahl}$$

$$N_x = \text{Anzahl an Allel } x$$

### 2.3.4. Allelreichtum (Ar; Richness)

Der Allelreichtum gibt die durchschnittliche Allelzahl per Locus in Bezug zu einer bestimmten Populationsgröße an (Frankham et al. 2010). Als Bezugsgröße wird die kleinste Subpopulation der Untersuchung genutzt, um den Vergleich der Allelzahl zwischen verschiedenen (Sub-) Populationen mit unterschiedlicher Größe zu ermöglichen. Hohe Werte sprechen für eine hohe genetische Diversität. Der direkte Vergleich der Anzahl von Genotypen ist nur bei gleich großen Populationen möglich, da die Genotypzahl mit der Probenzahl steigt, sodass für den Vergleich die Stichprobengröße immer miteinberechnet werden muss (Grünwald et al. 2003).

### 2.3.5. Evenness

Die Evenness (E; Gleichmäßigkeit) ist ein Maß die gleichmäßige Verteilung von Genotypen in einer Population oder bei einem Mikrosatelliten. Sind die Genotypfrequenzen in einer Population alle gleich liegt der Wert bei 1. Dominiert dagegen ein Genotyp liegt der Wert näher

an Null (Grünwald et al. 2003). Mit abnehmender Evenness nimmt auch die genetische Diversität der Population ab.

### 2.3.6. Informativeness

Die Informativeness of assignment ( $I_n$ ) von genetischen Markern, die ein Maß für den Informationsgehalt der multiallelischen Marker liefert, wurde von Rosenberg et al. (2003) eingeführt. Dabei kann  $I_n$  Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Die Informativeness for assignment ist in vielen Situationen in der Genetik einsetzbar. Marker mit hoher Informativeness können die Anzahl an genetischen Markern reduzieren, um eine Population genetisch zu charakterisieren.

### 2.3.7. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Essenzieller Bestandteil der Populationsgenetik ist die Frage nach der Erhaltung der Genetischen Variabilität über Generationen hinweg (Graw 2020). Dafür beschrieben Godfrey Hardy und Wilhelm Weinberg 1908 unabhängig voneinander eine Regel. Die Hardy-Weinberg-Regel besagt, dass in einer Mendelpopulation Allelfrequenzen und Allelverteilungen in aufeinanderfolgenden Populationen gleichbleiben.

Randbedingungen, die für eine solche ideale Population über mehrere Generationen gleichbleiben, sind:

1. Die Organismen sind diploid
2. Die Organismen pflanzen sich sexuell fort
3. Es bestehen keine Einschränkungen der Fortpflanzungsfähigkeit zwischen den Individuen der Populationen (Panmixie)
4. Die Mendelschen-Regeln gelten
5. Die Population muss ausreichend groß sein (am besten unendlich groß)
6. Es darf keine Einflüsse von außen geben (Selektion oder Zuwanderung)

Wenn diese Voraussetzungen erfüllt sind, dann befindet sich die Population im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht. In diesem Fall kann über die Kenntnis der Häufigkeit der Allele an einem Locus und die Anwendung der Regeln der Wahrscheinlichkeitstheorie, die Häufigkeit der Genotypen in einer idealen Population bestimmt werden. Die Summe der Häufigkeiten ergibt 1 bzw. 100 %.

Häufigkeit des Allels (Allelfrequenz) A = p

Häufigkeit des Allels (Allelfrequenz) B = q

$$p_A^2 + 2(p_A q_B) + q_B^2 = 1$$

Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG) lassen Rückschlüsse auf populationsgenetische Prozesse zu. Mit Hilfe eines Vergleiches mit dem Gleichgewicht kann auch die Stärke dieser Prozesse bestimmt werden (Rotach 2001). Außerdem kann die Veränderung der Allelfrequenz unter Selektionsdruck ermittelt werden, oder es kann festgestellt werden, ob ein Gen unter Selektionsdruck steht.

### 2.3.8. Chi-Quadrat-Test

Um Abweichungen vom HWG zu bestimmen und sagen zu können, ob diese statistisch signifikant sind, wird der Chi-Quadrat-Test genutzt. Dieser ist ein Nullhypothesentest mit dessen Hilfe die stochastische Unabhängigkeit von zwei Variablen überprüft wird. In diesem Fall wird ein Zusammenhang zwischen den nach dem HWG erwarteten Genotyphäufigkeiten und den beobachtenden Genotyphäufigkeiten gesucht.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^K \frac{(\text{beobachtete Häufigkeit} - \text{erwartete Häufigkeit})^2}{\text{erwartete Häufigkeit}}$$

*K* = Anzahl an Genotypen

$$\text{Freiheitsgrade } DF = \frac{NA(NA-1)}{2}$$

*NA* = Anzahl der Allele

Ausgewertet wird der Chi-Wert ( $\chi^2$ ) mit Hilfe der Auswertungstabelle aus Signifikanzniveau und Freiheitsgraden.

### 2.3.9. Genetische Drift und Wahlund-Effekt

Durch genetische Drift kommt es zu zufallsbedingten Veränderungen der Allelfrequenzen in aufeinanderfolgenden Generationen bedingt durch einen beschränkten Populationsumfang. Folge ist immer ein Verlust genetischer Vielfalt. Je kleiner die Population, umso deutlicher ist der Verlust an genetischer Variabilität und damit die Zunahme des Homozygotiegrads, denn dieser hängt von der Populationsgröße und dem Anteil an Homozygoten in der Vorgängerpopulationen ab.

$$F_t = \frac{1}{2N} + \left(1 - \frac{1}{2N}\right) * F_{t-1}$$

$$F_t \approx 1 - (1 - F_0) * e^{\frac{-t}{2N}}$$

$F_t$  = Homozygotiegrad in Anhängigkeit von der Zeit

$N$  = Anzahl an Individuen in der Population

Genetische Drift vergrößert auch die genetische Differenzierung zwischen zwei Populationen, soweit diese sich nicht genetisch vermischen, und ist für den Rückgang an Heterozygoten in einer Subpopulation im Vergleich zu der Gesamtpopulation verantwortlich. Die Abweichungen der Gesamtpopulation vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, die durch Substrukturierung der Population hervorgerufen wird, wird als Wahlund-Effekt bezeichnet (Templeton 2021).

### 2.3.10. Genfluss und Migration

Bei der Migration im Sinne der Populationsgenetik handelt es sich um den Austausch von Genotypen zwischen Populationen. Bei einem Austausch von Allelen zwischen Populationen spricht man von Genfluss. Sowohl Migration als auch Genfluss stabilisieren durch Einbringen neuer Allele in eine Population ihre genetische Variation. Sie kompensieren die Verluste durch Selektion und genetische Drift und reduzieren die Tendenz zur genetischen Differenzierung der Populationen (Rotach 2001).

### 2.3.11. Private Allele

Private Allele sind Allele, die nur bei einem Individuum oder nur in einer Population vorkommen. Sie sind sehr sensitiv gegenüber Genfluss, da die Wahrscheinlichkeit, dass sie in eine andere Population übertragen werden sehr gering ist, solange kaum genetischer Austausch zwischen Populationen besteht (Slatkin 1985). Jedoch eignen sich private Allele nur bedingt für die Bestimmung des Genflusses. Für quantitative Vergleiche des Genflusses ist die Verwendung der Wright (1951) Methode, die auf  $F_{st}$ -Werten beruht vorzuziehen (De Wolf et al. 1995).

### 2.3.12. Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium, LD)

Wenn zwei Gene an unterschiedlichen Loci häufiger zusammen vorkommen als es bei reinem Zufall gegeben wäre, spricht es dafür, dass sie miteinander vererbt werden, also gekoppelt sind. Je näher sie auf den Chromosomen beieinander liegen, umso wahrscheinlicher ist das. Dadurch besteht kein ausgewogenes Verhältnis mehr und das Gleichgewicht ist zu einer Seite der Genkombination hin verschoben (Graw 2020). Ist der Koeffizient des Kopplungsungleichgewichts  $D = 0$  bedeutet das, dass alle Allele rein zufällig zusammen auftreten.

$$D = x_{AB}x_{ab} - x_{Ab}x_{aB}$$

$$x_{AB}, x_{ab}, x_{Ab}, x_{aB} = \text{Frequenzen der Haplotypen}$$

### 2.3.13. Nullallele und Stotterbanden

Häufig kommt es vor, dass ein Allel eines Mikrosatelliten bei der PCR nicht amplifiziert wird, obwohl es vorhanden ist (Pemberton et al. 1995). Hierbei handelt es sich dann um ein sogenanntes Nullallel. Eigentlich heterozygote Tiere können dadurch fälschlicherweise als homozygot wahrgenommen werden. Mögliche Ursachen sind eine Mutation an der Primerbindungsstelle, sodass der Primer nicht binden kann, Probleme mit der Template Menge oder der Qualität der DNA, die eine Amplifizierung verhindern. Aber auch ein extremer Größenunterschied der Allele an einem heterozygoten Locus kann durch die bevorzugte Amplifizierung des kürzeren Allels dazu führen, dass das längere Allel im PCR-Produkt nicht nachzuweisen ist (Dakin and Avise 2004). Da ihr Vorkommen zu verfälschten Genotypfrequenzen führt, sollten ihr Vorkommen und ihre Frequenz für populationsgenetische Analysen ermittelt werden und ihre Effekte auf das Kopplungsungleichgewicht und die Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht mitberechnet werden (Callen et al. 1993; van Oosterhout et al. 2006).

Wie bei der DNA-Replikation, kann es auch bei der Amplifikation während der PCR zum Abrutschen der Stränge kommen. Dadurch entstehen neben dem gewünschten Hauptfragment, weitere Fragmente, die sich um ein Vielfaches der Wiederholungseinheit unterscheiden. Nach der Elektrophorese sind sie als Stotterbanden zu erkennen und erschweren die Bestimmung der korrekten Fragmentlänge (Weber and Broman 2001).

## 2.4. Populationsgenetische Kennzahlen

### 2.4.1. Effektive Populationsgröße und Populationsflaschenhals (bottleneck)

In einer idealen, unendlich großen Population mit Panmixie, gelten viele Annahmen, die in dieser Form nicht für eine reale Population übernommen werden können. In einer natürlichen Population gibt es beispielsweise viele Individuen, die nicht aktiv am Reproduktionsgeschehen teilnehmen und damit auch keinen direkten Einfluss auf die genetische Variabilität der Nachkommengeneration haben. Weitere Abweichungen von einer idealen Population entstehen durch ungleiche Geschlechterverhältnisse, Überlappungen von Generationen sowie dem Variieren der Populationsgröße von Generation zu Generation. Die effektive Populationsgröße ( $N_e$ ) ist ein theoretischer Wert, der solche Tatsachen berücksichtigt indem er die Anzahl an Individuen ausgibt, die in einer idealen Population benötigt wird, um das selbe Maß an genetischer Drift zu verursachen (Frankham et al. 2010).

Der Populationsflaschenhals beschreibt einen starken Abfall der Populationsgröße bei einer natürlichen Population, deren Anzahl an Individuen daraufhin wieder ansteigt. Die Reduktion der effektiven Populationsgröße und die damit verbundene genetische Drift, führt zum Verlust der genetischen Vielfalt mit großen Auswirkungen auf den Genpool der Folgegenerationen (Graw 2020).

### 2.4.2. Beobachtete und erwartete Heterozygotie

Für populationsgenetische Untersuchungen ist die Betrachtung der erwarteten und der beobachteten Heterozygotie von größter Bedeutung. Bei der beobachteten Heterozygotie handelt es sich um die tatsächlich vorhandene Frequenz an heterozygoten Allelen einer Population.

$$H_o = \frac{\text{Anzahl von Heterozygoten an einem Locus}}{\text{Anzahl an Proben}}$$

$H_o$  = beobachtete Heterozygotie

Die erwartete Heterozygotie entspricht der Heterozygotie die diese Population hätte, wenn sie sich im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befinden würde. Durch das Berechnen der erwarteten Heterozygotie kann bestimmt werden, inwieweit diese Population vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht abweicht. Eine geringe beobachtete Heterozygotie spricht für einen gesteigerten Inzuchtgrad.

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

$H_e$  = erwartete Heterozygotie

$p_i$  = Allelfrequenz des i-ten Allels

### 2.4.3. F-Statistik

Von Wright (1951) wurden die Parameter  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  und  $F_{ST}$  eingeführt, um die Populationsstruktur anhand der Heterozygotie in Populationen zu beschreiben. Sie korrelieren dabei wie folgt:

$$F_{ST} = \frac{(F_{IT} - F_{IS})}{(1 - F_{IS})}$$

Die Inzuchtkoeffizienten beziehen sich dabei auf die Gesamtpopulation (T), die Subpopulationen (S) und die Individuen (I).

- $F_{IT}$ : Der Inzuchtkoeffizient von Individuen bezogen auf die Gesamtpopulation. Er misst die Effekte von nichtzufälliger Paarung und genetischer Differenzierung zwischen Subpopulationen.

$$F_{IT} = \frac{H_T - \overline{H_I}}{H_T}$$

- $F_{IS}$  : gibt den Rückgang der Heterozygotie von einem Individuum bei nicht zufälliger Paarung innerhalb einer Subpopulation an.

$$F_{IS} = \frac{\overline{H_e} - \overline{H_o}}{\overline{H_e}}$$

$F_{IS} > 0$  Überschuss an Homozygoten

$F_{IS} < 0$  zu wenig Homozygote im Vergleich zur der Erwartung nach dem HWG

- $F_{ST}$  ist eine Messgröße für die genetische Differenzierung einer Subpopulation in Bezug auf die Gesamtpopulation und ein Maß für die Abnahme der Heterozygotie auf Grund von genetischer Drift.

$$F_{ST} = \frac{\sigma_p^2}{\bar{p}(1-\bar{p})}$$

$\bar{p}$  = Durchschnittliche Allelfrequenz

$\sigma_p^2$  = Variance in der Allelfrequenz eines Allels in der Subpopulation

Wenn alle Populationen im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht sind und damit alle die gleichen Allelfrequenzen haben, dann sind  $\sigma_p^2$  und  $F_{ST}$  null. Wenn  $F_{ST}=1$  dann gibt es keine Heterozygoten mehr in der Subpopulation und damit eine vollständige Inzucht. Meist liegen die Werte von  $F_{ST}$  aber unter 0,5. Ist  $F_{ST} > 0,15$  gilt das als Hinweis auf eine signifikante Differenzierung zwischen Populationen (Frankham et al. 2010; Wright 1978).

Eine weitere Möglichkeit der Interpretation von  $F_{ST}$  besteht über die Abnahme der Heterozygotie der Subpopulation ( $H_S$ ) in Bezug zu der Heterozygotie der Gesamtpopulation ( $H_T$ ).

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

## 2.4.4. Paarweise Populationsdifferenzierung

Bei der Paarweisen Populationsdifferenzierung besteht die Gesamtpopulation (T) nur aus den 2 betrachteten Populationen. Zwischen ihnen wird der Grad an genetischer Distanz bestimmt.

- Fst (Weir and Cockerham 1984; Wright 1951)

Die erste und weit verbreitete Möglichkeit der Berechnung der genetischen Variation zwischen zwei Populationen kann über den Fst-Wert von Wright bzw. Weir and Cockerham (1984) geschehen. Dabei wird Fst wie folgt definiert:

$$F_{ST} = \frac{\sigma_p^2}{\bar{p}(1-\bar{p})}$$

Wenn Fst = 0 besitzen sie dieselben Allele, ist Fst = 1 dann haben die Subpopulation unterschiedliche Allele und die Populationen haben die größtmögliche genetische Distanz.

- Gst (Nei 1973)

Um auch multiple Allele mit einzubeziehen hat Nei (1973) Gst eingeführt, ein Äquivalent zu Fst. Wenn also ein Allel biallelisch ist, ist Fst = Gst.

$$G_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T}$$

- G'st (Hedrick 2005) und Jost's D (Jost 2008)

Ein Problem bei der Berechnung von Gst ergibt sich, wenn die Mikrosatelliten sehr heterozygot sind. Die Interpretation wird zunehmend komplex, da die Werte für Gst sehr klein werden. Deswegen wurde von Hedrick (2005) eine standardisierte Größe zur Bestimmung der genetischen Differenzierung eingeführt, G'st.

$$G'_{ST} = \frac{G_{ST}(1+H_S)}{(1-H_S)}$$

Auch von Jost (2008) wurde ein Maß für die Differenzierung beschreiben. Jost's D gibt den Anteil der allelischen Variation zwischen zwei Populationen aus.

$$D = \frac{H_T - H_S}{1 - H_S} * \frac{n}{n-1}$$

n = Anzahl an Subpopulationen

Bei vollständiger genetischer Differenzierung sind sowohl G'st also auch Jost's D = 1. Bei fehlender Differenzierung zwischen zwei Populationen sind beide Werte = 0.

### 2.4.5. Isolation by Distance und Manteltest

Die genetische Differenzierung ( $F_{st}$ ) zwischen zwei Subpopulationen nimmt mit steigender geographischer Distanz zu (Wright 1951). Erklärt wird dieses Phänomen dadurch, dass geographisch nah beieinander liegende Populationen mehr Migranten austauschen als weiter entfernte (Stephan and Hörger 2019). Der Manteltest hilft die Auswirkungen von geographischer Distanz auf die Populationsstruktur zu schätzen. Dafür werden die genetischen Distanzen über  $F_{st}$ -Werte bestimmt und eine Korrelation mit der geographischen Distanz zwischen zwei Populationen gesucht. Um eine genauere und auch visuell ansprechendere Beschreibung der räumlichen Muster zu liefern sollte noch eine Mantel-Korrelogramm-Analyse folgen (Diniz-Filho et al. 2013). Hier werden die geographischen Distanzen in ordinale Distanzklassen eingeteilt und gegen die Mantel-Korrelationskoeffizienten ( $r_M$ ) aufgetragen. Ein negativer Zusammenhang weist darauf hin, dass die Populationen, die in einer bestimmten Entfernung zueinander liegen tendenziell unähnlicher sind (Diniz-Filho et al. 2013).

### 2.5. Analyse der Populationsstruktur – Bayes'sches Clustering

Bayes'sches Clustering wird genutzt, um die Populationsstruktur mit Hilfe von molekularen Markern zu untersuchen. Hierbei werden die Proben anhand der Allelfrequenzen an den untersuchten Loci zu einer vorher unbekanntem Anzahl an Clustern bzw. Subpopulationen zugeordnet. Die eigentliche Analyse erfolgt über einen Bayes'schen Ansatz, bei dem eine Markov Chain Monte Carlo (MCMC)-Schätzung genutzt wird, um die Zuordnung der Proben zu einem Cluster zu erzielen, bei der die Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht und das Kopplungsungleichgewicht am geringsten ist (Corander et al. 2003; Latch et al. 2006).

### 2.6. Populationsgenetische Kenngrößen bei Wildschweinen in Europa

Die Studien zur Wildschweingenetik sind sehr verschieden, wodurch der Vergleich von Arbeiten erschwert wird. So wurden Untersuchungen mit 100 Tieren genauso wie mit über 1000 Tieren durchgeführt (Reiner et al. 2021; Tajchman et al. 2018). Auch die Anzahl an Mikrosatelliten variiert stark. So nutzten Ferreira et al. (2009) nur 6 Mikrosatelliten während Tadano et al. (2016) 29 Marker verwendeten.

Die Anzahl an Allelen pro Locus hängt von der Anzahl untersuchter Proben ab. Eine durchschnittliche Anzahl von 4,9 Allelen pro Locus fanden Tajchman et al. (2018) in Polen bei 100 Wildschweinen, die über 11 Mikrosatelliten genotypisiert wurden. Dem entgegen stehen die durchschnittlich 19 Allele pro Locus aus der Untersuchung von Veličković et al. (2016) mit 723 über ganz Europa. Wird in einer Arbeit mehr als eine Region untersucht, kann auch die Allelzahl pro Locus und Gebiet einen interessanten Vergleichswert bieten. So wurden von

Nikolov et al. (2009) mit 10 Mikrosatelliten in 4 deutschen Gebieten durchschnittlich 4,6 Allele pro Locus gefunden. In den 13 bulgarischen Gebieten waren es durchschnittlich 6,7 Allele pro Locus.

Die wohl wichtigsten Vergleichsparameter sind die Heterozygotiegrade. Hier kann entweder die Heterozygotie der einzelnen Loci oder aber der Gebiete ausgegeben und verglichen werden. Betrachtet man die erwartete Heterozygotie der Marker in Europa, findet man Werte von 0,469 in Ungarn, aber auch von 0,72 in Bulgarien und Portugal (Ferreira et al. 2009; Mihalik et al. 2020; Nikolov et al. 2009). In diesen Studien lag die beobachtete Heterozygotie bei 0,381 in Ungarn und 0,63 in Bulgarien und Portugal.

*Tabelle 1: Vergleich der Kenndaten von Mikrosatelliten anderer Studien*

<b>Veröffentlichung</b>	<b>Probenherkunft</b>	<b>N</b>	<b>Anzahl Gebiete</b>	<b>Mikro-satelliten</b>	<b>Allele</b>	<b>Allele/ Locus</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Lecis et al. 2022	Sardinien	393	1	16	154	6-16 (9,6)	0,199-0,838 (0,606)	0,122-0,701 (0,486)
Ferreira et al. 2009	Portugal	110	58	6	61	3-11 (10,2)	0,523-0,886 (0,7242)	0,445-0,773 (0,6273)
Frantz et al. 2012	Belgien	325	1	14	123	5-25 (8,8)	0,040-0,890 (0,623)	0,040-0,892 (0,600)
Frantz et al. 2009	Luxemburg, Belgien, Rheinland-Pfalz	697	3	14	125	4-24 (8,9)	0,328-0,889 (0,615)	0,323-0,859 (0,591)
Mihalik et al. 2020	(Ungarn)	486	1	13	99	4-14 (7,62)	0,140-0,804 (0,469)	0,145-0,758 (0,381)
Nikolov et al. 2009	Osteuropa Bulgarien	289	13	10	126	5-31 (12,6)	0,43-0,94 (0,72)	0,36-0,85 (0,63)
Nikolov et al. 2009	Deutschland	63	4	10	120	3-17 (12)	0,16-0,90 (0,63)	0,17-0,73 (0,46)
Poteaux et al. 2009	Frankreich	488	1	12	79	2-16 (6,154)	0,21-0,87 (0,567)	0,20-0,83 (0,564)
Reiner et al. 2021	Rheinland-Pfalz	118 6	22	12	126	6-17 (10,5)	0,190-0,793 (0,553)	0,170-0,728 (0,476)
Tajchman et al. 2018	Polen	100	3	11	54	4-6 (4,9)	0,50-0,73 (0,633)	0,46-0,60

Ni: Probenzahl

Die benutzten Mikrosatelliten stammen aus den Empfehlungen der ISAG (International Society of animal genetics) und wurden deshalb auch in mehreren Studien eingesetzt. Allelzahl, beobachtete und erwartete Heterozygotie wird in Tabelle 2 verglichen.

**Tabelle 2:** Vergleich der Kennwerte von Mikrosatelliten

<b>Sw936</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Frantz et al. 2012	325	9	0,731	0,662
Frantz et al. 2009	697	9	0,742	0,7
Nikolov et al. 2009 (Bulgarien)	289	11	0,81	0,78
Nikolov et al. 2009 (Deutschland)	63	9	0,76	0,55
Reiner et al. 2021	1186	13	0,72	0,608

<b>S0226</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Frantz et al. 2012	325	8	0,557	0,523
Frantz et al. 2009	697	7	0,576	0,56
Poteaux et al. 2009	488	5	0,5	0,54
Reiner et al. 2021	1186	11	0,586	0,517

<b>S0227</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Poteaux et al. 2009	488	5	0,48	0,48
Reiner et al. 2021	1186	11	0,478	0,373

<b>S0026</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Griciuviene et al. 2021	96	7	0,579	0,548
Frantz et al. 2012	235	5	0,494	0,489
Frantz et al. 2009	697	5	0,328	0,323
Lecis et al. 2022	393	8	0,278	0,26

<b>S0225</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Reiner et al. 2021	1186	7	0,19	0,17

<b>Sw240</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Frantz et al. 2012	325	7	0,687	0,649
Frantz et al. 2009	697	9	0,722	0,709
Poteaux et al. 2009	488	8	0,71	0,68
Reiner et al. 2021	1186	17	0,848	0,707

<b>Sw911</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Frantz et al. 2012	325	6	0,57	0,594
Frantz et al. 2009	696	6	0,557	0,529
Poteaux et al. 2009	488	3	0,66	0,62
Reiner et al. 2021	1186	9	0,574	0,444

<b>S0101</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Reiner et al. 2021	1186	9	0,793	0,728

<b>Sw72</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Griciuviene et al. 2021	96	6	0,688	0,641
Lecis et al. 2022	393	7	0,604	0,52
Nikolov et al. 2009 (Bulgarien)	289	5	0,66	0,52
Nikolov et al. 2009 (Deutschland)	63	3	0,48	0,29
Reiner et al. 2021	1186	10	0,378	0,304

<b>Sw24</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Griciuviene et al. 2021	96	10	0,684	0,646
Lecis et al. 2022	393	14	0,752	0,605
Nikolov et al. 2009 (Bulgarien)	289	11	0,76	0,65
Nikolov et al. 2009 (Deutschland)	63	5	0,58	0,53
Reiner et al. 2021	1186	9	0,648	0,634

<b>Sw632</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Griciuviene et al. 2021	96	11	0,758	0,776
Frantz et al. 2012	325	9	0,614	0,609
Frantz et al. 2009	697	9	0,627	0,617
Reiner et al. 2021	1186	11	0,645	0,574

<b>Swr1941</b>	<b>Proben</b>	<b>Allele</b>	<b>He</b>	<b>Ho</b>
Griciuviene et al. 2021	96	10	0,741	0,749
Reiner et al. 2021	1186	11	0,645	0,574

Bei Veličković et al. (2016) wurden 723 Proben aus 21 Regionen in Europa untersucht. Die 209 gefundenen Allele verteilten sich auf 11 Mikrosatelliten. In der Population Castel Porziano wurden mit 44 die wenigsten Allele gefunden, während in den Alpen 144 Allele nachgewiesen wurden. In eben diesen Populationen gab es auch den niedrigsten und den höchsten Allelreichtum ( $A_r = 2,9-5,5$ ). Dieser belief sich auf durchschnittlich 4,56. Zu einem geringeren Ergebnis von  $A_r = 3,85$  gelangten Scandura et al. (2008) in einer Studie mit 252 Wildschweinen aus 15 europäischen Regionen. Die beobachtete Heterozygotie lag bei Veličković et al. (2016) zwischen 0,44-0,74 (durchschnittlich 0,661), die erwartete Heterozygotie bei 0,46-0,79 (durchschnittlich 0,712). Bei Scandura et al. (2008) lagen die beobachtete und die erwartete Heterozygotie bei durchschnittlich 0,57 bzw. 0,633. Der Inzuchtkoeffizient  $F_{is}$ , der die Inzucht innerhalb von Subpopulationen bestimmt nimmt negative Werte an, wenn es einen Heterozygotenüberschuss gibt und positive Werte bei einem Homozygotenüberschuss. Für Wildschweine aus Portugal lag der Wert bei 0,056 (Ferreira et al. 2009). Für Wildschweine aus Bulgarien und Deutschland aus der Arbeit von Nikolov et al. (2009) lagen die  $F_{is}$ -Werte bei 0,0626 bzw. 0,1612.

Besonders hervorzuheben ist an dieser Stelle die Arbeit von Reiner et al. (2021) mit 1186 Proben aus Rheinland-Pfalz. 11 von 12 Mikrosatelliten stimmten mit denen der vorliegenden Arbeit überein und auch die restlichen Methoden waren identisch oder wurden nur minimal verändert, sodass sich eine hohe Vergleichbarkeit der Studien ergibt. Hier wurden insgesamt 126 Allele in 22 Jagdrevieren gefunden mit 6 bis 17 Allelen pro Locus. Auf Gebietsebene ergaben sich 5,11 Allele pro Locus und Gebiet. Die erwartete Heterozygotie an den unterschiedlichen Loci lag zwischen 0,19 und 0,793 ( $H_e=0,553$ ). Die beobachtete Heterozygotie bei durchschnittlich 0,476. Die Probenzahlen pro Gebiet variierten zwischen 19 und 122 mit durchschnittlich circa 54 Proben pro Gebiet. Der sich daraus ergebende Allelreichtum lag bei 4,06 (3,57-4,88). Die erwartete Heterozygotie der Gebiete belief sich auf 0,52 (0,46-0,56) und die beobachtete Heterozygotie auf 0,47 (0,4-0,57). Der durchschnittliche Wert für  $F_{is}$  (-0,013 – 0,162) lag bei 0,082.

**Tabelle 3:** Populationsgenetische Kenngrößen bisheriger Studien

Veröffentlichung	Land	Proben	Gebiete	MS	Allele	Proben/ Gebiet	Allele/ Gebiet	NA	Ar	Ho	He
Reiner et al. 2021	Deutschland (Rheinland- Pfalz)	1186	22	12	126	19-122 (53,91)	48-82 (61,41)	4-6,8 (5,11)	3,57- 4,88 (4,06)	0,4-0,57 (0,47)	0,46- 0,56 (0,52)
Velicković et al. 2016	Europa	723		11	209		44-144		2,9- 5,5 (4,56)	0,44- 0,74 (0,661)	0,46- 0,79 (0,712)
Tajchman et al. 2018	Polen	100	3	11	195	20-45 (33,3)	38-50 (42,6)			0,46- 0,60 (0,51)	0,5-0,73 (0,633)
Nikolov et al. 2009	Bulgarien	289	13	10	126	12-29 (22,2)		5,8-6,9 (6,7)	4,9- 6,6 (5,4)	0,57- 0,68 (0,62)	0,63- 0,71 (0,67)
Nikolov et al. 2009	Deutschland	63	4	10	120	10-20 (15,75)		3,9-5,5 (4,6)	3,6- 4,6 (4,2)	0,39- 0,56 (0,46)	0,48- 0,61 (0,55)
Griciuvienė et al. 2021	Litauen	96	4	15	147	15-46 (24)		6,0- 8,267 (6,817)		0,614- 0,639 (0,627)	0,651- 0,684 (0,667)
Scandura et al. 2008	Europa	252	15	10		10-41 (16,8)			3,04- 4,45 (3,85)	0,47- 0,61 (0,57)	0,45- 0,61 (0,633)

MS: Mikrosatelliten; NA: durchschnittliche Allelzahl; Ar: Allelreichtum; Ho: beobachtete Heterozygotie; He: erwartete Heterozygotie

## 3. Material und Methoden

### 3.1. Materialien

#### 3.1.1. Geräte

- Vortexer: Genie 2; Scientific Industries Inc.; Bohemia (New York)
- Zentrifuge: Biofuge fresco; Hereaus Holding GmbH; Hanau
- Qubit™ Flex Fluorometer, ThermoFisher Scientific; Waltham, USA
- PCR-Thermocycler: T-Personal; Biometra; Göttingen
- Wasserbad: WB14; Firma Memmert GmbH; Schwarbach
- Kappilarsequenzierer: Abi Prism 310 Genetic Analyzer; Applied Biosystems, Foster City, (Kalifornien)
- Pipetten: Biohit Deutschland GmbH; Köln
- Pipettenspitzen: VWR International GmbH; Darmstadt
- Reaktionsgefäße (1,5 ml; 2 ml): Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- Reaktionsgefäße (0,5 ml; 0,2 ml): Roth; Karlsruhe

#### 3.1.2. Chemikalien und Puffer

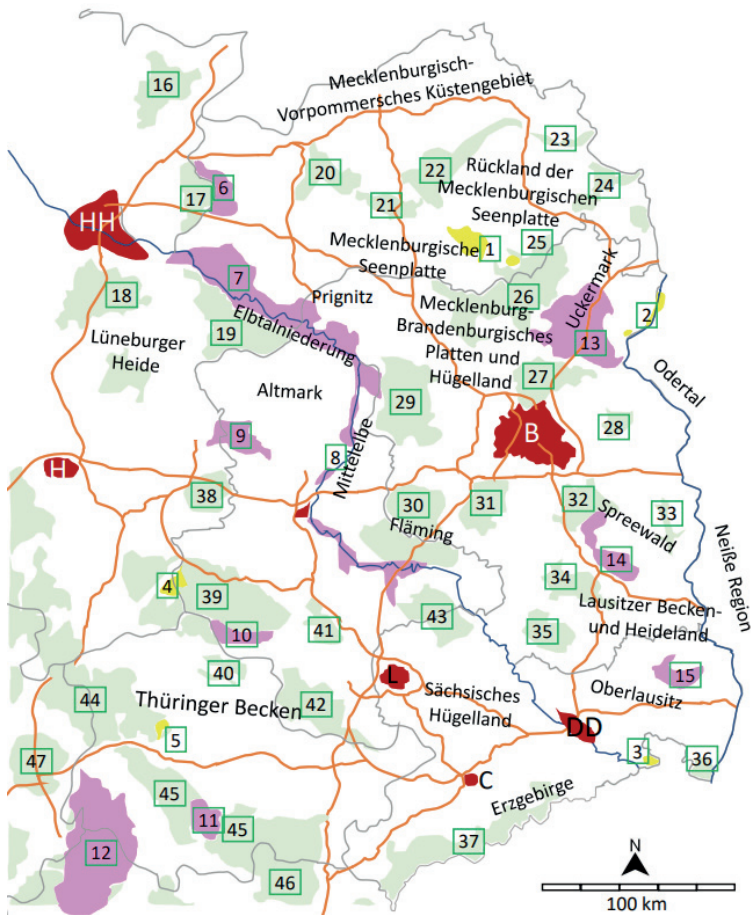
- Lysis-Solution Puffer: Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- Binding-Solution Puffer: Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- Washing-Solutions HS-Puffer: Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- Washing-Solutions LS-Puffer: Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- RNase freies Wasser: Virus RNA Kit; Analytik Jena; Jena
- Proteinase K; Quiagen; Hilden
- Formamid: Applied Biosystems
- Primer: Metabion international AG; Planegg/ Steinkirchen
- Qiagen Multiplex PCR-Kit; Quiagen; Hilden;
- Längenstandard: Orange 500 DNA Size Standard; McLab; San Francisco; USA
- 2x Abs. Blue Q- PCR Rox Mix: Quiagen; Hilden
- Q-PCR Primer: Quiagen; Hilden
- Cervus S: Quiagen; Hilden
- Ethanol 98%: Roth; Karlsruhe
- Formamid deionisiert: Roth; Karlsruhe
- Gelber Farbstoff: Atto550; Atto-Tec; Siegen
- Blauer Farbstoff: 6-FAM-phosphoramidit; Biomers; Ulm

- Grüner Farbstoff: Hexachloro-Fluoresceine; Biomers; Ulm
- TE-Puffer pH 8,0
  - 100mM TrisHCl; Roth; Karlsruhe
  - 10mM EDTA; Roth
- 3730 Running Buffer (10x): Applied Biosystems; Foster City; USA
- Reinstwasser, Roth; Karlsruhe

### 3.2. Untersuchungsgebiet

Das untersuchte Gebiet im Osten von Deutschland erstreckt sich über 100.000 km<sup>2</sup> (350 km Nord-Süd-Ausdehnung, 330 km Ost-West-Ausdehnung). Es umfasst die Bundesländer Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen und Sachsen-Anhalt. Die lokalen Gegebenheiten unterscheiden sich stark. Im Norden befindet sich das Norddeutsche Flachland mit einer eiszeitlich geprägten Tiefebene, die sich bis zur Leipziger Tieflandbucht erstreckt. Bis auf den Ballungsraum Berlin ist das Gebiet dünn besiedelt mit einer Bevölkerungsdichte von 69 Einwohnern/km<sup>2</sup> in Mecklenburg-Vorpommern bzw. 86 Einwohnern/km<sup>2</sup> in Brandenburg. Große Wasserflächen, wie die Mecklenburgische Seenplatte wechseln sich mit Wäldern und intensiv landwirtschaftlich genutzten Flächen ab, die in Mecklenburg fast zwei Drittel der Fläche ausmachen. Im Süden schließt sich das Mittelgebirge mit der Sächsischen Schweiz und dem Erzgebirge an. Der Fichtelberg mit seinen 1214 Metern ist die höchste Erhebung. Im Mittelgebirge sind auch weitere Ballungsräume wie Leipzig, Dresden oder Chemnitz zu finden. Die Bevölkerungsdichte ist hier deutlich höher (219 Einwohner/km<sup>2</sup>). 48,5% der Fläche wird landwirtschaftlich genutzt. Der Wald erstreckt sich auf 28 %, Wasser auf 3 %, die Siedlungs- und Verkehrsinfrastruktur auf 11,5% der Fläche.

Die Wälder in Mecklenburg und Brandenburg bestehen wegen des sandigen Bodens häufig aus einem Kiefern-Eichen-Wald. Der Anteil an Laubbäumen nimmt von Nord nach Süd ab, sodass in Sachsen 80 % der Wälder Nadelwälder sind. Weit verbreitet sind außerdem Buchenwälder (*Fagus sp.*). Die Bewohner dieses Waldes sind das Wildschwein (*Sus scrofa*), der Wolf (*Canis lupus*), der Rothirsch (*Cervus elaphus*), das Reh (*Capreolus capreolus*), der Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) und der Dachs (*Meles meles*). Beste Lebensbedingungen bieten ihnen dabei die vielen verschiedenen Nationalparks, Biosphären Reservate und Naturparks Ostdeutschland.



**Abbildung 6:** Untersuchungsgebiet mit wichtigen geografischen Besonderheiten und geschützten Naturräumen; Große Städte (rot): B= Berlin, HH= Hamburg, L=Leipzig, D= Dresden, C= Chemnitz; Nationalparks (gelb): Müritz (1), Unteres Odertal (2), Sächsische Schweiz (3), Harz (4), Hainich (5); Biosphären Reservate (pink): Schaalsee (6), Flusslandschaft Elbe (7), Mittel-Elbe (8), Drawehn (9), Karstlandschaft Südharz (10), Thüringer Wald (11), Rhön (12), Schorfheide (13), Spreewald (14), Oberlausitz (15); Nature Parks (grün): Holsteinische Schweiz (16), Lauenburgische Seen (17), Lüneburger Heide (18), Elbhöhen Wendland (19), Sternberger Seenlandschaft (20), Nossentiner/Schwinzer Heide (21), Mecklenburgische Schweiz (22), Flusslandschaft Peenetal (23), Stettiner Haff (24), Feldberger Seenlandschaft (25), Uckermark (26), Barnim (27), Märkische Schweiz (28), Westhavelland (29), Hoher Fläming (30), Nuthe/Nieplitz (31), Dahme/Heideseen (32), Schlaubetal (33), Niederlausitzer Landrücken(34), Niederlausitzer Heidelandschaft (35), Zittauer Gebirge (36), Erzgebirge (37), Elm/Lappwald (38), Harz (39), Kyffhäuser (40), Unteres Saaletal(41), Saale-Unstrut-Triasland (42), Jübener Heide (43), Hainich (44), Thüringer Wald (45), Frankenwald (46), Knüll (47); orangene Linien: Bundesautobahnen; blaue Linien: Flüsse; graue Linien: Bundesländergrenzen.

Die Elbe durchfließt als größter Fluss fast das gesamte Untersuchungsgebiet von Dresden im Süden über Magdeburg in Richtung Hamburg und wird in weiten Teilen von einer großen Auenwaldlandschaft umgeben, die als UNESCO Biosphären Reservat ausgezeichnet ist. Zu Polen hin begrenzen Oder und Neiße sowohl das Untersuchungs- als auch das deutsche Staatsgebiet (Abb. 6).

Das Gebiet wird von diversen Autobahnen durchzogen, die hauptsächlich von Berlin aus in alle Richtungen abgehen (Abb. 7). Nach Westen führt die A2. In die Gegenrichtung nach Osten zur polnischen Grenze verläuft die A12. Den Norden bedienen die A11 im Osten und die A24 im Westen. In den Südosten des Gebietes verläuft die A13, in den Südwesten die A9. Von diesen Autobahnen zweigen immer wieder zusätzliche Querverbindungen ab. In großen Teilen sind diese Autobahnen nicht eingezäunt.

Das gemäßigte Klima, am Übergang zwischen dem maritimen Klima im Westen und dem kontinentalen Klima im Osten, ist gekennzeichnet durch ganzjährige Niederschläge und Temperaturen von um die 0°C im Januar bis ca. 20°C im Juli. In Mecklenburg-Vorpommern ist das Klima etwas trockener und kühler mit einer Jahresdurchschnittstemperatur von 13°C. Brandenburg ist mit durchschnittlich 14°C eine der wärmeren Regionen in Deutschland, kann im Winter aber auch kühler sein. Im Süden ist es dagegen eher kalt und nass mit Durchschnittstemperaturen von 13°C in Sachsen.

### 3.3. Probenmaterial und Herkunft

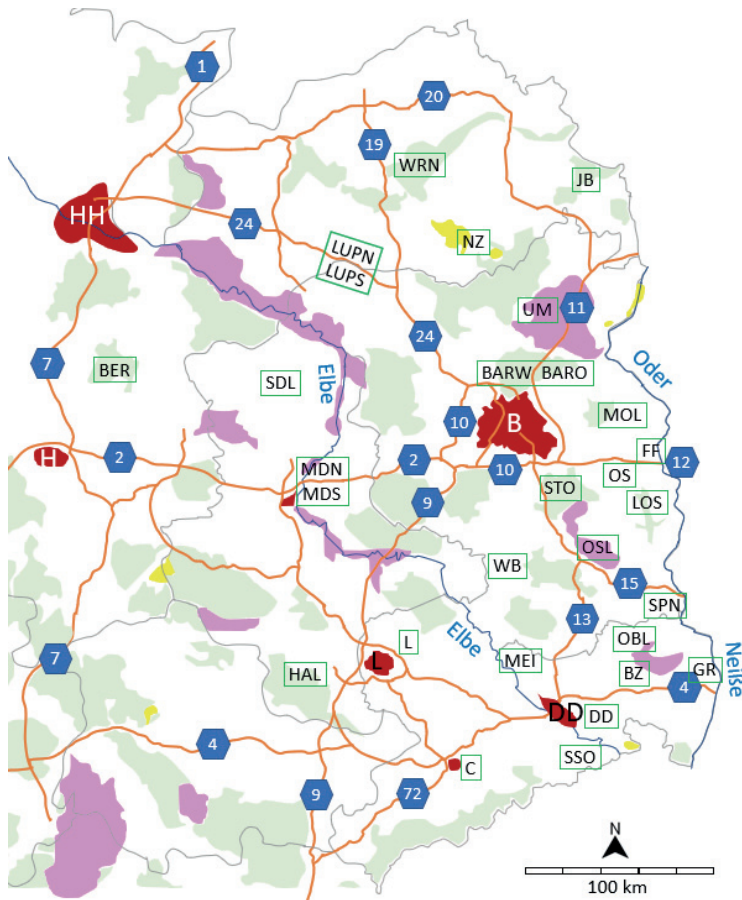
Die insgesamt 1262 Proben stammten von Wildschweinen aus den ostdeutschen Bundesländern und wurden im Rahmen der ASP-Bekämpfung oder bei der Gesellschaftsjagd zwischen 2020 und Mai 2022 entnommen.

Bei allen positiv auf ASP getesteten Proben wurde am Friedrich-Löffler-Institut im Rahmen der Virusdiagnostik die DNA extrahiert und dann für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt. Alle ASP-positiven Proben stammten aus dem Jahr 2021.

Die ASP-negativen Proben kamen von den Untersuchungsämtern der Bundesländer, der Bundeswehr oder dem Fundus des FLI. Die genaue Zahl und das Material der Proben der Tabelle 4 zu entnehmen.

*Tabelle 4: Probenherkunft*

<b>Herkunft</b>	<b>Anzahl der Proben</b>	<b>Probenmaterial</b>
FLI-Virusdiagnostik	405	Extrahierte DNA
FLI-Fundus	176	Wildschweinpürzel
Landesuntersuchungsämter	409	Blut
Bundeswehr	282	Blut



**Abbildung 7:** Karte der untersuchten Populationen (grüne Umrandung) mit Autobahnnummern (blaue Sechsecke), Biosphären Reservaten (pink), Nationalparks (gelb) und Nationalparks (grün), Großstädten (rot)

Für die Untersuchung wurden die Proben in 31 Gebiete (Tab. 5) unterteilt. Dabei erfolgte die Einteilung nach möglichen Barrieren, wie Autobahnen, Flüssen oder Siedlungen, die die Gebiete voneinander abgrenzten, sodass diese als potenzielle Barriere zu untersuchen waren (Abb. 7). Mit durchschnittlich 48 Tieren pro Gebiet, waren genügend Tiere für eine genetische Analyse vorhanden (Reiner et al. 2019). ASP-positive Tiere kamen in 9 Gebieten vor, wobei in den Populationen aus Ludwigslust (LUPN/LUPS) sowohl ASP-positive wie ASP-negative Proben in einer Population zusammengefasst wurden. Die teils geringen Populationsgrößen

kamen durch die Einteilung nach Barrieren und nach dem ASP-Status zustande, wodurch an manchen Stellen nicht genug Proben zur Verfügung gestellt werden konnten.

**Tabelle 5: Populationen**

<b>Population</b>	<b>Nr.</b>	<b>Kürzel</b>	<b>ASP</b>	<b>Breitengrad</b>	<b>Längengrad</b>	<b>Proben</b>
Bergen, Lüneburger Heide, NI	10	BER	0	N 52°48'22,824'	E 9°52'46,86"	57
Hubertushof, Waren, MVP	30	WRN	0	N 53°37'10,56'	E 12°40'57,36"	51
Neustrelitz, MVP	40	NZ	0	N 53°22'32,656'	E 13°52'52,278"	18
Uckermark, BB	50	UM	0	N 53°7'22,4837'	E 13°29'43,413"	28
Jägerbrück, Rückland, MVP	60	JB	0	N 53°34'45,397'	E 14°44'41,053"	181
Märkisch Oderland, BB	90	MOL	0	N 52°35'51,499'	E 14°6'45,2854"	14
Märkisch Oderland, BB (ASP-positiv)	91	MOL+	1	N 52°35'13,272'	E 14°25'35,6597"	28
Wittenberg, Fläming, BB	100	WB	0	N 51°42'18,4886'	E 13°51'38,8387"	61
Storkow, Dahme-Heideseen, BB	110	STO	0	N 52°14'20,8258'	E 13°56'47,3508"	52
Leipzig, SN	150	L	0	N 51°18'8,1972'	E 12°46'41,3976"	10
Oder-Spreewald, BB	161	LOS	1	N 52°54'38,439'	E 14°27'54,4569"	120
Oberspreewald, Lausitz, BB	170	OSL	0	N 51°44'19,879'	E 14°10'30,7714"	28
Meißen, SN	190	MEI	0	N 51°16'9,3725'	E 13°32'57,4985"	66
Chemnitz, SN	200	C	0	N 50°50'23,1864'	E 13°7'54,696"	10
Ludwigslust, MVP, nördlich A24	202	LUPN	0	N 53°28'16,3386'	E 11°50'20,6430"	14
Ludwigslust, MVP, südlich A24	203	LUPS	0	N 53°16'33,9555'	E 11°42'45,144"	8
Dresden, SN	210	DD	0	N 51°39'52,7914'	E 13°50'35,7951"	28
Bautzen, SN	220	BZ	0	N 51°17'11,4456'	E 14°15'22,56"	60
Oberlausitz, SN	230	OBL	0	N 51°28'35,884'	E 14°33'47,4872"	56
Spree-Neiße, Görlitz, SN	241	SPN	1	N 51°35'55,0848'	E 14°40'59,5488"	50
Sächsische Schweiz, SN	250	SSO	0	N 50°53'11,0034'	E 14°22'58,54"	61
Görlitz, Oberlausitz; SN	260	GR	0	N 51°9'25,6886'	E 14°45'47,0751"	14
Görlitz, Oberlausitz, SN (ASP-positiv)	261	GR+	1	N 51°19'56,721'	E 14°49'50,883"	96
Halle an der Saale, ST	280	HAL	0	N 51°28'39,559'	E 11°55'25,4806"	13
Stendal, ST	290	SDL	0	N 52°44'7,3972'	E 11°45'50,4327"	11
Barnim, BB, westlich A11	805	BARW	0	N 52°47'27,028'	E 13°19'12,722"	18
Barnim, BB, östlich A11	814	BARO	1	N 52°54'22,617'	E 14°58'52,23"	4
Frankfurt Oder, BB	1412	FF	1	N 52°21'33,2719'	E 14°28'59,961"	64
Oder/Spree, Spreewald, BB	1413	OS	1	N 52°17'31,349'	E 14°24'25,1743"	21
Magdeburg, ST, nördlich A2	2702	MDN	0	N 52°16'41,373'	E 11°45'39,291"	12
Magdeburg, ST, südlich A2	2703	MDS	0	N 52°7'39,945'	E 11°57'48,6"	8

BB: Brandenburg, MVP: Mecklenburg-Vorpommern, NI: Niedersachsen, SN: Sachsen, ST: Sachsen-Anhalt

## 3.4. Methoden

### 3.4.1. DNA-Isolation

Aus den Blutproben der Landesuntersuchungsämter und der Bundeswehr wurde mit Hilfe des INSTANT Virus RNA Kit von Analytik Jena die DNA extrahiert. Dazu wurden 450 µl Lysispuffer zusammen mit 150 µl der Probe in 2 ml Eppendorfcups gegeben und 3 - 4x für 10 Sekunden gevortext. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wurde 600 µl Bindingsolution hinzugefügt. Auch nach dieser Zugabe wurde das Probengemisch kurz gevortext und abzentrifugiert. Im Anschluss wurden die Zentrifugationssäulen in die Receiver-Tubes eingesetzt und die ersten 650 µl der Probenlösung wurden hinein pipettiert. Die Receiver-Tubes wurden mit 12.000 rpm für eine Minute zentrifugiert. Für die Zugabe der restlichen Probenlösung wurden die Zentrifugationssäulen in neue Receiver-Tubes überführt und dann ebenfalls für 1 Minute bei 12.000 rpm abzentrifugiert. Nach dem erneuten Umsetzen der Zentrifugationssäulen in neue Receiver-Tubes wurden 500 µl der HS Washingsolution hinzugefügt und alles bei 12.000 rpm für 1 Minute zentrifugiert. Die Zugabe der LS Washingsolution und die anschließende Zentrifugation (1 Minute bei 12.000 rpm) erfolgte wiederum in neuen Receiver-Tubes. Um auch die letzten Reste der Washingsolution zu lösen, wurden die Zentrifugationssäulen im letzten Schritt des Waschungsprozesses in leeren Receiver-Tubes für zwei Minuten bei 14.000 rpm zentrifugiert. Zur Elution der DNA wurden die Zentrifugationssäulen in Elution-Tubes umgesetzt und 60 µl RNase-freies Wasser hinzugefügt. Nach einer dreiminütigen Inkubation erfolgte die Zentrifugation bei 8.000 rpm für 2 Minuten. Nun konnte die so gewonnene DNA in den Elution-Tubes entweder direkt weiterverwendet oder bei -20 °C gelagert werden.

### 3.4.2. Messung der DNA-Konzentration

Die Messung der DNA-Konzentration wurde mit Hilfe des QubitFlex Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) und des dsDNA Br Kit durchgeführt. Zuerst wurden die benötigte Menge Puffer mit dem Farbstoff vermischt. In die Stripes wurden nun 3 µl der Probe mit 197 µl des Puffer-Farbstoff-Gemischs pipettiert. Nach 2 Minuten Inkubation erfolgte die Messung. Um eine hohe Genauigkeit zu erreichen, wurde nach 100 Proben immer eine neue Kalibrierung durchgeführt. Bei Proben mit einer Konzentration von über 5 ng/µl wurden diese mit RNase-freiem Wasser auf 5 ng/µl verdünnt.

### 3.4.3. Mikrosatelliten-Primer

Für die Untersuchungen wurden insgesamt 14 Mikrosatelliten benutzt, die zuvor schon erfolgreich bei der Arbeit von Reiner et al. (2021) eingesetzt wurden, um eine bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu erzielen. Sie wurden außerdem von der ISAG (International Society of Animal Genetics) für die Genotypisierung bei Schweinen empfohlen. Die ursprünglich für Hausschweine entwickelten Mikrosatelliten lassen sich ohne Probleme für die Wildformen der Spezies *Sus scrofa* einsetzen. Aus der NCBI (National Center for Biotechnology Information) Datenbank wurden die Primersequenzen entnommen, die in Tabelle 6 aufgeführt sind. Die verwendeten Primer wurden von der Firma Biomers.net GmbH, Ulm, synthetisiert.

Zu unterscheiden sind die Mikrosatelliten anhand ihrer Allelgröße und der Farbe, mit der sie markiert wurden, die während der Kapillarelektrophorese detektiert wird. Hier wurden die Farben Gelb (Y), Grün (G) und Blau (B) benutzt.

**Tabelle 6:** Liste der verwendeten Mikrosatelliten-Primer

Multi-plex	Marker	Farbe	Chromo-som	5'-label	Primersequence (5'-3')	Allelgröße		Literatur
						Min.	Max.	
1	SW936F	B	15	FAM	tctggagctagcataagtgcc	90	123	Rohrer et al. 1994
	SW936R	B			gtgcaagtacacatgcagg			
	S0155F	B	1	FAM	tgttctctgtttctcctctgtttg	134	175	Ellegren et al. 1994a
	S0155R	B			aaagtggaagagtgcaatggctat			
	S0226F	B	2	FAM	aaagcacttttaactttcatgatactcc	176	218	Robic et al. 1994
	S0226R	B			ggttaaaccttttcccccaataca			
	S0227F	B	4	FAM	gatccatttataatttagcacaag	219	270	Robic et al. 1994
	S0227R	B			atgggtgatgctatgcaagc			
	S0026F	G	16	HEX	aacctccctccaatcac	87	141	Robic et al. 1994
	S0026R	G			catatattcacagactgcttttactcc			
S0225F	G	8	HEX	gctaagccagagaaatgcag	142	217	Robic et al. 1994	
S0225R	G			caggtggaagaatggaatga				
SW240F	Y	2	Atto5 50	agaaattagtgcccaaatgg	80	135	Rohrer et al. 1994	
SW240R	Y			aaaccattaagtccctagcaaa				
2	SW951F	B	10	FAM	tffcacaactctggcaccag	100	143	Rohrer et al. 1994
	SW951R	B			gatcgtgcccaaatggac			
	SW911F	B	9	FAM	ctcagttcttgggactgaacc	144	187	Rohrer et al. 1994
	SW911R	B			catctgtggaaaaaaaaaagcc			
	S0101F	B	7	FAM	gaatgcaaagagttcagtgtagg	188	230	Ellegren et al. 1994b
	S0101R	B			tcctcacacttaccgcag			
	SW72F	G	3	HEX	atcagaacagtgcccgct	70	130	Rohrer et al. 1994
	SW72R	G			ctttgaaaatggggtgttcc			
	SW24F	Y	17	Atto5 50	ctttgggtggagtggtgctc	90	140	Rohrer et al. 1994
	SW24R	Y			gatccaaatgctgcaagc			
SW632F	Y	7	Atto5 50	tgggtgaaagattcccaa	141	197	Rohrer et al. 1994	
SW632R	Y			ggagtcagtactttggcctga				
Swr1941F	Y	13	Atto5 50	agaaagcaatttgattgcataatc	198	270	Alexander et al. 1996	
Swr1941R	Y			acaaggacactactgtatagcacagg				

### 3.4.4. Polymerasekettenreaktion (PCR)

Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden die Mikrosatelliten aus der extrahierten DNA amplifiziert. Die 14 Mikrosatelliten von Biomers (Deutschland) wurden in 2 Multiplex-PCRs mit jeweils 7 Markern zusammengefasst. Neben den Proben lief bei jeder PCR und der anschließenden Sequenzierung auch eine Standardprobe mit. Diese DNA-Probe eines Wildschweins diente der Erkennung von Fehlern im Analyseverfahren und half bei der Auswertung die Vergleichbarkeit der Läufe zu garantieren.

Für die PCR wurden im ersten Schritt die Primer-Mixe der PCR angesetzt. Dazu wurden jeweils die Forward- und Reverse-Primer des jeweiligen Mikrosatelliten zusammengegeben und TE-Puffer hinzugefügt, sodass der Primer-Mix eine Konzentration von 20 µM hatte (10 µM je Primer). Mit Hilfe eines Photometers und dem Lambert-Beer'schen Gesetztes wurden dafür über die Extinktion bei 260nm die einzelnen Konzentrationen der Primer berechnet.

Lambert-Beer'sches Gesetz:  $E=e*c*d$

E = Extinktion bei 260nm

e = Extinktionskoeffizient

$$= (15200 * \text{Base A}) + (7050 * \text{Base C}) + (12010 * \text{Base G}) * (8400 * \text{Base T/U})$$

c = Konzentration

d = Schichtdicke = 1cm

VF = Verdünnungsfaktor = 80

$$\text{Auflösen nach Konzentration } c = \frac{E}{e + d}$$

$$\text{Mit Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors } c = \frac{E}{e + d} * VF$$

Jeweils 20 µl der Primer-Mixe der 7 Marker wurde zu 260 µl destilliertem Wasser und 500 µl Master-Mix (QIAGEN Multiplex PCR Master Mix) gegeben. Dieser Master-Mix enthält die DNA-Polymerase sowie die benötigten Nukleotide. Die PCR wurde mit 10 µl-Ansätzen durchgeführt. Dazu wurden 1 µl DNA pro Probe mit 9 µl der Primer-Mastermix-Lösung vermischt.

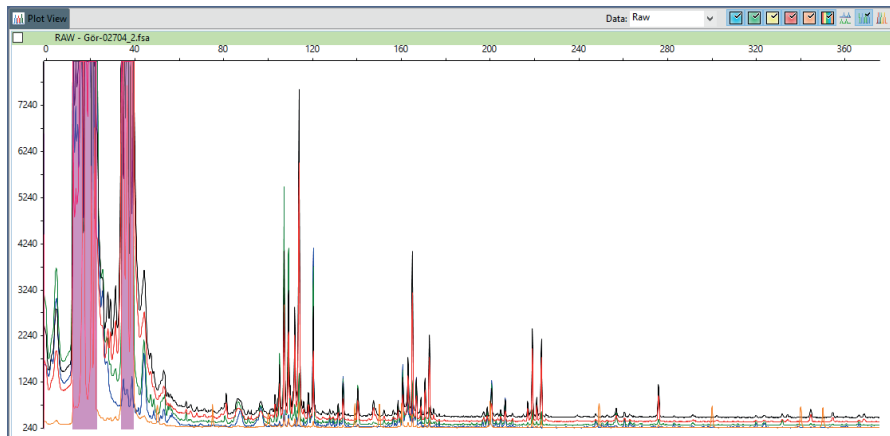
Im PCR-Cycler wurde der PCR-Ansatz zur Aktivierung der Polymerase für 15 Minuten bei 95°C inkubiert. Im Anschluss startete der erste PCR-Zyklus. Bei 95 °C erfolgte die Denaturierung in 30 Sekunden. Die beiden DNA-Stränge wurden voneinander getrennt. Beim Primer-Anneling wurde der PCR-Ansatz für 90 Sekunden auf 57 °C (bzw. 60 °C bei Multiplex 2) abgekühlt. Hierbei binden ein Forward und ein Reverse Primer an jeweils einem Strang der DNA. Während der Elongation wurde die DNA-Polymerase aktiv und synthetisierte den komplementären Strang durch Einbau komplementärer Nukleotide. Dieser Schritt dauerte 30 Sekunden und fand bei 72 °C statt. Je nach zuvor gemessener DNA-Menge wurden diese

Schritte 25- oder 30-mal wiederholt, um genügend Mikrosatelliten-Templates für die Kapillarelektrophorese zu erhalten. Das Produkt wurde nun für 30 Minuten bei 60 °C inkubiert und anschließend auf 4 °C abgekühlt, sodass es direkt weiterverwendet oder eingefroren werden konnte.

### 3.4.5. Kapillarsequenzierung

Um die Fragmentlängen der PCR-Produkte zu bestimmen, musste der DNA-Doppelstrang vor der Elektrophorese erst in Einzelstränge aufgetrennt werden. 1 µl der Probe wurde dafür mit 12 µl Hi-Di-Formamide (ThermoFisher Scientific, Deutschland) und 0,375 µl DNA-Standard 500 Orange (Nimagen, Niederlande) versetzt und in einem Wasserbad bei 95 °C für 3 Minuten erhitzt, bevor das Gemisch in einem Eisbad heruntergekühlt wurde.

Bei der Kapillarelektrophorese mit dem ABI PRISM 310 Kapillarsequenzierer wurden durch Anlegen einer Spannung die PCR-Produkte ihrer Größe nach aufgetrennt. Ein Laser detektiert dabei die Quantität der farblich markierten Fragmente. Auf der Abbildung 8 ist ein Ergebnis der Sequenzierung zu sehen. Von links nach rechts werden die detektierten Fragmente immer größer. Je höher ein Peak, umso mehr Fragmente konnten festgestellt werden. Die Mikrosatelliten Primer wurden mit den Farben Blau, Grün und Gelb markiert. Die Linie für die Gelb markierten Fragmente ist hier Schwarz dargestellt. Die roten und orangenen Linien sind Größenstandards.

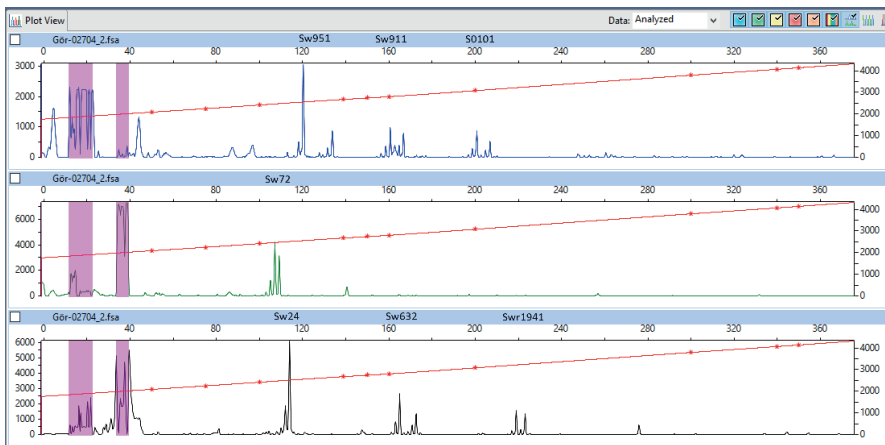


**Abbildung 8:** Ergebnisse des Kapillarsequenzierers vor der Auswertung mit dem Peak Scanner (Rohdaten)

### 3.5. Auswertung

#### 3.5.1. Peak Scanner Software

Die Daten aus der Kapillarelektrophorese wurden in die Peak Scanner Software 2.0 (ThermoFisher Scientific, Deutschland) eingelesen und grafisch dargestellt (Abb. 9). Mit Hilfe dieser Software konnten anhand des Größenstandards die Allelgrößen der Marker in einer Probe bestimmt und anschließend in Tabellenform gebracht werden. Kommt nur ein einzelner großer Peak im Größenbereich des Mikrosatelliten vor, ist dieser Mikrosatellit für diese Probe homozygot, finden sich zwei Peaks ist er heterozygot.



**Abbildung 9:** Auswertung der Peaks im Peak Scanner am Beispiel der Probe Gör-2704 mit dem Mikrosatelliten aus der Multiplex PCR 2

#### 3.5.2. Populationsgenetische Auswertung mit der R-Software

Die Tabellen, die mit der PeakScanner Software erstellt wurden, wurden mit der statistischen Software R Version 4.1.2 (R Core Team, 2022) weiter ausgewertet (Tab. 7). Alle dazu notwendigen R-Pakete wurden von Herrn Prof. Dr. H. Willems aus unserer Arbeitsgruppe in einfach zu bedienende R-Skripte eingebettet. Die R-Skripte wurden in eine Pipeline integriert, die es erlaubte, alle folgenden populationsgenetischen Analysen nacheinander abzuwickeln. Auch die Ergebnisse des Bayes'schen Clusterings konnten mit diesen Skripten aufgearbeitet und benutzerfreundlich dargestellt werden.

Mit dem R-Paket PopGenReport version 3.0.4. (Adamack and Gruber 2014; Gruber and Adamack 2015) wurde über die Funktion `null.all` die Nullallelfrequenz berechnet. Da die Frequenz fehlender Allele  $<5\%$  war, wurde die Nullallelfrequenz mit der Methode nach

Brookfield (1996) bestimmt. Mit 1000 Bootstraps wurde das 95%-Konfidenzintervalls (CI) berechnet. Signifikant sind die Nullallelhäufigkeiten nur wenn dieses Konfidenzintervall die 0 nicht miteinschließt. Mit dem gleichen R-Paket wurde auch der Allelreichtum der Populationen berechnet. Die Berechnungen beruhen auf den Methoden von El Mousadik and Petit (1996). Auf das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurde mit der Funktion `hw.test` im R-Paket `pegas` Version 0.12 (Paradis 2010) getestet. Verwendet wurde hier die Version nach Guo and Thompson 1992) mit einem exakten Test basierend auf Monte-Carlo-Permutationen ( $n=1000$ ) von Allelen. Mit dem Paket `poppr` Version 2.8.3 (Kamvar et al. 2014; Kamvar et al. 2015) wurden private Allele und die Evenness der Maker bestimmt. Mit der Funktion `divBasic` aus dem R-Paket `diveRsity` Version 1.9.90 (Keenan et al. 2013) konnten die Populationsgenetischem Parameter bestimmt werden (Anzahl der Allele/Jagdgebiet, Prozentsatz der Allele/Locus/Population, mittlere Anzahl der Allele, Allelreichtum, effektive Anzahl der Allele, beobachtete Heterozygotie, erwartete Heterozygotie, Inzuchtkoeffizient ( $F_{is}$ )). Für den Inzuchtkoeffizienten  $F_{is}$  wurde auch das 95%-Konfidenzintervall ausgegeben, das nach 1000 Bootstraps ermittelt wurde. Mit diesem R-Paket und der Funktion `diffCalc` konnte zusätzlich noch die paarweise Populationsdifferenzierung berechnet werden ( $F_{st}$  nach Weir and Cockerham (1984),  $G_{st}$  nach Nei (1973),  $G'_{st}$  nach Hedrick (2005),  $D$  nach Jost 2008)), sowie die Informativeness of ancestry nach Rosenberg et al. (2003) mit der Funktion `inCalc`. Der Manteltest und die Mantel-Korrelogramm-Analyse wurden mit der Funktion `mantel` bzw. `mantel.correlog` aus dem R-Paket `vegan` Version 2.5.7 (Oksanen et al. 2020) durchgeführt.

### 3.5.3. Untersuchung der genetischen Populationsstruktur (Bayes'sches Clustering)

Zur Untersuchung der genetischen Populationsstruktur wurden verschiedene Methoden herangezogen, die auf dem Bayes'schen Clustering beruhen. Mit STRUCTURE, TESS und BAPS wurden eine nicht-räumliche und zwei räumliche Methoden gewählt. In R wurden die Ergebnisse des Clusterings in Tabellenform gebracht. Zu besseren Übersichtlichkeit und Vergleichbarkeit wurde die Zuordnungswahrscheinlichkeit der Individuen zu den Clustern über die Population gemittelt und mit Kreisdiagrammen grafisch dargestellt. Jeder Kreissektor stellt dabei den prozentualen Anteil eines Clusters in der Population dar.

#### *STRUCTURE*

STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al. 2000) ist eine nicht räumliche Model-based-Clusteringmethode. Die Simulationen wurden nach einem Burn-in von 100.000 mit 200.000 Markov Chain Monte Carlo Iterationen durchgeführt. Die Anzahl an Clustern ( $k$ ) wurde auf 1

bis 10 gesetzt und für jedes K wurden 10 Läufe durchgeführt. Die optimale Anzahl an Clustern wurde in R mit der Methode von Evanno et al. (2005) bestimmt. Für jedes so gewonnene Cluster wurde hierarchisch wieder eine solche Simulation durchgeführt, bis keine weitere Unterteilung der Cluster mehr zustande kam.

#### *Tess*

Die Software TESS 2.3.1 (Chen et al. 2007; Durand et al. 2009; François et al. 2006) bewertet die Populationsstruktur anhand von Multilocusgenotypen die an unterschiedlichen geographischen Orten gefunden wurden, ohne dabei festgelegte Populationen miteinzubeziehen. Sie benutzt ein statistisches Modell, das berücksichtigt, dass räumlich aufeinander folgende Populationen mit höherer Wahrscheinlichkeit dem gleichen Cluster zugeordnet werden können, als Individuen die weiter entfernt vorkommen. Gearbeitet wird hier mit dem MCMC-Algorithmus und der Voronoi Tessellation (mathematische Parkettierung). Durchgeführt wurde die Analyse im ersten Durchlauf mit relaxierten Bedingungen (1200 sweeps und einem Burn-in von 200 sweeps, maximale Anzahl der Cluster ( $k$ ) = 10 und 10 Läufe pro K). So wurde die Anzahl der Cluster anhand des DIC-Wertes (Deviance Information Critirion Value) bestimmt. Mit dem Wert für K lief dann die eigentliche Zuordnung der Proben zu den Clustern mit 50.000 sweeps nach einem burn-in von 10.000 sweeps.

#### *BAPS*

Wie auch die TESS Software schließt auch BAPS 6 (Corander et al. 2003; 2008) die geographische Herkunft der Proben in die Berechnungen mit ein. Die Analyse erfolgte mit der „special clustering of individuals“ Option. Im ersten Schritt erfolgte hier eine Schätzung der zugrunde liegenden Anzahl an Populationen mit Hilfe einer Genetic-Mixture-Analyse anhand von Allelfrequenzen der Mikrosatelliten und der geographischen Herkunft der Proben. Das ist wichtig, weil die anschließende Admixture-Analyse, die Admixture Ereignisse bei den zuvor gefundenen Populationen sucht und dann die Proben entsprechend den Populationen zuordnet. Hier wurde sowohl von einem Monte-Carlo-Algorithmus Gebrauch gemacht also auch von einem stochastischem Optimierungs-Algorithmus (François and Durand 2010).

### 3.5.4. Genetische Distanzen

Um den Grad der genetischen Distanzen zwischen den Populationen zu zeigen, wurde mit Hilfe einer binären logistischen Regression gearbeitet. Grundlage dafür bildeten die Zuordnungswahrscheinlichkeiten der Individuen zu den Clustern aus dem Bayes'schen Clustering. Das Nagelkerke-Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ), hier prozentual ausgedrückt ( $R^{2\%}$ ) wurde als Maßeinheit gewählt. Bei  $R^{2\%} = 0 \%$  gibt es keinen Unterschied zwischen beiden

Populationen und es findet genetischer Austausch zwischen den betrachteten Gruppen statt. Gibt es keine Übereinstimmung der Genetik zwischen zwei Populationen ist  $R^2\% = 100\%$ . Die beiden Regionen sind voneinander getrennt und die Individuen gehören zu unterschiedlichen Clustern. Grafisch wurden die Ergebnisse als Zahl zwischen zwei Populationen veranschaulicht. Werte gegen 0 sind grün dargestellt, Werte gegen 100 rot.

### 3.5.5. Zusammenführung der Ergebnisse aus dem Bayes'schen Clustering

Die Ergebnisse aus den drei Bayes'schen Methoden wurden im letzten Schritt mit Hilfe von einer hierarchischen Clusteringanalyse in der SPSS-Software (IBM-SPSS V.27, Munich, Germany) miteinander kombiniert. Diese dient dazu Gemeinsamkeiten der verschiedenen Methoden hervorzuheben, während Unterschiede nivelliert werden. Wie bei den einzelnen Methoden wurden die Ergebnisse grafisch in Kreisdiagrammen dargestellt und die genetischen Distanzen bestimmt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Monomorphe Loci

Sowohl die Gesamtpopulation als auch die Subpopulationen wurden auf monomorphe Loci hin untersucht. In der Gesamtpopulation gab es keinen monomorphen Locus. Für Marker SW951 konnte in 16 von 31 Populationen nur ein Allel nachgewiesen werden. Marker S0155 und S0225 waren in jeweils einer Population monomorph. Aufgrund der fehlenden Variabilität und der damit einhergehenden geringen Informativens des Markers SW951 (siehe Anhang 2) wurde er von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

### 4.2. Individuen mit identischen Multilokusgenotypen (MLG)

Bei der Untersuchung auf identische Multilokus-Genotypen wurden 26 Proben gefunden deren Genotypen mindestens mit einer anderen Probe übereinstimmte (siehe Anhang 2).

### 4.3. Private Allele

In 13 Populationen wurden insgesamt 59 private Allele gefunden (Tab. 7). Die meisten in den Populationen FF (15) und in LOS (20). Alle Mikrosatelliten hatten private Allele. Mit 11 privaten Allelen zeigte der Mikrosatellit Swr1941 die meisten. 84,7 % der privaten Allele wurden in ASP-positiven Populationen gefunden (siehe Anhang 2).

*Table 7: Private Allele pro Population und Mikrosatellit*

Population	private Allele	Mikrosatellit	private Allele
STO	1	SW936	2
FF	15	S0226	4
OS	3	S0227	5
LOS	20	S0026	3
OSL	1	S0225	9
C	1	SW240	3
BZ	2	SW911	6
OBL	1	S0101	2
SPN	2	SW72	2
GÖR -	1	SW24	4
Gör +	3	SW632	8
JB	2	Swr1941	11
MOL +	7		

#### 4.4. Nullallele

Der Anteil von Nullallelen lag bei 0,38 %. Die durchschnittliche Frequenz für Nullallele in der Gesamtpopulation betrug 1,6 % (S0026) bis 6,2 % (SW936) (Tab. 8). Auf der Subpopulationsebene gab es bei 14 Populationen keine Mikrosatelliten mit signifikanten Nullallelfrequenzen (Tab. 9). Aufgrund der geringen Stichprobenzahl konnten für die Population BARO keine Nullallelfrequenzen berechnet werden. Für die Mikrosatelliten S0026, S0101, Sw24, Sw632 konnten auch über alle Populationen hinweg keine signifikanten Nullallelfrequenzen nachgewiesen werden. Mit Abstand die höchsten Nullallelfrequenzen zeigte der Mikrosatellit S0155, mit Frequenzen zwischen 0,091 (9,1%) bis 0,303 (30,3%). Mit Blick auf vorrangegangene Arbeiten, bei denen er auch schon zu einer hohen Nullallelfrequenz neigte und für die bessere Vergleichbarkeit der Studien wurde der Mikrosatellit S0155 von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

*Tabelle 8: Nullallelfrequenzen der Mikrosatelliten*

<b>Mikrosatellit</b>	<b>Beobachtete Frequenz</b>	<b>Mittlere Frequenz</b>	<b>2,5er Perzentil</b>	<b>97,5er Perzentil</b>
SW936	0,062	0,062	0,046	0,077
S0155	0,037	0,037	0,022	0,053
S0226	0,041	0,041	0,024	0,059
S0227	0,057	0,057	0,04	0,074
S0026	0,016	0,016	0,001	0,031
S0225	0,052	0,051	0,036	0,068
SW240	0,028	0,028	0,011	0,043
SW951	0,012	0,011	0,004	0,02
SW911	0,04	0,04	0,023	0,059
S0101	0,023	0,023	0,01	0,038
SW72	0,031	0,032	0,016	0,047
SW24	0,017	0,017	0,002	0,032
SW632	0,028	0,028	0,012	0,042
Swr1941	0,048	0,048	0,033	0,064

**Tabelle 9:** Nulltauffrequenzen der Populationen (nur signifikante Werte angeben)

	BER	WRN	NZ	UM	JB	MOL-	MOL+	WB	STO	L	LOS	OSL	MEI	C	LUPN
SW936	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,062	NA	0,104	NA	NA
S0155	0,091	NA	NA	NA	0,044	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,153	NA	NA	NA
S0226	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0227	0,107	NA	NA	NA	NA	NA	0,195	0,09	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0026	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0225	0,137	NA	NA	NA	NA	NA	0,14	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW240	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW911	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,143	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0101	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW72	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW24	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW632	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Swr1941	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	LUPS	DD	BZ	OBL	SPN	SSO	GÖR-	GÖR+	HAL	SDL	BARW	FF	OS	MDN	MDS
SW936	NA	NA	NA	0,088	NA	NA	NA	NA	0,215	NA	NA	0,13	NA	NA	NA
S0155	NA	NA	0,117	NA	NA	NA	NA	NA	0,303	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0226	NA	NA	NA	NA	0,116	NA	0,254	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0227	NA	NA	NA	NA	0,101	NA	NA	0,075	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0026	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0225	NA	NA	0,087	0,089	0,084	NA	0,264	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW240	NA	NA	NA	NA	NA	0,077	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW911	NA	NA	NA	NA	0,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
S0101	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW72	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW24	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
SW632	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Swr1941	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0,149	NA	0,247	NA

#### 4.5. Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWG)

Bei der Betrachtung der Gesamtpopulation zeigten alle Mikrosatelliten signifikante Abweichungen von Hardy-Weinberg-Gleichgewicht sowohl im  $\chi^2$ -Test als auch nach der Bonferroni-Korrektur (Tab. 10). Nach Aufspaltung in die einzelnen Subpopulationen wichen noch 12 Populationen vom HWG ab (siehe Anhang 2).

**Tabelle 10:** Abweichungen der Gesamtpopulation vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

Mikrosatellit	Chi2	df	P(Chi <sup>2</sup> )	HWE_Bonf
SW936	616,625623	120		0 signifikant
S0226	4415,22057	78		0 signifikant
S0227	3859,91404	136		0 signifikant
S0026	1311,19808	45		0 signifikant
S0225	6519,61801	171		0 signifikant
SW240	841,455796	66		0 signifikant
SW911	4276,83141	105		0 signifikant
S0101	161,22649	78	9,63E-08	signifikant
SW72	58,5296665	28	0,00062546	signifikant
SW24	3138,25709	66		0 signifikant
SW632	4795,91495	253		0 signifikant
Swr1941	14581,983	253		0 signifikant

df: Anzahl der Freiheitsgrade,  $\chi^2$ : Chi-Quadrat-Wert, P: Wahrscheinlichkeitswerte; HWE\_Bonf: gibt an, ob die Werte signifikant vom HWG abweichen

#### 4.6. Mikrosatelliten Kennwerte

Für die verwendeten 12 Marker konnten insgesamt 181 Allele nachgewiesen werden (Tab. 11). Dabei waren es mindestens 8 Allele bei Sw72 und maximal 23 Allele bei SW632 und Swr1941. Die beobachtete Heterozygotie lag zwischen 0,291 (S0225) und 0,709 (S0101). Die erwartete Heterozygotie lag zwischen 0,324 (S0225) und 0,732 (S0101). Beim Mikrosatelliten mit den wenigsten Allelen (SW72) waren die Allelfrequenzen am gleichmäßigsten verteilt (Evenness = 0,88). Beim Marker S0225 waren die Allelfrequenzen am unterschiedlichsten (Evenness = 0,44).

**Tabelle 11:** Mikrosatelliten Kennwerte

Mikrosatellit	Allele	Ho	He	F	Evenness
SW936	16	0,618	0,684	0,104	0,66
S0226	13	0,491	0,540	0,088	0,72
S0227	17	0,493	0,536	0,071	0,46
S0026	10	0,651	0,612	-0,066	0,73
S0225	19	0,291	0,342	0,148	0,44
SW240	12	0,574	0,598	0,032	0,64
SW911	15	0,582	0,616	0,050	0,7
S0101	13	0,709	0,732	0,046	0,74
SW72	8	0,604	0,644	0,063	0,88
SW24	12	0,680	0,656	-0,042	0,8
SW632	23	0,660	0,681	0,027	0,6
Swr1941	23	0,616	0,668	0,073	0,62
Mean	15,08	0,522	0,550	0,059	0,67

Ho: beobachtete Heterozygotie, He: erwartete Heterozygotie, F: Fixationsindex

#### 4.7. Populationsgenetische Kenngrößen

Eine Übersicht über die populationsgenetischen Kennwerte der Populationen bietet Tabelle 12. Für die Population BARO wurden mit 4 Proben die wenigsten und bei JB mit 181 die meisten Tiere untersucht. Durchschnittlich wurden 65,7 Allele pro Population nachgewiesen. Die meisten in OS (106), die wenigsten bei BARO (35). Die durchschnittliche Allelzahl pro Locus und Population lag bei 5,47, damit waren durchschnittlich 38 % der Allele in einer Population zu finden. Der Allelreichtum ( $A_r$ ) reichte von 2,4 (BARO) bis 3,35 (C, GÖR+). Die beobachtete Heterozygotie lag zwischen 0,38 in BARO und 0,67 in C mit einem Durchschnitt von 0,58. Die erwartete Heterozygotie betrug durchschnittlich 0,61. Am geringsten war sie in LUPS (0,48) und am höchsten in C und GÖR-. Die Fis-Werte liegen zwischen -0,048 und 0,113. In 23 von 31 Populationen wichen diese Werte signifikant von 0 ab.

**Tabelle 12:** Populationsgenetische Kenngrößen

Populationen	Kürzel	ASP	N	A	Na	%	Ar	Ho	He	Fis	Fis_Low	Fis_High
Bergen, Lüneburger Heide, NI	BER	0	57	66	5,5	37,65	3,02	0,55	0,59	0,068	0,009	0,122
Hubertushof, Waren, MVP	WRN	0	51	59	4,9	33,64	2,87	0,58	0,55	-0,048	-0,059	0,006
Neustrelitz, MVP	NZ	0	18	54	4,5	31,87	3	0,61	0,59	-0,025	-0,09	0,038
Uckermark, BB	UM	0	28	60	5	35,26	3,01	0,6	0,59	-0,013	-0,083	0,053
Jägerbrück, Rückland, MVP	JB	0	181	78	6,5	45,92	2,99	0,56	0,57	0,024	-0,006	0,053
Märkisch Oderland, BB (ASP+)	MOL	0	14	49	4,1	29,62	2,87	0,58	0,59	0,031	-0,073	0,118
Märkisch Oderland, BB (ASP+)	MOL+	1	28	76	6,3	41,63	3,11	0,56	0,63	0,11	0,011	0,215
Wittenberg, Fläming, BB	WB	0	61	71	5,9	40,84	3,12	0,58	0,62	0,074	0,027	0,118
Storkow, Dahme-Heideseen, BB	STO	0	52	59	4,9	33,83	3,01	0,59	0,6	0,003	-0,044	0,052
Leipzig, SN	L	0	10	57	4,8	34,29	3,07	0,62	0,6	-0,029	-0,19	0,109
Oder-Spreewald, BB	LOS	1	120	106	8,8	61,27	3,19	0,6	0,63	0,057	0,014	0,102
Oberspreewald, Lausitz, BB	OSL	0	28	64	5,3	38,41	3,11	0,58	0,63	0,071	0	0,14
Meißen, SN	MEI	0	66	74	6,2	42,97	3,17	0,59	0,62	0,056	0,018	0,097
Chemnitz, SN	C	0	10	59	4,9	33,28	3,34	0,67	0,68	0,005	-0,141	0,122
Ludwigslust, MVP, nördlich A24	LUPN	0	14	53	4,4	30,83	2,95	0,59	0,58	-0,008	-0,101	0,067
Ludwigslust, MVP, südlich A24	LUPS	0	8	40	3,3	24,24	2,52	0,5	0,48	-0,048	-0,249	0,091
Dresden, SN	DD	0	28	65	5,4	38,15	3,24	0,63	0,63	-0,01	-0,08	0,054
Bautzen, SN	BZ	0	60	87	7,2	50,7	3,28	0,6	0,62	0,033	-0,02	0,083
Oberlausitz, SN	OBL	0	56	77	6,4	44,68	3,15	0,6	0,62	0,044	-0,005	0,096
Spree-Neiße, Görlitz, SN	SPN	1	50	78	6,5	44,81	3,22	0,59	0,65	0,091	0,03	0,154
Sächsische Schweiz, SN	SSO	0	61	76	6,3	43,95	3,29	0,62	0,65	0,045	-0,003	0,092
Görlitz, Oberlausitz, SN	GR	0	14	62	5,2	35,85	3,34	0,6	0,68	0,119	-0,008	0,242
Görlitz, Oberlausitz, SN (ASP+)	GR+	1	96	92	7,7	52,95	3,3	0,61	0,64	0,053	0,015	0,093
Halle an der Saale, ST	HAL	0	13	59	4,9	34,15	3,18	0,62	0,66	0,063	-0,075	0,2
Stendal, ST	SDL	0	11	56	4,7	32,65	3,11	0,55	0,6	0,086	-0,037	0,187
Barnim, BB, westlich A11	BARW	0	18	56	4,7	33,4	2,97	0,59	0,58	-0,026	-0,149	0,093
Barnim, BB, östlich A11	BARO	1	4	35	2,9	21,02	2,41	0,38	0,55	0,319	-0,194	0,544
Frankfurt Oder, BB	FF	1	64	101	8,4	57,97	3,29	0,6	0,65	0,088	0,026	0,15
Oder/Spree, Spreewald, BB	OS	1	21	65	5,4	38,6	3,2	0,61	0,62	0,021	-0,108	0,14
Magdeburg, ST, nördlich A2	MDN	0	12	57	4,8	34,36	3,03	0,56	0,61	0,082	-0,076	0,228
Magdeburg, ST, südlich A2	MDS	0	8	45	3,8	27,1	2,78	0,51	0,55	0,074	-0,103	0,201
		Minimum	4	35	2,9	21,02	2,41	0,38	0,48	-0,048	-0,249	0,006
		Maximum	181	106	8,8	61,27	3,34	0,67	0,68	0,319	0,03	0,544
		Mittelwert	40,710	65,677	5,471	38,255	3,069	0,582	0,608	0,045	-0,058	0,131
		StAbw	38,417	16,261	1,348	9,086	0,217	0,050	0,042	0,069	0,074	0,096

N: Probenzahl, A: Allelzahl, Na: Allele pro Locus, %: gefundene Allele pro Locus, Ar: Allelreichtum, Ho: beobachtete Heterozygotie,

He: erwartete Heterozygotie, Fis: Inzuchtkoeffizient

#### 4.8. Paarweise Populationsdifferenzierung

Die Populationen mit der größten geographischen Distanz (BER → GÖR) zeigten nicht die größte genetische Distanz (Tab. 13). Die größten genetischen Abstände ergab die paarweise Populationsdifferenzierung zwischen den Populationen BARO und LUPS bei den Werten Fst, Gst und G'st. Bei Jost's D wurde nur zwischen den Populationen BARO und BER ein größerer genetischer Abstand festgestellt. Die Populationen BARO und LUPS/BER liegen ca. 164 km bzw 283 km weit auseinander. Die geringsten genetischen Abstände fanden sich bei Fst zwischen HAL und MDN, bei Jost zwischen HAL und SDL, sowie zwischen LUPN und BARW bei Gst und G'st.

**Table 13:** Wert der Paarweisen Populationsdifferenzierung

	Fst	Jost	Gst	G'st
kleinster Wert	0,0002	0	0,0018	0,0071
größter Wert	0,164	0,136	0,0934	0,3402
Durchschnitt	0,041	0,032	0,022	0,095

	Fst	Jost	Gst	G'st
größte geografische Distanz (382 km; BER → GÖR)	0,057	0,0644	0,0134	0,028
kleinste geographische Distanz (9 km; FF → OS)	0,015	0,009	0,039	0,008

Beim Vergleich von Populationen rund um die A11 zeigte sich, dass Populationen, die von der A11 getrennt wurden, aber eine ähnliche Distanz zueinander hatten wie die benachbarten Populationen auf derselben Seite der A11, signifikant höhere Fst-Werte aufwiesen (Tab. 14).

**Table 14:** Fst-Werte um die A11 und Fst-Werte von Populationen die einen ähnlichen Abstand zueinander haben

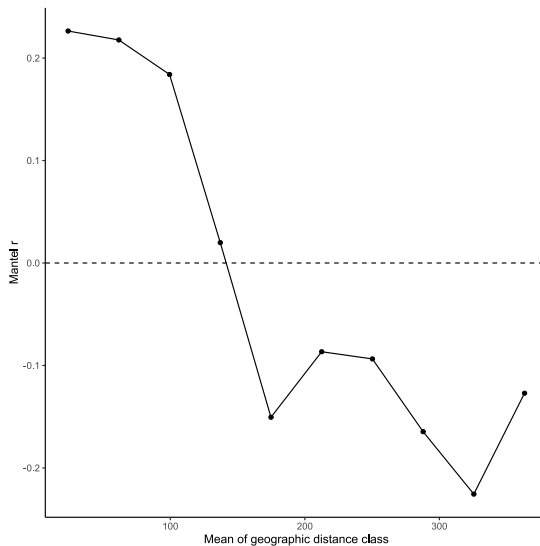
Populationen	Fst	Abstand in km
UM → MOL-	0,0411	71
BARW → MOL-	0,0428	57
BARW → MOL+	0,0385	78
Mittelwert	<b>0,0408</b>	68,6666667

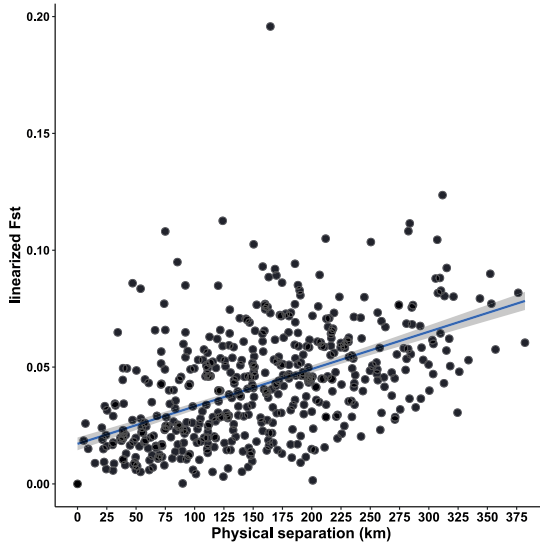
Populationen	Fst	Abstand in km
NZ → JB	0,0113	69
UM → JB	0,0121	63
WB → OSL	0,007	64
LDS → BARW	0,047	74
FF → OSL	0,024	76
OSL → MEI	0,01	61
L → DD	0,033	78
GÖR- → DD	0,02	64
Mittelwert	<b>0,02055</b>	68,625

#### 4.9. Manteltest

Der Manteltest zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen genetischer und geographischer Distanz (Abb.11:  $r = 0,476$ ,  $p = 0,0001$ ). Das bedeutet, dass 22,6 % ( $R^2$ ) der genetischen Distanz durch Isolation by Distance (IBD) erklärt werden können. Das Mantel-Korrelogramm ergab 10 Distanzklassen mit fast linear abfallendem Mantel  $r$ . Bis zu einer Entfernung von ca. 175 km bestand ein positiver Zusammenhang zwischen dem Mantel  $r$  und der geografischen Distanz der Populationen, sodass bis zu diesem Grenzwert nicht mit einer IDB zu rechnen war (Abb. 10).



**Abbildung 10:** Mantel-Korrelogramm mit positiver räumlicher Autokorrelation bis zu einer Distanz von 175 km

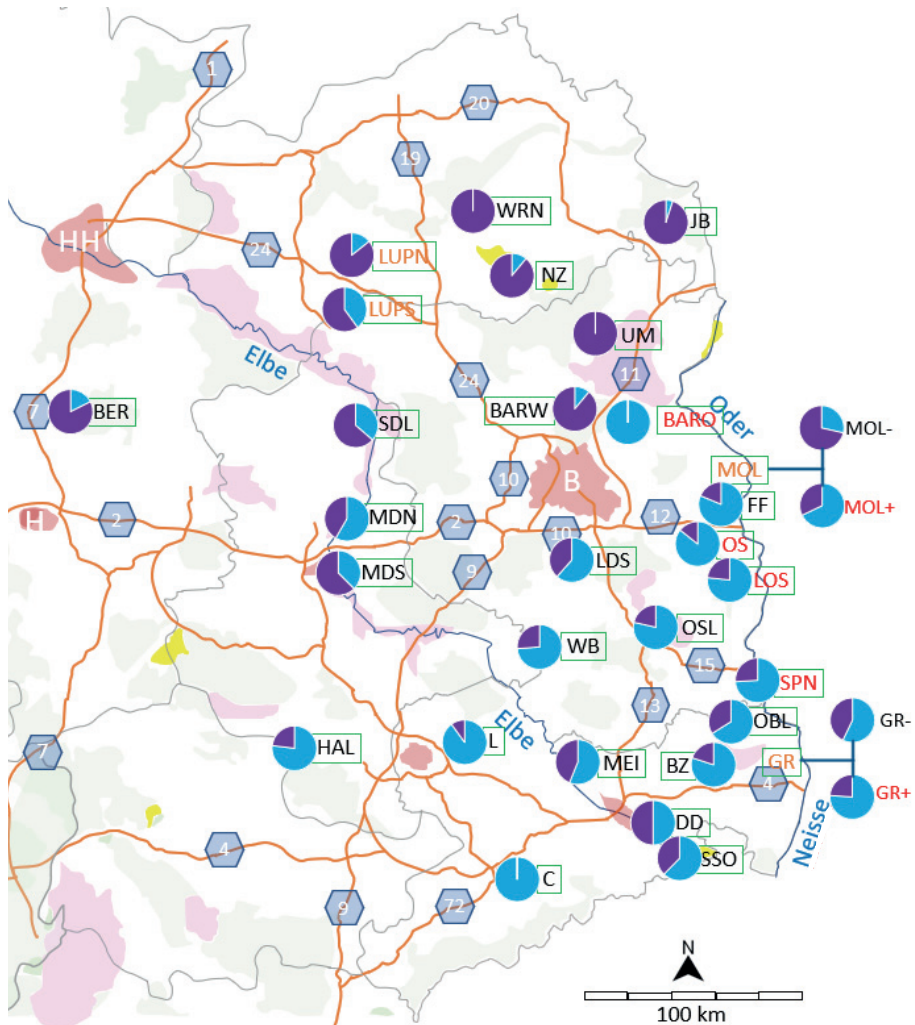


**Abbildung 11:** Variation der genetischen Distanz (linearisierte  $F_{st}$ -Werte) zwischen den Wildschweinpopulationen in Ostdeutschland in Abhängigkeit von der geographischen Entfernung gemäß Manteltest ( $r=0.476$ ,  $P=0,0001$ ); Die blaue Linie und die schattierte Fläche beschreiben das 95%-Konfidenzintervall

## 4.10. Clustering und genetische Distanzen

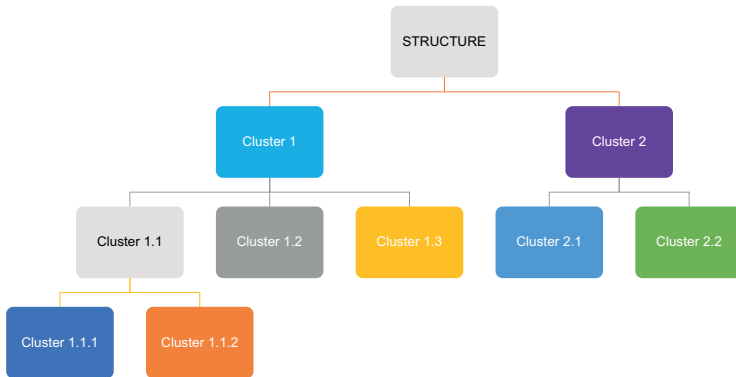
### 4.10.1. STRUCTURE

Im ersten Lauf von STRUCTURE mit allen Proben wurden zwei Cluster gefunden. 51,5 % der Proben wurden dabei dem Cluster 1 (hellblau) zugeordnet welches im Süden dominierte. Oberhalb einer gedachten Linie von Magdeburg über Berlin und entlang der A11 wurden die überwiegenden Proben dem Cluster 2 (lila) zugeordnet (Abb. 12).



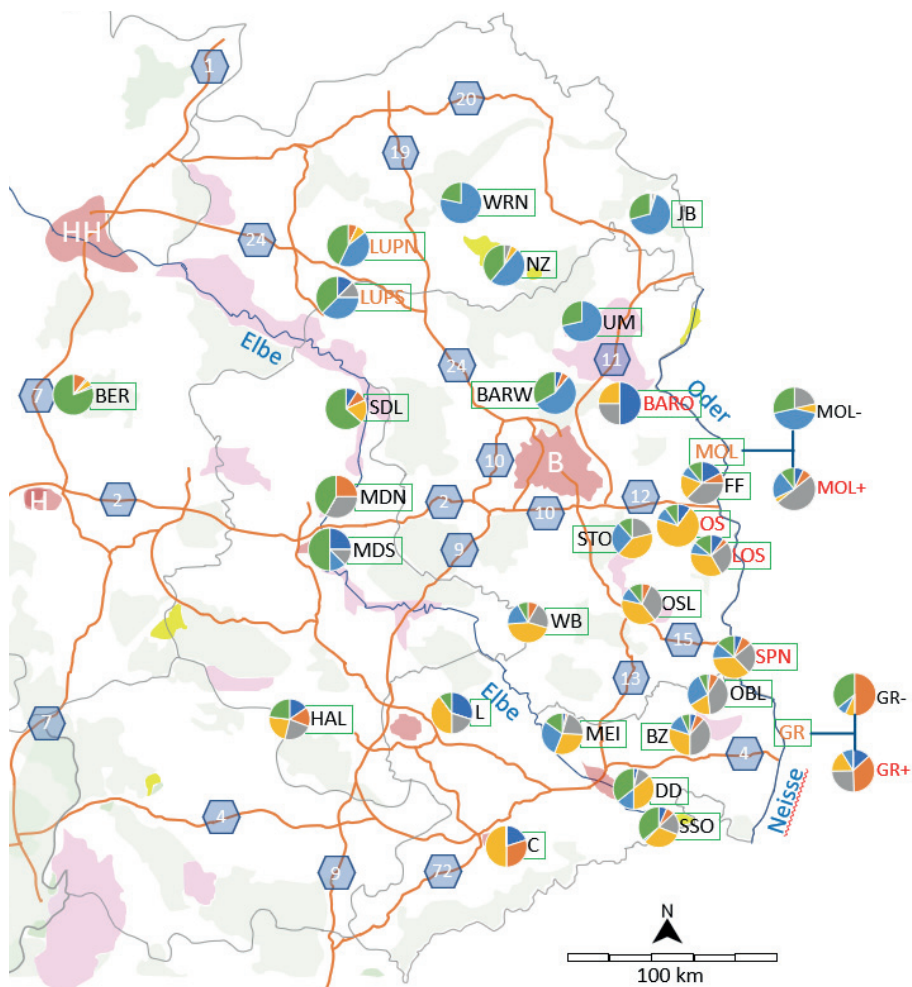
**Abbildung 12:** Zuordnung der Individuen zu den Clustern 1 und 2 nach der STRUCTURE-Analyse

Aus dem Cluster 1 konnten im zweiten Lauf drei Subcluster differenziert werden. Woraufhin Cluster 1.1 wiederum in 2 Cluster unterteilt wurde. Der Lauf von Cluster 2 ergab nur eine Unterteilung in zwei Subcluster, sodass die Wildschweine am Ende sechs unterschiedlichen Clustern zugeordnet wurden (Abb. 13).

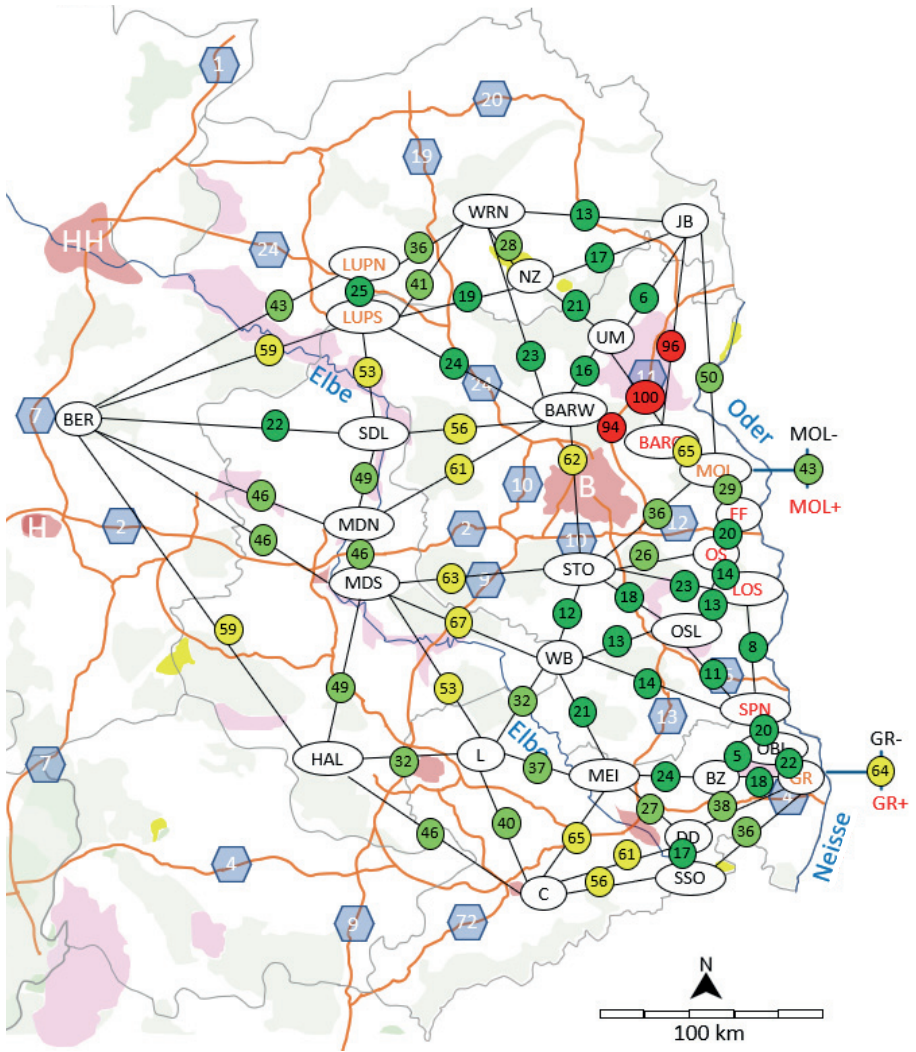


**Abbildung 13:** Hierarchische STRUCTURE-Analyse

Im Nord-Westen dominierten Cluster 2.1 (blau) und Cluster 2.2 (grün), im Süden die Cluster 1.3 (gelb) und 1.2 (grau) (Abb. 14). Während der Übergang von den Clustern 2.1 und 2.2 zu 1.3 und 1.2 im Westen von Berlin entlang der Elbe fließend war, erfolgt der Wechsel der Zuordnung zu den Clustern an der A11 abrupt.



**Abbildung 14:** Zuordnung der Individuen zu den Clustern 1.1.1 – 2.2 nach der STRUCTURE-Analyse; Cluster 1.1.1: dunkelblau, Cluster 1.1.2: orange, Cluster 1.2: grau, Cluster 1.3: gelb; Cluster 2.1: hellblau, Cluster 2.2: grün

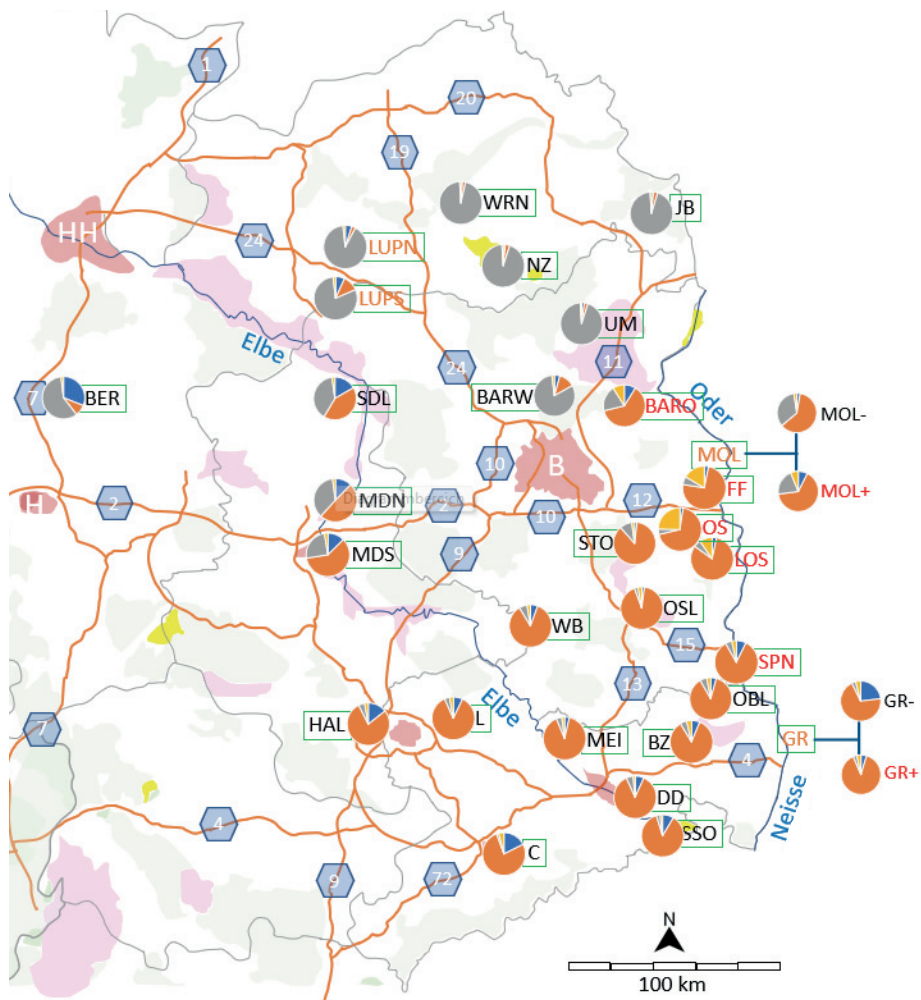


**Abbildung 15:** genetische Distanzen zwischen den Populationen anhand der STRUCTURE-Analyse

#### 4.10.2. TESS

Im ersten Lauf mit der Software TESS wurde unter relaxierten Bedingungen anhand des DIC-Werts  $K_{max}$  und damit die Anzahl der Cluster bestimmt. Dieser Lauf ergab für  $K_{max} = 4$  Cluster. 66 % aller Proben wurden dem Cluster 2 (orange) und 31 % dem Cluster 3 (grau) zugeordnet. Zu Cluster 1 und Cluster 4 wurden jeweils 1,5% der Proben zugeordnet.

Auch hier fällt die unterschiedliche Zuordnung der Populationen zu den Clustern auf (Abb. 16). Westlich der A11, im nördlichen Teil dominierte Cluster 3, dessen Einfluss auch an den Populationen im Westen entlang der Elbe sichtbar war. Östlich der A11 und weiter in Richtung Süden herrschte Cluster 2 vor. Cluster 4 (gelb) fand sich fast ausschließlich im Osten in den von der ASP betroffenen Regionen. In den westlichen Populationen (BER, LUPS, SDL, MDN, MDS, HAL) vermischen sich die Cluster 2 und 3 mit Cluster 1.

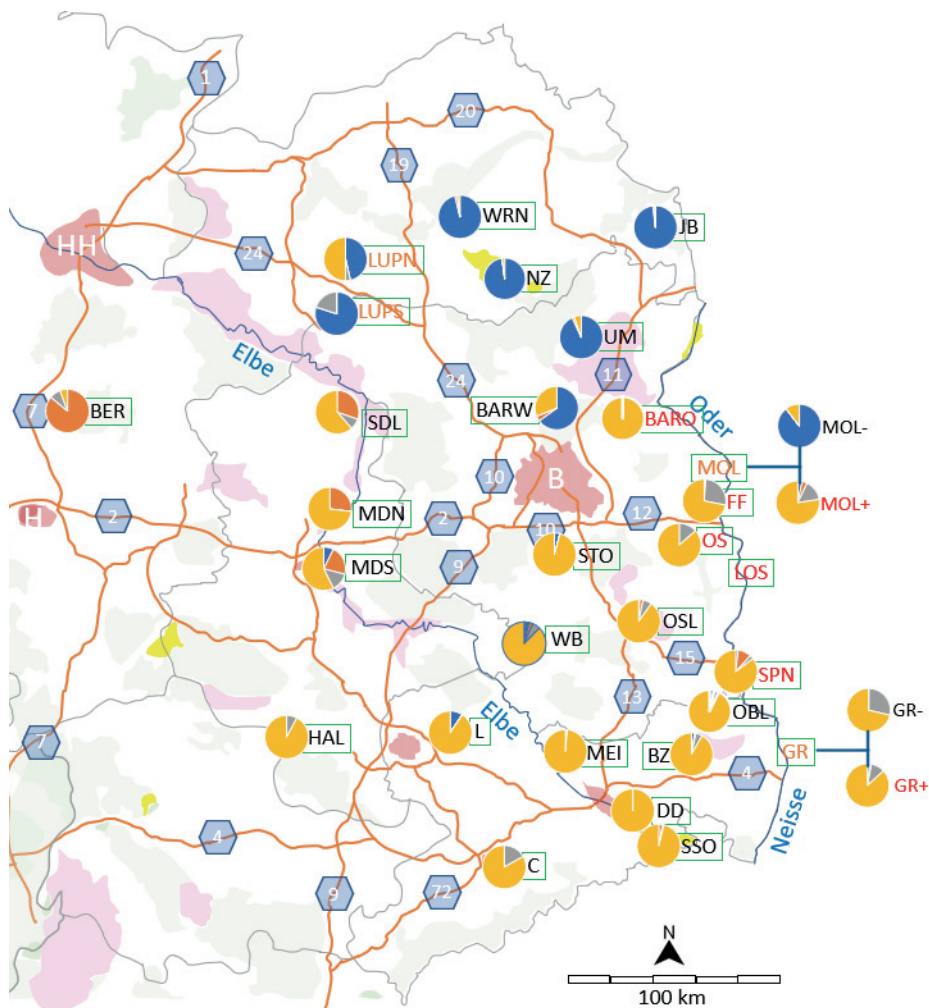


**Abbildung 16:** Zuordnung der Individuen zu den Clustern anhand der TESS-Analyse, Cluster 1: dunkelblau, Cluster 2: orange, Cluster 3: grau, Cluster 4: gelb



### 4.10.3. BAPS

Der Algorithmus in BAPS identifizierte ebenfalls vier Cluster (Abb. 18). Auch hier fiel die Trennung der nördlichen von den südlichen Populationen auf. Im Norden in den Populationen WRN, NZ, JB, LUPN, LUPS sowie BARW dominierte Cluster 1 (blau) mit Zuordnungswahrscheinlichkeiten von 89 bis 98 %. Im restlichen Untersuchungsgebiet überwog Cluster 4 (gelb). Gleichzeitig setzte sich Bergen im äußersten Westen des Untersuchungsgebiets mit einem eigenen Cluster (Cluster 2 [orange]) von den übrigen Gebieten ab, wenngleich mit Übereinstimmungen zu den angrenzenden Nachbargebieten SDL, LUPN und LUPS. Auch die östlichen Populationen an der polnischen Grenze waren durch ein eigenes Cluster (Cluster 3 [grau]) charakterisiert.



**Abbildung 18:** Zuordnung der Individuen zu den Clustern anhand der BAPS-Analyse, Cluster 1: blau, Cluster 2: orange, Cluster 3: grau, Cluster 4: gelb

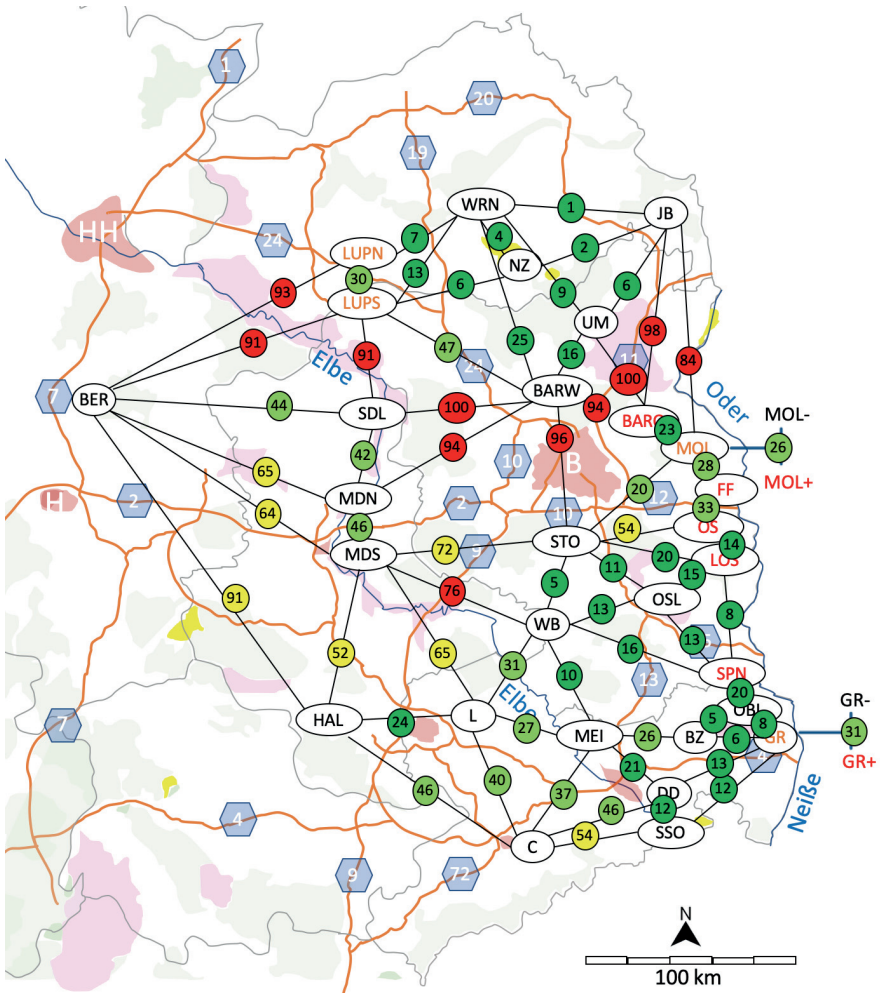


Abbildung 19: Genetische Distanzen zwischen den Populationen anhand der BAPS-Analyse

#### 4.10.4. Gemeinsame Betrachtung

Alle drei Berechnungen zeigten damit eine große Übereinstimmung mit nur minimalen Abweichungen. Ganz deutlich war die verminderte Konnektivität entlang der Linie Magdeburg-Berlin-A11 zu erkennen (Abb. 15,17, 19).

Der Nord-Osten mit den Populationen UM, NZ, JB, WRN, BARW zeigte sich als homogen mit geringen genetischen Distanzen und jeweils einem dominierenden Cluster (STRUCTURE: Cluster 2.1. [hellblau], TESS: Cluster 3 [grau], BAPS: Cluster 1 [blau]).

Während sowohl bei BAPS als auch TESS die Populationen LUPN und LUPS noch deutlich im Austausch mit dem Nord-Osten zu stehen schienen, zeigten sie sich nach STRUCTURE-Analyse genetisch stärker differenziert.

Der A24 (LUPN→ LUPS) kam nur eine geringe differenzierende Wirkung auf die Genetik der Populationen zu. Erst zu den weiter südlichen gelegenen Populationen war, besonders bei BAPS und TESS, eine größere genetische Distanz zu erkennen. Der westlichste Punkt im Untersuchungsgebiet (BER) zeigte ebenfalls eine deutliche Abgrenzung zu den Populationen in Ludwigslust (LUPN/LUPS), sodass sich hier die Differenzierungslinie aus Richtung Hamburg entlang der Elbe weiter in Richtung Süden zu ziehen schien. Größere Konnektivität zeigte BER dagegen zu den Populationen westlich der Mittelelbe (MDS, MDN, SDL). In diesen Populationen entlang der Elbe vermischten sich die Cluster der nördlichen und der südlichen Populationen.

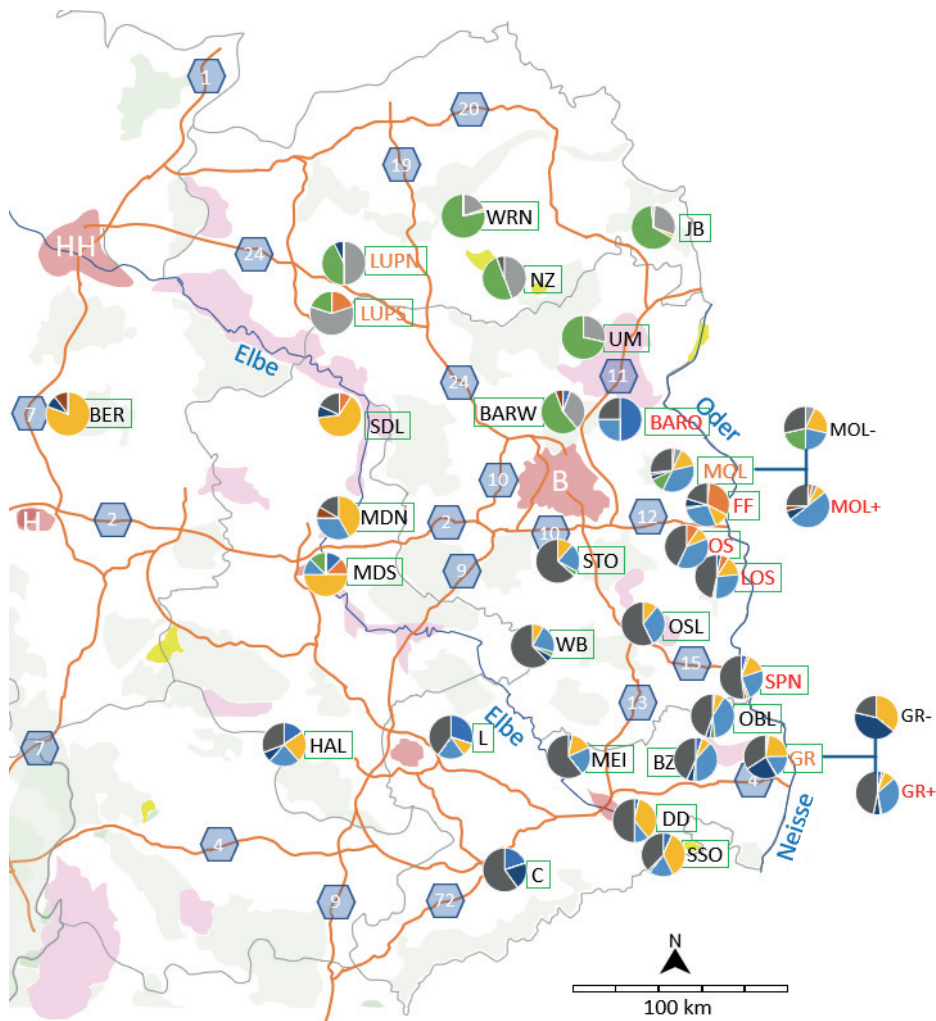
Im Süden des untersuchten Gebietes zeigte sich in allen Clustering Methoden eine hohe genetische Konnektivität. Abweichungen und damit größere genetische Distanzen waren nur in C und HAL zu beobachten.

Im Osten und Südosten lagen die mit ASP infizierten Gebiete. Die dortigen Populationen zeigten untereinander mehr genetische Diversität, vor allem nördlich der A12. Auffallend waren hier die eigenen Cluster der Gebiete FF, OS und LOS im Osten.

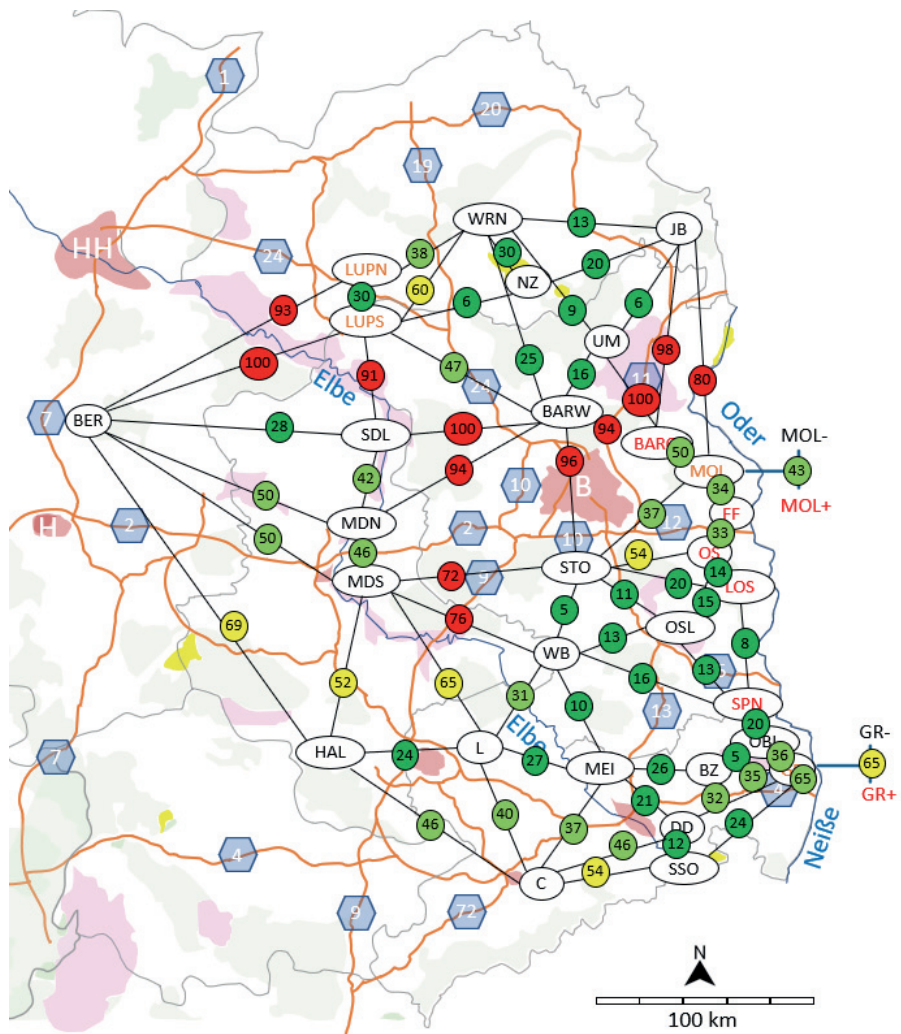
In zwei Gebieten war auch der direkte Vergleich von ASP-positiven und -negativen Tieren möglich (MOL, GÖR). Dabei fielen sowohl genetische Distanzen zwischen infizierten und nicht-infizierten Tieren innerhalb der Populationen, sowie zwischen nicht infizierten Tieren aus MOL und Gör zu den umliegenden Populationen auf.

Durch Vereinigung der Ergebnisse der unterschiedlichen eingesetzten Algorithmen entstanden 9 neue Cluster. Wieder waren im Nord-Osten und im Süd-Osten die höchsten Konnektivitäten nachweisbar, wobei im Norden das grüne Cluster und im Süden das dunkelgraue Cluster dominierten (Abb.20). Der Ansatz bestätigte erneut den hohen Differenzierungsgrad entlang der A11 über Berlin und weiter in Richtung Hamburg (Abb. 21). Südlich von Berlin und der Autobahn A12 reicht das Gebiet mit den geringen genetischen Distanzen bis an die Grenzen des untersuchten Gebietes. Erst zu den Populationen C und L

zeigten sich wieder geringfügig größere Distanzen. Differenzierter zeigen sich nur die ASP-negativen Tiere aus GÖR. Für die Regionen etwas weiter nördlich und östlich von Berlin fielen insbesondere bei BARO und FF starke Abweichungen zu den umliegenden Populationen auf. Ebenso zeigten die ASP-negativen Tiere aus Märkisch-Oderland (MOL) größere genetische Distanzen zu den umliegenden ASP-positiven Gebieten als, die ASP-positiven aus dieser Region. Entlang der Mittelelbe war deutlich der Einfluss des gelben Clusters aus BER zu erkennen. Eine Vermischung der Cluster aus dem Norden und Süden des Untersuchungsgebietes konnte nun nicht mehr so deutlich nachvollzogen werden. Dafür waren die genetischen Distanzen zu den im Westen liegenden Populationen umso deutlicher.



**Abbildung 20:** Clusterzuordnung der Individuen nach der Zusammenführung der Ergebnisse aus STRUCTURE, TESS und BAPS



**Abbildung 21:** Genetische Distanzen nach der Zusammenführung der Ergebnisse aus STRUCTURE, TESS und BAPS

## 5. Diskussion

Die hohe Wildschweindichte in Ostdeutschland vor allem in den von ASP betroffenen Gebieten und das sich langsam aber stetig ausbreitende Infektionsgeschehen nährt die Sorge vor einer auf Jahre ausgerichteten endemischen Situation. Um dies zu verhindern wurden diverse Maßnahmen ergriffen, um die Ausbreitung der Afrikanischen Schweinepest zu stoppen. Dabei sind die epidemiologischen Erkenntnisse, unter anderem auch das Ausbreitungsgeschehen zwischen den Populationen, von zentraler Bedeutung. Mit Hilfe der Genotypisierung sollte in der vorliegenden Arbeit die Konnektivität zwischen Populationen bestimmt werden, die Langzeiteffekte auf die Verbindungen zwischen den Nachbarpopulationen aufzeigt. Eindrücklich darzustellen war das z. B. für die Regionen im Norden des untersuchten Gebiets. In den Populationen in Mecklenburg-Vorpommern war untereinander ein hoher Grad an Konnektivität festzustellen, sie grenzten sich aber deutlich zu den südlicheren Populationen ab. Die Linie der Abgrenzung verlief dabei von der A24 und der Elbe im Westen, über Berlin und weiter entlang der A11 in Richtung Nord-Osten zur polnischen Grenze.

Auch südlich dieser Linie befand sich ein Gebiet mit geringer genetischer Differenzierung der einzelnen Nachbarpopulationen. Die beiden Flüsse Oder und Neiße schließen westlich an diese Region an und bilden die Grenze nach Polen, von wo aus die ASP nach Deutschland kam. Obwohl keine Proben aus Polen untersucht werden konnten, lassen die an der Grenze gefundenen genetischen Charakteristika der ASP-positiven Tiere (Cluster 3 (Blau) aus BAPS & Cluster 2 (rot) aus der Zusammenfassung) die Vermutung zu, dass diese von Wildschweinen aus Polen stammen.

Die bei der Untersuchung der Populationsstruktur mit STRUCTURE, BAPS und TESS gefundenen vier bzw. sechs Cluster, sprechen für eine generell geringe genetische Differenzierung zwischen den untersuchten Populationen, wodurch wenige Barrieren für die Wildschweine zu erwarten sind. Die grobe Unterteilung des Untersuchungsgebietes wurde schon im ersten Durchlauf von STRUCTURE gut sichtbar. Das im Norden dominierende Cluster 1 und das im Süden dominierende Cluster 2 gaben eine grobe Richtung der weiteren Unterteilung vor. Durch den hierarchischen Aufbau konnten die zwei Cluster noch weiter in sechs Cluster aufgetrennt werden, die die Barriere entlang der Autobahn A11 zusätzlich verdeutlichen. Auch durch die räumlichen Clustering Methoden BAPS und TESS wurde diese Barriere, die Mecklenburg-Vorpommern von den mit ASP infizierten Regionen an der polnischen Grenze trennt, kenntlich gemacht.

Die nördlich dieser Barriere liegenden Populationen in Mecklenburg-Vorpommern (LUPN, NZ, WRN, UM, JB) zeigten untereinander eine hohe Konnektivität. Ebenso wie die Populationen östlich von Berlin und im Süden des untersuchten Gebietes. Durch die große

Übereinstimmung ihrer Genetik ist in diesen Regionen von einem regen genetischen Austausch und von fehlenden Barrieren für die Wildschweinbewegungen auszugehen.

Durch die hohe Wildschweindichte kann hier, als mögliche Ursache für die fehlende genetische Differenzierung der Wildschweine gezeigt, die Größe der Population infrage kommen (Frantz et al. 2012). Eine große Population kann der genetischen Drift entgegen wirken und damit auch der Differenzierung von Subpopulationen (Gauffre et al. 2008).

Bei der Betrachtung der strukturellen Gegebenheiten zwischen den beiden Gebieten mit hoher Konnektivität bildeten die Autobahn A11 im Osten eine potenzielle Barriere für Wildschweinbewegungen. Mit genetischen Distanzen von bis zu 100% in STRUCTURE und BAPS war sie deutlich zu erkennen. Diese genetische Diskontinuität an der A11 konnte auch über die paarweisen  $F_{st}$ -Werte gezeigt werden. So konnten für Populationsvergleiche rund um die A11  $F_{st}$ -Werte von durchschnittlich 0,04 festgestellt werden, wohingegen Populationspaare mit ähnlichen geographischen Abständen im Rest des untersuchten Gebietes durchschnittliche  $F_{st}$ -Werte von 0,02 aufwiesen. Eine vergleichbare Erhöhung der  $F_{st}$ -Werte sowie ähnliche genetische Distanzen konnten für Populationen am Rhein in Rheinland-Pfalz gezeigt werden (Reiner et al. 2021). Hier stiegen die  $F_{st}$ -Werte von 0,031 auf 0,06, wenn der Rhein als Barriere zwischen zwei untersuchten Populationen lag. Auch genetische Distanzen bis zu 100% wurden nachgewiesen. Für die anderen Autobahnen im Untersuchungsgebiet konnte kein so eindeutiger Effekt gezeigt werden. Solch diverse Ergebnisse zur Barrierewirkung von Autobahnen zeigten sich auch im Vergleich mit anderen Arbeiten. Denn von Frantz et al. (2012) und Reiner et al. (2021) konnten keine Barrierewirkung von Autobahnen festgestellt werden, wohingegen von Lecis et al. (2022) und Tadano et al. (2016) ein deutlicher Effekt auf die Genetik der Wildschweine durch Autobahnen nachgewiesen werden konnte. Somit muss die Situation von Autobahnen differenziert gesehen werden und viele lokale Gegebenheiten wie Einzäunung, Verkehr, Brücken und sonstige Übergänge sollten in die Betrachtung miteinbezogen werden. Ebenso wie die räumlichen Strukturen um die Autobahn, wie große Waldgebiete oder landwirtschaftlich genutzte Flächen.

Verfolgt man die durch das Bayes'sche Clustering gefundene Barriere weiter Richtung Westen verläuft diese entlang dem Fluss Elbe und der parallel verlaufenden Autobahn A24. Das Flüsse eine Barriere bilden können, konnte bereits von Reiner et al. (2021) am Beispiel des Rheins in Rheinland-Pfalz gezeigt werden. Anders stellte sich die Situation an der Mosel dar, für die in dieser Arbeit keine Wirkung auf Wildschweinbewegungen nachgewiesen werden konnte. Mit Fließgeschwindigkeiten von durchschnittlich 1400 m<sup>3</sup>/s fließt der Rhein bei Worms in Rheinland-Pfalz deutlich schneller als die Mosel mit 312 m<sup>3</sup>/s (BMU-Projekt "Verbesserung der Datengrundlage zur Bewertung hydrologischer Extreme" 2024). Die Flüsse Oder und Elbe im Untersuchungsgebiet mit Fließgeschwindigkeiten von 670 m<sup>3</sup>/s bzw. 300 m<sup>3</sup>/s sind mit der

Mosel zu vergleichen. Da Wildschweine gute Schwimmer sind, stellen solche Flüsse in der Regel kein Hindernis dar (Briedermann 2009; Tajchman et al. 2018). Stattdessen sind Flusstäler mit reichlich Schilf ein beliebter Lebensraum für Wildschweine (Keuling et al. 2017) und durch das Biosphärenreservat Mittlere Elbe ist die Region noch attraktiver. Es war dementsprechend keine Barrierewirkung an der Elbe zu erwarten. Stattdessen bildet sie im Bereich der Mittleren Elbe eine Verbindung zwischen den durch Berlin und die A11 abgetrennten Regionen im Norden und Süden des untersuchten Gebietes, die durch die Vermischung der nördlichen und südlichen Cluster in den Gebieten SDL, MDN/MDS, HAL deutlich wurde. In diesen Populationen wurde auch der Einfluss der westlich liegenden Region Bergen (BER) bei der Clusterzuordnung dieser Gebiete deutlich. Warum dann allerdings eine genetische Diskontinuität zwischen BER und Ludwigslust Parchim (LUPN/LUPS) über die Elbe hinweg besteht konnte nicht abschließend erklärt werden. Auch der Einfluss der Autobahn A24 auf die größeren genetischen Distanzen zwischen den genannten Populationen war nicht endgültig zu bestimmen. Möglich ist hier ein Zusammenhang mit der geringen Probenzahl aus den Regionen LUPN (14 Proben) und LUPS (8 Proben). Dies müsste allerdings in einer weiteren Untersuchung mit mehr Proben geklärt werden.

Der Manteltest ergab bis zu einer Distanz von 175 km es eine positive räumliche Autokorrelation innerhalb der Distanzklassen, sodass bis zu diesem Abstand nicht mit einer IBD zu rechnen ist. Im Gegensatz dazu waren für Rheinland-Pfalz IBD-Effekte schon ab 100 km festzustellen (Reiner et al. 2021). Grund für diesen Unterschied werden mutmaßlich die abweichenden lokalen geographischen Gegebenheiten sein. In Ostdeutschland dominiert das flache und wenig besiedelte Land, während in Rheinland-Pfalz Mittelgebirgslandschaften und eine höhere Bevölkerungsdichte (203 Einwohner /km<sup>2</sup>) aufeinandertreffen. Diese Umstände sorgen dafür, dass in Ostdeutschland direkt nebeneinander liegende Populationen ohne weiteres miteinander verglichen werden konnten und die gefundenen genetischen Diskontinuitäten zwischen zwei Populationen auf physische Barrieren zurückzuführen waren und nicht auf die Effekte von IBD. Diese spielen nur bei Vergleichen weit entfernter Populationen eine Rolle.

Aufgrund der gewählten Untersuchungsmethode und der daraus resultierenden langfristigen Ausrichtung der Untersuchung, waren Aussagen zu der definitiven Barrierewirkung nicht zu treffen. Jedoch können die anhand der genetischen Differenzierung zwischen den Wildschweinpopulationen regional unterschiedlichen Konnektivitäten die Ausbreitung der ASP unterschiedlich beeinflussen.

Der erste Nachweis von ASP fand am 10.09.2020 im Landkreis Spree-Neiße an der polnischen Grenze statt (Sauter-Louis et al. 2020). In der vorliegenden Arbeit gehören Proben aus der Region zu Population LOS. Ende September 2020 wurde dann der zweite Ausbruch im Landkreis Märkisch-Oderland gemeldet (MOL). Die beiden Ausbruchsorte liegen über 100

km weit auseinander und sind durch die A12 getrennt. Der genetische Austausch in der Region ist zwar generell hoch, aber durch die Distanz zwischen den zwei Erstausbrüchen und der Trennung durch die A12 war dennoch nur eine geringe Konnektivität der betroffenen Wildschweinpopulationen zu erkennen, sodass hier von zwei separaten Einträgen aus Polen auszugehen ist. Untermauert wurde diese Vermutung durch die zwei unterschiedlichen Virustypen (LOS: I.1.; MOL+: III.2) die in den jeweiligen Populationen gefunden wurden und die sich bisher auch nicht vermischt haben. Für den separaten Eintrag der Afrikanischen Schweinepest sprach außerdem die Nähe zu den wildschweinreichen und stark von ASP betroffenen Regionen in Westpolen entlang der deutsch-polnischen Grenze, die für einen konstanten Infektionsdruck in den deutschen Wildschweinpopulationen sorgen.

Die beiden nächste Ausbruchgebiete in der Oberlausitz (Proben aus diesem Gebiet wurden in der Population SPN zusammengefasst) und in GÖR+ standen in regem genetischem Austausch mit den zu diesem Zeitpunkt bereits infizierten Gebieten in Deutschland und liegen nah an der polnischen Grenze. Sowohl in der Population SPN als auch in der Population GÖR+ wurde wieder eine neue Virusvarianten (SPN: IV.1; GÖR+: IV.2 & IV.3) gefunden. Trotz des hohen Infektionsdruck aus den polnischen Gebieten war nicht eindeutig zu klären, ob sich die Infektionen in Deutschland ausgebreitet haben und dabei neue Virusvarianten entstanden sind, oder ob die neuen Virusvarianten aus Polen eingetragen wurden.

In Frankfurt (Oder) (FF) kam es im Februar 2021 nördlich der A12 zum ersten Ausbruch. Eine klare Aussage zur Herkunft des Virus anhand von genetischen Daten war hier nicht möglich, denn es bestand eine deutliche genetische Konnektivität zu den Gebieten in MOL. Hinzu kam der Nachweis derselben Virusvariante in MOL und FF. Nichtsdestotrotz wurde der erste Fall in FF in direkter Nachbarschaft zu den infizierten Tieren in Polen gefunden.

Im Verlauf des Jahres 2021 breitete sich die Erkrankung weiter nach Süden aus und übersprang auch die A12 bei Frankfurt (Oder). Betrachtet man die Barrierewirkung der A12 ist diese als eher gering einzustufen und zusätzlich durch eine Grünbrücke reduziert. Obwohl diese im Zuge der ASP-Bekämpfung von den Zuständigen Behörden schon 2020 mit einem Zaun gesperrt wurde (Führes 2020), konnte eine Ausbreitung über die A12 nicht ausgeschlossen werden.

In Märkisch-Oderland (MOL) und Görlitz (GÖR) konnten sowohl infizierte als auch nicht infizierte Tiere untersucht werden. In beiden Populationen ist ein genetischer Unterschied zwischen den ASP-positiven und den ASP-negativen Wildschweinen festzustellen. Dieser Umstand ließ die Vermutung zu, dass immer wieder Tiere aus Polen migriert sind, die für die erhöhte genetische Distanz verantwortlich waren. Das würde auch das Vorkommen von neuen Clustern in den ASP-positiven Regionen von FF, OS und LOS erklären, sowie die hohe Anzahl an privaten Allelen in diesen Populationen.

Zu zwei punktuellen Einträgen der ASP kam es sowohl in Dresden als auch in LUP. Beide Regionen liegen westlich bzw. nordwestlich von dem bisherigen Ausbruchsgeschehen in Deutschland und weit entfernt von der polnischen Grenze sowie dem nächsten ASP-positiven Fall. Aus Dresden konnten leider keine infizierten Tiere mehr untersucht werden. Jedoch stehen die Wildschweine zwischen der östlichen Ausbruchgebieten und den Rotten in Dresden in genetischem Austausch, sodass eine Übertragung durch Wildschweine, wenn auch sehr unwahrscheinlich, möglich wäre.

Auch wenn die Proben aus LUP nur spärlich vorhanden waren, deuten sowohl die hohe genetische Distanz zu den ASP-positiven Populationen im Westen (BARO), die große geografische Distanz, als auch die neu entdeckte Virusvariante auf den Menschen als Vektor hin.

Zusammen mit den Daten über die Virusvarianten konnte gezeigt werden, dass die genetische Differenzierung von Populationen geeignet ist, um die Rolle von Wildschweinen bei Sprüngen des Virus über weitere Distanzen zur ermitteln. Über die so gefundenen starken Barrieren ist bisher keine Ausbreitung durch Wildschweine verzeichnet. Die Ausbreitungstendenzen auf lokaler Ebene sind schwieriger nachzuvollziehen. Denn zu viele Faktoren, wie das Klima, das aktuelle Futterangebot oder der Jagddruck können die Wildschweinbewegungen und somit auch die Übertragung der ASP kurzfristig beeinflussen (Reiner et al. 2021). Inwieweit der tatsächliche Zusammenhang zwischen den genetischen Distanzen und der Barrierewirkung für die ASP besteht, bleibt unklar. Nichtsdestotrotz kann davon ausgegangen werden, dass die gefundenen Barrieren gerade zusammen mit der geringen Kontagiösität des Virus und weiteren Bekämpfungsmaßnahmen, wie der Kadaverbeseitigung, ein Hindernis für die Ausbreitung bieten.

Eine weitere kurzfristige Möglichkeit, um die Bewegung von Wildtieren einzuschränken ist der Einsatz von Zäunen. Dieser ist aus Belgien und Tschechien bekannt und hat sich als sinnvoll in der ASP-Bekämpfung erwiesen (European Food Safety Authority et al. 2020). Dabei ist der Einsatz von Zäunen aufgrund ihrer Auswirkungen auf andere Wildtiere und des Infrage gestellten Nutzens bei der Kontrolle der Ausbreitung von Wildtiererkrankungen, teilweise umstritten (Mysterud and Rolandsen 2019). Aufgrund dieser Umstände sollte der Bau von Zäunen wohl dosiert erfolgen und sich an bereits existieren Barrieren orientieren, um diese abzudichten. In Ostdeutschland sollten sich diese Bemühungen demnach vor allem auf die gefundene Barriere entlang der A11 fokussieren. Während in Regionen ohne Barrieren, wie in Mecklenburg-Vorpommern, sowie entlang der Oder und Neiße von dem Versuch der Beschränkung der Wildschweinbewegung eher abzusehen ist und dort nach Vorgaben der EFSA die Kadaversuche und die Depopulation im Zentrum der Bekämpfungsmaßnahmen stehen sollten.

Die generelle geringe genetische Diversität der ostdeutschen Wildschweinpopulation zeigte sich nicht nur an den geringen genetischen Distanzen aus dem Clustering, sondern auch an den Populationsgenetischen Parametern. Mit einer beobachteten Heterozygotie von durchschnittlich 0,582 pro Population lag diese zwar über den Werten, die von Reiner et al. (2021) (0,47) und Nikolov et al. (2009) (0,46) in Deutschland festgestellt wurden, also auch über den Werten von Tajchman et al. (2018) aus Polen (0,51). Jedoch lagen die Werte für die beobachtete Heterozygotie im Rest von Europa zum Beispiel aus der Arbeit von Veličković et al. (2016) mit Proben aus Italien, den Alpen, dem Balkan, Spanien und Zentraleuropa, von Griciuvienė et al. (2021) aus Litauen und von Nikolov et al. (2009) aus Bulgarien über den in Deutschland festgestellten Werten (0,62 - 0,66). Ähnlich sah es für die Werte der erwarteten Heterozygotie im internationalen Vergleich aus. In Ostdeutschland wurden Werte für die erwartete Heterozygotie zwischen 0,48 (LUPS) und 0,68 (C, GR-) gefunden. Wildschweinpopulationen aus Sardinien zeigten eine erwartete Heterozygotie von 0,606 (Lecis et al. 2022). Aus Bulgarien und Portugal wurden Werte von durchschnittlich 0,72 berichtet (Ferreira et al. 2009; Frantz et al. 2012; Lecis et al. 2022; Nikolov et al. 2009). Auch der Allelreichtum ( $A_r$ ) lag mit Werten von 2,41 - 3,36 deutlich unter dem anderer Arbeiten (Nikolov et al. 2009; Reiner et al. 2021; Veličković et al. 2016), was auf die geringe Probenzahl in der Region BARO zurückzuführen ist, die als Referenzgröße für die Berechnung genutzt wurde.

Auch die  $F_{is}$ -Werte wurden für alle Populationen unabhängig ihrer Größe bestimmt. Trotz der sehr variablen Werte, waren diese im Einklang mit den von Frantz et al. (2012) und Veličković et al. (2016) veröffentlichten  $F_{is}$ -Werten für Populationen aus Belgien, Italien, Spanien, dem Balkan und den Alpen. Dabei muss jedoch beachtet werden, dass die Aussagekraft dieser Werte für Populationen mit weniger als 40 Tieren stark abnimmt (Reiner et al. 2019).

Die allgemein geringe genetische Vielfalt ist schwer zu erklären. Vilaça et al. (2014) beschrieb das Leading-Edge-Modell als Ursache für die geringere genetische Diversität der Wildschweine in Zentraleuropa. Damit ist sie eine Folge der letzten Eiszeit, bei der Wildschweine in die wärmeren Refugien in Südfrankreich, der Iberischen Halbinsel, Italien und dem Balkan gedrängt wurden. Bei der Wiederbesiedlung Europas nach der letzten Eiszeit, kam es durch die alleinige Ausbreitung von Tieren die am Rande der Refugien beheimatet waren, zu einem Verlust an genetischer Vielfalt (Hewitt 1999). Aber auch die unterschiedlichen verwendeten Mikrosatelliten könnten das Bild verzerren und den direkten Vergleich zwischen Veröffentlichungen erschweren (Reiner et al. 2019).

Besonders gut funktioniert deswegen der Vergleich mit der Arbeit von Reiner et al. (2021) bei der die gleichen Mikrosatelliten genutzt wurden, nur der Mikrosatellit Sw951 musste in vorliegender Arbeit durch S0026 ersetzt werden. Dabei fällt auf, dass die Genotypen der Marker in der vorliegenden Arbeit etwas gleichmäßiger verteilt sind (Ostdeutschland  $E = 0,44$

- 0,88; Rheinland-Pfalz  $E = 0,34-0,83$ ) und es wurden mehr Allele pro Population gefunden (Ostdeutschland: 15,8 Allele pro Population, RLP: 10,5 Allele pro Population). Auch im Vergleich mit weiteren Arbeiten aus Europa (Frantz et al. 2009; Frantz et al. 2012; Griciuviénė et al. 2021; Lecis et al. 2022; Nikolov et al. 2009; Poteaux et al. 2009) zeigte sich fast über alle Mikrosatelliten hinweg eine höhere Zahl an Allelen. Ursächlich für diesen Unterschied war wahrscheinlich die deutlich höhere Zahl an untersuchten Proben in der vorliegenden Arbeit ( $N: 1262$ ) im Vergleich zu den genannten Veröffentlichungen, deren Anzahl an Proben zwischen 63 und 697 lag. Sowohl in Ostdeutschland sowie in Rheinland-Pfalz zeigte der Mikrosatellit S0225 die niedrigste Heterozygotie (Ostdeutschland: 0,29; RLP: 0,170) und S0101 die Höchste (Ostdeutschland: 0,709; RLP: 0,728). Der geringe Grad an Variabilität und die geringe Informativness for assignment ( $I_n = 0,043$ ) in Ostdeutschland zeigten sich auch schon bei der Untersuchung von Reiner et al. (2021) mit Werten von  $I_n = 0,054$ .

Da in Deutschland die Übertragung der ASP innerhalb der Wildschweinpopulation durch Vektoren wie Stechmücken o.ä. nur eine untergeordnete Rolle spielt, bleiben als Hauptübertragungswege zum einen der Mensch als Vektor und zum anderen der Kontakt der Wildschweine untereinander bzw. zu den Kadavern und der kontaminierten Umgebung. Betrachtet man den Infektionszyklus im Wildschweinhabitat ergeben Kontakte von Tieren und Tiergruppen den wichtigsten Faktor für die Aufrechterhaltung lokaler Herde und deren Verschleppung in umgebende Regionen. Die Frage der Konnektivität zwischen Rotten und benachbarten Populationen könnte durch telemetrische Untersuchungen mit Hilfe von GPS-Sendern geschehen, jedoch ist diese Methode sehr kosten- und zeitaufwendig, wenn ausreichend viele Tier in einem großen Gebiet über hinreichend lange Zeit überwacht werden sollen. In der vorliegenden Arbeit wurde die genetische Distanz als ein Maß für die Konnektivität zweier Populationen untersucht mit dem Hintergrund, dass diese von der allgemeinen Durchlässigkeit trennender Regionen der letzten Jahrzehnte abhängig ist (Reiner et al. 2021). Genetische Veränderungen aufgrund genetischer Drift würden in zwei ineinander übergehenden Populationen stets ausgeglichen und zu keiner getrennten Entwicklung führen. Je weiter die Populationen jedoch durch Entfernung und Barrierewirkung getrennt wären, desto unterschiedlicher würde sich die genetische Drift zwischen beiden auswirken und desto höher wäre der Grad der genetischen Differenzierung zwischen beiden Populationen, weil die Anzahl von Migranten abnähme. Auf dieser Basis wurden alle geografisch oder bezüglich des ASP-Status unterscheidbaren Populationen bezüglich ihrer Konnektivität zueinander quantifiziert. Diese Vorgehensweise sollte unsystematische individuelle Befunde ausschließen und den allgemeinen Kontakt-Trend von Populationen aufzeigen, der auch für die Ausbreitung einer wenig kontagiösen Seuche wie der ASP von besonderer Bedeutung sein dürfte. Eine Studie mit derselben Fragestellung wurde für Rheinland-Pfalz prospektiv bereits durchgeführt

(Reiner et al. 2021). Hier konnte die Konnektivität zwischen Populationen zum ersten Mal quantifiziert werden. Allerdings fehlte die Möglichkeit Hinweise aus tatsächlich aufgetretenen ASP-Herden und Virusstämmen unterstützend verwenden zu können.

Durch die vermehrte Jagd in den von der ASP betroffenen Regionen und der Untersuchungspflicht verendeter Wildschweine standen genügend Proben für die Untersuchung zur Verfügung und es mussten keine Tiere nur für die Studie erlegt oder beprobt werden. Die Qualität der Proben schwankte jedoch deutlich, insbesondere bei Tieren, die mit ASP infiziert waren. Diese Tiere wurden überwiegend tot aufgefunden und nicht bei einer Jagd erlegt, sodass die Kadaver unter Umständen mehrere Tage der Verwesung ausgesetzt waren, bevor die Proben gezogen wurden. Aufgrund dessen war es bei zahlreichen Proben nicht möglich diese für die Untersuchung zu nutzen.

Um die Auswirkung von Flüssen und Autobahnen als natürliche Hindernisse erkennen zu können, wurden die Tiere strategisch zu (Teil-) Populationen zusammengefasst. Auch die Einteilung nach ASP-positiven und ASP-negativen Tieren sorgte, zusammen mit dem geringen Einfluss auf die Zahl der zur Verfügung stehenden Proben pro Gebiet, für zum Teil kleinere Probenzahlen als vorgesehen. Darunter waren auch Tiergruppen von nur 4 bis 8 Tieren. Eine weitere Folge war die generell große Heterogenität der Probenzahlen pro Population. Bei der Untersuchung von Reiner et al. (2019) konnte gezeigt werden, dass es bei Stichproben mit weniger als 30 Tieren zu erheblichen Abweichungen bei den populationsgenetischen Kenngrößen kommen kann. Als besonders anfällig zeigten sich die Anzahl an Allelen und die Fis-Werte. Die kleinen Populationen wurden trotzdem in die Untersuchung mit aufgenommen, um Anhaltspunkte für die lokalen Gegebenheiten zu erhalten, denn es kam dabei nicht auf eine exakte Aussage zur Verteilung von Genotypen in diesen Gruppen an, sondern lediglich darauf, ob die Massengentypen der Nachbarpopulationen hier auch vertreten waren oder nicht. Damit ergibt sich ein Durchschnitt von 41 Tieren pro Population.

Daten über Alter und Geschlecht standen für einen überwiegenden Teil der Proben leider nicht zur Verfügung.

Um eine gute Vergleichbarkeit, nicht nur zu der Arbeit von Reiner et al. (2021) zu erreichen, sondern auch internationale Vergleiche zu ermöglichen sind die Mikrosatelliten zur Genotypisierung der Wildschweinen den Empfehlungen der International Society of animal genetics (ISAG) entnommen worden. Die Genotypisierung der Wildschweine mit Hilfe dieser Mikrosatelliten, erlaubte eine rasche und relativ einfache Analyse großer Datenmengen. Im Gegensatz bietet mitochondriale DNA, aufgrund ihrer hohen genetischen Variabilität eine Übersicht über einen relevanten Zeitraum von Jahrzehnten statt Jahrtausenden oder - zehntausenden. Durch die Abweichungen der Gesamtpopulation in allen 12 Mikrosatelliten vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, ergaben sich Hinweise auf eine Substrukturierung der Gesamtpopulation (Templeton 2021). Bei der paarweisen Populationsdifferenzierung anhand

der Werte  $G_{st}$  (Nei & Chesser, 1983),  $G'_{st}$  (Hedrick, 2005),  $D$  (Jost, 2008) und  $F_{st}$  (Weir & Cockerham, 1984) zeigt die Population BARO die größten genetischen Abstände zu anderen Populationen. Die geringe Stichprobengröße spielt hierbei eine Rolle, weshalb die Population bei der weiteren Betrachtung im Zusammenhang mit der paarweisen Populationsdifferenzierung ausgeklammert wurde.

Mit Hilfe von Bayes'schem Clustering konnte über die Multilokusgenotypen die Populationsstruktur untersucht werden und diese Substrukturierung der Wildschweinpopulation gezeigt werden. Die Zugehörigkeitswahrscheinlichkeiten der Individuen konnten dann genutzt werden, um genetische Diskontinuitäten in der untersuchten Region zu erkennen (Safner et al. 2011). Bei der Auswahl an Algorithmen handelte es sich um 2 räumliche (BAPS, TESS) und ein nicht räumliches Verfahren (STRUCTURE). Durch die Kombination dieser Methoden sollten die Stärken und Schwächen der jeweiligen Programme ausgeglichen werden. Mit dem Zusammenführen der Ergebnisse können die allgemeinen Effekte gezeigt werden, ohne zufällige Aspekte der einzelnen Analysen überzubewerten. Einfluss auf die genetischen Unterschiede zwischen zwei Populationen können, neben physischen Barrieren wie Flüssen und Autobahnen, auch auf deren große geographische Entfernung zurückzuführen sein. Dieser Faktor führt dazu, dass die Anzahl an Clustern von Bayes'schen Clusteringmethoden überschätzt wird und vermeidliche Barrieren entstehen können (Frantz et al. 2009). Mit Hilfe des Manteltest wurde deshalb bestimmt ab welcher Distanz die Isolation by distance einen Einfluss auf die genetische Strukturierung hat und welche Populationen miteinander verglichen werden können.

Zur besseren grafischen Darstellung wurde, auf Grundlage der Ergebnisse aus den Clustering Methoden, die genetischen Distanzen der Populationen quantifiziert. Somit konnten die genetischen Distanzen zwischen den Populationen einfacher miteinander verglichen und die Suche nach Barrieren erleichtert werden.

## 6. Schlussfolgerung und Handlungsempfehlungen

Nach dem Eintrag der Afrikanischen Schweinepest 2021 versucht Deutschland dem Beispiel von Belgien und Tschechen zu folgen und die ASP wieder auszurotten. Im Unterschied zu den genannten Ländern kam es aber zu mehrfachen Einträgen der Erkrankung, wodurch man sich auf eine langwierige Bekämpfung einstellen muss (Sauter-Louis et al. 2022). Wie die vorliegende Arbeit aufzeigen konnte, stellen Wildschweine aus Polen, die für einen konstanten Eintrag der Erkrankung nach Deutschland sorgen, einen wesentlichen Faktor für die Ausbreitung der Krankheit dar. Sie werden dadurch zu einem zentralen Problempunkt in der deutschen ASP-Bekämpfung dem besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden sollte. Die vorliegende Arbeit konnte eine Barriere für den genetischen Austausch bei Wildschweinen von der Elbe und Autobahn A24 im Westen über Berlin und weiter entlang der Autobahn A11 in Richtung Nord-Osten nachweisen. Dieses Wissen sollte genutzt werden, um zu versuchen, die Ausbreitung der ASP hier zu stoppen, indem die schon existierende Barriere ausgebaut und verdichtet wird. Dem gegenüber stehen die Regionen im Norden und Süden des untersuchten Gebietes, die durch eine hohe genetische Konnektivität gekennzeichnet sind und in denen ein Versuch der Beschränkung der Wildschweinbewegungen voraussichtlich nicht von Erfolg gekrönt sein wird. Hier sollte der Fokus der Bekämpfung auf anderen Maßnahmen liegen. Die Ausbreitung der ASP innerhalb der Wildschweinpopulationen deckt sich mit den gefundenen hohen Konnektivitäten in den betroffenen Regionen. Bei Sprüngen über weite geographische Distanzen konnten die Wildschweine als Überträger aufgrund der ebenfalls hohen genetischen Distanzen ausgeschlossen werden. Durch die Daten über die Virusvarianten konnten diese Ergebnisse untermauert werden. Generelle Aussagen zu potenziellen Barrieren wie Autobahnen und Flüsse können nicht gemacht werden, denn diese müssen immer auch mit deren direkter Umgebung betrachtet werden.

## 7. Zusammenfassung

Der Genotyp II des Afrikanische Schweinepestvirus hat Europa noch fest im Griff. Epidemiologisch ist der Seuchenzug durch hohe Virulenz, hohen Letalität und hohe Tenazität bei geringer Kontagiosität geprägt. Die bisherigen Maßnahmen, wie die intensive Suche nach Kadavern, das Reduzieren der Wildschweinpopulation und das Errichten von Zäunen, scheinen die Ausbreitung zwar zu einzudämmen, können sie bislang aber nicht komplett unterbinden. Für eine optimale Kontrolle großflächiger Ausbreitung über Wildschweinpopulationen scheint es wichtig, die Konnektivität der Populationen untereinander zu kennen. Diese Konnektivität sollte in vorliegender Studie anhand der genetischen Differenzierung zwischen den Wildschweinpopulationen im Zielgebiet bestimmt werden. Dafür standen 1262 Wildschweine (davon 389 ASP-positiv) aus 31 Gebieten zur Verfügung. Die Probensammlung und DNA-Analyse erfolgte in Kooperation mit dem FLI, Riems. Die Genotypisierung erfolgte anhand von 12 Mikrosatelliten. Der Austausch zwischen den Populationen wurde auf Basis populationsgenetischer Kenngrößen und Bayes'scher Clusterverfahren bestimmt und quantifiziert.

Das wichtigste Ergebnis war eine Differenzierung der nördlichen und südlichen Populationen entlang einer Linie von der Unteren- und Mittelelbe über Berlin und die A11 bis zur polnischen Grenze. In den beiden so getrennten Gebieten wiesen die untersuchten Populationen untereinander eine gute Konnektivität auf, insbesondere im Bereich Mecklenburg-Vorpommerns. Kleinere Barrierewirkungen ergaben sich aber auch innerhalb der südlichen Region. Durch die Kombination der genetischen Charakteristik der Wildschweine und der ASP-Viren konnte gezeigt werden, dass die Ausbrüche entlang der polnischen Grenze immer wieder durch Neueinträge über die Oder erfolgten, während die Ausbreitung parallel zur Oder und Neiße auf deutscher Seite nur eine lokale und untergeordnete Rolle spielte. Die Daten sprechen außerdem dafür, dass die Virusvarianten nicht auf deutscher Seite entstanden, sondern jeweils aus Polen eingetragen worden sind. ASP-Ausbrüche weiter westlich müssen durch direkte Virusverbreitung über den Menschen erfolgt sein. Hinweise auf eine Rolle von Wildschweinen konnten nicht festgestellt werden. Die populationsgenetischen Befunde, die genomischen Virusdaten und die Ausbreitungsdynamik der Viren belegen eine sehr langsame Ausbreitung innerhalb der Gebiete höchster genetischer Konnektivität und sprechen für einen hohen Infektionsdruck über die Oder und Neiße. Gleichzeitig zeigen sie die hohe Wirksamkeit der vor Ort angewandten Kontrollmaßnahmen.

## 8. Summary

Genotype II of African swine fever virus still has Europe firmly in its grip. Epidemiologically, the epidemic is characterized by high virulence, high lethality and high tenacity with low contagiousness. The measures taken so far, such as the intensive search for carcasses, the reduction of the wild boar population and the erection of fences, appear to be containing the spread, but have not yet been able to stop it completely. For optimal control of large-scale dispersal via wild boar populations, it seems important to know the connectivity of the populations with each other. In the present study, this connectivity was to be determined based on genetic differentiation between the wild boar populations in the target area. For this purpose, 1262 wild boar (389 of which were ASF-positive) from 31 areas were available. Sample collection and DNA analysis were carried out in cooperation with the FLI, Riems. Genotyping was carried out using 12 microsatellites. The exchange between the populations was determined and quantified based on population genetic parameters and Bayesian clustering methods.

The most important result was a differentiation of the northern and southern populations along a line from the Lower and Middle Elbe via Berlin and the A11 to the Polish border. In the two areas separated in this way, the populations studied showed good connectivity with each other, particularly in the Mecklenburg-Western Pomerania region. However, smaller barrier effects also occurred within the southern region. By combining the genetic characteristics of the wild boars and the ASF viruses, it was possible to show that the outbreaks along the Polish border were repeatedly caused by new entries via the Oder, while the spread parallel to the Oder and Neisse on the German side only played a local and subordinate role. The data also suggest that the virus variants did not originate on the German side but were each introduced from Poland. ASF outbreaks further west must have occurred through the direct spread of the virus via humans. No evidence of a role for wild boar could be found. The population genetic findings, the genomic virus data and the spread dynamics of the viruses prove a very slow spread within the areas of highest genetic connectivity and indicate a high infection pressure via the Oder and Neisse rivers. At the same time, they show the high effectiveness of the control measures applied on site.

## 9. Eigene Publikationen

Die Daten, die in dieser Arbeit vorgelegt wurden, werden zusätzlich in einer Vorabpublikation veröffentlicht. Abschnitte daraus wurden auch für die vorliegende Arbeit verwendet.

Simon U, Gerhards K, Becker S, Willems H, Friedrichs V, Forth JH, Calvelage S, Blome S, Reiner G (2024) Genetic differentiation of wild boar populations in a region affected by African swine fever. *Eur J Wildl Res* 70:54. <https://doi.org/10.1007/s10344-024-01807-1>

## 10. Literaturverzeichnis

- Adamack AT, Gruber B (2014) PopGenReport : simplifying basic population genetic analyses in R. *Methods Ecol Evol* 5:384–387. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12158>
- Alexander LJ, Rohrer GA, Beattie CW (1996) Cloning and characterization of 414 polymorphic porcine microsatellites. *Anim Genet* 27:137–148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1996.tb00941.x>
- Alexandri P, Triantafyllidis A, Papakostas S, Chatzinikos E, Platis P, Papageorgiou N, Larson G, Abatzopoulos TJ, Triantaphyllidis C (2012) The Balkans and the colonization of Europe: the post-glacial range expansion of the wild boar, *Sus scrofa*. *J. Biogeogr.* 39:713–723. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02636.x>
- Alonso C, Borca M, Dixon L, Revilla Y, Rodriguez F, Escribano JM, Ictv RC (2018) ICTV Virus Taxonomy Profile: Asfarviridae. *J Gen Virol* 99:613–614. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001049>
- Benton CH, Delahay RJ, Robertson A, McDonald RA, Wilson AJ, Burke TA, Hodgson D (2016) Blood thicker than water: kinship, disease prevalence and group size drive divergent patterns of infection risk in a social mammal. *Proc Biol Sci* 283. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0798>
- Blome S, Franzke K, Beer M (2020) African swine fever - A review of current knowledge. *Virus Res*:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198099>
- BMU-Projekt "Verbesserung der Datengrundlage zur Bewertung hydrologischer Extreme" (2024) Informationsplattform Undine. <https://undine.bafg.de/index.html>. Accessed 8 May 2024
- Boshoff CI, Bastos A, Gerber LJ, Vosloo W (2007) Genetic characterisation of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973–1999). *Veterinary Microbiology* 121:45–55. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.007>
- Briedermann L (2009) Schwarzwild. Kosmos, Stuttgart
- Brookfield JF (1996) A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology* 5:453–455. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1996.tb00336.x>
- Callen DF, Thompson AD, Shen Y, Phillips HA, Richards RI, Mulley JC, Sutherland GR (1993) Incidence and origin of "null" alleles in the (AC)<sub>n</sub> microsatellite markers. *Am J Hum Genet* 52:922–927
- Chen C, Durand E, Forbes F, François O (2007) Bayesian clustering algorithms ascertaining spatial population structure: a new computer program and a comparison study. *Mol Ecol Notes* 7:747–756. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01769.x>

- Chenais E, Ståhl K, Guberti V, Depner K (2018) Identification of Wild Boar-Habitat Epidemiologic Cycle in African Swine Fever Epizootic. *Emerg Infect Dis* 24:810–812. <https://doi.org/10.3201/eid2404.172127>
- Chenais E, Depner K, Guberti V, Dietze K, Viltrop A, Ståhl K (2019) Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porcine Health Manag* 5. <https://doi.org/10.1186/s40813-018-0109-2>
- Corander J, Waldmann P, Sillanpää MJ (2003) Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics Society of America* 163:367–374
- Corander J, Marttinen P, Sirén J, Tang J (2008) Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic. *BMC Bioinformatics* 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-539>
- Dakin EE, Avise JC (2004) Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93:504–509. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800545>
- Dardaillon M (1988) Wild boar social groupings and their seasonal changes in the Camargue, southern France. *Zeitschrift für Säugetierkunde*:22–30
- De Wolf H, Backeljau T, Jordaens K, Medeiros R, Verdyck P, Verhagen R (1995) Comparison of gene flow estimates based on private allele frequencies. *Belgian Journal of Zoology* 125:101–107
- Deutscher Jagdverband (2023) Jagdstrecke Schwarzwild 2021/2022. [https://www.jagdverband.de/sites/default/files/2023-02/2023-02\\_Infografik\\_Jahresjagdstrecke\\_Schwarzwild\\_2021\\_2022.jpg](https://www.jagdverband.de/sites/default/files/2023-02/2023-02_Infografik_Jahresjagdstrecke_Schwarzwild_2021_2022.jpg). Accessed 9 May 2024
- Di Rienzo A, Peterson AC, Garza JC, Valdes AM, Slatkin M, Freimert NB (1994) Mutational Processes of Simple-Sequence Repeat Loci in Human Populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91:3166–3170. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.8.3166>
- Diniz-Filho JAF, Soares TN, Lima JS, Dobrovolski R, Landeiro VL, Campos Telles MP de, Rangel TF, Bini LM (2013) Mantel test in population genetics. *Genet Mol Biol* 36:475–485. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572013000400002>
- Dixon LK, Stahl K, Jori F, Vial L, Pfeiffer DU (2020) African Swine Fever Epidemiology and Control. *Annu Rev Anim Biosci* 8:221–246. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083741>
- Durand E, Chen C, François O (2009) Tess version 2.3 - Reference Manual
- EFSA Panel on Animal Health and Welfare (2010) Scientific Opinion on the Role of Tick Vectors in the Epidemiology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever and African Swine Fever in Eurasia. *EFS2* 8:1703. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1703>

- El Mousadik A, Petit RJ (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree *Argania spinosa* (L.) Skeels endemic to Morocco. *Theor Appl Genet* 92:832–839. <https://doi.org/10.1007/BF00221895>
- Ellegren H, Chowdhary BP, Fredholm M, Høyheim B, Johansson M, Bräuner Nielsen PB, Thomsen PD, Andersson L (1994a) A physically anchored linkage map of pig chromosome 1 uncovers sex- and position-specific recombination rates. *Genomics* 24:342–350. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1625>
- Ellegren H, Chowdhary BP, Johansson M, Marklund L, Fredholm M, Gustavsson I, Andersson L (1994b) A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination. *Genetics* 137:1089–1100. <https://doi.org/10.1093/genetics/137.4.1089>
- Ellegren H (2004) Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet* 5:435–445. <https://doi.org/10.1038/nrg1348>
- European Food Safety Authority, Boklund A, Cay B, Depner K, Földi Z, Guberti V, Masiulis M, Miteva A, More S, Olsevskis E, Šatrán P, Spiridon M, Stahl K, Thulke H-H, Viltrop A, Wozniakowski G, Broglia A, Cortinas Abrahantes J, Dhollander S, Gogin A, Verdonck F, Amato L, Papanikolaou A, Gortázar C (2018) Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2017 until November 2018). *EFSA Journal* 16:e05494. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5494>
- European Food Safety Authority, Boklund A, Bøtner Anette, Chesnoiu Vasile Theodora, Depner Klaus, Desmecht Daniel, Guberti Vittorio, Helyes Georgina, Korytarova Daniela, Linden Annick, Miteva Aleksandra, More Simon, Olsevskis Edvins, Ostojic Sasa, Roberts Helen, Spiridon Mihaela, Stahl Karl, Thulke Hans-Hermann, Viliija Grigaliuniene, Viltrop Arvo, Wallo Richard, Wozniakowski Grzegorz, Abrahantes Corti-nas Jose, Dhollander Sofie, Gogin Andrey, Ivanciu Corina, Papanikolaou Alexandra, Villeta Laura C Gonzalez, Gortazar Schmidt Christian (2020) Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2018 to October 2019). *EFSA Journal* 18. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5996>
- European Food Safety Authority, Ståhl K, Boklund A, Podgórski T, Vergne T, Abrahantes JC, Papanikolaou A, Zancanaro G, Mur L (2023) Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union during 2022. *EFS2* 21:e08016. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8016>
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611–2620. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Ferreira E, Souto L, Soares AM, Fonseca C (2009) Genetic structure of the wild boar population in Portugal: Evidence of a recent bottleneck. *Mammalian Biology* 74:274–285. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2008.05.009>

- Forth JH, Tignon M, Cay AB, Forth LF, Höper D, Blome S, Beer M (2019) Comparative Analysis of Whole-Genome Sequence of African Swine Fever Virus Belgium 2018/1. *Emerg Infect Dis* 25:1249–1252. <https://doi.org/10.3201/eid2506.190286>
- Forth JH, Calvelage S, Fischer M, Hellert J, Sehl-Ewert J, Roszyk H, Deutschmann P, Reichold A, Lange M, Thulke H-H, Sauter-Louis C, Höper D, Mandyhra S, Sapachova M, Beer M, Blome S (2023) African swine fever virus - variants on the rise. *Emerg Microbes Infect* 12. <https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2146537>
- François O, Durand E (2010) Spatially explicit Bayesian clustering models in population genetics. *Molecular Ecology Resources*
- François O, Ancelet S, Guillot G (2006) Bayesian clustering using hidden Markov random fields in spatial population genetics. *Genetics* 174:805–816. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.059923>
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) *Introduction to conservation genetics*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge
- Frantz AC, Cellina S, Krier A, Schley L, Burke T (2009) Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? *Journal of Applied Ecology* 46:493–505. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2008.01606.x>
- Frantz AC, 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*). *Molecular Ecology* 21:3445–3457. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05623.x>
- Friedrich-Löffler-Institut (2023) Karten zur ASP. [https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/afrikanische-schweinepest/karten-zur-afrikanischen-schweinepest/?sword\\_list%5b0%5d=afrikanische&sword\\_list%5b1%5d=schweinepest](https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/afrikanische-schweinepest/karten-zur-afrikanischen-schweinepest/?sword_list%5b0%5d=afrikanische&sword_list%5b1%5d=schweinepest). Accessed 13 November 2023
- Führes K (2020) ASP-Prävention: Brandenburg sperrt Grünbrücken für Wildtiere. <https://www.pirsch.de/jagdpraxis/asp-praevention-brandenburg-sperrt-gruenbruecken-fuer-wildtiere-34816>. Accessed 28 November 2023
- Gauffre B, Estoup A, Bretagnolle V, Cosson JF (2008) Spatial genetic structure of a small rodent in a heterogeneous landscape. *Molecular Ecology* 17:4619–4629. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03950.x>
- Gethöffer F, Sodeikat G, Pohlmeier K (2007) Reproductive parameters of wild boar (*Sus scrofa*) in three different parts of Germany. *Eur J Wildl Res* 53:287–297. <https://doi.org/10.1007/s10344-007-0097-z>

- Gongora J, Groves C, Meijaard E (2017) Evolutionary Relationships and Taxonomy of Suidae and Tayassuidae. In: Melletti M, Meijaard E (eds) Ecology, Conservation and Management of Wild Pigs and Peccaries. Cambridge University Press, pp 1–19
- Graw J (2020) Genetik, 7th edn. Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg
- Grear DA, Samuel MD, Scribner KT, Weckworth BV, Langenberg JA (2010) Influence of genetic relatedness and spatial proximity on chronic wasting disease infection among female white-tailed deer. *Journal of Applied Ecology* 47:532–540. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2010.01813.x>
- Griciuvienė L, Janeliūnas Ž, Jurgelevičius V, Paulauskas A (2021) The effects of habitat fragmentation on the genetic structure of wild boar (*Sus scrofa*) population in Lithuania. *BMC Genom Data* 22:53. <https://doi.org/10.1186/s12863-021-01008-8>
- Groves C, Grubb P (2011) Ungulate taxonomy, vol 94. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Md
- Gruber B, Adamack AT (2015) landgenreport: a new r function to simplify landscape genetic analysis using resistance surface layers. *Molecular Ecology Resources* 15:1172–1178. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12381>
- Grünwald NJ, Goodwin SB, Milgroom MG, Fry WE (2003) Analysis of genotypic diversity data for populations of microorganisms. *Phytopathology* 93:738–746. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.6.738>
- Guo SW, Thompson EA (1992) Performing the Exact Test of Hardy-Weinberg Proportion for Multiple Alleles. *Biometrics* 48:361. <https://doi.org/10.2307/2532296>
- Hedrick PW (2005) A Standardized Genetic Differentiation Measure. *Evolution* 59:1633–1638. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb01814.x>
- Hewitt GM (1999) Postglacial recolonization of European biota. *Biol. J. Linn. Soc.*:87–112
- Jerina K, Pokorny B, Stergar M (2014) First evidence of long-distance dispersal of adult female wild boar (*Sus scrofa*) with piglets. *Eur J Wildl Res* 60:367–370. <https://doi.org/10.1007/s10344-014-0796-1>
- Johann F, Handschuh M, Linderoth P, Dormann CF, Arnold J (2020) Adaptation of wild boar (*Sus scrofa*) activity in a human-dominated landscape. *BMC Ecology* 20. <https://doi.org/10.1186/s12898-019-0271-7>
- Jost L (2008) G(ST) and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* 17:4015–4026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03887.x>
- Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ (2014) Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>

- Kamvar ZN, Brooks JC, Grünwald NJ (2015) Novel R tools for analysis of genome-wide population genetic data with emphasis on clonality. *Frontiers in Genetics* 6:208. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00208>
- Keenan K, McGinnity P, Cross TF, Crozier WW, Prodöhl PA (2013) *diveRsity*: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods Ecol Evol* 4:782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
- Keuling O, Baubet E, Duscher A, Ebert C, Fischer C, Monaco A, Podgórski T, Prevot C, Ronnenberg K, Sodeikat G, Stier N, Thurfjell H (2013) Mortality rates of wild boar *Sus scrofa* L. in central Europe. *Eur J Wildl Res* 59:805–814. <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0733-8>
- Keuling O, Podgórski T, Monaco A, Melletti M, Merta D, Albrycht M, Genov PV, Gethöffer F, Vetter SG, Jori F, Scaleria R, Gongora J (2017) Eurasian Wild Boar *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758). In: Melletti M, Meijaard E (eds) *Ecology, Conservation and Management of Wild Pigs and Peccaries*. Cambridge University Press, pp 202–233
- Keuling O, Leus K (2019) *Sus scrofa*. The IUCN Red List of Threatened Species. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T41775A44141833.en>
- Laguna E, Barasona JA, Carpio AJ, Vicente J, Acevedo P (2022) Permeability of artificial barriers (fences) for wild boar (*Sus scrofa*) in Mediterranean mixed landscapes. *Pest Management Science* 78:2277–2286. <https://doi.org/10.1002/ps.6853>
- Latch EK, Dharmarajan G, Glaubitz JC, Rhodes OE (2006) Relative performance of Bayesian clustering software for inferring population substructure and individual assignment at low levels of population differentiation. *Conserv Genet* 7:295–302. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9098-1>
- Lecis R, Dondina O, Orioli V, Biosa D, Canu A, Fabbri G, Iacolina L, Cossu A, Bani L, Apollonio M, Scandura M (2022) Main roads and land cover shaped the genetic structure of a Mediterranean island wild boar population. *Ecology and Evolution* 12:e8804. <https://doi.org/10.1002/ece3.8804>
- Massei G, Kindberg J, Licoppe A, Gačić D, Šprem N, Kamler J, Baubet E, Hohmann U, Monaco A, Ozoliņš J, Cellina S, Podgórski T, Fonseca C, Markov N, Pokorny B, Rosell C, Náhlik A (2015) Wild boar populations up, numbers of hunters down? A review of trends and implications for Europe. *Pest Management Science* 71:492–500. <https://doi.org/10.1002/ps.3965>
- Mebus CA, House C, Gonzalvo F, Pineda JM, Tapiador J, Pire JJ, Bergada J, Yedloutschnig RJ, Sahu S, Becerra V, Sanchez-Vizcaino JM (1993) Survival of foot-and-mouth disease, African swine fever, and hog cholera viruses in Spanish serrano cured hams and Iberian cured hams, shoulders and loins. *Food Microbiology* 10:133–143. <https://doi.org/10.1006/fmic.1993.1014>

- Mihalik B, Frank K, Astuti PK, Szemethy D, Szendrei L, Szemethy L, Kusza S, Stéger V (2020) Population Genetic Structure of the Wild Boar (*Sus scrofa*) in the Carpathian Basin. *Genes (Basel)* 11. <https://doi.org/10.3390/genes11101194>
- Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Klimaschutz (2023) Jagdstatistik Brandenburg. <https://mluk.brandenburg.de/mluk/de/landwirtschaft/jagd/jagdstatistik/>. Accessed 7 July 2023
- Montgomery ER (1921) On A Form of Swine Fever Occurring in British East Africa (Kenya Colony). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics* 34:159–191. [https://doi.org/10.1016/S0368-1742\(21\)80031-4](https://doi.org/10.1016/S0368-1742(21)80031-4)
- Morelle K, Podgórski T, Prévot C, Keuling O, Lehaire F, Lejeune P (2015) Towards understanding wild boar *Sus scrofa* movement: a synthetic movement ecology approach. *Mammal Review* 45:15–29. <https://doi.org/10.1111/mam.12028>
- Mysterud A, Rolandsen CM (2019) Fencing for wildlife disease control. *Journal of Applied Ecology* 56:519–525. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13301>
- Nei M (1973) Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 70:3321–3323
- Nikolov IS, Gum B, Markov G, Kuehn R (2009) Population genetic structure of wild boar *Sus scrofa* in Bulgaria as revealed by microsatellite analysis. *Acta Theriologica* 54:193–205. <https://doi.org/10.4098/j.at.0001-7051.049.2008>
- Nurmoja I, Schulz K, Staubach C, Sauter-Louis C, Depner K, Conraths FJ, Viltrop A (2017) Development of African swine fever epidemic among wild boar in Estonia - two different areas in the epidemiological focus. *Sci Rep* 7:12562. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12952-w>
- Pan IC, Hess WR (1984) Virulence in African swine fever: its measurement and implications. *Am J Vet Res* 45:361–366
- Paradis E (2010) pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26:419–420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Pemberton JM, Slate J, Bancroft DR, Barret A (1995) Nonamplifying alleles at microsatellite loci: a caution for parentage and population studies. *Molecular Ecology*:249–252
- Podgórski T, Scandura M, Jędrzejewska B (2014) Next of kin next door - philopatry and socio-genetic population structure in wild boar. *J Zool* 294:190–197. <https://doi.org/10.1111/jzo.12167>
- Podgórski T, Śmietanka K (2018) Do wild boar movements drive the spread of African Swine Fever? *Transboundary and Emerging Diseases* 65:1588–1596. <https://doi.org/10.1111/tbed.12910>
- Podgórski T, Baś G, Jędrzejewska B, Sönnichsen L, Śnieżko S, Jędrzejewski W, Okarma H (2013) Spatiotemporal behavioral plasticity of wild boar (*Sus scrofa*) under contrasting

- conditions of human pressure: primeval forest and metropolitan area. *Journal of Mammalogy* 94:109–119. <https://doi.org/10.1644/12-MAMM-A-038.1>
- Podgórski T, Apollonio M, Keuling O (2018) Contact rates in wild boar populations: Implications for disease transmission. *Jour. Wild. Mgmt.* 82:1210–1218. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21480>
- Podgórski T, Pepin K, Radko A, Podbielska A, Łyjak M, Wozniakowski G (2021) How do genetic relatedness and spatial proximity shape African swine fever infections in wild boar?
- Poteaux C, Baubet E, Kaminski G, Brandt S, Dobson FS, Baudoin C (2009) Socio-genetic structure and mating system of a wild boar population. *J Zool* 278:116–125. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2009.00553.x>
- Pritchard JK, Stephens, Matthew, Donnelly P (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*:945–959
- Quembo CJ, Jori F, Vosloo W, Heath L (2018) Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. *Transboundary and Emerging Diseases* 65:420–431. <https://doi.org/10.1111/tbed.12700>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10344-019-1262-x>
- Reiner G, Rumpel M, Zimmer K, Willems H (2021) Genetic Differentiation of Wild Boar Populations in a Region Endangered by African Swine Fever. *Jour. Wild. Mgmt.* 85:423–436. <https://doi.org/10.1002/jwmg.22015>
- Renner SC, Suarez-Rubio M, Wiesner KR, Drögemüller C, Gockel S, Kalko EKV, Ayasse M, Frantz AC (2016) Using multiple landscape genetic approaches to test the validity of genetic clusters in a species characterized by an isolation-by-distance pattern. *Biol. J. Linn. Soc.* 118:292–303. <https://doi.org/10.1111/bij.12737>
- Richter M, Schulz K, Elflein T, Achterberg J, Ojševskis E, Seržants M, Lamberg K, Conraths FJ, Sauter-Louis C (2023) The First Eighteen Months of African Swine Fever in Wild Boar in Saxony, Germany and Latvia-A Comparison. *Pathogens* 12. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010087>
- Robic A, Dalens M, Woloszyn N, Milan D, Riquet J, Gellin J (1994) Isolation of 28 new porcine microsatellites revealing polymorphism. *Mamm Genome* 5:580–583. <https://doi.org/10.1007/BF00354935>
- Rohrer GA, Alexander LJ, Keele JW, Smith TP, Beattie CW (1994) A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics* 136:231–245. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.1.231>

- Rosenberg NA, Li LM, Ward R, Pritchard JK (2003) Informativeness of genetic markers for inference of ancestry. *Am J Hum Genet* 73:1402–1422. <https://doi.org/10.1086/380416>
- Rotach P (2001) Einführung in die Forstgenetik Teil D: Populationsgenetik. <https://ethz.ch/content/dam/ethz/special-interest/usys/ites/waldmgmt-waldbau-dam/documents/Lehrmaterialien/Skripte/Forstgenetik/populationsgenetik-repro>
- Sáez-Royuela C, Tellería JL (1986) The increased population of the Wild Boar (*Sus scrofa* L.) in Europe. *Mammal Review* 16:97–101. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.1986.tb00027.x>
- Safner T, Miller MP, McRae BH, Fortin M-J, Manel S (2011) Comparison of Bayesian Clustering and Edge Detection Methods for Inferring Boundaries in Landscape Genetics // Comparison of Bayesian clustering and edge detection methods for inferring boundaries in landscape genetics. *International Journal of Molecular Sciences* 12:865–889. <https://doi.org/10.3390/ijms12020865>
- Sánchez EG, Quintas A, Pérez-Núñez D, Nogal M, Barroso S, Carrascosa ÁL, Revilla Y (2012) African swine fever virus uses macropinocytosis to enter host cells. *PLoS Pathog* 8:e1002754. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002754>
- Sánchez-Vizcaíno JM, Martínez-López B, Martínez-Avilés M, Martins C, Boinas F, Vial L, Michaud V, Jori F, Etter E, Albina E, Roger F (2009) Scientific report submitted to EFSA on African Swine Fever:1–141
- Sánchez-Vizcaíno JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L (2015) An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *Journal of Comparative Pathology* 152:9–21. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.09.003>
- Sauter-Louis C, Forth JH, Probst C, Staubach C, Hlinak A, Rudovsky A, Holland D, Schlieben P, Göldner M, Schatz J, Bock S, Fischer M, Schulz K, Homeier-Bachmann T, Plagemann R, Klaaß U, Marquart R, Mettenleiter TC, Beer M, Conraths FJ, Blome S (2020) Joining the club: First detection of African swine fever in wild boar in Germany. *Transboundary and Emerging Diseases* 00:1–9. <https://doi.org/10.1111/TBED.13890>
- Sauter-Louis C, Conraths FJ, Probst C, Blohm U, Schulz K, Sehl J, Fischer M, Forth JH, Zani L, Depner K, Mettenleiter TC, Beer M, Blome S (2021) African Swine Fever in Wild Boar in Europe-A Review. *Viruses* 13. <https://doi.org/10.3390/v13091717>
- Sauter-Louis C, Schulz K, Richter M, Staubach C, Mettenleiter TC, Conraths FJ (2022) African swine fever: Why the situation in Germany is not comparable to that in the Czech Republic or Belgium. *Transboundary and Emerging Diseases* 69:2201–2208. <https://doi.org/10.1111/tbed.14231>
- Scandura M, Iacolina L, Crestanello B, Pecchioli E, Di Benedetto MF, Russo V, Davoli R, Apollonio M, Bertorelle G (2008) Ancient vs. recent processes as factors shaping the genetic variation of the European wild boar: are the effects of the last glaciation still

- detectable? *Molecular Ecology* 17:1745–1762. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03703.x>
- Senatsverwaltung für Umwelt, Mobilität, Verbraucher- und Klimaschutz Berlin (2022) Jagdergebnisse - Daten und Fakten. <https://www.berlin.de/sen/uvk/natur-und-gruen/jagd-und-wildtiere/jagdwesen-in-berlin/jagdergebnisse/>. Accessed 5 December 2022
- Sjarmidi A, Gerard JF (1988) Autour de la systématique et la distribution des suidés. *Monitore Zoologico Italiano - Italian Journal of Zoology*, 22:415–448
- Slatkin M (1985) Gene Flow in Natural Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16:393–430
- Śmietanka K, Woźniakowski G, Kozak E, Niemczuk K, Frączyk M, Bocian Ł, Kowalczyk A, Pejsak Z (2016) African Swine Fever Epidemic, Poland, 2014–2015. *Emerg Infect Dis* 22:1201–1207. <https://doi.org/10.3201/eid2207.151708>
- Sodeikat G, Pohlmeier K (2002) Temporary home range modifications of wild boar family groups (*Sus scrofa* L.) caused by drive hunts in Lower Saxony (Germany). *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 48:161–166. <https://doi.org/10.1007/BF02192404>
- Sommer RS, Nadachowski A (2006) Glacial refugia of mammals in Europe: evidence from fossil records. *Mammal Review* 36:251–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2006.00093.x>
- Ståhl K, Sternberg-Lewerin S, Blome S, Viltrop A, Penrith M-L, Chenais E (2019) Lack of evidence for long term carriers of African swine fever virus - a systematic review. *Virus Res* 272. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197725>
- Stephan W, Hörger AC (2019) *Molekulare Populationsgenetik*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
- Taberlet P, Fumagalli L, Wust-Saucy AG, Cosson JF (1998) Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe. *Molecular Ecology* 7:453–464. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00289.x>
- Tadano R, Nagai A, Moribe J (2016) Local-scale genetic structure in the Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*): insights from autosomal microsatellites. *Conserv Genet* 17:1125–1135. <https://doi.org/10.1007/s10592-016-0848-z>
- Tajchman K, Drozd L, Karpiński M, Czyżowski P, Goleman M (2018) Population Genetic Structure of Wild Boars in Poland. *Russ J Genet* 54:548–553. <https://doi.org/10.1134/S1022795418050101>
- Templeton AR (2021) *Population genetics and microevolutionary theory*. Wiley-Blackwell, Hoboken NJ
- Tomiuk J, Loeschcke V (2016) *Grundlagen der Evolutionsbiologie und Formalen Genetik*, 1st edn. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg

- Valdes AM, Slatkin M, Freimert NB (1993) Allele Frequencies at Microsatellite Loci: The Stepwise Mutation Model Revisited. *Genetics* 133:737–749
- van Oosterhout C, Weetman D, Hutchinson WF (2006) Estimation and adjustment of microsatellite null alleles in nonequilibrium populations. *Molecular Ecology Notes* 6:255–256. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01082.x>
- Veličković N, Djan M, Ferreira E, Stergar M, Obreht D, Maletić V, Fonseca C (2015) From north to south and back: the role of the Balkans and other southern peninsulas in the recolonization of Europe by wild boar. *J. Biogeogr.* 42:716–728. <https://doi.org/10.1111/jbi.12458>
- Veličković N, Ferreira E, Djan M, Ernst M, Obreht Vidaković D, Monaco A, Fonseca C (2016) Demographic history, current expansion and future management challenges of wild boar populations in the Balkans and Europe. *Heredity* 117:348–357. <https://doi.org/10.1038/hdy.2016.53>
- Vilaça ST, Biosa D, Zachos F, Iacolina L, Kirschning J, Alves PC, Paule L, Gortazar C, Mamuris Z, Jędrzejewska B, Borowik T, Sidorovich VE, Kusak J, Costa S, Schley L, Hartl GB, Apollonio M, Bertorelle G, Scandura M (2014) Mitochondrial phylogeography of the European wild boar: the effect of climate on genetic diversity and spatial lineage sorting across Europe. *J. Biogeogr.* 41:987–998. <https://doi.org/10.1111/jbi.12268>
- Weber JL (1990) Informativeness of human (dC-dA)<sub>n</sub> · (dG-dT)<sub>n</sub> polymorphisms. *Genetics* 7:524–530
- Weber JL, Broman KW (2001) Genotyping for Human Whole-Genome Scans: past, present, future. *Advances in Genetics* 42
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38:1358–1370. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb05657.x>
- Wen X, He X, Zhang X, Zhang X, Liu L, Guan Y, Zhang Y, Bu Z (2019) Genome sequences derived from pig and dried blood pig feed samples provide important insights into the transmission of African swine fever virus in China in 2018. *Emerg Microbes Infect* 8:303–306. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1565915>
- WOAH - World Organisation for Animal Health (2022) African swine fever - WOAHO - World Organisation for Animal Health. <https://www.woah.org/en/disease/african-swine-fever/#ui-id-2>. Accessed 20 December 2023
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of eugenics* 15:323–354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x>
- Wright S (1978) *Evolution and the genetics of populations: Variability within and among natural populations*, Vol. 4. Univ. of Chicago Press, Chicago
- Yang A, Schlichting P, Wight B, Anderson WM, Chinn SM, Wilber MQ, Miller RS, Beasley JC, Boughton RK, VerCauteren KC, Wittermyer G, Pepin KM (2021) Effects of social structure

and management on risk of disease establishment in wild pigs. *J Anim Ecol* 90:820–833.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2656.13412>

## Danksagung

Mein größter Dank gilt Herrn Prof. Reiner für die ausgezeichnete Betreuung meiner Arbeit. Angefangen von der Findung des passenden Themas, über die Unterstützung bei Fragen und Problemen bis hin zur raschen und konstruktiven Korrektur dieser Promotionsschrift.

Auch möchte ich Frau Dr. Sandra Blome vom FLI danken, die unentwegt Proben für diese Arbeit organisiert und zur Verfügung gestellt hat, sowie Herrn Dr. Jan Hendrik Fort, dessen Ergebnisse über die Virusvarianten diese Arbeit vervollständigt haben. Beiden danke ich außerdem für die Möglichkeit einen Teil meiner Proben direkt aus dem Fundus des Friedrich-Löffler-Instituts aussuchen und extrahieren zu können.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Prof. Willems für die Anleitung und Unterstützung im Labor und bei der Datenauswertung. Vor allem auch für das Erstellen der Skripte für die Auswertung in R-Studio. Auch dem gesamten Laborteam gilt mein Dank für die Hilfe und sachkundige Unterstützung in allen praktischen Fragen.

Zu guter Letzt möchte ich auch meiner Familie für ihre Unterstützung danken ohne die eine Promotion in dieser Form gar nicht möglich gewesen wäre.

# Anhang

## Anhang 1: weitere Tabellen zu den Populationsgenetischen Untersuchungen

### **Proben mit identischen Multilokusgenotypen:**

1. GH-073, GH-075
2. Hzd-008, Hzd-009
3. OdS-1740, OdS-1741, OdS-1821, OdS-2090, FaO-1360
4. OdS-4132, OdS-4135
5. Bau-015, Bau-017
6. Gör-0621, Gör-0624
7. Bar-195, Bar-196
8. FaO-2766, FaO-2767, FaO-2768
9. OdS-3227, OdS-3597
10. OdS-4134, OdS-3889
11. OdS-4812, OdS-4657

**Private Allele:**

	<b>Population</b>	<b>Locus</b>	<b>Allel</b>
1	110	S0225	166
2	1412	S0026	127
3	1412	S0101	219
4	1412	S0225	152
5	1412	S0226	177
6	1412	S0226	184
7	1412	S0227	244
8	1412	SW240	098
9	1412	SW240	126
10	1412	SW632	151
11	1412	SW632	153
12	1412	SW911	185
13	1412	Swr1941	212
14	1412	Swr1941	234
15	1412	Swr1941	238
16	1412	Swr1941	242
17	1413	SW632	185
18	1413	SW911	183
19	1413	SW936	099
20	161	S0101	217
21	161	S0225	177
22	161	S0225	179
23	161	SW24	108
24	161	SW24	134
25	161	SW24	136
26	161	SW240	106
27	161	SW632	141
28	161	SW632	159
29	161	SW632	161
30	161	SW632	189
31	161	SW632	197
32	161	SW72	126
33	161	SW911	181
34	161	SW936	097
35	161	Swr1941	201
36	161	Swr1941	208
37	161	Swr1941	210
38	161	Swr1941	248
39	161	Swr1941	254
40	170	S0026	089
41	200	S0225	196
42	220	S0226	200
43	220	SW24	106
44	230	S0227	250
45	241	S0225	182

46	241	Swr1941	244
47	260	S0225	171
48	261	S0227	260
49	261	SW72	105
50	261	SW911	177
51	60	S0026	111
52	60	SW911	171
53	91	S0225	161
54	91	S0225	180
55	91	S0226	208
56	91	S0227	221
57	91	S0227	223
58	91	SW911	155
59	91	Swr1941	258

**Informativeness of Markers (In):**

<b>Mikrosatellit</b>	<b>Informativeness</b>
SW936	0,272
S0155	0,123
S0226	0,129
S0227	0,243
S0026	0,141
S0225	0,149
SW240	0,153
SW951	0,043
SW911	0,236
S0101	0,221
SW72	0,125
SW24	0,184
SW632	0,253
Swr1941	0,229



### Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht

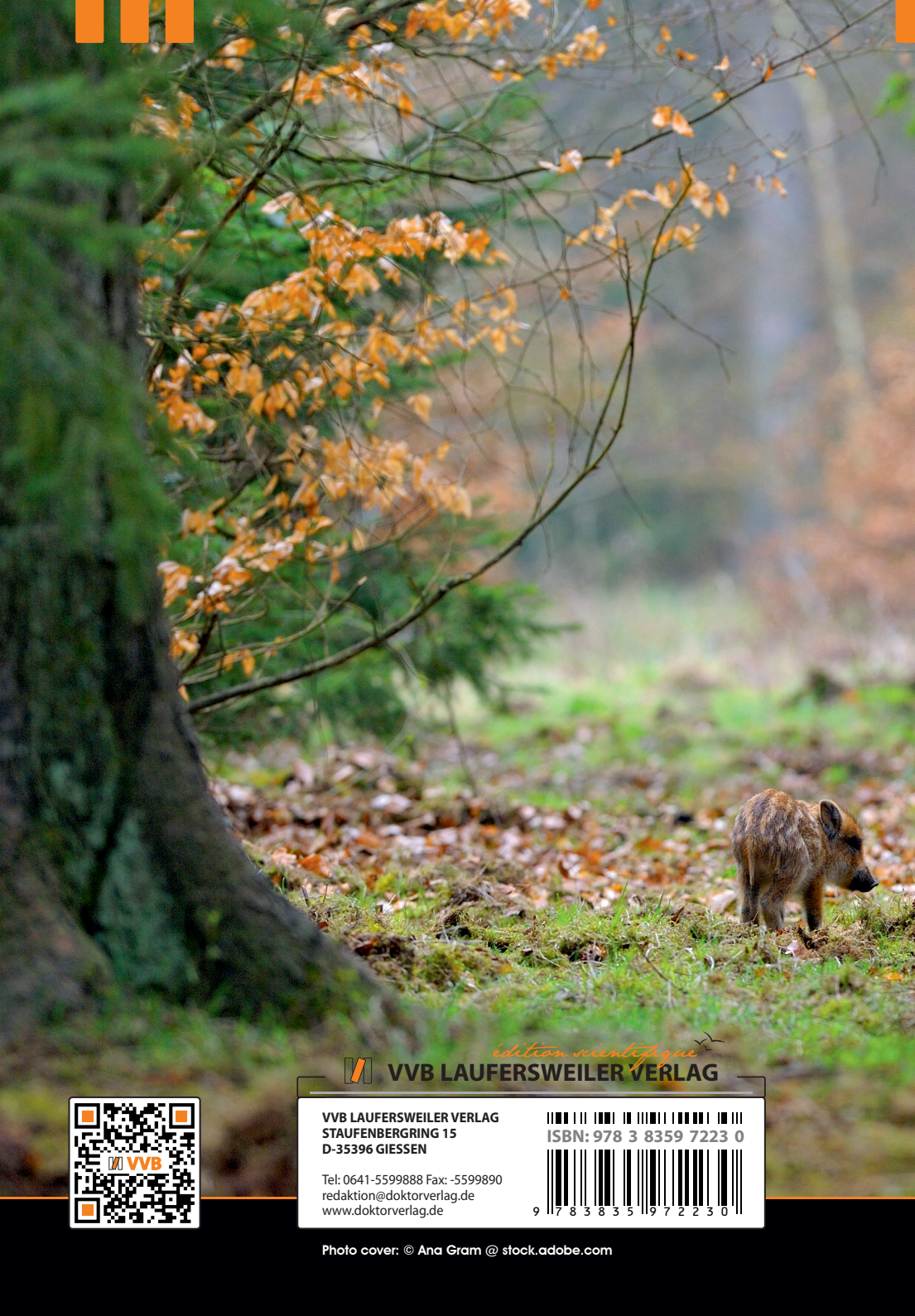
	10	30	40	50	60	90	91	100	110	150	161	170	190	200	202	203	210	220	230	241	250	260	261	280	290	805	814	1412	1413	2702	2703	
<b>SW936</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	
<b>S0226</b>	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	sig	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
<b>S0227</b>	sig	ns	ns	ns	ns	ns	sig	sig	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
<b>S0026</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	
<b>S0225</b>	sig	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	sig	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	
<b>SW240</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
<b>SW911</b>	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	
<b>S0101</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	
<b>SW72</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>SW24</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>SW632</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns
<b>Swr1941</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	sig	ns	sig	ns

ns: nicht signifikant, sig: signifikant

# Anhang 2: Tabellen zu der paarweisen Populationsdifferenzierung

	10	100	110	1412	1413	150	161	170	190	200	202	203	210	220	230	241	250	260	261	2702	2703	280	290	30	40	50	60	805	814	90	91	
10	0.094	0.098	0.085	0.110	0.065	0.074	0.081	0.057	0.095	0.048	0.055	0.050	0.074	0.083	0.072	0.054	0.057	0.076	0.050	0.071	0.040	0.040	0.029	0.082	0.074	0.074	0.063	0.034	0.100	0.071	0.0	
100	0.086	0.034	0.039	0.044	0.011	0.025	0.007	0.019	0.047	0.063	0.058	0.044	0.026	0.018	0.033	0.044	0.036	0.028	0.047	0.057	0.022	0.024	0.049	0.066	0.085	0.070	0.068	0.067	0.093	0.028	0.0	
110	0.095	0.021	0.047	0.033	0.018	0.021	0.021	0.022	0.058	0.043	0.077	0.046	0.019	0.012	0.024	0.034	0.044	0.026	0.033	0.038	0.036	0.060	0.040	0.040	0.066	0.050	0.049	0.047	0.062	0.013	0.0	
1412	0.080	0.029	0.031	0.015	0.021	0.016	0.024	0.029	0.042	0.056	0.066	0.046	0.034	0.032	0.024	0.032	0.044	0.016	0.056	0.079	0.023	0.056	0.071	0.085	0.054	0.066	0.051	0.062	0.019	0.0		
1413	0.111	0.037	0.023	0.009	0.015	0.027	0.061	0.059	0.095	0.057	0.025	0.021	0.020	0.054	0.056	0.015	0.061	0.084	0.029	0.086	0.078	0.054	0.053	0.066	0.061	0.054	0.030	0.033	0.0	0.0		
150	0.062	0.002	0.005	0.005	0.019	0.007	0.006	0.005	0.027	0.046	0.057	0.033	0.023	0.017	0.020	0.020	0.036	0.020	0.028	0.028	0.030	0.030	0.055	0.052	0.043	0.046	0.004	0.030	0.014	0.0		
161	0.086	0.022	0.019	0.011	0.003	0.003	0.006	0.013	0.042	0.052	0.056	0.038	0.017	0.011	0.018	0.032	0.030	0.011	0.035	0.052	0.017	0.043	0.056	0.050	0.051	0.048	0.054	0.006	0.0			
170	0.086	0.004	0.019	0.022	0.008	0.002	0.003	0.010	0.051	0.059	0.059	0.028	0.016	0.008	0.018	0.040	0.031	0.011	0.039	0.044	0.012	0.041	0.055	0.052	0.058	0.057	0.048	0.069	0.013	0.0		
190	0.046	0.008	0.019	0.020	0.025	0.001	0.014	0.005	0.041	0.028	0.047	0.017	0.009	0.008	0.017	0.022	0.025	0.014	0.026	0.039	0.005	0.035	0.036	0.033	0.034	0.030	0.029	0.051	0.018	0.0		
200	0.080	0.049	0.024	0.034	0.050	0.019	0.017	0.020	0.009	0.011	0.043	0.035	0.004	0.006	0.005	0.010	0.014	0.024	0.020	0.029	0.002	0.027	0.081	0.053	0.067	0.071	0.057	0.067	0.017	0.0		
202	0.031	0.045	0.034	0.054	0.066	0.036	0.057	0.064	0.028	0.031	0.045	0.070	0.034	0.047	0.037	0.044	0.016	0.014	0.037	0.044	0.021	0.052	0.019	0.039	0.026	0.014	0.020	0.014	0.003	0.081	0.043	0.0
203	0.028	0.049	0.043	0.051	0.030	0.039	0.046	0.063	0.036	0.030	0.010	0.064	0.064	0.055	0.071	0.061	0.054	0.058	0.019	0.061	0.044	0.015	0.072	0.078	0.078	0.045	0.038	0.164	0.068	0.0		
210	0.053	0.026	0.044	0.048	0.061	0.020	0.040	0.021	0.020	0.028	0.038	0.033	0.018	0.028	0.026	0.021	0.020	0.023	0.048	0.045	0.014	0.028	0.050	0.040	0.058	0.047	0.036	0.071	0.037	0.0		
220	0.074	0.016	0.015	0.029	0.019	0.018	0.021	0.016	0.004	0.056	0.030	0.033	0.014	0.006	0.016	0.027	0.020	0.008	0.040	0.023	0.018	0.047	0.051	0.043	0.055	0.044	0.067	0.071	0.015	0.0		
230	0.073	0.015	0.005	0.021	0.016	0.008	0.009	0.005	0.002	0.042	0.027	0.030	0.031	0.004	0.009	0.024	0.019	0.006	0.028	0.033	0.011	0.045	0.043	0.034	0.044	0.041	0.041	0.070	0.007	0.0		
241	0.071	0.027	0.029	0.024	0.013	0.011	0.013	0.010	0.015	0.037	0.036	0.041	0.028	0.012	0.008	0.023	0.019	0.009	0.044	0.056	0.009	0.051	0.063	0.041	0.049	0.055	0.038	0.048	0.019	0.0		
250	0.059	0.030	0.044	0.035	0.064	0.011	0.034	0.039	0.028	0.006	0.026	0.036	0.016	0.019	0.033	0.030	0.024	0.023	0.028	0.043	0.014	0.023	0.048	0.053	0.048	0.049	0.038	0.057	0.020	0.0		
260	0.064	0.024	0.024	0.034	0.050	0.019	0.017	0.020	0.009	0.011	0.043	0.035	0.004	0.006	0.005	0.010	0.014	0.024	0.020	0.029	0.002	0.027	0.081	0.053	0.067	0.071	0.057	0.067	0.017	0.0		
261	0.073	0.019	0.022	0.015	0.009	0.016	0.008	0.011	0.009	0.021	0.044	0.026	0.024	0.004	0.002	0.007	0.021	0.010	0.040	0.043	0.014	0.044	0.055	0.043	0.053	0.049	0.046	0.088	0.010	0.0		
2702	0.046	0.029	0.019	0.039	0.063	0.012	0.030	0.029	0.015	0.024	0.013	0.008	0.031	0.021	0.015	0.027	0.021	0.009	0.028	0.041	0.012	0.067	0.062	0.071	0.060	0.058	0.082	0.028	0.0			
2703	0.054	0.058	0.038	0.077	0.083	0.037	0.054	0.043	0.028	0.048	0.021	0.011	0.022	0.020	0.032	0.058	0.037	0.015	0.032	0.007	0.041	0.012	0.067	0.062	0.071	0.060	0.058	0.082	0.028	0.0		
280	0.027	0.018	0.021	0.014	0.019	0.006	0.010	0.006	0.001	0.001	0.011	0.020	0.004	0.007	0.002	0.004	0.007	0.001	0.007	0.000	0.014	0.005	0.038	0.021	0.028	0.031	0.013	0.043	0.011	0.0		
290	0.009	0.020	0.037	0.032	0.079	0.009	0.028	0.035	0.019	0.002	0.021	0.000	0.021	0.028	0.016	0.032	0.010	0.010	0.018	0.001	0.002	0.000	0.050	0.044	0.056	0.045	0.027	0.085	0.039	0.0		
30	0.063	0.059	0.028	0.046	0.065	0.029	0.052	0.057	0.031	0.030	0.006	0.030	0.056	0.032	0.021	0.038	0.051	0.036	0.034	0.028	0.014	0.020	0.019	0.009	0.010	0.011	0.016	0.087	0.045	0.0		
50	0.069	0.069	0.027	0.051	0.064	0.030	0.053	0.067	0.036	0.054	0.012	0.037	0.060	0.044	0.033	0.047	0.046	0.066	0.050	0.021	0.031	0.015	0.034	0.018	0.003	0.012	0.010	0.079	0.041	0.0		
60	0.052	0.049	0.053	0.048	0.072	0.017	0.056	0.047	0.029	0.047	0.006	0.021	0.057	0.045	0.047	0.050	0.055	0.081	0.056	0.031	0.042	0.020	0.035	0.005	0.003	0.007	0.004	0.098	0.044	0.0		
805	0.020	0.060	0.034	0.036	0.057	0.015	0.044	0.038	0.023	0.042	0.000	0.016	0.027	0.035	0.032	0.050	0.044	0.065	0.048	0.020	0.036	0.003	0.021	0.004	0.006	0.002	0.000	0.060	0.054	0.0		
814	0.136	0.076	0.034	0.072	0.043	0.015	0.037	0.048	0.030	0.080	0.060	0.128	0.048	0.051	0.058	0.031	0.047	0.074	0.060	0.035	0.079	0.034	0.123	0.055	0.066	0.048	0.060	0.054	0.0			
90	0.050	0.014	0.006	0.024	0.019	0.008	0.002	0.004	0.011	0.036	0.028	0.042	0.034	0.008	0.004	0.016	0.018	0.007	0.005	0.008	0.017	0.018	0.022	0.019	0.034	0.027	0.031	0.0				
91	0.080	0.053	0.042	0.016	0.033	0.010	0.028	0.041	0.025	0.063	0.045	0.039	0.058	0.035	0.028	0.027	0.062	0.040	0.036	0.026	0.059	0.008	0.028	0.043	0.035	0.036	0.031	0.023	0.032	0.016		

10	100	110	1412	1413	150	161	170	190	200	202	203	210	220	230	241	250	260	261	2702	2703	280	290	30	40	50	60	805	814	90	91	
10	0.205	0.205	0.195	0.244	0.140	0.165	0.177	0.122	0.224	0.101	0.112	0.109	0.160	0.180	0.162	0.123	0.134	0.171	0.110	0.150	0.091	0.065	0.161	0.156	0.154	0.124	0.071	0.226	0.152	0.1	
100	0.050	0.074	0.092	0.102	0.030	0.057	0.018	0.042	0.117	0.142	0.127	0.101	0.058	0.041	0.078	0.104	0.090	0.066	0.110	0.130	0.056	0.103	0.135	0.145	0.153	0.138	0.136	0.228	0.065	0.0	
110	0.052	0.018	0.108	0.071	0.037	0.047	0.046	0.047	0.134	0.089	0.152	0.098	0.042	0.026	0.054	0.081	0.098	0.059	0.081	0.080	0.080	0.129	0.077	0.101	0.104	0.096	0.096	0.135	0.027	0.1	
1412	0.045	0.020	0.025	0.039	0.058	0.040	0.061	0.068	0.116	0.137	0.156	0.113	0.081	0.077	0.061	0.079	0.120	0.039	0.143	0.197	0.064	0.141	0.155	0.156	0.128	0.139	0.123	0.171	0.051	0.0	
1413	0.058	0.023	0.017	0.008	0.062	0.023	0.038	0.064	0.162	0.134	0.201	0.135	0.058	0.049	0.050	0.131	0.152	0.036	0.148	0.195	0.077	0.206	0.157	0.122	0.117	0.132	0.134	0.142	0.078	0.0	
150	0.034	0.007	0.009	0.012	0.014	0.020	0.019	0.015	0.076	0.102	0.113	0.077	0.053	0.041	0.054	0.050	0.106	0.051	0.073	0.117	0.057	0.074	0.103	0.113	0.092	0.088	0.085	0.095	0.036	0.0	
161	0.039	0.013	0.011	0.008	0.005	0.005	0.015	0.030	0.107	0.120	0.126	0.090	0.040	0.025	0.042	0.076	0.076	0.025	0.083	0.121	0.042	0.101	0.118	0.114	0.115	0.104	0.109	0.135	0.016	0.0	
170	0.042	0.004	0.011	0.013	0.008	0.004	0.003	0.024	0.136	0.135	0.129	0.066	0.037	0.020	0.045	0.098	0.086	0.028	0.096	0.105	0.035	0.099	0.110	0.119	0.128	0.115	0.107	0.182	0.033	0.0	
190	0.029	0.010	0.011	0.015	0.014	0.003	0.007	0.006	0.103	0.064	0.103	0.040	0.021	0.018	0.040	0.051	0.063	0.033	0.061	0.091	0.014	0.082	0.074	0.074	0.074	0.059	0.065	0.127	0.042	0.0	
200	0.047	0.023	0.028	0.022	0.031	0.015	0.021	0.026	0.020	0.114	0.162	0.086	0.117	0.092	0.121	0.043	0.058	0.095	0.090	0.192	0.040	0.073	0.158	0.135	0.163	0.156	0.150	0.226	0.114	0.1	
202	0.032	0.035	0.043	0.041	0.054	0.031	0.034	0.035	0.028	0.039	0.018	0.135	0.138	0.119	0.165	0.139	0.136	0.133	0.048	0.117	0.105	0.039	0.126	0.152	0.153	0.086	0.073	0.340	0.136	0.1	
210	0.026	0.023	0.023	0.024	0.030	0.017	0.020	0.015	0.009	0.017	0.020	0.036	0.042	0.065	0.064	0.050	0.054	0.055	0.113	0.102	0.036	0.067	0.100	0.089	0.127	0.093	0.079	0.174	0.085	0.1	
220	0.039	0.013	0.010	0.018	0.013	0.012	0.009	0.008	0.005	0.023	0.019	0.038	0.009	0.014	0.039	0.063	0.050	0.019	0.092	0.054	0.045	0.108	0.103	0.095	0.121	0.090	0.097	0.161	0.036	0.0	
230	0.043	0.009	0.006	0.017	0.011	0.009	0.006	0.005	0.004	0.018	0.017	0.033	0.015	0.003	0.022	0.057	0.049	0.016	0.066	0.077	0.028	0.104	0.087	0.077	0.097	0.083	0.091	0.172	0.017	0.0	
241	0.037	0.017	0.012	0.013	0.011	0.012	0.009	0.010	0.009	0.023	0.020	0.043	0.014	0.009	0.005	0.056	0.056	0.022	0.112	0.138	0.028	0.128	0.133	0.098	0.113	0.114	0.090	0.137	0.050	0.0	
250	0.028	0.023	0.019	0.016	0.028	0.011	0.016	0.021	0.011	0.008	0.016	0.037	0.011	0.014	0.013	0.012	0.065	0.055	0.071	0.105	0.038	0.058	0.102	0.125	0.111	0.101	0.089	0.151	0.050	0.1	
260	0.028	0.018	0.021	0.023	0.030	0.021	0.015	0.017	0.013	0.010	0.025	0.033	0.011	0.010	0.010	0.011	0.012	0.062	0.066	0.091	0.019	0.084	0.172	0.134	0.162	0.150	0.142	0.235	0.053	0.1	
261	0.040	0.015	0.014	0.008	0.008	0.011	0.006	0.006	0.007	0.018	0.022	0.035	0.012	0.004	0.003	0.005	0.012	0.012	0.098	0.104	0.037	0.106	0.118	0.100	0.122	0.103	0.106	0.175	0.025	0.0	
2702	0.026	0.025	0.017	0.031	0.033	0.016	0.019	0.021	0.014	0.018	0.013	0.013	0.025	0.021	0.015	0.024	0.015	0.013	0.021	0.047	0.012	0.030	0.072	0.100	0.086	0.064	0.195	0.043	0.0		
2703	0.039	0.032	0.030	0.046	0.047	0.028	0.029	0.025	0.022	0.041	0.029	0.034	0.024	0.013	0.019	0.032	0.024	0.020	0.025	0.011	0.112	0.042	0.124	0.132	0.149	0.117	0.121	0.225	0.067	0.1	
280	0.020	0.012	0.017	0.013	0.016	0.012	0.009	0.007	0.003	0.007	0.011	0.026	0.007	0.009	0.006	0.006	0.008	0.003	0.007	0.003	0.025	0.025	0.075	0.052	0.065	0.061	0.032	0.153	0.035	0.0	
290	0.016	0.024	0.031	0.031	0.047	0.017	0.023	0.022	0.019	0.015	0.021	0.011	0.015	0.025	0.024	0.028	0.013	0.017	0.024	0.007	0.010	0.005	0.094	0.099	0.121	0.087	0.060	0.238	0.093	0.1	
30	0.043	0.035	0.021	0.038	0.039	0.026	0.030	0.028	0.019	0.035	0.012	0.038	0.025	0.026	0.022	0.033	0.025	0.039	0.029	0.018	0.034	0.018	0.024	0.041	0.045	0.019	0.031	0.191	0.076	0.1	
40	0.039	0.034	0.025	0.035	0.028	0.026	0.028	0.017	0.028	0.007	0.043	0.021	0.022	0.018	0.022	0.028	0.028	0.023	0.023	0.033	0.011	0.023	0.011	0.023	0.011	0.021	0.021	0.033	0.203	0.098	0.1
50	0.039	0.037	0.026	0.029	0.027	0.022	0.027	0.030	0.018	0.034	0.010	0.044	0.030	0.029	0.023	0.026	0.025	0.034	0.028	0.020	0.038	0.014	0.029	0.012	0.005	0.023	0.021	0.176	0.087	0.0	
60	0.032	0.035	0.025	0.033	0.032	0.022	0.026	0.028	0.015	0.034	0.007	0.026	0.023	0.023	0.021	0.027	0.024	0.033	0.025	0.016	0.031	0.014	0.022	0.005	0.006	0.008	0.195	0.086	0.0		
805	0.018	0.033	0.024	0.028	0.032	0.020	0.026	0.026	0.016	0.031	0.002	0.021	0.019	0.023	0.022	0.021	0.021	0.030	0.025	0.016	0.031	0.007	0.015	0.008	0.008	0.005	0.002	0.173	0.091	0.0	
814	0.054	0.052	0.032	0.037	0.032	0.022	0.030	0.041	0.029	0.044	0.046	0.093	0.039	0.036	0.039	0.030	0.033	0.046	0.038	0.044	0.054	0.031	0.054	0.049	0.047	0.042	0.049	0.042	0.159	0.1	
90	0.037	0.015	0.007	0.011	0.018	0.008	0.004	0.008	0.010	0.023	0.023	0.038	0.020	0.008	0.004	0.011	0.011	0.011	0.006	0.010	0.017	0.007	0.022	0.020	0.024	0.021	0.022	0.022	0.037	0.0	
91	0.030	0.022	0.024	0.016	0.018	0.010	0.012	0.014	0.012	0.032	0.034	0.035	0.038	0.032	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034	0.034



*edition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**



**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN: 978 3 8359 7223 0



9 17 8 3 8 3 5 19 7 2 2 3 0

Photo cover: © Ana Gram @ stock.adobe.com