

Individuenspezifische genetische Populationszuordnung baltischer Schweinswale mittels hochauflösender Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)-Technologie

Abschlußbericht zur Vorlage beim
Bundesamt für Naturschutz FKZ: 3514824600)





Abschlußbericht

zur Vorlage beim Bundesamt für Naturschutz FKZ: 3514824600

**Individuenspezifische genetische Populationszuordnung baltischer
Schweinswale mittels hochauflösender Single Nucleotide
Polymorphisms (SNPs)-Technologie**

Projektleiter:

Prof. Dr. Ralph Tiedemann

Institut für Biochemie und Biologie

Lehrstuhl für Evolutionsbiologie / Spezielle Zoologie

Universität Potsdam

Karl-Liebknecht-Straße 24-25 (Haus 26)

14476 Potsdam

unter Mitwirkung von:

Dr. Ljerka Lah

Marijke Autenrieth, M.Sc.

Kooperationspartner:

Dr. Harald Benke

Prof. Dr. Ursula Siebert

Dr. Iwona Pawlicka

Dr. Anna Roos

Potsdam, 2017

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	3
2. Hintergrund/Stand der Wissenschaft/Eigene Vorarbeiten.....	4
3. Material und genetische Methoden.....	6
4. Molekulare Varianzanalyse zur Populationsdifferenzierung.....	8
5. Individuenspezifische Zuordnung zu genetischen Clustern.....	9
6. Räumliche Hauptkomponentenanalyse (sPCA).....	13
7. Zuordnung von Ostsee-Schweinswalindividuen zu Subpopulationen.....	17
8. Managment Units (MUs) des Schweinswals in der Ostsee.....	19
9. Literatur.....	23
Appendix 1.....	24
Appendix 2.....	28

1. Zusammenfassung

Ziel dieses Vorhabens war es, die Struktur des Schweinswalbestandes in der Ostsee mit populationsgenetischen Methoden zu klären. Hierzu wurden 196 Schweinswale aus Nord- und Ostsee mittels ddRAD-Sequenzierung auf gemeinsame Sequenzpolymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNPs) hin analysiert. 109 Schweinswale konnten an den gleichen 2518 informativen SNP-Loci typisiert werden. Diese wurden gemeinsam mit 37 Individuen (typisiert an 1874 SNPs) einer vorangegangenen Untersuchung herangezogen, um zu prüfen, ob die Ostseepopulation aus zwei Subpopulationen besteht, einer westbaltischen in der Beltsee und einer zentralbaltischen in der zentralen Ostsee. Es zeigten sich signifikante geographische Unterschiede in der genetischen Populationsstruktur, die für eine Zuordnung von Einzelindividuen zu putativen Subpopulationen genutzt wurden. Diese genetische Zuordnung wurde durch einen unabhängig vererbten genetischen Marker (mitochondriale DNA) statistisch signifikant bestätigt. Aus diesen neuen genetischen Befunden lassen sich folgende Schlußfolgerungen ableiten:

- **Der Schweinswalbestand der Ostsee ist genetisch klar abgegrenzt von Skagerak und Nordsee, mit einer Übergangszone im Kattegat.**
- **Der Schweinswalbestand der Ostsee teilt sich in zwei Subpopulationen, eine westliche in der Beltsee und eine östliche in der zentralen Ostsee.**
- **In der Beltsee wurden ausschließlich Individuen der westbaltischen Subpopulation gefunden.**
- **In der zentralen Ostsee wurden 65-70% der Individuen einer lokalen zentralbaltischen Subpopulation zugeordnet, ca. 10% der Individuen waren migrierende Tiere aus der Beltsee-Subpopulation (aufgetreten nördlich des Darß), 20-25% der Individuen konnten nicht konsistent zugeordnet werden.**

Insgesamt liegen jetzt über 4000 neue informative SNP-Marker vor. Hieraus kann ein informatives SNP-Panel erstellt werden, dass die Populationszuordnung weiterer Individuen (z.B. im Rahmen eines Totfundmonitorings) ermöglichen kann. Der hier analysierte Datensatz ist über einen Zeitraum von 30 Jahren gesammelt worden. Er sollte um jüngere Proben insbesondere aus der zentralen Ostsee ergänzt werden.

2. Hintergrund/Stand der Wissenschaft/Eigene Vorarbeiten

Zwischen den Schweinswalbeständen von Nordsee/Skagerak einerseits und Kattegat/Beltsee andererseits zeigt sich eine klare populationsgenetische Abtrennung. Demgegenüber ist der Status des Schweinswalbestandes in der zentralen Ostsee (Inner Baltic Sea; IBS in Abbildung 1) in der Vergangenheit kontrovers diskutiert worden. Populationsgenetische Analysen auf der Basis von mitochondrialer DNA und Mikrosatelliten (Wiemann et al. 2010) sowie satellitentelemetrische Untersuchungen (Teilmann et al. 2012) haben erbracht, dass

- (1) sich zwischen den Schweinswalbeständen der westlichen und östlichen Ostsee (Grenze etwa Darßer Schwelle) konsistente statistisch signifikante Unterschiede in Genetik und Raumnutzungsverhalten ergeben,
- (2) dass diese Unterschiede jedoch recht gering sind und
- (3) dass einzelne Individuen zwischen diesen Gebieten migrieren.

Die Beurteilung des Populationsstatus der Schweinswale in der zentralen Ostsee ist bisher dadurch erschwert worden, dass für jedes Einzelindividuum lediglich eine beschränkte Anzahl genetischer Marker verfügbar war (ein mitochondrialer Genabschnitt, 15 nukleäre Mikrosatelliten). Hierdurch war die Möglichkeit beschränkt, Einzelindividuen bestimmten Populationen oder Subpopulationen zuzuordnen. Dementsprechend wurden in bisherigen Analysen in der Regel nicht Einzelindividuen aufgrund ihres Genotyps Populationen/Subpopulationen zugeordnet, sondern Individuen *a priori* zu Beständen zusammengefasst und diese Bestände dann verglichen, in der Regel zudem gepoolt über den gesamten Jahresgang.

Der Schweinswalbestand der zentralen Ostsee ist genetisch überraschend divers und es treten private (d.h. nur dort gefundene) mitochondriale Haplotypen auf. Dies ist ein Indiz dafür, dass sich in der zentralen Ostsee möglicherweise eine eigene Subpopulation befindet, die sich dort fortpflanzt. Diese ist jedoch in gepoolten Datensätzen schwer nachzuweisen, da offensichtlich auch saisonale Migration aus der Beltsee in die zentrale Ostsee stattfindet.

In der Ostsee werden zunehmend Rammarbeiten im Kontext der Windenergienutzung durchgeführt, die auch Aufenthaltsgebiete des Schweinswals betreffen. Vor diesem Hintergrund und aufgrund der Gefährdungssituation für eine mögliche Schweinswalpopulation in der zentralen Ostsee ist es essenziell, die geographische und saisonale Verbreitung von Schweinswalen dieser Population zu

erkennen und gegen das Vorkommen von Individuen anderer Populationszugehörigkeit abzugrenzen.

In jüngster Zeit hat die Next-Generation-Sequencing-Technologie die Möglichkeit geschaffen, auch für sogenannte Nicht-Modellorganismen (wie etwa den Schweinswal) mit vertretbarem Aufwand tausende nukleärer Genorte populationsweit zu analysieren. Dies ermöglicht es, Populationsgrenzen ohne *a priori* geographische Zuordnung und ausschließlich aufgrund individuenspezifischer Genotypen mit bisher unerreichter Genauigkeit vorzunehmen. Eine Pilotstudie an 49 Schweinswalen erbrachte einen Datensatz mit über 6000 verwertbaren Nukleotidpolymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs; Lah et al. 2016). Die individuenspezifische Analyse auf der Basis von 1874 dieser SNPs zeigte, dass sich unter den typisierten Schweinswalen der zentralen Ostsee einige Individuen mit spezifischen genetischen Charakteristika finden, die außerhalb der zentralen Ostsee nicht auftreten.

3. Material und genetische Methoden

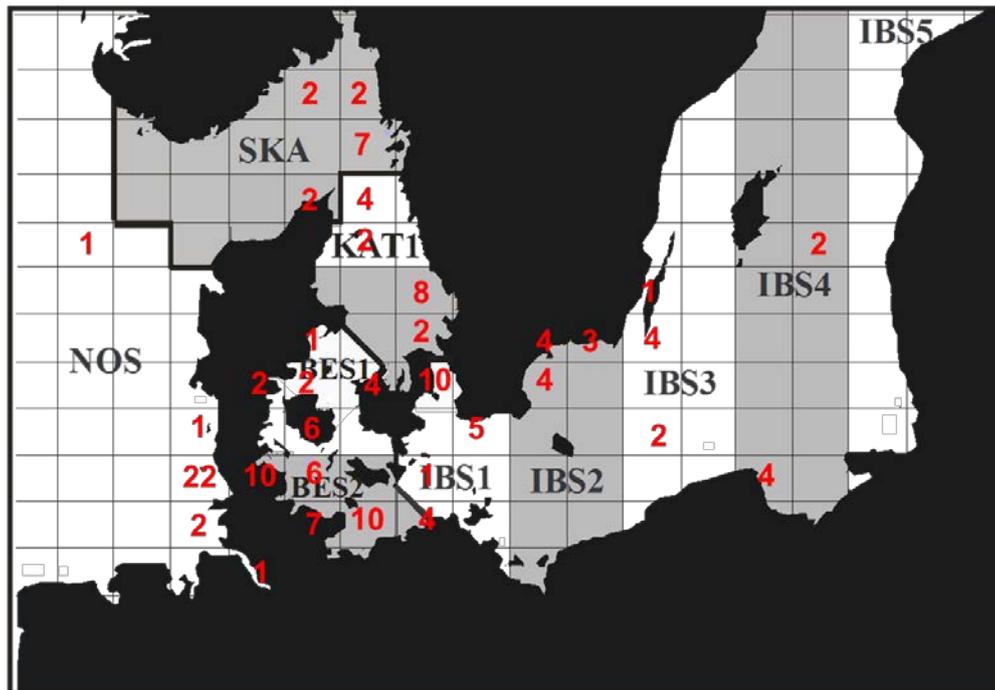


Abbildung 1: Herkunft der 146 berücksichtigten Schweinswale (109 Schweinswale mit 2518 typisierten SNPs aus dieser Untersuchung; 37 Schweinswale mit 1874 typisierten SNPs aus Lah et al. 2016).

Zur Verfügung standen Schweinswalproben (Strandungen und Beifänge) aus Nord- und Ostsee aus den Jahren 1986 bis 2012, die von Kooperationspartnern bereitgestellt wurden. Jüngere Proben aus dem deutschen und polnischen Teil der zentralen Ostsee wurden erst nach Abschluss der genetischen Laborarbeiten Ende 2016 zur Verfügung gestellt. Sie konnten in diesem Bericht nicht berücksichtigt werden, sind aber Gegenstand weiterführender Untersuchungen.

Mittels RAD-Tag Genotyping by Sequencing wurden genomweit Punktmutationen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs; Methode siehe Lah et al. 2016) in 196 Schweinswale untersucht, darunter 38 aus der zentralen Ostsee, 65 aus Beltsee/Kattegat und 46 aus Nordsee/Skagerak. Bei diesen Schweinswalproben handelte es sich um opportunistisch genommene Proben von Strandungen und Beifängen mit unterschiedlichem Erhaltungszustand und entsprechend variierender DNA-Qualität. Lah et al. (2016) konnten bereits zeigen, dass die Anzahl mittels ddRAD typisierbarer SNPs mit der DNA-Qualität korreliert. Um einen hinreichend großen SNP-Datensatz zu erhalten, wurden 86 Individuen schlechterer Qualität nachfolgend nicht weiter berücksichtigt, da die Analyse für diese Proben signifikant weniger SNPs erbrachte und damit den Datensatz der gemeinsam in allen Individuen

gefundenen SNPs stark verkleinert hätte. Für die verbliebenen 109 Individuen, darunter 21 aus der zentralen Ostsee, 53 aus Beltsee/Kattegat und 35 aus Nordsee/Skagerrak (vgl. Appendix 1), wurden 2518 gemeinsame informative SNPs gefunden, auf denen die nachfolgenden Analysen basieren.

Aus dem Gesamtdatensatz aller 109 Individuen wurden zusätzlich zwei Partitionen erzeugt und jeweils separat analysiert: (1) nur Weibchen, da diese eine höhere Ortstreue aufweisen können (z.B. Wiemann et al. 2010); (2) nur Individuen aus der Fortpflanzungszeit (April-September; Koschinski 2002), da Schweinswale außerhalb der Fortpflanzungszeit ggf. saisonal migrieren. Frühere Untersuchungen (Wiemann et al. 2010) an Mikrosatelliten und mtDNA hatten gezeigt, dass diese Partitionen tendenziell die Auflösung der Populationsstruktur erhöhen.

Zusätzlich herangezogen wurden Daten einer früheren Untersuchung (Lah et al. 2016) zu 1874 SNPs von 37 Schweinswalen aus Nord- und Ostsee. Beide Datensätze konnten nicht direkt zusammengefügt werden, da aufgrund verschiedener ddRAD-Protokolle nur wenige SNP-Loci in beiden Datensätzen enthalten waren. Stattdessen wurden beide Datensätze separat bezüglich des Auftretens der westbaltischen und zentralbaltischen Subpopulationen analysiert. Insgesamt sind in diese Untersuchung somit SNP-Daten von 146 Schweinswalindividuen eingegangen (Abbildung 1).

4. Molekulare Varianzanalyse zur Populationsdifferenzierung

Die molekulare Varianzanalyse (Excoffier & Lischer 2010) ist ein statistisches Verfahren, das ermittelt, welcher Anteil genetischer Variabilität auf geographische Populationsstruktur zurückzuführen ist. Wichtiger Ausgabewert ist hier der Fixationskoeffizient F_{ST} . Der F_{ST} hat einen Wertebereich von 0-1. Hierbei bedeutet $F_{ST} = 0$ das Fehlen von geographischer Populationsstruktur. $F_{ST} = 1$ bedeutet demgegenüber, dass in verschiedene Gebieten jeweils nur ein einziger Genotyp vorkommt (d.h. „fixiert“ ist), sich die Gebiete bezüglich des fixierten Genotypen aber unterscheiden. Gebräuchliche molekulare Marker (mtDNA, Mikrosatelliten, SNPs) sind selten in einem Gebiet fixiert, so dass $F_{ST} = 1$ kaum auftritt. Signifikante Populationsstruktur liegt dann vor, wenn der F_{ST} signifikant größer als 0 ist.

In unserer Untersuchung wurden 5 Gebiete verglichen: Nordsee (NOS), Skagerak (SKA), Kattegat (KAT), Beltsee (BES) und zentrale Ostsee (IBS) (vgl. Abbildung 1). Die molekulare Varianzanalyse zeigte eine signifikante Differenzierung in den SNP-Genotypen zwischen den Gebieten, die 2,2% der genetischen Varianz erklärt. Die paarweise Analyse zwischen benachbarten Gebieten erbrachte eine signifikante Differenzierung zwischen allen Gebieten. Am stärksten war die Trennung im Bereich des Kattegats. Dies entspricht der bereits bekannten Differenzierung zwischen Nordsee-Schweinswalen einerseits und Beltsee-Schweinswalen andererseits, die in allen genetischen Untersuchungen unabhängig vom Markertyp (mtDNA, Mikrosatelliten, SNPs) Bestätigung findet (Wiemann et al. 2000, Lah et al. 2016). Auch die Divergenz zwischen Beltsee und zentraler Ostsee ist signifikant. Beschränkt man die Analyse auf Weibchen bzw. Funde aus der Reproduktionszeit, nimmt die Auflösung ab und nur der Vergleich Kattegat/Beltsee hat eine Tendenz zu statistischer Signifikanz. Die weiteren Gebietsvergleiche ergeben nominell positive Fixationskoeffizienten, die statistisch jedoch nicht signifikant sind.

Tabelle 1: Fixationskoeffizienten zwischen allen geographischen Gebieten sowie zwischen jeweils aneinander grenzenden Gebieten basierend auf 2518 SNPs.

	Alle Daten (n=109)	Weibchen (n=74)	Fortpflanzungszeit (n=74)
Zwischen Gebieten	0,022*** (p<0,001)	0,013* (p=0,010)	0,013* (p=0,012)
• NOS/SKA	0,018* (p=0,020)	0,010ns (p=0,136)	0,012ns (p=0,124)
• SKA/KAT	0,024** (p=0,003)	0,002ns (p=0,273)	0,002ns (p=0,301)
• KAT/BES	0,021*** (p<0,001)	0,011(*) (p=0,063)	0,013(*) (p=0,060)
• BES/IBS	0,019*** (p<0,001)	0,006ns (p=0,164)	0,006ns (p=0,123)

Statistische Signifikanz: ns p>0,1; (*) p<0,1; * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

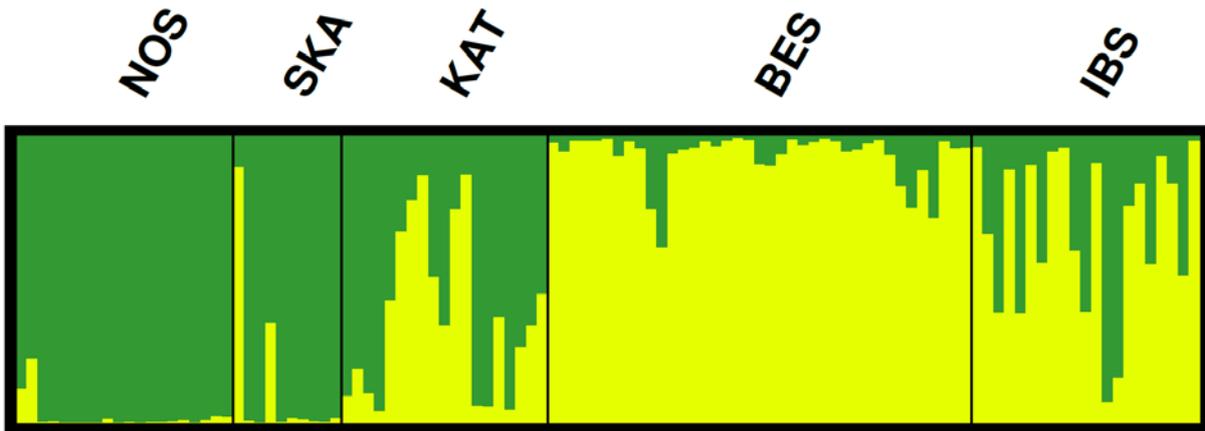
5. Individuenspezifische Zuordnung zu genetischen Clustern

Die untersuchten Schweinswalindividuen wurden auf Grundlage des SNP-Datensatzes mittels der Software STRUCTURE (Pritchard et al. 2000) ohne Berücksichtigung des Ursprungsgebiets genetischen Clustern zugeordnet. Dieses Bayes'sche Clusterverfahren sortiert bei gegebener Clusterzahl k die Individuen derart, dass innerhalb der Cluster die Allelfrequenzen möglichst im Hardy-Weinberg-Equilibrium und im Koppelungsequilibrium sind.

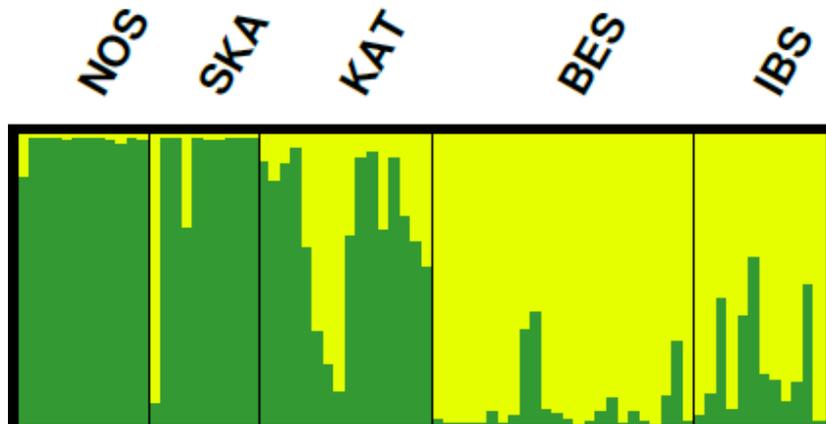
Untersucht man das Gesamtgebiet, findet sich in allen Analysen ($k=2$) die Trennung zwischen der Nordsee/Skagerak-Population und einer Ostseepopulation (Abbildung 2). Es zeigt sich, dass sich beide Populationen im Kattegat treffen, wobei die Ostsee-Individuen (gelbes Cluster) (1) nur im südlichen Kattegat anzutreffen sind und (2) mit einer Ausnahme im Kattegat nur außerhalb der Reproduktionszeit vorkommen. Ein Individuum des Ostsee-Clusters fand sich im Februar im Skagerak. Die Zuordnung wird auch durch mitochondriale DNA gestützt: 5 von 7 (71%) der Individuen aus KAT/SKA, die dem Ostsee-Cluster (gelb) zugeordnet wurden, tragen den BES-typischen Haplotypen 7, während dieser Typ bei denjenigen Individuen aus KAT/SKA, die dem Nordseecluster (grün) zugeordnet werden, nur in einem von 17 Individuen (6%) vorkommt. Der Unterschied in der Verteilung der mitochondrialen Genotypen auf die SNP-Cluster ist hoch signifikant (Fisher's exact test, $p=0,002$).

Für die zentrale Ostsee (IBS in Abbildung 2) zeigt diese Analyse, dass sich viele Individuen nicht eindeutig dem gelben Cluster zuordnen lassen, was gegen die Hypothese einer gemeinsamen panmiktischen Population in BES/IBS spricht. Um diese beiden Bestände näher zu vergleichen, wurde die STRUCTURE-Analyse auch separiert für die Individuen aus Beltsee und zentraler Ostsee berechnet.

A) alle Proben (n=109)



B) nur Weibchen (n=74)



C) nur Reproduktionszeit (n=74)

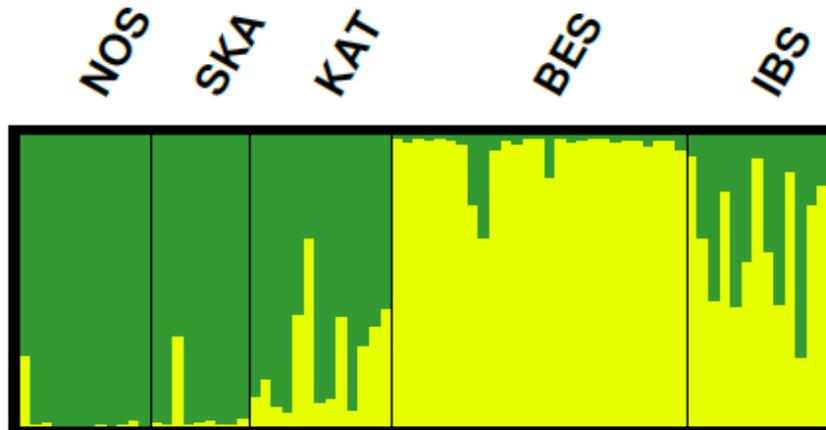
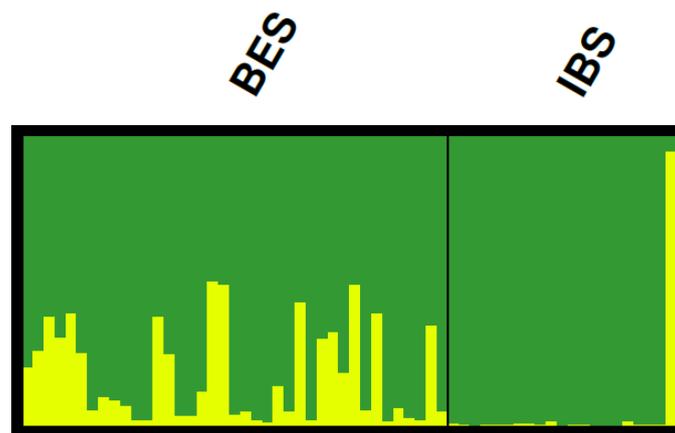
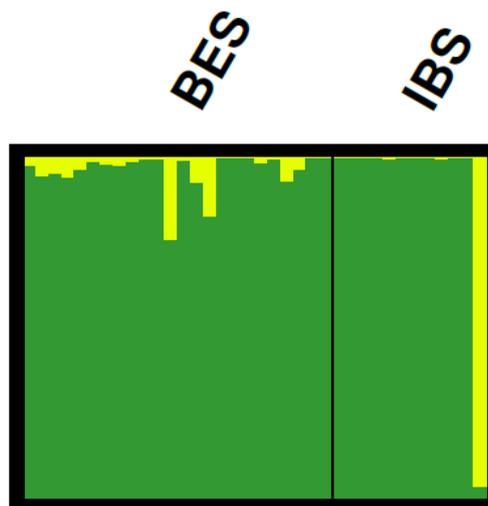


Abbildung 2: Genetische Cluster für A) alle Individuen, B) nur Weibchen und C) nur Reproduktionszeit (April-September); Interpretation der Cluster: grün=Nordsee/Skagerak-Population; gelb=Beltsee/zentrale Ostsee-Population.

A) alle Proben (n=60)



B) nur Weibchen (n=36)



C) nur Reproduktionszeit (n=40)

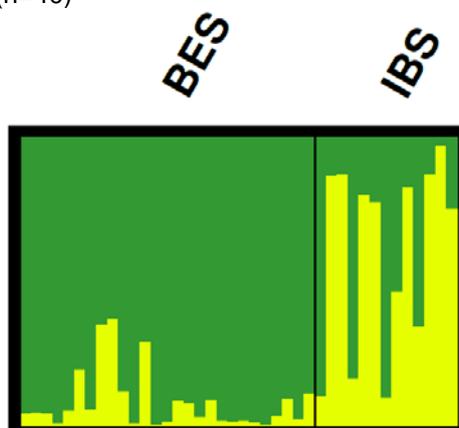


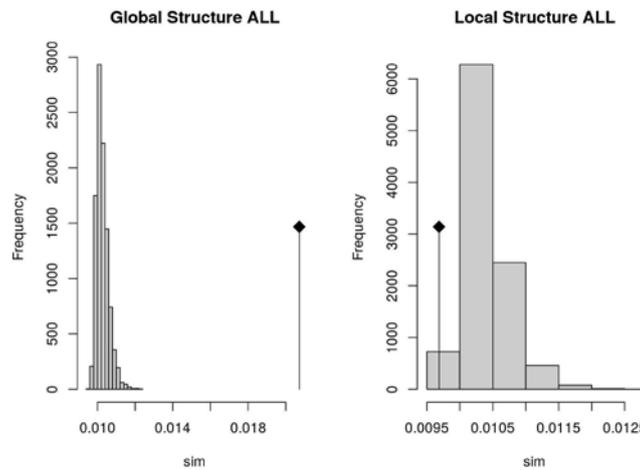
Abbildung 3: Genetische Cluster innerhalb der Ostsee (Beltsee und zentrale Ostsee) für A) alle Individuen, B) nur Weibchen und C) nur Reproduktionszeit (April-September); Interpretation der Cluster: grün=westbaltische Subpopulation; gelb=zentralbaltische Subpopulation.

Im direkten Vergleich BES-IBS im Gesamtdatensatz und auf Weibchen beschränkt wird bei $k=2$ jeweils ein Individuum in der zentralen Ostsee einem Cluster zugeordnet wird, welches im Rest des Untersuchungsgebiets in keinem anderen Individuum überwiegt (Abbildung 3). Dabei handelt es sich um ein Weibchen aus dem Januar aus der Danziger Bucht (vgl. Appendix 1, 2). Im direkten Vergleich BES-IBS zur Reproduktionszeit findet sich in der zentralen Ostsee ein eigenes genetisches Cluster (gelb in Abbildung 3C), dem 8 von 13 Individuen mehrheitlich zugeordnet werden, während alle BES und 5 IBS Individuen mehrheitlich einem anderen Cluster (grün in Abbildung 3C) zugeordnet werden. Zwischen den beiden genetischen Clustern gibt es einen signifikanten Unterschied in der mitochondrialen Haplotypenverteilung: Im grünen Cluster zeigen 19/27 (67%) der Individuen den typischen BES-mtDNA-Typen 7 (vgl. Wiemann et al. 2010, Lah et al. 2016), während im gelben Cluster dieser Typ nur bei 2 von 8 (25%) der Individuen vorkommt (Fisher exact Test, $p=0,040$).

Zusammenfassend zeigen die STRUCTURE-Analysen, dass sich die Schweinswalpopulation der Ostsee in zwei Subpopulationen (westbaltische Subpopulation und zentralbaltische Subpopulation) unterscheiden lässt. Dabei lässt sich die Subpopulation der zentralen Ostsee (gelb in Abbildung 3) besonders in der Fortpflanzungszeit unterscheiden.

6. Räumliche Hauptkomponentenanalyse (sPCA)

A) Alle Gebiete (NOS-IBS)



B) nur BES vs. IBS

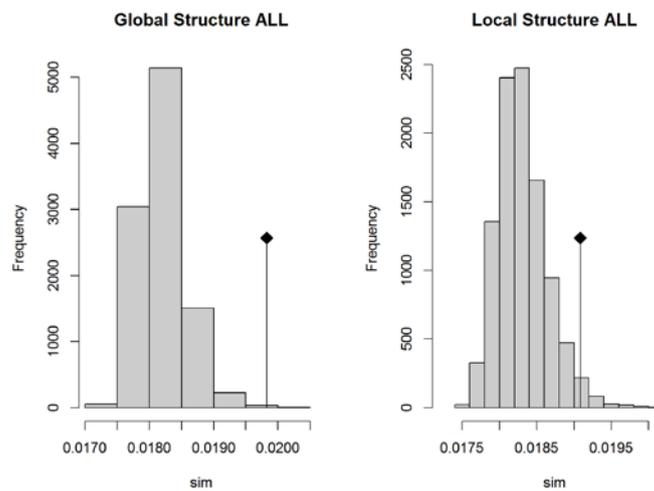


Abbildung 4: Tests auf globale (=zwischen Gebieten) und lokale (=innerhalb von Gebieten) genetische Struktur in der räumlichen Hauptkomponentenanalyse (sPCA). Die Raute markiert die Parameterschätzung auf der Grundlage der tatsächlichen SNP-Daten, die Balken repräsentieren eine Zufallsverteilung. Bei Betrachtung der Gesamtregion (Nordsee, Skagerak, Kattegat, Beltsee, zentrale Ostsee; obere Graphik) zeigt sich signifikante Struktur zwischen, aber nicht innerhalb der Gebiete. Bei Vergleich von Beltsee und zentraler Ostsee (untere Graphik) zeigt sich signifikante Struktur sowohl zwischen als auch innerhalb der Gebiete.

Die SNP-Daten der 109 Schweinswalindividuen wurden in einer räumlichen Hauptkomponentenanalyse (spatial Principal Component Analysis, sPCA) mittels der Software ADAGENET (Jombart 2008) untersucht. Bei der Analyse der Daten aus dem Gesamtgebiet zeigte sich – in Übereinstimmung mit der STRUCTURE-Analyse – signifikante genetische Struktur zwischen den Gebieten (Abbildung 4A). Der direkte Vergleich Beltsee/zentrale Ostsee (Abbildung 4B) ergibt globale und lokale genetische Struktur und ist damit konsistent mit der Existenz zweier Subpopulationen sowie saisonaler Migration.

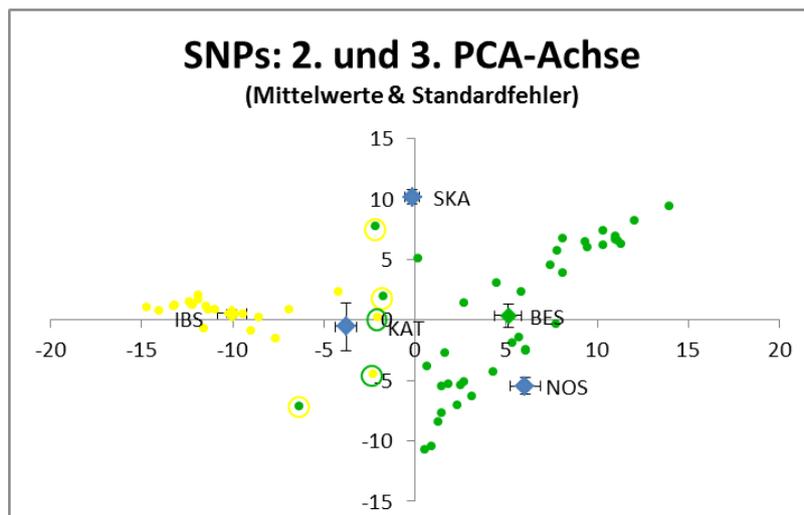
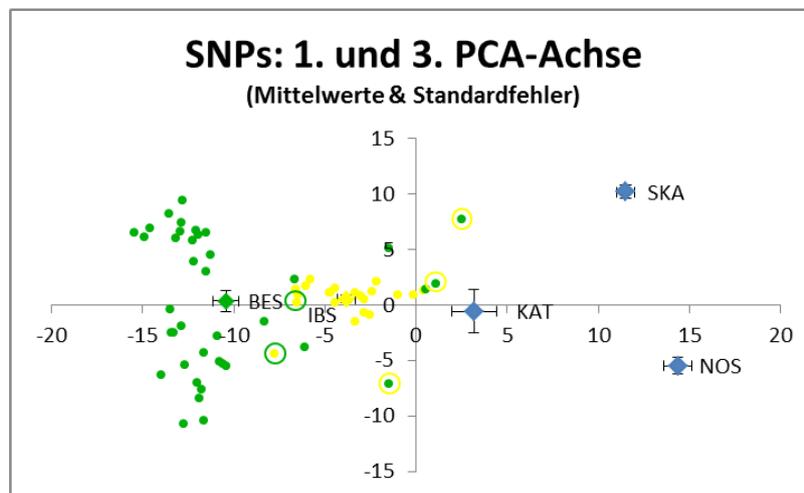
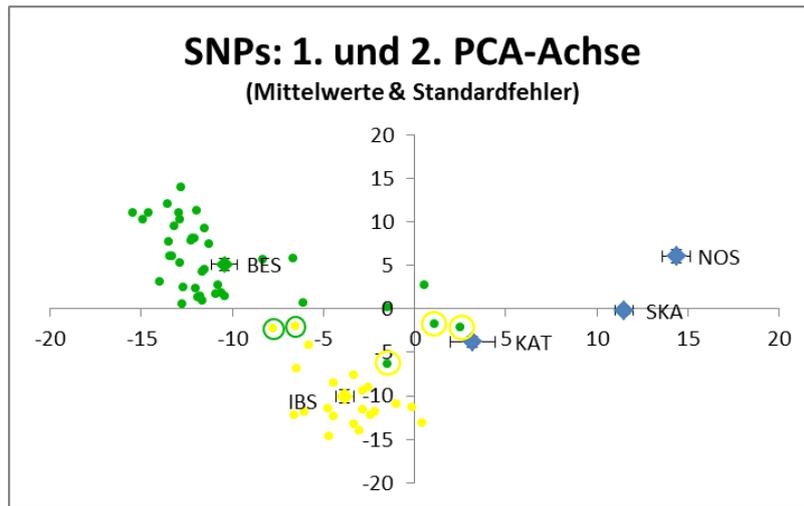


Abbildung 5: Ergebnisse der sPCA: Mittelwerte und Standardfehler der 1.-3. Achsenwerte sind jeweils gezeigt für die Gebiete Nordsee (NOS), Skagerak (SKA), Kattegat (KAT), Beltsee (BES) und zentrale Ostsee (IBS). Für IBS (gelb) und BES (grün) sind zusätzlich die Werte der Einzelindividuen als Punkte dargestellt. Es zeigt sich eine deutliche Differenzierung zwischen BES und IBS entlang erster und zweiter Achse. Zusätzlich eingekreiste Punkte markieren Individuen, die im Vergleich IBS-BES dichter am Mittel der jeweils anderen Region liegen als dem ihrer eigenen (vgl. Pfeile in Abbildung 6). Hierbei könnte es sich um migrierende Individuen handeln.

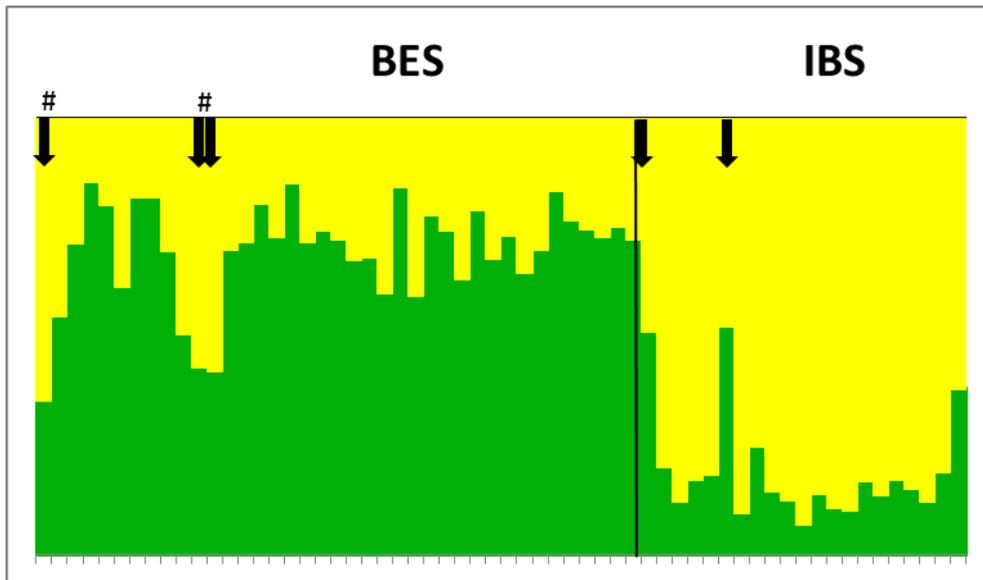


Abbildung 6: Relative Nähe der sPCA-Achsenwerte der Einzelindividuen (vertikale Balken) zu den Mittelwerten der Beltsee (grün) bzw. der Inneren Ostsee (gelb). Links des vertikalen schwarzen Strichs stehen Individuen aus der Beltsee (BES), rechts aus der zentralen Ostsee (IBS). Pfeile markieren diejenigen fünf Individuen, die näher am Mittelwert der jeweils anderen Gruppe liegen. # markiert Individuen mit geographischer und genetischer Nähe zu Kattegat-Individuen.

Betrachtet man die gebietsweise die mittleren individuenspezifischen Achsenwerte der ersten drei Hauptkomponenten der sPCA (Abbildung 5), so werden Unterschiede in der genetischen Struktur zwischen allen Gebieten deutlich. Für die Beltsee (grün) und die zentrale Ostsee (gelb) sind in Abbildung 5 zusätzlich zu den Mittelwerten auch die individuenspezifischen Werte als Punkte angegeben. Es zeigt sich eine deutliche Trennung zwischen Beltsee-Individuen und Individuen der zentralen Ostsee entlang der 1. und 2. PCA-Achse, während sie sich in der 3. PCA-Achse im Mittel nicht unterscheiden. Die 3. PCA-Achse separiert demgegenüber insbesondere die gesamte Ostseeregion von Nordsee und Skagerak.

Für die Individuen aus BES und IBS wurden weiterhin die Vektordistanz der Einzelwerte (PC1, PC2, PC3) zu den Vektoren der gebietsspezifischen Mittelwerte ($(PC1_{\text{Mittel-BES}}, PC2_{\text{Mittel-BES}}, PC3_{\text{Mittel-BES}})$ bzw. $(PC1_{\text{Mittel-IBS}}, PC2_{\text{Mittel-IBS}}, PC3_{\text{Mittel-IBS}})$; vgl. Abbildung 5) untersucht. Hierbei waren nahezu alle Individuen ihrem gebietsspezifischen mittleren Vektor am nächsten (Abbildung 6). 3 Individuen aus der Beltsee (markiert durch Pfeile und # in Abbildung 6; hervorgehoben durch gelbe Umrahmung in Abbildung 5) wichen hiervon ab. Es handelte sich um Individuen nahe dem Kattegat, die eine größere Affinität zum Kattegat aufwiesen. In der zentralen Ostsee zeigten 2 Individuen eine größere Nähe zum Beltsee-Mittelwert als zum IBS-Mittelwert (markiert durch Pfeile in Abbildung 6; hervorgehoben durch grüne Umrahmung in Abbildung 5). Beide Individuen stammen aus dem westlichsten Teil

der zentralen Ostsee (nördlich des Darß) und gehören offensichtlich noch zur westbaltischen Subpopulation.

Zusammenfassend detektiert die räumliche Hauptkomponentenanalyse einen konsistenten genetischen Unterschied zwischen Subpopulationen der Beltsee und der zentralen Ostsee, wobei am Westrand der zentralen Ostsee einzelne Schweinswale der westbaltischen Subpopulation zugeordnet werden.

Bei Hinzunahme der Daten für 15 Mikrosatellitenloci und mtDNA (jeweils 3 weitere PCs und neundimensionaler Vektordistanzberechnung ($PC1_{\text{SNPs}}$, $PC2_{\text{SNPs}}$, $PC3_{\text{SNPs}}$, $PC1_{\text{microsats}}$, $PC2_{\text{microsats}}$, $PC3_{\text{microsats}}$, $PC1_{\text{mtDNA}}$, $PC2_{\text{mtDNA}}$, $PC3_{\text{mtDNA}}$) veränderte sich die Zuordnung der Individuen zu Subpopulationen nicht. Es zeigte sich, dass die Vektordistanzen zu über 95% durch den SNP-Datensatz bestimmt wurden. Dies ist ein Anzeichen dafür, dass die Stratifikation zwischen westbaltischer und zentralbaltischer Subpopulation im SNP-Datensatz ungleich stärker ist als in den Mikrosatelliten- bzw. mtDNA-Datensätzen.

7. Zuordnung von Ostsee-Schweinswalindividuen zu Subpopulationen

Tabelle 2: Zuordnung von Schweinswalen aus IBS und BES zu Subpopulationen (Individuen unsicherer Zuordnung nicht berücksichtigt; vgl. Appendix 2). Die jeweils häufigste Assoziation ist farblich unterlegt. Werte in Klammern beinhalten zusätzlich die Daten aus Lah et al. (2016).

Zuordnung	Vorkommen		mitochondrialer Haplotyp	
	BES	IBS	Haplotyp 7	anderer Hapl.
Alle Daten				
Westbaltische Subpopulation	39 (49)	2 (7)	19 (28)	12 (19)
Zentralbaltische Subpopulation	0 (0)	14 (17)	4 (5)	9 (11)
Fisher's exact test:	p<0,001*** (p<0,001***)		p=0,050* (p=0,036*)	
Nur Weibchen				
Westbaltische Subpopulation	24 (34)	2 (4)	13 (21)	7 (12)
Zentralbaltische Subpopulation	0 (0)	8 (10)	2 (3)	5 (6)
Fisher's exact test:	p<0,001*** (p<0,001***)		p=0,094(*) (p=0,084(*)	
Nur Reproduktionszeit (April-September)				
Westbaltische Subpopulation	27 (36)	1(3)	12 (18)	9 (14)
Zentralbaltische Subpopulation	0 (0)	8 (11)	2 (3)	6 (8)
Fisher's exact test:	p<0,001*** (p<0,001***)		p=0,106ns (p=0,074(*)	

Statistische Signifikanz: ns p>0,1; (*) p≤0,1; * p≤0,05; *** p≤0,001

Die AMOVA, die STRUCTURE-Analysen und die sPCA deuten alle darauf hin, dass die Ostsee nicht von einer einheitlichen panmiktischen Population besiedelt wird. Stattdessen finden sich zwei Subpopulationen, eine westbaltische Subpopulation und eine zentralbaltische Subpopulation. STRUCTURE und sPCA stimmen dahingehend überein, dass alle untersuchten Schweinswale aus der Beltsee der Beltsee-Subpopulation zugeordnet werden. In der zentralen Ostsee ist in der STRUCTURE-Analyse vor allem die Analyse der Individuen aus der Reproduktionszeit (vgl. Abbildung 3C) informativ. Die sPCA-Analyse ordnet alle bis auf zwei Individuen aus der zentralen Ostsee einer eigenen Subpopulation zu (vgl. Abbildung 6).

Zusammenfassend wurde die Zuordnung von Einzelindividuen zu westbaltischer vs. zentralbaltischer Subpopulation zunächst nach den sPCA-Ergebnissen vorgenommen und dann auf Konsistenz mit den STRUCTURE-Ergebnissen aus der Reproduktionszeit hin untersucht. Kam es hier zu einer unterschiedlichen Zuordnung, wurde der Subpopulationsstatus des entsprechenden Individuums als noch ungeklärt gewertet („?“ in Appendix 2). Insgesamt wurden die Individuen aus der Beltsee in allen Partitionen zu 100% (39/39) der Beltsee-Subpopulation zugeordnet. Für die zentrale Ostsee wurden von 21 untersuchten Individuen 14 (67%) einer eigenen

Subpopulation zugeordnet, 2 (10%) der westbaltischen Subpopulation, für weitere 5 (25%) war die Zuordnung inkonsistent (Appendix 2). Tabelle 2 führt diejenigen Individuen auf, für die eine konsistente Zuordnung erfolgte, und berücksichtigt hierbei zusätzlich die SNP-Daten aus Lah et al. (2016). In der Beltsee werden alle Individuen der westbaltischen Subpopulation zugeordnet. In der zentralen Ostsee werden im Gesamtdatensatz und in der „nur Weibchen“-Partition jeweils 71% einer eigenen zentralbaltischen Subpopulation zugeordnet, 29% der westbaltischen Subpopulation. Zur Reproduktionszeit erhöht sich der Anteil der zentralbaltischen Subpopulation in der zentralen Ostsee auf 79%.

Gegeben das Ergebnis, dass sich beide Subpopulationen in der zentralen Ostsee aufhalten, stellt sich die Frage, ob die Subpopulationen demographisch unabhängig sind oder ob es sich letztlich um Zufallsassoziationen der gleichen Population (d.h. einer gemeinsamen Ostsee-Schweinswalpopulation) handelt. Da die Zuordnung zu den Subpopulationen auf der Grundlage von 2518 nukleären SNP-Markern (bzw. 1874 SNPs für die Individuen aus Lah et al. 2016) erfolgte, die zufällig auf den 44 Chromosomen des Schweinswals verteilt sind, wurde dies mittels eines unabhängig vererbten genetischen Markers, der klonal maternal vererbten mitochondrialen DNA getestet. Dabei lassen sich folgende Voraussagen machen:

- Sollten westbaltische Subpopulation und zentralbaltische Subpopulation einer gemeinsamen Ostseepopulation angehören, ist eine zufällige Verteilung mitochondrialer Haplotypen auf diese beiden Cluster zu erwarten.
- Eine nicht-zufällige Verteilung mitochondrialer Haplotypen auf diese beiden Cluster bedeutet demgegenüber, dass diese beiden Subpopulationen sich nicht hinreichend stark durchmischen. Sie sind dann demographisch unabhängige Einheiten.

In der Tat fanden sich in allen Vergleichen signifikante Unterschiede in der Haplotypenverteilung zwischen den putativen Subpopulationen (Tabelle 2):

- Unter den mittels SNP-Analyse zur westbaltischen Subpopulation zugeordneten Schweinswalen dominiert der mitochondriale Haplotyp 7 (56%-64% der Individuen).
- Unter zur zentralbaltischen Subpopulation zugeordneten Schweinswalen ist der Haplotyp 7 statistisch signifikant seltener (27%-33% der Individuen). Stattdessen dominieren andere Haplotypen, darunter die Haplotypen 18, 24 und 27, die in der westbaltischen Subpopulation nicht auftreten (Appendix 2).

8. Management Units (MUs) des Schweinswals in der Ostsee

Die genetische Trennung zwischen Nordsee/Skagerak-Population und Beltsee-Population des Schweinswals mit einer Übergangszone im Kattegat, die wiederholt gefunden wurde (Wiemann et al. 2010; Lah et al. 2016), wurde auch in der vorliegenden Untersuchung in allen Analysen bestätigt.

Bezüglich weiterer Populationsstruktur des Schweinswals in der Ostsee (Regionen Beltsee (BES) und zentrale Ostsee (IBS); vgl. Abb. 1) galt es festzustellen, ob sich dort jeweils demographisch eigenständige Bestände („Subpopulationen“) finden.

Demographisch eigenständig bedeutet, dass es zwar genetischen Austausch geben kann, dieser aber zu gering ist, um die Demographie des Bestandes signifikant zu beeinflussen. Da der Schweinswalbestand der zentralen Ostsee zahlenmäßig sehr klein ist, würde – im Fall demographischer Eigenständigkeit – Immigration aus der Beltsee nicht in hinreichendem Maße stattfinden, um diesen Bestand zu stützen.

Bezüglich der demographischer Eigenständigkeit der Schweinswalbestände der Ostsee lassen sich drei Hypothesen formulieren:

- I. Der gesamte Bereich der Ostsee (südlich des Kattegats) wird von einer einzelnen demographisch verbundenen Ostsee-Schweinswalpopulation besiedelt.

Vorhersage: Der BES/IBS-Bestand ist insgesamt genetisch einheitlich. Keine genetischen Unterschiede zwischen BES und IBS Schweinswalen.

- II. Im Bereich der Ostsee gibt es zwei Subpopulationen, eine westlichbaltische (Beltsee) und eine zentralbaltische (zentrale Ostsee), die demographisch eigenständig und räumlich getrennt sind.

Vorhersage: Der BES-Bestand ist genetisch einheitlich, der IBS-Bestand ebenfalls. Zwischen beiden Beständen finden sich genetische Unterschiede.

- III. Im Bereich der Ostsee gibt es zwei Subpopulationen, eine westbaltische (Beltsee) und eine zentralbaltische (zentrale Ostsee), die demographisch eigenständig sind. Zwischen den Gebieten findet saisonale Migration statt, so dass auch Beltsee-Tiere in der zentralen Ostsee angetroffen werden können Da der IBS-Bestand sehr klein ist,

ist der Nachweis von saisonaler Migration in umgekehrter Richtung, d.h. von IBS-Individuen in den Bereich des zahlenmäßig großen BES-Bestands mittels genetischer Analyse von Zufallsfunden unwahrscheinlich.

Vorhersage: Der BES-Bestand ist genetisch einheitlich. Genetische Charakteristika des BES-Bestands werden in einigen Schweinswalen aus dem IBS-Gebiet gefunden (saisonale Migration). Eine Teilmenge der IBS-Schweinswale (ggf. in einem Teilgebiet der zentralen Ostsee) bildet ein eigenständiges genetisches Cluster.

Evaluation von Hypothese I

Die Schweinswale in der Ostsee sind einander im Mittel ähnlicher als denen aus der Nordsee/Skagerak-Region. Sucht man nach 2 genetischen Clustern im Gesamtdatensatz, so werden Nordsee/Skagerak von Beltsee/zentraler Ostsee getrennt mit einer Transitionszone im Kattegat. In allen Analysen ist dies die deutlichste Populationsgrenze, im Einklang mit vorherigen Untersuchungen (Wiemann et al. 2010; Lah et al. 2016). Die Daten von Lah et al. (2016) deuten an, dass die Nordseeschweinswale einem atlantischen Typ zuzuordnen sind, der bis nach Island vorkommt, von dem die Ostseepopulation verschieden ist.

Innerhalb der Ostsee (Beltsee und zentrale Ostsee) sind weder die SNP-Genotypen noch die mitochondrialen Haplotypen zufällig verteilt. Zudem werden durch SNPs gefundene genetische Cluster durch die mitochondriale DNA signifikant bestätigt. Da beide Markersysteme genetisch nicht gekoppelt sind, spricht dies klar gegen eine einzelne panmiktische Ostseepopulation.

Fazit: Die vorgelegten Daten widersprechen einer einheitlichen Ostseepopulation im Gesamtgebiet der Ostsee (Beltsee und zentrale Ostsee). Hypothese I hat geringe Plausibilität.

Evaluation von Hypothese II

Es finden sich innerhalb der Ostseepopulation des Schweinswals zwei genetische Cluster, die als Subpopulationen interpretiert werden. Auch zeigen sich in der AMOVA-Analyse des Gesamtdatensatzes signifikante genetische Unterschiede zwischen Beltsee und zentraler Ostsee. Während in der Beltsee ausschließlich

Individuen einer Subpopulation gefunden werden, finden sich innerhalb der zentralen Ostsee beide genetischen Cluster/Subpopulationen.

Fazit: Die Hypothese, dass alle in der zentralen Ostsee gefundenen Schweinswale einer gemeinsamen zentralbaltischen Subpopulation angehören, ist nicht im Einklang mit den vorgelegten Ergebnissen.

Hypothese II wird abgelehnt.

Evaluation von Hypothese III

Während die Region BES ausschließlich Schweinswale enthält, die der Beltsee-Subpopulation zugeordnet werden, treten in der inneren Ostsee zwei Subpopulationen auf: Etwa 70-80% der Individuen wurden einer eigenständigen zentralbaltischen Subpopulation zugeordnet, 20-30% wurden der westbaltischen Subpopulation zugeordnet. Diese Zuordnungen wurden durch zwei verschiedene genetische Markersysteme konsistent bestätigt (nukleäre SNP-Marker, mitochondriale DNA).

Fazit: Die Daten stützen die Existenz zweier demographisch unabhängiger genetischer Cluster. Die Hypothese einer westbaltischen Subpopulation, aus der Einzelindividuen bis in die zentrale Ostsee migrieren, sich allerdings nur wenig mit der dortigen zentralbaltischen Subpopulation vermischen, erklärt die gefundene Genotypenverteilung am besten. Möglicherweise nutzt die zentralbaltische Subpopulation (insbesondere zur Reproduktionszeit) nur einen Teil der zentralen Ostsee.

Hypothese III hat hohe Plausibilität.

Zusammenfassend werden die vorgelegten Daten dahingehend interpretiert, dass die von der atlantischen Schweinswalpopulation klar abgegrenzte Ostseepopulation aus zwei Subpopulationen besteht, einer westlichen (westbaltische Subpopulation) und einer östlichen (zentralbaltische Subpopulation), wobei Beltsee-Individuen auch in die zentrale Ostsee migrieren, sich aber mit der zentralbaltischen Subpopulation selten verpaaren, so dass die beiden genetischen Cluster bestehen bleiben. Diese Interpretation steht im Einklang mit früheren Untersuchungen (Wiemann et al. 2010; Lah et al. 2016).

Mit der mitochondrialen DNA liegt ein Marker vor, der relevante Information über die Subpopulationszugehörigkeit in der Region trägt (etwa 60% der Individuen der

westbaltischen Subpopulation besitzen den Haplotyp 7; etwa 70% der zentralbaltischen Subpopulation besitzen einen anderen Haplotypen, darunter einige Typen, die außerhalb der zentralen Ostsee nicht oder nur sehr selten vorkommen).

Zu den vorgelegten Untersuchungen ist anzumerken, dass die untersuchten Proben über drei Dekaden gesammelt wurden. Die genetischen Daten repräsentieren insofern keine Momentaufnahme der gegenwärtigen Population, sondern integrieren über die Zeit. Insbesondere aus der zentralen Ostsee wurden jüngere deutsche und polnische Proben erst nach Abschluss der genetischen Arbeiten zur Verfügung gestellt und wurden daher in diesem Bericht nicht berücksichtigt. Die Analyse dieser Proben ist in Kürze vorgesehen.

Lah et al. (2016) etablierten 1874 informative nukleäre Marker (SNPs), diese Untersuchung identifizierte weitere 2518 SNPs, die die Populationszuordnung stützen. Diese zusammen über 4000 SNP-Marker sind ein reicher Fundus informativer Loci. Um das Vorkommen der zentralbaltischen Subpopulation genauer beschreiben zu können, wird vorgeschlagen, aus diesen SNPs ein Panel von 100-200 besonders informativen Markern zusammenzustellen. Dieses Panel könnte dann für die Analyse weiterer Individuen (insbesondere für die jetzt vorliegenden jüngeren Proben aus der zentralen Ostsee) sowie für ein Monitoring von Totfunden auf deren Subpopulationszugehörigkeit hin eingesetzt werden.

9. Literatur

- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* **10**, 564-567.
- Jombart T (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* **24**, 1403-1405.
- Koschinski S (2002) Current knowledge on harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in the Baltic Sea. *Ophelia* **55**, 167–197.
- Lah L, Trense D, Benke H, Berggren P, Gunnlaugsson Þ, Lockyer C, Öztürk A, Öztürk B, Pawliczka I, Roos A, Siebert U, Skóra K, Víkingsson G, Tiedemann R (2016) Spatially explicit analysis of genome-wide SNPs detects subtle population structure in a mobile marine mammal, the Harbor porpoise. *PLoS ONE* **11**, e0162792.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* **155**, 945-959.
- Teilmann J, Christiansen CT, Kjellerup S, Dietz R, Nachman G (2012) Geographic, seasonal, and diurnal surface behavior of harbor porpoises. *Marine Mammal Science* **29**, E60-E76.
- Wiemann A, Andersen LW, Berggren P, Siebert U, Benke H, Teilmann J, Lockyer C, Pawliczka I, Skóra K, Roos A, Lyrholm T, Paulus KB, Ketmaier V, Tiedemann R (2010) Mitochondrial Control Region and microsatellite analyses on Harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) unravel population differentiation in the Baltic Sea and adjacent waters. *Conservation Genetics* **11**, 195-211

Appendix 1: Liste der 109 Proben mit 2518 ausgewerteten SNPs

SampleID_SNP	SampleID_Original	Latitude	Longitude	LocationA	LocationB	sex	HT	Month	Year	Bycatch	Age
P1-031	6867	54,75	8,29	NOS	NOS	f	-	Oktober	2012	k.A.	J
P1-035	6872	54,90	8,29	NOS	NOS	m	-	September	2012	k.A.	A
P3-176	1348	54,75	8,29	NOS	NOS	f	1	Juli	1999	N	SA
P3-177	1074	54,95	8,32	NOS	NOS	m	1	August	1998	N	x
P3-178	426	55,02	8,44	NOS	NOS	m	4	Mai	1997	N	SA
P3-179	1720	55,02	8,44	NOS	NOS	f	32	Mai	2001	N	x
P3-180	610	54,85	8,29	NOS	NOS	f	4	September	1997	x	J
P3-181	1640	54,84	8,29	NOS	NOS	m	1	Oktober	2000	N	J
P3-182	98_037	57,15	6,30	NOS	NOS	f	7	August	1998	x	x
P3-183	1718	54,84	8,29	NOS	NOS	f	1	Juni	2001	N	x
P3-185	2898	53,82	9,36	NOS	NOS	f	1	April	2005	N	J
P3-186	3129	54,70	8,35	NOS	NOS	f	1	Juli	2005	N	A
P3-187	428	54,70	8,35	NOS	NOS	m	26	April	1997	N	SA
P3-188	99_011	55,07	8,63	NOS	NOS	f	1	x	1999	x	x
P3-190	451	54,75	8,29	NOS	NOS	m	28	März	1997	N	SA
P3-238	1071	54,85	8,29	NOS	NOS	f	4	August	1998	N	x
P3-239	423	54,85	8,29	NOS	NOS	f	4	Juli	1997	N	x
P3-240	1462	54,50	8,60	NOS	NOS	m	x	Dezember	1999	N	J
P3-242	1642	54,84	8,29	NOS	NOS	m	1	Dezember	2000	N	J
P3-243	1644	54,90	8,29	NOS	NOS	f	31	November	2000	N	J
P1-069	C2007/07717	57,89	11,56	SKA	SKA	f	7	Februar	2007	Y	L: 170cm, W: 50,3kg
P2-123	S29	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Juli	1991	Y	1
P2-125	S31	58,01	10,01	SKA	SKA	f	20	Juni	1990	Y	1
P2-126	S33	58,01	10,01	SKA	SKA	f	27	Mai	1990	Y	x
P2-127	S34	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Juni	1991	Y	4
P2-130	S26	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Juni	1990	Y	1
P2-131	S27	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Juni	1990	Y	1
P2-133	S40	58,01	10,01	SKA	SKA	f	19	Mai	1991	Y	9

P2-134	S42	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Mai	1991	Y	2
P2-136	S45	58,01	10,01	SKA	SKA	f	1	Mai	1991	Y	x
P2-122	S28	57,00	11,00	KAT1	KAT	f	1	Juni	1990	Y	1
P2-124	S30	57,00	11,00	KAT1	KAT	f	1	Mai	1991	Y	1
P2-128	S38	57,00	11,00	KAT1	KAT	f	23	Mai	1991	Y	1
P2-132	S39	57,00	11,00	KAT1	KAT	f	25	Mai	1991	Y	2
P2-135	S43	57,00	11,00	KAT1	KAT	f	1	Juni	1990	Y	5+
P1-050	C2005/05356	56,91	12,48	KAT2	KAT	f	7	Juli	2005	N	L: 120cm
P1-051	C2008/00004	56,03	12,68	KAT2	KAT	f	7	Januar	2008	N	L: 121cm
P1-052	C2008/00005	56,03	12,68	KAT2	KAT	f	7	Januar	2008	N	L: 126cm
P1-054	C2008/00009	56,03	12,68	KAT2	KAT	m	7	Februar	2008	N	L: 115cm
P1-055	C2008/00011	56,45	12,83	KAT2	KAT	f	7	Februar	2008	N	L: 122cm
P1-072	C2005/05347	56,25	12,82	KAT2	KAT	m	1		2005	N	x
P1-073	C2008/00006	56,25	12,82	KAT2	KAT	m	7	Februar	2008	N	L: 133cm
P2-137	S46	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	1	April	1991	Y	x
P2-138	S48	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	1	Mai	1990	Y	0
P2-139	S49	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	1	Juli	1990	Y	2
P2-140	S50	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	7	Juli	1991	Y	1
P2-142	S52	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	24	Juli	1990	Y	6
P2-143	S55	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	7	Mai	1990	Y	1
P3-141Rep	S51	56,00	12,00	KAT2	KAT	f	7	Juli	1990	Y	3
P1-038	C2005/05351	55,92	12,68	BES1	BES	f	7	Juli	2007	Y	L: 122cm, W:28kg
P1-039	1700	56,17	10,23	BES1	BES	m	7	April	x	x	x
P1-040	1481	55,43	10,70	BES1	BES	f	7	Februar	2000	N	J
P1-041	98_033	55,55	9,73	BES1	BES	f	7	August	1998	Y	x
P1-042	97_038	55,50	9,72	BES1	BES	f	7	September	1997	Y	x
P1-043	98_046	55,50	10,78	BES1	BES	f	7	September	1998	Y	x
P1-044	98_061	55,43	10,70	BES1	BES	f	1	November	1998	Y	x
P1-045	98_047	55,43	10,70	BES1	BES	f	1	September	1998	Y	x
P1-049	1927	55,02	10,65	BES1	BES	f	7	August	2002	Y	x

P3-170	97_002	55,97	11,18	BES1	BES	f	11	April	1997	Y	x
P3-171	98_014	55,97	11,18	BES1	BES	f	7	April	1998	Y	x
P3-172	97_003	55,97	11,18	BES1	BES	f	7	April	1997	Y	x
P3-174	98_062	55,43	10,70	BES1	BES	f	7	Dezember	1998	Y	x
P1-032	6869	54,00	10,00	BES2	BES	m	-	Oktober	2012	x	J
P1-033	6870	54,35	10,93	BES2	BES	m	-	August	2012	x	J
P1-034	6871	54,76	9,88	BES2	BES	m	-	August	2012	x	neonat
P1-036	6835	54,09	10,85	BES2	BES	f	-	Oktober	2012	x	J
P1-046	18439	54,48	9,88	BES2	BES	f	7	September	1994	Y	SA
P1-048	1747	55,00	10,01	BES2	BES	f	1	August	2001	Y	J
P1-057	36	54,44	11,29	BES2	BES	f	7	November	1995	Y	A
P1-058	159	54,49	11,01	BES2	BES	m	7	April	1996	N	SA
P1-059	2526	54,50	11,21	BES2	BES	f	-	March	2004	x	J
P1-060	2527	54,49	11,03	BES2	BES	f	-	April	2004	x	A
P1-061	4013	54,32	11,07	BES2	BES	f	-	August	2007	x	A
P1-066	22	54,49	11,01	BES2	BES	f	7	September	1995	N	A
P1-068	3496	54,49	11,01	BES2	BES	f	-	Juni	2006	x	adult
P1-070	3787	54,35	10,18	BES2	BES	m	1	Mai	2007	x	foetus
P3-169	6496	54,49	11,03	BES2	BES	f	-	Oktober	2011	x	neonat
P3-204	1075	54,81	9,45	BES2	BES	m	1	Juli	1998	Y	SA
P3-205	1127	54,71	10,01	BES2	BES	m	7	Juli	1998	Y	SA
P3-207	2780	54,75	9,98	BES2	BES	m	1	August	2004	x	A
P3-208	2852	54,49	11,01	BES2	BES	m	7	September	2004	N	A
P3-210	20	54,68	10,00	BES2	BES	m	7	Oktober	1995	Y	SA
P3-220	1279	54,50	10,37	BES2	BES	f	30	November	1997	x	J
P3-222	1641	54,00	10,00	BES2	BES	m	x	Oktober	2000	x	J
P3-224	1749	54,80	9,77	BES2	BES	m	7	x	2001	N	J
P3-227	3029	54,47	9,96	BES2	BES	f	1	September	2004	W	J
P3-229	3092	54,42	11,55	BES2	BES	m	1	August	2005	N	x
P3-235	3133	54,77	9,82	BES2	BES	m	14	August	2005	x	A
P1-047	1248	54,45	12,53	IBS1	IBS	f	7	Juli	1998	N	SA

P2-112	S11	55,01	13,01	IBS1	IBS	m	27	Juli	1988	Y	1.2
P2-113	S12	55,01	13,01	IBS1	IBS	m	1	September	1988	Y	0.9
P2-120	S6	55,01	13,01	IBS1	IBS	m	7	Juli	1987	Y	2.1
P2-121	S10	55,01	13,01	IBS1	IBS	m	7	Mai	1988	Y	2.0
P3-173	98_053	54,83	12,15	IBS1	IBS	f	11	Oktober	1998	x	x
P1-076	S24	55,00	14,00	IBS2	IBS	f	24	Juni	1993	Y	x
P1-077	S25	55,00	14,00	IBS2	IBS	m	7	Juni	1993	Y	x
P1-079	S9	55,00	14,00	IBS2	IBS	f	18	Februar	1988	Y	1.9
P1-081	S3	55,00	14,00	IBS2	IBS	f	7	Mai	1986	Y	8
P1-084	S4	55,00	14,00	IBS2	IBS	f	1	Juli	1986	Y	1.3
P2-114	S14	55,00	14,00	IBS2	IBS	m	7	September	1989	Y	>3
P2-116	S18	56,00	15,00	IBS2	IBS	m	1	Oktober	1991	Y	1.7
P2-117	S21	55,00	14,00	IBS2	IBS	m	1	September	1994	Y	1.5
P2-118	S22	56,00	15,00	IBS2	IBS	f	27	Mai	1995	Y	<3
P2-119	S2	55,00	14,00	IBS2	IBS	f	18	Oktober	1985	Y	>3
P1-075	S20	56,00	16,00	IBS3	IBS	m	7	Januar	1994	Y	6
P1-080	S16	56,00	16,00	IBS3	IBS	f	7	Januar	1991	Y	4.0
P1-086	S5	56,00	16,00	IBS3	IBS	f	7	Juli	1986	Y	1.3
P2-129	S23	56,00	16,00	IBS3	IBS	f	7	Januar	1998	Y	SA
P1-037	Pol_58	54,50	19,27	IBS4	IBS	f	-	Januar	1998	Y	x

Alter: A adult, SA subadult, J juvenil; -, x, k.A: fehlende Daten; L: Länge; W: Masse

Appendix 2: 60 Proben mit 2518 ausgewerteten SNPs aus BES-IBS mit Zuordnung zu Subpopulationen (Beltsee vs. Innerbaltisch)

SampleID_SNP	SampleID_Orig	ST-all K=3	ST-Fem K=3	ST-Rep K=2	sPCA	Interpr.	sex	HT	Month	Year	Bycatch	Age
P1-038	C2005/05351	Beltsee	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic#	Beltsee	f	7	Juli	2007	Y	L: 122cm, W:28kg
P1-039	1700	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	7	April	x	x	x
P1-040	1481	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	7	Februar	2000	N	J
P1-041	98_033	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	August	1998	Y	x
P1-042	97_038	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	September	1997	Y	x
P1-043	98_046	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	September	1998	Y	x
P1-044	98_061	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	1	November	1998	Y	x
P1-045	98_047	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	1	September	1998	Y	x
P1-049	1927	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	August	2002	Y	x
P3-170	97_002	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	11	April	1997	Y	x
P3-171	98_014	InnerBaltic	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic#	Beltsee	f	7	April	1998	Y	x
P3-172	97_003	Beltsee	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic#	Beltsee	f	7	April	1997	Y	x
P3-174	98_062	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	7	Dezember	1998	Y	x
P1-032	6869	Beltsee			Beltsee	Beltsee	m	-	Oktober	2012	x	J
P1-033	6870	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	-	August	2012	x	J
P1-034	6871	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	-	August	2012	x	neonat
P1-036	6835	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	-	Oktober	2012	x	J
P1-046	18439	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	September	1994	Y	SA
P1-048	1747	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	1	August	2001	Y	J
P1-057	36	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	7	November	1995	Y	A
P1-058	159	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	7	April	1996	N	SA
P1-059	2526	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	-	March	2004	x	J
P1-060	2527	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	-	April	2004	x	A
P1-061	4013	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	-	August	2007	x	A
P1-066	22	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	September	1995	N	A
P1-068	3496	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	-	Juni	2006	x	A
P1-070	3787	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	1	Mai	2007	x	foetus
P3-169	6496	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	-	Oktober	2011	x	neonat
P3-204	1075	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	1	Juli	1998	Y	SA
P3-205	1127	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	7	Juli	1998	Y	SA

P3-207	2780	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	1	August	2004	x	A
P3-208	2852	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	7	September	2004	N	A
P3-210	20	Beltsee			Beltsee	Beltsee	m	7	Oktober	1995	Y	SA
P3-220	1279	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	30	November	1997	x	J
P3-222	1641	Beltsee			Beltsee	Beltsee	m	x	Oktober	2000	x	J
P3-224	1749	Beltsee			Beltsee	Beltsee	m	7	x	2001	N	J
P3-227	3029	Beltsee	InnerBaltic	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	1	September	2004	W	J
P3-229	3092	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	1	August	2005	N	x
P3-235	3133	Beltsee		Beltsee	Beltsee	Beltsee	m	14	August	2005	Nb	A

P1-047	1248	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	Beltsee	f	7	Juli	1998	N	SA
P2-112	S11	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	m	27	Juli	1988	Y	1.2
P2-113	S12	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	m	1	September	1988	Y	0.9
P2-120	S6	Beltsee		Beltsee	InnerBaltic	?	m	7	Juli	1987	Y	2.1
P2-121	S10	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	m	7	Mai	1988	Y	2.0
P3-173	98_053	Beltsee	Beltsee		Beltsee	Beltsee	f	11	Oktober	1998	x	x
P1-076	S24	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	f	24	Juni	1993	Y	x
P1-077	S25	Beltsee		Beltsee	InnerBaltic	?	m	7	Juni	1993	Y	x
P1-079	S9	Beltsee	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	f	18	Februar	1988	Y	1.9
P1-081	S3	Beltsee	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic	?	f	7	Mai	1986	Y	8
P1-084	S4	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	f	1	Juli	1986	Y	1.3
P2-114	S14	Beltsee		Beltsee	InnerBaltic	?	m	7	September	1989	Y	>3
P2-116	S18	Beltsee			InnerBaltic	InnerBaltic	m	1	Oktober	1991	Y	1.7
P2-117	S21	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	m	1	September	1994	Y	1.5
P2-118	S22	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	f	27	Mai	1995	Y	<3
P2-119	S2	Beltsee	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	f	18	Oktober	1985	Y	>3
P1-075	S20	Beltsee			InnerBaltic	InnerBaltic	m	7	Januar	1994	Y	6
P1-080	S16	Beltsee	Beltsee		InnerBaltic	?	f	7	Januar	1991	Y	4.0
P1-086	S5	Beltsee	Beltsee	InnerBaltic	InnerBaltic	InnerBaltic	f	7	Juli	1986	Y	1.3
P2-129	S23	Beltsee	Beltsee		InnerBaltic	InnerBaltic	f	7	Januar	1998	Y	SA
P1-037	Pol_58	InnerBaltic	InnerBaltic		InnerBaltic	InnerBaltic	f	-	Januar	1998	Y	x

ST=STRUCTURE; # geographisch und genetisch nahe zu Kattegat-Individuen; „?“ inkonsistente Subpopulationszuordnung zwischen STRUCTURE und sPCA