

Untersuchungen zur Auswirkung der Habitatfragmentierung auf *Coenagrion mercuriale* mit genetischen Methoden und GIS-Modellen

Von Holger Hunger¹, Theodor Benken² und Phill Watts³

¹INULA – Institut für Naturschutz und Landschaftsanalyse, Wilhelmstraße 8, D-79098 Freiburg, holger.hunger@inula.de

²Lindenstraße 86, D-77855 Achern, theodor@benken-online.net

³P.O. Box 35, FI-40014 University of Jyväskylä, phillip.c.watts@jyu.fi

Zusammenfassung

Es wurden genetische Untersuchungen mittels Microsatelliten-Analyse und GIS-Ausbreitungsmodelle für die Helm-Azurjungfer (*Coenagrion mercuriale*) in Baden-Württemberg durchgeführt und kombiniert.

Mikrosatelliten sind hochvariable nicht codierende Genombereiche, die wie Allele vererbt werden und daher für Populationsuntersuchungen eingesetzt werden können. Genomische DNA von 32 Vorkommen der Art wurde aus Beinproben von *C. mercuriale* isoliert und mittels der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) vervielfältigt. Es wurden 13 unverbundene Microsatelliten-Loci durch Einsatz von spezifischen Primern, die diese Microsatelliten-Regionen flankieren, nach einem Standardprotokoll synthetisiert. Diese Amplifikationsprodukte wurden dann mittels Kapillarelektrophorese nach der Länge separiert und diskreten „Allelen“ zugeordnet. Die Variabilität dieser DNA-Abschnitte an den untersuchten Vorkommen bildet die Grundlage

für die statistischen Auswertungen. Als Grad für die genetische Diversität im Untersuchungsgebiet wurde für die erwartete Heterozygotität (H_e) ein Bereich von 0,425 bis 0,591 ermittelt. Die Allelzahl pro Locus (N_a) schwankte zwischen 2,71 und 4,86. Die Werte innerhalb der Kernzone (Patch 2) waren dabei relativ konstant ($H_e=0,482-0,541$; $N_a=4,0-4,8$), dagegen wurden in den isolierteren Patches größere Schwankungen gemessen. Für einen „Genetischen Flaschenhals“ gab es keine deutlichen Hinweise. Die genetische Differenzierung (berechnet als $F_{ST}/(1-F_{ST})$) ist im Untersuchungsgebiet insgesamt gering, steigt aber mit der Entfernung an (Isolation by Distance; IBD). Für Populationen mit weniger als fünf km Entfernung wurden Werte von 0,002 bis 0,071 ermittelt, über 20 km lagen die Werte zwischen 0,006 und 0,205. Mit Hilfe des MCMC-Algorithmus wurde der Anteil von Migranten abgeschätzt. Auf Basis der genetischen Untersuchungen wurde der Genfluss zwischen den Populationen errechnet und potentielle Migrationsrouten beschrieben.

Ausbreitungsmodellierungen wurden mit der CostDistance-Erweiterung von ArcView Spatial Analyst für ein 54,2 km² großes Untersuchungsgebiet in der Freiburger Bucht durchgeführt, innerhalb dessen sich neun Probestellen für die genetischen Untersuchungen befanden. Zunächst wurden die euklidischen Distanzen berechnet. Dann wurden für das Untersuchungsgebiet drei Kostenoberflächen erstellt: eine „historische Landnutzung“ auf Grundlage einer Karte aus der Mitte des 19. Jahrhunderts, eine „generalisierte rezente Landnutzung“ auf Grundlage der auf den Maßstab der historischen Karte generalisierten ATKIS-Landnutzungsdaten sowie eine inhaltlich

höher aufgelöste „rezente Landnutzung“. In alle drei Kostenoberflächen wurde außerdem das Geländere relief eingerechnet. Die ermittelten euklidischen Distanzen bzw. Kostendistanzen zwischen den Vorkommen wurden anschließend mit dem Internet-Analyse-Werkzeug IBDWS (Isolation by Distance Web Service) mit den genetischen Distanzen verglichen. Die Korrelation zwischen den genetischen Distanzen einerseits und den euklidischen Distanzen bzw. unterschiedlichen Kostendistanzen andererseits stieg in der obigen Reihenfolge an; nur die höher aufgelöste rezente Landnutzung erreichte hierbei das 5%-Signifikanzniveau.

Abstract

Studies on the impact of habitat fragmentation on *Coenagrion mercuriale* using genetic methods by microsatellite analysis and GIS models in Baden-Württemberg – Microsatellites are highly variable non-coding genomic regions that are inherited like alleles and therefore can be used for population studies. Genomic DNA, taken from 32 occurrences of the species, was isolated from leg samples of *C. mercuriale* and amplified by the polymerase chain reaction (PCR). Thirteen microsatellite loci were synthesized by use of specific primers flanking these microsatellite regions according to a standard protocol. These amplification products were separated by length by capillary electrophoresis and assigned to discrete „alleles“. The variability of these DNA sections at the investigated occurrences forms the basis for the statistical evaluations. A range from 0.425 to 0.591 was determined for the expected heterozygosity (H_e) as a degree for genetic diversity in the study area. The allele number per

locus (N_a) fluctuated between 2.71 and 4.86. The values within the core zone (patch 2) were relatively constant ($H_e = 0.482-0.541$; $N_a = 4.0-4.8$), whereas larger fluctuations were measured in the isolated patches. There was no clear evidence of a bottleneck. The genetic differentiation (calculated as $F_{ST}/1-F_{ST}$) is small overall in the study area but increases with distance (isolation by distance; IBD). Values from 0.002 to 0.071 were determined for populations less than five km, and values between 0.006 and 0.205 over 20 km apart. The proportion of migrants was estimated using the MCMC algorithm. Based on the genetic studies, the gene flow between the populations was calculated and potential migration routes were described.

Dispersal models supplied by the Cost-Distance extension in ArcView Spatial Analyst were calculated for a 54.2 km² area in the „Freiburger Bucht“, comprising nine genetics sampling sites. First, Euclidean distances were calculated. Following this, three cost matrices were created für the study area: „historic land use“ – based on a historic map from the 1850s – „generalised recent land use“ – based on ATKIS land use data scaled down to the historic land use map – and „recent land use“, a more sophisticated model. All three models were combined with topographic surface data. The „Isolation by Distance Web Service“ was then used to quantify the level of correlation between genetic distances and Euclidean respectively cost distances. The level of correlation rose in the order given above, with only the „recent land use“ cost matrix yielding cost distances that were correlated with genetic distances on a significant level.

1 Einleitung

Bei diesem für *Mercuriale* sowohl in Bezug auf den Umfang als auch den Inhalt ungewöhnlichen Beitrag handelt es sich um den überarbeiteten Endbericht eines Forschungsprojekts, das durch die Stiftung Naturschutz Baden-Württemberg gefördert wurde. Das Projekt lief von 2010 bis 2013. Es wurde von Holger Hunger (INULA) initiiert und war eine Kooperation mit der damals an der University of Liverpool sehr aktiven, inzwischen jedoch aufgelösten „Helm-Azurjungfer-Forschungsgruppe“ um Dave Thompson und Phill Watts, die wegweisende genetische Untersuchungsmethoden für *Coenagrion mercuriale* entwickelten und etablierten. Ein Hauptziel war es, GIS-Methoden und genetische Methoden zu kombinieren, um den Zusammenhang zwischen genetischen Mustern und der räumlichen Konfiguration der *C. mercuriale*-Vorkommen besser zu verstehen. Es war beabsichtigt, die Ergebnisse anschließend in zwei englischsprachigen Fachbeiträgen der internationalen Wissenschaftlergemeinschaft zugänglich zu machen. Aus verschiedenen Gründen konnte dieser Plan nicht umgesetzt werden. Damit die Ergebnisse nun zumindest im deutschsprachigen Raum zugänglich sind, haben Holger Hunger und Theodor Benken entschieden, die Ergebnisse für *Mercuriale* aufzubereiten. Phill Watts als Hauptbearbeiter der genetischen Analysen ist der dritte Autor.

1.1 Ausgangssituation und Stand der Forschung

Die Helm-Azurjungfer (*Coenagrion mercuriale*) ist eine der am stärksten gefährdeten Libellenarten Europas. Großangelegte

Fang-Wiederfang-Studien der Art in Baden-Württemberg (HUNGER & RÖSKE 2001), Norddeutschland (BUCHWALD 2009) und Großbritannien (PURSE et al. 2003, WATTS et al. 2004) haben übereinstimmend gezeigt, dass die Flugstrecke, die ein Individuum während seiner gesamten Lebensspanne zurücklegt, selten 2 km übersteigt und im typischen Fall unter 100 m liegt. Im Rahmen ihrer Dissertation führte KASTNER (2018) sehr arbeitsintensive Fang-Wiederfang-Versuche durch, die neue Erkenntnisse brachten. Über mehrere Jahre hinweg wurden insgesamt 14.122 Individuen markiert, von denen 4.445 Individuen (31,5%) wiedergefangen wurden. Davon waren 1.024 (23,0%) quasi sessil (0-25 m Strecke), 2.496 (56,2%) wanderten geringe Distanzen (25-100 m), und für 874 Individuen (19,7%) wurden weitere Distanzen von 101-1.000 m nachgewiesen. 51 Individuen (1,1%) wanderten mehr als einen km und insgesamt 14 Individuen legten mehr als 5 km an 1 bis 10 Tagen (573 m/Tag bis 5.441 m/Tag) zurück. Die nachgewiesene maximale Wanderdistanz eines Männchens lag bei 6.618 m (euklidische Distanz) bzw. 8.302 m (Wanderung entlang von Gräben und Bächen), die eines Weibchens bei 5.732 m (euklidische Distanz) bzw. 7.342 m (Wanderung entlang von Gräben und Bächen).

Dieses stark konservative Mobilitätsverhalten führt dazu, dass die in ihren Lebensraumsansprüchen hochspezialisierte Art außerordentlich empfindlich gegenüber Habitat-Verschlechterungen und Fragmentierung und dadurch einem erhöhten Aussterberisiko ausgesetzt ist. So ist die Art in Baden-Württemberg im Naturraum "Alpenvorland" vom Aussterben bedroht (HUNGER & SCHIEL 2006). *C. mercuriale* ist zugleich eine der am intensivsten untersuchten

Libellenarten in Europa (z.B. BUCHWALD 1989, BUCHWALD et al. 1989, PURSE 2001, HUNGER 2002, 2004, KELLER et al. 2012) KASTNER 2018., In den 2000er Jahren haben grundlegende Studien molekulare Beweise für kleinskalige „Isolation-durch-Distanz“ (small-scale isolation by distance, IBD) bei *C. mercuriale* erbracht (WATTS et al. 2004c) und Einblicke in den Einfluss regionaler und lokaler Habitatisolation auf den Grad der genetischen Diversität bei der Art gegeben (WATTS et al. 2006). Die Labormethoden sind komplett ausgereift. Die DNA wird aus einem Bein extrahiert, das den Tieren entnommen werden kann, ohne dass ihre Fitness dadurch messbar beeinflusst wird (WATTS et al. 2004a, b). *Coenagrion mercuriale* ist damit ein idealer Modellorganismus für naturschutzorientierte Untersuchungen zum Einfluss der bereits bestehenden und fortschreitenden Fragmentierung unserer Kulturlandschaft auf hochspezialisierte und wenig ausbreitungsfreudige Insektenarten. Diese Fragmentierung war in Baden-Württemberg bereits zur Jahrtausendwende (z.B. JAEGER 2001, JAEGER et al. 2001) deutlich stärker fortgeschritten als zuvor angenommen. Darüber hinaus ist *C. mercuriale* als Anhang II-Art der FFH-Richtlinie und nach Bundesartenschutzverordnung und Bundesnaturschutzgesetz streng geschützte Art von hoher Bedeutung für den angewandten Naturschutz. In Deutschland werden *C. mercuriale*-Vorkommen immer wieder durch menschliche Aktivitäten beeinträchtigt, weshalb die Art in ihrem Verbreitungsgebiet regelmäßig Bestandteil von Umweltverträglichkeitsprüfungen und FFH-Erheblichkeits- und Verträglichkeits-Untersuchungen ist. In diesem Zusammenhang ist die Frage relevant, ob

sich der Einfluss von neuen Straßen, Siedlungen, Lärmschutzwänden etc. auf die Populationen quantifizieren lässt und wie der Einfluss minimiert werden kann. Weil Untersuchungen hierzu bisher fehlten, konnten noch keine konkreten Aussagen darüber getroffen werden.

1.2 Bestandssituation von *C. mercuriale* in Baden-Württemberg

In Baden-Württemberg erstreckt sich das Kernareal in der Oberrheinebene von Rastatt im Norden bis Heitersheim im Süden. Die nördlichsten Vorkommen bei Graben-Neudorf liegen in räumlicher Distanz von dieser großen vermuteten Metapopulation, ebenso wie jene südlich von Bad Krozingen sowie Gruppen von Populationen am Kaiserstuhl und in den Schwarzwaldtälern Kinzigtal, Elztal und Tennenbacher Tal. Zwei Vorkommen am Hochrhein und eines im südlichsten Ausläufer des Hochschwarzwalds bei Enkenstein sind noch abgelegener. Fast alle Vorkommen im Naturraum „Hegau“ (westlich des Bodensees) und im Naturraum „Bodenseebecken“ sind sehr klein und vom Erlöschen bedroht (HUNGER 2004, HUNGER & SCHIEL 2006, HUNGER et al. 2006). Vor wenigen Jahren – erst nach Durchführung der hier vorgestellten Untersuchungen – wurden wenige weitere isolierte Vorkommen bei Tübingen entdeckt. Die Körpergröße der Tiere in einer kleinen, isolierten Population im abgelegenen „Quellmoor Ruzenweiler“ ist signifikant kleiner als diejenige „normaler“ *C. mercuriale*-Individuen, was ein Hinweis auf genetische Unterschiede sein könnte, wofür auch KIAUTA & KIAUTA (1988) bei einer kleinen *C. mercuriale*-Population in Liechtenstein Belege fanden. In Südengland war der Grad an genetischer

Variabilität (von Mikrosatelliten-Loci) bei einer *C. mercuriale*-Population an einer isolierten Stelle am Arealrand so niedrig wie bei kaum einer anderen bis dahin untersuchten Insektenart (WATTS et al. 2006).

2 Methoden

2.1 Untersuchungen auf genetischem Niveau

In Baden-Württemberg existiert eine weite Spanne unterschiedlich großer und unterschiedlich stark räumlich separierter Einzelpopulationen von *Coenagrion mercuriale*, die von individuenreichen Vorkommen, die Teile einer großen Metapopulation sind, bis hin zu komplett separierten Vorkommen, die nur aus wenigen Individuen bestehen, reicht. Dies erlaubt eine gründliche Untersuchung der genetischen Diversität auf unterschiedlichen Separationsstufen.

2.1.1 Probenahme im Gelände

Im Jahr 2010 wurde an 35 Probestellen Genmaterial von je 50 Individuen gewonnen. Darüber hinaus wurden an mehreren Gewässern, die von der Autobahn BAB 5 oder der Rheintalbahntrasse geschnitten werden, auf jeweils beiden Trassenseiten 50 Proben genommen. So konnte erstens analysiert werden, ob sich diese Barrieren bereits heute auf genetischer Ebene auswirken, zweitens können die erhobenen Daten zu einem späteren Zeitpunkt – etwa nach Verbreiterung der BAB5 oder nach Bau des dritten und vierten Gleises der Rheintalbahn – als Referenz dienen, um zu einem späteren Zeitpunkt möglicherweise verschärfte Auswirkungen dieser künstlichen Barrieren erkennen zu kön-

nen. Kleine Populationen mussten mehrfach aufgesucht werden, um ausreichend viele Individuen für die Entnahme eines Beins zu fangen. Bei einigen sehr kleinen Vorkommen war dieses allerdings nicht möglich, so konnten z.B. am Quellmoor Ruzenweiler (31RUZE) bei vier Begehungen insgesamt nur Beine von 18 Individuen gesammelt werden. Insgesamt wurden an 35 Vorkommen DNA-Proben von 1.695 *C. mercuriale* Individuen genommen. Jede Probe wurde individuell in Alkohol eingelagert und beschriftet. Hierbei wurden Datum der Probennahme, Lokalität und Geschlecht notiert. Auf Anregung von David Thompson (University of Liverpool) wurde außerdem bei den beprobten Weibchen darauf geachtet, ob diese die normale oder die seltenere andromorphe (männchenfarbene) Färbung aufwiesen, da D. Thompson einen Zusammenhang zwischen Größe und Isolationsgrad der Populationen und der Frequenz der andromorphen Farbmorphe für möglich hält (Auswertungen hierzu fanden allerdings bisher nicht statt). Darüber hinaus wurden an 58 weiteren Stellen Beine von wenigen (1-7) Individuen – insgesamt 232 Proben – für künftige Untersuchungen gesammelt. Diese Stellen sind in Tab. 1 nicht aufgelistet; ihre räumliche Verteilung ist jedoch in Abb. 1 dargestellt. Insgesamt liegen somit 1.927 individuelle Proben von *C. mercuriale* aus dem Untersuchungsgebiet vor, von denen 834 Proben aus 32 der untersuchten Vorkommen ausgewertet sind.

Tabelle 1 enthält die Liste der 32 Vorkommen, von denen jeweils zwischen 16 und 32 Individuen im Labor bearbeitet wurden (insgesamt 834 Individuen). Die noch verbliebenen Proben stehen für zukünftige Auswertungen zur Verfügung; sie werden derzeit an der University of Liverpool aufbewahrt. Die Probestellen sind fünf

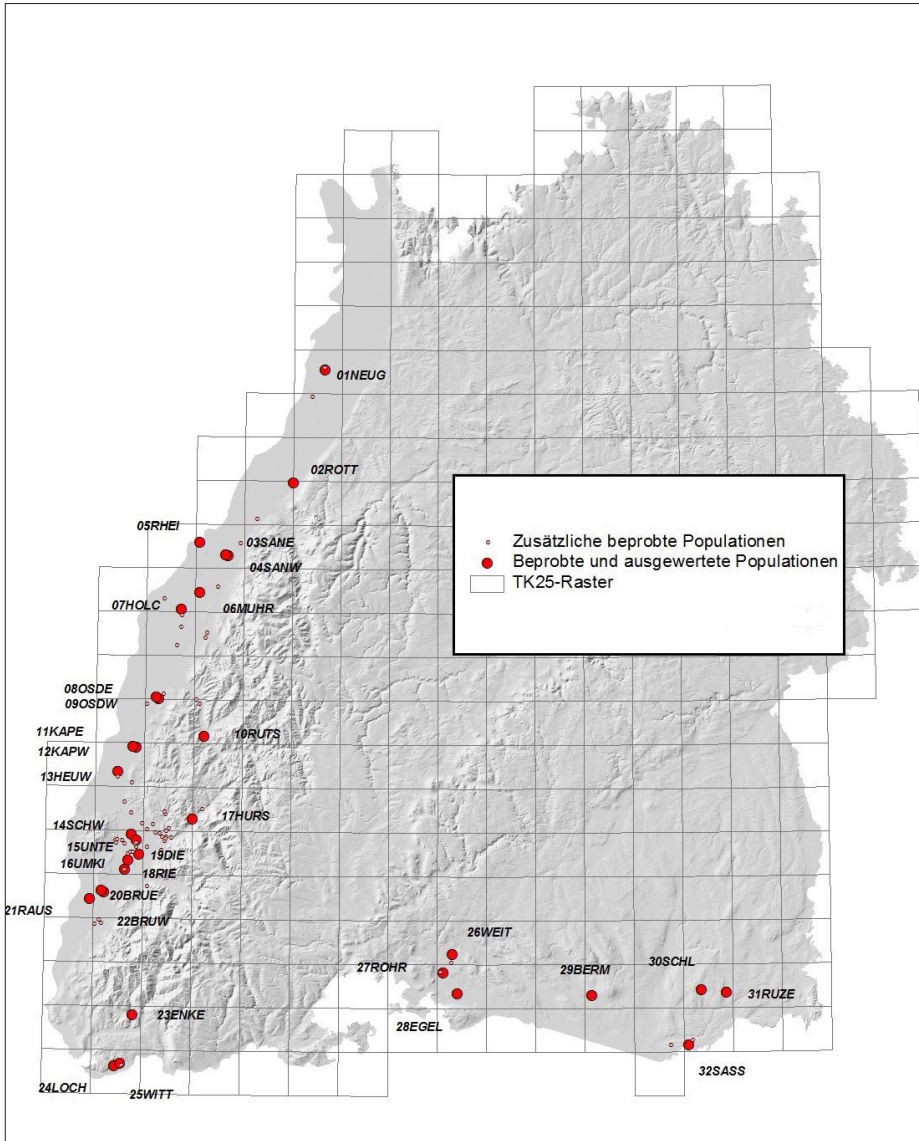


Abb. 1: Übersicht über die Populationen, an denen Genmaterial von *C. mercuriale* gewonnen wurde. Die für die Auswertungen berücksichtigten Vorkommen sind mit Codenummern beschriftet. Von den weiteren 58 Vorkommen, an denen Genproben entnommen wurden, die jedoch bisher nicht ausgewertet wurden, ist lediglich die Lage mit einem kleinen Punktsymbol markiert.

Tab. 1: Liste der 32 C. mercuriale-Vorkommen, an denen DNA-Proben gesammelt und analysiert wurden. Weitere 58 Vorkommen, an denen zusätzlich DNA von weniger Individuen gesammelt wurde, sind nicht enthalten. n=Anzahl der Proben, R=Rechtswert, H=Hochwert (Gauß-Krüger); Patch = Zuordnung zu geographischen Zentren

Labor-kürzel	Geländekürzel und Bezeichnung	n	R	H	Patch
01NEUG	NEUG (6816-030.1 - "Neugraben" im NSG "Oberbruchwiesen")	50	3459223	5446406	1
02ROTT	ROTT (Wiesengraben in den "Rottwiesen" N Malsch)	50	3451198	5417844	1
03SANE	SANE (7214-037.2 - Sandbach bei Vimbuch (Überlaufkanal))	50	3434682	5399321	2
04SANW	SANW (7214-037.4 - Sandbach-Flutkanal W A5)	50	3433944	5399551	2
05RHEI	RHEI (Rheinniederungskanal zw. Greffern und Dow Chemicals)	50	3427440	5402669	2
06MUHR	MUHR (7314-006 - Muhrgraben in den Ochsenmatten S Gamshurst)	50	3427379	5390060	2
07HOLC	HOLC (Holchenbach Renaturierungsstrecke)	50	3422719	5385754	2
08OSDE	OSDE (7513-026.1 - Oberschopfheimer Dorfbach östl. Bahn)	50	3417118	5363170	2
09OSDW	OSDW (7513-026.2 - Oberschopfheimer Dorfbach westl. Bahn)	50	3416385	5363545	2
10RUTS	WIES (7614-025.2 - Wiesengraben nördl. Lachen II/Rutschraingraben)	39	3428463	5353667	2
11KAPE	KAPE (7712-033.2 - Kapuzinergraben östl. Bahn)	50	3411304	5350822	2
12KAPW	KAPW (7712-033.3 - Kapuzinergraben westl. Bahn)	50	3410596	5351067	2
13HEUW	HEUW (7712-112.2 - Heuweggraben Elzwiesen)	50	3406624	5344685	2
14SCHW	SCHW (7912-031.2 - Schwabbach zw. Unterreute und Bottingen)	50	3410024	5328961	2
15UNTE	UNTE (7912-034.1 - Wiesenbach Unterreute)	50	3411350	5327415	2
16UMKI	UMKI (7912-054.1 - Riedgraben SE Umkirch)	50	3409358	5322205	2
17HURS	HURS (Wiesengraben im Gewinn "Hurstmatt" W Bleibach)	50	3425534	5332678	2
18RIES	RIES (7912-105 - Graben im Rieselfeld)	50	3408426	5319886	2
19DIER	DIER (7912-069.1 - Ettengraben Dierloch)	50	3412089	5323798	2
20BRUE	BRUE (8012-011.2 - Brunnengraben östl. A5)	50	3403042	5314333	2
21RAUS	RAUS (8011-025.3 - Rausgraben-Seltenbach in den Neumatten W Straße)	50	3399541	5312539	2
22BRUW	BRUW (8012-011.3 - Brunnengraben westl. A5)	50	3402598	5314612	2
23ENKE	ENKE (8312-017.1 - Großmatte-Gräben SW Enkenstein)	50	3410336	5283069	3
24LOCH	LOCH (8412-009 - Lochbrunnengraben zw. Degerfelden u Hertzen)	50	3405768	5270259	3
25WITT	WITT (8412-008 - Bach im Gewinn "Wittmatt" W Nollingen)	50	3407115	5270843	3
26WEIT	WEIT (8119-007 - Weitenriedgraben)	50	3491452	5298418	4
27ROHR	ROHR (8219-051 - Rohrwiesengraben N Singen)	50	3489070	5293654	4
28EGEL	EGEL (Östlicher Parzellengraben am Egelbach S Überlingen)	50	3492753	5288378	4
29BERM	BERM (8222-035 - Schwarzriedgraben Bermatingen)	50	3526822	5287893	5
30SCHL	SCHL (8224-037 - Quellmoor bei der Schleife)	42	3554497	5289449	5
31RUZE	RUZE (8224-093 - Quellmoor Ruzenweiler)	18	3560791	5288805	5
32SASS	SASS (Bach W Saßenweiler)	50	3551432	5275455	5

verschiedenen „Patches“ zugeordnet.

2.1.2 Laboruntersuchungen und statistische Auswertungen

Die Forschungsgruppe an der University of Liverpool hat eine optimierte Vorgehensweise für die Untersuchung von 14 unverbundenen Mikrosatelliten-Loci für *C. mercuriale* entwickelt (WATTS et al. 2004a, b, c), auf die aufgebaut werden konnte. Mikrosatelliten bestehen aus sich wiederholenden einfachen Basenfolgen etwa $(CA)_n$, hier also CACACACA... Flankiert werden die Mikrosatelliten von spezifischen DNA-Sequenzen, für die passende Primer für eine Replikation synthetisiert werden können. Die Anzahl dieser Wiederholungen (n) ist hoch variabel und führt im Ergebnis dazu, dass sich die Mikrosatelliten in der Länge unterscheiden. Die Unterschiede in der Länge beruhen dabei auf der Anzahl der Wiederholungen des Grundmotivs. Da Mikrosatelliten wie Allele auf die nächste Generation vererbt werden, können sie für populationsbiologische Untersuchungen eingesetzt werden. Die DNA wurde aus einem Bein gewonnen und für die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden jeweils 5-20 ng DNA eingesetzt. Die Amplifikation unter Einsatz von 0,25 U Tag-Polymerase und je 2 pmol der spezifischen Primer erfolgte nach WATTS et al. (2004a). Dabei wurden 13 unverbundene Mikrosatelliten-Loci (LIST002, LIST023, LIST034, LIST035, LIST037, LIST042, LIST062, LIST024, LIST031, LIST060, LIST063, LIST066 und LIST067) untersucht. Die amplifizierten Mikrosatelliten wurden durch Kapillar-Elektrophorese nach Länge separiert und entsprechenden Allelen zugeordnet. Insgesamt wurden 834 Individuen aus 32 Populationen untersucht.

Bei der Verteilung der Allele wurde für die 13 Loci paarweise für alle 32 Populationen überprüft, ob jeweils eine Kopplung der Allele vorliegt. Dazu wurde eine „linkage disequilibrium“-Analyse mit dem Programm „Genepop“ (genepop.curtin.edu.au) durchgeführt. Das Programm „F_{stat} v.2.9.3“ (GOUDET 1995) wurde verwendet, um die genetische Diversität aufgrund der Parameter „erwartete Heterozygotität“ (H_e), „Anzahl der Allele“ (N_a) und „Allel-Vielfalt“ (A_R) für jeden Locus und jede Population zu beschreiben. Ein in F_{stat} implementierter Permutationstest wurde eingesetzt, um zu klären, ob sich Unterschiede in der genetischen Diversität zwischen Gruppen von geografisch zusammenhängenden Populationen („Patches“) nachweisen lassen.

Ein „Bottleneck“ (Genetischer Flaschenhals) hinterlässt typischerweise einen Überschuss an Heterozygoten im Vergleich zu dem Zustand, der bei einem genetischen Gleichgewicht auftreten würde (CORNUET & LUIKART 1996, LUIKART & CORNUET 1998). Die Software BOTTLENECK v.1.2.02 (PIRY et al. 1999) wurde verwendet, um eine erwartete Verteilung der Heterozygotie (H_e) aus der allelischen Vielfalt jeder Probe zu berechnen. Dies erfolgte unter Annahme von Mutationsdrift-Gleichgewicht für drei verschiedene Modelle der allelischen Mutation: „infinite allele model“ (IAM), „stepwise mutation model“ (SMM) und „two-phase model“ (TPM). Sowohl der Wilcoxon-Signed-Rank-Test als auch der Signed-Test wurden verwendet, um zu beurteilen, ob das beobachtete H_e signifikant höher ist als das im Gleichgewicht erwartete, wobei der letztere Test empfindlicher auf die Anzahl der verwendeten Loci reagiert (CORNUET & LUIKART 1996).

Die genetische Differenzierung zwischen Probenpaaren wurde auch als F_{ST} -Wert berechnet (WEIR & COCKERHAM 1984). Es wird erwartet, dass die genetische Differenzierung bei Isolierung mit der Entfernung zunimmt (ROUSSET 1997). Der Grad einer „Isolation by Distance“ (IBD; Isolation über die Entfernung) wurde durch Regression der Schätzungen der genetischen Differenzierung zwischen Probenpaaren, definiert durch $F_{ST}/(1-F_{ST})$, gegen den entsprechenden natürlichen Logarithmus von Abständen zwischen den Probenpaaren untersucht (ROUSSET 1997). Die Werte für $F_{ST}/(1-F_{ST})$ wurden unter Verwendung von SPAGeDi v.1.2 (HARDY & VEKEMANS 2002) berechnet, wobei die Signifikanz einer Korrelation zwischen genetischer Differenzierung und geografischer Entfernung durch ein Permutationsverfahren (1.000 Permutationen) bewertet wurde.

Um eine räumliche genetische Struktur ohne vordefinierte Unterteilungen abzuleiten, verwendeten wir den Bayes'schen Modell-basierten Clustering-Ansatz von STRUCTURE v.2.3.1 (PRITCHARD et al. 2000, PRITCHARD & WEN 2003), um gleichzeitig Cluster (Populationen) zu identifizieren und diesen Populationen Individuen zuzuordnen.

Die Software BAYESASS v.1.3 wurde verwendet, um eine Schätzung der Größe des Genflusses zwischen Populationen zu erhalten. BAYESASS verwendet den Monte-Carlo-Markov-Chain-Algorithmus (MCMC), um die posteriore Wahrscheinlichkeitsverteilung des Anteils der Migranten (M) von einer Population zur anderen abzuschätzen.

2.2 GIS-Ausbreitungsmodellierung

Wenn es um das langfristige Aussterberisiko kleiner, unauffälliger Arten wie *C. mercuriale* geht, erstreckt sich die zur Verfügung stehende verlässliche faunistische Datenbasis meist nicht weiter als zwei bis drei Jahrzehnte in die Vergangenheit. Das bedeutet, dass der Rückgang, den *C. mercuriale* in den letzten 100 bis 150 Jahren erlitten hat, ebenso wie dessen negative Auswirkungen auf genetischem Niveau, nur sehr grob abgeschätzt werden können. Aussagen über den langfristigen Bestandstrend (letzte 100 bis 150 Jahre) werden z. B. im Kritisensystem des Bundesamts für Naturschutz für die Erstellung Roter Listen benötigt (LUDWIG et al. 2005). Historische Karten liefern raumbezogene Informationen zu früheren Zuständen der Landschaft. Diese könnten die Ursache räumlicher genetischer Muster sein, die zur aktuellen Habitatsituation und Landschaftskonfiguration nicht „passen“. Um diese Hypothese zu testen, wurden zunächst verschiedene historische Karten auf ihre Nutzbarkeit für die genannte Aufgabenstellung hin überprüft. Historische Kartenwerke sind u.a. beim Landesvermessungsamt Baden-Württemberg erhältlich. Zu nennen sind hier insbesondere die Schmittsche Karte von Südwestdeutschland von 1797, der Topographische Atlas über das Großherzogtum Baden von 1838 bis 1849, historische Flurkarten und alte Gemarkungsübersichten sowie Sammelwerke wie der von 1972 bis 1988 herausgegebene „Historische Atlas von Baden-Württemberg“.

Die seitens des ITZ an der LUBW freundlicherweise bereitgestellten, gescannten und georeferenzierten „Rhein-

Tab. 2: Kostenzahlen der drei verglichenen Kostenoberflächen im Untersuchungsgebiet um Freiburg. Die mit * markierten Landnutzungstypen bestanden bei HUNGER (2004) aus mehreren Subtypen, die für die generalisierte rezente Landschaft aggregiert wurden.

Landnutzungstyp	Kostenzahlen der Kostenoberfläche aus HUNGER (2004)	Kostenzahlen generalisierte rezente Landschaft	Kostenzahlen historische Landschaft	Bemerkungen
Siedlungen	89*	89	78	
Straßen (Autobahnen und Bundesstraßen) und Bahnlinien	Autobahn: 100 Bundesstraße: 78 weitere Typen*	100	-	2012: Autobahn: 30 m Bundesstraße: 20 m, Rheintalbahn: 20 m, kleinere Bahnstrecken: 10 m Pufferung
Ackerland	45	45	34	
Grünland	23	23	12	
Wald	89*	89	89	
Rebland	67	67	67	
Obstbaumplantage	56	56	-	
Stillgewässer	100	100		
Fließgewässer	versch. Typen*	78	78	nur größere Fließgewässer beinhaltet

gränzkarten“ erwiesen sich leider als für die Fragestellung ungeeignet, da hauptsächlich der Auenbereich im engeren Sinne enthalten ist und die für *C. mercuriale* wichtigen Bereiche der Niederterrasse meist nur angeschnitten sind. Durch weitere Recherchen wurde ermittelt, dass im Rahmen eines Projekts der Bibliotheken der EUCOR-Konföderation und des Generallandesarchivs Karlsruhe historische Kartenbestände des Oberrheins digitalisiert wurden. Darunter befand sich auch der „Topographische Atlas ueber das Grossherzogtum Baden“ (1838-1849), der bei der Universitätsbibliothek Freiburg erworben wurde. Die relevanten Blätter wurden anschließend mit ArcGIS georeferenziert. Der Atlas ist auch

beim Landesvermessungsamt Baden-Württemberg erhältlich, kann dort jedoch nur in einem Viewer betrachtet und nicht in die eigene GIS-Umgebung geladen werden. Zudem sind die dort verwendeten Kartenscans zwar vermutlich besser georeferenziert und durch Nachbearbeitung sauberer (etwa frei von Stockflecken etc.), die Scans der Universitätsbibliothek Freiburg waren jedoch deutlich kontrastreicher und für die insbesondere im mit Reliefsignaturen versehenen Gelände oft schwierige Interpretation der Signaturen deutlich besser geeignet. Es wurde ein insgesamt 540,2 km² großes Untersuchungsgebiet um Freiburg ausgewählt, weil sich hier viele Haupt-Probstellen sowie, für mög-

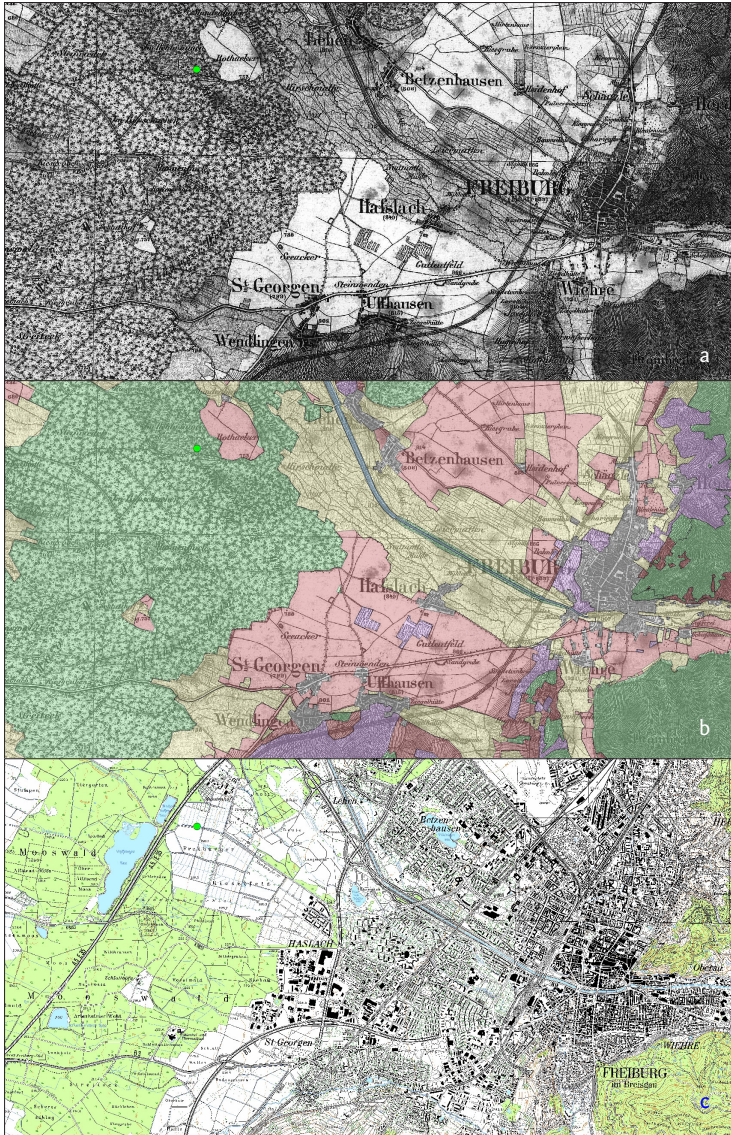


Abb. 2: Umgebung von Freiburg. **a:** im „Topographischen Atlas ueber das Grossherzogtum Baden“ (1838-1849). **b:** Umsetzung der historischen Karte in Polygone (grün: Wald, lila: Rebland, gelb: Wiesen, braun: Acker, grau: Siedlung). **c:** Digitalisierung der historischen Karte und Vergleich mit einer nicht mehr ganz aktuellen (so fehlt noch ein Großteil des neuen Stadtteils Rieselfeld) TK25 am Beispiel eines Ausschnitts des Untersuchungsgebiets.

liche weitere spätere Auswertungen, Neben-Probestellen befinden. Außerdem haben hier besonders deutliche Änderungen der Landnutzung stattgefunden, sodass hier am ehesten mit nachweisbaren signifikanten Veränderungen der Durchwanderbarkeit der Landschaft für *C. mercuriale* zu rechnen war. Abbildung 2 zeigt an einem Ausschnitt des Untersuchungsgebiets exemplarisch die Umsetzung der georeferenzierten historischen Karte in ein flächendeckendes PolygonLayer, das für die weiteren Arbeitsschritte verwendet wurde. Aus dem Polygon-Shape wurde mit ArcView 3.2a/SpatialAnalyst ein Grid erzeugt, in dem die Landnutzungstypen gemäß Tab. 2 in Kostenzahlen übersetzt wurden. Die genannte Tabelle zeigt auch die Kostenzahlen der vorliegenden Landnutzungs-Kostenoberfläche aus HUNGER (2004), sowie diejenigen, die einer generalisierten, an den Maßstab der historischen Karte angepassten und aus denselben ATKIS-Daten wie bei HUNGER (l.c.) erzeugten Landnutzungskarte zugewiesen wurden. Alle Landnutzungs-Kostenoberflächen wurden außerdem per MaPCalculator mit einem Neigungsstufen-Grid überlagert, indem die Landnutzungskosten-Zahlen mit der von 1,0 (eben) bis 2,0 (stark geneigt) reichenden Neigungsstufen-Kostenoberfläche multipliziert wurden (vergl. HUNGER 2004).

Die erhaltenen Gesamtkostenoberflächen wurden verwendet, um für die neun im Untersuchungsgebiet liegenden Haupt-Probestellen mittel der ArcView 3-Extension PATHMATRIX (RAY 2005) die least cost paths (die in Bezug auf die Kostenoberfläche günstigsten „Flugrouten“) sowie die euklidischen Distanzen (Luftlinie), die Kostendistanzen

und die Distanzen entlang der least cost paths für alle Populationspaare zu ermitteln. Die ermittelten Werte wurden zusammen mit den an der University of Liverpool für die Populations-Paare im gesamten Untersuchungsgebiet ermittelten F_{ST} -Werten in Textdateien eingegeben. In dieser Form konnten die Werte mit dem Isolation by Distance Web Service IBDWS (URL: <http://ibdws.sdsu.edu/~ibdws/>) weiterverarbeitet werden, um die Zusammenhänge bzw. Abweichungen zwischen den „genetischen Distanzen“, den euklidischen und den Kostendistanzen, die auf den unterschiedlichen Gesamtkostenmatrizes erzeugt wurden, zu analysieren. Hierbei wurden 30.000 Randomisierungen durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Genetische Untersuchungen

Die wichtigsten Ergebnisse der genetischen Untersuchungen sind hier in Kürze zusammengefasst.

3.1.1 Genetische Diversität

Nur drei Vorkommen (20BRUE, 08OSDE und 26WEIT) zeigten Hinweise auf „linkage disequilibrium“; dieser Effekt war jedoch schwach, sodass angenommen werden konnte, dass alle 13 untersuchten Loci unabhängig voneinander vererbt werden und somit für die folgenden populationsgenetischen Analysen herangezogen werden konnten. Der Grad der genetischen Diversität (mit dem Maß der erwarteten Heterozygotität H_e) schwankte zwischen einem maximalen Durchschnitt von $H_e=0,591$

im Schwarzriedgraben Bermatingen (29BERM) und einem Minimum von $H_e=0,425$ im Lochbrunnengraben zwischen Degerfelden und Hertzen (24LOCH). In ähnlicher Weise schwankte die Allelzahl pro Locus (N_a) deutlich zwischen einem Maximum bei 4,86 im Rohrwiesengraben N Singen (27ROHR) und einem Minimum bei 2,71 im Großmatte-Graben bei Enkenstein (23ENKE) (Tab. 3). Es gibt allerdings kein konsistentes Muster hoher oder niedriger genetischer Diversität, das mit einer bestimmten Region assoziiert werden könnte. Stattdessen trat die Variation zwischen den Vorkommen lokal auf (Abb. 3). Während die meisten Populationen innerhalb der „Kernzone“ (Patch 2) weitgehend ähnliche und durchschnittliche Niveaus der genetischen Diversität aufweisen (d.h. $H_e=0,482-0,541$; $N_a=4,0-4,8$), gab es in den isolierter gelegenen Patches 1, 3, 4 und 5 sowohl Populationen mit hohen als auch solche mit niedrigen Niveaus der genetischen Diversität (siehe z.B. in Patch 3: $H_e=0,42$ und $0,57$ im Lochbrunnengraben zw. Degerfelden und Hertzen (24LOCH) und im Großmatte-Graben SW Enkenstein (23ENKE) (Abb. 3). Aufgrund dieser fleckhaften Verteilung der genetischen Diversitätsstufen zeigten die fünf Hauptgruppen von Populationen (Patches) per se keine signifikanten Unterschiede in der genetischen Diversität ($p=0,221$ für H_e ; $p=0,186$ für A_R), die auf einen durchgängigen Verlust an genetischer Diversität entweder aufgrund der geografischen Region oder dem Grad der Isolation schließen lassen würden. Zusammenfassend trat nur in wenigen Vorkommen eine deutliche genetische Erosion auf (Tab. 3, Abb. 3). Lochbrunnengraben (24LOCH) und Quellmoor bei der Schleife (30SCHL) wiesen im Vergleich auffallend niedrige Werte von H_e und A_R auf. Die Frequenz

von Populationen mit privaten Allelen war im Hauptgebiet (Patch 2) geringer als in den kleineren Metapopulationen im Bodenseegebiet (Abb. 4).

3.1.2 Bottleneck

Es ergaben sich keine deutlichen Hinweise darauf, dass diese Populationen durch Bottlenecks hindurchgegangen waren. Nur im Schwarzriedgraben Bermatingen (29BERM) und im Quellmoor bei der Schleife (30SCHL) gab es hierfür, wenngleich schwache, Hinweise (Tab. 4).

3.1.3 Genetische Differenzierung

Der Grad der genetischen Differenzierung ist im gesamten Untersuchungsgebiet gering und zeigt ein klassisches Muster von Isolation by Distance (IBD). Die genetische Differenzierung bei nahe beieinander liegenden Populationen ist gering (d.h. $F_{ST}/1-F_{ST}$ reicht von 0,002 bis 0,071 bei Populationen, die weniger als 5 km voneinander entfernt sind), während die Varianz ansteigt und die maximalen Kennwerte der genetischen Differenzierung mit der Entfernung zwischen Paaren von Populationen ansteigen ($F_{ST}/1-F_{ST}$ reicht von 0,006 bis etwa 0,205 bei über 20 km Entfernung der Populationspaare voneinander) (Abb. 5). Bemerkenswert sind vor allem drei Paare am Hochrhein, die im Vergleich zu ihrer relativen Nähe zueinander hohe Niveaus der genetischen Differenzierung aufweisen: Lochbrunnengraben, Bach im Gewann „Wittmatt“ W Nollingen, sowie Großmatte-Graben SW Enkenstein 24LOCH/25WITT, $F_{ST}/1-F_{ST}=0,071$; 23ENKE/25WITT, $F_{ST}/1-F_{ST}=0,140$ und 23ENKE/24LOCH, $F_{ST}/1-F_{ST}=0,145$ (Abb. 5). Bei den Populationspaaren rechts und

Tab. 3: Variation der genetischen Diversität (gemittelt über 13 Mikrosatelliten-Loci) bei 32 untersuchten Vorkommen von *C. mercuriale*. Patch = einer von 5 Clustern, n = Anzahl der untersuchten Proben, A_R = Allelreichtum (allelic richness); N_a = Allelzahl; H_e = erwartete Heterozygotität (expected heterozygosity).

Population	patch	n	A_R	N_a	H_e
01NEUG	1	21	2.20	3.57	0.57
02ROTT	1	27	2.25	4.50	0.54
03SANE	2	27	2.18	4.21	0.51
04SANW	2	29	2.22	4.07	0.53
05RHEI	2	21	2.20	4.00	0.52
06MUHR	2	25	2.24	4.21	0.54
07HOLC	2	24	2.16	4.07	0.52
08OSDE	2	28	2.25	4.36	0.54
09OSDW	2	29	2.23	4.00	0.54
10RUTS	2	32	2.12	4.36	0.49
11KAPE	2	24	2.21	4.21	0.52
12KAPW	2	25	2.22	4.21	0.52
13HEUW	2	29	2.15	4.29	0.48
14SCHW	2	26	2.28	4.00	0.54
15UNTE	2	28	2.21	4.00	0.52
16UMKI	2	24	2.23	4.00	0.53
17HURS	2	27	2.17	4.36	0.51
18RIES	2	20	2.24	4.21	0.52
19DIER	2	24	2.10	4.00	0.48
20BRUE	2	29	2.26	4.43	0.53
21RAUS	2	19	2.21	4.00	0.51
22BRUW	2	32	2.18	4.79	0.50
23ENKE	3	23	2.37	4.71	0.57
24LOCH	3	24	1.92	2.71	0.42
25WITT	3	30	2.14	3.57	0.48
26WEIT	4	31	2.26	4.21	0.53
27ROHR	4	25	2.37	4.86	0.56
28EGEL	4	21	2.27	4.64	0.54
29BERM	5	32	2.40	4.57	0.59
30SCHL	5	30	2.00	2.71	0.47
31RUZE	5	16	2.11	2.93	0.49
32SASS	5	32	2.17	3.79	0.51

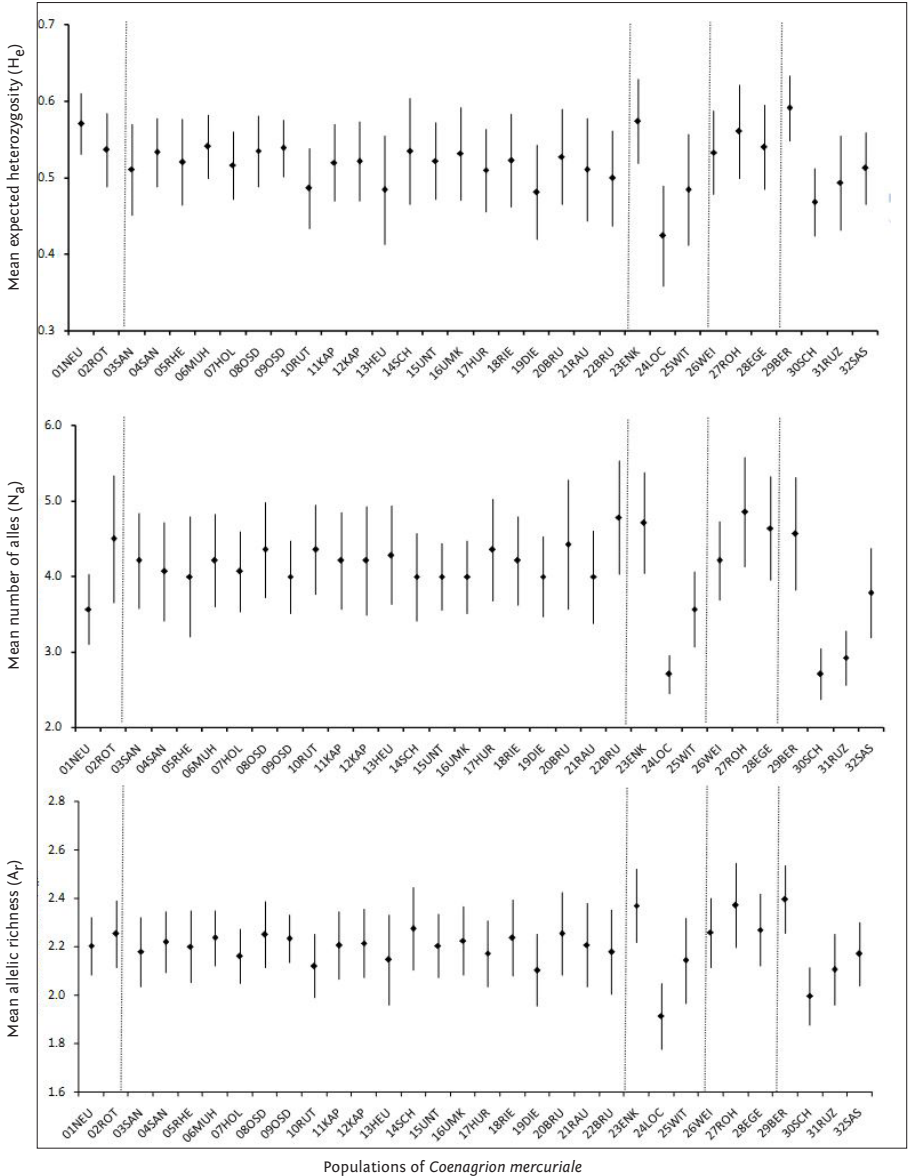


Abb. 3: Variation in Kennwerten der genetischen Diversität, gemittelt über 13 Mikrosatelliten Loci. (H_e , expected heterozygosity; N_a , number of alleles; A_r , allelic richness) für 32 Vorkommen von *Coenagrion mercuriale*. Die gestrichelten Linien markieren die geografischen Cluster 1 bis 5 (von links nach rechts).

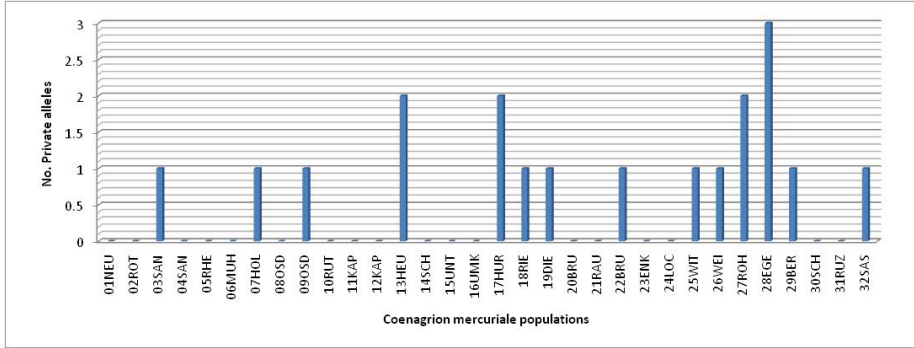


Abb. 4: Variation in der Anzahl privater Allele (Allele, die nur in der jeweiligen Population vorkommen).

links der A5: Sandbach bei Vimbuch (Überlaufkanal) östlich der A5 (03SANE) und Sandbach-Flutkanal W A5 (04SANW) sowie links und rechts der Rheintalbahn: Oberschopfheimer Dorfbach (08OSDE und 09OSDW) und Kapuzinergraben (11KAPE und 12KAPW) wurden keine signifikant erhöhten Niveaus der genetischen Differenzierung festgestellt. Es

wurden außerdem komplexe STRUCTURE-Analysen aller 32 Populationen durchgeführt. Bedeutende Ergebnisse sind auf dem Level K=3 die genetische Verschiedenheit der Oberrhein-Populationen einerseits und derjenigen am Hochrhein und am Bodensee andererseits. Die Hochrhein-Populationen 23ENKE, 24LOCH und 25WITT sind tenden-

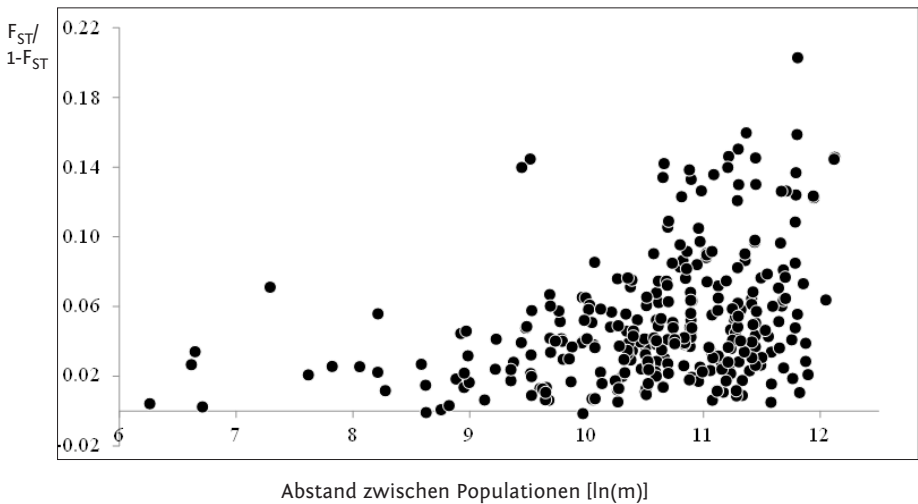


Abb. 5: Variation im Grad der paarweisen Populations-Unterschiede gegen die Distanz zwischen den Populationspaaren.

Tab. 4: Wahrscheinlichkeiten eines Heterozygotenüberschusses (Hinweis auf einen Genetischen Flaschenhals) unter Verwendung von zwei Statistik-Tests (Sign und Wilcoxon) in 32 Populationen von *Coenagrion mercuriale* auf der Basis von drei Modellen der allelischen Mutation. Werte, die nach Anwendung einer sequentiellen Bonferroni-Korrektur (RICE 1989) für $k = 32$ Mehrfachtests signifikant bleiben, sind fett hervorgehoben. IAM: infinite allele model of mutation, TPM: two phase model of mutation, SMM: stepwise model of mutation (vgl. 2.1.2, S. 66).

Ort	SIGN			WILCOXON		
	IAM	TPM	SMM	IAM	TPM	SMM
01NEU	0.0744	0.4593	0.2857	0.0034	0.0732	0.5000
02ROT	0.4351	0.1416	0.1305	0.0549	0.5000	0.9045
03SANE	0.6021	0.3233	0.1398	0.2940	0.7061	0.9161
04SANW	0.0834	0.2538	0.2731	0.0287	0.2487	0.3424
05RHE	0.1923	0.4605	0.5028	0.0402	0.3178	0.7061
06MUH	0.2133	0.4688	0.3082	0.0549	0.1879	0.7513
07HOL	0.4570	0.4500	0.2391	0.1698	0.5537	0.9045
08OSDE	0.0958	0.5130	0.2521	0.0287	0.1698	0.7513
09OSDW	0.0284	0.2931	0.1170	0.0199	0.1082	0.7513
10RUT	0.2099	0.5633	0.0136	0.0839	0.5000	0.9836
11KAPE	0.4180	0.5143	0.4677	0.1367	0.5000	0.8473
12KAPW	0.2057	0.4757	0.2853	0.0549	0.2940	0.8121
13HEU	0.0741	0.4390	0.1560	0.2072	0.3934	0.9268
14SCHW	0.2204	0.5500	0.4999	0.0239	0.2940	0.7061
15UNT	0.4172	0.5282	0.2744	0.1220	0.5537	0.8781
16UMK	0.2383	0.2806	0.4652	0.1367	0.3677	0.7513
17HUR	0.4186	0.3348	0.1481	0.2072	0.6066	0.9529
18RIE	0.4271	0.5256	0.1520	0.1527	0.5803	0.8633
19DIE	0.0820	0.3147	0.1373	0.2487	0.6323	0.9713
20BRUE	0.0224	0.2608	0.4965	0.0636	0.1367	0.3677
21BRUW	0.4125	0.5285	0.1424	0.1220	0.6323	0.9598
22RAU	0.6062	0.5985	0.3396	0.1698	0.5537	0.8473
23ENK	0.4541	0.4746	0.4751	0.0732	0.4463	0.8473
24LOC	0.0275	0.1349	0.3806	0.0320	0.0549	0.2847
25WIT	0.0648	0.2002	0.5756	0.0164	0.1698	0.5537
26WEI	0.2113	0.2480	0.1450	0.0402	0.3178	0.7061
27ROH	0.0956	0.4924	0.0118	0.0636	0.5270	0.9867
28EGE	0.0305	0.1386	0.0112	0.0839	0.7929	0.9957
29BER	0.0004	0.0064	0.4977	0.0001	0.0012	0.3424
30SCHL	0.0015	0.0159	0.0948	0.0001	0.0004	0.0164
31RUZ	0.0924	0.1265	0.3109	0.0040	0.0881	0.3386
32SAS	0.0169	0.0968	0.2448	0.0133	0.0636	0.2940

Tab. 5a: Hochrechnung (unter Verwendung der BAYESASS-Software) der Migrationsraten (M) zwischen Paaren von Populationen von *Coenagrion mercuriale* aus dem Rheintal, Oberrheinebene und Hochrhein. Gelbe Zellen markieren die interne Migration. Blaue Zellen markieren eine substantielle ($M > 0,15$) Verbindung zwischen Populationen.

		Into												
		Neu	Rot	San	Rhe	Muh	Osd	Rut	Kap	Hue	Sch	Hur	Enc	Loc
FROM	Neu	0.683										0.005	0.005	
	Rot	0.005	0.678		0.005							0.005		
	San	0.005		0.672	0.005									0.005
	Rhe	0.005			0.681									0.005
	Muh	0.070	0.241	0.258	0.264	0.813		0.015	0.013	0.009		0.085	0.012	
	Osd	0.040	0.015	0.009	0.006	0.152	0.992	0.221	0.269	0.199		0.030	0.204	
	Rut	0.006			0.005			0.676						0.005
	Kap	0.005			0.005				0.674					0.005
	Hue	0.005			0.005					0.677				0.006
	Sch	0.160	0.030	0.035	0.006	0.011		0.055	0.023	0.077	0.993	0.164	0.025	
	Hur	0.005										0.678	0.006	
	Enc	0.005			0.005							0.005	0.692	
	Loc	0.006	0.006	0.010	0.005	0.008		0.005		0.006		0.006	0.024	0.993

ziell eher mit den Bodensee-Populationen als mit den südlichsten Oberrhein-Populationen (Brunnengraben bei Mengen 20BRUE und 22BRUW) verwandt.

Bei ausschließlicher Betrachtung der Populationen an Ober- und Hochrhein zeigte sich u.a. die Isolation des Großmatte-Grabens SW Enkenstein (23ENKE). Es gab Hinweise darauf, dass die (auch im Kapitel der historischen Landschaftskonfiguration betrachteten) Vorkommen Schwabbach zwischen Unterreute und Bottingen (14SCHW), Wiesenbach Unterreute (15UNTE), Riedgraben SE Umkirch (16UMKI), Wiesengraben im Gewinn „Hurstmatt“ W Bleibach“ (17HURS), Graben im Rieselfeld (18RIES) und Ettengraben Dierloch (19DIER) sich von den umgebenden Vorkommen unterscheiden. Hingegen gab es keine Indizien

dafür, dass die nördlichste Population „Neugraben“ im NSG „Oberbruchwiesen“ (01NEUG) sich von den nächstgelegenen Populationen im Süden unterscheidet. Im Oberrheingraben zeigten sich zwei Haupt-Populationszentren: Zum einen der Bereich um den Oberschopfheimer Dorfbach (08OSDE/09OSDW), der nach dem Source-SinkModell als „Source“ für die südlich davon gelegenen Populationen fungiert, zum anderen die Vorkommen um die Holchenbach-Renaturierungsstrecke (07HOLC), die als „Source“ für die nördlich gelegenen Populationen dienen. Die randlichen Populationen, wie 23ENKE, 24LOCH und 25WITT im Süden und 02ROTT/01NEUG im Norden scheinen eher „Sinks“ zu sein. Am Bodensee zeigte sich eine klare Migrationsrichtung von den westlichen Vorkommen im

Tab. 5b: Hochrechnung (unter Verwendung der BAYESASS-Software) der Migrationsraten (M) zwischen Paaren von Populationen von *Coenagrion mercuriale* vom Bodensee. Gelbe Zellen markieren die interne Migration. Blaue Zellen markieren eine substantielle ($M > 0,15$) Verbindung zwischen Populationen

		Into					
		Roh-Wei	Ege	Ber	Sch	Ruz	Sas
FROM	Roh-Wei	0.950	0.087	0.008		0.021	0.015
	Ege	0.032	0.885	0.301		0.232	0.282
	Ber		0.006	0.676		0.009	
	Sch	0.010	0.008	0.006	0.989	0.011	0.017
	Ruz		0.006			0.717	
	Sas		0.007			0.009	0.676

Hegau – Östlicher Parzellengraben am Egelbach S Überlingen (28EGEL) bis Schwarzriedgraben Bermatingen (29BERM) – zu den östlichen: Quellmoor bei der Schleife (30SCHL), Quellmoor Ruzenweiler (31RUZE) und Bach W Saßenweiler (32SASS) (siehe Tab. 5a und 5b sowie Abb. 15).

3.2 GIS-Ausbreitungsmodellierung

3.2.1 Kursorische qualitative Sichtung der historischen Karten

Bei der Sichtung der historischen Karten zeigten sich interessante Zusammenhänge zwischen der aktuell bekannten Verbreitung von *C. mercuriale* und den im „Topographischen Atlas ueber das Grossherzogtum Baden“ mit grauen Signaturen als Wiesen oder Nasswiesen gekennzeichneten Bereichen, die darauf hinweisen, dass ein Großteil der rezenten *C. mercuriale*-Vorkommen in alten Grünlandgebieten liegt (Abb. 6). Eine Detailanalyse dieser Zusammenhänge soll nach Möglichkeit zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen.

3.2.2 Vergleich der historischen und rezenten Landnutzung im Untersuchungsgebiet um Freiburg

Die Landnutzung im 54,2 km² großen Untersuchungsgebiet zeigte deutliche Änderungen in der Landschaftskonfiguration als Ganzes (Abb. 7 und Abb. 8) sowie in den Flächenbilanzen (Tab. 6, Abb. 9). So gab es zwischen 1850 und 2000 einen Rückgang der gesamten Ackerfläche auf 88,4% des historischen Werts. Beim Wald war der Rückgang geringer, beim Grünland hingegen sehr gravierend auf 64,0%. Die Rebfläche ist heutzutage anderthalb Mal so groß wie 1850. Am markantesten ist der Zuwachs an Siedlungsfläche, die heute 4,5 Mal so ausgedehnt ist wie vor 150 Jahren. Die Änderung bei den Fließgewässern ist z.T. auf unterschiedliche Darstellung in den Karten zurückzuführen, der Wert also insgesamt ein Artefakt. Größere Stillgewässer (Baggerseen) waren 1850 noch nicht vorhanden; Tongruben und ähnliche Kleingewässer wurden nicht digitalisiert. Bei der Infrastruktur wurden im generalisierten aktuellen Modell nur große Verkehrswege berücksichtigt (vergl.

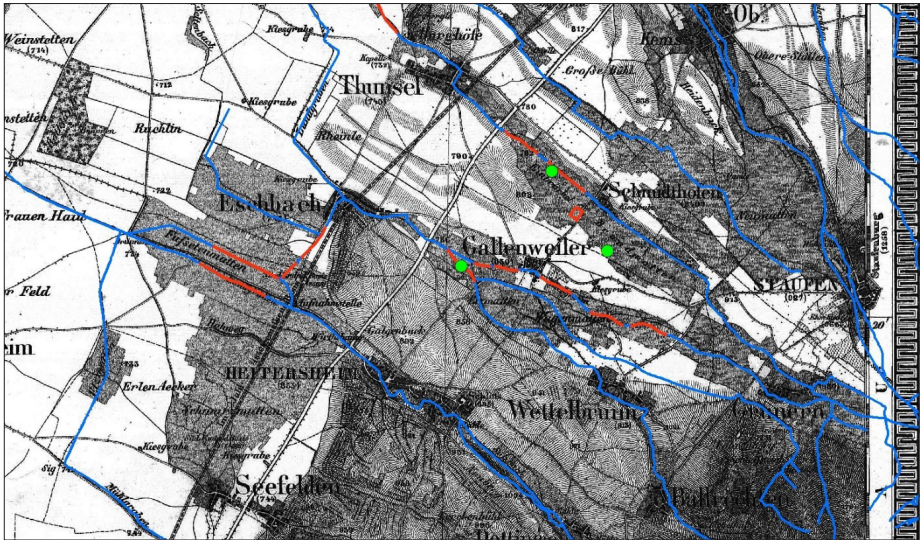


Abb. 6: Ausschnitt des georeferenzierten „Topographischen Atlas ueber das Grossherzogtum Baden“ vom Gebiet um Heitersheim und Gallenweiler. Blaue Linien: Fließgewässer-Netz (heutiger Zustand, Shape der LUBW), rote Linien: Abschnitte mit Nachweis von *C. mercuriale*, grüne Punkte: Stellen, an denen genetische Proben genommen wurden (Zusatzprogramm).

Methodenteil). Weil die Straßen früher kaum befestigt, deutlich schmaler und vor allem von nur sehr wenigen, langsamen und kleinen Fahrzeugen frequentiert wurden, sind sie in der historischen Landnutzungskarte nicht enthalten, da ihnen keine besondere Barrierewirkung zugeschrieben wurde.

3.2.3 Kostenpfade auf der historischen und den rezenten Kostenoberflächen

Historische Landnutzung: Die auf Basis der historischen Karte erstellte Landnutzungskarte (Abb. 7) ist durch große zusammenhängende Grünlandgebiete gekennzeichnet, die ringförmig die Mooswälder und Vorbergzonen-Schollen umschließen sowie in Dreisam- und Elzniederung große

Flächen einnehmen. Die Siedlungen einschließlich Freiburg und die umliegenden Ortschaften stellen sich als sehr kleinflächig und den Landschaftsausschnitt nicht dominierend dar. Die auf der Karte der historischen Kostenoberfläche dargestellten Kostenpfade zwischen allen Vorkommen folgen weitgehend dem Grünland. Wald sowie das eingerechnete Relief wirken als Barrieren. Die Verbindung des Vorkommens im Rieselfeld (18RIES) – das sich nicht an genau der gleichen Stelle befunden haben dürfte, weil an dieser Stelle damals noch Mooswald stand – zum Hurstmattengraben bei Bleibach (17HURS) führt durch die Wiesen östlich des Mooswalds, während die anderen Vorkommen über die Umkircher Gegend angebunden sind.

Generalisierte rezente Landnutzung: Die aus auf den Maßstab der historischen Karte generalisierten ATKIS-Daten erzeugte Landnutzungskarte zeigt stark fragmentiertes und flächenmäßig stark zurück gegangenes Grünland (Abb. 8). Dies führt zum Beispiel dazu, dass der günstigste Kostenpfad zwischen den Vorkommen in der Markgräfler Rheinebene (21RAUS, 20BRUE, 22BRUW) zu den Vorkommen bei Reute (14SCHW, 15UNTE) anders als auf der historischen Karte westlich des Tunibergs verläuft. Auch die Verbindung des Vorkommens im Rieselfeld (18RIES) zum Hurstmattengraben bei Bleibach (17HURS) führt über die Umkircher Gegend.

Rezente Landnutzung nach HUNGER (2004): Dieses Modell (Abb. 10) ist deutlich differenzierter und inhaltlich höher aufgelöst als die beiden vorigen (die Rasterzellengröße ist bei allen Modellen mit 12,5 m identisch). Hierdurch können Korridore feiner modelliert werden. Eine genaue Beschreibung findet sich bei HUNGER (2004).

Zur besseren Übersicht sind die unterschiedlichen berechneten Kostenpfade in Abb. 11 auf einer Karte zusammen dargestellt.

3.2.4 Ergebnisse der IBDWS-Analyse

Die IBDWS-Analysen dienen nach BOHONAK (2002) dazu festzustellen, ob es einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen genetischer Distanz und geografischer Distanz gibt und wie stark dieser Zusammenhang ggf. ist. Die Signifikanz wird gewöhnlich beurteilt, indem die paarweise genetische Distanz-Matrix mittels eines Mantel-Tests mit der paarweisen geografischen Distanz-Matrix korre-

liert wird (siehe MANLY 1994). Für die Matrix der genetischen Distanzen A und die Matrix der geografischen Distanzen B wird die Statistik als $Z = \sum_{i,j} A_{ij} B_{ij}$ berechnet. Daneben berechnet IBDWS eine alternative Statistik, r, die einen standardisierten Z-Wert ausgibt, der von -1 bis 1 reicht, wobei 1 eine perfekte Korrelation bedeutet. Die Signifikanz wird bewertet, indem der tatsächliche Wert Z_{actual} mit einer Verteilung von Z-Werten verglichen wird, die durch Randomisierung der Spalten und Zeilen der B-Matrix bei konstanter A-Matrix erzeugt werden. Es werden einseitige p-Werte ausgegeben. Die IBDWS-Analysen zeigen in folgender Reihenfolge ansteigende r-Werte, also besser werdende Korrelationen zwischen den genetischen Distanzen und den euklidischen bzw. den unterschiedlichen Kostendistanzen: Euklidische Distanzen – Kostendistanzen des historischen Modells – Kostendistanzen des generalisierten aktuellen Modells – Kostendistanzen des aktuellen Modells nach HUNGER (2004). Entsprechend steigen die Signifikanzen in dieser Reihenfolge an, $p < 0,05$ wird nur mit dem Modell nach HUNGER (2004) erreicht. Die Ergebnisse sind in Abb. 12 zusammengefasst.

4 Diskussion

4.1 Genetische Untersuchungen

Wie in anderen Studien in Wales (UK) (WATTS et al. 2006) und in der Schweiz (KELLER et al. 2012) gezeigt, lässt sich ein deutlicher Effekt des Reliefs zeigen, indem gebirgiges Terrain Genfluss (Dispersal) verringert und dadurch die genetische Differenzierung befördert. Fragmentierte Populationscluster ten-

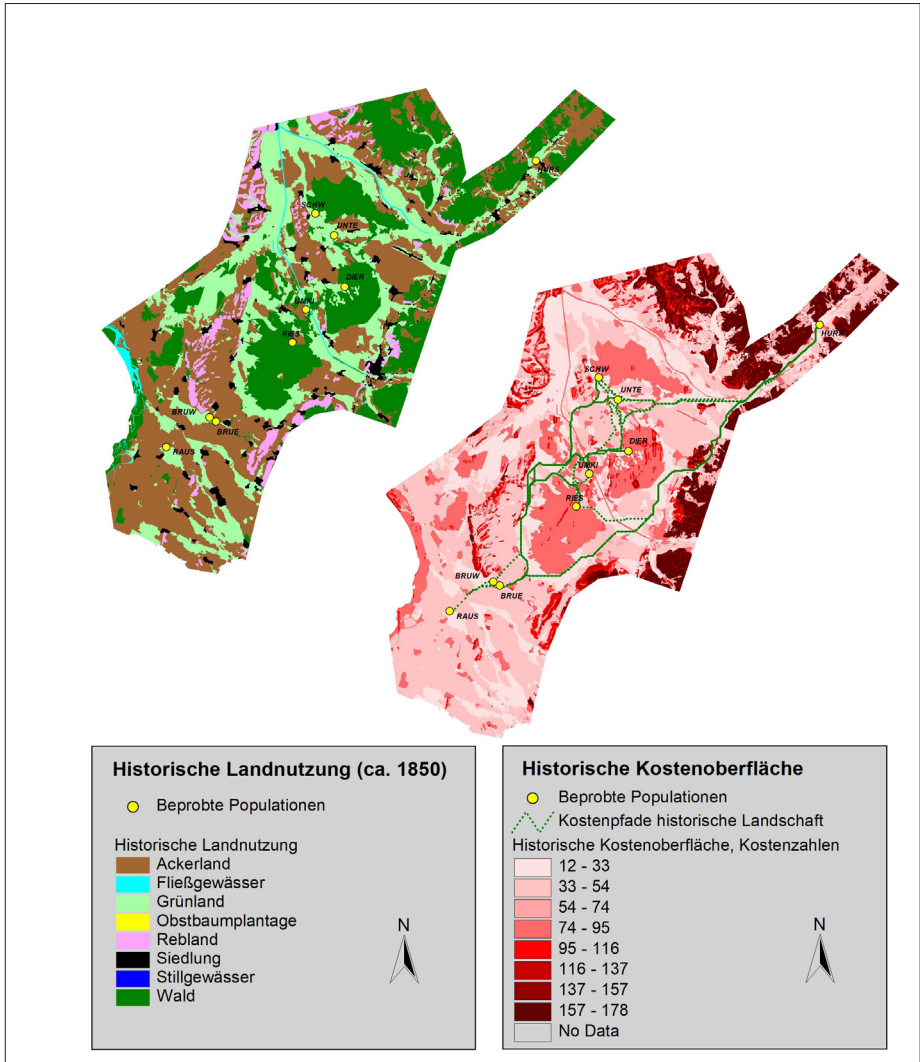


Abb. 7: Historische Landnutzung und Kostenoberfläche Untersuchungsgebiet um Freiburg i. Br.

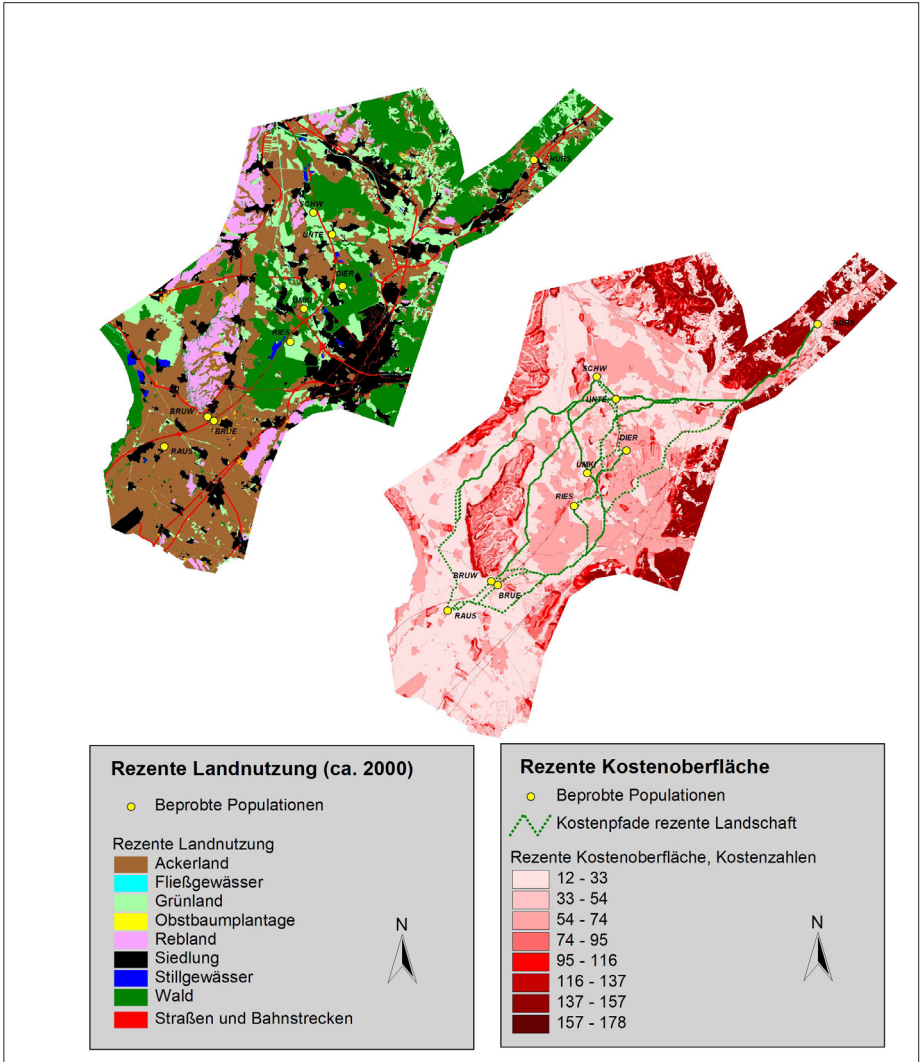


Abb. 8: Generalisierte rezente Landnutzung und Kostenoberfläche Untersuchungsgebiet um Freiburg i. Br.

Tab. 6: Flächenbilanzen der historischen und rezenten Landnutzung (generalisiertes Modell) im Untersuchungsgebiet um Freiburg. Die Landnutzungstypen sind nach absteigender Gesamtfläche in der historischen Landschaft sortiert. Zu den mit * gekennzeichneten Nutzungstypen vergl. Text.

Landnutzung	Fläche (ha) ca. 1850	Fläche (ha) ca. 2000	Differenz 1850 zu 2000 (ha)	Vergleich 1850 zu 2000 (%)
Ackerland	22.085,6	19.514,9	-2.570,8	88,4
Wald	14.071,9	13.205,6	-866,4	93,8
Grünland	13.086,0	8.378,6	-4.707,4	64,0
Rebland	2.561,7	3.862,5	1.300,8	150,8
Siedlung	1.823,9	8.213,5	6.389,6	450,3
Fließgewässer*	568,1	105,0	-463,0	18,5
Stillgewässer*	-	274,4	274,4	-
Infrastruktur*	-	562,8	562,8	-
Obstbaumplantage*	-	208,4	208,4	-

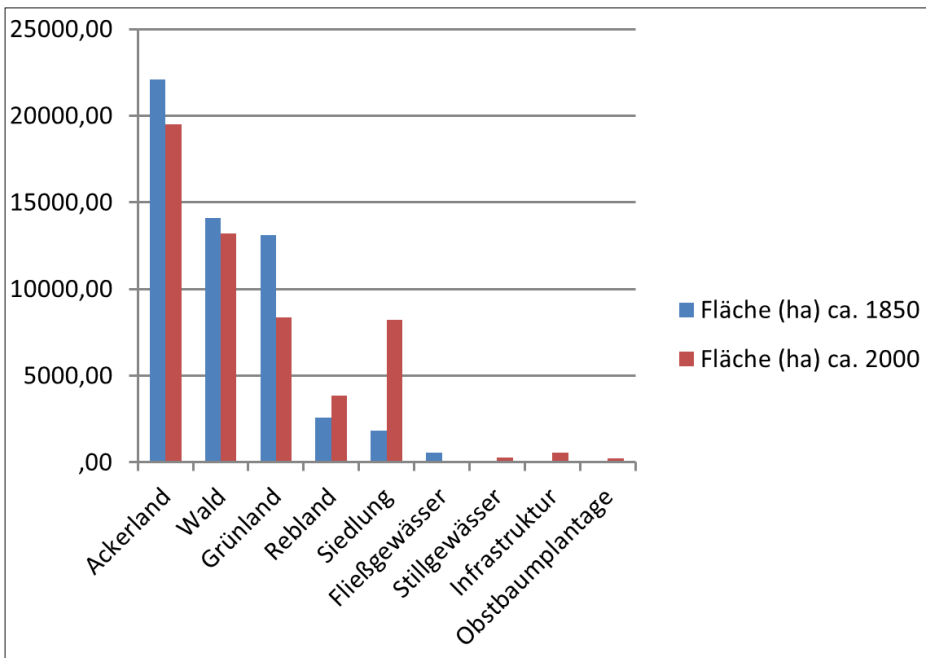


Abb. 9: Änderungen in der Landnutzung zwischen ca. 1850 und ca. 2000 im Untersuchungsgebiet um Freiburg.

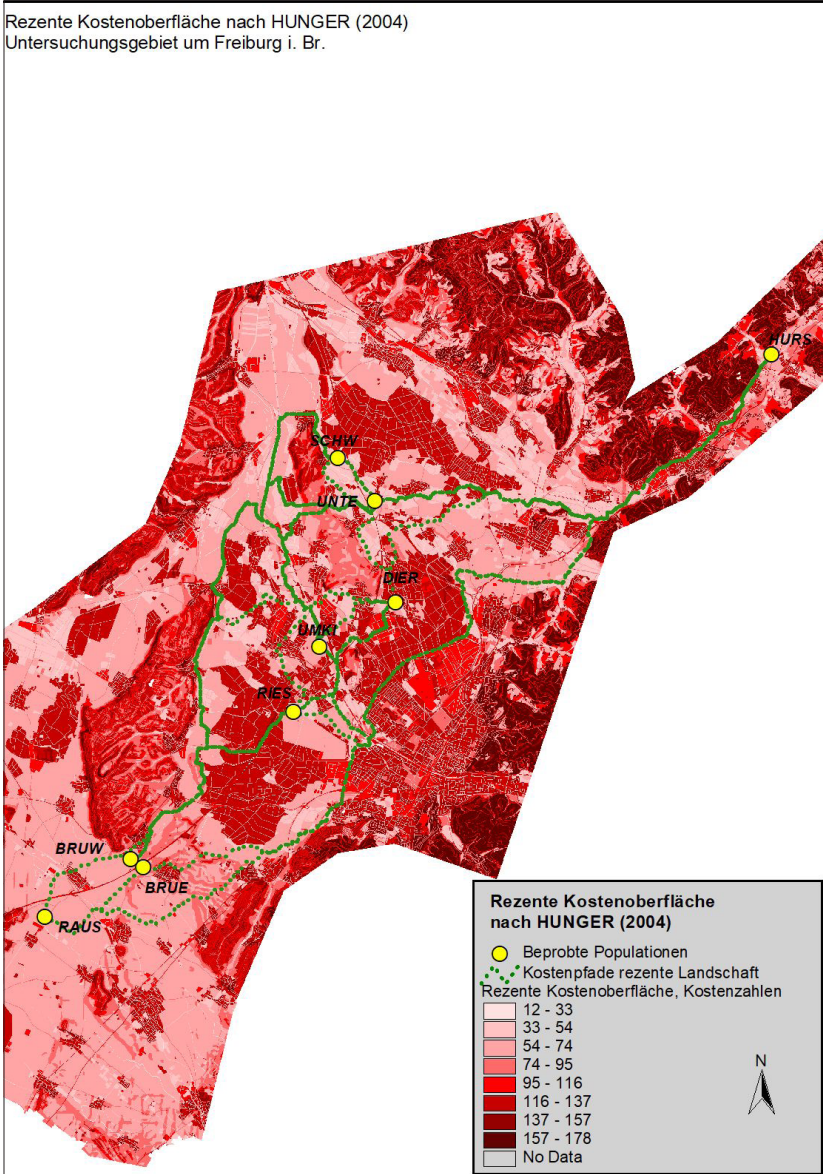


Abb. 10: Kostenoberfläche nach HUNGER (2004) Untersuchungsgebiet um Freiburg i. Br.

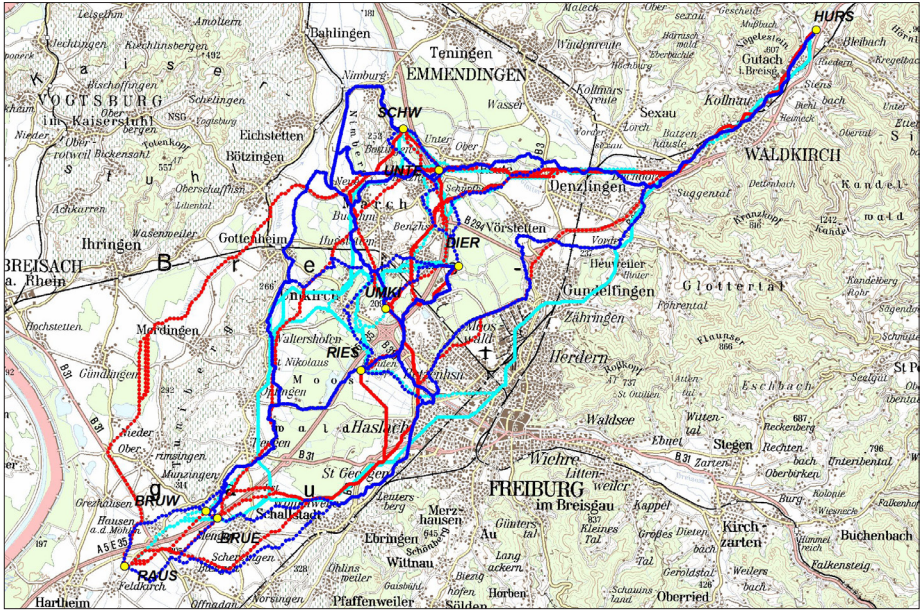


Abb. 11: Übersicht über die unterschiedlichen berechneten Kostenpfade vor dem Hintergrund der aktuellen TK200. Hellblau: historische Landnutzung, rot: generalisierte rezente Landnutzung; dunkelblau: rezente Landnutzung nach HUNGER (2004).

dieren zur genetischen Differenzierung. Innerhalb des Haupt-Populationsclusters in der Oberrheinebene zeigt *C. mercuriale* keine besonders hohen Niveaus der genetischen Differenzierung, auch nicht über weitere Distanzen und bis in die nördlichsten isolierten Vorkommen hinein. Ohne zusätzliche Probenahme von allen möglichen Quellpopulationen ist es nicht möglich, eine abschließende Analyse über den Ursprung der drei deutlichen Populations-Cluster (Oberrhein, Hochrhein und Bodenseegebiet) zu erarbeiten. Weil jedoch Anzeichen für starke genetische Differenzierung oder Bottlenecks fehlen, ist es plausibel, dass die genannten drei Cluster von jeweils

verschiedener Herkunft sind. Nach bisheriger Kenntnis und unter Berücksichtigung des gegenwärtigen Areals der Art und der Topographie sind die folgenden Kolonisationswege am wahrscheinlichsten (Abb. 13):

Die Immigration in den heutigen Kern der Oberrhein-Populationen (um 07HOLC und 08OSDE/09OSDW) könnte über die Zaberner Senke stattgefunden haben, eine Senke zwischen den Vogesen und dem Pfälzerwald. Hier könnte die Hauptquelle für die nördlich und südlich anschließenden Populationen liegen bzw. gelegen haben, sodass die Populationen von 01NEUG im Norden bis 20BRUE/22BRUW gemeinsame Vorfahren haben könnten,

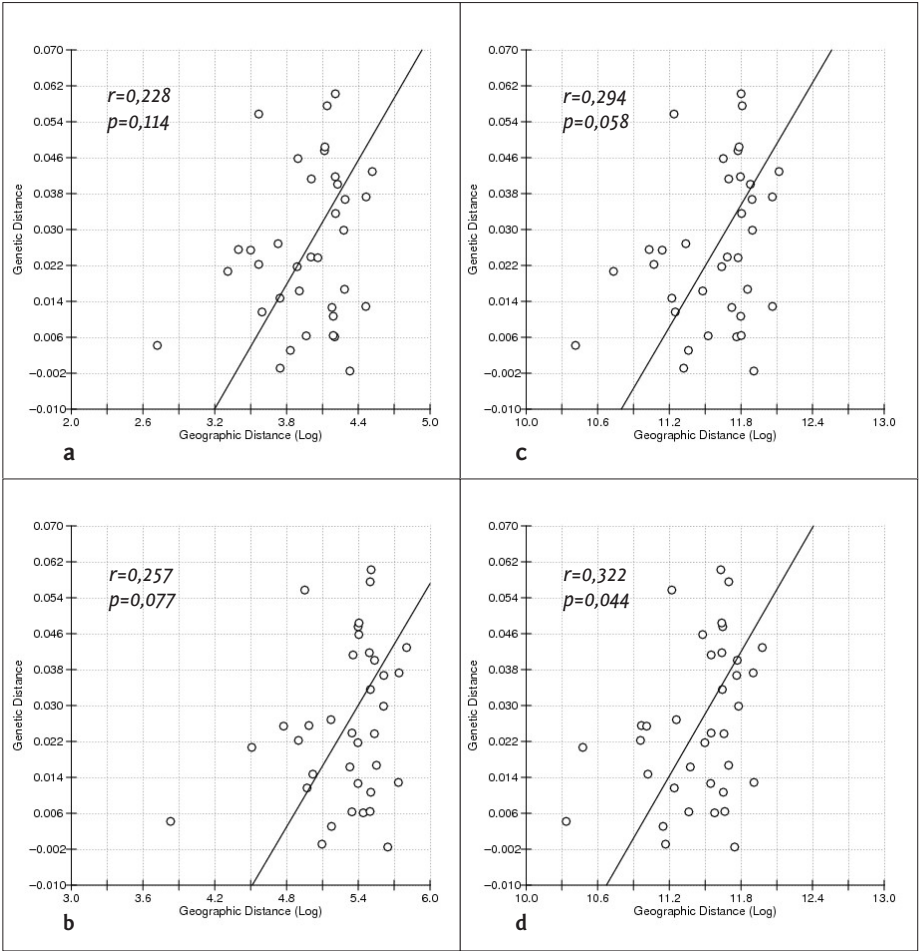


Abb. 12: Ergebnisse der IBDWS-Analysen. **a:** Genetische Distanzen und euklidische Distanzen, **b:** Genetische Distanzen und Kostendistanzen historisches Modell, **c:** Genetische Distanzen und Kostendistanzen generalisiertes aktuelles Modell, **d:** Genetische Distanzen und Kostendistanzen aktuelles Modell (HUNGER 2004). Je höher der r-Wert (Spanne: -1 bis 1), desto besser die Korrelation zwischen genetischen Distanzen und euklidischen bzw. Kostendistanzen. p=Signifikanz, üblicherweise wird ein Signifikanzniveau von 5% ($p < 0,05$) angesetzt, um die Nullhypothese zu verwerfen.

welche über die Zaberner Senke einwanderten. In Anbetracht der schwach ausgeprägten räumlichen genetischen Struktur ist es möglich, dass viele der Oberrhein-Populationen (d.h. von 02ROTT oder 01NEUG bis 21RAUS) ein verbundenes Netzwerk, also eine Metapopulation bilden. Außerdem ist die Kolonisierung offenbar ausreichend umfangreich und/oder noch nicht so lange her gewesen, dass stärker isolierte Bereiche (wie 02ROTT und 01NEUG) sich genetisch nicht unterscheiden. Tatsächlich ist 01NEUG trotz IBD von den anderen Populationen nicht genetisch unterschieden. Die Analysen weisen sogar auf genetische Ähnlichkeiten mit südlichen Oberrhein-Vorkommen hin, bei denen es sich entweder um Ferndistanz-Ausbreitung oder um ein Artefakt handeln kann. Da 01NEUG höchstwahrscheinlich eine Metapopulation mit westlich davon gelegenen Populationen in der Pfalz bildet (Abb. 13, Abb. 14) legen die STRUCTURE-Analysen nahe, dass diese Populationen ebenfalls ihren Ursprung in über die Zaberner Senke eingewanderten Tieren haben. Ein überraschendes Ergebnis ist die fehlende genetische Differenzierung des isoliert im Elztal gelegenen Vorkommens im Wiesengraben im Gewann „Hurst“ westlich von Bleibach (17HURS). Es wurde kein merklicher Verlust an Gendiversität festgestellt und es ist den Vorkommen in der Freiburger Bucht (14SCHW, 15UNTE, 16UMKI, 18RIES und 19DIER) sehr ähnlich. Die Besiedelung von 17HURS ist möglicherweise noch nicht lange her oder, umgekehrt, das Vorkommen ist noch nicht sehr lange von den zuvor genannten isoliert, sodass sich keine genetischen Auswirkungen nachweisen lassen.

Die drei untersuchten Vorkommen am Hochrhein (23ENKE, 24LOCH und

25WITT) sind genetisch von den anderen Populationen unterschieden, vermutlich, weil sie über die Burgundische Pforte besiedelt wurden und somit auf andere Quellpopulationen zurückgehen als diejenigen in der Oberrheinebene, die über die Zaberner Senke besiedelt worden sein könnten (Abb. 15). Die Topografie und der Mangel an geeigneten Habitaten separieren Hochrhein und Oberrhein. Topografie, ein Mangel an Habitaten und die Distanz wiederum separieren die Hochrhein-Vorkommen von denen im Bodenseegebiet.

Die abgelegene Population 23ENKE ist besonders bemerkenswert. Es gibt keine Hinweise darauf, dass 23ENKE sich aufgrund einer geringen Populationsgröße differenziert hat – ganz im Gegenteil ist die genetische Diversität sogar hoch und es gibt keine nachweisbaren Bottleneck-Effekte. Dies weist darauf hin, dass das Vorkommen eine relativ große Individuenstärke erhalten hat und von unterschiedlichen Quellpopulationen aus besiedelt wurde. Die verschiedenen Analysen weisen auf unterschiedliche mögliche Herkünfte hin (von Norden, möglicherweise mit Einflüssen weiter östlich gelegener Populationen). Solche widersprüchlichen Resultate sind zu erwarten, wenn das untersuchte Genmaterial nicht die wahren Quellpopulationen enthält.

Die Vorkommen am Bodensee sind topografisch von denen am Oberrhein und Hochrhein isoliert und daher von diesen genetisch getrennt. Es gibt jedoch Hinweise auf eine teilweise gemeinsame Abstammung der Populationen 27ROHR, 26WEIT und 28EGEL im westlichen Bodenseegebiet und den drei Vorkommen am Hochrhein. Dies weist auf historische oder auch noch aktuelle sporadische Migration entlang des Hochrheins hin.

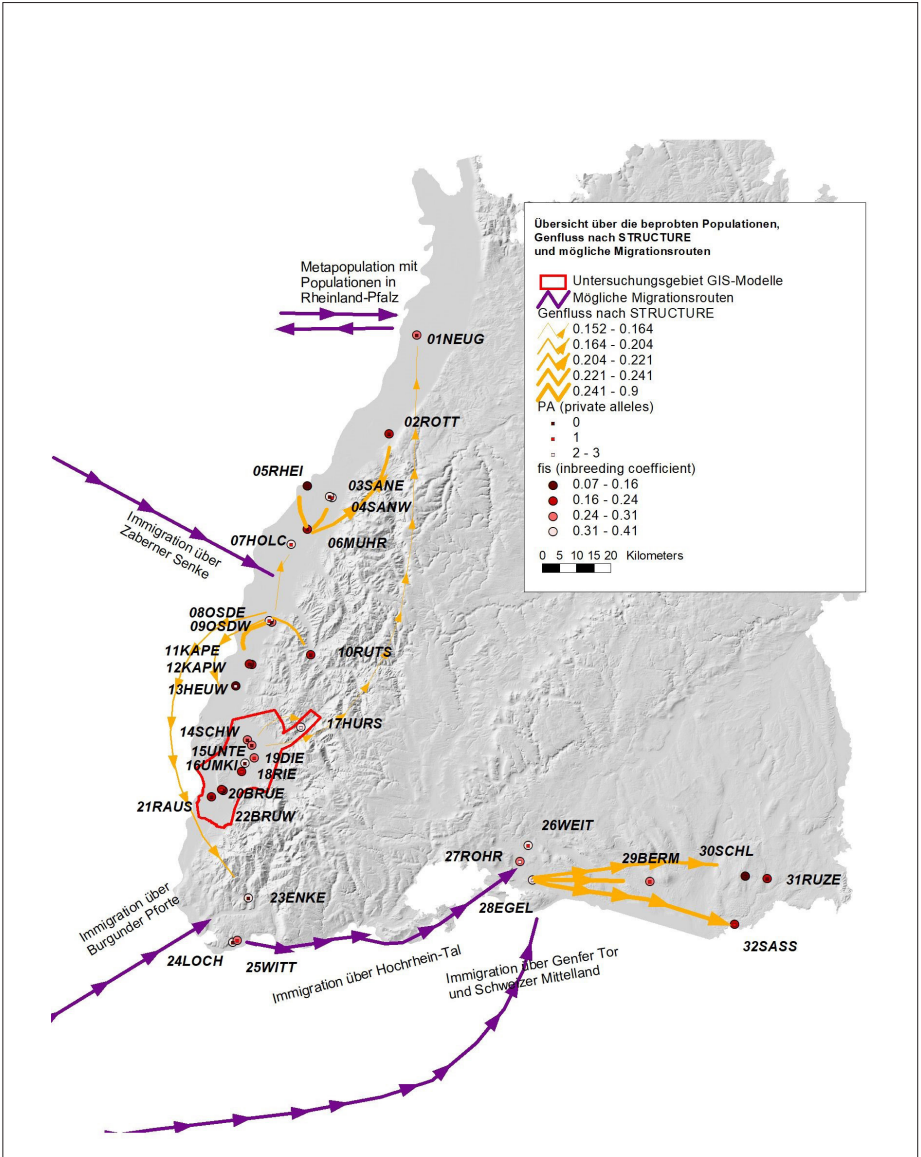


Abb. 13: Übersicht über die beprobten Populationen, Genfluss nach STRUCTURE und mögliche Migrationsrouten.

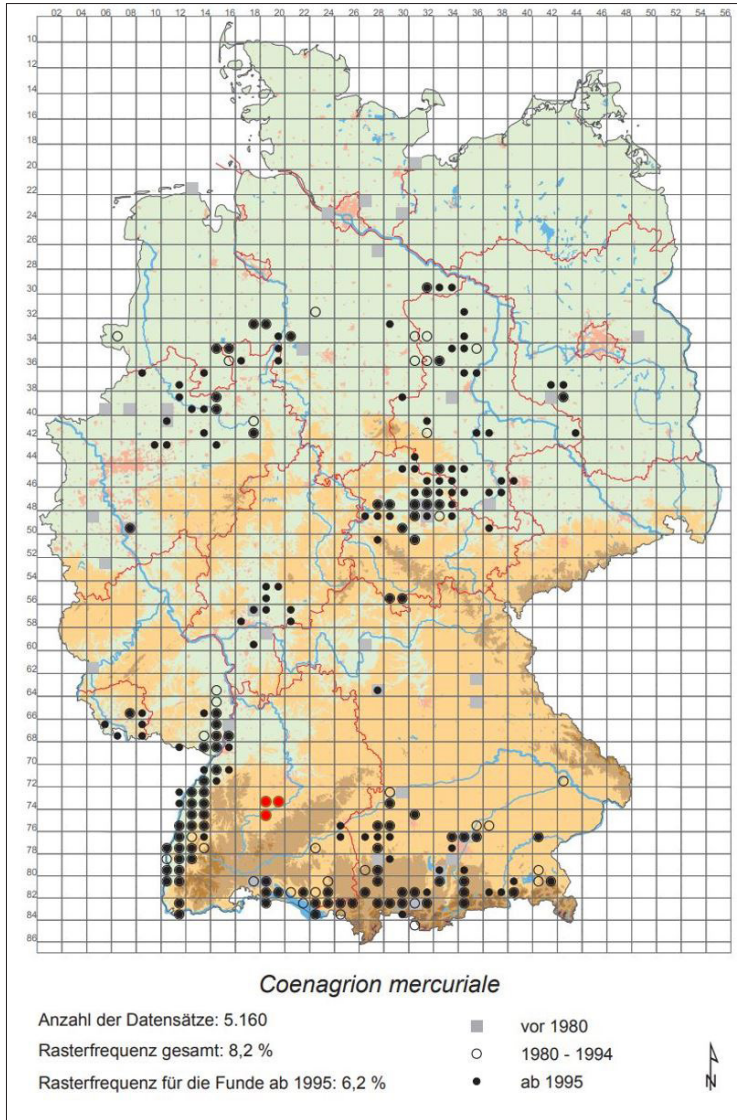


Abb. 14: Verbreitung von *C. mercuriale* in Deutschland (BURBACH et al. 2015). Seitdem hinzugekommene wichtige Rasterpunkte bei Tübingen sind als rote Punkte ergänzt. Die Abbildung zeigt, dass die nordbadischen Vorkommen mit denen in der Pfalz und diejenigen im Südosten mit denen in Bayern im Zusammenhang zu sehen sind. Auch in den Nachbarländern Schweiz und Frankreich (Elsass) befinden sich Vorkommen, die teilweise mit den deutschen im Austausch stehen dürften.

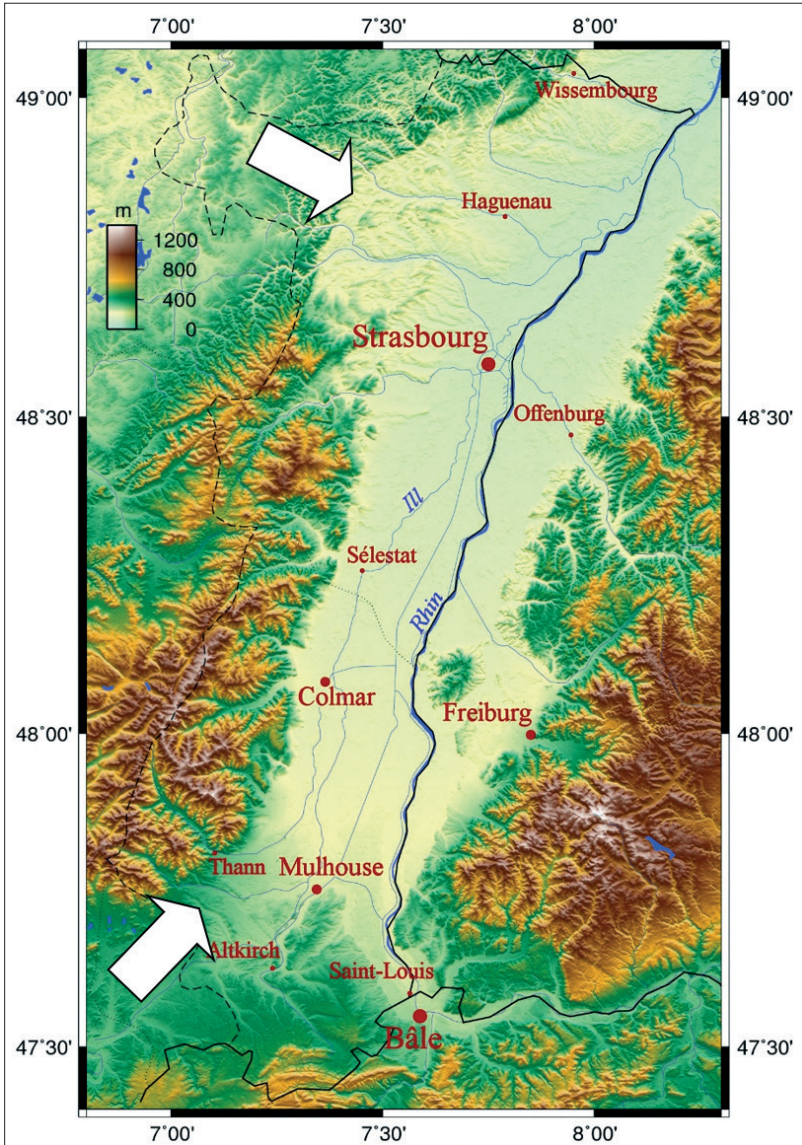


Abb. 15: Relief der Oberrheinebene mit den angrenzenden Gebirgen. Die Pfeile stellen die vermuteten Einwanderungsrouten Zaberner Senke WNW von Straßburg und Burgundische Pforte dar. Aus: Wikimedia Commons (AlsaceTop.png, frei verwendbar gemäß der GNU-Lizenz für freie Dokumentation)

Zwischen den drei genannten Vorkommen im westlichen Bodenseegebiet und jenen im Bodenseebecken (29BERM, 30SCHL, 31RUZE und 32SASS) gibt es eine gewisse Separation und die vorherrschende Richtung des Genflusses in dieser Region fand von West nach Ost statt. Der Effekt der größeren Abstände zwischen den Populationen zeigt sich in Form von stark variablen Niveaus der genetischen Diversität (und der geringsten Diversität des gesamten Untersuchungsgebiets). Dies weist darauf hin, dass das heutige Dispersal nicht ausreicht, um verloren gegangene Diversität auszugleichen. Dass wiederum keine stark ausgeprägte räumliche genetische Struktur ausgebildet ist, kann auch hier darauf zurückgeführt werden, dass die Populationen einigermaßen groß sind oder dass die Besiedlung möglicherweise auch erst vor relativ kurzer Zeit erfolgte. Bei der Population im Quellmoor Schleife (30SCHL) war nach eigenen Daten vermutet worden, dass sie erloschen war und erst vor kurzem wiederbesiedelt wurde. Am wahrscheinlichsten erschien eine Wiederbesiedlung von der nächstgelegenen bekannten Population im Quellmoor Ruzenweiler (31RUZE) aus. Ein (beinahe) Aussterben würde zu den geringen Niveaus der genetischen Diversität in 30SCHL passen. Allerdings sind die Populationen 29BERM, 31RUZE und 32SASS sich untereinander genetisch ähnlich, und sie ähneln alle 30SCHL. Während es daher nicht möglich ist, eine der genannten drei Populationen als genaue Quelle von 30SCHL zu identifizieren, legen die (wenngleich geringen) genetischen Unterschiede zwischen 30SCHL und den westlich gelegenen Populationen 27ROHR, 26WEIT und 28EGEL nahe, dass diese weiter entfernten Populationen nicht die Quelle jeglicher

Wiederbesiedlung von 30SCHL gewesen sein dürften.

Die generell geringe genetische Differenzierung zwischen den vier Populationspaaren, die durch die Rheintalbahn oder die BAB5 getrennt sind, kann bedeuten, dass Genfluss aktuell stattfindet, der aber möglicherweise hauptsächlich über larvale Drift und daher nur bachabwärts stattfindet. Wahrscheinlicher ist es jedoch, dass diese Populationen entweder noch nicht lange genug separiert sind und/oder ihre Populationsgrößen nicht so stark reduziert wurden, dass substantielle genetische Abweichungen feststellbar sind. Tatsächlich ist eine schwache genetische Differenzierung zwischen solcherart zerschnittenen Populationen bei *C. mercuriale* schon nachgewiesen worden, obwohl es dort Ausgleichsmaßnahmen gab, um Verbindungen zwischen den Subpopulationen sicherzustellen (WATTS et al., 2004c, 2007 zu Beispielen im Itchen Valley bzw. dem New Forest in England). Während die STRUCTURE-Analysen keine größeren Unterschiede zwischen diesen Populations-Paaren aufzeigten, könnten die mäßigen Werte der paarweisen F_{ST} (03SANE/04SANW: $F_{ST}=0,017$ und 11KAPE/12KAPW: $F_{ST}=0,023$) einen gewissen Grad der Habitatseparation zeigen, der sich hingegen bei 08OSDE/09OSDW und 20BRUE/22BRUEW so nicht findet. Tatsächlich ist die Barrierewirkung von Autobahn bzw. Rheintalbahn zwischen den erstgenannten Populationspaaren sicher höher als zwischen den letzteren. Es darf auch nicht außer Acht gelassen werden, dass die Analyse der paarweisen genetischen Unterschiede im Untersuchungsgebiet Oberrheinebene keine starken Effekte der Isolierung und damit einhergehender genetischer

Divergenz zeigten. Es wurde auch festgestellt, dass mehrere der möglicherweise isolierten Vorkommen einen erhöhten Anteil privater Allele aufwiesen. Die Anzahl privater Allele in einer Population kann Informationen über den Grad der genetischen Diversität und Struktur liefern. Populationen mit einer größeren Anzahl privater Allele sind oft stärker von anderen Populationen isoliert und entwickeln sich genetisch entweder durch Gründereffekte und/oder Gendrift von anderen Populationen fort. Alternativ können private Allele anzeigen, dass die Population individuenreich und daher diverser als andere ist, aufgrund IBD (Isolation by Distance) jedoch nicht als Quellpopulation für andere Populationen dient. Im Einklang mit dem vermuteten höheren Genfluss (bessere Konnektivität) zwischen den Populationen in der Oberrheinebene hatten diese im Durchschnitt weniger private Allele und waren auch im Hinblick auf die verschiedenen Maßeinheiten der genetischen Diversität homogener als die stärker voneinander getrennten Populationen am Hochrhein und im Bodenseegebiet (Tab. 3, Abb. 3).

4.2 GIS-Ausbreitungsmodellierung

Die Auswertung der mit ArcView SpatialAnalyst und der COSTPATH-Erweiterung auf den unterschiedlichen Kostenoberflächen berechneten Kostendistanzen zeigte, dass alle drei Kostenoberflächen höhere *r*-Werte und Signifikanzen in Bezug auf eine Korrelation zwischen genetischen Distanzen und Kostendistanzen aufwiesen als die euklidischen Distanzen und somit eine bessere Näherung an die tatsächliche

Konnektivität der Populationen untereinander liefern als die Luftliniendistanzen.

Die Ergebnisse ähneln denen von ZELLMER & KNOWLES (2009), die 59 Populationen des waldbundenen Froschs *Rana sylvatica* in Michigan (USA) untersuchten. Sie betrachteten einen ähnlichen Zeitraum, und zwar den weitgehend naturnahen Landschaftszustand vor der Besiedlung durch europäische Einwanderer (vor 1850) und den im Jahr 2000, und benutzten für ihre Analysen ebenfalls PATHMATRIX und IBDWS. Separat betrachtet schienen sowohl die rezente als auch die historische Landschaftsstruktur die Konnektivität zwischen den Populationen signifikant zu beeinflussen. Genetische Unterschiede standen jedoch deutlich stärker mit der rezente als mit der historischen Landschaftskonfiguration in Zusammenhang. Ebenso wie in dieser Untersuchung wurden für die untersuchten nordamerikanischen Froschpopulationen keine Bottleneck-Effekte nachgewiesen und die genetischen Diversitäten blieben hoch. Als Erklärung schlossen ZELLMER & KNOWLES (2009) darauf, dass Metapopulationsprozesse, nicht jedoch Gendrift-induzierte Divergenz im Zusammenhang mit demografischen Bottlenecks infolge von Habitatverlusten für diese raschen festgestellten genetischen Konsequenzen von sich ändernden Landschaftskonfigurationen verantwortlich sind. Eine ähnliche Erklärung könnte auch auf *C. mercuriale* zutreffen.

JENKINS et al. (2010) fanden bei einem Vergleich von 240 IBD-Datensätzen, dass die Anzahl untersuchter Populationen asymptotisch mit der IDB-Signifikanz zusammenhing: Studien mit neun Populationen (wie die vorliegende Untersuchung) hatten nur eine 50%-Wahrscheinlichkeit signifikant zu

Das natürliche Ueberschwemmungsgebiet — oberhalb Freiburg nur etwa 10 ha umfassend — dehnt sich im Unterlaufe bei einer durchschnittlichen Breite von 2 km über 3799 ha aus. Die Gesamtfläche setzt sich nach den Anbauverhältnissen zusammen aus:	
Wiesen	2516 ha
Ackerfeld	630 »
Wald	604 »
Ortsetter	59 »
	<u>zusammen 3809 ha.</u>

Abb. 16: Angaben über die landwirtschaftliche Nutzung in der Dreisamaue. Aus: BADISCHER ARCHITECTEN- UND INGENIEUR-VEREIN, OBERRHEINISCHER BEZIRK, FREIBURG IM BREISGAU (Hrsg.) (1898): 110

sein, während die Wahrscheinlichkeit hierfür bei Studien mit 23 Populationen bei 90% lag. JENKINS et al. (2010) kamen außerdem zu dem Ergebnis, dass ektotherme – also wechselwarme – Tiere öfter signifikante IBD zeigen als endotherme ($p=0,0018$); ein Hinweis darauf, dass der gewählte Untersuchungsansatz bei *C. mercuriale* vielversprechend ist. Das bedeutet, dass die festgestellte Signifikanz für das Modell nach HUNGER (2004) positiv zu werten ist. Es wäre wünschenswert, die Auswertung zu wiederholen, nachdem die bereits gesammelten Proben von weiteren Populationen im Untersuchungsgebiet genetisch untersucht wurden.

In Bezug auf die festgestellten Änderungen der Landnutzung ist folgende Angabe aus einem zur vorletzten Jahrhundertwende erschienenen Buch interessant (Abb. 16), die belegt, was sich auch in der im Rahmen dieser Studie vektorisierten historischen Karte zeigte, nämlich, dass damals die Wiesen in den Flussauen einen sehr hohen Flächenanteil aufwiesen.

Untersuchungen wie diese sind auch von Interesse, um anhand von Modellorganismen die Auswirkungen des zunehmenden Siedlungsdrucks besser

beurteilen und (in Grenzen) quantifizieren zu können. Die Bevölkerungszahl in Baden stieg im betrachteten Zeitraum (Mitte des 19. Jahrhunderts bis heute) von 1,5 auf 4,5 Millionen; hinzu kommen der gestiegene individuelle Flächenbedarf sowie die exorbitante Zunahme an Verkehrsinfrastruktur. Beides befördert die Zersiedlung und Fragmentierung der Landschaft. Diese Prozesse begreifbar zu machen, ist eine wichtige Aufgabe für den Naturschutz.

Die umfangreiche Datensammlung gewährleistet, dass der genetische Referenzzustand im Jahr 2010 genau erfasst und dokumentiert wurde. Hierdurch ist eine hervorragende Basis für spätere vergleichende Untersuchungen gegeben, die dazu beitragen können, Prozesse, die rückwirkend nur mit großem Aufwand und unter Vorbehalten rekonstruiert werden können, in der Zukunft mit Fakten zu unterlegen und gezielt auswerten zu können.

Danksagung

Herzlicher Dank geht an Kerstin Geigenbauer und Franz-Josef Schiel

für die Mitwirkung bei der Sammlung und Archivierung der DNA-Proben, an Laura Gordon (damals University of Liverpool) für die Laborarbeit und einen Teil der statistischen Auswertungen, an Dave Thompson (damals University of Liverpool) für die Betreuung des Projekts in der Anfangsphase, an Rainer Buchwald (Universität Oldenburg) für seine Hilfe beim Entwurf des ursprünglichen Förderantrags und an Martina Hunger für die Digitalisierung des Ausschnitts aus dem „Topographischen Atlas des Großherzogthums Baden“ für die Ausbreitungsmodellierung. Besonderer Dank geht an die Stiftung Naturschutzfonds Baden-Württemberg, die dieses deutsch-britische Forschungsprojekt ermöglicht hat, und an die damals Zuständigen beim Regierungspräsidium Freiburg, Wolfgang Kramer, Uwe Kerkhof und Hans Grethler.

Literatur

- BADISCHER ARCHITECTEN- UND INGENIEUR-VEREIN, OBERRHEINISCHER BEZIRK, FREIBURG IM BREISGAU (Hrsg.) (1898): Freiburg im Breisgau: die Stadt und ihre Bauten - XII, 648 S. : Ill., graph. Darst., Kt., Poppen (Freiburg). [Online-Ausg.: Freiburg i. Br.: Univ.-Bibl., 2012 Online-Ressource (Freiburger historische Bestände - digitalisiert : Regionalia)]
- BOHONAK, A. J. (2002): IBD (Isolation by Distance): a program for analyses of isolation by distance. - *The Journal of heredity* 93 (2): 153-154.
- BUCHWALD, R. (1989): Zur Ökologie von *Coenagrion mercuriale* (Charp.) und *Orthetrum coerulescens* (Fabr.) in Südwestdeutschland (Odonata: Coenagrionidae, Libellulidae). - *Opusc. Zool. Flumin.* 34: 3-6.
- BUCHWALD, R. (2009): Ausbreitungsverhalten der Helm-Azurjungfer (*Coenagrion mercuriale*) in NW-Deutschland: Markierung-Wiederfang-Untersuchungen, Aussetzungsexperimente, naturschutzfachliche Bedeutung. - Tagungsband der 28. Jahrestagung der Gesellschaft deutschsprachiger Odonatologen (GdO), Basel 20.-22. März 2009: 25.
- BUCHWALD, R., B. HÖPPNER & W. RÖSKE (1989): Gefährdung und Schutzmöglichkeiten grundwasserbeeinflusster Wiesenbäche und -gräben in der Oberrheinebene. Naturschutzorientierte Untersuchungen an Habitaten der Helm-Azurjungfer (*Coenagrion mercuriale*, Odonata). - *Natur und Landschaft* 64 (9): 398-403.
- BURBACH, K., H. HUNGER & F. PETZOLD (2015): *Coenagrion mercuriale* (Charpentier, 1840) Helm-Azurjungfer. - *Libellula Supplement* 14: 74-77.
- CORNUET, J.M. & G. LUIKART (1996): Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. - *Genetics* 144: 2001-2014.
- GOUDET, J. (1995): F_{STAT}, Version 1.2: a computer program to calculate F-statistics. - *Journal of Heredity* 86, 485-486.
- HARDY, O.J. & X. VEKEMANS (2002): SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. - *Molecular Ecology Notes*: 2, 618-620.
- HUNGER, H. & F.-J. SCHIEL (2006): Rote Liste der Libellen Baden-Württembergs und der Naturräume, Stand November 2005. - *Libellula-Supplement* 7: 3-14.
- HUNGER, H. & W. RÖSKE (2001): Short-range dispersal of the southern damselfly (*Coenagrion mercuriale*: Odonata) defined experimentally using UV fluorescent ink. - *Zeitschrift für Ökologie und Naturschutz* 9: 181-187.

- HUNGER, H. (2002): Anwendungsorientiertes Habitatmodell für die Helm-Azurjungfer (*Coenagrion mercuriale*, Odonata) aus amtlichen GIS-Grundlagendaten. - *Natur und Landschaft* 77 (6): 261-265.
- HUNGER, H. (2004): Naturschutzorientierte, GIS-gestützte Untersuchungen zur Bestandssituation der Libellenarten *Coenagrion mercuriale*, *Leucorrhinia pectoralis* und *Ophiogomphus cecilia* (Anhang II FFH-Richtlinie) in Baden-Württemberg. - *Dragonfly Research* 2 (CD-ROM): 1-229. URL: https://www.inula.de/images/files/veroeffentlichungen/Dissertation_Holger_Hunger_2014.pdf
- HUNGER, H., F.-J. SCHIEL & B. KUNZ (2006): Verbreitung und Phänologie der Libellen Baden-Württembergs. - *Libellula-Supplement* 7: 15-188.
- JAEGER, J. (2001): Beschränkung der Landschaftszerschneidung durch die Einführung von Grenz- oder Richtwerten. - *Natur und Landschaft* 76 (1): 26-34.
- JAEGER, J., H. ESSWEIN, H.-G. SCHWARZ-VON-RAUMER & M. MÜLLER (2001): Landschaftszerschneidung in Baden-Württemberg - Ergebnisse einer landesweiten räumlich differenzierten quantitativen Zustandsanalyse. - *Naturschutz und Landschaftsplanung* 33 (10): 305-317.
- JENKINS, D.G., M. CAREY, J. CZERNIEWSKA, J. FLETCHER, T. HETHER, A. JONES, S. KNIGHT, J. KNOX, T. LONG, M. MANNINO, M. MCGUIRE, A. RIFFLE, S. SEGELSKY, L. SHAPPELL, A. STERNER, T. STRICKLER & R. TURSİ (2010): A meta-analysis of isolation by distance: relic or reference standard for landscape genetics? - *Ecography* 33: 315-320.
- KASTNER, F. (2018): Habitatanalyse, populationsökologische Aspekte sowie Ausbreitungsverhalten und -potential von *Aeshna viridis* und *Coenagrion mercuriale* (Odonata) in Nordwest-Deutschland als Grundlage für regionale Artenschutzprogramme. Dissertation Universität Oldenburg. 142 S.
- KELLER D., VAN STRIEN, M.J. & R. HOLDEREGGER (2012): Do landscape barriers affect functional connectivity of populations of an endangered damselfly? - *Freshwater Biology* 57: 1373-1384.
- KIAUTA, B. & M. KIAUTA (1988): The unusual recombination potential and its ecological implications in *Coenagrion mercuriale* (Charp.) from Liechtenstein. - *Notulae Odonatologicae* 3: 34-35.
- LUDWIG, G., H. HAUPT, H. GRUTTKE & M. BINOT-HAFKE (2005): Methodische Weiterentwicklung der Roten Listen gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze in Deutschland - eine Übersicht. - *Natur und Landschaft* 80 (6): 257-265.
- LUIKART, G. & J.M. CORNUET (1998): Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. - *Conservation Biology* 12: 228-237.
- MANLY, B.F.J. (1994): *Multivariate statistical methods: a primer*, 2nd ed. New York: Chapman & Hall.
- PIRY S., LUIKART, G. & J.M. CORNUET (1999): BOTTLENECK. A program for detecting recent effective population size reductions from allele frequency data. - <http://www.ensam.inra.fr/URLB>
- PRITCHARD, J.K., STEPHENS, M. & P. DONNELLY (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. - *Genetics* 155: 945-959.
- PRITCHARD, J.K. & W. WEN (2003): Documentation for STRUCTURE software: Version 2. - Available from <http://pritch.bsd.uchicago.edu>.
- PURSE, B. V. (2001): *The Ecology and Conservation of the Southern Damselfly (Coenagrion mercuriale)*. Dissertation,

- University of Liverpool, 336 S.
- PURSE, B. V., G. W. HOPKINS, K. J. DAY & D. J. THOMPSON (2003): Dispersal characteristics and management of a rare damselfly.- *Journal of Applied Ecology* 40: 716-728.
- RAY, N. (2005) PATHMATRIX: a GIS tool to compute effective distances among samples. - *Molecular Ecology Notes* 5: 177-180.
- ROUSSET, F. (1997): Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. - *Genetics* 145: 1219-1228.
- WATTS, P. C., D. J. THOMPSON & S. J. KEMP (2001): A protocol for non-destructive extraction of DNA from odonates. - *Odonatologica* 30 (2): 223-226.
- WATTS, P.C., D.J. THOMPSON & S.J. KEMP (2004a): Cross-species amplification of microsatellite loci in some European zygopteran species (Odonata: Coenagrionidae). - *International Journal of Odonatology* 7: 87-96.
- WATTS, P.C., J.H. WU, C. WESTGARTH, D.J. THOMPSON & S.J. KEMP (2004b): A panel of microsatellite loci for the Southern damselfly, *Coenagrion mercuriale* (Odonata: Coenagrionidae). - *Conservation Genetics* 5: 117-119.
- WATTS, P.C., J.R. ROUQUETTE, J. SACCHERI, J. KEMP & D.J. THOMPSON (2004c): Molecular and ecological evidence for small-scale isolation by distance in an endangered damselfly, *Coenagrion mercuriale*. - *Molecular Ecology* 13: 2931-2945.
- WATTS, P.C., I.J. SACCHERI, S.J. KEMP & D.J. THOMPSON (2006): Population structure and the impact of regional and local habitat isolation upon levels of genetic diversity of the endangered damselfly *Coenagrion mercuriale* (Odonata: Zygoptera). - *Freshwater Biology* 51: 193-205.
- WATTS, P.C., F. ROUSSET, I.J. SACCHERI, R. LEBLOIS, S.J. KEMP & D.J. THOMPSON (2007): Compatible genetic and ecological estimates of dispersal rates in insect (*Coenagrion mercuriale*: Odonata: Zygoptera) populations: analysis of 'neighbour-hood size' using a more precise estimator. - *Molecular Ecology* 16: 737-751.
- WEIR, B.S. & C.C. COCKERHAM (1984): Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- ZELLMER, A. J. & L. L. KNOWLES (2009): Disentangling the effects of historic vs. contemporary landscape structure on population genetic divergence. - *Molecular Ecology* 18: 3593-3602.